



랫드에 주입된 세피오라이트에 의한 호흡기독성 연구

정용현¹ · 한정희¹ · 성재혁² · 유일재²

¹산업안전보건연구원 화학물질안전보건센터, ²한국생활환경시험연구원

A Respiratory Toxicity Study of Sepiolite in Sprague-Dawley Rats

Yong Hyun Chung¹, Jeong Hee Han¹, Jae Hyuck Sung² and Il Je Yu²

¹Chemical Safety and Health Research Center, Occupational Safety & Health Research Institute

²Korean Environment & Merchandise Testing Institute

Received August 7, 2006; Accepted August 28, 2006

ABSTRACT. Two kinds of sepiolite, a 500°C heat-treated sepiolite, and a 700°C heat-treated sepiolite were analyzed for their physicochemical properties. After these sepiolites were instilled into rat lungs, the effects of the substances on lung pathological changes were evaluated. The lungs instilled with sepiolite increased their weight compared with the unexposed control. The pathological examination further showed increased legions of granuloma with early fibrosis. The heat treated sepiolites, however, did not show any toxicological differences from the untreated sepiolites. Thus chronic experiments are needed to evaluate the durability of mineral fibers, which is an essential experiment for evaluating biopersistence of fibers in lungs.

Keywords: Sepiolite, Rat, Lung fibrosis, Intratracheal instillation.

서 론

세피오라이트(sepiolite, CAS NO. 63800-37-3)는 우리말로 해포석으로 알려진 섬유상 물질로 화학식은 $Mg_2Si_3O_8 \cdot 2H_2O$ 이다(Francine *et al.*, 1985). 중국, 스페인 등이 주요 세피오라이트 생산국으로 표면적이 크고, 흡착력과 결합력이 우수하여 탱크의 청소, 액상 세제, 접착제, 인쇄용 잉크, 자동차용 광택제, 화장품 등의 침전제나 부유제 등으로 사용되고 있다 (Baris *et al.*, 1980). 최근 석면에 대한 관리 및 규제가 강화됨에 따라 세피오라이트가 석면이 사용되던 대체재로서 천장재, 석고보드, 바닥재, 브레이크 라이닝, 시멘트 등의 첨가제로 사용되고 있다.

Baris *et al.*(1980)이 터키의 세피오라이트 광산 근로자들을 대상으로 조사한 결과에 의하면 세피오라이트와 관련된 폐질환은 없었다고 하였으나, 최근 세피오라이트 등 석면대체재들이 산업계에 널리 사용되고 있고, 물리화학적

로 석면과 유사한 석면대체재들은 폐 섬유화(pulmonary fibrosis), 폐암 등을 유발할 수 있다는 가능성 때문에 많은 관심을 끌고 있으나(Morimoto and Tanaka, 2001), 석면대체재에 대한 안전성을 평가하기 위한 생체내 시험(*in vivo*)은 많은 경비, 동물시설이 필요하고, 소요기간이 길다는 단점 때문에 아직까지 완전한 평가가 이루어 지지 않은 상태이며, 생체외 시험(*in vitro*)으로 적혈구 등을 이용한 시험이 이루어 졌으나, 최근에는 호흡기 세포 배양을 이용한 시험, 분자생물학적 시험 등 메카니즘을 규명하는 연구가 시도되고 있다(Ishihara, 2001).

섬유상 물질이 폐에 축적되면, 섬유상 물질의 물리화학적 성질에 따라 염증반응, 섬유화 과정 등을 거쳐 폐암 등 심각한 폐 병변을 유발 할 수 있으며, 폐 섬유화는 축적된 염증세포, 섬유아세포, 결합조직 등이 매트릭스(matrix)를 형성하여 나타나게 되고, 폐에 축적된 섬유상물질은 폐포 대식세포(alveolar macrophages)의 활성을 유발하며, 폐포 대식세포와 실질세포는 TNF(tumor necrosis factor), IL-1(interleukin-1) 등과 같은 사이토카인 (cytokine)을 분비하고, 이러한 사이토카인은 단백질분해 효소를 방출하여 폐 병변을 일으키게 된다(Morimoto and Tanaka, 2001).

Correspondence to: Yong Hyun Chung, Chemical Safety and Health Research Center, Occupational Safety & Health Research Institute, Korea
E-mail: ch935@kosha.net

그동안 세피오라이트에 대한 시험 결과를 살펴보면 독성정도가 다양하게 나타나고 있다. 유산 생성능을 지표로 한 랫드 복강 내 대식세포에 대한 각종 세피오라이트의 세포독성은 백석면과 동등하였지만(Koshi *et al.*, 1969; Sakabe *et al.*, 1971; Chamberlain *et al.*, 1982), 세포배양액 중에 20% 랫드 혈청을 첨가한 배양조건에서 실시한 TTC(2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride) 환원능 시험에서는 세포독성이 인정되지 않았다(Koshi *et al.*, 1969; Sakabe *et al.*, 1971). 마우스 복강내 대식세포에 대한 세피오라이트의 LDH(lactate dehydrogenase)는 길이가 3 μm 이하의 세피오라이트에서는 인정되지 않았으나, 5 μm 이하에서는 백석면과 동등한 정도가 인정되었다(Chamberlain *et al.*, 1982). CHL 세포(Chinese Hamster Lung cells) 등 배양 세포주에 대한 LDH, lysosomal enzyme을 지표로 한 세피오라이트의 세포독성은 백석면보다 약하지만(Wright *et al.*, 1980), 캐나다산, 일본산, 스페인산 등의 세피오라이트에 대한 적혈구 용혈성시험에서는 세피오라이트가 백석면(chrysotile)보다 강하거나 비슷한 정도를 보였으나(Koshi *et al.*, 1969; Sakabe *et al.*, 1971; Koshi *et al.*, 1991), 적혈구 용혈성은 세피오라이트의 가열온도 상승과 함께 감소하였으며, 600°C 이상 가열처리한 세피오라이트는 대조군과 동등한 정도를 보였다(Hayashi *et al.*, 1969; 興 등, 1970). CHL 세포의 코로니 형성 저지능을 지표로 세피오라이트를 평가한 결과, 중국산 세피오라이트의 경우 백석면과 동등한 세포독성을 보였으며, 중국산 세피오라이트에 대한 염색체이상 시험에서는 배수성세포의 출현 및 염색체이상 인정되었고, 일본산, 스페인산은 중국산보다 배수성세포, 염색체이상 출현빈도가 낮았으며(興 등, 1986; Koshi *et al.*, 1991), human lung carcinoma와 Chinese hamster lung fibroblasts(V79-4) 배양을 이용한 시험에서 세피오라이트의 세포독성은 섬유질의 길이와 관련이 있다고 하였다(Chamberlain and Brown, 1978; Chamberlain *et al.*, 1979).

생체의 시험(*in vitro*)은 생체내 시험(*in vivo*)에 비하여 간단한 시험이나 호흡기관의 호흡능(respirability)이나 호흡기관 내에서 섬유소의 축적(deposition), 정체(retention) 그리고 제거(clearance)를 평가하기에는 한계가 있는 시험이다(Ishihara, 2001). 본 연구는 세피오라이트 2종과 브레이크라잉 제조 등 산업현장에서 세피오라이트 처리온도와 비슷한 500°C 가열 세피오라이트 1종과 700°C 가열 세피오라이트 1종 등 4종류의 세피오라이트에 대하여 물리 화학적인 특성을 분석한 후, 시험동물의 기도내로 주입하여 시험동물의 폐 조직에 대한 병리현상 규명을 통하여 세피오라이트가 호흡기에 미치는 영향을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

시험물질

시험물질은 세피오라이트 1, 세피오라이트 2 그리고 세피오라이트 1을 1시간 동안 500°C로 가열한 세피오라이트 500, 세피오라이트 1을 1시간 동안 700°C로 가열한 세피오라이트 700을 사용하였으며, 양성대조물질로 사용한 백석면 표준품은 General Science Corporation (Tokyo, Japan)에서 구입한 UICC(International Union against Cancer) 제품을 사용하였다.

특성 분석을 위한 시료제작. 수집한 시료는 Sakai *et al.*(1991)의 시료제작 방법에 따라 각 시료를 막사사발에서 잘게 부수어, 증류수 100 ml가 들어 있는 유리병에 1 mg씩 넣고, 2시간 동안 초음파발생기(SWEEPZONE, Quantrex S280)로 분산시킨 후, polycarbonate membrane filter(Millipore GTTP 02500, nucleopore filter, pore size 0.2 μm , diameter 25 mm)에 흡인 여과하였다. 여과시킨 필터를 건조한 후 진공증착기(EMITECH, K950)를 사용하여 탄소막을 입히고, 그 필터를 carbon coated nickel grid(SPI 2020N, diameter 3 mm, 200 mesh) 위에 올려놓고 chloroform 증기를 이용하여 12시간 동안 용해, 건조시켰다.

분석 방법. 제작된 grid는 EDS(Energy Dispersive X-ray Spectrometer, HORIBA, 7099H)가 장착된 투과전자현미경(HITACHI H-7100FA)을 사용하여 분석하였다. 투과전자현미경의 가속전압은 100 kv로 하였다. 각 시료는 투과전자현미경으로 전반적으로 관찰한 후 10,000배 ~5,000 배율에서 길이와 직경의 비율이 3 : 1이 넘는 10개의 섬유를 임의로 선정하여 섬유의 길이와 직경 등의 특성을 파악하고, EDS로 각 섬유의 구성원소 성분비율(atomic %)을 구하였다.

시험동물 및 사육환경

시험동물은 특정병원체 부재동물(Specific Pathogen Free, SPF)인 Sprague-Dawley Rats 수컷 7주령을 오리엔트(주)에서 분양 받아 barrier system의 동물실에서 12일간 순화시킨 후 건강하고 발육 양호한 동물을 사용하였다. 시험동물은 체중을 지표로 하여 대상군별 체중편차가 최소화 되도록 하여, 대조군 5마리, 백석면 투여군 5마리, 세피오라이트 1 투여군 5마리, 세피오라이트 2 투여군 5마리, 세피오라이트 500 투여군 5마리, 세피오라이트 700 투여군 5마리 등으로 군을 구성하였다.

동물사육실은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20%, 환기회수 13~18회/hr, 조명시간 12시간(오전9시~오후 9시) 및 조도 150~300 Lux로 설정되었으며, 사료는 방사선

멸균된 실험동물용 고형사료(Labdiet 5002PMI)를 구입하여 자유롭게 섭취시켰다. 물은 미세여과기 및 자외선을 이용하여 여과, 소독된 상수도를 자유로이 섭취시켰다. 모든 동물은 전 시험기간 동안 폴리에스텔 사육상자에 2 혹은 3마리씩 수용하였다. 시험기간 중 사육상자에는 시험번호 및 동물번호를 기입한 개체식별 라벨을 붙였다.

투여경로 및 투여방법

시험물질은 잘게 갈아서 자동 멸균하여 Ketamin(유한양행)으로 마취한 시험동물 한 마리당 2 mg/0.3 ml in saline 농도로 시험동물의 기도내로 주입(intratracheal instillation) 하였다(Bellmann *et al.*, 1997).

체중측정 및 임상증상관찰

시험동물에 대한 임상증상관찰은 동물 도입 후 매일 1회 모든 시험동물에 대해 관찰하였다. 체중측정은 균분리 시와 시험물질 투여 후 매 1주마다 4주간 측정하였다.

병리검사

임상관찰 및 육안 검사. 모든 시험동물에 대하여 1일 1회 임상관찰을 실시하고, 부검시 모든 시험동물에 대하여 Pentobarbital(Han lim Pharm, Korea)을 사용하여 시험동물을 마취시켜 복대동맥에서 채혈한 후 전 장기에 대하여 육안 검사를 하였다.

혈구 및 혈액생화학검사. 모든 시험동물은 복대동맥에서 혈액을 채취하여 혈구계수기(Hemacyte, Oxford Science, Inc, USA)을 이용하여 white blood cell, neutrophil, lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil 등을 측정하고, 혈액생화학분석기(TBA 20FR, Japan)를 이용하여 total protein, albumin, blood urea nitrogen, creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, glucose, total cholesterol, total bilirubin, lactic dehydrogenase, total cholesterol 등을 측정하였다.

장기중량 측정 및 조직 검사. 모든 시험동물은 부검하여 폐 중량을 측정하였다. 채취한 폐 장기는 10% 중성포르마린 용액에 고정하였다. 고정된 폐 장기조직은 탈수한 후 파라핀 포매하고 마이크로톰으로 박절한 후 Masson's trichrome 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

통계처리

시험물질 분석, 체중, 생화학검사, 폐무게, 혈액생화학검사, 혈구검사 등 시험결과는 평균과 표준편차로 표시하였으며, 일원배치분산분석(one-way ANOVA)에서 유의성이 인정된 자료는 Dunnett 다중비교법을 이용하여 유의성을



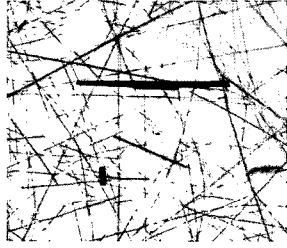
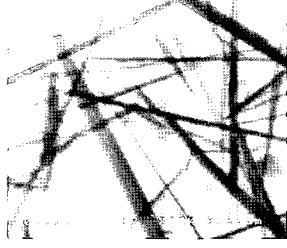

검정하였다.

연구결과

시험물질 특성분석

투과전자현미경과 EDS를 이용하여 시험물질의 형태를 살펴보고 원소구성비를 측정하였다. sepiolite 1은 백석면에 비하여 직경이 굵은 모양을 보였으며, 구성원소는 백

Table 1. Characteristics of fibers

Material (Magnification)	STEM image	Element composition (Atomic %)
Chrysotile (× 10,000)		Mg 58.2 ± 1.10 Si 40.7 ± 1.07 Fe 1.2 ± 0.84
Sepiolite 1 (× 10,000)		Na 2.0 ± 1.76 Mg 32.8 ± 1.09 Si 53.5 ± 1.21 Ca 10.3 ± 1.21 Fe 1.4 ± 0.63
Sepiolite 2 (× 10,000)		(Type I) Mg 39.6 ± 0.72 Si 60.4 ± 0.72 (Type II) Na 1.0 ± 1.02 Mg 33.3 ± 0.21 Si 53.9 ± 1.48 K 0.6 ± 0.54 Ca 11.2 ± 0.95
Sepiolite 500 (× 10,000)		Na 1.9 ± 0.83 Mg 32.2 ± 0.99 Si 54.8 ± 0.90 Ca 9.5 ± 1.11 Fe 1.7 ± 0.37
Sepiolite 700 (× 10,000)		Mg 32.8 ± 1.55 Si 51.8 ± 9.58 Ca 10.5 ± 0.81 Fe 1.9 ± 0.55

석면(chrysotile)은 Mg성분이 58.2%, Si성분이 40.7%으로 나타났으나, sepiolite 1은 Mg성분이 32.8%, Si성분이 53.5%으로 나타났으며, 백석면에서는 측정되지 않는 Ca(10.3%)과 Na(2.0%)이 나타났다. sepiolite 2는 직경이 다른 2가지 종류의 섬유가 혼재되어 있었으며, 상대적으로 직경이 가는 형태인 type I의 구성원소는 Mg성분이 39.6%, Si성분이 60.4%으로 나타났으나, 굵은 형태의 type II는 Mg성분이 33.3%, Si성분이 53.9%으로 나타났으며, type I에서는 나타나지 않는 Ca(11.2%)과 Na(1.0%), K(0.6%)이 측정되었다. sepiolite 1을 1시간 동안 500°C에서 가열한 sepiolite 500은 sepiolite 1과 형태와 원소구성비가 비슷하였으며, sepiolite 1을 1시간 동안 700°C에서 가열한 sepiolite 700은 sepiolite 1과 형태와 원소구성비가 비슷하였으나, sepiolite 1에서 나타났던 Na는 측정되지 않았다(Table 1).

체중 변화

시험물질 투여 후 7일차에서 모든 시험물질 투여군은 대조군에 비하여 유의한 체중감소를 보였으며, sepiolite 1은 백석면과 다른 sepiolite 투여군에 비하여도 유의한 체중감소를 보였다. 투여 후 14일에서는 sepiolite 1이 대조군에 비하여 유의한 체중감소를 보였다. 투여 후 21일과 28일에서는 모든 시험물질 투여군에서 대조군에 비하여 유의한 변화는 없었다(Fig. 1).

병리검사

폐무게 변화. 시험물질 투여 후 30일에 시험동물을 해부하여 폐무게를 측정된 결과, 대조군에 비하여 백석면군,

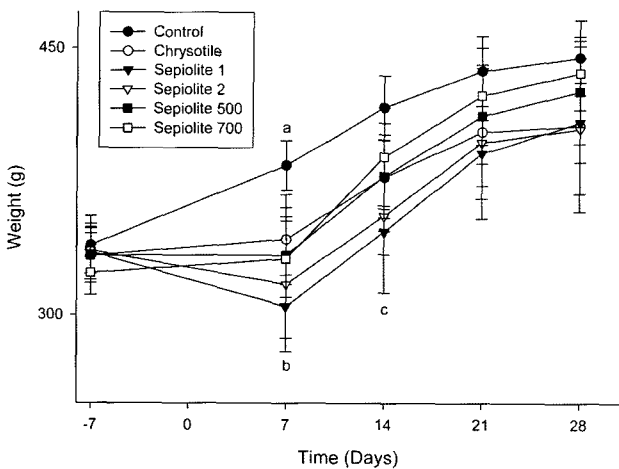


Fig. 1. Body weight change of SD male rats after instillation. a : p < 0.01 (control vs. other groups in 7 days), b : p < 0.01 (sepiolite 1 vs. chrysotile and other sepiolite groups in 7 days), c : p < 0.01 (sepiolite 1 vs. control in 14 days).

Table 2. Lung weight of SD male rats of 30 days after instillation

		Absolute lung weight (unit : mg)	Relative lung weight (unit : %)
Control	Left	470 ± 28	0.113 ± 0.007
	Right	1007 ± 33	0.243 ± 0.012
Chrysotile	Left	579 ± 21**	0.139 ± 0.007**
	Right	1216 ± 101**	0.292 ± 0.025**
Sepiolite 1	Left	750 ± 78**	0.199 ± 0.018**
	Right	1601 ± 126**	0.424 ± 0.029**
Sepiolite 2	Left	717 ± 89**	0.177 ± 0.033**
	Right	1458 ± 133**	0.359 ± 0.056**
Sepiolite 500	Left	729 ± 59**	0.182 ± 0.035**
	Right	1463 ± 134**	0.365 ± 0.067**
Sepiolite 700	Left	684 ± 79**	0.171 ± 0.027**
	Right	1403 ± 130**	0.351 ± 0.054**

All values are expressed as mean ± SD. Significant differences as compared with control : ** p < 0.01.

sepiolite 1군, sepiolite 2군, sepiolite 500군, sepiolite 700군 등 모든 시험물질 투여군에서 절대 폐무게의 유의한 증가를 보였으며, 체중에 대한 장기무게의 비율로 계산한 상대 폐무게에서도 모든 시험물질 투여군에서 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table 2).

혈액 생화학검사. 시험물질 투여 후 30일에 시험동물의 복대동맥에서 혈액을 채취하여 total protein, albumin, blood urea nitrogen, creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, glucose, total bilirubin, lactic dehydrogenase, total cholesterol 등의 혈액생화학검사를 하였으나 대조군에 비하여 유의한 변화는 없었다(Table 3).

혈구 검사. 시험물질 투여 후 30일에 시험동물의 복대동맥에서 혈액을 채취하여, white blood cell, neutrophil, lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil 등의 혈구검사를 하였으나, 대조군에 비하여 유의한 변화는 없었다(Table 4).

임상관찰 및 육안검사. 시험물질 투여 후 30일 동안 모든 시험동물에 대한 임상관찰 결과, 시험물질에 의한 특별한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 시험물질 투여 후 30일에 시험동물을 희생하여 모든 장기에 대한 육안 검사 결과에서 시험물질에 의한 특별한 증상은 관찰되지 않았다.

조직병리검사. 시험물질 투여 후 30일에 시험동물을 희생하여 폐조직을 절취하고 폐조직의 섬유화를 감별할 수 있는 Masson's trichrome 염색을 하여 광학현미경으로 관찰한 결과(Fig. 2), 대조군을 제외한 각 군별로 5마리씩 구성된 모든 시험군에서 granuloma가 관찰되었으며,

Table 3. Biochemical results of SD male rats of 30 days after instillation

Items	Control	Chrysotile	Sepiolite 1	Sepiolite 2	Sepiolite 500	Sepiolite 700
TP	6.47 ± 0.18	6.40 ± 0.14	6.34 ± 0.18	6.45 ± 0.32	6.40 ± 0.16	6.51 ± 0.23
ALB	4.12 ± 0.08	4.10 ± 0.12	4.10 ± 0.16	4.20 ± 0.14	4.16 ± 0.06	4.16 ± 0.06
BUN	15.86 ± 2.11	15.16 ± 1.28	16.66 ± 2.31	16.12 ± 1.61	15.10 ± 1.96	17.02 ± 2.17
CRTN	0.66 ± 0.06	0.66 ± 0.06	0.64 ± 0.06	0.66 ± 0.06	0.60 ± 0.00	0.68 ± 0.05
T-BIL	0.24 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.04	0.19 ± 0.03
ALT	28.60 ± 2.97	37.20 ± 6.87	30.00 ± 5.66	33.60 ± 4.78	33.00 ± 7.04	30.60 ± 4.98
AST	138.2 ± 35.2	125.4 ± 38.7	110.8 ± 12.0	116.4 ± 29.2	106.4 ± 19.6	97.6 ± 24.6
LDH	3102 ± 943	2548 ± 899	1952 ± 704	2250 ± 960	1792 ± 791	1655 ± 680
ALP	242.0 ± 26.8	253.4 ± 31.4	343.4 ± 39.9	326.4 ± 63.1	302.8 ± 52.1	304.8 ± 99.1
GLU	154.4 ± 35.5	150.0 ± 9.9	133.6 ± 22.3	141.2 ± 19.8	146.8 ± 13.7	157.6 ± 25.9
T-CHO	60.20 ± 6.65	64.20 ± 8.01	61.80 ± 7.60	54.40 ± 7.57	54.20 ± 10.09	56.80 ± 8.23

All values are expressed as mean ± SD.

TP, total protein (g/dl); ALB, albumin (g/dl); BUN, blood urea nitrogen (mg/dl); CRTN, creatinine (mg/dl); T-BIL, total bilirubin (mg/dl); GLU, glucose (mg/dl); ALT, alanine aminotransferase (IU/l); AST, aspartate aminotransferase (IU/l); LDH, lactic dehydrogenase (IU/l); ALP, alkaline phosphatase (IU/l); T-CHO, total cholesterol (mg/dl).

Table 4. Hematological results of SD male rats of 30 days after instillation

Items	Control	Chrysotile	Sepiolite 1	Sepiolite 2	Sepiolite 500	Sepiolite 700
WBC	8.91 ± 2.24	7.70 ± 1.94	7.48 ± 1.71	7.06 ± 1.22	9.29 ± 1.79	7.90 ± 1.45
NE	1.39 ± 0.52	1.40 ± 0.44	1.61 ± 0.52	1.42 ± 0.24	1.83 ± 0.16	1.74 ± 0.37
LY	7.19 ± 1.63	5.98 ± 1.49	5.49 ± 1.68	5.32 ± 0.99	7.10 ± 1.83	5.89 ± 1.32
MO	0.31 ± 0.15	0.29 ± 0.07	0.35 ± 0.09	0.28 ± 0.06	0.33 ± 0.15	0.23 ± 0.06
EO	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.20	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.02
BA	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.00 ± 0.00

All values are expressed as mean ± SD.

WBC, white blood cell ($10^3/\text{mm}^3$); NE, neutrophil ($10^3/\text{mm}^3$); LY, lymphocyte ($10^3/\text{mm}^3$); MO, monocyte ($10^3/\text{mm}^3$); EO, eosinophil ($10^3/\text{mm}^3$); BA, basophil ($10^3/\text{mm}^3$).

fibrosis는 백석면 투여군에서 3마리, sepiolite 1 투여군에서는 2마리, sepiolite 500 투여군에서는 1마리, sepiolite 700 투여군에서는 2마리가 발견되었으나, sepiolite 2 투여군에서는 fibrosis가 발견되지 않았다(Table 5).

결론 및 고찰

천연광물섬유인 세피오라이트는 생성과정에 따라 성분과 형태가 다를 수 있으며 독성 정도도 다르게 나타난다(Tanaka *et al.*, 2001). 본 연구를 위하여 세피오라이트 시험물질을 수집해 분석해 본 결과, 우리나라에서 사용하고 있는 세피오라이트는 주로 중국에서 수입되고 있으며, 중국산 세피오라이트는 산지에 따라 섬유 길이가 긴 것과 짧은 것 그리고 세피오라이트에 백석면이 섞여 있는 것 등 세피오라이트의 생성과정 및 산지에 따라 다양한 형태를 보이고 있었다. 본 연구에 사용된 시험물질을 분석한 결과, 세피오라이트 1, 세피오라이트 500, 세피오라이트 700은 백석면보다 직경이 크고, 원소구성비는 백석면의 주성분인 Mg와 Si의 구성비와는 반대로 나타났으며, 세피오라이트 2의 경우는 대부분 백석면과 유사한 크기로 보이는 가는 섬유(type I) 모양이었지만 주요 구성성분비

는 백석면과 달랐고, 세피오라이트 1과 유사한 모양과 구성성분비를 보이는 섬유(type II)도 함유되어 있었다.

Palekar *et al.*(1985)이 V79 섬유아세포(fibroblast)를 이용하여 백석면 등의 섬유에 대한 세포독성 효과를 평가한 것과 같이 섬유에 대한 생물학적 평가를 하기 위해서는 섬유의 양적, 수량적 평가를 고려하여야 한다. 시험물질을 시험동물에 투여할 때는 최대내성량(maximum tolerated dose, MTD) 초과 유무에 따라 제거율이 다르고, 건강영향 평가 기전이 다르기 때문에 최대내성량을 초과하지 않도록 주의하여야 한다(Tanaka *et al.*, 2001). 본 연구에서는 Bellmann *et al.*(1997)의 시험방법에 따라 시험동물당 시험물질량 2 mg를 0.3 ml saline에 희석하여 기도내로 주입하였다.

Cullen *et al.*(2000)이 유리섬유 2종을 랫드에 투여하여 병리학적 검사를 한 결과, 유리섬유는 긴 섬유의 숫자와 섬유 표면 특성이 중요한 요소라고 제안하였으나, 폐까지 침투한 호흡성 섬유는 호흡기의 제거작용(mucociliary clearance)과 면역시스템에 의하여 즉시 건강에 영향을 미치지 않는다고 하였다. 흡입된 섬유의 유해성은 흡입량과 섬유의 크기, 화학적 조성, 생체내구성(biopersistence), 표면특징(surface properties) 등에 달려 있다고 하였다

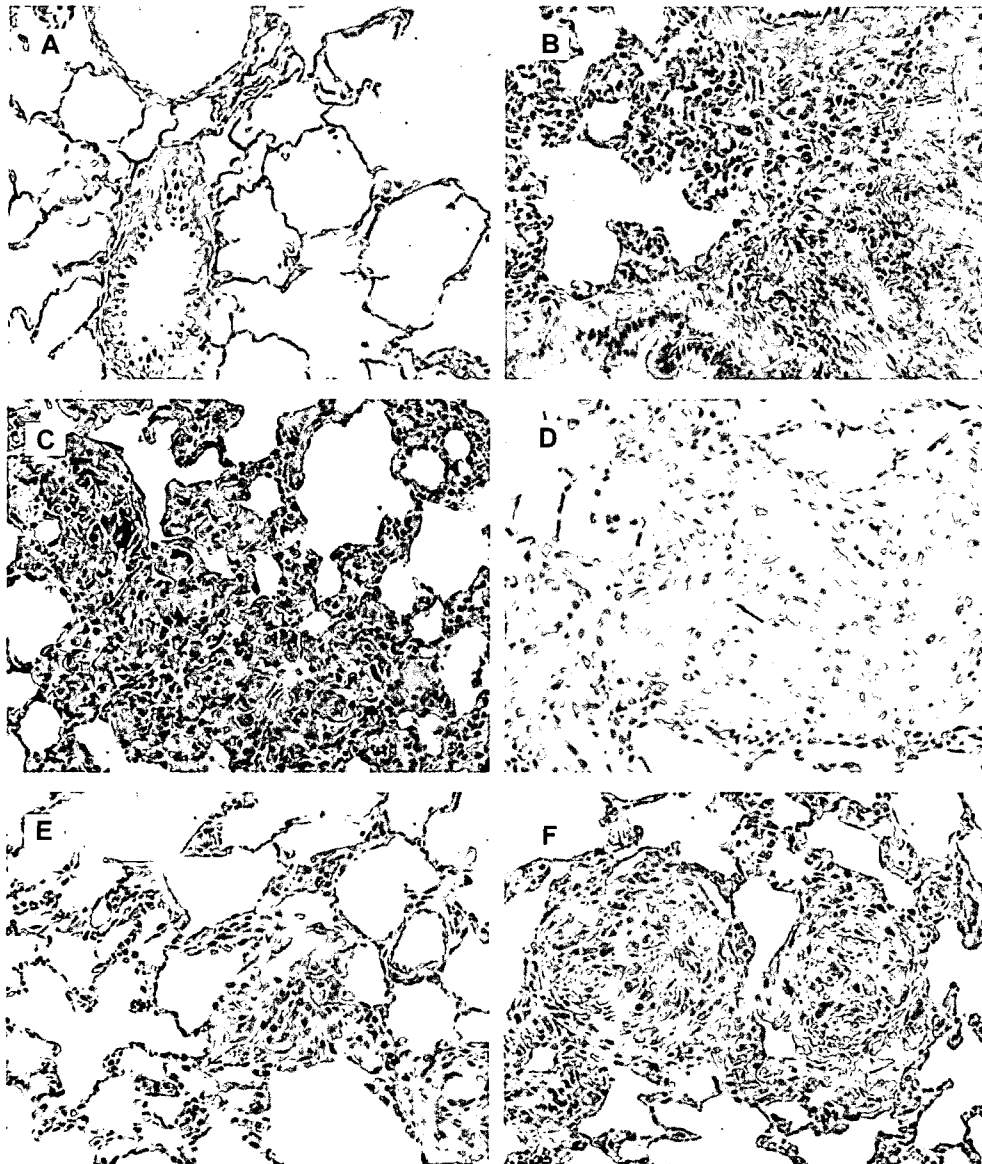


Fig. 2. Masson' trichrome, ×200, SD rat, A: control, B: chrysotile, granuloma and slight fibrosis, C: sepiolite 1, ganuloma and slight fibrosis, D: sepiolite 2, granuloma, E: sepiolite 500, granuloma and slight fibrosis, F: sepiolite 700, granuloma and slight fibrosis.

Table 5. Pathological results of SD male rats of 30 days after instillation

	Granuloma	Fibrosis
Control	-	-
Chrysotile	5/5	3/5
Sepiolite 1	5/5	2/5
Sepiolite 2	5/5	-
Sepiolite 500	5/5	1/5
Sepiolite 700	5/5	2/5

(Tanaka *et al.*, 2001). Hori *et al.*(1994)이 길이가 다른 whisker를 랫드에 1개월과 12개월씩 흡입시켜 병리검사

를 하고, 기도내주입법으로 생체내구성을 측정한 시험결과에 의하면, whisker 섬유는 크기(size)보다 섬유의 생체내구성이 더 중요한 요소임을 보여주었다. 랫드의 기도내로 3종류의 whisker를 고농도로 단회 주입하여 2개월 후에 폐를 관찰한 결과, 종류에 관계없이 모든 whisker 섬유가 축적된 주위에 염증세포의 집합과 가벼운 섬유증(a very slight fibrous reaction)을 볼 수 있었으나 whisker의 종류별 화학적인 구성성분의 차이와 중량당 섬유의 수적인 차이, 형태의 차이는 폐 섬유화와 염증 정도에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다(Ishihara, 2001). 가열처리한 세피오라이트에 대한 시험결과를 살펴보면, 유

산생성능을 지표로 한 복강내 마크로파아지에 대한 세포 독성시험에서는 세피오라이트 원토는 강한 독성을 보이지 않으나, 450°C로 가열한 세피오라이트에서는 현저히 저하하고, 860°C에서는 730°C보다 약간 강한 독성을 보였다 (Hayashi *et al.*, 1969; 興 등, 1970). 본 연구에서는 형태가 다른 세피오라이트를 종류별로 시험동물에 투여하여 시험동물의 생체반응을 조사하였지만, 시험동물의 폐무게, 폐조직검사 등에서 세피오라이트 종류에 따른 뚜렷한 차이를 보이지는 않았다.

Castranova *et al.*(2002)에 의하면, 랫드에 실리카(silica)를 41 일간 폭로한 결과, 폐염증과 폐손상은 있었으나 섬유증(fibrosis)은 없었으며, 41~116일간 폭로한 군에서는 폐 섬유증을 동반한 폐염증과 폐손상이 관찰되었다. 이러한 실험결과는 폐에 유해물질이 침투되면 폐 방어기전은 처음에는 방어가 가능하지만 일정한 폐의 한계치(threshold lung burden)를 넘어서면 폐질환이 전개되는 것을 막을 수는 없다는 것을 보여 주고 있으며, Porter *et al.*(2004)은 실리카 흡입시험 결과에서 폐무게의 증가는 실리카 흡입에 따른 염증세포의 유입과 부종, collagen 축적으로 인한 것으로 판단하였다. 본 연구에서도 모든 시험물질 투여군에서 유의한 폐무게의 증가가 관찰되었으며, 폐에 대한 조직병리학적 검사에서 모든 시험물질 투여군에서 granuloma가 관찰되었고, 세피오라이트 2를 제외한 모든 시험물질 투여군에서 1~3배의 초기 fibrosis가 관찰되었다. 본 연구의 시험동물에 대한 조직병리학적 소견으로 볼 때, 세피오라이트는, 폐에 염증과 fibrosis 유발이 가능한 물질로 판단되었다.

결론적으로 세피오라이트는 대조군에 비하여 유의한 폐무게 증가, 폐조직의 granuloma 및 가벼운 fibrosis 발현을 보여 폐에 영향을 미치는 물질로 판단되었으나, 세피오라이트의 열처리 및 종류에 따른 독성 정도의 차이는 뚜렷하지 않았으며 섬유물질의 독성을 평가하는데 중요한 지표인 생체내구성을 평가하기 위해서는 용량반응 시험 등 장기적인 시험이 필요하다고 판단되었다.

참고문헌

- 興 貴美子, 林久人, 河合清之, 坂部弘之 (1970): Sepiolite 及び Palygorskite의 加熱による 結晶構造と 生物學的反應の 變化について (その2), 第43回 日本産業醫學會總會講演集, pp. 158.
- 興 貴美子, 神山宣彦, 明星敏彦, 福田一男 (1986): アスベスト及び アスベスト代替品の 生體影響の 研究 (II) - *in vitro* における 細胞毒性, 溶血性, 染色體異常誘起性について - 環境廳企劃調整局研究調整課編, 昭和61年度 環境保全成果集 (II), 94, 1~19.
- Bellmann, B., Muhle, H., Kamstrup, O., and Graeger, U.F., (1997): Investigation of the biodegradability of man made vitreous fibers in rat lungs. *Environ. Health Perspect.*, **102**(suppl 5), 185-189.
- Baris, Y.I., Sahin, A.A. and Erkan, M.L., (1980): Clinical and radiological study in sepiolite workers. *Archives of Environmental Health*, **35**, 343-346.
- Castranova, V., Porter, D., Millecchia, L., Ma, J.Y., Hubbs, A. and Teass, A. (2002): Effect of inhaled crystalline silica in a rat model: Time course of pulmonary reactions. *Mol. Cell Biochem.*, **234-235**, 177-184.
- Chamberlain, M. and Brown, R.C. (1978): The cytotoxic effects of asbestos and other mineral dust in tissue culture cell line. *Br. J. Exp. Pathol.*, 183-189.
- Chamberlain, M., Brown, R.C., Davies, R. and Griffiths, D.M. (1979): *In vitro* prediction of the pathogenicity of mineral dusts. *Br. J. Exp. Pathol.*, 320-327.
- Chamberlain, M., Davies, R., Brown, R.C. and Griffiths, D.M. (1982): *In vitro* test for the pathogenicity of mineral dusts. *Ann. Occup. Hyg.*, 583-592.
- Cullen, T.R., Searl, A., Buchanan, D., Davis, G.M.J., Miller, G.M. and Jones, D.A. (2000): Pathogenicity of a special purpose glass microfiber (e glass) relative to another glass microfiber and amosite asbestos. *Inhal. Toxicol.*, **12**, 959-977.
- Fancine, D., Michel, M., Gaston, C. and Michel, G.C. (1985): Absence of genotoxic effects of nonasbestos mineral fibers. *Cell Biology and Toxicology*, **1**, 23-32.
- Hayashi, H., Koshi, K. and Sakabe, H. (1969): Structural changes of fibrous minerals-asbestos, sepiolite and palygorskite-on heat treatment and their effects on toxicity to the cells. Proceedings of the international clay conference (Heller, L., Ed.), Israel Universities Press, **1**, pp. 903-913.
- Hori, H., Kasai, T., Haratake, J., Ishimatsu, S., Oyabu, T., Yamato, H., Higashi, T. and Tanaka, I. (1994): Biological effects of inhaled magnesium sulphate whiskers in rats. *Occup. Environ. Med.*, **51**, 492-499.
- Ishihara, Y. (2001): *In vitro* studies on biological effects on fibrous minerals. *Industrial Health*, **39**, 94-105.
- Koshi, K., Hayashi, H. and Sakabe, H. (1969): Cell toxicity and hemolytic action of asbestos dust. *Ind. Health*, **6**, 69-79.
- Koshi, K., Kohyama, N., Myojo, T. and Fukuda, K. (1991): Cell toxicology, hemolytic action and clastogenic activity of asbestos and its substitutes. *Ind. Health*, **29**, 37-56.
- Morimoto, Y. and Tanaka, I. (2001): *In vivo* studies of man made mineral fibers - fibrosis related factors -. *Industrial Health*, **39**, 106-113.
- Palekar, L.D., Brown, B.G. and Coffin, D.L. (1985): Correlation between *in vitro* tumorigenesis and *in vitro* CHO cytotoxicity in CHO and V79 cells after exposure to mineral fibers In *Short term genetic bioassays in the analysis of the complex environmental mixtures IV*, (Waters, M.D., Sandu, S.F., Lewtas, J., Claxton, J., Strauss, G., Nesnow, S., Ed.). Plenum Publishing Company, New York, pp. 155-169.
- Porter, D., Hubbs, A.F., Mercer, R., Robinson, V.A., Ramsey, D., McLaurin, J., Khan, A., Battelli, L., Brumbaugh, K., Teass, A. and Castranova, V. (2004): Progression of lung inflammation and damage in rats after cessation of silica

- inhalation. *Toxicological Science*, **79**, 370-380.
- Sakabe, H., Koshi, K. and Hayashi, H. (1971): On the cell toxicity of mineral dusts, *Inhaled Particles III*, (Walton, W. H., Ed.) Unwin Brothers Limited, pp. 423-434.
- Sakai, K., Hisanaga, N., Kojima, A. and Takeuchi, Y. (1991): Elemental composition of asbestos fibers recovered from human lung. *Annual Report of Nagoya City Public Health Research Institute*, **37**, 116-119.
- Tanaka, I., Yamamoto, H., Oyabu, T. and Ogami, A., (2001): Biopersistence of man-made fibers by animal inhalation experiments in recent reports. *Industrial Health*, **39**, 114-118.
- Wright, A., Gormley, I.P., Collings, P.L. and Davis, M.G. (1980): The cytotoxicities of asbestos and other fibrous dusts In *In vitro effects of mineral dusts* (Brown, R.C., *et al.* Ed.). Academic Press, pp. 25-31.