

Nitrofen투여시 쥐에서 유발되는 선천성 횡격막 결손증: 동물모델

원광대학교 의과대학 외과학교실, ¹응급의과학교실

이환봉 · 이재규¹ · 이병찬 · 소병준 · 채권묵

Congenital Diaphragmatic Hernia in Rats Using Nitrofen: An Animal Model

Whan Bong Lee, M.D., Jai Kyo Lee, M.D.¹, Pyong Chan Lee, M.D., Byung Jun So, M.D. and Kwon Mook Chae, M.D.

Purpose: Since 1971, Nitrofen (2,4-dichloro-4'-nitrodiphenyl ether) herbicide has been known to induce variable congenital abnormalities in rats. However, until now there has been no animal model of congenital diaphragmatic hernia (CDH) using this herbicide in Korea. Therefore, CDH in rats using Nitrofen was tried for searching on pathogenesis or using therapeutic modalities of CDH.

Methods: 20 Sprague-Dawley rats ingested Nitrofen as indicated on the 9.5th day of gestation, and after sacrificing on the 21th day of gestation. 243 offspring were harvested for the examination of diaphragmatic herniations. Dissections were made along sites of herniations to confirm the diaphragmatic herniation's site and size, lung/body weight ratio comparison as well as to accomplish microscopic radial saccular counting and evaluation of alveolar septal wall maturations and a comparison was made between the groups.

Results: CDH appeared in 149 of 243 offspring. CDH only appeared in the posterior portion of the diaphragm regardless of size or the side of appearance. Left sided CDH was the most common single diaphragmatic anomaly, represented in 112 offspring. Right sided CDH was next, found in 31 offspring, and bilateral CDH was seen in 6 offspring. Left sided CDH was almost always associated with visceral herniations and with pulmonary hypoplasia on the affected side, which was proved in the decreased Lung/Body weight ratio and in decreased radial saccular counts and in increased alveolar septal wall thickness in the affected lungs of CDH. In

94 offspring without CDH following exposure to Nitrofen, moderate pulmonary hypoplasia was microscopically observed. **Conclusion:** Initial Rat modeling of congenital diaphragmatic hernia using Nitrofen showed results of herniation and pulmonary hypoplasia of the affected lungs acceptable for further experimental studies on CDH and accompanying pulmonary abnormalities. (J Korean Surg Soc 2001;60: 355-360)

Key Words: Nitrofen, Congenital diaphragmatic hernia, Animal model, Rat

중심 단어: 니트로펜, 선천성 횡격막 결손증, 동물모델, 쥐

Departments of General Surgery, ¹Emergency Medicine, Wonkwang University, College of Medicine, Iksan, Korea

서 론

선천성 횡격막 결손증(Congenital diaphragmatic hernia)은 구미의 신생아에서 약 1 : 2500 정도의 빈도로 발병하며 최근의 각종 진단방법의 발달 및 실험적 연구를 통한 다양한 치료방법의 개발에도 불구하고 폐저형성증(Pulmonary hypoplasia)으로 인한 호흡부전(Respiratory failure)으로 인해 약 40~60%의(1) 비교적 높은 사망률을 보이고 있으며,(2) 끊임없이 더 나은 치료성과를 위한 각종 새로운 치료방법의 고안이 시도되고 있는 가운데 국내에서는 그 빈도의 미미함으로 인한 관심부족으로 인해 아직 그 실험적 시도가 보고된 바가 없는 상태이다.

1971년부터 제초제인 Nitrofen에 의해 쥐에서 유발되는 선천성 횡격막 결손증이 밝혀진 이후(3) 선천성 횡격막 결손증의 병리 생리학적 이해의 향상 및 이를 근거로 한 치료방법의 개선 및 새로운 치료 방법의 개발들의 대부분은 Nitrofen을 이용한 쥐실험을 통한 연구의 결과에서 비롯되었다고 해도 과언이 아니라고 할 수 있을 만큼 쥐의 Nitrofen을 이용한 실험동물 model은 중요한 의미를 차지하고 있다고 할 수 있다.

1984년 Iritani에 의해(4) 선천성 횡격막 결손증에서의 병

책임저자 : 이환봉, 경기도 군포시 산본동 1126-1
(☎) 435-040, 원광대 군포병원 외과
Tel: 031-390-2568, Fax: 031-390-2854
E-mail: drppong@yahoo.com

접수일 : 2000년 2월 1일, 게재승인일 : 2001년 2월 10일
본 연구 논문은 2001년도 원광대학교 교비 일반과제연구비의 보조로 이루어진 것임.

리적 현상인 폐저형성증의 발생원인은 횡격막 결손에 의한 내장의 흉강내 탈출에 따른 물리적 폐 압박에 기인한 결과이기 보다는 폐 자체의 형성부전(retardation of growth and maturation) 즉 폐 저형성증(Pulmonary hypoplasia)이 기본적으로 스스로 진행되어 나타나는 병적 현상이었을 것이라는 주장이 있는 이후(5-8) 현재까지도 폐저형성증의 발생과정에 대한 상반되는 주장은 결론을 내리지 못해 논란의 여지를 남기고 있으며 그런 가운데 각기의 주장에 근거한 이론을 바탕으로 개발 시도된 각종 실험적 치료방법들은 아직도 만족할만한 치료 성과를 이룩하는 데에는 크게 미치지 못한 상태라고 볼 수 있다.

저자는 타당성 있고 재연성이 우수한 동물모델의 기초적 설정을 보고함으로써 추후 선천성 횡격막 결손증의 연구시 횡격막 결손의 양상, 폐의 발육(growth) 및 성숙(maturation) 지연의 병리적 현상에 대한 이해에 기초적으로 필요한 실험동물 모델의 설정을 보고하여 관심있는 이들의 실험 모델 설정의 노력을 덜고자 본 보고를 시행하는 바이다.

방 법

1) 재료

임신 9일째로 확인된 10~14주령의 쥐(Sprague-Dawley Rat)(한국 실험동물 연구소)의 구입 후 9.5일째에 20마리의 쥐에게 Olive oil에 녹인 제초제 Nitrofen (Riedel-deHaen, United Kingdom 99.4%) 100 mg을 Sound (Iron Gavage Tube)를 이용해 위내 투여하였고 Olive oil만을 위내 투여한 5 마리의 쥐를 표준집단(Control Group)으로 삼았다. 임신 21일째에 Pentothal 50 mg의 복강내 주사로 어미쥐를 마취시킨 후 개복하여 신생쥐를 각기 243마리, 67마리 획득한 후 각각의 새끼쥐에서 실험을 시행하였다.

새끼쥐의 경부를 횡절단하고 사지를 고정한 후 흉부와 복부의 전면을 절개하여 심장 및 폐와 복강내 장기를 노출시킨 후 잘린 경부의 절단면에 노출된 기관(trachea)을 시작으로 조직을 박리하여 나아가면서 양측 폐를 확인하고 복부장기를 모두 박리하여 체외로 제거한 후 양측 폐를 흉강내로부터 체외로 완전히 분리하면서 각 폐의 무게 측정 및 횡격막의 결손유무 및 부위와 정도 등을 관찰하였다.

2) 관찰

분리해낸 폐는 횡격막 결손부위의 폐와 반대편의 폐를 각기 10% formalin용액에 3일간 고정하였고, 일정한 간격으로 각 폐의 4곳에서 사상절편(coronary section)을 획득하여 Hematoxylin-Eosin 염색을 시행한 후 광학 현미경 하에서 관찰하였다.

Radial Saccular Count(방사성 폐포수 측정)는 Emery and Mithal의 방법(9)에 의거하여 ×100배율의 현미경 시야에

서 발견된 기관소지(bronchiole)를 중심으로 방사상의 선을 흉막의 가장 가까운 방향으로 그은 직각의 선에 의해 걸쳐지는 폐포(alveolar sac)의 수를 헤아려 측정하였다.

폐포중격 성숙도(Maturation of alveolar septum)는 표피세포(alveolar epithelium)의 모양 및 분포, 중격의 결체조직(interstitium)의 양, 모세혈관 발달(capillary ingrowth)의 정도 및 폐포중격의 두께 등의 조직학적 관찰을 통해, 횡격막 결손의 유형에 따른 횡격막 결손 발생 부위 폐에서의 미숙(immature), 중간정도(moderate) 그리고 성숙(mature)의 삼 단계로 단순화한 측정이 시도되었다.

3) 통계처리

자료의 통계 처리를 위해 mean(산술적 평균) 및 standard deviation(표준편차)의 계산 및 p-value 0.05 이하의 신뢰구간 설정을 통한 dependent Student-T test를 이용하였다.

결 과

Nitrofen이 투여된 243마리의 새끼쥐에서 횡격막을 조사한 결과 149마리(61.3%)에서 횡격막의 후방부위에 매우 다양한 크기의 결손을 보였다. 그 부위 및 정도를 관찰한 결과 좌측 횡격막 결손의 빈도가 가장 많아 112마리에서 발견되었고(Fig. 1) 31마리에서는 우측의 횡격막 결손을 보였다. 양측의 횡격막에서 동시에 결손을 보인 쥐는 6마리였다. 94마리에서는 Nitrofen의 투여 후에도 횡격막 결손을 보이지 않았으며, 표준집단의 경우 67마리 중 한 마리의 새끼쥐도 횡격막 결손을 보이지 않았다(Table 1). 횡격막 결손의 크기는 수치화가 불가능하였고 대·중·소의 일인에 의한 주관적 구별이 시도되어, 결손 부위를 불

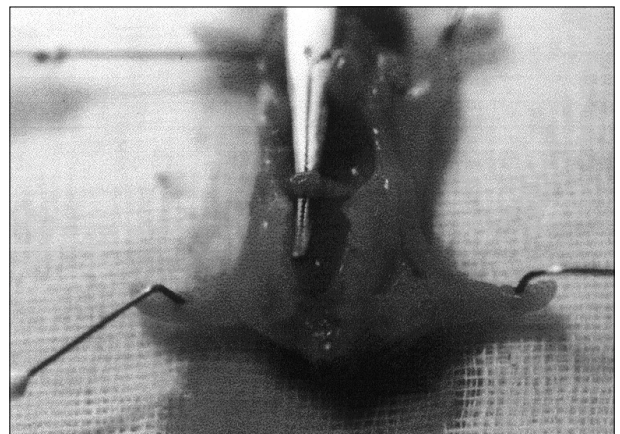


Fig. 1. Identifcation of CDH after removal of lungs and visceral organs. Surgical instrument goes through the defect in left postero-lateral defect of diaphragm (Bochdalek's Hernia), which was the most common site of CDH in rat models using nitrofen.

문하고 각기 21, 84, 44마리의 분포를 보였다.

가장 흔하게 나타난 좌측 후부의 횡격막 결손(Bochdalek's hernia)의 경우, 모든 예에서 복강내 장기 특히 소장이나 위장 혹은 좌측 신장의 흉강내 탈출이 관찰되었고, 우측 후부의 횡격막 결손의 경우 장기의 흉강내 탈장 소견은 없거나 다소간의 돌출만이 주로 관찰되었으며 4마리의 쥐에서만 심한 우측 횡격막 결손과 함께 장의 흉강내 탈출이 관찰되었다.

폐의 무게를 각기 자신의 체중에 대한 비율(Lung/Body Weight Ratio)로 비교함으로써 각 집단의 폐 발육(Growth) 정도를 분석한 결과, 횡격막 결손을 보인 새끼쥐들의 경우 표준집단의 새끼쥐와 비교하여 심한 폐 발육부전 양상을 보였으나 Nitrofen 투여 후에도 횡격막 결손을 보이지 않았던 새끼쥐들의 경우 중간정도의 발육 부전 양상을 보여주었다.

폐 발육 부전의 정도를 관찰하는 방법으로서 상기한 바

와 같이 횡격막 결손 새끼쥐 전부를 하나의 집단으로 하여 표준집단과의 발육 정도를 비교하는 것이 일반적 방법이나 저자는 이를 횡격막 결손의 각 유형에 의한 폐 발육 부전의 정도 차이에 관심을 두고 그 양상을 각기 관찰하였다(Table 2). 여기에서 좌측 횡격막 결손의 경우 Lung/body Weight Ratio는 17.9 ± 0.5 으로 표준집단의 21.6 ± 0.8 과 비교하여 의미있는 폐 발육부전이 확인되었고($p < .001$), 횡격막 결손을 보이지 않은 집단에서도 폐 발육의 부전은 18.9 ± 0.7 로서 의미있는 발육부전이 있음을 확인하였다($p < .05$). 우측 횡격막 결손의 경우와 양측 횡격막 결손의 경우에는 폐 발육 부전의 정도가 좌측 횡격막 결손의 경우보다 더욱 심하여, 각기 17.6 ± 2.1 과 15.1 ± 11.6 으로 나타났으나 각 집단 내에서의 폐 발육 부전의 정도 상에서 심한 개별적 차이를 보였으며, 통계적 의미는 찾을 수 없었다.

광학현미경을 이용한 폐의 발육 및 성숙의 장애에 관한 관찰을 위해, 그중 폐의 Maturaton(성숙, 성장)을 주로 관찰하기 위해 formalin 고정을 통해 Paraffin 처리한 조직을 좌우의 폐에서 각 4곳을 8 um 두께로 채취, H-E 염색을 시행한 후, Emery & Mithal의 방법에 준해 $\times 200$ 배율하의 시야에서 Grid를 이용하여 세기관지(Bronchiole)의 중심에서 가장 가까운 장측 흉막 결체조직격벽(connective tissue septum of visceral pleura)에 직각으로 그어진 선에 의해 걸쳐지는 폐포중격(Alveolar Septum)의 숫자를 측정하여 방사성 폐포수 측정(Radial alveolar counts)을 시행하였으며, Table 3에서와 같이 좌측 횡격막 결손의 경우와 횡격막 결손을 보이지 않았던 경우에서, Lung/Body Weight Ratio를 측정하여 관찰했던 발육 부전의 결과와 일치하게

Table 1. Sites of CDH in rats appearing after ingestion of nitrofen

| | Nitrofen exposed fetuses (n=243) | Control fetuses (n=67) |
|---------------|-------------------------------------|---------------------------|
| All of CDH | 149 (61.3%) | 0 |
| Lt. CDH | 112 (46.1%) | 0 |
| Rt. CDH | 31 (12.6%) | 0 |
| Bilateral CDH | 6 (2.5%) | 0 |
| None of CDH | 94 (38.7%) | 67 |

CDH = congenital diaphragmatic hernia.

Table 2. The difference in lung growth along the sites of CDH

| | All CDH (n=149) | Lt. CDH (n=112) | Rt. CDH (n=31) | Bilateral CDH (n=6) | No CDH (n=94) | Controls (n=67) |
|----------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------------|------------------|--------------------|
| Total Lung Wt. (mg) | 84.2 ± 5.6 | 83.7 ± 2.8 | 88.6 ± 9.0 | 69.5 ± 19.3 | 93.0 ± 2.9 | 105.1 ± 4.4 |
| Total body Wt. (g) | 4.82 ± 0.4 | 4.77 ± 0.2 | 4.98 ± 0.7 | 4.63 ± 1.2 | 4.92 ± 0.3 | 4.98 ± 0.4 |
| Lung/Body Wt. Ratio (mg/g) | $17.6 \pm 0.9^*$ | $17.9 \pm 0.5^*$ | 17.6 ± 2.1 | 15.1 ± 11.6 | $18.9 \pm 0.7^*$ | 21.6 ± 0.8 |

Values are Mean \pm Standard Deviation. *Statistically significant difference from control group. Wt. = weight.

Table 3. Radial saccular counts and alveolar septal maturations along the sites of CDH

| | Lt .CDH n=112 | Rt. CDH n=31 | Bilateral CDH n=6 | No CDH n=94 | Controls n=67 |
|--|------------------|-----------------|----------------------|-----------------|------------------|
| Radial saccular counts | $4.3 \pm 0.2^*$ | 4.6 ± 0.3 | 3.9 ± 0.7 | $4.5 \pm 0.2^*$ | 5.0 ± 0.2 |
| Alveolar septal maturation (immature/moderate/mature) | 59/42/11 | 8/18/5 | 4/1/1 | 23/38/33 | 3/17/46 |

Values are Mean \pm Standard Deviation. *Statistically significant difference from control group.

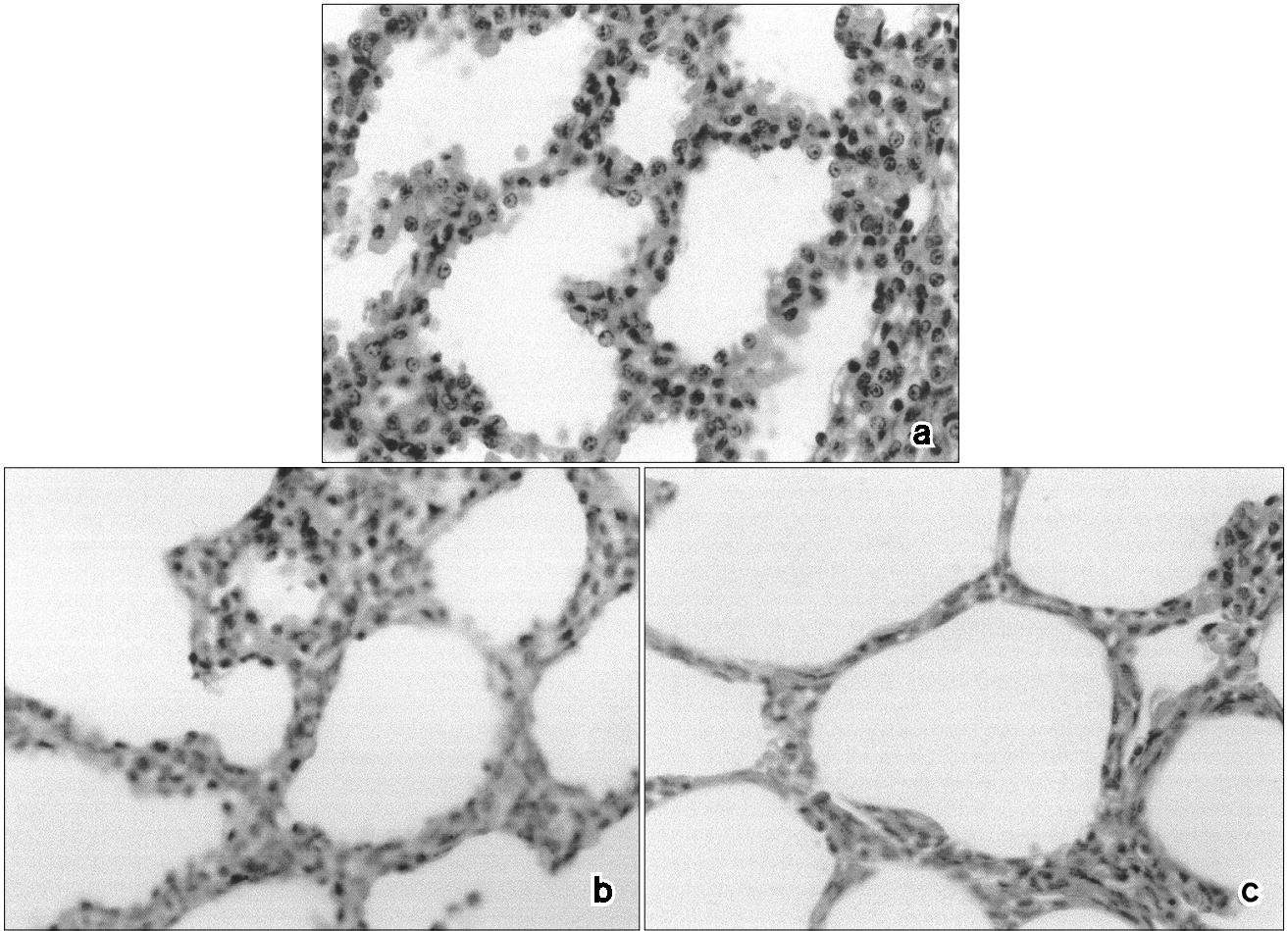


Fig. 2. The histologic differences of alveolar maturation between immature lung (a), moderate lung (b) and mature lung (c) under the magnitude of $\times 400$ of light microscope (Hematoxylin-Eosin stain). From (a) to (c), as the lung maturation progress toward normal features, the septum of alveoli becomes thinner with lesser connective tissue bundle and flat epithelium with larger surface of air exchange.

폐 저형성증의 양상을 보여, 각기 4.3 ± 0.2 와, 4.5 ± 0.2 로 표준집단의 5.0 ± 0.2 와는 의미있는 차이($p < .05$)를 나타내었다.

폐포중격 성숙도는 ‘미숙’, ‘중간정도’ 그리고 ‘성숙’의 삼 단계로 설정된 기준을 염두에 둔 일 인의 관찰자에 의해 횡격막 결손이 발생된 부위의 폐 조직 만을 선택하여 $\times 400$ 배율 현미경 하에서 각각의 폐마다 8개의 무작위 시야에 나타나는 폐포중격의 관찰 후 5개 이상에서의 주관적 성숙도가 일치될 경우를 하나의 관찰 결과로 기록한 후, 각각의 횡격막 결손 유형별로 구분하여 나타났던 결과를 Table 3에서와 같이 기술하였으며, 따라서 통계적 의미를 고찰할 수는 없었다. 단지 Lung/Body Weight Ratio나 Radial Alveolar Counts의 관찰시 일관되게 나타나는 폐의 형성부전의 양상과는 달리, Nitrofen 투여 후 횡격막 결손을 보이지 않은 집단의 많은 폐에서 ‘중간정도’ 이상의 폐포중격 성숙도를 보여 표준집단에 비슷해지는 결과를 얻

었다. 우측 횡격막 결손의 경우와 양측성 횡격막 결손의 경우에는 대부분의 폐에서 ‘중간정도’ 이하의 폐포중격성숙을 보여 위의 관찰 기준으로 볼 때 좌측 횡격막 결손의 결과와 비슷하다고 할 수 있겠으나, 양측성 횡격막 결손의 경우에는 작은 집단이기는 하나 ‘미숙’이 두드러지게 심하였다. 여기서 보였던 조직의 소견들은 Fig. 2와 같았다.

횡격막 결손이 생긴 쪽의 폐와 반대편 폐의 비교는 결손의 크기 및 부위 차이에 따른 분류상의 어려움으로 인해 고찰할 수 없었다.

결 과

Nitrofen을 이용한 쥐에서의 선천성 횡격막 결손증은 그 실험모델로서의 가치가 이미 널리 알려져 있고,^(10,11) 쥐가 지니고 있는 실험상의 편리함, 예를 들면 구하기 쉽고 값이 비교적 저렴하며 각종 병원성 감염에 의한 희생이

적이며 기후조건에 견디는 능력이 뛰어나다는 점 등으로 인해 많은 실험적 시도들이 매우 활발히 이루어지고 있음 역시 주지의 사실이나, 국내에서 아직 그에 관련된 보고가 전무한 형편이다. 따라서 본 저자 등은 이에 관련한 수많은 실험적 연구들 중 가장 첫 번째로 필요하리라 사료되는 실험모델의 설정 및 실험모델인 쥐에서 관찰되는 기본적인 모습들과 그 실험과정에 대한 가능한한 자세한 기술을 통해 추후 국내에서 실험자들이 거쳐야 할 기초적인 노력과 시간을 감소 시켜보고자 본 보고를 시행하는 바이다.

Nitrofen의 경구 투여는 임신 제 8일부터 12일까지 다양하게 시도되고 있으나, 어미쥐의 질내에서 정자가 검출된 아침을 수정의 시점(gestation 0 day)으로 간주하여 계산되는 임신 일수 측정방법에 의할 때, 제 9일의 저녁 6시에서 9시 사이가 9.5일로 간주되어 가장 많은 실험자들이 Nitrofen의 일회 경구투여 시기로 이용하고 있다(4,12). 혹자는 임신 제 12일 투여방법을 선택시 우측 횡격막의 결손만이 나타난다고 보고하고 있고,(13) 이 방법을 일관되게 선택하고 있으나, 대부분의 경우 이 방법은 선호하지 않고 있으며, 저자의 개인적 실험중 임신일수의 오측으로 인해 임신 제 12일로 추후 판단된 쥐에서는, 새끼쥐의 횡격막 결손이 그 빈도상으로 볼 때 매우 저조해지는 것을 볼 수 있었고 우측 횡격막 결손의 경향도 느낄 수 없었다.

Nitrofen을 olive-oil에 녹여 경구 투여한 후 임신 제 21일에 새끼쥐의 횡격막 결손상태를 확인한 결과, 61.3%에서 횡격막 결손을 얻을 수 있었으며 통상 40~70%의 결손증 발생의 보고들과 비교하여 충분한 개연성을 느낄 수 있었다.

많은 보고들에서 가장 흔히 유발되는 것으로 보고되는 횡격막 결손의 위치도 좌측-후방부의 결손, 즉 Bochdalek's hernia이며 저자의 예에서도 그 사실은 149마리의 횡격막 결손 새끼쥐 중 112마리(75.2%)에서 상기 부위에 횡격막 결손이 일어남으로써 기존의 결과와 일치함을 알 수 있었다.(14) 혹자는 오른편 주도의 횡격막 결손유발을 보고하고 있으나(15) 우측 결손의 경우 약간의 간의 흉곽내 돌출 현상만이 보였고 복강내 다른 장기의 두드러진 흉곽돌출은 대다수의 경우 볼 수 없었으므로 그로 인한 폐 저형성증이나 지속성 폐혈관 고혈압증에 대한 고찰에는 적합하지 않을 수도 있다는 견해가 지배적이라고 볼 수 있다.

모든 횡격막 결손증을 보였던 새끼쥐의 폐를 하나의 집단으로 관찰할 때 그 발육 부전의 정도는 정상 쥐와 비교하여 의미있는 차이를 보였다($p < .05$).

횡격막 결손의 각 부위별로 나타날 수 있는 차이에 대한 관찰에 관심을 두고, 좌측 횡격막 결손, 우측 횡격막 결손, 양측성 횡격막 결손 그리고 Nitrofen 투여 후에도 횡격막 결손을 보이지 않았던 집단들을 각각 나누어 관찰을 시행한 결과, Lung/Body Weight Ratio와 Radial Alveolar Counts상 통계적으로 의미있는 폐의 발육 및 성숙의 부전

을 보인 집단은 복강내 장기의 흉강내 탈출이 대부분 동반되었던 좌측 횡격막 결손의 경우와 Nitrofen투여 후에도 횡격막 결손이 발생되지 않았던 두 집단이었으며, 우측 횡격막 결손의 경우 집단내 개체간의 횡격막 결손 및 흉강내 장기탈출의 심한 정도차이로 인하여 의미있는 결과를 얻지 못하였고, 양측성 횡격막 결손의 경우에는 지나치게 적은 집단의 개체 수로 인해 통계적 의미를 찾기 어려웠던 것으로 해석되었다.

Lung/body Weight Ratio의 측정과 Radial Saccular Counts의 측정은 폐에 관한 연구시 자주 시행되는 기본적인 분석 도구로서, 본 보고에서 이들을 시행하여 상기한 바와 같이 좌측 횡격막 결손의 경우와 Nitrofen 투여 후 횡격막 결손이 발생하지 않았던 경우에서 표준집단에 비교하여 의미 있는 폐의 저형성증을 보임으로써 기존의 보고들에서 정립된 전형적인 횡격막 결손증의 양상을 재연할 수 있게 해 주었으며, 특히 Nitrofen 투여 후 횡격막 결손을 보이지 않았던 새끼쥐들에서 나타난 상기의 결과는 기존의 보고들에서 이미 인정되고 있고, Kilth D 등에 의해 주장되었듯이 선천성 횡격막 결손증에서 나타나는 폐 발육부전은 횡격막 결손에 동반되는 복강장기의 흉강내 탈출에 의한 이차적인 현상이 아니라 Nitrofen 자체에 의한 폐 발육부전일 가능성이 있다는 보고에 대한 사실 여부에 가능성을 부여하는 재미있는 결론으로 보아진다. 그러나 통계적 의미를 부여할 수는 없는 폐포중격 성숙도의 조직병리학적 소견의 고찰 결과에 비교할 때는, Nitrofen 투여후 횡격막 결손을 보이지 않은 새끼쥐집단의 경우 전형적인 횡격막 결손을 보이는 새끼쥐 집단들에 비교하여 매우 정상에 가까운 모습으로 이행하는 소견이 관찰되어, 위의 분석 도구에 의한 결과와는 일치되지 않는 결과를 보임으로써, 그에 대한 해석을 위한 좀 더 자세한 고찰이 요구된다 하겠으며, 저자 나름의 해석으로는 지나치게 주관화된 폐포중격 성숙도의 관찰 중 초래된 편견에 기인했을 가능성을 남기게 하였다.

폐포중격 성숙도의 현미경적 고찰시 우측 횡격막 결손증을 보인 새끼쥐의 집단은 가장 흔한 좌측 횡격막 결손 새끼쥐 집단에 비교하여 '성숙'한 폐의 빈도가 많으면서 가장 '미성숙'한 폐의 빈도는 적음으로서 다소 성숙의 정도에서 나아짐을 보였고, 표준집단에 비교하여 확연히 구별되는 폐 저형성증의 양상을 보였다. 양측성 횡격막 결손의 경우 그 집단의 규모가 작기는 하나 폐포중격 성숙도에서는 가장 심한 '미숙'의 모습을 관찰할 수 있어 미리 예상 가능한 일반적 기대에 준한 결과가 얻어졌다고 사료되었다.

횡격막 결손의 크기에 따른 폐 형성 부전의 정도 차이에 관련한 보고는 볼 수 없었던 점에 착안하여 결손의 크기를 대 중 소로 구분한 관찰을 시도해 본 바로는 의미있는 차이를 찾을 수 없었으며, 각 집단 내에서 조차 발견되

는 지나치게 심한 결손의 정도 차이에 의해 통계적 의미가 상실된 것으로 해석되었다.

주지의 사실로서, 이미 국외의 많은 보고들은 Nitrofen을 이용한 쥐 실험을 통해 선천성 횡격막 결손증에 대한 병리 생리학적 원인규명 및 특성 등에 대한 연구의 차원을 넘어 각종의 새로운 치료방법의 시도가 활발하다. 아직 확립되지 못한 폐 저형성증의 원인(Pathogenesis)에 대한 전자현미경적 폐세포 관찰, 폐의 DNA나 Protein 정량 분석, surfactants나 nitric oxide synthetase의 정량 정성 분석, 출생 후 지속적 폐혈관 고혈압(persistent pulmonary hypertension)의 병태연구(16) 등등 외에 각종의 hormones나 vitamins, extracorporeal membrane oxygenation(E), oscillating ventilator, hypercapnia 유발(17) 등등의 새로운 치료 시도가 그 예일 것이다. 더욱이 근차에는 선천성 횡격막 결손증 이외의 장기 즉 심혈관계(18)나 골격계 등의 선천성 병변에 대한 nitrofen을 이용한 실험적 모델의 가능성 및 그 병변의 구체적인 보고들도 활발히 보고되고 있는 형편이다.

새로이 실험을 시도하는 이들을 위해 실험 모델 설정을 위한 경과 및 방법의 소개와 기초적 결과들을 통해 도움이 될 수 있기를 바라는 마음으로 소개하는 바이다.

REFERENCES

- 1) Van der Staak FHJM, deHaan AFJ, Geven WB, Doesburg WH, Festen C. Improving survival for high risk congenital diaphragmatic hernia by using extracorporeal membrane oxygenation. *J Pediatr Surg* 1995;30:1463-7.
- 2) Greenholz SK. Congenital diaphragmatic hernia: an overview. *Semin Pediatr Surg* 1996;5:216-23.
- 3) Ambrose AM, Larson PS, Borzelli FR, Hennigar GR. Toxicologic studies on Nitrofen. *Toxicol Appl Pharmacol* 1971;19:263-75.
- 4) Iritani I. Experimental study on embryogenesis of congenital diaphragmatic hernia. *Anat Embryol* 1984;169:133-9.
- 5) Nakao Y, Ueki R. Congenital diaphragmatic hernia induced by nitrofen in mice and rats: characteristics as animal model and pathogenetic relationship between diaphragmatic hernia and lung hypoplasia. *Congenital Anatm* 1987;27:397-417.
- 6) Ueki R, Nakao Y, Nishida T, Wakabayashi T. Lung hypoplasia in developing mice and rats induced by maternal exposure to nitrofen. *Congenital Anatom* 1990;30:133-43.
- 7) Keijzer R, Liu J, Deimling J, Tibbel D, Post M. Dual hit hypothesis explains pulmonary hypoplasia in the nitrofen model of congenital diaphragmatic hernia. *Am J Pathol* 2000;156:1299-306.
- 8) Jesudason EC, Connell MG, Fernig DG, Lloyd DA, Losty PD. Early lung malformations in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 2000;35:124-7.
- 9) Emery JL, Mithal A. The number of alveoli in the terminal respiratory unit of man during late intrauterine life and childhood. *Arch Dis Child* 1960;35:544-7.
- 10) Landing BH, Dixon LG. Congenital malformations and genetic disorders of the respiratory tract. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:151-8.
- 11) Alfonso LF, Vilanova J, Aldazabal P, Lopez de TB, Tovar JA. Lung growth and maturation in the rat model of experimentally induced congenital diaphragmatic hernia. *Eur J Pediatr Surg* 1993;3:6-11.
- 12) Tenbrinck R, Tibboel DJ, Gaillard JL, Kluth D, Bos AP, Lachmann B, et al. Experimentally induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *J Pediatr Surg* 1990;25:426-9.
- 13) Kluth D, Kangah R, Reich P, Tenbrinck R, Tibboel D, Lambrecht W. Nitrofen induced diaphragmatic hernia in Rat: an animal model. *J Pediatr Surg* 1990;25:850-4.
- 14) Kandalakis JE, Gray SW, Ricketts RR. The diaphragm: Skandalakis JE, Gray SW, eds. *Embryology for Surgeons*. p.491-539, Baltimore, Williams & Wilkins, 1996.
- 15) Klith D, Tenbrinck R, von Ekesparre M, Kangah R, Reich P, Brandsma A, et al. The natural history of congenital diaphragmatic hernia and pulmonary hypoplasia in the embryo. *J Pediatr Surg* 1993;28:456-63.
- 16) Okoye BO, Losty PD, Lloyd DA, Gosney JR. Effect of prenatal glucocorticoids on pulmonary vascular muscularisation in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1998;33:76-80.
- 17) Wung JT, Sahni R, Moffitt ST, Lipsitz E, Stolar CJ. Congenital diaphragmatic hernia: Survival treated with very delayed surgery, spontaneous respiration, and no chest tube. *J Pediatr Surg* 1995;30:406-9.
- 18) Migliazza L, Otten C, Xia H, Rodriguez JJ, Diez-Pardo JA. Cardiovascular malformations in congenital diaphragmatic hernia: human and experimental studies. *J Pediatr Surg* 1999;34:1352-8.