

단시간 허용농도의 toluene이 benzene대사에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 예방의학교실

노재훈 · 신동천 · 박정균 · 문영한

근로복지공사 진폐연구소

정 호 근

= Abstract =

Effect of STEL-toluene on Metabolism of Benzene in Rats

Jaehoon Roh, Dong Chun Shin, Jung Gyun Park, Young Hahn Moon

*Department of Preventive Medicine and Public Health,
College of Medicine Yonsei University*

Ho Keun Chung

The Institute for Pneumoconiosis, Korea Welfare Corporation

Benzene and toluene, which are widely used aromatic hydrocarbons in workplace, are recently proved to cause health hazards due to their toxic effects.

This study investigated the influence of toluene on the urinary excretion of benzene metabolite by administering short term exposure limit(STEL) of these compounds(i. e., 13.8mg/kg of benzene and 108.8 mg/kg of toluene) intraperitoneally into Sprague-Dawley rats. After administration, urinary phenol concentration of rat was measured by gas chromatography for every three hours. Data were analyzed by non-parametric statistical methods using Kruskal-Wallis multi-sample test and Mann-Whitney U test. The following results were obtained:

1. Administration of STEL-benzene increased urinary phenol concentration in rats.
2. Urinary phenol concentration was increased logarithmically according to the dosage of benzene.
3. Excretion of phenol in urine was decreased when benzene and toluene were administered simultaneously compared with administering benzene alone.

In summary, these results reveal that administration of STEL of toluene has antagonistic effect of urinary excretion of benzene metabolite in rats.

I. 서 론

Benzene은 산업장에서 유기용제로 널리 쓰여져 왔으나 재생불량성 빈혈(Deichman등, 1962 ; Rozman등, 1968 ; Green등, 1981)이나 백혈병(Delore와 Borgomano, 1928 ; Vigliani와 Saita, 1964 ; Aksoy등, 1971 ; 1972 ; 1974)등 benzene이 조혈기에 미치는 독성 때문에 오래전

부터 사용에 제한을 두고 있으며 산업장에서는 benzene에 의한 건강 장애를 방지하기 위해 비교적 독성이 적은 물질인 toluene을 benzene의 대체물로 사용하고 있다. 그러나 근로자는 이 두가지 물질에 같이 노출되는 경우가 많으며 산업장에서 사용하는 toluene에는 소량의 benzene이 함유되어 있어(국립노동과학연구소, 1980), 최근 benzene, toluene등 방향족 탄화수소의 독성 발현과 생체내 대사과정의 상호 연관성에 대하여 관심이 고조되어

* 본 연구의 일부는 1987년도 연세대학교 의과대학 교수 연구비에 의해 이루어졌음.

있다.

이러한 연구 중에는 유기용제가 생체 내에서 작용하여 독성을 일으키는 것에 주안점을 둔 연구(Mallory 등, 1939; Philip과 Jensen, 1970; Dean, 1985)와 이 물질들의 상호 작용에 관한 연구(Ikeda 등, 1972; Andrews 등, 1977; Tunek 등, 1981; Gad-El-Karim 등, 1984)가 있으며, 또한 물질 자체가 독성을 일으키는지 혹은 대사 물질이 더 유독하게 작용하는지에 관한 문제도 논란의 대상이 되고 있다. 따라서 유기용제의 생체내 대사 과정에서 상호 작용시, 길항, 상가 혹은 상승 작용 때문에 각각의 용제를 더 유독하게 할 것인지 혹은 그렇지 않을 것인지에 대한 관심이 연구의 초점이 되고 있다.

Sato와 Nakajima(1979)는 benzene의 산화에 의한 대사물질이 백혈구 감소증을 일으키고 항산화제(antioxidant)의 투여가 이 현상을 저하시킨다고 하였으며, Ikeda 등(1972)은 benzene 자체가 조혈기에 영향을 준다고 하였다. 또한 Pathiratne 등(1986)은 생체의 실험에서 toluene이 hepatic cytochrome P-450을 증가시켜 benzene의 대사를 촉진시킨다고 보고하였고, 이에 반하여 Ikeda 등(1972)은 toluene이 benzene의 대사를 억제하여 benzene의 독작용을 상승시킬 수도 있다고 보고하였다.

Sato와 Nakajima(1979)는 생체 내에서 benzene과 toluene의 복합 투여가 각각을 단독 투여했을 때보다 대사가 지연되는 것을 관찰하였으며 이러한 현상은 용량-반응 관계를 가진다고 하였다. 또한 생체의 실험에서도 상경적 길항 작용에 의해 대사가 억제된다고 보고하였으나, 산업장내 허용농도(threshold limit value) 수준의 농도를 투여하였을 때 이러한 작용이 나타날지에 대해서는 의문이라고 하였다.

단시간 허용농도 수준의 benzene과 toluene을 흰쥐 복강내에 복합 투여하여 미소핵과 증기 염색체 검사를 실시한 결과 benzene 단독 투여시에 비해 세포 유전학적 독성에 차이가 없다고 하였다(Roh 등, 1987).

이러한 일련의 연구 결과들을 검토해 보면 크게 독성에 관한 연구와 대사과정에 관한 연구로 나누어 볼 수 있다. 본 연구와 관련이 있는 대사과정에 관한 연구는 대부분 benzene이 유사한 계통의 방향족 유기용제의 영향을 받아 그 대사과정에 변화를 가져오는 것을 증명하기 위한 것이었다(Parke와 Williams, 1953; Masry 등, 1956; Ikeda 등, 1972; Andrews 등, 1977; Sato와 Nakajima, 1979; Pathiratne 등, 1986). 그러나 아직 유기용제간의

상호작용과 독성에 관한 연관성이 명확하게 증명되지 않았으며 더구나 저농도 폭로시에도 상호작용이 일어날 수 있는지에 대해서는 Sato와 Nakajima(1979)와 Roh 등(1987)의 연구를 제외하고는 찾아보기 어렵다.

본 연구의 목적은 실험동물을 이용하여 benzene 대사 과정에서,

첫째, 단시간 허용농도의 toluene이 benzene 대사물질의 요중 배설에 미치는 변화를 관찰하고,

둘째, toluene을 복합 투여하였을 때 benzene 대사물질의 요중 배설의 변화를 관찰하는 것이다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

생후 10~12주, 체중이 $230.3 \pm 15.1g$ 인 스프루 Sprague-Dawley계 흰쥐를 실험 동물로 사용하였다. 실험 실시 2주 전부터 기온 $25.2 \pm 2.6^{\circ}C$, 습도 $65.6 \pm 3.5\%$ 인 사육장에서 실험 동물사료(삼양사, 서울)와 음료를 자유롭게 섭취하게하여 사육하였다.

본실험에서 사용한 시약은 다음과 같다.

Benzene, chromatographic grade(Burdick & Jackson, USA)

Toluene, chromatographic grade(Burdick & Jackson, USA)

Olive oil, analytic grade(Shinyo Chemical, Japan)
Perchloric acid, analytic grade(Yakuri Chemical, Japan)

Methanol, chromatographic grade(Burdick & Jackson, USA)

Isoprophyl ether, analytic grade(Yakuri Chemical, Japan)

2. 약물 투여 용량

산업장에서 근로자들이 노출될 수 있는 단시간 허용농도(short term exposure limit)인 benzene 25ppm, toluene 200ppm, (American Conference of Governmental Industrial Hygenists, 1986)에 해당하는 용량을 실험 동물의 복강 내로 투여하기 위하여 흰쥐의 호흡량(Guyton, 1947), 체중 그리고 유기용제의 체내 흡수율(Dean, 1978)

을 고려하여 (1), (2) 및 (3)식에 의해 benzene 13.8mg/kg, toluene 108.8mg/kg으로 결정하였다.

$$D = \frac{K \cdot V \cdot M \cdot C}{L \cdot W} \dots\dots\dots (1)$$

$$V = \text{Respiratory volume(cc/min)} \times 60 \times 8 \dots\dots\dots (2)$$

$$\text{Respiratory volume(cc/min)} = 2.1 \times \text{Body weight}^{\frac{3}{4}}(\text{g}) \dots\dots\dots (3)$$

단, D : 복강 투여 용량(mg/g)

K : 유기용제의 체내 흡수율(benzene, 0.57 ; toluene, 0.50)

V : 흰쥐의 8시간 호흡량(ℓ)

M : 유기용제의 분자량(g)

C : 유기용제의 단시간 허용농도(ppm)

L : 기체상수(22,400cc)

W : 흰쥐의 체중(kg)

Benzene 55.0mg/kg과 220.0mg/kg을 고농도 투여량으로 결정하고 유기용제를 olive oil로 희석하여 흰쥐 체중 kg당 2cc를 복강내 1회 투여하였다.

3. 실험군 선정

단독 투여는 benzene 13.8, 55.0 및 220.0mg/kg의 세군이며 두가지 유기용제 복합 투여는 benzene 13.8mg/kg과 toluene 108.8mg/kg, benzene 55.0mg/kg과 toluene 108.8mg/kg, benzene 220.0mg/kg과 toluene 108.8mg/kg의 세 군이었다. 실험 동물은 실험군당 흰쥐 10마리로 모두 60마리를 사용하였다 (Table 1).

Table 1. Experimental groups and doses of organic solvents administered

Reagent & doses(mg/kg)	Number of rats
Benzene 13.8	10
Benzene 55.0	10
Benzene 220.0	10
Benzene 13.8, Toluene 108.8	10
Benzene 55.0, Toluene 108.8	10
Benzene 220.0, Toluene 108.8	10
Total	60

4. 실험 방법

가. 시료의 채취

실험 이틀 전에 흰쥐 한마리를 metabolism cage(대중 산업, 서울)에 넣고 사료와 음료수를 자유롭게 섭취시켰다. 실험 24시간 전부터 흰쥐의 소변의 채취하여 대조군 소변으로 사용하였고 유기용제 투여후 3, 6, 9, 12, 15 및 24시간에 각각 소변 0.5ml를 채취하였으며, 이때, 소변의 증발을 최소화하기 위하여 마개가 달린 urine collection vessel을 이용하였다(Fig. 1).

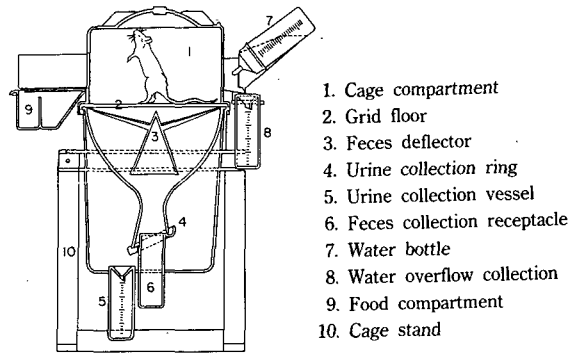


Fig. 1. Schematic diagram of metabolism cage

나. Benzene의 요중 대사 물질 측정

1) 시료의 전처리

Baselt(1980)의 방법을 이용하여 시료를 전처리하였다. Metabolism cage로부터 채취한 흰쥐의 소변 0.5ml를 10ml의 마개가 있는 시험관에 취하여 증류수(Burdick & Jackson, USA)를 섞어 5ml가 되게한 후 여기에 60% perchloric acid 2ml를 가하여 95°C water bath에서 2시간 동안 가수분해시켰다. 이것을 실온에서 냉각시킨 후 99% isopropyl ether 1ml를 첨가하여 1분간 세계 흔들어주어 소변 중 phenol성분이 용매 중에 용해되도록 하였다. Phenol이 용해된 상층액 중 2μl를 취하여 gas chromatography용 분석 시료로 사용하였다.

2) 정량분석

시료 중 phenol의 농도를 정량하기 위하여 1% HCl 용액으로 1mg/ml의 phenol stock solution을 제조한 후 이것으로부터 5, 10, 20 및 40μg/ℓ의 표준 용액을 만들고 (4)식에 의하여 요중 phenol을 정량하였다.

$$C = F \cdot Cs \cdot Hs / H \dots\dots\dots (4)$$

단, C : 요중 대사 물질의 농도(mg/ℓ)

F : 희석배수

Cs : 표준용액의 시료의 농도(mg/ℓ)

Hs : 시료의 peak height

H : 표준용액의 peak height

Table 2. Concentration of urinary phenol after benzene administration

Dose (mg/kg)	0 hour	3 hour	6 hour	9 hour	12 hour	15 hour	24 hour
13.8	27.4 (11.2-43.4)	656.3* (568.2- 666.7)	756.7* (567.0- 990.9)	582.9* (431.8- 874.3)	240.0* (90.0- 336.4)	126.7* (50.0- 142.2)	71.0* (56.7- 88.9)
55.0	26.2 (12.8-41.5)	709.7* (374.2-1,611.0)	1,946.6* (1,411.8-2,379.0)	1,805.4* (1,590.0-2,533.3)	666.7* (533.3-1,226.7)	239.3* (160.0- 402.6)	173.3* (80.0-295.6)
220.0	48.6 (31.9-54.8)	2,612.9* (1,700.0-3,280.0)	3,960.0* (2,840.0-4,400.0)	3,080.0* (2,580.0-3,551.0)	2,800.0* (1,780.0-3,751.4)	1,100.0* (760.0-1,658.7)	522.4* (432.0-823.7)

Values are median values and ranges in parentheses(mg/ℓ).

* p < 0.01 compared with 0 hour values by Mann-Whitney U test

정량분석에 사용된 gas chromatography의 분석 조건은 다음과 같다.

Detector : FID

Column : Stainless steel(2mm×1m)

Packing material : 2% Prophyl ethyl glycol adipate on chromosorb W

Injection temperature : 200℃

Column temperature : 150℃

Detector temperature : 200℃

Carrier gas : N₂

Flow rate : 50ml/min

5. 통계학적 분석

통계 분석의 첫 단계로 셋 이상의 독립된 실험군의 차이를 검정하는 비모수 통계 방법인 Kruskal-Wallis multi-sample test(이하 K-W test라 칭함)를 이용하여 실험군들의 요중 phenol의 농도를 비교하였다. 둘째 단계로 세군간의 요중 phenol농도에 차이가 있다면 어떤 군간에 차이가 있는지를 알기 위하여 Mann-Whitney U test(이하 M-W test라 칭함)를 각각 실시하였다(Bradley, 1968). 실험군의 benzene 투여 용량별 요중 phenol 배설량을 좌표 위에 표시한 결과 대수함수적인 관계를 보여 독립변수인 benzene용량을 대수변환시키고 종속변수인 phenol배설량과의 단순 회귀방정식을 구하였다. 실험자료가 독립변수의 한 값에 두개 이상의 종속변수의 측정치(요중 phenol 배설량)가 있으므로 용량-반응 관계 분석시 보정 계수를 사용한 단순회귀 방정식을 이용하였다(Sokal과 Rohlf, 1981).

상기의 모든 통계량의 유의수준은 0.05로 하였으며 각 실험군의 자료를 부호화하고 SPSS/PC+(Norusis, 1986)를 이용하여 분석하였다.

III. 실험 성적

1. Benzene투여 용량에 따른 요중 phenol의 배설

Benzene의 단시간 허용농도에 해당되는 복강 투여 용량인 benzene 13.8mg/kg을 투여한 경우 요중 phenol의 농도(이하 중앙값 및 범위)는 유기용제 투여 후 3시간에 656.3(568.2~666.7), 6시간에 765.7(567.0~990.9), 9시간에 582.9(431.8~874.3), 12시간에 240.0(90.0~336.4), 15시간에 126.7(50.0~142.2), 24시간에 71.0(56.7~88.9) mg/ℓ로 대조군의 농도 27.4(11.2~43.4)mg/ℓ보다 통계학적으로 유의하게 증가되었다(p < 0.01 by K-W test, M-W test). 요중 phenol 농도가 최고에 이르는 시간은 유기용제 투여 후 6시간이었으며 그 시간의 요중 phenol의 농도는 유기용제 투여 전 소변내 농도에 비해 28배 증가되었다 (Table 2)(Fig. 2).

Benzene 550mg/kg을 투여한 경우 최고 농도에 이르는 시간은 13.8mg/kg 투여군과 동일하였으며 그 농도는 1,946.6(1,411.8~2,379.0)mg/ℓ로 13.8mg/kg 투여군에 비해 현저하게 상승되었다.

Benzene 220.0mg/kg을 투여하였을 때 요중 phenol의 농도는 유기용제 투여 후 3시간에 2,612.9(1,700.0~3,280.0), 6시간에 3,960.0(2,840.0~4,400.0), 9시간에 3,080.0(2,580.0~3,551.0), 12시간에 2,800.0(1,780.0~3,751.4), 15시간에 1,100.0(760.0~1,658.7), 24시간에 522.4(432.0~

823.7)mg/ℓ로 유기용제 투여 후 6시간에 최고 농도를 보였다(Table 2)(Fig. 2).

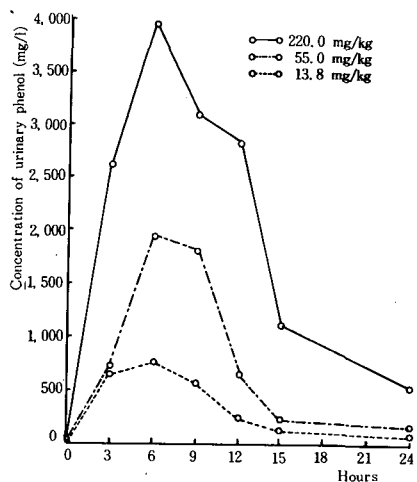


Fig. 2. Concentration of urinary phenol after benzene administration. Each point is median value.

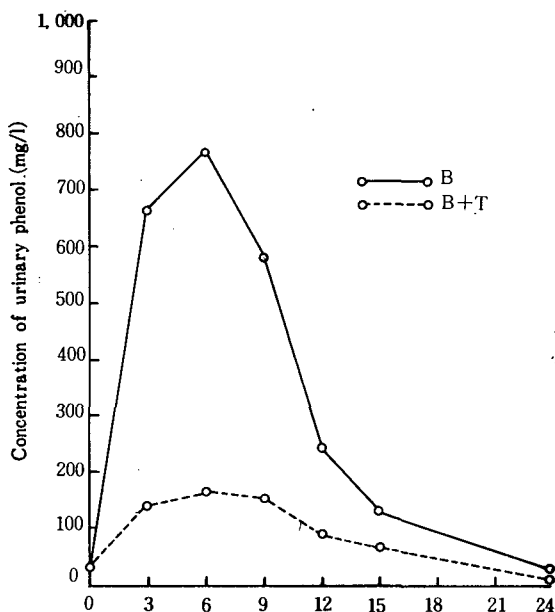


Fig. 3. Concentration of urinary phenol after benzene with or without simultaneous toluene administration. Each point is median value. B : benzene(13.8mg/kg), T : toluene(108.8mg/kg)

2. Benzene과 toluene 복합 투여시 요중 phenol 배설의 변화

단시간 허용농도에 해당되는 toluene이 benzene 투여로 인한 요중 phenol 배설에 주는 영향을 알기 위해 benzene 13.8mg/kg과 toluene 108.8mg/kg을 복합 투여하였다. benzene과 toluene을 투여한 군에서 요중 phenol의 농도는 투여후 3시간에 140.0(93.3~275.6), 6시간에 164.4(88.8~208.8), 9시간에 148.8(48.8~193.3), 12시간에 93.3(44.4~160.0), 15시간에 64.4(37.7~80.0), 24시간에 33.3(26.6~62.2)mg/ℓ로 유기용제 투여 후 6시간에 최고 농도를 보였다($p < 0.01$ by M-W test)(Table 3)(Fig. 3).

Benzene 55.0mg/kg과 toluene 108.8mg/kg을 투여한 군의 요중 phenol의 농도는 3시간에 264.2(153.4~418.4), 6시간에 308.3(219.2~429.4), 9시간에 572.5(295.9~660.6), 12시간에 330.3(175.4~671.6), 15시간에 352.3(109.6~451.4), 24시간에 121.1(66.0~308.3)mg/ℓ로 benzene 55.0mg/kg 단독 투여군에 비하여 전시간대에서 요중 phenol 농도가 낮았으며 benzene 13.8mg/kg과 toluene을 복합 투여한 군과 달리 최고 농도에 이르는 시간은 유기용제 투여후 9시간대이었다(Table 3)(Fig. 4).

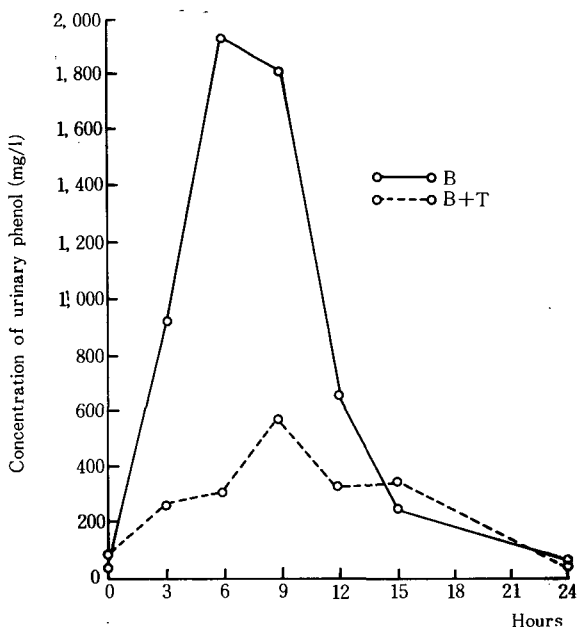


Fig. 4. Concentration of urinary phenol after benzene with or without simultaneous toluene administration. Each point is median value. B : benzene(55.0mg/kg), T : toluene(108.8mg/kg)

Table 3. Concentration of urinary phenol after benzene with simultaneous toluene administration

Reagents	0 hour	3 hour	6 hour	9 hour	12 hour	15 hour	24 hour
B 13.8+T108.8	27.4 (11.2-43.8)	140.0** (93.3-275.6)	164.4** (88.8-208.8)	148.8** (48.8-193.3)	93.3** (44.4-160.0)	64.4* (37.7-80.0)	33.3* (26.6-62.2)
B 55.0+T108.8	54.2 (17.9-61.0)	264.2** (153.3-418.4)	308.3** (219.2-429.4)	572.5** (295.9-660.6)	330.3** (175.4-671.6)	352.3** (109.6-451.4)	121.1* (65.8-308.3)
B 220.0+T108.8	38.4 (12.9-42.3)	286.3** (187.2-528.5)	605.6** (385.4-759.7)	2,312.1** (726.7-1,288.2)	1,221.2** (1,143.1-2,047.9)	1,131.7** (462.4-1,893.8)	390.9* (241.1-572.5)

Values are median values and ranges in parenthesis(mg/l)

B : benzene, T : toluene

* P < 0.05, ** P < 0.05 compared with 0 hour values by Mann-Whitney U test

Benzene 220.0mg/kg과 toluene 108.8mg/kg을 복합 투여한 군의 요중 phenol의 농도는 투여후 3시간에 286.3(187.2~528.5), 6시간에 605.6(385.4~759.7), 9시간에 2,312.1(726.7~1,288.2), 12시간에 1,221.2(1,143.1~2,047.9), 15시간에 1,131.7(462.4~1,893.8), 24시간에 390.0(241.1~572.5)mg/l로 benzene 220.0mg/kg 단독 투여군에 비해 낮았으며 최고 농도에 이르는 시간은 유기용제 투여후 9시간대이었다(Table 3)(Fig. 5)

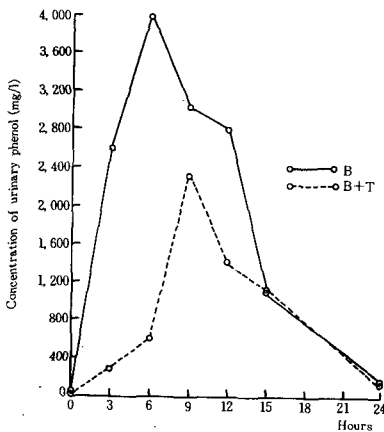


Fig. 5. Concentration of urinary phenol after benzene with or without simultaneous toluene administration Each point is median value.

B : benzene(220.0mg/kg), T : toluene(108.8mg/kg)

3. Benzene투여량에 따른 요중 phenol의 배설량

13.8mg/kg의 benzene을 단독 투여한 군의 24시간 요중 phenol 배설량은 43.9(34.8~68.7) μ mole로 benzene 투여량의 59.1(31.6~64.0)%가 24시간에 배설되었으며 to-

luene(108.8mg/kg)을 복합 투여한 경우에 24시간 요중 phenol 배설이 benzene 투여량의 23.2(15.9~31.9)%로 통계학적으로 유의하게 감소되었다(p < 0.01 by M-W test).

55.0mg/kg의 benzene을 단독 투여한 군의 24시간 요중 phenol 배설량은 112.4(66.9~159.4) μ mole로 benzene 투여량의 39.4(22.1~53.5)%가 24시간에 배설되었으며 toluene(108.8mg/kg)을 복합 투여한 경우에 24시간 요중 phenol 배설이 benzene 투여량의 12.8(8.9~17.6)%로 감소되었다.

220.0mg/kg의 benzene을 단독 투여한 군의 24시간 요중 phenol 배설량은 287.4(202.1~385.2) μ mole로 benzene 투여량의 18.0(13.6~22.2)%가 24시간에 배설되었으며 toluene(108.8mg/kg)을 복합 투여한 경우에 24시간 요중 phenol 배설이 각각 benzene 투여량의 8.6(6.1~10.5)%로 통계학적으로 유의하게 감소되었다(p < 0.01 by M-W test).

따라서, toluene투여가 benzene투여로 인한 요중 phenol 배설량을 억제시킴을 알 수 있었다(Table 4).

4. Benzene 투여량과 요중 phenol 배설량의 관계

Benzene 13.8mg/kg(176.3 μ mole/kg), 55.0mg/kg(705.1 μ mole/kg) 및 220.0mg/kg(2,820.5 μ mole/kg) 투여군의 24시간 요중 phenol의 배설량은 각각 103.9(55.6~103.9), 254.2(155.6~376.8) 및 507.8(383.2~570.8) μ mole/kg로 benzene 투여량과 요중 phenol 배설량간에는 대수함수적인 관계를 보여 주고 있으며 그 관계는 (5)식과 같다 (Fig. 6).

Table 4. Amount of urinary phenol excreted in 24 hours after benzene with or without simultaneous toluene administration

Reagents(mg/kg)	Administered amount of benzene(μ mole)(1)	Excreted amount of phenol(μ mole)(2)	Excretion ratio(%) (2)/(1) \times 100
B 13.8	97.3 (72.9- 116.3)	43.9 (34.8- 68.7)	59.1 (31.6-64.0)
B 13.8+T 108.8	71.1 (67.9- 72.5)	16.8 (10.8- 22.9)	23.2* (15.9-31.9)
B 55.0	297.8 (279.5- 410.4)	112.4 (66.9- 159.4)	39.4 (22.1-53.5)
B 55.0+T 108.8	490.8 (381.9- 505.6)	49.5 (36.9- 87.3)	12.8* (8.9-17.6)
B 220.0	1,489.9 (1,278.7-1,836.4)	287.4 (202.1-385.2)	18.0 (13.6-22.2)
B 220.0+T 108.8	1,773.0 (1,574.5-1,963.1)	142.8 (131.0-172.3)	8.6* (6.1-10.5)

Values are median values and ranges in parenthesis

* $P < 0.01$ compared with benzene administration group by Mann-Whitney U test

B : benzene, T : toluene

$$Y = 337.2 \log X - 678.6 (r^2 = 0.89, P < 0.01) \dots (5)$$

단, X : benzene 투여량(μ mole/kg)

Y : 24시간 요중 phenol의 배설량(μ mole/kg)

IV. 고 찰

방향족 탄화수소인 benzene과 toluene은 중추신경계를 억제시키고 피부, 호흡기 및 상기도에 자극 증상을 일으킨다. 고농도의 방향족 탄화수소를 흡입한 경우 일시적인 정신 흥분 상태가 유발되나 결국에는 중추신경계 억제 상태에 이른다. Benzene에 장기간 노출되면 적혈구 및 백혈구 수의 감소와 응고작용의 장애를 동반하는 조혈기 장애가 생긴다. Benzene은 골수 세포에 장애를 일으켜 혈구 감소를 일으키고 이에따라 백혈구와 적혈구의 전구 세포가 증식된다. 계속적으로 benzene에 노출되면 가끔 골수의 조절 기능이 불가역적 상태로 되어 비정상적인 혈구상을 나타내지만 benzene노출을 중단시키면 정상적인 혈구상을 보인다. Benzene에 의해 myeloblastic leukemia(Mallory등, 1939 ; Vigliani와 Saita, 1964 ; Forni와 Moreo, 1967), chronic myeloid leukemia(Vigliani와 Saita, 1964 ; Sellyei와 Kelemen, 1971), lymphatic leukemia(Girard등, 1971), Hodgkin's disease(Aksoy등, 1974) 등의 질병이 발생된다고 보고되었고, benzene 10g내외를

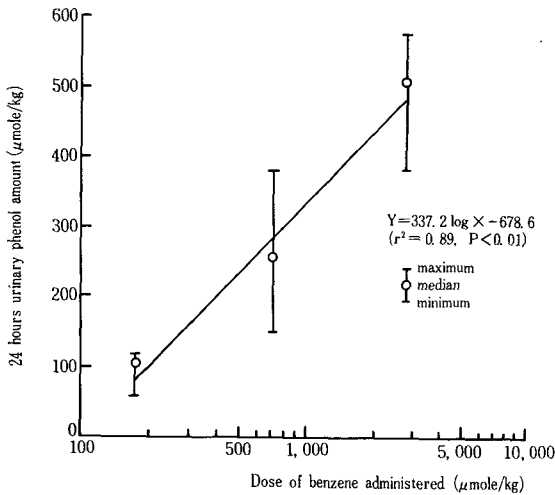


Fig. 6. Dose-response relationship between dose of benzene administered and 24 hours urinary phenol amount

인체에 경구 투여한 경우 중추신경계에 작용하여 구토, 빈맥, 섬망, 혼수상태에 이르며 중등도의 증독시는 현기증, 흥분, 두통, 시야 장애와 경련이 나타난다고 보고되었다 (Von Oettingen 등, 1942).

Toluene은 중추신경계에 대한 마취 작용이 있으며 신장과 간장에 영향을 주고(Benignus, 1981) 호흡기와 점막을 자극하는 것으로 알려져 있다(Longley 등, 1967). Toluene이 함유된 접착제의 상습 흡입자에게서 소뇌 기능 저하, 보행 부조, 의지성 진전, Babinski반응, 이상뇌파 소견, 환청, 환각이 나타나는 encephalopathy등이 보고되었으며(Grabski, 1961; Knox와 Nelson, 1966; Cohr와 Stockholm, 1979), 부정맥으로 인한 사망례도 보고되었다(Nomiyama와 Nomiyama, 1978). Toluene에 장기간 노출되면 전신 쇠약과 경한 중추신경계 증상이 나타나지만 만성 benzene 증독시에 나타나는 백혈병은 생기지 않는다고 하였다(Matsushita, 1966). Fabre 등(1955)은 광범위한 동물 실험을 실시하여 toluene이 골수 세포를 억제시키지 않는다는 것을 밝혔으며 따라서 benzene의 대치물로 toluene을 사용하고 있다.

Benzene의 체내 대사 과정 중 형성되는 benzene epoxide는 RNA와 공유결합하여 mitochondria 내에서 RNA 합성을 저해시켜 독성을 일으킨다고 하였다(Jerina와 Daly, 1974; Gut, 1976). 반면 Tunek 등(1978)과 Kalf 등(1982)은 RNA와 공유결합하는 것은 benzene epoxide가 아니라 phenol 화합물이라고 보고하여 아직까지 benzene의 독성 기전이 분명하게 밝혀지지 않고 있다.

Parke와 Williams(1953)는 ^{14}C -benzene을 토끼에 경구적으로 투여한 후 ^{14}C -benzene을 정량분석하여 benzene 투여량의 43%는 대사되지 않고 호기로 배출되고, 24%는 요중 phenol, 5%는 quinol 그리고 소량은 기타 물질로 배설된다는 것을 밝혀냈다. 그러나 현재까지 benzene hydroxylation의 기전은 잘 알려져 있지 않고 두가지 가설이 제시되고 있다. 첫째, benzene이 효소작용을 거쳐 직접 phenol로 전환되며(Ingelman-Sundberg와 Hagbjork, 1982), 둘째, benzene이 microsomal mixed function oxidase에 의해 benzene epoxide로 되고 비효소적 반응을 통해 phenol로 된다고 하였다(Jerina와 Daly, 1974).

유기용제 대상의 상호작용에 관하여 Ikeda 등(1972)은 Wistar rat에 benzene(110.0mg/kg)을 단독투여하고 다른 실험군에 benzene(110.0mg/kg)과 toluene(430.0mg/kg)을 복합 투여하여 benzene 대사물인 요중 phenol의 배설량을

측정하였다. 그 결과 benzene과 toluene을 동시에 투여할 때 요중 phenol 배설량이 benzene 단독 투여시보다 감소하여 benzene이 대사되어 phenol 화합물로 배설되는 과정을 toluene이 억제한다고 보고하였다. Andrews 등(1977)은 ICR계 mouse에 benzene(880.0mg/kg)과 toluene(1,720.0mg/kg)을 단독 또는 복합 투여하고 phenol의 배설량을 측정된 결과, benzene을 단독 투여하였을 때 24시간 내에 benzene 대사물이 20.1%배설되었으나 toluene을 복합 투여하였을 때에는 7.9%로 배설이 감소되었으며, 반면 대사되지 않은 benzene은 호기 중으로 배출이 증가되었다고 보고하였다.

Sato와 Nakajima(1979)는 Wistar rat에 benzene(391.0 mg/kg)과 toluene(461.0mg/kg), benzene(24.0mg/kg)과 toluene(29.0mg/kg)을 복강내에 투여하고 요중 phenol량을 측정된 결과 고농도의 benzene과 toluene의 복합 투여시에는 고농도 benzene 단독 투여시에 비해 요중 phenol량이 감소되었으나 저농도의 benzene과 toluene의 복합 투여시에는 저농도의 benzene단독 투여시에 비하여 요중 phenol량이 감소되지 않았다고 보고하였다.

Toluene(867.0mg/kg)과 benzene(440.0mg/kg)을 mouse피하에 6일간 투여한 후 골수 세포의 증식 과정을 관찰한 결과 benzene투여에 의한 골수 세포의 성장 억제가 toluene의 투여에 의해 완화되었으며(Tunek 등, 1981), 고농도 benzene 투여에 의한 염색체 이상과 미소핵 발현이 고농도 toluene복합 투여로 감소되었으나 benzene(11mg/kg)과 toluene(108.8mg/kg)을 동시 투여한 때는 염색체 이상과 미소핵 발현이 나타나지 않았다고 하였다(Gad-El-Karim 등, 1984; Roh 등, 1987).

Toluene 1,000ppm과 n-hexane 1,000ppm을 단독 또는 동시에 1일 12시간씩 16주간 mouse에 흡입시킨 결과 toluene과 n-hexane을 복합 흡입시킨 군의 신경 전달 장애가 n-hexane 단독 흡입에 비해 적었으며 toluene을 단독 흡입시킨 군에서는 신경 전달 장애가 나타나지 않았다고 하였다(Takeuchi 등, 1981).

이상의 연구 결과들을 종합하여 보면 고농도 toluene은 benzene을 포함하여 몇가지 유기용제의 대사를 억제시키지 않고 TLV수준의 toluene은 benzene대사를 억제시키지 않는 것으로 알려져 있으나 중간 농도 수준이라 할 수 있는 단시간 허용농도 수준의 toluene에 의한 benzene 대사 억제에 대한 연구 보고는 없는 실정이다.

본 연구에서는 이점을 명확하게 하기 위하여 산업장

근로자들에게 허용되는 단시간 허용농도의 benzene과 toluene을 흰쥐의 호흡량(Guyton, 1947)과 유기용제의 체내 흡수율(Dean, 1978)을 계산하여 benzene 13.8mg/kg, toluene 108.8mg/kg을 흰쥐의 복강내에 투여하였다. 실험 결과 단시간 허용농도 범위의 toluene 투여시 phenol 배설량이 감소되는 것으로 보아 단시간 허용농도의 toluene은 benzene대사를 억제시키는 것을 알 수 있었다.

그러나 본 연구는 실험 동물을 이용하였기 때문에 동물 실험 연구가 갖는 몇가지 제한점을 갖는다. 첫째, 흰쥐와 인체의 독성대사와 반응에는 차이가 있을 것이며 둘째, 복강내 투여와 흡입 투여간에는 독성대사가 다를 수 있으며 셋째, 단시간 허용농도를 흰쥐의 호흡량과 체내 흡수율을 계산하여 투여한 점이다. 따라서 이 연구결과를 일반 산업장 근로자에게 적용하기에는 다소 무리가 따를 것으로 예상되기 때문에 고농도와 저농도를 포함한 흡입 독성 실험, 대사 억제 작용의 기전을 밝히기 위한 생화학적 연구와 산업장 근로자를 대상으로 한 역학적 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

산업장에서 공업용 유기용제로 사용되고 있는 방향족 탄화수소인 benzene와 toluene은 최근 그 독성이 문제시 되고 있다.

본 연구에서는 산업장의 근로자들이 노출될 수 있는 농도의 toluene이 benzene대사에 영향을 주는지를 알고자 단시간 허용농도에 해당하는 benzene 13.8mg/kg과 toluene 108.8mg/kg을 Sprague-Dawley계 흰쥐의 복강 내에 투여하고 시간대별로 요중 phenol 농도를 gas chromatography로 정량분석하여 그 배설 양상을 관찰하였다. 비모수 통계 검정법인 Kruskal-Wallis multi-sample test와 Mann Whitney U test로 통계학적인 분석을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 산업장에서 단시간 허용농도에 해당되는 benzene의 투여가 요중 phenol의 농도를 증가시켰다.

2. Benzene투여 용량에 따라 요중 phenol배설량은 대수함수적으로 증가되었으며 최고 농도에 이르는 시간은 투여 후 6시간대이었다.

3. 산업장에서 단시간 허용농도에 해당되는 toluene의 복합 투여에 의해 benzene 단독 투여시보다 요중 phenol 배설이 감소되었으며 최고 농도에 이르는 시간은 단독

투여에 비하여 지연되었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 산업장에서 근로자들이 노출되는 농도의 benzene도 요중 phenol 농도를 증가시키고 단시간 허용농도의 toluene도 benzene대사를 억제시켜 toluene이 benzene대사에 길항작용이 있음을 알 수 있다.

참 고 문 헌

- 국립노동과학연구소 작업환경 평가, 노동과학연구소 연구보고, 국립노동과학연구소, 1980, 쪽 19-46
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists. *Threshold limit values for chemical substances and physical agents in the workroom environment with intended changes for 1986*. Cincinnati, ACGIH, 1986, pp. 10-28
- Aksoy M, Dincol K, Akun T, Erdem S, Dincol G. *Haematological effects of chronic benzene poisoning in 217 workers*. *Brit J Industr Med* 1971; 28: 296-302
- Aksoy M, Dincol K, Erdem S, Akun T, Dincol G. *Details of blood changes in 32 patients with pancytopenia associated with long term exposure to benzene*. *Brit J Industr Med* 1972; 29: 56-64
- Aksoy M, Erdem S, Dincol T, Hepyuksel T, Dincol G. *Chronic exposure to benzene as a possible contributory etiologic factor in Hodgkin's disease*. *Blut* 1974; 28: 293-298
- Andrews LS, Lee EW, Witmer CM, Kocsis J, Snyder R. *Effect of toluene on the metabolism, disposition, and hemopoietic toxicity of ¹⁴H-benzene*. *Biochem Pharmacol* 1977; 26: 293-300
- Baselt RC. *Biological monitoring methods for industrial chemicals*. California, Biomedical Publication, 1980, pp. 41-42
- Benignus VA. *Health effects of toluene: Review*. *Neurotoxicology* 1981; 2: 567-588
- Bradley JV. *Distribution-free statistical tests*. 1st ed. New Jersey, Prentice-Hall Inc., 1968, pp. 129-134
- Cohr KH, Stockholm J. *Toluene: A toxicologic review*. *Scand J Work Environ Health* 1979; 5: 71-90
- Dean BJ. *Genetic toxicology of benzene, toluene, xylene, and phenols*. *Mutation Res* 1978; 47: 75-97
- Dean BJ. *Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluene, xylene, and phenols*. *Mutation Res* 1985; 154: 153-181
- Deichman WB, McDonald WE, Bernal E. *The hematopoietic toxicity of benzene vapours*. *Toxicol Appl Pharmacol* 1962; 5: 201-224

- Delore P, Borgomano C. *Leucémie aiguë au cours de l'intoxication benzénique sur l'origine toxique de certaines leucémies aiguës et leurs relations avec les anémies graves.* *J Med Lyon* 1928 ; 9 : 227–233
- Fabre R, Truhaut R, Laham S, Peran M. *Recherches toxicologiques sur les solvants de remplacement du benzène.* *Arch Maladies Profess Med Travail et Sécurité Sociale* 1955 ; 16 : 197–215
- Forni A, Moreo L. *Cytogenetic studies in a case of benzene leukemia.* *Eur J Cancer* 1967 ; 3 : 251–255
- Gad-El-Karim MM, Harper BI, Legator MS. *Modifications in the myeloclastogenic effect of benzene in mice with toluene, phenobarbital, 3-methyl-cholanthrene, Aroclor 1254, and SKF-525A.* *Mutation Res* 1984 ; 135 : 225–243
- Girard R, Tolot F, Bourret J. *Malignant haematopathies and benzene poisoning.* *Med Lav* 1971 ; 62 : 71–76
- Grabski DA. *Toluene sniffing producing cerebellar degeneration.* *Am J Psychiatry* 1961 ; 118 : 461–462
- Green JD, Snyder CA, Lobue J, Goldstein BD, Albert RE. *Acute and chronic dose-response effect of benzene inhalation on the peripheral blood, bone marrow, and spleen cells of CD-1 male mice.* *Toxicol Appl Pharmacol* 1981 ; 59 : 204–214
- Gut I. *Effect of phenobarbital pretreatment on in vitro enzyme kinetics and in vivo biotransformation of benzene in the rat.* *Arch Toxicol* 1976 ; 35 : 195–206
- Guyton AC. *Measurement of the respiratory volumes of laboratory animals.* *Am J Physiol* 1947 ; 150 : 70–77
- Ikedo M, Ohtsujii H, Imamura T. *In vivo suppression of benzene and styrene oxidation by co-administered toluene in rats and effects of phenobarbital.* *Xenobiotica* 1972 ; 2 : 101–106
- Ingelman-Sundberg M, Hagbjork AL. *On the significance of the cytochrome P-450 dependent hydroxyl radical-mediated oxygenation mechanism.* *Xenobiotica* 1982 ; 12 : 673–686
- Jerina D, Daly JW. *Arene oxide : A new aspects of drug metabolism.* *Science* 1974 ; 185 : 573–582
- Kalf GF, Rushmore T, Snyder R. *Benzene inhibits RNA synthesis in mitochondria from liver and bone marrow.* *Chem Biol Interactions* 1982 ; 42 : 353–370
- Knox JW, Nelson JR. *Permanent encephalopathy from toluene inhalation.* *N Engl J Med* 1966 ; 275 : 1494–1496
- Longley EO, Jones AT, Welch R, Sydney OL. *Two acute toluene episodes in merchant ships.* *Arch Environ Health* 1967 ; 14 : 481–487
- Mallory TB, Gall EA, Brickley WJ. *Chronic exposure to benzene.* *J Ind Hyg Toxicol* 1939 ; 24 : 355–377
- Masry AME, Smith JN, Williams RT. *Studies in detoxication : The metabolism of alkyl benzene.* *Biochem J* 1956 ; 68 : 50–56
- Matsushita T. *Experimental studies in the disturbance of haematopoietic organs due to benzene intoxication.* *Nagoya J Med Sci* 1966 ; 28 : 204–234
- Nomiyama K, Nomiyama H. *Three fatal cases of thinner-sniffing and experimental exposure to toluene in human and animals.* *Int Arch Occup Environ Health* 1978 ; 41 : 55–64
- Norusis MJ. *SPSS/PC+for IBM PC/XT/AT.* Chicago, Illinois, SPSS Inc., 1986, pp. B176–195
- Parke DV, Williams RT. *Studies in detoxication : The metabolism of benzene containing ¹⁴C–benzene.* *Biochem J* 1953 ; 231–238
- Pathiratne A, Puyear RL, Brammer JD. *A comparative study of the effects of benzene, toluene, and xylenes on their in vitro metabolism and drug-metabolizing enzymes in rat liver.* *Toxicol Appl Pharmacol* 1986 ; 82 : 272–280
- Philip P, Jensen MK. *Benzene induced chromosome abnormalities in rat bone marrow cell.* *Acta Path Microbiol Scand* 1970 ; 78 : 489–490
- Roh JH, Moon YH, Kim KY. *The cytogenetic effects of benzene and toluene on bone marrow cells in rats.* *Yonsei Medical Journal* 1987 ; 28 : 298–309
- Rozman C, Woessner S, Saez-Serrania J. *Acute erythromyelosis after benzene poisoning.* *Acta Haemat* 1968 ; 40 : 234–237
- Sato A, Nakajima T. *Dose-dependent metabolic interaction between benzene and toluene in vivo and in vitro.* *Toxicol Appl Pharmacol* 1979 ; 48 : 249–256
- Sellyei M, Kelemen E. *Chromosome study in a case of granulocytic leukemia with 'Pelgerisation' 7 years after benzene pancytopenia.* *Eur J Cancer* 1971 ; 7 : 83–85
- Sokal RT, Rohlf FJ. *Biometry : The principles and practice of statistics in biological research.* 2nd ed. New York, WH Freeman and Co., 1981, pp. 402–490
- Takeuchi Y, Ono Y, Hisanaga N. *An experimental study on the combined effects of n-hexane and toluene on the peripheral nerve of the rat.* *Brit J Industr Med* 1981 ; 38 : 14–19
- Tunek A, Platt KL, Bentley P, Oesch F. *Microsomal metabolism of benzene to species irreversibly binding to microsomal protein and effects of modification of this metabolism.* *Mol Pharmacol* 1978 ; 14 : 920–929
- Tunek A, Olofsson T, Berlin M. *Toxic effects of benzene and benzene metabolites on granulopoietic stem cells*

*and bone marrow cellularity in mice. Toxicol Appl
Pharmacol 1981 ; 59 : 149-156*
Vigliani EC, Saita G. *Benzene and leukemia. N Eng J
Med 1964 ; 271 : 872-876*

Von Oettingen WF, Neal PA, Donahue DD. *The toxicity
and potential dangers of toluene. JAMA 1942 ; 118 :
579-584*
