

## Formaldehyde 가스 흡입에 의한 마우스의 급성독성 및 소핵 유발성에 관한 연구

김충용 · 김 균 · 심점순 · 김용화 · 노정구

한국화학연구소 안전성연구센터

## ACUTE TOXICITY AND MICRONUCLEUS FORMATION STUDY IN MICE EXPOSED TO FORMALDEHYDE BY INHALATION

Choong-Yong Kim, Kyun Kim, Jeom Soon Shim Yong-Hwa Kim and Jung Koo Roh

Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology,  
P.O. Box 9, Daedeog Danji, Daejeon 302-343

(Received April 8, 1991)

(Revision Accepted, April 28, 1991)

**ABSTRACT:** The acute and genetic effect of formaldehyde on mice through inhalation route was studied. The Riley's chamber with one stack of cage was used for the exposure and the micronucleus test was performed under unprecedently maximum exposure concentration. LC50's of formaldehyde in mice by whole body exposure for 4 hours were 105.5 ppm with 95% confidence interval of 72.6 ppm and 143.2 ppm for male, and 159.2 ppm with 95% confidence interval of 116.5 ppm and 272.7 ppm for female. Clinical symptoms by acute exposure were salivation, lacrimation, and abnormal respiration. Weight depression were 180% and 225% for male and female, respectively. Pathological examination of the dead mice showed pulmonary hyperemia, local hemorrhage, and hydrothorax. Renal hyperemia was noticed in the cortex and medulla. Formation of micronucleus was not significant by the 2 hours exposure of 229 ppm and 273 ppm for male and female, respectively.

**Key words:** formaldehyde, micronucleus test, LC50, Riley's chamber, mice, inhalation

## 서 론

Formaldehyde는 섬유류, 염료류, 목재, 화장품 및 소독제를 비롯한 29개 type 이상의 제품에 많이 사용되어 많은 양이 주거환경 및 작업환경내로 유입되고 있다 (노 등, 1988). 상온에서 가연성의 기체로 존재하여 점막에 대해서는 상당히 자극성이 강하고 물에 있어선 55% 까지 용해되어 7~8%의 메탄올이 첨가되어진 공업용 포르말린으로 많이 사용되고 있다 (Nelson 등, 1986). 환경중 formaldehyde에 대한

인간의 노출은 병리학, 해부분야에 있어 사체등의 장기보존용 포르말린의 사용시 발생하는 것 이외에 자동차 배기가스 (NAS, 1976, 1986)에서 발생되며 최근 의류 (Ahmad and Whitson, 1973; Solomons and Cochran, 1984), 옥내에 사용되는 합판과 가구 (Solomons and Cochran, 1984) 등의 잔류성으로 문제시되고 있다. 또한 작업환경적인 노출 가능성의 제시 및 포르말린에 의한 음수자살 및 사고의 예 (Nishi, 1988)에 이르기까지 다양한 형태로 인체에 노출되어지고 있다.

Formaldehyde의 노출에 대한 독성효과는 3가지 종류가 있는데 첫째는 자극성, 둘째는 면역감작성, 마지막으로는 변이원성 및 발암성이다. 급성의 점막에 대한 자극은 실험적 혹은 역학적으로는 많은 연구 (Bernstein 등, 1984)가 진행되어졌고 피부에 대한 알레르기성 감각 또한 많이 연구되어왔지만, 호흡기에 있어 면역적인 감각에 있어서는 그러하지 않다. 그러나 실험동물의 발암성은 1980년 및 1983년 미국의 CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology)에서 rat를 이용한 18개월 및 24개월간 만성 및 발암성 시험(Starr and Gibson, 1985)에서 formaldehyde가 비강내에 squamous cell carcinoma를 유발한다는 보고로서 많은 연구가 진행 되어졌다. 따라서 Ross and Shipley (1980)와 Kerns등 (1983)은 formaldehyde가 DNA와 단백질 사이에 cross-link되어지고, 실험동물 rat를 만성흡입 시킴으로써 비강암의 발생이 증가한다고 각각 보고하였다. 또한 비강점막에서 [ $^3\text{H}$ ]/[ $^{14}\text{C}$ ]의 비율이 농도에 따라 증가한다는 실험을 통하여 formaldehyde가 설치류에서 비강암을 일으키는 mechanism을 생화학적으로 증명하였다. (Casanova-Schmitz등, 1984). 한편 Loosmis (1979)와 Heck등 (1983)은 formaldehyded의 대부분은 적혈구에 빨리 흡수되어 소량만이 혈장에 흡수되고, 또한 Doolittle and Butterworth (1984)는 대부분의 formaldehyde는 비강에서 흡수되어 거의 기도에는 달하지 않는다고 각각 보고하였고, 0.4 ml의 복강내 투여로 골수에 까지는 생물학적인 효과를 유발하기에 충분치 못한 양으로서 소핵이 유발되지 않았다고 보고하였다 (Natarajan 등, 1983). 소핵유발에 있어 골수까지 formaldehyde의 유효농도가 유지되는 점에 있어서 Pereira등 (1982)은 마우스의 경구 LD50 값이 문헌상 (Tatken and Lewis, 1983)에 42 mg/Kg이나 100 mg/Kg으로 경구 투여하여 골수세포에서의 소핵유발이 증가하였다고 보고하였다. 따라서 사람에게 있어서 formaldehyde의 노출 가능성은 흡입을 통한 경로가 가장 많으므로 이에 따른 연구가 요구되어지게 되었다.

한편, 국내의 흡입에 관한 연구에는 소규모의 실험적인 처리를 통하여 부분적인 태자에의 영향 및 태자에 미치는 영향 (문, 1976), 아황산 가스가 LDH-isozyme에 미치는 영향 (정, 1979), 아황산가스와 일산화탄소의 혼합 가스가 혈액상 및 폐 조직에 미치는 영향 (차 등, 1973), 집착제 흡입의 장기조직변화 (손 등, 1982), 집착제 흡입이 간장기능 및 조직변화에 미치는 영향 (김 등, 1984) 등의 연구가 있다. 또한 이들 연구의 대부분이 실험이 용이한 가스상, 혹은 휘발되기 쉬운 액체에 관한 연구에 국한되어 있으며 화합물 상호간의 독성을 비교하기위한 지표인 LC50에 대한 연구 및 흡입에 의한 유전독성학적 연구는 수행되지 못하고 있다. 그러나 국내 산업의 발달에 힘입어 점증하는 용매의 사용, 분무제의 사용, 농약의 살포등에서 유래하는 환경문제로 인하여 우리나라에서도 가스나 미립자에 의한 체계적 독성실험의 필요성이 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 첫째, 문헌상에 나타나지 않은 마우스의 흡입경로에 의한 LC50의 측정 및 독성변화를 파악하는 것이고, 둘째 LC50 보다 높은 고농도의 formaldehyde 가스를 노출시킬 때 소핵이 유발되는지를 알아보고자 하였다. 이러한 연구는 앞으로 작업환경에서 문제가 되는 유기용매 및 기체, 에어로졸 등에 대하여 구미제국과 일본에서 이미 수행되고 있는 흡입에 의한 급성독성의 방법확립에 도움이 될 수 있을 것이며, 포르말린과 같은 특성을 가진 화학물질의 흡입에 의한 유전독성 결과의 해석에 참고가 될 수 있을것으로 생각하며 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 시 약

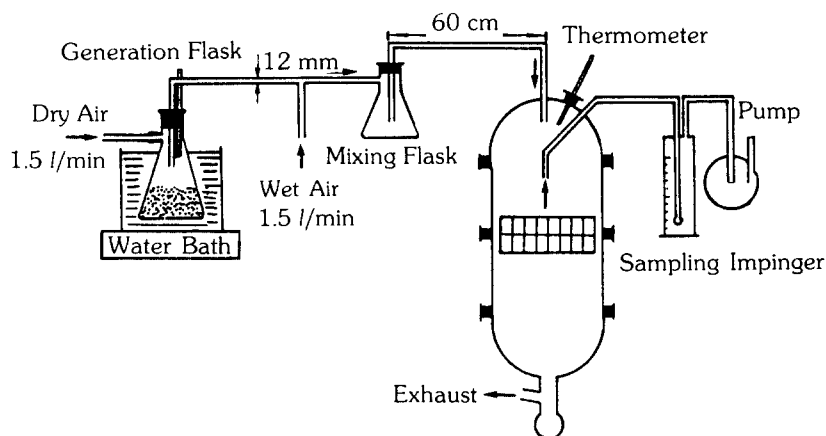
시험물질인 paraformaldehyde는 Yakuri Chemical Co. 의 1급 시약을 사용하였고 발색용 황산은 Junsei Chem. Co.의 GR 이었고 발색시약인 chromotropic acid는 Merck제를 사용하였다. Standardization 용의 formaldehyde 용액은 Shinyo Pure Chem. Co. 제품이었고, iodine은 Mallinckrodt Chemical Works, potassium iodide는 Hayashi Pure Chem. Co. (EP), sodium thiosulfate는 Duksan Pharmaceutical Co. (first grade), sodium carbonate은 Shinyo pure Chem. Co. (GR)제품을 사용하였다.

### 실험방법

#### 1) 흡입에 의한 노출

흡입독성 실험시 사용한 chamber는 Riley (1986)가 고안한 것으로 한국화학연구소 안전성연구센터에서 제작한 것을 사용하였다(그림 1). 12L 부피의 glass chamber로서 상, 중, 하 3부분으로 구분 제작되어, 분리 및 접합이 가능하도록 제작되었으며 chamber내의 농도를 측정할 수 있도록 하였다. 조건은 OECD guideline에 준하여  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 일정하게 유지되는 항온실 내에서 실시하였다. Chamber내 온도 및 습도는 humidity meter (LCD digital hygrometer: Cole-parmer instrument Co.)를 사용하였고, 온도는 NBS 온도계로서, 습도는  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (50% w/w)와  $\text{CaCl}_2$ (50% w/w)로서 보정하여 사용하였다. 그러나 이 기구의 probe는 유기용매의 존재시에는 사용이 불가능하므로 대조군 시험시에 온, 습도를 조정한 것을 처리시의 습도로 간주하였고 온도는 관행적인 온도계를 chamber내에 삽입하여 시험중 수시로 확인하였다. 노출 가스의 chamber내 온도는 3 l/min의 일정한 흐름으로 혼합되는 mixing flask 및 chamber로 연결되는 glass관을 통과시킴으로써 유지하였다. 습도는 40~60% 사이로 유지시키기 위하여 water tower의 bubbler 및 많은 수의 glass관을 이용하여 조제된 1.5 l/min의 wet air를 formaldehyde의 발생에 사용된 1.5 l/min의 압축공기와 1:1의 비율로 mixing flask에서 혼합하여 노출가스의 습도를 유지시켜 주었다. 또한 chamber 내는 3 l/min의 노출가스로 시간당 15회를 환기시켜 주었다.

공시동물은 일본 (Charles River Co.)에서 생산한 CRJ: CD-1 (mouse)를 수입하여 당 연구소 Barrier



**Fig. 1.** Apparatus for the inhalation toxicity experiment (Chamber: height 0.5 m, diameter 0.2 m, volume 12 L).

System에서 SPF 동물로서 그 사육조건으로서 온도는  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 습도  $55\pm 5\%$ 였고, 조명시간은 인공조명으로 점등 12시간 소등 12시간 이었고, 노출 후의 관찰 및 사육은 clean room에서 실시하였다. LC50을 위한 시험은 각 군을 5마리씩으로 하고 압수군을 각기 6개 군으로 나뉘었으며 노출시간은 4시간으로 하였고, 소핵관찰을 위한 시험에서는 각군을 5마리씩 압수 각기 2개군씩으로 구분하여 2시간을 노출하였고, 이에 앞서 노출후 72시간동안 생존할 수 있는 최대의 농도 (MTD)를 산출하기 위한 예비시험도 수행하였다. 이 동물들은 chamber내에 분리형 cage에 각각 넣었고, breathing zone에서 formaldehyde를 sampling 하도록 하였다. 노출기간동안에는 사료 및 음수를 공급하지 않았다.

## 2) Formaldehyde 가스 농도조절 및 정량

발생 formaldehyde 가스의 농도조절은 Paraformaldehyde를 가온수조에서 1.5 l/min의 압축공기로 aeration시켜 조절하였고, chamber 내 formaldehyde 가스의 농도측정은 시작 15분, 2시간, 3시간 20분 후 각기 3회에 걸쳐 10분간 0.5 l/min로 chamber내 노출가스를 sampling하여, impinger내의 증류수에 포집된 formaldehyde를 NIOSH P & CAM 125 (NIOSH, 1977)에 준하여 발색시켜 580 nm 파장에서 Spectrophotometer를 사용하여 정량하였고 산출식은 다음과 같다.

$$\text{PPM} = \frac{C \times 24.47}{V \times \text{M.W.}}$$

C : 시료내 formaldehyde 양 ( $\mu\text{g}$ )

V : 표준조건의 공기시료의 양 (L)  
(온도:  $25^{\circ}\text{C}$ , 압력: 70 mmHg)

M.W. : formaldehyde의 분자량 (30.03)

24.47 : 1 micromole의 formaldehyde gas 양 ( $\mu\text{l}$ )  
(온도:  $25^{\circ}\text{C}$ , 압력: 760 mmHg)

따라서 동물체에 노출된 농도는 세 측정치의 평균값으로 나타내었다.

## 독성평가

### 1) LC50를 위한 실험

임상증상 및 사망여부는 노출기간 및 관찰기간 동안 이뤄지며, 노출기간 관찰은 1회/1시간으로 하고, 노출 후 관찰은 노출직후 12시간을 유의해서 관찰하였고, 체중변화 측정은 노출직후, 노출중단후 7일, 14일 및 사망시 4회에 걸쳐 실시하였다. 육안적 병리검사는 호흡기 및 다른 실질장기에 걸쳐 실시하였고, 실험에 공시된 모든 동물은 부검하였다.

### 2) 골수세포를 이용한 소핵실험

각 시험군은 chamber내 흡입으로 1회 노출한 후 24시간에 골수를 채취하였고, 각 시험군의 동물을 경추탈골하여 죽인 후 대퇴골을 취하여 골수를 3 ml의 Foetal Bovine Serum에 모아 잘 현탁시킨 후 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 침전물을 고르게 현탁시켜 slide glass에 떨어뜨린 후 도말하여 공기중에서 건조시킨 후 5% Giemsa solution에 30분 동안 염색을 실시하였다. 1,000배로 관찰한 오렌지색 또는 분홍색으로 염색된 성숙적혈구 (RBC)와 푸른색으로 염색된 비성숙적혈구인 다염성적혈구 (PCE)의 수와 PCE 세포질내 소핵을 가지는 PCE의 수를 계수하였다.

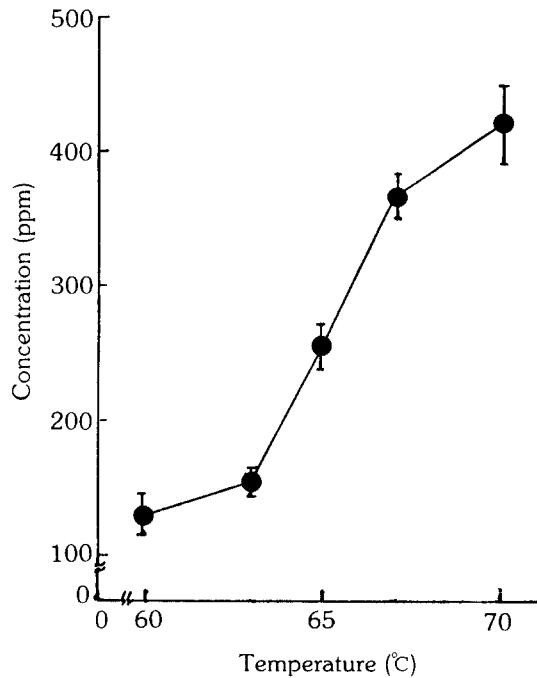
## 통계처리

LC50의 계산은 암수 각기 실측농도를 이용하여 probit법에 따랐고, 소핵실험의 결과는 성숙적혈구 수와 비성숙적혈구 (다염성 적혈구) 수를 총 1,000개를 계수하여 소핵의 빈도를 나타내었으며, 그 판정은 Student's t-test를 이용하여  $P < 0.05$ 인 경우에 유의성을 인정하였다.

## 결 과

### Formaldehyde가스 정량 및 농도조절

Standard 용액의 농도는 NIOSH P&CAM 125 및 235의 방법에 의해 제조하여 0.1 N의 iodine으로 적정하여 1 ml당 9.75  $\mu$ g의 formaldehyde가 들어있음을 알 수 있었다. 건조된 paraformaldehyde 5g을 generation 비이커에 넣고 수조상에서 가열함으로써 발생하는 농도변화는 그림 2에서 보는 바와 같이 온도에 따라 비례하였다.



**Fig. 2.** Concentration of formaldehyde in the chamber at temperatures of the generation bottle.

### LC50와 급성독성 증상

Formaldehyde의 급성 흡입독성 결과는 암, 수컷 각각 표 1과 같다. 수컷의 LC50는 105.5 ppm였고, 95% 신뢰한계는 72.6~143.2 ppm 이었다. 또한 암컷의 LC50는 159.2 ppm 이었고, 95% 신뢰한계는 116.5~272.7 ppm 이었다.

노출 직후에 암컷동물은 wire cage를 물거나 핥으며, preening-habit 및 palpebral closure 현상이 보

**Table 1.** Determination of LD50 of formaldehyde with male and female mice by whole body exposure for 4 hours

Group	Male		Female	
	Concn. (ppm) <sup>a</sup>	Mortality (%)	Concn. (ppm)	Mortality (%)
I	53± 8	0/5( 0)	67± 5	0/5( 0)
II	79± 5	2/5( 40)	100± 8	0/5( 0)
III	132±16	3/5( 60)	157±13	3/5( 60)
IV	155±10	4/5( 80)	168±12	4/5( 80)
V	255±19	5/5(100)	304±16	4/5( 80)
VI	366±17	5/5(100)	469±20	5/5(100)
LC50 <sup>b</sup>	106		159	

<sup>a</sup> Each value represents Mean±S.D. of three measurements

<sup>b</sup> LC50 is calculated by probit method

**Table 2.** Survival and body weight of mice by inhalation of formaldehyde for 4 hours

Sex	Group	Survival			Initial (g)	7 days (g)	Change (g)	Relative to control (%)
		7 days	final					
Male	Control	5/5	5/5	25.7	29.6	+3.9		
	I	5/5	5/5	24.8	28.9	+4.1	5.1	
	II	5/5	3/5	24.5	26.7	+2.2	- 43.6	
	III	4/5	2/5	25.2	25.5	+0.3	- 92.3	
	IV	5/5	1/5	24.8	21.8	-3	-176.9	
	V	4/5	0/5	24.6	24.6	0	-100.0	
	VI	1/5	0/5	27.2	24.0	-3.2	-182.1	
Female	Control	5/5	5/5	21.6	23.6	+2		
	I	5/5	5/5	23.5	24.5	+1	50	
	II	5/5	5/5	23.5	24.8	+1.3	- 35	
	III	5/5	2/5	25.2	24.1	+1.1	-155	
	IV	4/5	1/5	24.7	23.4	-1.3	-165	
	V	3/5	1/5	23.8	21.3	2.5	-225	
	VI	0/5	0/5	24.0	-	-	-	

였는데, 이는 대조군을 포함한 투여군 등에서도 나타나는 공통적인 일반 증상이었고, 특이적인 임상증상은 농도에 따라 발현정도가 다르지만 대체로 노출기간에 나타나는 임상증상은 구강호흡으로 시작하여 salivation 및 lacrimation으로 이어져 이상호흡 (호흡곤란 및 촉박)을 유발하였고 고농도군에서는 두부, 가슴 부위가 붉게 되는 자극 효과를 볼 수 있었다. 사망률에 있어서 수컷 및 암컷군의 최고농도군은 노출 후 24시간 이내 거의 사망하였고, 그 이외 수컷군 모두 (25 마리)에 있어 24시간 이내 사망하지 않은 경우 7일을 경과한 후에 사망하였다. 암컷군은 V군의 일부를 제외하고는 수컷군 경우와 같이 7일 이후 사망하는 결과를 보였다.

체중변화는 사망율에서 보는 바와 같이 암, 수컷군 대개의 경우 7일 이후 사망하는 예를 보이므로 7일까지의 체중을 측정하여 control군에 대해 각군의 체중변화량을 백분율로 표시하였다. 표 2에서 보는 바와 같이 암, 수컷군 공히 농도가 높아감에 따라 체중감소율은 더 높아지고, 수컷군(VI군) 및 암컷군(V군)에서와 같이 고농도인 경우 각기 -182%, -225%로 체중감소 현상이 가장 두드러지고 있다.

14일의 관찰기간 중 사망한 동물에서의 부검소견은 폐에 충혈 및 국소성 출혈이 관찰되었으며, 신장의 피, 수질부의 충혈현상을 볼 수 있었다. 암수 각각의 최고농도군에서는 흉강내 액체저류 및 비공의 액체를 볼 수 있었으며, 장내에는 gas가 발생함도 관찰되었다.

### 골수세포를 이용한 소핵실험

소핵실험의 농도결정은 표 3과 같이 3일간의 MTD 값을 구하여 이에 준하여 노출하였다. 두개 농도를 각각 암, 수컷에 노출시킨 후 24 시간 후에 각각 골수를 채취하여 표본을 만들어 소핵을 가지는 다염성 적혈구를 계수하여 그 결과를 표 4에 기재하였다. 그 결과 암, 수컷의 각각 2개군 및 대조군에서는 소핵이 유발되지 않았지만 수컷군에는 노출농도가 증가함에 따라 PCE/PCE+RBC의 비율은 감소되어 세포독성이 있음을 시사하였다.

**Table 3.** Determination of MTD for 3 days by inhalation of formaldehyde

Sex	Animal No.	Concentration <sup>a</sup> (ppm)	Exposure time (hours)	Mortality (%)
M	5	255±15.0	2	20
M	5	314±17.5	2	60

<sup>a</sup> Each value represents mean±S.D.

**Table 4.** Result of micronucleus test by inhalation of formaldehyde

Sex	Concentration <sup>a</sup> (ppm)	Sampling time (hr)	MnPCE <sup>b</sup>	PCE/PCE+RBC <sup>b</sup>
M	0	24	1.1±0.5	0.61±0.01
M	181±24	24	2.0±0.8	0.46±0.01
M	229±21	24	0.8±0.8	0.47±0.03
F	0	24	1.2±0.2	0.67±0.03
F	253±27	24	0.8±0.4	0.64±0.01
F	273±25	24	0.8±0.4	0.61±0.01

<sup>a</sup> Each value represents mean±S.D.

<sup>b</sup> Each value represents mean±S.E.

## 고 찰

본 실험 수행시 사용한 가스발생장치는 suction 플라스크를 이용하여 dry air가 paraformaldehyde에 직접 접촉하게 하고, 가온하여 가스를 발생 시켰다. 이와 같은 방법은 Leach등 (1984)과 유사하나 Leach의 방법은 발생되는 formaldehyde의 농도가 제한적이었다. 따라서 본 실험의 목적상 formaldehyde의 LC50 산출 및 기타의 독성자료 제공에 필요한 고농도의 가스를 발생시킬 수 있는 Balmat (1985)의 방법을 응용 보완하였다. 이것은 sample container가 7 cm i.d.×9 cm인 원통형 tube를 사용하여 가스를 발생시키므로 원리면에서 볼 때 본 실험의 발생장치와 차이가 없는 것으로 사료된다. 한편 이와 같은 장치에서의 mixing flask 및 glass관으로 연결되는 chamber는 항온실 내에서 실시되어 노출가스의 온도는 21~23℃로 유지됨으로써 formaldehyde 발생을 위한 가온된 1.5 l/min의 압축공기는 chamber내 노출가스의 온도에 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

또한 chamber내 4시간의 formaldehyde 농도변화는 4~15%의 오차 범위를 볼 수 있었다. 이는 노출 4시간동안에 동물의 호흡 및 분비물에 formaldehyde가 용해됨으로써 chamber내의 농도변화가 있는 것으로 생각되고, 이는 Official Journal of the European Communities (1982)에 농도의 오차한계가 15%까지이므로 본 실험 과정이 guideline에 벗어나지 않음을 알 수 있었다.

Formaldehyde의 노출농도에 있어서는 RTECS (1983)에서 mouse에 LCLo의 값이 900 mg/m<sup>2</sup>/2 hours으로 되어 있고, 문헌치에서 밝힌 바와 같이 발생 최고 농도가 1,900 ppm으로 발생의 한계성을 제시하였다. 따라서 노출 4시간으로 LC50의 최고 mortality 값을 얻기 위하여는 실험적으로 1,200~1,400 ppm까지의 고농도로 system running을 실시하였으나 LC50 결과는 mouse 수컷에서 106 ppm이고, 암컷에서는 159 ppm으로 산출되었다. 따라서 문헌치의 마우스 LCLo와는 최소 5배 이상이 차이가 있었고, Rat LC50인 480 ppm에 비해서는 3배정도가 낮은 것으로 나타났다.

관찰기간 중에 체중 변화에 있어서는 노출직후 1.1~1.4 g의 체중감소가 있었으나 이는 대조군에서도 동일하게 나타나는 현상으로서 노출 4시간에 따르는 절수 및 절식으로 비롯되는 것으로 생각되어진다. 체중변화는 14일 까지 측정하였으나 사망하는 예가 대개 7일 이후에 발생하였으므로, formaldehyde의 노출로 인한 생존동물의 체중변화는 7일 까지의 체중으로 평가하였다. 그 결과는 대조군에 비해 최고로, 수컷은 180% 암컷은 225% 정도까지 감소하였고, 농도가 더욱 높아질수록 감소하는 현상을 볼 수 있었는데 이는 Maronpot등 (1986)이 13주의 mouse 실험에서 보고한 바와 일치함을 알 수 있었다. 임상증상에 있어서는 구강호흡으로 시작하여 salivation, lacrimation을 볼 수 있는데 이는 자극효과에 기인하는 것으로 여러문헌 (Berstein등 1984; Moronpot등 1986)과 일치 하였다.

최근 흡입독성연구에 있어서 투여된 chemical의 혈액내 AUC(area under the blood concentration time curve)를 측정하고, 흡입노출 말기의 혈액농도와 노출시간을 곱하여, systemic dose(mg/Kg body weight)를 산출함으로써 이들을 비교하는 방법으로 독성치의 비교연구가 많이 수행 (Jenderny등, 1988; Walk등, 1987) 되어지고 있으나 본 실험의 골수세포를 이용한 소핵 실험에 있어서는 노출경로, 시간 및 농도가 guideline 상에서 정하여 지지 않은 사항이므로 노출시간은 Youichi등 (1986)에 의해 보고된 바에 따라 실시하였다. 따라서 2시간의 흡입노출로 3일간의 MTD 값을 기준으로 하여 수컷은 229 ppm, 암컷은 273 ppm으로 정하였고 이 때의 소핵시험의 결과는 negative 였다.

본 실험에서는 Pereira등 (1982)의 보고와 같이 노출농도를 고농도로 하여 일시에 damage를 주어 소핵유발 가능성으로 실험을 수행하였으나 그 결과는 deeper target에 이르기 전에 mutagenic action이 감소한다는 보고 (Ross and Shipley, 1980; Heck등, 1983; Doolittle and Butter worth, 1984; Proctor등, 1986)를 다시 한번 확인한 것으로 나타났고, 본 연구 결과를 포함한 다른 연구자들의 결과를 종합하여 볼 때, 경구투여에 의하여만 소핵이 유발된 것으로 밝혀진 것이 된다. 이는 formaldehyde가 장을 통하여 흡수되고 간에서 ultimate clastogen으로 변하여야만 되거나, 경구투여에 의한 노출의 절대량이 다른 경로보다 크다는 사실등 두가지 요인으로 압축될 수 있을 것이다. 그러나 여러 연구자 (Ross and Shipley, 1980; Heck등, 1983; Doolittle and Butter Worth, 1984; Proctor등, 1986)의 연구에 의하면 formaldehyde의 체내대사는 비교적 단순하게 formic acid로 변환되어 쉽게 배설되어질 것으로 추정하고 있으므로 투여경로의 상이함에 의한 독성 증가로 보기는 어렵다. 더욱이 Pereira (1982)의 연구결과에 의하면 LD50 값보다 2배정도의 투여로 소핵이 유발된 것으로 보아, 둘째 가정인 경구 투여에 의하여 노출의 절대량의 최대로 된것으로 결론을 내릴 수 있다. 이로 볼 때 화학물질의 사용형태에 따른 노출경로 및 최대 체내 흡수경로에 의한 소핵시험의 결과를 검토하는 것이 필요한 것으로 생각된다. 이와같은 맥락에서 일반 발암성 시험에서 연속투여에 의하여 암의 발생을 관찰하였으므로, 소핵시험에서도 연속투여에 의한 영향은 어떠한지에 대하여 차후에 추구되어야 할 것으로 생각되며, 이러한 구상은 OECD에서 추천하는 소핵 시험방법의 절차와도 일치하는 것이다.



본 연구에서 수행되지 못한 사항으로서는 흡입독성 시험시에 양성대조군으로 사용할 수 있는 화합물의 선정이다. 일반적으로 소핵시험에서 양성 대조군으로 사용되는 cyclophosphamide의 사용이 가능할 수 있다거나 혹은 이보다 간편한 기체상 화합물질의 선발에 대한 연구도 병행되어야 할 것이다. 이 때 필수적으로 양성대조물질을 사용한 chamber의 세척이 완벽할 수 있는 방향에서 고려되어야 할 것이다.

대기환경 내에 mutagen 및 carcinogen이 상당수가 존재하고 있음이 밝혀지거나 의심시 되고 있으므로 노출경로의 하나인 흡입노출에 의하여 발생될 수 있는 화합물질의 급성흡입독성 및 유전독성 연구가 병행되어야 할 것으로 생각되며 이런 의미에서 볼 때 본 연구에서의 실험적인 접근방법이 참고가 될 수 있기를 기대한다.

### 참고문헌

- Ahmad, I. and Whitson, J.C. (1973): Formaldehyde: How much of a hazard ? *Indust. Med. Surg.*, **42**, 26-27.
- Balmat, J.L. (1985): Generation of constant formaldehyde level for inhalation studies, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **46**, 690-692.
- Bernstein, R.S., Stayner, L.T., Elliott, L.T., Brough, R.K., Falk, H. and Blade, L. (1984): Inhalation exposure to formaldehyde: An overview of its toxicology, epidemiology, monitoring, and control. *Am. Ind. Hyg. J.*, **45**(11), 778-785.
- Casanova-Schmitz, M., Starr, T.B. and Heck, H.d'A. (1984): Differentiation between metabolic incorporation and covalent binding in the labeling of macromolecules in the rat nasal mucosa and bone marrow by inhaled [ $^{14}\text{C}$ ] and [ $^3\text{H}$ ] formaldehyde, *Toxicol. and Appl. Pharmacol.*, **76**, 26-44.
- Doolittle, D.J. and Butterworth, B.E. (1984): Assessment of chemically induced DNA repair in rat tracheal epithelial cell, *Carcinogenesis*, **5**, 773-779.
- Heck, H.d'A., Chin, T.Y. and Schmitz, M.C. (1983): Distribution of  $^{14}\text{C}$ -formaldehyde in rats after inhalation exposure, in *Formaldehyde Toxicity*, (Gibson, J.E. (Ed), (Hemisphere Publ., New York), p. 26-37.
- Jenderny, J., Walk, R.A., Rohrborn, G. and Hackenberg, U. (1988): Chromosomal abnormalities and sister-chromatid exchange in bone marrow cell of mice and chinese hamsters after inhalation and intraperitoneal administration: II. cyclophosphamide, *Mutat. Res.*, **203**, 1-10.
- Kerns, W.D., Pavkov, K.L., Donofrio, D.J., Gralla, E.J. and Swenberg, J.A. (1983): Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term Inhalation exposure, *Cancer Res.*, **43**, 4382-4392.
- Leach, C.L., Steven, G.O., Sharma, R.P. and Drown, D.B. (1984): A Nose-only inhalation exposure system for generation treatment and characterization of formaldehyde vapor, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **45**(4), 269-273.
- Loomis, T.A. (1979): Formaldehyde toxicity, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **103**, 321-324.
- Maronpot, R.R., Miller, R.A., Clarke, W.J., Westerberg, R.B., Decker J.R. and Moss, O.R. (1986): Toxicity of formaldehyde vapor in B6C3F1 mice exposed for 13 weeks, *Toxicology*, **41**, 253-266.

- NAS. (1976): Vaporphase Organic Pollutants (National Academy of Science Washington D.C.).
- NAS. (1981): Formaldehyde and other Aldehydes. (National Academy of Science, Washington D.C.).
- Natarazan, A.T., Darroudi, F., Bussman, C.J.M. and Van Kesteren, Van Leeuwen A.C. (1983): Evaluation of the mutagenicity of formaldehyde in mammalian cytogenetic assays *in vivo* and *in vitro*, *Mutat. Res.*, **122**, 355-360.
- Nelson, L., Levine, R.J., Albert, R.E., Blair, A.E., Griesemer, R.A., Landrigan, P.J. and Swenberg, J.A. (1986): Contribution of Formaldehyde to Respiratory Cancer, *Environ. Health Perspect.*, **70**, 23-35.
- NIOSH (1977): Manual of Analytical Method (2nd ed.), Vol. 1, 125-1~125-9.
- Nishi, K. (1988): Formaldehyde Poisoning: Report of an Autopsy Case, *Jpn. J. Legal. Med.*, **42**(1), 85-89.
- Official Journal of the European Communities (1982): ISSN 0378-6978, L 251, Vol. 27.
- Pereira, M.A., Chang, L.W., McMillan, L., Ward, J.B. and Legator, M.S. (1982): Battery of short-term tests in laboratory animals to corroborate the detection of human population exposure to genotoxic chemicals, *Environ. Mutat.*, **4**, 317.
- Proctor, B.L., Gaulden, M.E. and Dowd, M.A. (1986): Reactivity and fate of benzene and formaldehyde in culture medium with and without fetal calf serum: relevance to *in vivo* mutagenicity testing, *Mutat. Res.*, **160**, 259-266.
- Riley, A. (1986): A new approach to the construction of small inhalation chamber: Design and Evaluation, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **47**(3), 147-151.
- Ross, W.E. and Shipley, N. (1980): Relationship between DNA damage and survival in formaldehyde-treated mouse cell, *Mutat. Res.*, **79**, 277-283.
- Solomons, K. and Cochrane, J.W.C. (1984): Formaldehyde toxicity, part I. Occupational Exposure and a report of 5 case. *S. Afr. Med. J.*, **66**, 101-102.
- Starr, T.B. and Gibson, J.D. (1985): The mechanistic toxicology of formaldehyde and its implications for quantitative risk estimation, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **25**, 745-767.
- Tatken, R.S. and Lewis, R.J. Jr. (1983): Registry of toxic effects of chemical substance vol. 2. (U.S. DHHS, NIOSH, Cincinnati), p. 935.
- Walk, R.A., Jenderny, J., Rohrborn, G. and Hackenberg, U. (1987): Chromosomal abnormalities and sister-chromatid exchange in bone marrow cell of mice and Chinese hamsters after inhalation and intraperitoneal administration: I. diepoxybutane, *Mutat. Res.*, **182**, 333-342.
- Youichi, O., Adachi, S., Katayama, H. and Takemoto, K., (1986): Detection of the cytogenetic effect of inhaled aerosols by the micronucleus test, *Mutat. Res.*, **170**, 79-83.
- 김인수, 손동열, 신의철 (1984): 접착제(본드) 흡입이 간장의 기능 및 조직변화에 미치는 영향, *한양대학교 환경과학 논문집*, **5**, 101-111.

- 노정구, 김용화, 김 균, 김충용 (1988): 화학물질의 흡입독성 (I), **과학 기술처 연구보고서**,  
문재훈 (1976): 임신 백서의 일산화탄소 중독이 태자에 미치는 영향, **고려의대지**, **13**(1).  
손동열, 김인수, 서대규 (1982): 접착제(본드)가 흡입으로 인한 mice 장기의 조직학적  
변화, **한양대학교 환경과학 논문집**, **3**, 40-47.  
정 용 (1979): 아황산 가스가 백서조직의 Lactic Dehydrogenase Isozyme에 미치는  
영향, **예방의학회지**, **3**(1).  
차철환, 조광수 (1973): 아황산 일산화탄소 혼합가스가 백서의 혈액상 및 폐조직에 미치는  
영향에 관한 실험적 연구, **대한의학협회지**, **16**(7), 539-550.