

메틸사이클로헥산 (methylcyclohexane)의 흡입독성과 유해성 평가

김현영*, 이성배, 강민구, 송시환¹

산업안전보건연구원 화학물질안전보건센터, ¹(주) 케몬

A Study on the Hazardousness Evaluation and the Inhalation Toxicity of Methylcyclohexane

Hyeon-Yeong Kim*, Sung-Bae Lee, Min-Gu Kang and Si-Hwan Song¹

Center for Occupational Toxicology, Occupational Safety & Health Research Institute,
Korea Occupational Safety & Health Agency, Daejeon 305-380, Korea

¹Chemon, Cheoin-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 449-826, Korea

ABSTRACT

From the harmfulness expectation test conducted through a toxicity anticipation program, methylcyclohexane turned out to be harmful and simulative, but no carcinogenicity was anticipated. In a four-hour acute inhalation toxicity test, the result showed that lethal concentration (LC₅₀) was 3,750 ppm (15,054 mg/L), which was identified as a harmful substance on the basis of the harmful substance classification standard $2 < LC_{50} \leq 20$ mg/L/4 hr (rat) of the Industrial safety and health law. methylcyclohexane fell under the category 4 ($2,500 < LC_{50} \leq 5,000$ ppm) substance from the GHS standard acute toxicity harmfulness classification. Also, from sub-chronic inhalation toxicity test that included 6 hours a day, five days a week, and for 13 weeks, we could observe weight, activity, long term weight, blood and blood biochemical influence from the exposure of test substance. No-observed effect level (NOEL) was determined below 100~400 ppm in both male and female. This material falls under the Category 2 (50~250 ppm/6 hours/90 days) in the GHS (Globally Harmonized System) standard trace long-term whole body toxicity repeated exposure, and can be classified as a harmful substance in accordance with the Industrial Safety and Health Law harmful substance standard $NOEL \leq 0.5$ mg/L/6 hr/90 day (rat).

Key words : methylcyclohexane, inhalation toxicity, NOEL, MSDS

서 론

산업현장에는 다양한 화학물질이 사용되고 있으나 일부는 안전성 평가 자료의 부족으로 취급부주

의시 근로자의 건강장해 및 화재 폭발에 의한 산업재해를 일으키는 예가 많다. 특히 화학물질의 유해성은 그 물질 자체의 물리화학적 특성이나 독성, 위험성 (toxicity or hazard)과 그 물질의 노출 (exposure) 강도와 기간에 많은 영향을 받는다. 따라서 이러한 안전성 미확인 화학물질에 대해서는 사전에 유해 위험성을 파악하여 적절한 작업환경 관리 (김치년, 1998)를 통해 안전성을 확보할 필요가 있

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-42-869-0341, Fax: +82-42-863-9001
E-mail: kk3843@yahoo.co.kr

으며, 그러나 이의 유해 위험성을 평가하기 위해서는 다양한 시험내용과 장시간의 시험기간 등 많은 비용과 시간이 필요하다. 따라서 이를 위해서는 oecd 및 선진국을 포함 우선순위의 물질들을 선정하여 단계적으로 안전성 평가를 통한 관리를 지속하여 나갈 필요가 있으며 (Gary *et al.*, 1994; OECD, 2001). 이의 일환으로 본 연구는 우리 국내의 산업 현장에서 작업환경 관리 또는 취급부주의로 인하여 사람에게 흡입시 발생할 수 있는 근로자 건강장해 예방을 위하여 휘발성이 강한 유기용제를 중심으로 국내, 외적으로 독성정보가 없거나 부족한 화학물질로 사용량과 취급 근로자수가 많으며 독성이 강하게 예측되는 유해물질에 대해 독성에측프로그램을 이용 발암성 및 유해성을 예측하고 급성 및 아만성 흡입독성시험을 통하여 유해농도와 표적장기를 포함 생체에 미치는 영향을 규명하며, 흡입 노출시 사람에게 미치는 영향예측과 MSDS자료를 확보하고자 하였다.

시험물질로 선정된 메틸사이클로헥산(methylcyclohexane)은 분자량 98.18의 투명하고 휘발성이 강한 무색의 액체로 페인트 벤젠과 같은 냄새를 띠며, 물에는 난용성이고, 비중은 20°C에서 0.77, 어는점 -127°C, 끓는점 100.9°C, 발화점 285°C, 증기압 43 torr (25°C), 증기밀도 3.4 (air=1.0), closed-cup 인화점 25°F (-3.98°C), 포화공기농도 5.65% (25°C), 폭발한계 (공기체적의) 상한 6.7%, 하한 1.2%인 물질로 아세톤, 벤젠, 에테르 등 유기용제, 특히 아세톤과 벤젠에 아주 잘 녹는 물질이다 (Patty, 1963; 産業中毒使覽, 1994; NIOSH, 1997; 한국산업안전공단, 2004). 독성 정보로는 흡입시 피부와 안구, 점막, 상부호흡기 등을 자극하고, 두통과 어지러움, 오심 등의 신경계장해를 유발하는 물질로 알려져 있으며 (Casarett *et al.*, 1975; Gosselin *et al.*, 1984; Snyder, 1987; 産業中毒使覽, 1994; ACGIH, 2004), 오래된 연구 결과이나 Mouse에서의 LD₅₀은 2,250 mg/kg, LC₅₀는 41,500 mg/m³/2 h이며 아만성 독성 시험에서 토끼에게 10주간 반복 흡입 노출한 결과 2,880 ppm 용량에서 간과 신장에 독성영향이 관찰되었으며 1,200 ppm 용량에서는 부작용이 인정되지 않은 보고 (Trean *et al.*, 1943)와 암, 수 Rat를 이용 0, 400 및 2,000 ppm 3 용량으로 12개월간의 만성흡입독성시험 결과 2,000 ppm 노출 수컷 Rat의 신장에서 제한적으로 독성영향(nephropathy)이 관

찰되었고 (Kinkead *et al.*, 1985), Lazarew는 Rat를 이용급성독성 시험결과 10,000~12,500 ppm에서 치명적 영향과 7,500~10,000 ppm으로 2시간 노출시 강한 독성작용을 확인한 것으로 보고 (Lazarew, 1929)하였다. 본 메틸사이클로헥산의 노출기준(TLV-TWA)은 400 ppm (ACGIH, 2004)이며, 국내 연간 취급량은 약 100톤, 취급 근로자수는 600여명으로 하루에 1시간 이하 또는 1~4시간 정도로 사용하는 것으로 보고되어있다 (노동부, 2004).

그러나 최근 흡입노출에 의한 각종 생체에 미치는 영향연구 자료는 매우 한정적이며 특히 본 물질은 휘발성이 강하여 작업환경 관리나 취급부주의시 호흡기나 피부 흡수를 통하여 체내에 흡수가 용이한 물질로 최근 시험물질의 장기 노출시 생체에 미치는 각종 영향과 표적 장기 등 메틸사이클로헥산의 흡입에 의한 유해성 평가 자료는 매우 부족하다. 따라서 본 메틸사이클로헥산을 시험물질로 하여 SD rat를 이용 4시간 단회노출에 의한 치사농도 등 급성독성과 일일 6시간, 주 5일, 13주 반복 장기노출에 의한 독성시험을 통하여 각종 임상적 영향 및 유해성을 평가하고 이를 통해 사람에게 미치는 영향을 예측하며 연구 결과를 토대로 근로자 건강장해 예방 및 작업환경 관리를 위한 물질안전보건정보(MSDS)를 제공 (노동부, 1997)하고 화학물질의 유해성 분류 (노동부, 1997; GHS, 2003)를 위한 기초자료 제공과 건강장해 발생시 원인규명의 자료로 활용하고자 한다.

연구 방법

1. 실험재료

1) 실험동물 및 사육환경

SLC Japan에서 생산된 6주령의 특정병원체 부재 SPF (specific pathogen free)의 SD (Sprague-Dawley) Rat를 주식회사 중앙실험동물에서 구입하여 청정사육시설(barrier system)의 검역실에서 1주간 순화 후 4대의 흡입챔버 (inhalation chamber)내에서 가스발생 및 모니터링 시험 장비를 이용하여 시험 물질을 실험동물에 노출시켰다. 실험동물은 대조군과 시험물질 노출군으로 구분하였고, 5연식 스테인레스 철망케이지에 실험동물을 개체별로 수용하였다. 환경은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20% (단,

시험물질 투여시는 제외), 환기회수 12~15회/시간, 조명 150~300 Lux로 12시간으로 하였으며, 사료는 실험동물용 멸균사료 LabDiet 5002 (PMI Nutrition, USA)를, 급수는 상수도수를 삼투압정수 및 자외선 살균기로 소독시킨 음용수를 자유롭게 섭취토록 하였다. 단, 사료는 시험물질 노출시간에는 시험물질의 사료 내 흡수를 막기 위해 공급하지 않았다.

2) 시험물질 및 시험 노출농도 설정

시험물질은 메틸사이클로헥산 (methylcyclohexane, MCH)으로 Acros Organics (USA)에서 구입한 1급(Lot # A0212696) 시약을 사용하였으며 대조물질은 Hepa filter 및 온습도 조절을 통해 정화된 청정공기를 사용하고 시험물질 노출군은 시험물질을 가스발생기를 이용 기화시킨 후 시험농도별로 청정공기와 일정 비율로 혼합하여 사용하였다.

또한 시험물질의 노출농도 설정에 있어 급성독성시험의 농도는 OECD의 Guidelines for testing of chemicals (OECD, 2004) 규정에 따라 100, 500, 2,500, 5,000 ppm으로 하였으며 아만성흡입독성시험의 경우는 급성독성시험결과와 다른 연구자의 참고문헌(Treon *et al.*, 1943; Kinkead *et al.*, 1985) 및 노출기준(ACGIH, 2004)을 토대로 고농도군은 확실영향 예측농도로, 저 농도군은 무영향예측 농도로 하여 0, 100, 400, 1,600 ppm으로 설정하였다.

2. 실험방법 및 통계처리

관련 문헌조사와 독성예측프로그램 (Quantitative Structure Activity Relationship : QSAR., Accelrys사의 TOPKAT 6.2 프로그램)을 이용 변이원성, 급성독성, 만성독성, 발암성을 예측하고 이를 토대로 실험동물을 이용 흡입독성시험을 하였다. 급성흡입독성시험의 경우 암컷 실험동물을 이용 각 군별 5마리로 하여 대조군과 100, 500, 2,500, 5,000 ppm군으로 4시간 단회 노출시켰으며, 아만성 흡입독성시험의 경우 대조군과 100, 400 및 1,600 ppm의 4군으로 구성, 각 시험군당 동물 수는 암, 수 각 10마리로 하여 시험물질을 1일 6시간, 주 5일, 13주간 연속 전신반복노출 하였으며, 시험방법과 실험항목은 국립환경연구원 「화학물질유해성시험연구기관의 지정 등에 관한 규정 1998」, 식품의약품안전청 「의약품등의 독성시험기준, 1999」, OECD 「OECD

guidelines for testing of chemicals 1996, 2004」, 미국 EPA 「90-Day Inhalation Toxicity, 1998」 등을 참고하였고 시험물질 노출에 의한 생사의 유무와 임상증상, 체중변화, 사료섭취량변화, 안검사, 혈액 및 혈액생화학적검사, 병리조직검사 운동성검사 등을 하였으며 아만성 흡입독성시험 기간 중 시험물질의 노출농도 측정결과는 Fig. 1과 같았다.

시험결과의 통계처리는 평균과 표준편차로 표기하고 동물의 체중, 사료 섭취량, 장기별 무게 등은 Paired-Sample t test를 이용 예비검정에서는 multiple comparison 평가와 5% (p<0.05)의 신뢰한계로 검정하고 최종으로는 1% (p<0.01), 0.1% (p<0.001)의 신뢰한계로서 대조군과 폭로군의 유의성을 확인하였다. 혈액검사는 sigmastat의 일원배치분산분석(One-way ANOVA)에서 실시하였으며 유의성이 인정된 자료는 dunnet 다중비교법을 이용하여 5% 수준에서 유의차 검정을 하였다.

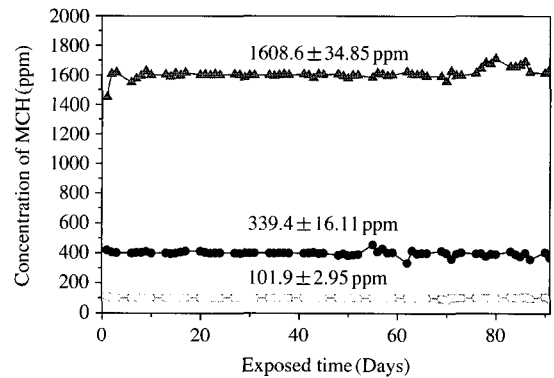


Fig. 1. Changes of concentration in inhalation chamber during the experiment.

연구 결과

1. 독성예측프로그램을 이용한 유해성 조사

각종 독성예측프로그램 (Accelrys사 TOPKAT 6.2)을 이용 발암성을 예측한 결과 일부는 발암성이 예측되었으나 12종의 예측모델 중 10종은 발암 가능성이 5% 이하로 예측되어 종합적 평가에서 발암성 물질로 판정되지 않았으며, 기타 급성독성, 자극성 등의 독성예측프로그램을 이용 독성발현 가

능성 조사에서는 눈에 자극성이 발현할 수 있는 예측결과를 나타내었고 Aerobic Biodegradability Model에서는 호기성 생분해 가능성이 예측되었으며 LC₅₀는 10 g/m³ (1 h), 만성독성의 최저영향농도 (LOAEL)는 1.1 g/kg으로 예측되었다.

2. 급성흡입독성

100, 500, 2,500 ppm군에서는 일반증상 변화나 사망동물은 없었으나 5,000 ppm군의 경우 노출기간(4시간) 내 (15~24분 정도) 5마리 전량 사망하였

으며 노출 완료 후 생존동물에는 대조군을 기준으로 특이한 임상적 소견이나 체중변화는 없었다. 사망 및 관찰기간 종료 후 생존동물에 대한 병리조직검사결과 5,000 ppm 노출군은 폐출혈 및 충혈과 폐의 암적색조(Dark red discoloration)가 관찰되었으며 (Fig. 2), 100, 500, 2,500 ppm 노출군에서는 간질성 폐렴과 500 ppm 노출군에서 하악림프절의 소절주위피질동(cortical sinus)의 적혈구와 하악림프절 인접한 결합조직내의 출혈이 관찰되었다(Fig. 3).

또한 사망 및 생존 동물에 대한 용량반응(Dose-Response) 프로그램을 이용 노출농도(ppm)와 사망

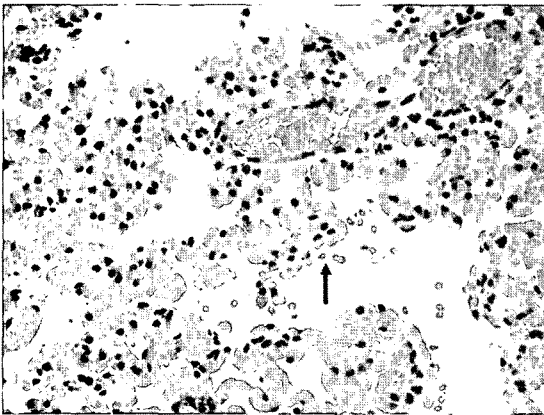


Fig. 2. SD rat of female marked pulmonary congestion and hemorrhage (arrow). H & E. × 400.

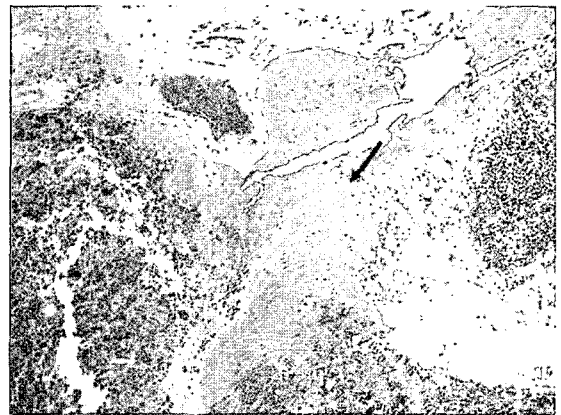


Fig. 3. SD rat of female hemorrhage in connective tissue adjacent to lymph node (arrow). H & E. × 100.

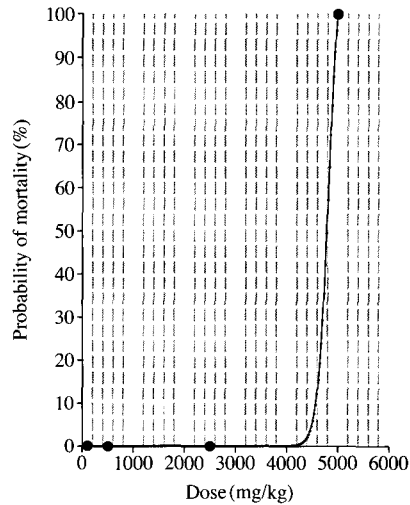
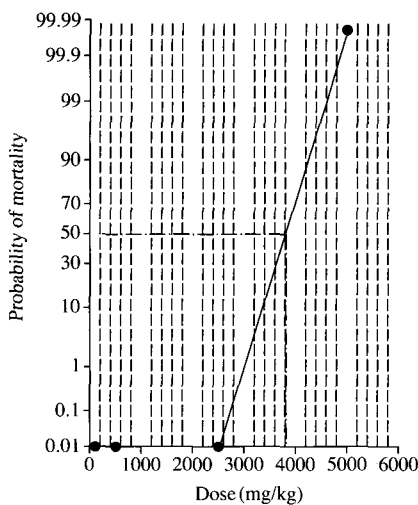


Fig. 4. Dose-mortality curve for methylcyclohexane.

를(%)을 Probit method에 의한 통계처리 결과(Fig. 4) 반수치사농도(4시간, SD Rat) LC₅₀은 3,750 ppm (15,054 mg/L)으로 산출되었다.

3. 아만성흡입독성시험

1) 임상증상

시험물질 노출 기간 중 사망동물은 없었으며 대조군과 100 ppm 노출군 암컷 각 1레에서 백내장의 현상을 보였으나, 시험물질에 기이한 영향으로 판단되지 않았으며 그 외 특이적 이상 소견은 없었다.

2) 체중변화 및 사료섭취량

시험기간 중 암·수 동물의 체중변화를 측정된 결과 Figs. 5, 6에서와 같이 대조군과 비교하여 수

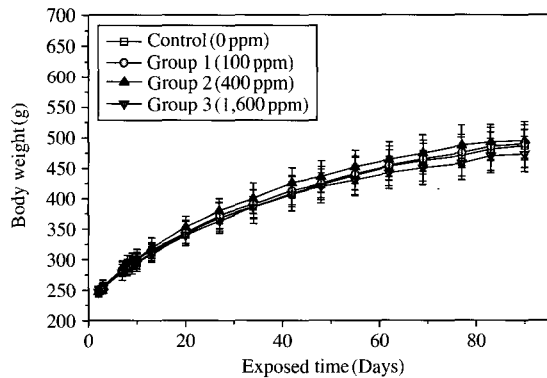


Fig. 5. Changes of body weight in male rats exposed to methylcyclohexane for 13 weeks.

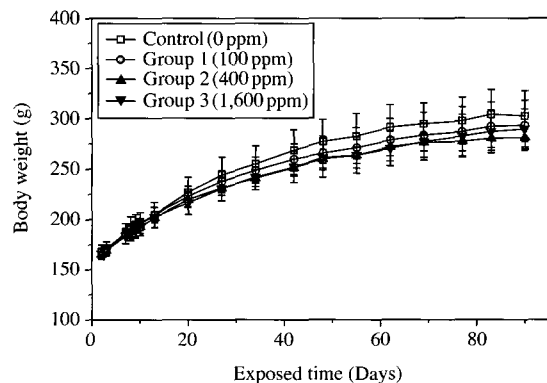


Fig. 6. Changes of body weight in female rats exposed to methylcyclohexane for 13 weeks.

컷에서는 400 ppm군이 대조군에 비해 높은 경향이 있었고 암컷에서는 400, 1,600 ppm군의 감소경향을 보였으나 체중의 차이가 크지 않고 농도의존성 및 통계학적 유의성은 없었다. 그리고 사료섭취량은 대조군을 기준하여 유의성은 나타나지 않았다.

3) 안 검사

시험물질 노출 마지막 주(12주째)에 각 군당 암, 수 5마리에 대해 안구의 시진 및 촉진검사와 각막 현미경, 안저 카메라 등을 이용하여 안외주위, 안검, 각 부위의 형태학적 변화, 혼탁이나 혈관신생 등을 관찰하였다. 확인결과 수컷 대조군 1레와 1,600 ppm군 2레에서 각막혼탁과 암컷 대조군 1레에서 백내장이, 암컷 대조군 1레와 1,600 ppm군 한레에서 각막혼탁이 관찰되었다. 그러나 대조군에서도 동일한 현상이 발견되었으며, 시험물질에 의한 농도의존성이나 노출에 의한 영향의 특이성은 관찰되지 않아 동물의 개체특이성으로 판단되었다.

4) 운동성 변화

시험물질 노출 종료 전부터 3일간 시험물질 노출에 의한 운동성의 변화를 적외선 감지장치를 부착한 운동성 측정 장치(Sibata, Japan)를 이용 각 시험동물에 대한 운동량을 측정하여 적산 하였으며 그 결과를 Fig. 7에 나타내었으며, 시험물질 노출 종료 3일전부터 노출 종료 시점까지 실험동물의 활동성을 암, 수로 구분하고 이를 각 군별, 시간 대별로 Figs. 8, 9에 나타내었다.

결과 Fig. 7에서와 같이 시험물질 노출에 따른 활동성이 노출농도 증가에 따른 의존성은 없었으

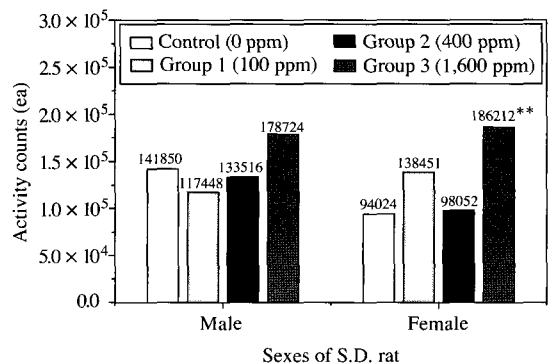


Fig. 7. Activity counts sum of male and female rats exposed to Methylcyclohexane for 13 weeks.

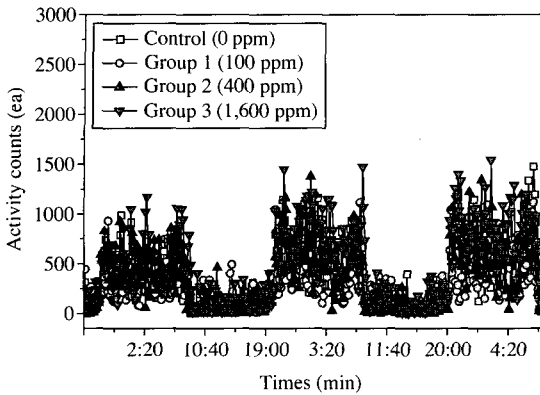


Fig. 8. Activity counts of male rats exposed to methylcyclohexane for 13 weeks

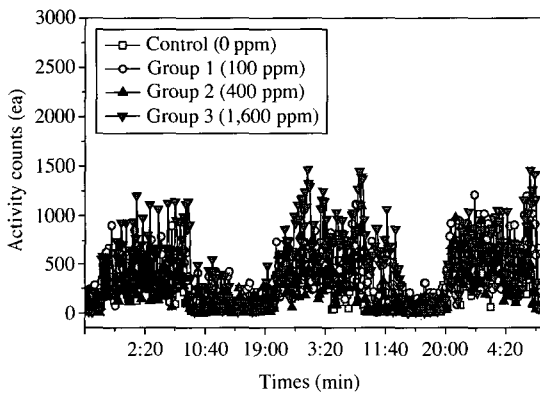


Fig. 9. Activity counts of female rats exposed to methylcyclohexane for 13 weeks

나 고농도의 경우 암, 수 모두 상승하는 경향을 보였으며 특히 암컷 농도의존성과 1,600 ppm군의 경우 대조군을 기준하여 유의성 ($p < 0.01$) 있는 증가가 확인되었다. 또한 Figs. 8, 9에서와 같이 12시간을 주기로 실험동물은 실험실내 조명이 소등되었을 때 활동성이 강하고(rat는 야행성 동물) 점등(150~300 Lux)되었을 때 활동성이 저하하는 경향을 볼 수 있었으며 그러나 암, 수 모두 시험물질의 노출농도가 높을수록 활동성이 증가하는 경향을 나타내었다.

5) 혈액검사 결과

혈액학적 검사결과 Table 1, 2와 같이 수컷 1,600 ppm군의 HGB에서 대조군에 비해 유의한 감소 ($p < 0.01$)를 보였으나 백혈구 감별계수에서는 암·수 모든 노출군의 모두 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았으며 Reticulocyte 수치에서도 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다.

또한 혈액생화학적 검사에서는 Table 3, 4와 같이 수컷 400 ppm군에서 total cholesterol 레벨이 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었으며 ($p < 0.05$), 1,600 ppm군에서는 total cholesterol 레벨, triglyceride 및 염소 농도가 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다(공히 $p < 0.01$). 그리고 암컷에서는 400 및 1,600 ppm군의 나트륨 및 염소 농도가 대조군에 비해 유의한 감소를 나타내었으며 ($p < 0.05$), 1,600 ppm군에서는 total cholesterol 레벨, triglyceride 및 염소 농도가 대조군에 비해 유의한 증가

Table 1. Hematological results in male SD rats after inhaled methylcyclohexane for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
WBC	8.1 ± 1.72	8.5 ± 2.25	9.2 ± 2.12	8.7 ± 1.37
RBC	9.0 ± 0.42	9.0 ± 0.40	9.0 ± 0.31	8.7 ± 0.26
HGB	15.5 ± 0.41	15.4 ± 0.45	15.3 ± 0.52	14.9 ± 0.35**
HCT	43.3 ± 1.11	43.2 ± 1.09	43.2 ± 1.55	42.0 ± 0.94
MCV	48.0 ± 1.49	47.8 ± 1.26	48.0 ± 0.99	48.3 ± 1.41
MCH	17.2 ± 0.65	17.1 ± 0.43	17.0 ± 0.29	17.1 ± 0.31
MCHC	35.8 ± 0.49	35.7 ± 0.34	35.4 ± 0.36	35.4 ± 0.56
RDW	18.0 ± 0.73	18.7 ± 0.94	18.6 ± 0.8	18.2 ± 1.09
PLT	990.9 ± 100.4	1036.6 ± 89.4	1028.7 ± 41.3	1059.7 ± 108.1
MPV	7.2 ± 1.24	6.4 ± 0.38	6.4 ± 0.62	6.5 ± 0.47
PDW	19.3 ± 1.46	18.7 ± 1.00	18.6 ± 0.72	18.3 ± 0.56

All values are expressed as mean ± SD.

Significant differences as compared with control: ** $p < 0.01$.

WBC, white blood cell count ($10^3/\text{mm}^3$); RBC, red blood cell count ($10^6/\text{mm}^3$); HGB, hemoglobin (g/dL); HCT, hematocrit (%); MCV, mean corpuscular volume (μ^3); MCH, mean corpuscular hemoglobin (pg); MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration (%); PLT, platelet ($10^3/\mu^3$)

Table 2. Hematological results in female SD rats after inhaled methylcyclohexane for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
WBC	4.8±1.08	5.1±1.04	6.8±4.14	5.3±1.82
RBC	8.0±0.30	8.0±0.30	7.7±0.71	8.2±0.41
HGB	15.0±0.38	14.8±0.46	14.3±1.71	15.0±0.60
HCT	41.7±0.80	41.3±1.33	40.2±4.52	42.0±1.52
MCV	52.4±1.22	51.9±1.09	51.9±2.02	51.6±1.19
MCH	18.8±0.47	18.6±0.41	18.4±0.84	18.4±0.45
MCHC	35.9±0.56	35.8±0.39	35.5±0.46	35.7±0.31
RDW	15.8±0.84	16.1±0.66	17.0±2.81	16.1±0.66
PLT	1024.3±104.7	946.0±303.2	1188.9±413.9	1031.5±93.6
MPV	6.8±0.86	6.7±0.44	6.75±0.49	6.5±0.37
PDW	18.4±0.73	18.3±0.43	18.4±0.82	18.3±0.73

Table 3. Biochemical serum values in male SD rats after inhaled methylcyclohexane for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
AST	88.9±12.2	99.2±14.0	97.5±17.7	117.5±62.2
ALT	43.7±7.54	47.5±6.13	40.0±4.91	69.4±70.49
ALP	101.4±17.11	120.9±26.58	105.2±26.26	94.1±14.54
BUN	16.4±1.05	16.6±1.49	17.6±1.15	17.3±1.51
CRE	0.59±0.045	0.60±0.044	0.61±0.048	0.58±0.040
GLU	176.0±31.05	169.0±29.94	166.4±23.19	174.1±30.52
CHO	68.2±13.12	76.9±0.22	84.2±14.78*	102.0±16.74**
PRO	7.0±0.27	7.1±0.37	7.1±0.19	7.18±0.22
CPK	258.5±150.47	245.4±141.25	252.2±167.54	224.2±278.4
ALB	3.7±0.12	3.8±0.10	3.7±0.07	3.7±0.08
TBIL	0.13±0.01	0.14±0.01	0.13±0.01	0.14±0.02
TG	103.0±20.34	100.8±20.85	114.8±19.02	146.6±34.02**
Ca	10.3±0.48	10.4±0.46	10.5±0.35	10.5±0.30
IP	7.0±0.99	7.2±0.96	7.2±1.00	6.7±1.28
A/G	1.1±0.07	1.1±0.11	1.1±0.05	1.1±0.04
LDH	564.2±350.5	619.7±452.3	605.7±448.1	532.1±659.0
Na	145.6±1.2	145.9±1.2	145.9±1.1	146.5±0.5
K	4.7±0.79	4.7±0.90	5.4±1.63	4.9±0.89
Cl	108.±1.7	108.8±0.9	109.2±0.9	110.2±1.5**

All values are expressed as mean±SD.

Significant differences as compared with control: *p<0.05, **p<0.01

AST, aspartate aminotransferase (μ/L); ALT, alanine aminotransferase (μ/L); ALP, alkaline phosphatase (μ/L); BUN, urea nitrogen in blood (mg/dL); CREA, Creatinine (mg/dL); GLU, glucose (mg/dL); TCHO, total cholesterol (mmol/L); TP, total protein (mg/dL); LDH, lactate dehydrogenase (μ/L); TBIL, total bilirubin (mg/dL).

를 나타내었다(p<0.05 및 p<0.01).

6) 부검 및 장기중량소견

대조군에서 좌측 정낭 하부의 mass가 1례, maxillary lymph node에서 congestion이 1례, 400 ppm 군에서 안구 혼탁이 1례, testis에서 microorchidia

가 1례 관찰되었다. 1,600 ppm군에서는 폐의 적색 조 반점 산재가 1례, 흉선의 충혈이 1례, 간과 횡경막의 유착이 1례 관찰되었다. 또한 1,600 ppm 군의 우측 부신에서는 대조군에 비해 증가경향을 나타내었다.

암컷의 경우 대조군에서 안구혼탁 1례, 흉선의

Table 4. Biochemical serum values in female SD rats after inhaled methylcyclohexane for 13 weeks

Items	Control	100 ppm	400 ppm	1,600 ppm
AST	106.1±27.2	147.5±170.2	100.4±31.9	106.2±28.0
ALT	44.0±15.72	77.6±125.91	35.7±12.18	47.3±25.14
ALP	63.0±17.85	64.0±21.06	67.5±30.99	71.8±22.9
BUN	18.6±1.97	18.0±2.32	17.6±2.58	19.7±4.18
CRE	0.57±0.04	0.58±0.04	0.57±0.04	0.54±0.03
GLU	114.3±6.72	116.6±9.59	113.3±9.63	119.1±10.11
CHO	109.4±18.44	115.6±28.72	88.4±18.89	105.0±20.17
PRO	7.3±0.44	7.4±0.25	7.0±0.47	7.2±0.27
CPK	308.9±147.25	276.9±158.03	245.2±157.54	270.6±137.10
ALB	4.0±0.24	4.0±0.12	3.6±0.47	3.8±0.20
TBIL	0.15±0.01	0.17±0.04	0.15±0.03	0.15±0.02
TG	83.0±25.00	81.3±28.34	60.1±9.63	75.3±24.31
Ca	10.2±0.31	10.1±0.29	9.9±0.36	10.0±0.22
IP	5.9±0.61	5.4±0.88	5.7±0.71	5.7±0.85
A/G	1.2±0.04	1.2±0.06	1.1±0.16	1.1±0.09
LDH	726.5±375.6	682.3±410.0	656.3±499.5	690.3±363.4
Na	145.9±0.6	145.9±0.7	144.5±1.3*	144.7±0.5**
K	4.2±0.33	4.1±0.27	4.4±0.58	4.4±0.39
Cl	111.3±1.9	111.5±0.8	109.0±2.0**	108.4±1.5**

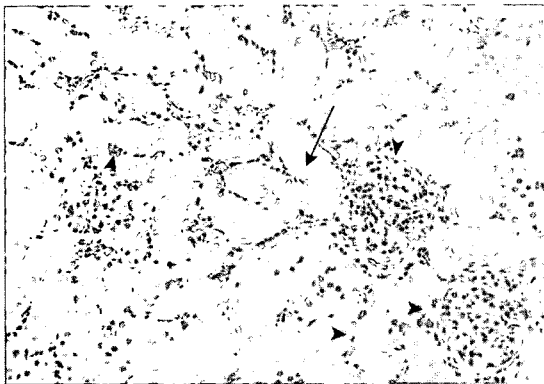


Fig. 10. Focal nephropathy, Note the homogeneous proteinaceous tubular casts (arrow), inflammatory infiltrates, and thickened basement membrane of glomeruli and renal tubules (arrowheads). H & E. ×200.

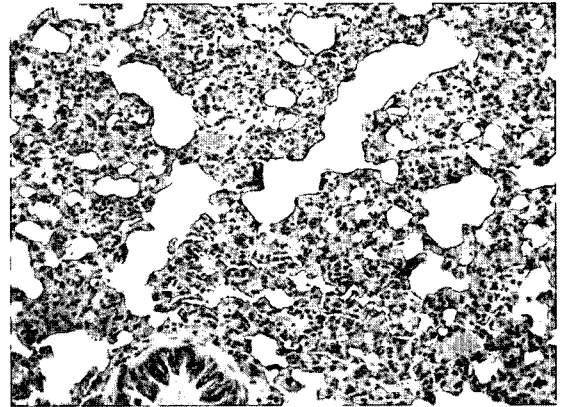


Fig. 11. Interstitial pneumonia (2010), characterized by diffuse alveolar septal thickening by congestion, inflammatory cell infiltrates and mild fibrosis. H & E. ×200.

총혈이 2레 및 우측 신장 표면의 거침이 1레 관찰되었으며, 100 ppm군에서는 자궁의 맑은 액체 저류가 1레, 400 ppm군에서는 자궁의 맑은 액체 저류가 2레, 췌장-지방의 유착이 1레 관찰되었으며, 1,600 ppm군에서는 양쪽 신장 표면의 거침이 1레 관찰되었다.

장기중량소견에서는 수컷의 경우 400 ppm군 이

상에서 비장, 신장, 부신이, 암컷 400 ppm군 이상에서 난소, 간장 부신이 농도 의존적이며 유의성 있게 ($p < 0.05$ 및 $p < 0.01$) 증가 하였다.

7) 병리조직학적 검사

병리조직검사결과 수컷 100 ppm군 신장에서 국소성신장병증 3레 (Fig. 10), 폐장에서는 간질성 폐

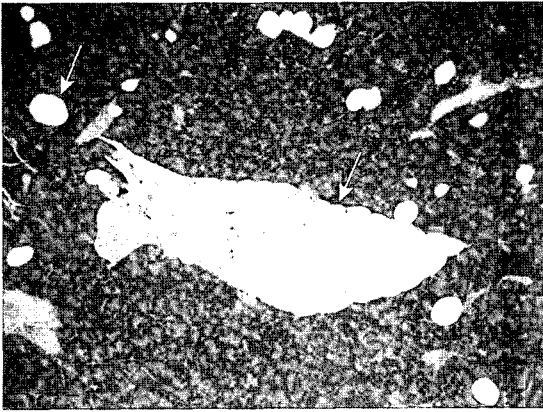


Fig. 12. Lipomatosis in pancreas (2002), Note the adipocytes in the acinar tissues of the pancreas (arrows). H & E. $\times 100$.

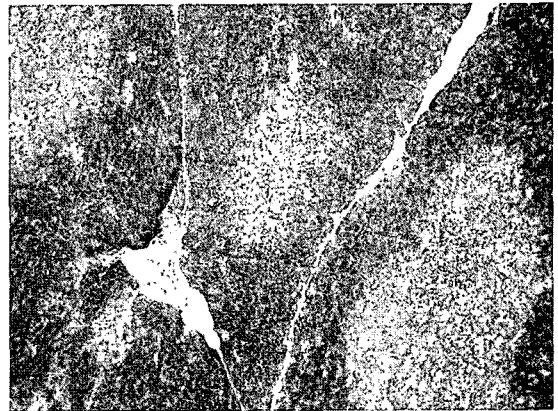


Fig. 14. Congestion (2002), Note the foci of erythrocytes present in thymic medulla or cortex. H & E. $\times 100$.

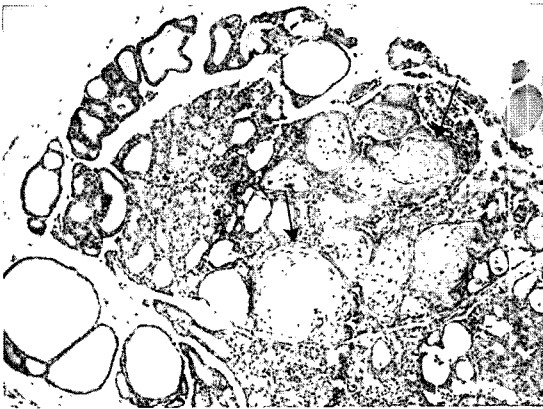


Fig. 13. Ultimobranchial cysts (1309) lined by flattened squamous epithelium and distended with keratin and cellular debris (arrows). H & E. $\times 100$.

렴 (interstitial pneumonia)이 3례 (Fig. 11) 관찰되었으며 폐장에서는 지방종증이 3례 (Fig. 12), 400 ppm 군 신장에서는 국소성신장병증이 2례, 폐장의 간질성폐렴이 2례, 갑상선에서는 아가미끝소체 (ultimobranchial cyst)가 2례 (Fig. 13)에서 관찰되었다. 또한 1,600 ppm 군 신장에서는 국소성신장병증이 4례, 흉선에서는 충혈 (congestion)이 1례 (Fig. 14), 갑상선에서는 아가미 끝소체가 2례에서 관찰되었다.

암컷의 경우 100 ppm 군 신장에서 무기질침착이 3례, 폐장에서는 간질성 폐렴이 1례, 갑상선에서는

아가미끝소체 2례가 관찰되었으며, 400 ppm 군 신장에서 이행상피과형성 1례, 무기질침착이 3례, 폐장에서는 간질성폐렴 1례 및 폐혈관의 백혈구증가증 (leukocytosis)이 1례, 갑상선에서는 아가미끝소체가 1례 관찰되었다. 또한 1,600 ppm 군의 경우 신장에서 국소성 신장병증, 만성 경색 (chronic infarction), 무기질침착 및 간질성신염이 각각 1례, 관찰되었고 폐장에서는 간질성 폐렴 1례, 갑상선에서는 아가미끝소체 1례가 관찰되었다.

고 찰

본 연구는 산업현장에서 화학물질 취급에 의한 근로자 건강장해 예방의 일환으로 연구되었으며 메틸사이클로헥산은 휘발성이 강하고 취급부주의 시 호흡기나 피부를 통하여 체내에 흡수 건강장해를 일으킬 수 있는 물질로 실험동물을 이용 흡입 독성시험으로 사람에게 미치는 유해성과 유해농도를 예측하고 근로자 건강장해 예방을 위해 MSDS (노동부, 1997)를 포함한 독성평가 자료를 제공하고자 하였다.

문헌조사 (Lehman, 1943; Lzmerov, 1982; 産業中毒使覽, 1994; 한국산업안전공단, 2004) 결과 메틸사이클로헥산 인화성물질로 분류되는 강한 휘발성 유기화합물로서 틀루엔에 비해 독성이 낮아 저독성이 요구되는 페인트, 잉크, 접착제 등 코팅분야와 금속의 세정제로 사용된다. 또한 타이어 재생업, 계

면활성제 제조업, 자동차 차체용 부품 제조업, 금속 조립 공정 등 용제나 세정제, 기타 기초 유기화합물 제조업 등에서 사용하며 독성으로는 마우스에서의 경구반수치사량(LD₅₀)은 2,250 mg/kg, 흡입반수치사농도(LC₅₀)는 41,500 mg/m³/2 h이며 아만성 독성시험에서 토끼에게 10주간 반복 흡입 노출한 결과 2,880 ppm 용량에서 간과 신장에 독성영향이 관찰되었으며 1,200 ppm 용량에서는 부작용이 인정되지 않은 것으로 알려져 있다(Treon *et al.*, 1943).

본 급성흡입독성시험에서는 Treon(1943)의 연구결과와 달리 반수치사농도(LC₅₀)는 3,700 ppm이었으며 5,000 ppm의 경우 흡입노출 15~24분 만에 모두 사망하였고, 사망 원인은 폐 충혈과 출혈에 의한 것으로 판단되었다. 폐장의 충혈과 출혈은 흔히 보이는 변화로써, 약물이나 화학물질의 노출이나 심부전, 응고와 같은 전신적인 병변에 이차적으로 유도되고 부종, 충혈과 출혈이 동반되기도 한다.

생존한 동물의 폐에서 일부 관찰된 혈관주위 염증세포 침윤 및 폐포염은 Rat에서 자연발생적으로 관찰되는 소견으로, 생존 동물에서도 관찰되고 병변의 정도 또한 미약하여 시험물질과는 무관한 것으로 판단되었다. 그 외에 500 ppm 노출군에서 소절주위피질동(Cortical Sinus)의 적혈구와 하악림프절의 인접한 결합조직내의 출혈은 부검시 경추탈구의 압박에 의한 출혈과 관련이 있는 것으로 판단하여 시험물질과는 무관한 것으로 판단되었다.

또한 아만성 흡입독성시험에서 사망이나 특이적 일반증상은 관찰되지 않았으나 운동성변화 시험에서 시험물질 노출에 의한 암·수 모두 농도 의존적으로 운동성의 상승이 관찰되었는데 이는 시험물질의 흡입에 따른 신경계 활성화도에 영향을 미친 것으로 판단되었다.

혈액학적 검사에서 수컷의 경우, 1,600 ppm군의 HGB에서만 대조군에 비해 유의한 감소가 인정되었으나, 백혈구와 망상적혈구 백분율에서는 유의한 변화가 인정되지 않았으며, 암컷의 경우 혈액학적 수치에서 유의한 변화는 없었다. HGB의 경우는 유의한 감소가 인정되었지만 생리학적 정상범위에 있었고 또한 용량의존적인 경향도 관찰되지 않아 시험물질에 의한 영향으로 판단하지 않았다.

혈액생화학적 검사에 있어서는 수컷의 경우, 400 ppm군에서 total cholesterol 레벨이 대조군에 비해

유의한 증가를 나타내었으며 ($p < 0.05$). 1,600 ppm군에서는 total cholesterol 레벨, triglyceride 및 염소 농도가 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었고 ($p < 0.01$) 100 ppm군에서는 total cholesterol 레벨이 증가하는 경향이 있었다.

암컷의 경우, 400 ppm군의 나트륨 및 염소 농도가 대조군에 비해 유의한 감소를 나타내었고 ($p < 0.05$ 및 $p < 0.01$) 1,600 ppm 노출군에서도 나트륨 및 염소 농도가 대조군에 비해 유의한 감소를 나타내었다(공히 $p < 0.01$). 그러나 이상의 값들이 표적장기의 독성지표를 나타내는 높은 수치와는 달리 대부분의 생리학적 정상범위(이영순, 1991; 이귀영과 이종순, 1993) 내에 있고 또한 암·수간의 연관성도 인정되지 않아 본 시험물질은 혈액생화학적 성상에 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다.

부검소견으로 수컷에서는 대조군에서 좌측 정낭 하부의 mass가 1례, Maxillary lymph node에서 Congestion이 1례 관찰되었다. 400 ppm군에서는 안구 혼탁이 1례, testis에서 microorchidia가 1례 관찰되었다. 1,600 ppm군에서는 폐의 적색조 반점 산재가 1례, 흉선의 충혈 1례, 간과 횡경막의 유착 1례가 있었다.

암컷에서는 대조군에서 안구혼탁 1례, 흉선의 충혈이 2례 및 우측 신장 표면의 거침이 1례 관찰되었으며, 100 ppm군에서는 자궁의 맑은 액체 저류 1례 관찰되었다. 400 ppm군에서는 자궁의 맑은 액체 저류가 2례 및 췌장-지방의 유착 1례, 1,600 ppm군에서는 양쪽 신장 표면의 거침 1례가 관찰되었다. 장기 중량 검사에서는 일부 대조군에 비해 증가 또는 감소의 경향이 있었으나 유의한 차이가 나타난 장기에 병리학적인 변화가 인정되지 않았으며 이러한 차이는 체중증감에 따른 차이였으며 대조군을 기준으로 시험물질노출과 관련된 특이할만한 육안적 병변은 관찰되지 않았다.

병리조직학적 검사결과에서도 대조군을 기준으로 시험물질과 관련된 특이한 병변을 관찰되지 않았다. 단, 신장에서 관찰된 국소성 신장병증, 세뇨관 내 무기질침착, 섬유화(Fibrosis)를 동반한 신장의 간질성신염과 쐐기모양(Wedge-shaped)의 만성경색, 신장의 신우와 유두의 이행성피괴형성, 폐장에서 관찰된 간질성폐렴 및 부신피질의 다발층의 광범위한 공포화 등은 일반적으로 아급성 또는 만성 독성 시험시 대조군을 포함 자주 유발되는 자연발

생적인 병변으로 일어날 수도 있으며(강진석 등, 1991; Boorman *et al.*, 1990; Gary *et al.*, 1990; Farrar, 1997; Greaves, 2000), 특히 본 연구에서는 대조군과 노출군을 포함 암, 수에서도 산발적으로 나타났고, 또한 용량 의존적으로 관찰되지 않아 메틸사이클로hexane의 흡입노출에 의한 독성학적 영향으로 판단되지 않았다.

이상의 결과를 토대로 SD Rat를 이용 아만성 흡입독성시험에서 메틸사이클로hexane의 무영향농도(NOEL)는 암·수 모두 100~400 ppm 이하로 평가되었다. 이는 GHS 기준(GHS, 2003)의 표적장기 전신독성-반복노출에서는 Category 2 (50~250 ppm/6시간/90일) 물질에 해당되었으며, 산업안전보건법의 유해물질 기준(노동부, 1997) NOEL≤0.5 mg/L/6 hr/90day (rat)에 의거 메틸사이클로hexane은 0.40~1.61 mg/L/6 hr/90day (rat)로 유해물질 기준에 해당되었다.

결 론

메틸사이클로hexane에 대해 독성예측프로그램을 이용 유해성예측 결과 유해성과 자극성이 있는 물질로 나타났으나 발암성은 예측되지는 않았다. 또한 4시간 급성흡입독성시험결과 반수치사농도(LC₅₀)는 3,750 ppm (15,054 mg/L)으로 평가되어 산업안전보건법의 유해물질 분류기준 2 < LC₅₀ ≤ 20 mg/L/4 hr (rat)에 의거 유해물질에 해당되었고, GHS (Globally Harmonized System) 기준 급성독성 유해성구분에서는 Category 4 (2,500 < LC₅₀ ≤ 5,000 ppm) 물질에 해당되었다. 일일 6시간, 주 5일, 13주 아만성 흡입독성시험에서는 시험물질 노출에 의한 체중저하 및 운동성과 장기중량, 혈액 및 혈액생화학적 영향을 관찰할 수 있었으며 무영향농도(NOEL)는 암·수 모두 100~400 ppm 이하로 판단되었다. 이는 GHS 기준에서 표적장기 전신독성-반복노출에서는 Category 2 (50~250 ppm/6시간/90일) 물질에 해당되었고, 산업안전보건법의 유해물질 기준 NOEL ≤ 0.5 mg/L/6 hr/90day (rat)에 의거 이 물질은 0.40~1.61 mg/L/6 hr/90day (rat)으로 유해물질로 분류될 수 있었다.

참 고 문 헌

- 강진석, 남기택, 박인승. 독성병리학 도감, 청구문화사 2001; 80-81.
- 국립환경연구원. 화학물질 유해성 시험연구기관의 지정 등에 관한 규정, 국립환경연구원고시 1998; 41.
- 김치년. 작업환경을 위한 TLV의 근거, 대한산업보건협회 월간산업보건 1998; 2: 23.
- 노동부. 물질안전보건자료 작성 비치 등에 관한 기준, 노동부 1997.
- 노동부. 화학물질별 취급 제조업체 현황, 노동부 2004.
- 식품의약품안전청. 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청 1999; 61.
- 이귀영, 이종순. 임상병리과일, 의학문학사 1993; 71-87.
- 이영순. 실험동물의학, 1991; 190-191.
- 한국산업안전공단. MSDS, 한국산업안전공단 2004.
- 産業中毒使覽. 後藤綱 外 1994; 531-532.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists TLVs and BEIs. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH 2004; 5: 38.
- Baker JT. MSDS Number: M391, 11. Toxicology information 1999; 5.
- Boorman GA, Eustis SL, Elwell MR, Montgomery CA Jr, and Mackenzie WF. Pathology of the Fischer Rat. Academic Press, Inc 1990.
- Casarett LJ and Doull J. The Basic Science of Poisons. New York: MacMillan Publishing Co., Toxicology 1975; 82.
- EPA (Environmental Protection Agency). Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.3465, 90-Day Inhalation Toxicity, US EPA 1998.
- Farrar PL. Interstitial Pneumonia in Viral and Mycoplasma Antibody-Free Sprague Damsley Rats, ACLDA NEWSLETTER (American Committee on Laboratory Animal Diseases) 1997; 1: 18.
- Gary AD, Mary BS and Sheila J. Comparative evaluation of chemical ranking and scoring methodologies, US EPA 1994.
- Gary AB, Scot LE, Michael RE and Charles AM. Pathology of the Fisher Rat. Academic press, New York, 1990.
- Globally. Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), (United Nations New York and Geneva) 2003.
- Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC. Clinical Toxicology of Commercial Products, 5th ed. Baltimore 1984; 2: 151.
- Greaves PH. Istopathology of preclinical toxicity studies; Interpretation and relevance in drug evaluation, Elsevier 2000.

- Kinkead ER *et al.* Aerosp Med Res Lab, Tech Rep AMRL-TR, AMRL-TR-79-68 Proc Conf Environ Toxicol 1979; 154: 60.
- Kinkead ER, Haun CC, Schneider MG, Vernot EH and Macewen JD. Chronic Inhalation Exposure of Experimental Animals to Methylcyclohexane. Air Force Aerospace Medical Research Laboratory Report 1985; 85: 032
- Lazarew NF. Zur toxikologie des benzins (The toxicology of gasoline) Arch Hyg 1929; 228-239.
- Lehman KB and Flury F. Toxicology and Hygiene of Industrial Solvents, 1943; 95.
- Lzmerov NF, Sanotsky IV and Sidorov KK. Toxicometric parameters of industrial toxic chemicals under single exposure. Moscow, Russia: Centre of International Projects, GKNT 1982; 82.
- NIOSH. NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards. DHHS (NIOSH) Publication No. 97-140. Washington, D.C. U.S. Government Printing Office, 1997; 204, 367.
- OECD. OECD Guideline for Testing of Chemicals, TG 413: Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study, Paris, France 1996.
- OECD. OECD guideline for Testing of chemicals Draft proposal for a new guideline Acute Inhalation Toxicity - Fixed Concentration Procedure 2004; 433.
- OECD, The 2000 OECD List of High Production Volume Chemicals, Organisation for Economic Co-Operation and Development, Paris, 2001.
- Patty F (ed.). Industrial Hygiene and Toxicology: Volume II: Toxicology. 2nd ed. New York: Interscience Publishers 1963; 1212.
- Snyder R (ed.). Ethyl Browning's Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents. 2nd ed. Volume 1: Hydrocarbons. Amsterdam-New York-Oxford: Elsevier 1987; 238-240.
- Treon JF, Crutchfield WE Jr and Kitzmiller KV. The physiological response of animals to cyclohexane, methylcyclohexane, and certain derivatives of these compounds, J Ind Hyg Toxicol 1943; 25(8): 323-347.