

## PC13) Nitrogen Dioxide의 흡입 폭로에 따른 유해성 평가에 관한 연구

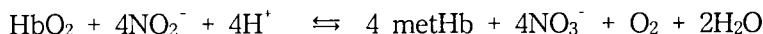
정성욱, 박흥재, 봉상훈\*  
인제대학교 환경공학부

### 1. 서 론

Nitrogen dioxide(NO<sub>2</sub>)는 산화성 물질의 하나로, 주로 흡입 폭로에 의해 생화학적 변화를 일으키며, 혈액 내의 hemoglobin, hematocrit, methemoglobin의 변화를 일으키고, 폐에 염증을 일으키는 것으로 알려져 있다.

Kelly F.K.,(1996) 등의 보고에 의하면 실험동물에서 고농도의 NO<sub>2</sub> 폭로에 의해 되면 폐에 손상이 일어나며, NO<sub>2</sub>의 직업적 폭로에 의해 작업자의 폐에서 염증이 발현됨을 보고하였다.

NO<sub>2</sub>에 노출되면 혈액내의 nitrite ions 과 oxyhemoglobin (O<sub>2</sub>Hb) 의 반응에 의해 생성되는 methemoglobin의 생성으로 저산소증을 유발한다고 하였다(Ana O.M., et. al.,2000). methemoglobin의 생성 과정은 다음과 같다.



따라서 본 연구에서는 NO<sub>2</sub> 의 반복적인 폭로(0.025 mg/m<sup>3</sup>, 8h/day/4 weeks)로 인한 폭로군 및 대조군에서의 혈액학 및 생화학적 요인들의 변화와 상관성을 관찰하고, methemoglobin의 생성으로 인한 저산소증의 발현 유무를 판단하기 위하여 동물실험을 하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 2.1. 실험동물

본 연구에서 실험 동물은 Hyochang science사의 체중이 28~30 g이고, 7주된 ICR mice 수컷을 사용하였으며, 물과 음식은 실험기간 동안 자유로이 충분한 양을 섭취할 수 있도록 하였고, 실험 시작전 일주일동안 주위 환경에 적응시킨 후 실험하였다.

#### 2.2. 흡입 폭로실험

폭로실험 chamber는 투명 아크릴 판으로 제작하였고, 부피는 33.64 cm<sup>3</sup>(59×19.5 ×29 cm)로 하였으며, 폭로 기간동안 chamber내의 온도는 20~23℃, 습도는 50 %를 유지하였다. nitrogen dioxide는 하루 8시간씩 총 4주 동안 폭로 시켰고, 농도는 정화된 공기를 이용하여 0.025 mg/m<sup>3</sup>으로 희석시켰다.

사용된 nitrogen dioxide는 구입하여 사용하였다(100 mg/ℓ NO<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>, Dae-won gas co., Busan, Korea). 희석 공기는 compressor를 이용하여, 활성탄 및 여과지를 통과시켜 정화한 후 사용하였다. chamber내의 NO<sub>2</sub> 농도는 mass flow controller (Tylan, 280 series, USA) 와 flow meter(Dwyer Instruments INC., USA)를 이용하여 조절하였다. 이때 유량은 8.00 ml/min로 하였고, 배기구 끝 부분에 fan을 설치하여 강제 배기 시켰다(Fig. 3).

### 2.3. 혈액학적 특성 분석

4주간 폭로시킨 후 혈액을 EDTA가 함유되어 있는 vacutainer tubes에 채취한 후 즉시 온도를 18~20℃로 유지시켜 실험실로 옮긴 후 자동 혈구 계수기(Cell-dyne 1300, USA)로 leukocyte, erythrocytes, HCT(Hematocrit), MCV(Mean corpuscular volume), MCH(Mean corpuscular hemoglobin), MCHC(Mean corpuscular hemoglobin concentration)등의 항목을 실험하였다.

Methemoglobin은 potassium cyanide(sigma, USA)을 methemoglobin 이 함유된 혈액에 가했을 때 cyanmethemoglobin으로 전환되어지며, 흡수 540 nm가 methemoglobin(630nm)보다 적으므로 methemoglobin이 존재한다면 potassium cyanide을 가한 후에 흡광도의 감소가 나타나게 되며, 이것은 methemoglobin양과 비례하여 감소되는 원리를 이용하여 spectrophotometer (UV-2201, SHIMADZU, Japan)로 흡광도를 측정하여 정량하였다(양용석,변대훈,김성미 등, 2001).

## 3. 결과 및 고찰

혈액에서의 각 항목에 대한 분석 결과는 Table 2와 같다. 폭로군과 대조군의 전혈에서 백혈구 수의 범위는 각각 3.70~9.40, 3.30~7.70 ( $\times 10^9$  cells/ℓ)였다. 평균 백혈구 수는 각각  $6.61 \pm 0.54$ ,  $5.12 \pm 0.37$  ( $\times 10^9$  cells/ℓ)로 폭로군에서 통계적으로 대조군과 비교했을 때 유의하게 증가함을 알 수 있었다( $p < 0.05$ ). 백혈구 수는 세균의 감염 및 조직의 괴사 등에 의해서 증가한다. Solomon C. et al.,(2000) 등의 보고에 의하면 nitrogen dioxide (NO<sub>2</sub>)는 free radical을 생성하는 산화성 가스로 흡입 폭로로 인한 면역기능의 감소와 호흡기 염증 발현으로 인해 bronchoalveolar lavage (BAL)에서의 백혈구 수가 증가한다. 또한 Rutowski J. et al.(1998)등은 16명의 흡연자와 비흡연자를 NO<sub>2</sub> 와 NO에 노출시키면 백혈구 및 림프구의 수가 증가한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서의 백혈구 수의 증가는 nitrogen dioxide의 영향으로 인한 감염에 의해 증가되었다.

혈색소는 철과 porphyrin이 결합된 heme과 단백 부분(globin)의 복합체로 구성된 4 배체로 heme단백질의 일종이다. 주요 기능은 폐에서 조직으로의 산소 운반과 조직에서 폐로의 탄산가스 운반이다. 혈색소의 감소는 산소 운반량의 감소로 인한 장기조직의 산소 결핍으로 자산소증을 유발하는 것으로 알려져 있다(이귀녕, 이종순,1990). 전혈 중에서 적혈구가 차지하는 비율을 나타내는 hematocrit(HCT)의 경우 폭로군에서의 범위는 29.50~42.00 %였고, 평균은  $34.56 \pm 0.86$  %였다. 대조군에서는 범위가 28.70~38.10 %이고, 평균이  $34.80 \pm 0.76$  %이었다. 폭로군에서 감소하는 것으로 나타났다. Posin C. et al., (1978) 와

Mark W.F., et al.,(2002) 보고에 따르면 NO<sub>2</sub>의 폭로에 의해 hemoglobin과 hematocrit의 농도가 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 보고되었다. 이는 본 연구에서의 결과와 유사한 경향이였다.

평균 적혈구 혈색소량(mean corpuscular hemoglobin) 은 폭로군에서의 범위는 17.8~20.3 pg 였으며, 평균은 19.1±0.18 pg 이었다. 대조군에서의 범위는 16.0~20.8 pg 였으며, 평균은 19.4±0.18 pg 로, 폭로군에서 감소하였다.

본 연구에서의 methemoglobin 은 폭로군에서의 평균이 10.19±5.20 g/dl이었다. 대조군에서는 평균 농도가 9.39±4.51 g/dl로 폭로군에서 methemoglobin이 증가하였다(Table 3). 이는 통계적으로 유의하였다(p<0.05).

#### 4. 결 론

Nitrogen dioxide의 위해성 평가를 위해 폭로chamber를 제작하였다. 또한 실험 동물에 대한 흡입 폭로 실험을 하여, 혈액학적인 특성을 평가하였다.

Nitrogen dioxide의 흡입 폭로로 인한 혈액학적 요인의 변화는 백혈구의 경우 동물실험에서의 폭로군에서 통계적으로 유의하게 증가하였는데, 이는 산화성 가스인 nitrogen dioxide의 흡입 폭로로 호흡기 계통의 세균의 감염이나 조직의 괴사 및 염증발현에 의해 백혈구 수가 증가한 것으로 사료된다.

폐에서 조직으로의 산소 운반과 조직에서 폐로의 탄산가스를 운반하는 hemoglobin과 전혈 중에서 적혈구가 차지하는 비율을 나타내는 hematocrit의 경우 동물실험에서의 폭로군의 경우 통계적으로 유의하게 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 전혈 중 혈색소를 나타내는 hemoglobin과 hematocrit는 전혈 중에서 적혈구의 비율을 나타내는 것이므로 3가지 종류 모두 유사한 경향을 나타내었다. 혈액내의 nitrite ions과 oxyhemoglobin의 반응에 의해 3가 상태로 산화된 hemoglobin을 말하는 methemoglobin의 경우 폭로군에서 농도가 증가하였다. 이는 nitrogen dioxide가 산화제 역할을 함에 따라 생체 방어의 이상을 초래하여 methemoglobin의 농도가 증가한 것으로 사료된다.

본 연구에서 nitrogen dioxide는 혈액학적 요인의 변화를 일으키므로 실내환경에서의 nitrogen dioxide에 대한 노출을 최소화 하여야한다.

#### 참 고 문 헌

- Abraham W.M., Welker M, Oliver W. Jr., et al., Cardiop-ulmonary effects of short-term nitrogen dioxide exposure in conscious sheep. *Environ. Res*, 1980, 22:61~72.
- American Industrial Hygiene Association, *Welding Health and Safety Resource Manual*, American Industrial Hygiene Association, 1984, *Akron, OH*.
- Ana O.M. and amaya A.D. nitric oxide reactivity and mechanism involved in its biological effects, *Pharmacological Research*, 2000, 42(5) 421~427.
- Castner H.R., Null C.L., Chromium, Nickel and manganese in shipyard elding fumes. *Welding Research Supplement*. 1998, 223~231.

- Eiko K., Takahiro K., Ryosuke U., Effect of exposure to nitrogen dioxide on alveolar macrophagemediated immunosuppressive activity in rats. *Toxicology Letters*. 2001, 135~143.
- Farrar D., Dingle P., Tan R., Exposure to nitrogen dioxide in Buses, Taxis and Bicycles in perth, Western Australia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2001, 66:433~438.
- Fujimaki H., Shimizu F. Effects of acute exposure to nitrogen dioxide on primary antibody response. *Arch Environ Health*. 1981, 36:114~119.