

고식적 분할조사시 방사선의 전조사량이 잡종 마우스의 정상피부에 미치는 병리조직학적 변화

영남대학교 의과대학 진단방사선학교실

정 경 회

영남대학교 의과대학 치료방사선학교실

김 명 세

영남대학교 의과대학 병리학교실

최 원 희

서 론

1895년 X선이 발견된 이래 방사선 피폭으로 인한 피부 손상은 계속 보고되어 왔으나¹⁾ 1945년 2차대전 말기의 원자탄 사용을 계기로 방사선에 의한 조직반응 즉 방사선 생물학의 연구가 급진전하게 되었다.

근래에 와서 공업, 건축, 범죄수사, 대체 에너지 개발 등에 원자력의 응용이 광범위해짐에 따라 안전사고의 발생률도 점차로 높아져가고 있으며 우리나라에서도 사고에 의한 방사선 피부염이 보고되는 등²⁾ 방사선연구의 중요성이 새로이 인식되고 있다.

더욱이 근대의학에서 가장 난치병으로 알려지고 있는 암의 치료에서 방사선의 역할이 점점 커짐에 따라 정상조직의 방사선의 영향에 대한 치료효과를 높이기 위한 필수적인 기본 자료가 되었다. cobalt, 선형 가속기(Linac) 등의 고에너지 개발로 인한 피부 분리 효과(skin sparing effect)로 피부손상율은 현저히 감소되었다고는 하나 아직도 상당수를 차지하고 있는 표재성 병소 즉 피부, 유방 또는 입과결 등의 방사선 조사에 의한 심한 피부손상은 치료를 중단시키거나 효과적인 치료를 저해하는 중요한 인자로 인식되고 있어서 정상피부의 방사선에 대한 반응의 연구는 치료효과를 높이기 위한 필수적인 자료가 되고있다. 이러한 피부의 방사선에 대한 영향은 시험관내 혹은 생체실험을 통하여 많은 연구 보고가 있었음에도 불구하고¹⁻¹²⁾ 대부분의 연구

가 단일조사³⁻⁵⁾, 분리조사(split dose)⁵⁻⁸⁾ 4~5회 분할조사(4~5 fraction),^{6,9-12)} 등에 대한 연구로서 실제의 임상에서 사용하고 있는 고식적 분할 조사와의 연관성을 NSD(nominal standard dose)의 개념으로 환산한 것이어서, 임상에서 사용하고 있는 치료체계에 대한 병리조직학적인 보고는 거의 없는 실정이다. 이에 저자들은 60마리의 백색 마우스에 고식적인 분할조사로 전 복부를 조사(whole abdominal irradiation)하여 전조사량(total irradiation dose)에 대한 피부의 반응을 병리조직학적으로 분석하여 급성반응의 조직학적 변화를 밝힘과 동시에 후에 올 수 있는 만성합병증의 기전을 추구할 수 있는 기본 자료로 삼고자 하였다.

재료 및 방법

“brother-sister” 혹은 “offspring-young parent” 교배로 얻어진 암수동수의 잡종 백색 마우스 60마리를 사용하였다. 사용된 마우스는 방사선에 가장 예민하게 반응하는 생후 30±3일 된 마우스로서 체중은 25±2gm(♂), 23±1gm(♀)으로 이는 본 교실에서 측정된 실험자료에 근거하였다.^{13,14)} 250KV, 25MA(Coronado, Westinghouse, England)의 Orthovoltage X선 기계를 사용하여 X선 조사를 하였고 매주 토요일 마다 선량측정을 하여 조사선량을 확인하였다.

치골연합부에서 검상돌기에 이르는 2×3cm의 조사야로 월요일부터 금요일까지 하루 200rad씩, 고식적 분할조사를 실시하였다.(Photo 1)

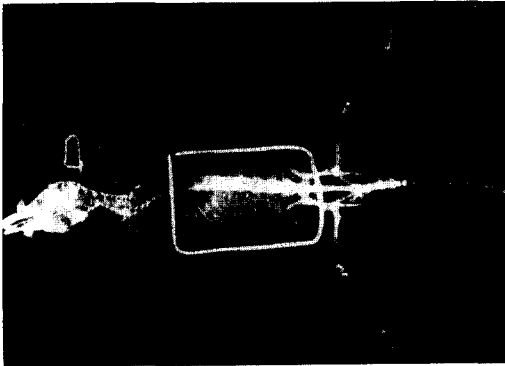


Photo 1. Irradiated field, (2x3cm) from xiphoid process to symphysis pubis.

전 실험 동물은 ether를 사용하여 경한 마취를 하였으며 치료중의 고정을 위하여 본 교실에서 고안한 상자를 사용하였다. 조사야를 제외한 전신은 5mm의 납으로 차폐하였다. 모든 마우스는 전조사량으로 구분하여 1000 rad군에서 5000 rad군까지 1000 rad 간격으로 5군으로 나누어, 대조군을 포함하여 모두 6군으로 구분하였고 각 군은 암수 동수 10마리를 사용하여 총 60마리의 마우스가 소요되었다.

각 실험군의 마우스는 매우 금요일, 목적된 방사선 조사가 끝나는 즉시 희생시켜 조사야 중심 축부위의 표피를 약 1cm²정방형으로 절제하여 포르마린에 고정한후 통상적인 방법으로 조직표본을 만들어 광학현미경하에서 관찰하였다.

성 적

전 실험군을 통하여 치료중 부주의로 사망한 4마리의 마우스를 제외하고 7마리의 수컷 마우스와 4마리의 암컷 마우스가 실험중에 죽어 부검을 실시하였다. 대부분에서 1개 이상의 화농성 농양이 신장, 심장, 폐, 간 등의 주요 장기에서 발견되었으며 이중 2,200 rad를 조사받고 사망한 마우스에서는 피부부를 포함한 약 18개 부위에 다발성 농양이 발견되어 치료방사선 학회지에 보고하였다.¹⁵⁾

4,000 rad 이상의 조사군에서 수컷 마우스의 약 90%에서 경도~중정도의 염증이 있었으나 암컷 마우스에서는 심한 염증소견은 보이지 않았으며 전조사량에 대한 조직학적 검사를 요약하면 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Histopathological findings of irradiated mice skin after irradiation

Histopathological findings	Irradiation dose (rad)				
	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000
Epidermis	Edema	±	+	+	+
	Hyperkeratosis	-	±	++	++
	Thinning	-	-	-	+
	Hyalinization	-	-	-	±
Dermis	Edema	-	±	+	++
	Infiltration of Inflammatory cells	-	±	++	++
	Decreased number and size of hair follicles	-	±	++	+++
	Capillary congestion	-	±	+	++
	Capillary wall thickening	-	-	±	+
	Thinning	-	-	-	+
Appendages	Hyalinization	-	-	-	±
	Decreased number and size	-	±	+	++

± : Tracely positive.
 + : Mildly positive.
 + : Moderately positive.
 + + + : Severly positive.

1. 1,000 rad 조사군

남녀 모두에서 약간의 표피부종이 관찰되는 것 이외는 대조군에 비하여 특이할 만한 변화는 없었다(Photo.2).



Photo.2. Slight epidermal edema, but intact hair follicles in 1,000 rad irradiated group (H & E, x100).

2. 2,000 rad 조사군

암수 모두에서 표피의 각화변화(hyperkeratotic change)와 진피부종과 함께 염증세포의 침윤이 관찰되었으며 모포(hair follicle)의 수와 크기가 암수 모두에서 감소하였다. 대부분의 혈관에서 정도의 차이는 있으나 울혈과 함께 약간의 염좌(distortion)가 관찰되었다(Photo.3).



Photo.3. Prominant hyperkeratosis, slightly decreased number and size of hair follicles and infiltration of inflammatory cells in 2,000 rad irradiated group (H & E, x200).

3. 3,000 rad 조사군

표피의 각화변화는 더욱 현저해졌으며 진피의

염증세포 침윤도 증가됨을 보였다. 모포의 수 및 크기의 감소도 더욱 심해졌으며 모세혈관의 울혈과 함께 내피세포(endthelial cell)의 증식으로 인한 혈관벽의 비후를 관찰하였다(Photo.4).



Photo.4. Marked increased capillary congestion, prominent infiltration of inflammatory cells and marked decreased number and size of hair follicles in 3,000 rad irradiated group (H & E, x40)

4. 4,000 rad 조사군

표피의 얇아짐과 함께 진피의 얇아짐이 관찰되었다. 모세혈관의 비대와 함께 혈관의 울혈은 더욱 현저해졌으며 모포의 수 및 크기의 감소도 증가되었다(Photo.5).



Photo.5. Vascular wall thickening with endothelial cell proliferation and severe vascular congestion in 4,000 rad irradiated group (H & E, x200).

5. 5,000 rad 조사군

표피의 얇아짐은 더욱 현저해졌고 진피의 얇아짐과 함께 조자화가 관찰되었다. 혈관의 완전

폐쇄는 보이지 않았으나 혈관벽의 비대도 더욱 증가됨을 관찰하였다(Photo.6).



Photo.6. Marked epidermal thinning and dermal fibrosis in 5,000 rad irradiated group (H & E, x100).

고 찰

방사선의 치료중 혹은 치료후의 2차감염에 의한 염증성질환의 합병은 암환자의 방사선의 치료효과를 수식할 뿐 아니라 때로는 직접 사인이 되기도 함으로 매우 중요하다.¹⁵⁾ 많은 항생제가 개발되고 있음에도 불구하고 그 치유가 쉽지 않으며 특히 폐암의 치료중 혹은 치료후에 합병된 폐염의 경우 치명적이 되는 것은 임상에서 흔히 경험하는 일이다. 본 실험에서도 60마리의 마우스중 11마리(♂7, ♀4)의 마우스가 염증으로 죽은 것은 비록 외국의 경우에서 처럼 무균상태의 실험실(pathogen free colony)에서 실험을 할 수 없는 우리의 실정이라 하더라도 항생제의 사전 투여등 염증으로 인한 실험결과의 수식요인은 배제되어야 할 것으로 사료된다. 특히 흥미있는 사실은 사망한 마우스의 대부분이 1,500 rad에서 2,200 rad 사이의 방사선을 조사받은 마우스로서 이 조사량을 무난히 견디어낸 마우스에서는 염증으로 인한 사망을 확인할 수 없었던 점으로 이는 이 시기에 WBC의 급격한 변화가 동반되었던 본 교실의 실험결과¹⁴⁾와의 관련을 전혀 배제할 수는 없을 것으로 사료된다.

방사선치료에 대한 정상피부의 반응은 건성과 습성피부탈락현상, 미란, 궤양등으로 다양하게 표현되며 이는 전조사량(total irradiation dose)⁴⁾,^{6,16)} 조사기간(overall treatment time), 조사율(dose rate)^{3,7,11,17)} 분할수(number of fractiona-

tion)^{5,8,9,12)} 조사부위(volume of irradiation), 숙주인자 등에 의하여 수식된다. 표피(epidermis)는 마우스의 발, 꼬리, 주둥이, 생식기를 제외하고는 얇은 털로 덮여 있으며 혈관이나 신경을 포함하지 않는다. Libshitz¹⁸⁾는 표피의 기저세포는 방사선에 매우 예민하며 1,000 rad 정도의 방사선 조사에서도 유사핵분열속도(mitosis rate)가 감소되어 이로 인해 표피의 편평상피의 공급이 줄어들므로 일시적으로 표피가 얇아지게 되며 계속하여 방사선을 조사할 경우 기저세포층의 세포들이 죽게되어 생리적으로 탈락되는 표피를 보충할 수 없게 됨으로 진피가 노출되고 혈청이 표면으로 삼출됨으로서 습성탈락(moist desquamation)이 된다고 하였다. 본 실험에서는 전조사량 5,000 rad에서도 표피의 얇아짐은 보였으나 완전탈락, 미란, 삼출등의 소견은 없었다.

탈모는 여성 두경부 암의 치료에서 특히 주의를 요하는 문제이다. 마우스의 모발은 체모(pe-lage)와 감각모(tactile hair)의 두 가지가 있으나 해부학적 구조는 비슷하다. 모포의 발생은 표피의 기저세포층이 두꺼워지면서 진피속으로 자라 들어가 진피세포의 모발구를 형성하게 되며 이는 정상유두와 유사한 것으로 급속히 분열하는 표피세포로서 모발의 성장발육을 유지하게 된다.

일정량의 방사선은 구세포의 유사핵분열을 지연시키며 결국 모발의 탈락을 일으키고 높은 조사량의 경우 영구탈모도 가능하다. 본 실험에서 2000 rad 조사군에서 부터 모포의 크기와 수가 감소되어 선량이 증가할수록 정도가 심해짐을 보였으나 완전한 모포의 파괴는 5000 rad 조사군에서도 확인할 수 없었다.

마우스의 피지선은 체모와 감각모에 각 1개씩, tylotrich에 2개씩 있으며 바깥층은 기저세포, 안층은 분비세포로 구성되어 있다. 일반적으로 땀샘보다 방사선에 예민한 것으로 알려져 있으며¹⁹⁾ 방사선에 의해 선이 파괴됨으로 인하여 피부에 지방질 공급이 되지 않아 피부는 건조하게 되며 쉽게 감염된다. 본 실험에서는 2000 rad의 조사군에서 부터 부속기(appendage)의 소실및 크기의 축소를 관찰할 수 있었으나 5000 rad 조사군에서도 손상되지 않은 부속기를 관찰할 수 있었다.

마우스의 진피에서는 결합조직으로서 교원성 섬유와 탄력성 섬유, 혈관, 신경, 지방세포, 그리고 평활근 섬유를 포함하는 것은 인체와 비슷하

다. 근래에 와서 고에너지 방사선발생장치가 개발되어 피부의 손상은 많이 감소되었다하나 진피에는 표재치료기에 비해 더욱 심한 손상을 줄 수 있게 되었다. 1,000 rad 단일조사를 시행하면 진피결합조직에서는 급성염증 반응이 일어나게 되며 이는 특히 하복벽, 상경부, 하악골주위에서 예민하다.^{6,7)}

본 실험에서는 4,000 rad 조사군에서 진피의 얇아짐과 초자화를 관찰할 수 있는 것으로 보아 4,000 rad 이상의 방사선을 조사할 경우 후기 영향으로서의 영구손상을 완전히 배제할 수는 없으나 5,000 rad 조사군에서도 표피의 완전탈락및 궤양등의 소견을 볼 수 없는 것으로 보아 일반적인 치료량으로는 심한 후기 영향은 고려하지 않아도 좋다고 생각된다.

요 약

치료방사선 분야에서 치료를 제한시키는 요인(dose limiting factor)중의 하나로 인식되고 있는 피부손상은 그 중요성에 비추어, 임상치료 체계와 같은 방법을 사용한 병리조직학적 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구는 60마리의 백색 마우스를 사용하여 고식적인 분할조사를 통한 급성피부반응의 병리조직학적 변화를 밝히고 후기 합병증의 기전을 추정할 수 있는 기본자료로 삼고자 하였으며 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 1,000 rad 조사군에서는 경한 표피의 부종만이 관찰되었다.
2. 2,000 rad 조사군에서는 모포와 부속기의 수와 크기가 감소하였고 진피의 부종과 함께 염증세포의 침윤이 관찰되기 시작하였다.
3. 3,000 rad 조사군에서는 모세혈관 벽의 비후가 관찰되기 시작하였고 부속기의 감소 및 염증세포의 침윤이 현저히 관찰되었다.
4. 4,000 rad 조사군에서는 더욱 현저한 모세혈관의 비후 및 울혈이 관찰되었다.
5. 5,000 rad 군사군에서는 위의 모든 변화가 증가되었음에도 표피의 완전탈락은 보이지 않았으므로 일반적인 암의 치료량으로는 심한 후기 영향은 고려하지 않아도 좋다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Graham, D. and Thomson, J.: Grenz ray. Pergamon press, N.Y., 1980. p. 4-7.
2. 윤세철, 박용휘, 신경섭, 김춘열, 조백기, 위성신: 방사선 피부염 3예 보고. 대한 방사선 의학회지. 22: 167-174, 1986.
3. Denekamp, J., Energy, E.W. and Field, S.B.: Response of mouse epidermal cells to single and divided doses of fast neutrons. Radiat.Res. 45: 80-84, 1971.
4. Morrison, R.A.: Total biologic dose. Radiology. 114: 717-721t, 1975.
5. Trott, K.R., Maciejewski, B. and Preuss-Bayer, G.: Dose response curve and split dose recovery in human skin cancer. Radiother. Oncol. 2: 123-129, 1984.
6. Withers, H.R.: The dose survival relationship for irradiation of epithelial cells of mouse skin. Br.J.Radiol., 40: 187-194, 1967.
7. Parkins, C.S., Fowler, J.F. and Yu, S.: A murine model of lip epidermal mucosal reactions to x-ray irradiation. Radiother.Oncol. 1: 159-165, 1983.
8. Peel, D.M., Hopewell, J.W. and Wimmonds, R.H.: Split-dose recovery in epithelial and vascular connective tissue of pig skin. Radiother. Oncol. 2: 151-157, 1984.
9. Withers, H.R.: Recovery and repopulation in vivo by mouse skin epithelial cells during fractionated irradiation. Radiat.Res. 32: 227-239, 1967.
10. Hopewell, J.W., Foster, J.L. and Young, C.M. A.: Late radiation damage to pig skin. Radiology, 130: 783-788, 1979.
11. Carpenter, S.G. and Raju, M.R.: Residual radiation damage in the mouse foot after exposure to heavy particle. Radiology. 138: 483-485, 1981.
12. Rongen, E.V. and Kal, H.B.: Acute reactions in rat feet exposed to multiple fractions of x-ray per day. Radiother.Oncol. 2: 141-150, 1984.
13. Lee, S.H., Jho, K.H., Shin, S.W. and Kim, M.S.: Change of body weight and hematologic value with aging in hybrid mice. J.

- Korean Soc. Ther. Radiol. 3 : 169-173, 1985.
14. Lee, S.H., Shin, S.W. and Kim, M.S. : Radiation effect on body weight and hematological changes of hybrid mice by conventional fraction, large abdominal field irradiation. J. Korean Soc. Ther. Radiol. 3 : 153-157, 1985.
 15. Lee, S.H., Shin, S.W., Kim, M.S. and Choi, W.H. : Multiple pyogenic abscesses of hybrid mice on the course of radiation experiments. J. Korean Soc. Ther. Radiol. 3 : 175-178, 1985.
 16. Hendry, J.H. : Analysis of the steepness of the incidence curve for necrosis in mouse tails after a multifraction x-ray schedule. Radiology. 134 : 757-762, 1980.
 17. Turesson, I., Notter, G. and Wickstorn, I. : The influence of irradiation time per treatment session on acute and late skin reactions. : A study on human skin. Radiother. Oncol. 2 : 235-245, 1984.
 18. Libshitz, H.I. : Diagnostic roentgenology of radiotherapy change. Wavery Press, Baltimore, p. 1-2, p. 55-68, p. 195-201, 1979.
 19. Green, E.L. : Biology of the laboratory mouse. 2nd Ed. Dover Publication Inc. N.Y., 1968. p. 263-26,

— Abstractg —

Total Dose Effect on Normal Skin of Hybrid Mice by Conventional Fractionated Irradiation

Kyung Hee Jung

*Department of Diagnostic Radiology
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea*

Myung Se Kim

*Department of Therapeutic Radiology
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea*

Won Hee Choi

*Department of Pathology
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea*

Development of supervoltage treatment machine may minimize skin reaction by skin-sparing effect, but skin damage is still one of "the dose limiting factor" in radiation therapy.

In spite of these importance, systemic histopathologic studies of skin in similar conditions which used in clinical treatment has not been performed so far.

60mice were irradiated with conventional fraction (200x5/wk) and whole abdominal field (2x3cm, from symphysis pubis to xyphoid process). Used machine was 250KV, 24mA. orthovoltage x-ray machine.

Histopathological changes of acute skin reaction at the level of totoal irradiation dose were analyzed and the possible mechanism of later chronic changes were investigated.

Obtained results are as follows :

1. In 1,000 rad irradiated group, only mild epidermal edema is noted.
2. In 2,000 rad irradiated group, slightly decreased number and size of hair follicles and appendages, dermal edema and scanty infiltration of inflammatory cells are visible.
3. In 3,000 rad irradiated group, marked increased capillary congestion and prominant infiltration of inflammatory cells are observed.
4. In 4,000 rad irradiated group, vascular wall thickening with proliferation of endothelial cells are prominant. Dermal thinning and hyalinization are newly developed.
5. In 5,000 rad irradiated group, complete desquamation of epidermis is not seen, despite of acceleration of all above mentioned changes.