

연구자료
화학연97-1-29

산업화학물질의 생식독성 연구

- 조선업체 복합유기용제의 생식독성 및 조혈기독성 연구 -

1997



한국산업안전공단
산업보건연구원

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 연구결과를 1997년도 산업보건연구원의 연구사업 중 “산업 화학물질의 생식독성연구 (-조선업체 복합유기용제의 생식독성 및 조혈기독성 연구)”에 대한 최종결과보고서로 제출합니다.

1997년 12월 31일

제 출 자 :	산업보건연구원장	문 영 한
연구책임자 :	책임연구원	유 일 재
공동연구원 :	수석연구원	이 용 목
	기술직 4급	이 준 연
	기술직 4급	정 용 현
	선임연구원	맹 승 희
		임 철 홍
	위촉연구원	김 광 진
		차 귀 영

목 차

I. 서	론	-----	1
II. 재료 및 방법	-----		4
III. 연구결과	-----		7
IV. 고	찰	-----	22
V. 결론 및 제언	-----		25
VI. 참 고 문 헌	-----		27

REDUCTION OF REPRODUCTIVE TOXICITY BY MIXED SOLVENT

Il Je Yu, Jun Yeon Lee, Kwang Jin Kim, Gui Young Cha, Yong Hyun Chung, Seung Hee Maeng, Chul Hong Lim, Yong Mook Lee, Young Hahn Moon, and Jung Duck Park. Industrial Chemical Research Center, Industrial Health Research Institute, KISCO, Taejon, Korea

Abstract

Our recent epidemiological investigation on shipbuilding industries revealed that some workers experienced a mild decrease of leukocytes. The study further indicated that the workers had been exposed to various organic solvents such as aromates, alcohols, esters, ketones and ethylene glycols. In this study, we have attempted to find out the effect of mixed solvents on the reproductive toxicity induced by ethylene glycols. These chemicals (T, toluene; X, xylene; E, ethylene glycol mono ethyl ether), individual or mixed form, were tested through a 28 days of repeated dose experiment in male Sprague Dawley rats. Vehicle olive oil, E (150 mg/kg), T+X (250 + 500 mg/kg) mixed form, and E+T+X (150 + 250 + 500 mg/kg body weight) were administered orally for 28 days. After the experiment, blood was analyzed for biochemistry and hematology. Major organs were fixed, and examined by light microscopy. Although the rats treated with T+X showed a significant decrease in body weight gain, they did not show significant changes in hematology and decreases in organ weight gain including reproductive organs. Male rats treated with E showed significant decreases in body weight and testis weight, showing germ cell necrosis in the seminiferous tubules. The treatment with E also showed a significant decrease in the number of leukocytes. However, the rats treated with E+T+X showed moderate increases in body weight and testis weight without affecting the hematology, comparing with the rats treated with E only. This result suggested that the mixed solvent in our condition may cause an antagonistic effect, rather than additive or synergistic effect.

I. 서론

1. 연구배경

근래 조선업체의 근로자들에게서 유기용제의 폭로에 의한 조혈기장애 및 중추신경장애가 보고되었다 (부산일보 1996, 국민일보 1996, 한겨레신문 1996). 장애를 보인 근로자들은 도장부서에 특히 선행도장부에 근무하는 근로자들로서 ethylene glycol ether류를 포함하는 복합유기용제에 폭로되고 있었다고 하며 (김

양호 등, 1996), 특히 조혈기에 장애를 입은 근로자들은 백혈구감소증을 보이며 이 백혈구의 감소는 정상치의 lower limit의 경계에 인접한 수치를 보여준다고 하며 계속하강하는 추세를 보여주었다 (김양호 등, 1996). 백혈구 감소증을 보여주는 근로자의 골수검사 결과는 hypocellular marrow의 병리적 소견을 보여주었다 (김양호 등, 1996). 작업환경 측정결과 근로자들은 복합유기용제, 즉, 방향족 화학물질인 toluene, xylene, ethyl benzene, alcohol류인 butanol, isopropanol, ethanol, ketone류의 MIBK, 그리고 ethylene glycol ether류등에 폭로되고 있었으며, 많은 경우 복합노출지수가 1을 초과하는 경우도 있었으며 백혈구 감소증의 의심물질인 ethylene glycol ether류의 허용농도를 초과하게 폭로되고 있는 경우도 있었다고 보고하였다 (김양호 등 1996).

그리고 최근의 여천 공단 근로자에게서도 복합화학물질의 폭로가 문제로 대두되어 작업환경 및 대기오염에 의한 복합유해물질 노출에 의한 건강 영향평가로 근로자 특별 건강진단을 행하였는데, 공단 근로자들과 일반 인구집단 사이에 뚜렷한 차이가 없었으며, 폭로군과 대조군 간에도 뚜렷한 차이가 없었다고 보고하였다 (노동부, 1997).

이와 같이 복합화학물질의 폭로에 대한 유해성의 여부가 항상 논란이 되어 왔으나 이들 복합화학물질의 폭로에 의한 유해성의 정도는 additive effect, synergistic effect, potentiative effect, antagonistic effect등 나눌수 있으나 이들 복합화학물질의 유해성의 영향은 혼합물의 조성과 정도에 따라 달라 질 수 있기 때문에 지금 IFCS의 권고에 따라 건강장해 물질의 분류의 통일화를 2000년 까지 달성하고자 하는 OECD의 화학물질의 분류작업에서도 혼합물의 분류에 대해서도 아직도 크게 진전을 보고 있지 못하고 있다 (IFCS, 1997).

노동부의 물질안전보건자료의 작성 비치에 관한 기준에서도 혼합물의 독성이 전체로서 시험된 경우 그시험결과를 유해성의 판단하는 기초로 사용하며 혼합물이 건강장애 물질인지의 여부가 전체로서 시험되지 않는 경우 혼합물에 건강장해 물질이 전체의 1% 이상 (무계비)을 차지하고 있다면 당해 혼합물은 건강장해 물질과 동일한 건강장해를 나타내는 것으로 보고 있다 (노동부, 1997). 따라서 혼합물의 MSDS 작성방법은 1) 혼합물의 자체 유해성평가자료를 이용하는 방법, 2) 성분 물질의 자료를 이용하여 혼합물의 MSDS를 작성하는 방법, 3) 1) 과 2)를 혼용하여 작성하는 방법, 4) 유사한 혼합물을 하나의 MSDS로 작성하는 방법을 제시하고 있다 (산업안전공단, 1996).

2. 연구목적

이 연구에서는 조선업체 근로자의 조혈기 장애의 원인물질로 의심되어온 ethylene glycol ether의 생식독성과 조혈기 독성을 규명하고 선행도장부의 작업 환경측정결과 주요 유기용제성분인 toluene과 xylene과 ethylene glycol monoethyl ether 세가지 물질의 복합폭로시 단일물질 폭로시와 비교하여 조혈기나 생식기 또는 다른 장기에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

Ethylene glycol monoethyl ether (EGEE, Cat. No. 054-01066)은 Wako Chemical Company (Japan) 서 구입하였고, Toluene (Cat. No. 50070-0380)과 xylene (25165-1480)은 Junsei Chemical Company (Japan)에서 구입하였다. EGEE, toluene, xylene은 올리브기름 (25613, Yakuri Pure Chemical Co., LTD, Osaka, Japan)에 섞어 랫트에 주사하였다.

2. 실험동물

10주령의 특이병원균(SPF; specific pathogen free)이 없는 환경에서 사육된 수컷 Sparague Dawley 랫트를 대한실험동물센터에서 구입하였다. 실험동물은 실험전에 2주간의 순화기간을 거쳐 사육환경에 적응하도록 하였다. 동물사육실의 온도는 20-26°C 정도였고 상대습도는 40-60% 였다. 동물은 퓨리나 설치류 음식을 구입하여 정제수와 같이 부족함이 없이 공급하였다. 동물사육은 폴리카보네이트로 만들어진 케이지당 3-4씩 분리 사육하였다. 실험 개시전 체중을 측정하여 시험군을 나누고 성별에 따라 10 마리씩 군으로 나누었다. 시험물질 투여개시일 동물의 체중은 숫컷은 평균 307g 이었다. EGEE, toluene, xylene등은 올리브 기름에 섞어 1일 1회 경구투여로 일주일에 6회 투여하여 4주동안 투여하였다. 시험 디자인은 아래의 Table 1과 같다. Exp 1&2는 EGEE 농도 결정시험이었고, Exp 3은 toluene + xylene 농도결정시험이었고, Exp 4는 본 실험이었다.

Table 1. Experiment for determination of EGEE dose (Exp I).

Group	Number of animals	Treatment
Control	10 male	olive oil (vehicle control)
Low	10 male	250 mg EGEE/kg in olive oil
Middle	10 male	500 mg EGEE/kg in olive oil
High	10 mal	1000 mg EGEE/kg in olive oil

Table 2. Experiment for determination of EGEE dose (Exp 2).

Group	Number of animals	Treatment
Control	10 male	olive oil (vehicle control)
Low	10 male	62.5 mg EGEE/kg in olive oil
Middle	10 male	125 mg EGEE/kg in olive oil

Table 3. Experiment for determination of toluene + xylene dose (Exp 3).

Group	Number of animals	Treatment
Control	10 male	olive oil (vehicle control)
Low	10 male	250 toluene + 500 xylene mg/kg in olive oil
Middle	10 male	500 toluene + 1000 xylene mg/kg in olive oil

Table 4. Experiment for EGEE + toluene (T) + xylene (X) (Exp 4).

Group	Number of animals	Treatment
Control	10 male	olive oil (vehicle control)
EGEE	10 male	150 mg EGEE/kg in olive oil
T + X	10 male	250 T + 500 X mg/kg in olive oil
EGEE + T + X	10 male	150 EGEE + 250 T + 500 X in olive oil

매일 시험물질투여에 의한 실험동물의 피부질환, 호흡기질환, 생식기질환등의 발생의 유무와 행동의 변화를 조사하였다. 체중은 동물도입시, 군분류시, 그리고 시험물질 투여후 1주일에 2회 측정하였고 해부전에 측정하였다.

3. 임상병리

부검시 실험동물은 16주령에 도달하였고 부검 하루전 실험동물을 단식하게 하였다. 실험동물들은 에테르로 마취하여 복대동맥에서 혈액을 채취하였다. aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), glucose, urea nitrogen (BUN), 총단백, 콜레스테롤, 크레아티닌, 총빌리루빈 등을 혈액생화학 분석기 (Cobas Mira Plus)로 측정하였고, 적혈구, 헤모글로빈 농도, 헤마토크리트, 평균적혈구용적, 혈소판수, 임파구수, 단핵구수, 과립구수등을 자동혈구계수기를 이용하여 측정하였다.

4. 해부병리와 조직병리

채혈후 이를 부검하여 부신, 난소, 정소, 심장, 폐, 신장, 비장, 간, 뇌등의 장기를 떼내어 장기무게를 측정한 후, 10% 포르말린을 함유한 인산완충 생리식염수에 고정하였다. 중요한 체중변화를 보여주는 장기들은 파라핀에 포매하고, 조직박절기로 박절하여 헤마톡실린과 이오신으로 염색하여 현미경으로 병리조직변화를 관찰하였고, 특이한 소견 발견시 현미경에 장착된 사진기로 사진촬영하여 기록보관하였다.

5. 통계처리

실험군의 체중, 장기무게, 생화학적 측정치, 혈액학적 측정치는 대조군의 측정치와 ANOVA test를 이용하여 비교하였다.

III. 연구결과

1. EGEE 농도결정시험

복합유기용제가 단일유기용제의 투여시와의 영향을 비교하기 위하여 단일유기용제의 최소영향농도를 구하기 위해 농도결정시험을 행하였다. EGEE가 생식기와 조혈기에 미치는 최소의 영향 농도를 얻기 위해 수컷의 rat에 경구로 250, 500, 1000 mg/kg의 농도로 28일 동안 투여하여 생식기와 조혈기 그리고 다른 장기에 영향을 살펴보았다. Tabel 5에서 보이는바와 같이 처리 농도에 따른 유의한 ($P<0.01$) 체중감소를 보여주었다. 그리고 고환, 부고환, 심장, 폐, 신장, 비장, 간 등의 장기무게에 미치는 영향은 고환과 부고환에 처리 농도에 따른 유의한 ($P<0.01$) 중량감소를 보여주었고, 심장, 폐, 신장, 비장등에는 유의한 ($P<0.01 - 0.05$) 장기 무게의 증가를 보여주었다. 그리고 EGEE는 혈액생화학적 검사치로 보아 간과 신장에는 심각한 영향을 미치지 않았다 (Table 6). 그러나 조혈기에는 영향을 미쳐 농도에 따른 유의한 ($P<0.05$) 백혈구의 감소 적혈구의 감소를 볼 수 있었으며 혈소판의 유의한 ($P<0.05$) 감소도 관찰되었다 (Table 7).

Table 5. Organ weights of EGEE treated rats

	Control (10)	Low (10) 250 mg	Middle (9) 500 mg	High (5) 1000 mg
	g	g	g	g
Terminal body weight	352 ± 20	320 ± 10**	291 ± 7**	242 ± 36**
Organ weight	mg	mg	mg	mg
testis(R)	489 ± 44	220 ± 19**	231 ± 26**	223 ± 30**
testis(L)	491 ± 47	223 ± 18**	234 ± 34**	236 ± 29**
epididymis(R)	185 ± 27	116 ± 26**	111 ± 15**	112 ± 60**
epididymis(L)	186 ± 23	119 ± 13**	109 ± 13**	113 ± 10**
heart	336 ± 32	360 ± 14**	383 ± 27**	476 ± 93**
lung(R)	262 ± 37	310 ± 82	330 ± 32**	428 ± 85**
lung(L)	167 ± 36	172 ± 35	191 ± 54	272 ± 104**
kidney(R)	335 ± 20	325 ± 19	303 ± 19**	371 ± 87
kidney(L)	337 ± 12	328 ± 11	320 ± 18*	376 ± 86
spleen	194 ± 20	200 ± 23	182 ± 18	276 ± 85*
liver(9)	2808 ± 171	2709 ± 131	2703 ± 162	310 ± 941

* indicates $p < 0.05$.

** indicates $p < 0.01$.

() indicates number of animals.

Table 6. Blood biochemistry data for EGEE treated rats.

	Control (10)	Low (10) 250 mg	Middle (10) 500 mg	High (5) 1000 mg
TB	7.5±1.6	6.9±1.3	7.0±1.3	7.9 ±0.6
BUN	25.5±3.8	28.0±3.6	28.1±1.9	26.9 ±6.0
CRTN	0.63±0.1	0.66±0.1	0.61±0.1	0.80±0.0*
TBIL	0.36±0.2	0.40±0.1	0.36±0.1	0.5 ±0.2
GLU	147±31	183±34	191±35	170±27
TCHO	79±26	62±14	66±19	88±27
AST	166±45	99±27*	109±24*	107±21*
ALT	48±14	41±10	39±6	60±31

* indicates $p<0.05$.

** indicates $p<0.01$.

() indicates number of animals

AST, aspartate aminotransferase (u/l); ALT, alanine aminotransferase (u/l);
ALP, alkaline phosphatase (u/l); Prot, protein (mg/dl); Gluc, glucose (mg/dl);
BUN, urea nitrogen in blood (mg/dl); CREA, creatinine (mg/dl);
CHOL, cholesterol (mmol/l); TBIL, total bilirubin (mg/dl).

Table 7. Hematology data for EGEE treated rats.

	Control (10)	Low (10) 250 mg	Middle (9) 500 mg	High (5) 1000 mg
WBC	5.2±1.1	4.8±2.3	2.5±0.9*	1.7±0.5*
RBC	7.5±0.7	7.5±1.3	7.7±0.9	6.3±0.4*
HCT	51.5±4.9	43.5±7.2*	45.0±5.0*	39.2±3.5*
HGB	15.8±0.7	14.9±1.6	15.9±1.9	13.9±3.3
MCV	54.2±2.2	53.3±1.5	53.2±2.4	54.5±5.0
MCH	24.0±1.7	17.6±0.7*	17.7±1.0*	17.4±1.0*
MCHC	32.7±3.5	31.4±4.7	29.5±6.1	29.4±9.3
PLT	768 ±266	570 ±194	462 ±191*	513 ±436

* indicates $p < 0.05$.

** indicates $p < 0.01$.

() indicates number of animals.

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 count ($10^3/\mu^3$).

EGEE의 최소영향 농도를 얻기위해 추가적인 EGEE 농도결정시험을 행하였다. 대조군과 62.5 mg/kg, 125 mg/kg의 농도로 28일간 경구투여하였다. Table 8에서 보이는 바와 같이 62.5 mg/kg, 125 mg/kg에서는 전혀 유의한 ($P<0.05$) 체중변화를 볼 수가 없었고, 고환이나 부고환의 장기 무게 감소도 관찰할 수 없었으며, 심장을 제외한 다른 장기에서도 유의한 ($P<0.05$) 무게 증가를 관찰할 수 없었다. 혈액생화학적 검사에서도 간기능이나 신장기능에 미치는 유의한 영향을 관찰할 수 없었다 (Table 9). 그러나 조혈기에는 영향을 미쳐 125 mg/kg에서는 유의한 ($P<0.05$) 백혈구의 감소를 관찰할 수 있었으며 적혈구 생성에도 영향을 미치는 것을 관찰할 수 있었다 (Table 10).

Table 8. Organ weights of EGEE treated rats.

	Control (10)	Low (10) 62.5 mg	Middle (9) 125 mg
	g	g	g
Terminal body weight	360± 19	352± 18	348± 27
Organ weight	mg	mg	mg
testis(R)	453± 38	443± 29	423± 31
testis(L)	456± 39	447± 32	435± 26
epididymis(R)	163± 17	160± 17	156± 16
epididymis(L)	161± 21	148± 15	153± 12
heart	336± 28	348± 17	361± 21*
lung(R)	292± 30	283± 45	285± 27
lung(L)	140± 15	137± 12	145± 21
kidney(R)	324± 23	325± 20	342± 21
kidney(L)	320± 22	318± 21	344± 24
spleen	200± 28	183± 18	208± 17
liver(9)	2919± 245	2841± 165	2935± 229

* indicates $p<0.05$.

** indicates $p<0.01$.

() indicates number of animals.

Table 9. Blood biochemistry data for EGEE treated rats

	Control (10)	Low (10) 62.5 mg	Middle (10) 125 mg
TP	5.6±0.3	5.4±0.4	5.4±0.4**
BUN	20.1±3.5	20.9±4.0	22.6±2.5
CRTN	0.53±0.0	0.54±0.0	0.49±0.0**
TBIL	0.30±0.1	0.32±0.1	0.33±0.1
GLU	140±16	159±26	148±18
TCHO	57± 7	50± 5*	47±10*
AST	115±18	122±19	92±19*
ALT	32± 4	33± 6	32± 7
ALP	330±62	267±21*	267±55

* indicates $p<0.05$.

** indicates $p<0.01$.

() indicates number of animals.

AST, aspartate aminotransferase (u/l); ALT, alanine aminotransferase (u/l);

ALP, alkaline phosphatase (u/l); Prot, protein (mg/dl); Gluc, glucose (mg/dl);

BUN, urea nitrogen in blood (mg/dl); CREA, creatinine (mg/dl);

CHOL, cholesterol (mmol/l); TBIL, total bilirubin (mg/dl).

Table 10. Hematology data for EGEE treated rats.

	Control (10)	Low (10) 62.5 mg	Middle (9) 125 mg
WBC	7.0±1.6	6.6±1.6	4.6±0.7*
RBC	8.5±0.4	8.6±1.2	8.4±0.3
HCT	45.9±1.5	49.1±6.0	44.1±2.3
HGB	15.7±0.5	16.0±1.8	14.8±0.4**
MCV	54.2±2.0	57.2±4.0*	52.5±2.3*
MCH	18.6±0.8	18.7±0.7	17.7±0.8*
MCHC	34.3±1.4	32.9±2.4	33.7±1.3
PLT	1151±121	1033±131	996±111

* indicates $p < 0.05$.

** indicates $p < 0.01$.

() indicates number of animals.

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 count ($10^3/\mu^3$).

2. Toluene과 Xylene의 농도결정시험

Toluene과 Xylene의 복합유기용제 투여의 영향과 농도를 결정하기 위하여 알려진 toluene과 xylene의 LD50 농도를 참고하여 toluene 250 mg/kg + xylene 500 mg/kg (Low)과 500 mg/kg + xylene 1000 mg/kg (Middle), 대조군의 농도로 28일간 경구로 투여하여 복합유기용제의 영향을 살펴보았다. Table 11에서 보이는 바와 같이 middle 농도에서 유의한 ($P < 0.05$) 체중감소를 보여 주었다. 그러나 toluene과 xylene의 복합유기용제 처리는 고환에 유의한 체중증가 ($P < 0.01 - 0.05$)를 보여주었고, 특히 신장과 간장에 농도에 따른 장기무게의 유의한 ($P < 0.01$) 증가를 주었다. 그러나 이런 고환 무게의 감소는 조직병리학적 검사를 행하였을 때 중요한 조직병변의 변화를 관찰할 수 없었고, 간과 신장의 무게 증가도 혈액생화학적 검사치로 보아 간과 신장의 기능에 유의한 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다 (Table 12). 그러나 총콜레스테롤 양에는 유의한 영향을 보여주었다. 그리고 toluene과 xylene의 복합유기용제의 처리는 혈액학적 검사의 결과로 보아 조혈기에는 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다 (Table 13).

Table 11. Organ weights of TX treated rats.

	Control (10)	Low (6) T=250 mg/kg X=500 mg/kg	Middle (10) T=500 mg/kg X=1000 mg/kg
	g	g	g
Terminal body weight	360 ± 19	370 ± 22	322 ± 18**
Organ weight	mg	mg	mg
testis(R)	453 ± 38	463 ± 40	510 ± 30*
testis(L)	456 ± 39	506 ± 89*	518 ± 30**
epididymis(R)	163 ± 17	134 ± 60	174 ± 15
epididymis(L)	161 ± 21	159 ± 19	173 ± 14
heart	336 ± 28	331 ± 17	378 ± 31**
lung(R)	292 ± 30	300 ± 30	303 ± 34
lung(L)	140 ± 15	151 ± 15	157 ± 17
kidney(R)	324 ± 23	378 ± 18*	416 ± 33**
kidney(L)	320 ± 22	370 ± 27*	419 ± 32**
spleen	200 ± 28	197 ± 12	189 ± 16
liver(9)	2919 ± 245	3701 ± 220**	4603 ± 442**

* indicates $p < 0.05$.

** indicates $p < 0.01$.

() indicates number of animals.

Table 12. Blood biochemistry data for TX treated rats

	Control (10)	Low (10) T=250 mg/kg X=500 mg/kg	Middle (10) T=500 mg/kg X=1000 mg/kg
TP	5.6±0.3	7.2±2.0	6.7±0.7**
BUN	20.1±3.5	19.3±2.5	17.1±3.0*
CRTN	0.53±0.0	0.67±0.1*	0.60±0.1**
TBIL	0.30±0.1	0.37±0.2	0.23±0.0*
GLU	140±16	212±52*	173±22*
TCHO	57± 7	80±41	80±19*
AST	115±18	102±32	89±22*
ALT	32± 4	41±15	43± 6*
ALP	330±62	341±98	380±70

* indicates $p<0.05$.

** indicates $p<0.01$.

() indicates number of animals.

AST, aspartate aminotransferase (u/l); ALT, alanine aminotransferase (u/l);

ALP, alkaline phosphatase (u/l); Prot, protein (mg/dl); Gluc, glucose (mg/dl);

BUN, urea nitrogen in blood (mg/dl); CREA, creatinine (mg/dl);

CHOL, cholesterol (mmol/l); TBIL, total bilirubin (mg/dl).

Table 13. Hematology data for TX treated rats.

	Control (10)	Low (6) T=250 mg/kg X=500 mg/kg	Middle (10) T=500 mg/kg X=1000 mg/kg
WBC	7.0±1.6	6.9±2.6	6.7±1.1
RBC	8.5±0.4	8.1±1.0	8.4±0.3
HCT	45.9±1.5	44.3±5.8	47.5±3.5
HGB	15.7±0.5	14.8±0.4	15.3±0.6
MCV	54.2±2.0	54.8±1.7	56.5±2.4**
MCH	18.6±0.8	18.2±0.4	18.2±0.5
MCHC	34.3±1.4	33.3±1.1	32.3±1.7*
PLT	1151±121	1058±136	1032±117

* indicates $p < 0.05$.

** indicates $p < 0.01$.

() indicates number of animals.

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 count ($10^3/\mu^3$).

3. EGEE + toluene + xylene 복합유기용제의 투여가 생식기와 조혈기에 미치는 영향

EGEE와 toluene + xylene의 농도결정시험을 통하여 150 mg/kg 의 EGEE, 250 + 500 mg/kg의 toluene + xylene의 농도를 결정하였다. 이 농도의 이유는 첫째 조선업 작업환경에서의 복합유기용제 폭로비율도 이와 비슷했으며, 둘째 EGEE의 생식기나 조혈기에 미치는 영향이 toluene + xylene의 복합유기용제 투여에 의해 어떤 영향을 미치는지 살펴보고자 하였다. EGEE 단독투여와 toluene + xylene의 투여, EGEE + toluene + xylene의 투여 모두 유의한 ($P < 0.01 - 0.05$) 체중감소를 보여 주었다. 장기 무게의 변화에서는 고환의 무게는 EGEE의 처리에서는 유의한 장기무게 감소를 보여주었으나, EGEE + toluene + xylene을 동시에 처리했을때는 대조군과 비교하여서는 무게의 감소를 보여주었으나, EGEE단독 처리시보다는 장기무게의 감소가 둔화되었다 (Table 14). 신장과 간장의 경우에는 toluene + xylene의 처리는 간과 신장의 무게를 증가시키는 작용을 하나, EGEE와의 동시처리는 toluene + xylene 처리보다는 간과 신장의 무게를 감소시키는 경향을 보여주었다 (Table 14). EGEE와 toluene + xylene 처리는 간기능과 신장 기능에는 심각한 영향을 주지 않는 것으로 보이나, toluene + xylene 처리는 총콜레스테롤의 양에는 유의한 증가를 가져오나 EGEE + toluene + xylene의 동시처리는 toluene + xylene 처리시 보다는 감소하는 경향을 보여주었다 (Table 15). 간장과 신장의 조직병리검사를 행하였으나 중요한 병변의 변화를 발견할 수 없었다. 혈액학적인 결과에서는 EGEE를 처리한 실험동물에서는 백혈구의 감소와 헤모글로빈감소, MCH, 혈소판의 감소를 발견할 수 있었지만, toluene + xylene을 처리한 실험동물에서는 중요한 혈액학적 변화를 관찰할 수 없었지만, EGEE + toluene + xylene를 동시에 처리한 동물에서는 EGEE와 거의 동일한 혈액학적 변화를 발견할 수 있었다 (Table 16).

Table 14. Organ weights of EGEE + toluene + xylene treated rats.

	Control (10)	EGEE (9)	T +X (10)	EGEE+T+X (10)
	g	g	g	g
Terminal body weight	385± 17	364± 17*	359± 20**	362± 18**
Organ weight	mg	mg	mg	mg
Adrenal (R)	9.8± 2.4	7.8± 2.8	10.4± 1.9	10.8± 2.3
Adrenal (L)	12.1± 4.9	8.7± 2.1**	10.5± 2.0	10.6± 2.7
testis(R)	425± 28	244± 32**	448± 70	304± 80**
testis(L)	433± 25	247± 38**	469± 24**	297± 78**
epididymis(R)	149± 22	114± 15**	137± 21**	113± 19**
epididymis(L)	148± 23	112± 15**	142± 26	117± 13**
heart	314± 34	328± 17	320± 34	317± 29
lung(R)	281± 49	285± 31	278± 16	277± 32
lung(L)	137± 28	148± 24	143± 12	146± 16
kidney(R)	291± 26	289± 26	343± 31**	323± 33**
kidney(L)	292± 20	283± 17	331± 23**	317± 29*
spleen	187± 21	180± 24	195± 18	185± 29
liver(9)	2779±281	2574±221	3134±229**	2980±141
brain	511± 23	523± 44	539± 38	535± 33

* indicates $p<0.05$.

** indicates $p<0.01$.

() indicates number of animals.

EGEE=ethylene glycol monoethyl ether, 150 mg/kg body weight,

T=toluene 250 mg/kg, X=500 mg/kg body weight

Table 15. Blood biochemistry data for EGEE+ T + X treated rats.

	Control (10)	EGEE (9)	T + X (10)	EGEE+T+X (10)
TP	6.6±0.3	5.9±0.2**	6.8±0.3	6.4 ±0.2
BUN	17.7±1.5	18.9±2.8	16.1±2.1**	16.4 ±1.4
CRTN	0.61±0.0	0.50±0.0**	0.57±0.0**	0.52±0.0**
TBIL	0.20±0.0	0.19±0.1	0.21±0.1	0.19±0.0
GLU	127±25	125±12	109±15*	139±17
TCHO	59± 8	54± 7	81±17**	68± 7
AST	137±25	125±23	145±23	100±15**
ALT	39± 3	34± 6	35± 4	39± 5
ALP	377±82	223±76**	218±37**	154±27**

* indicates $p<0.05$.

** indicates $p<0.01$.

() indicates number of animals.

EGEE=ethylene glycol monoethyl ether, 150 mg/kg body weight,

T=toluene 250 mg/kg, X=500 mg/kg body weight.

AST, aspartate aminotransferase (u/l); ALT, alanine aminotransferase (u/l);

ALP, alkaline phosphatase (u/l); Prot, protein (mg/dl); Gluc, glucose (mg/dl);

BUN, urea nitrogen in blood (mg/dl); CREA, creatinine (mg/dl);

CHOL, cholesterol (mmol/l); TBIL, total bilirubin (mg/dl).

Table 16. Hematology data for EGEE+ T + X treated rats.

	Control (10)	EGEE (9)	T + X (10)	EGEE+T+X (10)
WBC	5.8±0.1	4.1±0.8**	5.5±1.3	4.3±0.8**
RBC	8.1±0.4	8.3±0.6	8.4±0.6	8.5±0.4*
HCT	49.8±2.8	45.6±3.6**	45.5±3.2**	44.0±2.2**
HGB	15.2±0.4	14.2±0.8**	15.1±0.9	14.5±0.5*
MCV	54.2±2.0	55.2±3.5	54.3±2.4	51.5±1.8**
MCH	18.9±0.9	17.3±0.5**	18.0±0.4**	17.0±0.5**
MCHC	30.7±1.1	31.3±1.7	33.1±1.3**	33.1±1.1**
PLT	1010± 72	750±144**	999± 98	797±147**

* indicates $p < 0.05$.

** indicates $p < 0.01$.

() indicates number of animals.

EGEE=ethylene glycol monoethyl ether, 150 mg/kg body weight,

T=toluene 250 mg/kg, X=500 mg/kg body weight.

WBC, white blood cell count ($10^3/\text{mm}^3$); RBC, red blood cell count

($10^6/\text{mm}^3$); HGB, hemoglobin (g/°l); HCT, hematocrit (%); MCV mean

corpuscular volume (μ^3); MCH, mean corpuscular hemoglobin (pg);

MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration (%);

PLT, platelet count ($10^3/\mu^3$).

IV. 고찰

이 연구에서는 종래의 2가지 물질의 혼합물의 독성연구에서 3가지 물질의 복합유기용제의 폭로가 생체에 미치는 영향에 대해 연구하였다. 대상물질은 96년 조선업체 역학조사결과 분체가 되었던 선행도장부에서 주로 폭로가 되었던 toluene 과 xylene 등의 유기용제와 조혈기 독성의 의심물질로 알려진 수용성 유기용제인 ethyleneglycol monoethyl ether (EGEE)를 혼합하여 실험동물에 28일간 투여하여 복합유기용제가 미치는 생식독성과 조혈기 독성을 단일물질 투여시와 비교하여 규명하고자 하였다.

이 연구에서는 종래의 연구결과와 같이 EGEE가 조혈기 독성의 주요 원인 물질임이 밝혀 졌고, 또 이 EGEE와 toluene, xylene의 동시 폭로시에는 종래에 우리가 짐작하는 것과 같은 생식독성이나 조혈기 독성의 상가 작용은 나타나지 않았다. 이 세물질의 동시투여는 생식독성에 있어서는 길항작용 (antagonistic effect)을 보여주었고, 혈액독성에 있어서는 복합유기용제의 폭로는 생식기에 있어서의 길항작용과는 달리 독립적인 독성형태를 보여주었다. 이런 결과는 EGEE의 독성과 toluene, xylene의 독성은 다른 메카니즘의 경로에 의해 발현되는 것을 알 수 있다. 간독성과 관계가 있는 총콜레스테롤량은 toluene, xylene 처리시 총콜레스테롤량의 증가를 보여주었지만 EGEE와의 동시처리시 총콜레스테롤량이 주는 것을 관찰할 수 있었다.

Toluene과 Xylene은 P450 2E1에 의하여 대사되는 것으로 보고 되고 있으며 (Tassanleyakul et al., 1996) 흡입된 toluene을 대사하기 위하여 P450 2E1이 유도 되는 것으로 알려져 있다. toluene은 benzoic acid 로 대사되어 hippuric acid 로 배설되며, toluene은 P450 1A2에 의하여 benzyl alcohol, o-cresol, p-cresol로, 2B6, 2E1에 의해 benzyl alcohol과 p-cresol로 대사되는 것으로 알려지고 있다 (Nakajima et al., 1997). Ethylene glycol ether류의 생식독성은 Nagano (1979)등에 의해 알려졌으며, 태아독성이나 teratogenicity도 보고되었다 (Nelson et al., 1984; Andrew et al., 1981). 그리고 이 ethylene glycol ether류는 피부포도 잘 흡수 되어 피부에 도포된 20-25%가 도포량에 산관 없이 흡수된다고 한다 (Sabourin, 1992). Ethylene glycol ether류의 생식독성은 물질 자체가 아니라 간의 alcohol dehydrogenase에 의해 대사된 alkoxycetaldehyde이며 (Miller et al., 1983), 이의 산화물인 alkoxycetic acid도 거의 같은 독성을 보여준다고 한다 (Miller et al., 1983, Moss et al, 1985; Sleet et al., 1988). 그러나 두가지 대사경로가 다른 화학물질의 폭로에 의한 생식독성이나 조혈기 독성은 전혀 알려져 있지 않다.

우리의 실험결과로 보아 다음과 결과와 의문점을 제기할 수 있다.

결과: 1) EGEE의 생식독성과 조혈기 독성, 2) EGEE의 다른 장기에 대한 무영향, 3) toluene과 xylene의 총 콜레스테롤 증가, 4) 간, 신장, 고환의 무게 증가, 5) toluene과 xylene처리에 의한 간과 신장기능 무영향, 조직병리상의 중요병변 결여

의문점: 1) EGEE, toluene, xylene의 동시처리에 의하여 EGEE 단독처리시와 비교하여 생식독성의 감소, 2) 그러나 조혈기독성의 증감에 무영향, 3) toluene, xylene처리와 EGEE와의 동시처리와 비교하여 간, 신장의 무게증가 4) 동시처리시의 혈중 총 콜레스테롤양 감소.

결과의 설명으로는 EGEE에 의한 생식독성은 alcohol dehydrogenase의 대사에 ethoxyacetic acid로 생각되며, 이 물질의 간, 신장 독성은 거의 없으리라고 본다. Toluene과 xylene의 동시처리시의 간과 신장, 고환의 무게증가는 이 유기용제를 대사시키기 위한 관련 효소들(P450 2E1, 2B6, 1A2)의 유도와 또 혈중 총 콜레스테롤양의 증가로 보아 조직독성의 초기단계인 지방세포화를 유도시킨다고 생각된다. 그래서 간독성의 초기단계에 있기 때문에 아직 간독성의 지표인 AST, ALT나, 신장독성의 지표인 blood urea nitrogen이나 creatinin과 같은 지표에 영향을 끼치지까지는 상당한 기간의 폭로가 필요하다고 생각되며, 조직병리상으로도 중요한 병변의 발견되지 않으리라고 생각된다.

의문점들의 설명으로는 EGEE, toluene, xylene의 동시처리시에는 EGEE 단독처리시와 비교하여 생식독성의 감소를 볼 수 있는데 이는 toluene, xylene의 처리에 의해 alcohol dehydrogenase에 의한 ethoxyacetic acid의 생성이 감소 되었으리라고 생각된다. 사실 공동으로 행한 세가지 물질의 대사연구에서도 3가지 물질의 동시처리시가 EGEE 단독처리시 보다 혈중 ethoxyacetic acid의 양이 감소가 관찰되었다. 그러나 3가지 물질의 동시처리는 조혈기 독성의 증감에 큰 영향을 끼치지 않는데 이는 조직의 특이성(tissue specificity) 때문일 것이라고 생각된다. 이는 toluene과 xylene의 처리에 의해 고환의 대사효소들이 유도되어 상대적으로 alcohol dehydrogenase의 대사에 의한 감소를 초래하기 때문이라고 생각되며, 혈액세포에서는 다른 대사효소들의 유도가 잘되지 않아 alcohol dehydrogenase의 활성도가 상대적으로 높아 혈액독성의 감소를 발견할 수 없으리라고 생각된다. 그리고 동시처리시 toluene, xylene 처리시와 비교하여 간과 신장의 무게 감소는 EGEE의 처리가 지방대사의 효소 유도의 억제에 영향을 미치지리라고 생각된다.

이번의 연구결과를 작업환경 상황에 적용시킨다면, 조선업체 근로자에게서 발견되었던 백혈구감소증의 원인 물질은 Ethylene glycol ether류이며 이의 다른 alkylbenzene 류 유기용제인 toluene 과 xylene의 복합적인 폭로가 조혈기 독성을 상가시키거나 (additive effect), 상승시키는 (synergistic effect) 작용은 하지 않으리라고 생각된다. 그리고 ethylene glycol ether 물질들은 생식독성 물질이므로 생식독성에 대한 모니터링이 필요하다고 생각된다. 남성 근로자의 생식독성은 남성근로자의 특성상 생식기능저하에 많은 요인이 있어서 이를 구체화 시키는데 많은 어려움이 있는 형편이며, 현재 근로자의 생식독성에 대한 모니터링으로는 정액의 정자의 운동성, 정자의 수등을 측정하는 방법이 있거나 시료를 채취하여 분석하는데 많은 변수가 있어서 잘 정도관리가 되지 않으면 신뢰성이 의심되는 방법이며 이를 전문적으로 할 수 있는 기관도 부족한 형편이다. 근로자들의 생식독성을 모니터링하는 방법으로는 요중 크레아틴을 재는 방법이 있으나 이도 아직 validation과 현장의 적용이 필요하므로 좀더 연구가 필요한 방법이다. 최근 국제적인 화학물질관리의 움직임으로 내분비계 파괴 화학물질 (endocrine disruptor)의 관심이 증대하여 이중 sex hormone disruptor의 규제가 2000년 이후 국제협약화 하려는 움직임을 보이고 있으며 (IFCS, 1997), OECD에서는 sex hormone disruptor 독성시험 가이드라인을 검토하여 완료중에 있다 (OECD, 1997). 앞으로 유해화학물질 폭로 근로자의 생식독성을 모니터링할 수 있는 방법의 개발이 시급하다. 이 연구에서는 복합유기용제의 폭로에 의해 EGEE의 생식독성은 감소하는 것으로 나타났다. 그래서 조혈기 독성이 나타난 근로자의 생식독성을 모니터링해서 생식독성이 나타나지 않는다면 대부분의 폭로근로자에게서 생식독성은 큰 문제가 없으리라고 본다. 현재 ethylene glycol ether류의 ACGIH의 TLV (1993) 5 ppm이나 alkylbenzene 류와의 복합유기용제 폭로시 조혈기 독성에는 영향이 없으며, 생식독성에는 감소효과가 있으므로 작업환경의 TLV 5ppm 이하로의 관리가 필요하다고 생각되며, 유기용제 취급근로자의 특수건강진단시 백혈구 수치의 지속적인 follow up이 필요하다고 생각된다. 그리고 도장작업의 페인트나 신나에 ethylene glycol ether 류가 포함이 되어있는데 이를 대체할 물질의 개발이 시급하다고 생각된다. 독성학적으로 glycol ether류는 분자량이 클수록 독성이 감소하는 경향이 있으므로 propylene glycol ether이 대체되어 같은 도장효과를 얻을 수 있는지를 검토해보아야 할 것이다.

V. 결론 및 제언

조선업체 작업환경에서 복합유기용제의 폭로가 미치는 건강영향을 규명하기 위해 단일유기용제와 복합유기용제에 폭로된 실험동물을 통하여 이들의 조혈기 독성과 생식독성의 영향을 규명하고자 하였다. 단일유기용제와 복합유기용제의 용량을 용량결정시험을 통하여 결정한 후 대조군, ethylene glycol monoethyl ether (EGEE) 150 mg/kg body weight 처리군, toluene (T) 250 mg/kg body weight + xylene (X) 500 mg/kg body weight 처리군, EGEE 150 mg/kg + T 250 mg/kg + X 500 mg/kg 처리군으로 나누어 28일간 수컷의 rat에게 경구로 투여하였다. 28일간 반복투여시험을 행한 후 실험동물을 부검하여 장기별로 적출하여 중량을 측정하고, 유의성이 있는 장기는 포르말린에 고정하여 조직병리학적 검사를 하였다. 그리고 혈액을 채취하여 혈액생화학적검사와 혈액학적 검사도 병행하였다. 연구결과는 아래와 같다.

1) EGEE (150 mg/kg)의 투여는 생식기에 현저한 영향을 끼쳐 고환의 위축, 세정관의 위축, germ cell의 괴사가 관찰되었다. 그리고 조혈기에도 독성을 보여 백혈구의 감소 등의 증상을 보여주었다.

2) T (250 mg/kg)+X (500 mg/kg) 처리는 조직병리학적인 중요한 병변이나 혈액생화학적으로 유의한 변화는 나타나지 않았으나, 간과 신장의 유의한 중량증가를 보여주었다.

3) 그러나 EGEE (150 mg/kg) +T (250 mg/kg) +X (500 mg/kg) 3가지 물질을 동시에 처리한 실험동물에서는 EGEE 단독처리할 때보다는 생식독성의 유의한 감소가 관찰되었으나 조혈기 독성의 감소는 관찰되지않았다.

4) T + X + EGEE 처리는 T + X 처리시보다는 간과 신장 중량 증가의 정도가 감소 되었다.

5) 이 연구결과로 조선업체의 조혈기 독성의 원인 물질이 Ethylene glycol ether류의 화학물질이며, 이 화학물질 (EGEE)과 다른 복합유기용제 (T + X)의 복합적인 폭로 (T + X + EGEE)는 조혈기 독성에는 유의한 영향을 끼치지 않으나, 생식독성의 감소를 보여주었다.

6) 따라서 조선업종에서의 복합유기용제의 폭로상황에서 특히 Ethylene glycol ether류의 작업환경관리가 절실히 요구되며 근로자의 특수건강진단시 백혈구감소증의 징후에 유념하여야 할 것이며, Ethylene glycol ether류를 대체할 수 있는 대체물질의 이용이나 개발이 시급하다.

VI. 참고문헌

국민일보 1996년 3월 5일, 6월 12일

김양호, 김규상, 조영숙, 이나루, 박승현, 이광용, 1996, 현대중공업(주) 역학조사 보고서, 산업안전공단, 산업보건연구원

노동부, 1997. 물질안전보건자료의 작성 비치등에 관한 기준 (78-1).

노동부, 1997, 여천공단 근로자의 건강영향평가 결과, 노동부 산업안전국 산업보건과.

부산일보 1996년 3월 4일.

산업안전공단, 1996. 혼합물의 물질안전보건자료 작성실무, 보건 96-20-107.

한겨레신문 1996년 3월 2일, 13일

ACGIH, 1993-1994. Threshold Limit values for chemical substances and physical agents and Biological exposure indices.

Andrew FD, Buschbom RL, Cannon WC, et al., 1981. Teratogenic assessment of ethylbenzene and ethoxyethanol. Battelle pacific Northwest Laboratories Report to NIOSH.

IFCS, 1997. Final report, Second session of the Intergovernmental Forum on Chemical Safety, WHO.

Miller RR, Ayres JA, Young JT, McKenna MJ, 1983. Ethylene glycol monoethyl ether. I. Suchronic vapor inhalation study with rats and rabbits. Fund. Appl. Toxicol. 3:49-54.

Miller RR., Herman EA, Langvardt PW et al., 1983. Comparative metabolism and disposition of ethylene glycol monomethyl ether and propylene glycol monomethyl ether in male rats. Toxicol Appl. Pharmacol 67: 229-237.

Moss EJ, Thomas LV, Cook MW et al., 1985. The role of metabolism in 2-methoxyethanol-induced testicular toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 79: 480-489.

Nagano K., Kakayama E., Koyano M. et al., 1979. Testicular atrophy of mice induced by ethylene glycol mono alkyl ethers. *Industrial Health* 21: 29-35.

Nakajima T., Wang R.S., Elovaara, Geboin H.V., Raunio H., Pelkonen O., Vainio H., and Aoyama T., 1977. Toluene metabolism by cDNA expressed by human cytochrome P450, *Biochem Pharmacol.* 53: 271-277.

Nelson BK, Setzer JV, Brightwell WS et al., 1984. Comparative inhalation teratogenicity of three glycol ether solvents and an amino derivative in rats. *Environ Health Perspect* 57: 261-271.

OECD, 1997. OECD Environmental Health and Safety Publications, Draft detailed review paper: appraisal of test methods for sex-hormone disrupting chemicals.

Sabourin PJ, Medinsky MA, Thurmond F et al., 1992. Effect dose on the disposition of methoxyethanol ethoxyethanol and butoxyethanol administered dermally to male F344/N rats. *Fund. Appl. Toxicol* 19: 124-132.

Sleet RB, Greene JA, Welsh F, 1988. The relationships of embryotoxicity to disposition of 2-methoxyethanol in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 93: 195-207.