J. Toxicol. Pub. Health
Vol. 18, No. 2, pp. 159-165, 2002

Cyclohexane에 의한 랫드의 폐손상 기전

전태원[1] · 윤종국*
계명대학교 공중보건학과, [1](재)경북테크노파크 경산대학교 한방생명자원특화센터 효능검증원

Mechanism of Lung Damage Induced by Cyclohexane in Rats

Tae Won Jeon[1] and Chong Guk Yoon*
Dept. of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
[1]Efficacy and Safety Research Center for Traditional Oriental Medicines, Kyungsan University, Kyongbuk Technopark, Daegu 706-060, Korea
(Received March 16, 2002)
(Accepted May 10, 2002)

***ABSTRACT** : Recently, we reported (Korean J. Biomed. Lab. Sci., **6**(4): 245-251, 2000) that cyclohexane (1.56 g/kg of body wt., i.p.) administration led to lung injury in rats. However, the detailed mechanism remains to be elucidated. This study was designed to clarify the mechanism of lung damage induced by cyclohexane in rats. First, lung damage was assessed by quantifying bronchoalveolar lavage fluid (BAL) protein content as well as by histopathological examination. Second, activities of serum xanthine oxidase (XO), pulmonary XO and oxygen free radical scavenging enzymes, XO type conversion (O/D + O, %) ratio and content of reduced glutathione (GSH) were determined. In the histopathological findings, the vasodilation, local edema and hemorrhage were demonstrated in alveoli of lung. And vascular lumens filled with lipid droplets, increased macrophages in luminal margin and increased fibroblast-like interstitial cells in interstitial space were observed in electron micrographs. The intraperitoneal treatment of cyclohexane dramatically increased BAL protein by 21-fold compared with control. Cyclohexane administration to rats led to a significant rise of serum and pulmonary XO activities and O/D + O ratio by 47%, 30% and 24%, respectively, compared with control. Furthermore, activities of pulmonary oxygen free radical scavenging enzymes such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase, and GSH content were not found to be statistically different between control and cyclohexane-treated rats. These results indicate that intraperitoneal injection of cyclohexane to rats may induce the lipid embolism in pulmonary blood vessel and lead to the hypoxia with the ensuing of oxygen free radical generation, and which may be responsible for the pulmonary injury.*

***Key Words** : Cyclohexane, Histopathological examination, BAL protein, Oxygen free radical scavenging enzymes, Xanthine oxidase.*

I. 서 론

최근 윤 등(2000)은 우리나라 산업장에서 산업화학물질로서 사용되고 있는 대체세정제 중 cyclohexane이 많이 함유되고 있음을 보고하였다. Cyclohexane은 산업장에서 n-hexane(Perico 등, 1999)과 benzene(Perbellini와 Brugnone, 1980)의 대체 물질로 라커와 수지 및 페인트의 용매로서 뿐만 아니라 세정제로도 널리 사용되고 있는 지환족의 산업화학물질이며 유기합성의 중간생성물질(Ellenhorn과 Barceloux, 1988)로도 알려져 있다. 미국산업안전보건연구소(NIOSH, 1985)에서는 cyclohexane을 눈, 호흡기계, 피부 및 중추신경계에 손상을 야기하는 물질로 분류하고 있으며, 생체에 폭로시 위장(Longacre, 1987), 신장(Bernard 등, 1989) 및 신경계(Naskali 등, 1994)의 장애와 더불어 피부의 염증 반응(Longacre, 1987; Iyadomi 등, 1998)을 유발시킨다고 하였다. 그러나 cyclohexane의 위해성은 낮은 것으로 평가(Sandmeyer, 1981)되고 있으며 미국정부산업위생전문가협의회(ACGIH, 1994)에서 제정한 허용농도 중, 시간가중평균치(time-weighted average)가 300 ppm으

*To whom correspondence should be addressed
List of Abbreviations : BAL, bronchoalveolar lavage fluid; XO, xanthine oxidase; SOD, superoxide dismutase; GSH-Px, glutathione peroxidase; GST, glutathione S-transferase; GSH, reduced glutathione; O/D + O (%), xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase + xanthine oxidase (%)

로 상대적으로 높게 정해져 있어 산업체에서 사용량이 증가하고 있음에도 불구하고 이의 유해성 평가에 대한 연구(Perbellini와 Brugnone, 1980; Yasugi 등, 1994)는 상당히 미흡한 실정이며, 또한 혼합용제의 구성성분으로 이용되고 있는 점 때문에 제한적인 연구(Inoue 등, 1983; Kumai 등, 1983; Saito와 Ikeda, 1988; Seedorff와 Olsen, 1990)만 이루어지고 있는 형편이다.

생체 내로 흡수된 cyclohexane은 주로 간조직에서 microsomal cytochrome P-450 dependent monooxygenase에 의해 cyclohexanol로 대사되며(Nordblom과 Coon, 1977; Senler 등, 1985), 일부는 β-glucuronide 형태로 포합되어 소변 중에 배설되고(Treon 등, 1943; Elliott 등, 1959) 나머지는 alcohol dehydrogenase의 촉매작용에 의해 독성 중간대사산물인 cyclohexanone으로 산화되기도 한다(Smyth 등, 1969; James와 Waring, 1971; Sakata 등, 1989). 또한 cyclohexanone의 일부는 cyclohexanol로 재 환원되어 폐를 통해 외기로 직접 배출되거나 1,2-cyclohexanediol 혹은 1,4-cyclohexanediol의 형태로 소변 중에 배설된다(Sakata 등, 1989; Perico 등, 1999). 일반적으로 유기용제 등의 xenobiotics가 생체 내에서 대사될 때, 이들의 대사산물의 연쇄적인 반응에서 생성된 oxygen free radical(윤 등, 1998; 채 등, 2001)과 더불어 xenobiotics의 중간대사산물은 조직세포에서 독성을 유발하는 것으로 알려져 있으며(Ryu 등, 1999), cyclohexane의 대사과정 중에 생성된 cyclohexanol 및 cyclohexanone 역시 생체 내에서 독성작용을 유발한다고 보고되었다(Smyth 등, 1969; James와 Waring, 1971).

최근 전 등(2000)은 랫드에 cyclohexane 투여 시 여러 장기 중에서 주로 폐조직이 손상됨을 관찰하였으며, 이는 간조직에서 cyclohexane의 대사 중간물질이 폐조직으로 분포되어 폐조직 상해를 유발할 것이라고 보고하였다. 그러나 cyclohexane의 주된 표적장기가 폐조직인 것은 구명(전 등, 2000)하였으나 이에 대한 정확한 기전에 대해서는 밝혀진 바가 없다. 이에 본 실험에서는 랫드를 대상으로 cyclohexane을 복강으로 투여한 다음, 병리조직학적인 검사와 폐세척액(bronchoalveolar lavage fluid, BAL) 단백질 함량 측정으로 폐조직 손상을 확인하고, 혈청 및 폐조직 xanthine oxidase(XO) 활성도, XO type 전환율 및 유해산소 해독계 효소 활성도를 상호 비교 검토하여 cyclohexane에 의한 폐독성 기전을 구명하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 동물 및 처치

동물은 생후 6주령된 체중 200±10 g의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종 숫 랫드를 (주)대한 바이오링크로부터 구입 후 사육실(온도: 22±2°C, 상대습도: 50±5%)에서 1주일 동안 적응시켜 실험에 사용하였다. 실험군은 각각 6마리씩 분리 수용하였으며 실험 기간 동안 물과 사료(삼양사)의 양은 제한 없이 공급하였다. Cyclohexane은 olive oil에 희석하여 Bernard 등(1989)의 방법에 따라 체중 kg당 1.56 g을 복강으로 1일 1회, 2일 간격으로 4회 투여하였고, 대조군은 동량의 olive oil을 주사하였으며, 마지막 투여 24시간 후에 모두 처치하였다.

동물의 처치는 효소 활성도의 일 중 변동을 고려하여 일정시간 내에 종료할 수 있도록 시간을 조절하였으며, ether 마취 하에 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 실혈사 시켰다. 희생 직 후 동물의 기관 일부를 절개하고 직경 1.5 mm 정도의 바늘을 끼운 주사기로 8 ml의 4°C 생리식염수를 좌·우 폐로 밀어 넣고 빼기를 3회 반복한 후, 일정량의 폐세척액(bronchoalveolar lavage fluid; BAL)을 얻었다. 폐는 심장의 폐동맥을 통해 4°C의 생리식염수로 관류하여 조직 내에 남아 있는 혈액을 제거하고 적출하였다. 적출한 폐는 생리식염수로 씻은 후 여지로 압박하여 조직 내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음, 효소시료 및 조직병리학적 시료로 제공하였다. 채취한 BAL은 1,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 세포성분을 제거한 상층액을 BAL 단백질 함량 측정용 시료로 사용하였으며 혈액은 실온에서 30분간 방치한 다음, 3,000 rpm으로 15분 동안 원심분리하여 혈청을 얻고 xanthine oxidase 활성도 측정용 시료로 사용하였다.

2. 효소시료 조제

적출한 폐조직은 빙냉 하에서 절편으로 만들었으며 그 중 일정량에 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여 20%(w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 상층액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 다시 상층액을 얻고 이 상층액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획을 얻었다. 마쇄균질액은 glutathione(GSH) 함량 측정용, cytosol 분획은 xanthine oxidase(XO), superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 glutathione S-transferase (GST) 활성도 측정용 시료로 사용하였다.

3. 효소활성측정

혈청 및 폐조직의 XO 활성은 기질인 xanthine으로부터 생성되는 뇨산의 함량을 측정하는 Stirpe과 Della Corte (1969)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 폐조직의 경우

효소반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로, 혈청의 경우 생성된 uric acid의 양을 혈청 *l* 당 μmole로 표시하였다. 한편 XO의 type 전환율(xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase + xanthine oxidase; O/D + O, %)을 측정하기 위해 효소반응액에 NAD^+를 넣고 반응시켜 측정한 활성도를 total type(dehydrogenase form + oxidase form: D + O type)으로 하였으며 NAD^+를 넣지 않고 반응시켜 측정한 활성도는 oxidase form(O type)으로 하였다. SOD 활성은 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 측정하는 Martin 등(1987)의 방법, GSH-Px 활성은 기질인 과산화수소의 제거에 이용된 산화형 glutathione을 환원시키는데 필요한 NADPH의 함량을 측정하는 Paglia와 Valetine (1967)의 방법 및 GST는 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione의 포합 정도를 측정하는 Habig 등(1974)의 방법에 준하여 측정하였다.

4. Reduced glutathione(GSH) 함량측정

폐조직 중 GSH 함량은 조직 마쇄균질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid를 넣고 원심분리한 후 상층액 일정량을 0.1 mM 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) 함유 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 8.0)에 넣고 생성된 p-nitrothiophenol을 측정하는 Ellman(1959)의 방법에 준하였다. GSH 함량은 조직 g 당 μmole로 표시하였다.

5. 광학현미경 관찰

폐조직의 광학현미경적 변화를 관찰하기 위해, 적출 즉시 폐조직 일부분을 10% neutral buffered formalin 액에 고정시키고, 고정이 끝난 조직을 흐르는 물에 수세한 후 순차적으로 alcohol의 농도를 증가시키며 탈수시킨 다음, paraffin에 포매하였다. 포매된 조직을 4 μm두께로 절편(Lipshaw, model 45)한 후, hematoxylin-eosin 염색하고 광학현미경(Olympus, BH-2)으로 관찰하였다.

6. 전자현미경 관찰

조직의 전자현미경적 변화를 관찰하기 위하여 폐조직을 적출 즉시 1 mm^3 크기로 세절하고, 2.5% glutaraldehyde (0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)로 고정한 다음, 전고정이 끝난 조직을 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)로 수세한 후, 1% osmium tetroxide(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)로 1시간 동안 후고정하였다. Alcohol-propylene oxide 계열로 순차적으로 증가하는 농도에 따라 탈수한 다음, epoxy resin에 포매하였다. 포매된 조직은 열중합시키고 60~70 nm로 초박절편한 다음(Reichert supernova, Reichert), uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 투과전자현미경(Hitachi, H-600)으로 관찰하였다.

7. 단백질 함량 측정

폐조직 및 BAL 중 단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 사용하여 측정하였으며, BAL의 경우 좌·우 폐에 대한 mg으로 함량을 표시하였다.

8. 실험 데이터 검증

실험 데이터의 통계처리는 Student's t-test(Schefler, 1980)로 하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

III. 결 과

1. 폐조직의 형태학적 변화 및 폐세척액(BAL) 단백질 함량

랫드에 cyclohexane을 4회 복강으로 투여한 다음, 폐조직 상해의 병태 기전을 규명하기 위한 폐조직의 미세구조적 변화를 관찰한 결과를 Fig. 1과 2에 나타내었다. 광학현미경 관찰에서 대조군(Fig. 1a)은 정상적인 구조를 보였으나 cyclohexane 투여군(Fig. 1b)의 경우 출혈과 부분적

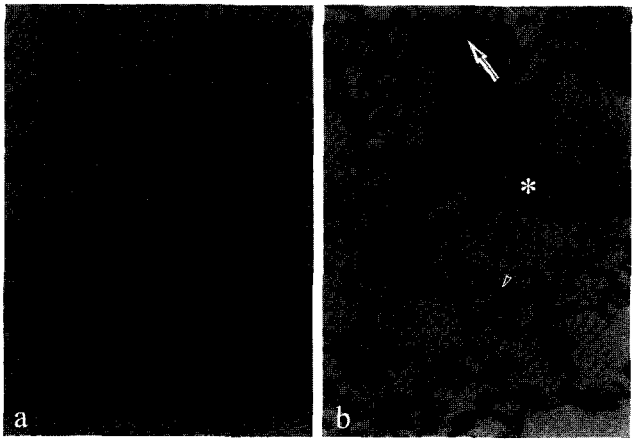

Fig. 1. Photographs of lung tissue in rats (i.p. injection), H-E stain. (a) Normal group. The tissue structure was intact. ×100. (b) Cyclohexane injected groups. Vascular lumen expanded to round or oval shape (arrowheads). Interstitial edema (arrows) and atelectasis (*) were showed. Their changes was clearly near the luminal expansion of capillary. ×200.

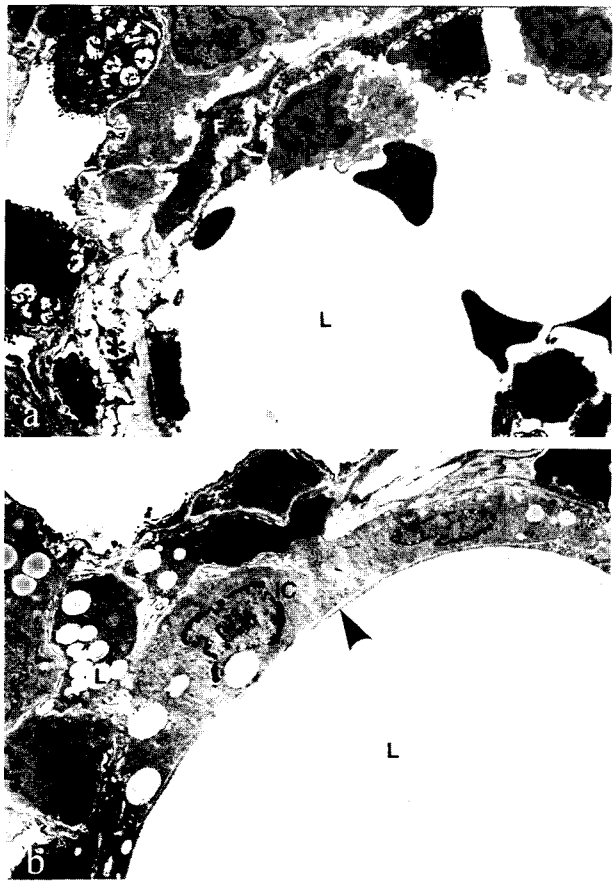

Fig. 2. Electron micrographs of cells in lung of cyclohexane injected group intraperitoneally, uranyl acetate and lead citrate stain. (a) Lipid droplets filled in vascular lumen. Macrophages increased in the luminal margin. Interstitium showed edema (*) and that fibroblasts increased. ×2,500, L: lipid, Mp: macrophage, En: endothelial cell. (b) Endothelial cells showed very thin lining surface (arrowhead), because the size of lipid droplet in vascular lumen was more larger than luminal diameter. Fibroblast-like interstitial cells increased in interstitial space, lipid droplets existing in their cytoplasm. ×3,000, L: lipid, IC: interstitial cell.

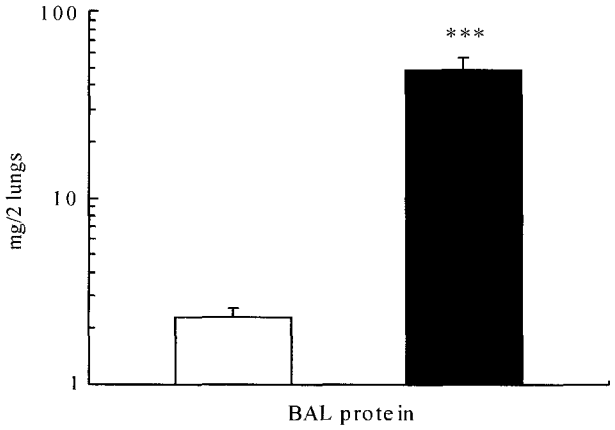

Fig. 3. Effect of intraperitoneal injection of cyclohexane on the bronchoalveolar lavage fluid (BAL) protein content in rats. Each bar represents the mean±S.E. of 6 rats. *** Significantly different from control ($p < 0.001$). Keys: (□) control and (■) cyclohexane.

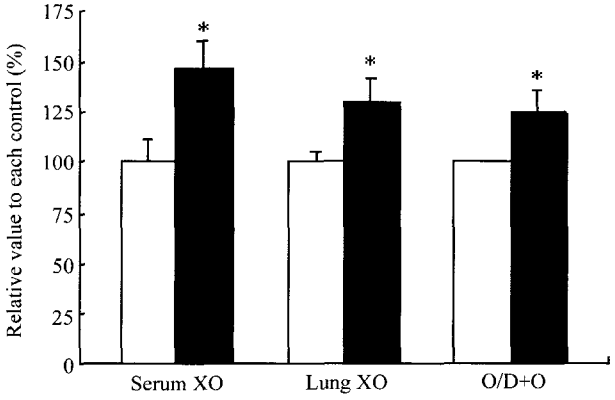

Fig. 4. Effects of intraperitoneal injection of cyclohexane on the serum and pulmonary xanthine oxidase (XO) activities and type conversion (O/D + O, %) in rats. Each bar represents the mean±S.E. of 6 rats and indicates relative percents to the control. * Significantly different from each control ($p < 0.05$). Keys: (□) control and (■) cyclohexane.

무기폐 현상이 관찰되었고 혈관이 팽창되어 혈관 내강은 둥근 공포형으로 보였다. 전자현미경 관찰에서는 대조군의 경우에는 별다른 변화를 보이지 않았으나 cyclohexane 투여군(Fig. 2a와 b)은 혈관 내강에 지방소적들로 채워진 부분이 많았으며, 지방소적의 주변부로 대식세포들이 밀집되어 있었다. 간질은 부종 현상과 함께 간질 내 섬유모세포의 수가 증가되었다. 혈관 내 지방소적이 매우 큼으로 인하여 혈관 내피세포는 매우 얇아진 형태로 관찰되었으며, 이 지방소적 주변의 간질세포들 또한 세포질 내에 지방소적을 함유하고 있었다.

또한 본 실험 조건에서 BAL 단백질 함량을 폐세척액 중에서 측정한 결과, cyclohexane 투여군(48.7±8.3)이 대조군(2.3±0.3)에 비해 약 21배의 현저한($p < 0.001$) 증가를 보였다(Fig. 3).

2. XO 활성도 및 형전환

Cyclohexane을 랫드 복강으로 4회 투여 시 혈청과 폐조직 중 XO 활성도 및 xanthine dehydrogenase(type D)로부터 oxidase(type O)로의 type 전환율을 대조군에 대한 백분율로 나타낸 것이 Fig. 4와 같다. 실험동물에 cyclohexane 투여로 인하여 혈청 XO 활성도가 약 47%의 유의한($p < 0.05$) 증가를 보였다. 또한 폐조직 중 XO 활성과 XO type 전환율이 각각 30% 및 24% 정도로 유의하게 ($p < 0.05$) 증가되었다.

Table 1. Effects of intraperitoneal injection of cyclohexane on the pulmonary oxygen free radical scavenging enzymes activities and reduced glutathione content in rats

Group	Control	Cyclohexane
SOD[1)]	16.37±1.50	20.44± 0.70
GSH-Px[2)]	12.14±1.50	16.76± 1.90
GST[3)]	82.82±6.20	66.15±13.26
GSH[4)]	0.13±0.01	0.15± 0.04

Each value represents the mean±S.E. of 6 rats. Unit.
[1)]unit[#]/mg protein ([#]: 50% inhibition of autoxidation of hematoxylin).
[2)]nmoles NADPH oxidized/mg protein/min.
[3)]nmoles 2,4-dinitro-benzene-glutathione conjugate/mg protein/min.
[4)]μmoles/g of tissue.

3. 유해산소 해독계 효소 활성도 및 GSH 함량

실험동물에 cyclohexane을 투여하였을 때 폐조직 유해산소 해독계 효소 활성도 및 GSH 함량 변동을 나타낸 것이 Table 1과 같다. Cyclohexane 투여군에서 대조군에 비해 SOD 및 GSH-Px 활성은 각각 25% 및 38% 정도 증가하였고 GST 활성은 약 20% 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 의의는 없었다. 그리고 GSH 함량은 두 군간에 별다른 차이를 볼 수 없었다.

IV. 고 찰

여러 경로를 통해 생체 내로 흡수되어진 xenobiotics 대사의 주된 장기는 간조직이며, 간 이외 조직인 폐, 피부, 신장 및 소화기 등의 장기에서도 xenobiotics의 대사가 다소 이루어진다고 하며, xenobiotics의 종류에 따라 독성을 나타내는 표적장기도 달라진다고 한다(Guthrie와 Hodgson, 1987). 전 등(2000)의 보고에 의하면 랫드에 cyclohexane 투여 시, 여러 장기 중 폐조직에서 세포상해가 야기되며 이는 cyclohexane이 간조직에서 대사되어 생성된 cyclohexane의 대사 중간 생성물질로서 세포독성을 야기 시킨다는 cyclohexanone(Smyth 등, 1969; James와 Waring, 1971)이 폐조직으로 분포되기 때문이라고 하였다. 그러나 cyclohexane에 의한 폐조직 손상의 기전에 대해서는 불분명하다. 그러므로 본 실험에서 랫드에 cyclohexane(1.56 g/kg)을 4회 복강으로 투여한 다음, 먼저 폐조직 상해의 병태 기전을 규명하기 위한 폐조직의 미세구조적 변화를 관찰한 결과, 광학현미경 관찰에서 cyclohexane 투여로 출혈과 부분적 무기폐 현상이 관찰되었고, 전자현미경 관찰에서 cyclohexane 투여로 혈관 내강에 많은 지방소적들이 채워져 혈관 내피세포는 매우 얇아진 형태로 관찰되었으며 간질의 부종 현상과 간질 내 섬유모세포 수의 증가 현상도 관찰되었다. 이와 같은 형태학적 변화 중 특히, 전자현미경적 관찰에서 지질 색전증(embolism)을 의미하는 폐포 혈관 내 지방소적의 출현으로 폐조직의 허혈(ischemia)이 초래될 것임을 시사해 주고 있다. 따라서 폐혈관의 지질성 색전증에 의해 초래된 허혈은 폐조직의 기질성 영양물질과 산소공급의 결핍으로 ATP 감소 및 폐세포막 투과성 장애를 일으켜 폐조직 손상을 초래할 것으로 생각된다. 더욱이 본 실험 조건에서 조직 막 손상의 지표인 폐세척액 중 BAL 단백질 함량(Nielsen 등, 1996)이 cyclohexane 투여로 대조군 보다 현저히 증가한 결과를 볼 때, cyclohexane 투여 시 막손상으로 인한 폐손상이 나타남을 확인할 수 있었다.

한편 xenobiotics에 의한 조직의 손상은 이들 xenobiotics와 이의 대사산물들 뿐만 아니라 xenobiotics 대사과정에서 생성되어지는 유해산소(oxygen free radical)에 의해서도 상당한 영향을 받는다고 하였다(Deneke와 Fanburg, 1980; Leibovitz와 Siegel, 1980; Freeman과 Crapo, 1982). 그리고 허혈 및 저산소증 시에 oxygen free radical 생성 효소인 XO 활성이 증가됨과 더불어 type D로부터 type O로의 전환이 이루어진다고 보고되었다(Yokoyama 등, 1990; Adachi 등, 1993). 따라서 cyclohexane을 투여하여 야기된 폐혈관 지방 색전증으로 인한 허혈 시 oxygen free radical에 의한 폐상해의 가능성을 검토함은 의의가 있을 것으로 생각되어 본 실험에서 실험동물에 cyclohexane 투여 시 혈청과 폐조직 중 XO 활성도 및 XO의 type 전환율을 측정한 결과, 대조군에 비해 cyclohexane 투여군에서 모두 유의한 증가를 나타내었다. 이러한 결과 중, 혈청 XO 활성 증가는 조직 손상 시 손상된 조직 세포의 막 투과성 증가로 인하여 혈청 중 XO 활성이 증가된다는 보고(Yoon, 1988)와 실험동물에 cyclohexane 투여 시 손상이 초래되는 주된 장기가 폐장(lung)이라는 사실을 고려해 볼 때, 바로 폐조직의 손상을 의미하는 것으로 생각된다. 또한 폐조직 중 XO 활성과 XO type 전환율이 증가한 결과는 폐조직의 지질색전증에 의한 저산소증(hypoxia)으로 인하여 XO 활성이 증가됨과 더불어 본 효소의 형전환으로 생성된 oxygen free radical이 폐손상에 상당한 영향을 미침을 시사해 주고 있다.

일반적으로 유해산소와 관련된 조직의 손상은 유해산소 생성계 및 해독계의 불균형으로 야기된다는 보고(Leibovitz와 Siegel, 1980; Freeman과 Crapo, 1982)를 감안해 볼 때, 본 실험에서 cyclohexane 투여로 생성된 oxygen free radical의 해독계에 관련된 효소 활성 및 생리활성물질을 측정함으로서 유해산소에 의한 폐조직 손상 여부를 확인할 수 있을 것으로 생각되어 폐조직 유해산소 해독계 효소 활성도 및 GSH 함량 변동을 측정하였다. 이 실험에서 cyclohexane 투여로 대조군에 비해 SOD 및 GSH-Px 활성은 증가하였고 GST 활성은 감소하였으나 통계학적인 의의는 없었으며 GSH 함량의 경우 두 군간에 별다른 차이를 볼 수 없었다. 따라서 유해산소의 생성계와 해독계 효

소 활성 결과를 검토해 볼 때, 실험동물에 cyclohexane 투여 시 oxygen free radical에 의한 폐조직 손상은 주로 oxygen free radical 생성계 효소인 XO에 의해 상당한 영향을 받을 것으로 생각된다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때, 실험동물에 cyclohexane 투여 시 폐조직 손상은 전 등(2000)이 보고한 cyclohexane의 대사산물인 cyclohexanone과 더불어 폐포 혈관의 지질 색전증과 이로 인한 oxygen free radical에 기인되기 때문일 것으로 사료된다.

참고문헌

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) (1994): 1994-1995 Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. ACGIH, Cincinnati.

Adachi, T., Fukushima, T., Usami, Y. and Hirano, K. (1993): Binding of human xanthine oxidase to sulphated glycosaminoglycans on the endothelial-cell surface. *Biochem. J.*, **289**, 523-527.

Bernard, A.M., de Russis, R., Normand, J.C. and Lauwerys, R.R. (1989): Evaluation of the subacute nephrotoxicity of cyclohexane and other industrial solvents in the female Sprague-Dawley rat. *Toxicol. Lett.*, **45**(2-3), 271-280.

Deneke, S.M. and Fanburg, B.L. (1980): Normobaric oxygen toxicity of the lung. *N. Engl. J. Med.*, **303**(2), 76-86.

Ellenhorn, M.J. and Barceloux, D.G. (1988): Medical toxicology, Elsevier, New York, pp. 968-969.

Elliott, T.H., Parke, D.V. and Williams, R.T. (1959): Studies in detoxication. The metabolism of cyclo [^{14}C] hexane and its derivatives. *Biochem. J.*, **72**, 193-200.

Ellman, G.L. (1959): Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77.

Freeman, B.A. and Crapo, J.D. (1982): Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, **47**(5), 412-426.

Guthrie, F.E. and Hodgson, E. (1987): Elimination of toxicants in *Modern toxicology* (Hodgson, E. and Levi, P.E., eds.). Elsevier, New York, pp. 123-131.

Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. (1974): Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid and formation. *J. Biol. Chem.*, **249**(22), 7130-7139.

Inoue, T., Takeuchi, Y., Hisanaga, N., Ono, Y., Iwata, M., Ogata, M., Saito, K., Sakurai, H., Hara, I., Matsushita, T. and Ikeda, M. (1983): A nationwide survey on organic solvent components in various solvent products: Part I. Homogeneous products such as thinners, degreasers and reagents. *Ind. Health*, **21**, 175-183.

Iyadomi, M., Higaki, Y., Ichiba, M., Morimoto, M. and Tomokuni, K. (1998): Evaluation of organic solvent-induced inflammation modulated by neuro- peptides in the abdominal skin of hairless rats. *Ind. Health*, **36**(1), 40-51.

James, S.P. and Waring, R.H. (1971): The metabolism of alicyclic ketones in the rabbit and rat. *Xenobiotica*, **1**(6), 573-580.

Kumai, M., Koizumi, A., Saito, K., Sakurai, H., Inoue, T., Takeuchi, Y., Hara, I., Ogata, M., Matsushita, T. and Ikeda, M. (1983): A nationwide survey on organic solvent components in various solvent products: Part II. Heterogeneous products such as paints, inks and adhesives. *Ind. Health*, **21**, 185-197.

Leibovitz, B.E. and Siegel, B.V. (1980): Aspects of free radical reactions in biological systems: aging. *J. Gerontol.*, **35**(1), 45-56.

Longacre, S.L. (1987): Cyclohexane in *Ehtel Browning's toxicity and metabolism of industrial solvents* (Snyder, R., ed.). Elsevier, Amsterdam, pp. 225-235.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.

Martin, J.P. Jr., Dailey, M. and Sugarman, E. (1987): Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, **255**(2), 329-336.

Naskali, L., Oksanen, H. and Tähti, H. (1994): Astrocytes as targets for CNS effects of organic solvents *in vitro*. *Neurotoxicology*, **15**(3), 609-612.

Nielsen, V.G., Tan, S., Weinbroum, A., McCammon, A.T., Samuelson, P.N., Gelman, S. and Parks, D.A. (1996): Lung injury after hepatoenteric ischemia-reperfusion: Role of xanthine oxidase. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, **154**, 1364-1369.

NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) (1985): NIOSH pocket guide to chemical hazards. DHHS(NIOSH) Publication No. 85-114, NIOSH, Cincinnati.

Nordblom, G.D. and Coon, M.J. (1977): Hydrogen peroxide formation and stoichiometry of hydroxylation reactions catalyzed by highly purified liver microsomal cytochrome P-450. *Arch. Biochem. Biophys.*, **180**(2), 343-347.

Paglia, E.D. and Valentine, W.N. (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 158-169.

Perbellini, L. and Brugnone, F. (1980): Lung uptake and metabolism of cyclohexane in shoe factory workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **45**, 261-269.

Perico, A., Cassinelli, C., Brugnone, F., Bavazzano, P. and Perbellini, L. (1999): Biological monitoring of occupa-

tional exposure to cyclohexane by urinary 1,2- and 1,4-cyclohexanediol determination. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **72**, 115-120.

Ryu, J.I., Yoon, C.G. and Shin, J.K. (1999): Effect of circadian rhythms on the toluene metabolism in rats. *Korean J. Biomed. Lab. Sci.*, **5**(1), 67-74.

Saito, J. and Ikeda, M. (1988): Solvent constituents in paint, glue and thinner for plastic miniature hobby. *Tohoku. J. Exp. Med.*, **155**, 275-283.

Sakata, M., Kikuchi, J., Haga, M., Ishiyama, N., Maeda, T., Ise, T. and Hikita, N. (1989): Disposition of acetone, methyl ethyl ketone and cyclohexanone in acute poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **27**(1-2), 67-77.

Sandmeyer, E.E. (1981): Alicyclic hydrocarbons in *Patty's industrial hygiene and toxicology* (Clayton, G.D. and Clayton, E.E., eds.). Wiley-Interscience, New York, pp. 3227-3228.

Schefler, W.C. (1980): Statistics for the biological sciences, Addison-Wesley, London, pp. 84-89.

Seedorff, L. and Olsen, E. (1990): Exposure to organic solvents. I. A survey on the use of organic solvents. *Ann. Occup. Hyg.*, **34**, 371-378.

Senler, T.I., Dean, W.L., Murray, L.F. and Wittliff, J.L. (1985): Quantification of cytochrome P-450-dependent cyclohexane hydroxylase activity in normal and neoplastic reproductive tissues. *Biochem. J.*, **227**, 379-387.

Smyth, H.F. Jr., Carpenter, C.P., Weil, C.S., Pozzani, U.C., Striegel, J.A. and Nycum, J.S. (1969): Range-finding toxicity data: List VII. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **30**(5), 470-476.

Stirpe, F. and Della Corte, E. (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **244**(14), 3855-3863.

Treon, J.F., Crutchfield, W.E. Jr. and Kitzmiller, K.V. (1943): The physiological response of animals to cyclohexane, methylcyclohexane and certain derivatives of these compounds. II. Inhalation. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **25**, 323-347.

Yasugi, T., Kawai, T., Mizunuma, K., Kishi, R., Harabuchi, I., Yuasa, J., Eguchi, T., Sugimoto, R., Seiji, K. and Ikeda, M. (1994): Exposure monitoring and health effect studies of workers occupationally exposed to cyclohexane vapor. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **65**(5), 343-350.

Yokoyama, Y., Beckman, J.S., Beckman, T.K., Wheat, J.K., Cash, T.G., Freeman, B.A. and Parks, D.A. (1990): Circulating xanthine oxidase: potential mediator of ischemic injury. *Am. J. Physiol.*, **258**(4), G564-G570.

Yoon, C.G. (1988): Effect of actinomycin D or prednisolone in the activities of xanthine oxidase in CCl4-intoxicated rats. *J. Inst. Nat. Sci. (Keimyung University)*, **7**(1), 113-123.

윤종국, 이미경, 이상일(1998): 성장기간이 다른 흰쥐에 사염화탄소 투여가 oxygen free radical 생성계 및 해독계 효소활성에 미치는 영향. 한국노화학회지, **8**(1), 35-42.

윤종국, 전태원, 정진갑, 이명희, 이상일, 차상은, 유일재(2000): 일부 대체세정제 제조업체의 물질 안전보건자료의 실태와 그 화학물질의 유해성 평가에 관한 연구. 한국산업위생학회지, **10**(2), 18-26.

전태원, 이상일, 윤종국(2000): Cyclohexane에 의한 흰쥐의 폐독성. 대한의생명과학회지, **6**(4), 245-251.

채순님, 윤종국, 박원학(2001): 흰쥐에 있어서 피부조직의 oxygen free radical 대사계에 미치는 toluene의 영향. 한국독성학회지, **17**(1), 33-39.