한국전자현미경학회지 제24권 제1호 1994
Korean J. Electron Microscopy 24(1), 77~85 (1994)

O-Chlorobenzylidene Malononitrile (CS)이 폐포간중격 제2형 폐포세포의 미세구조에 미치는 영향

정 호 삼 · 김 병 익 · 백 두 진

An Electron Microscopic Study on Type II Pneumonocytes of Lung in O-Chlorobenzylidene Malononitrile (CS) Esposed Albino Rats

Chung, Ho-Sam, Byung-Ik Kim and Doo-Zin Paik

(Received December 18, 1993)

ABSTRACT

In order to investigating the pulmonary toxicity of the O-chlorobenzyledene malononitrile (CS), lacrimating agent, 2.6g/m^3 of CS was inhalated to Sprague-Dawley rats in the plastic chamber for 20 minutes. The ultrastructural changes of type II pneumocytes in the lung were observed with Hitachi 600 transmission electron microscope.

The results obtained were as follows:

1. 3 hours after exposure to CS the fusion of surface microvilli, dilatation of cristernae of the rough endoplasmic reticulum, atrophy of Golgi complex and condensation, deletion of lamellated membranes in lamellar bodies were observed in type II pneumocytes.

2. One and 2 days after CS-exposure, disorganization of mitochondrial double membranes, fragmentations of rough endoplasmic reticulum were found in the great alveolar cells. In addition, decrease in amount of polyribosome granules and deletion or condensation of lamellated membranes in lamellar bodies were also observed.

3. 4 days after exposure to CS, the type II pneumocyte revealed new whorled lamellar membranes in lamellar bodies, a few intact rough endoplasmic reticulum and restoration of polyribosome granules.

It is consequently suggested that CS induces degenerative changes of cytoplasmic organelles in the type II pneumocytes.

한양대학교 의과대학 해부학교실
Department of Anatomy, School of Medicine, Hanyang University

서 론

O-Chlorobenzylidene malononitrile(CS)는 1928년 Corson 및 Stoughton에 의해 처음 합성되었고 대기중에서 사용될 때 choroacetophenone(CN, CAP)보다 체류 gas로서 더 효과적이고 안전하다는 점에서 1958년에 이르러 폭동 진압용으로 사용되어 왔다. CS는 malononitrile과 O-chlorobenzylaldehyde의 합성물질로 malononitile($G_3H_2N_2$)은 methyl cyanide로 유기합성제로 사용되고 있으며 유독물질(mouse LD_{50} 12.9mg/kg)로 알려져 왔다.

Janes 및 Israel(1970)은 CS gas의 독성의 기작에 대해 밝힌 바 있다. CS에 존재하는 −cl group은 활성이 커서 생체내에서 아미노기(amino group)와 반응성이 높으며 특히 lysine과 강하게 결합하여 benzylamine을 형성하게 된다. 이 benzylamine은 산화되어 benzylimine을 형성하기도 하고 이성질체(tautomer)를 형성하고 분해되어 2-chlorobenzoyl amine derivative와 $-CH\langle^{CN}_{CN}$을 형성한다고 하였다. 이 $-CH\langle^{CN}_{CN}$ 화합물은 쉽게 수소이온과 결합하여 malononitrile($CH_2=C\langle^{CN}_{CN}$)을 형성하며 따라서 생체내에서 CS는 분해되어 malononitrile과 2-chlorobenzyl amino derivative를 형성하게 된다고 하였다. 이때 생성된 malononitrile은 조직내에서 점차 cyanide(CN)로 분해되어 세포독성을 야기한다고 하였다. Cyanide가 세포에 미치는 독성의 기작은 hemoglobin의 산소결합을 저해하여 oxyhemoglobulin 형성이 억제되므로 조직내 산소공급이 원활히 이루어지지 못하며 사립체의 전자전달계에 작용하여 ATP 형성을 억제하는 것으로 알려져 있다.

Colgrave등(1975) 흰쥐에 CS를 90,000, 60,000 그리고 30,000mg/m^3의 매우 높은 농도로 투여후 폐포세포의 심한 울혈, 출혈 및 간질성부종을 보고하였다. Bils(1966)와 Bils 및 Romanosky(1967)는 실험동물들이 SO_2, O_3 자동차 매연등의 고농도에 노출된 뒤 폐기종 및 저하된 폐기능을 보고하였는데 이때 시험동물의 폐손상으로 인하여 내피세포의 공포화 상피세포와 내피세포의 부종이 초래됨을 보고하였다. Punte등(1962)은 몇가지 실험동물을 이용한 실험에서 혈관과 흡기로 인한 독성을 보고한 바 있고, Ballantyne 및 Callaway(1972)는 CS gas가 고농도로 체내에 농축될 경우 독성변화와 조직의 병변이 야기된다고 주장했으며, Brimblecombe등(1972)은 여러 실험동물을 이용한 실험에서 소장, 심장, 위, 기도등이 CS gas에 의한 다양한 생리적 변화가 수반된다고 발표하였다. 특히 고양이에게 CS를 흡입시켰을 때 일시적 호흡마비, 호흡저하 및 심장 박동의 증가와 혈압상승등이 유발되었다고 하였다. 주등(1992)은 체루성 작용제인 CS gas와 CN gas는 혈청내 acetylcholinesterase과 glutamine synthetase 활성에 영향을 미친다고 하였고, 김등(1990)은 생쥐를 이용하여 CS와 CN의 독성을 실험한 결과 CS 합성 혼합물질인 malononitrile이 극히 위험한 치명적 물질이라고 발표한 바 있다. 한편 Halland와 White(1972)는 CS gas가 인체에 폭로되면 피부의 자극, 홍반 및 발포증을 나타낸다고 주장했다. Chowdhury(1978)은 흰쥐에 CS를 10mg/kg 및 20mg/kg을 투여하였을 때 갑상선조직에 조직변화가 야기되었다고 하였고, Chowdhury 등(1978)은 흰쥐의 부신피질 및 수질에서 실질세포의 변화가 유발되었다고 하였다. Meshram(1992)은 CS가 ames salmonella균에 변이원성 효과(mutagenic activity)와 세포독성작용이 있다고 주장하였다.

이와 같은 여러 학자들의 연구결과로 미루어 CS는 세포 및 조직 독성이 분명하고 또 실험동물의 병리생리학적 변화가 야기된다고 알려져 있다. 그러나 CS gas를 흡입하였을 때 호흡기관 특히 폐장의 형태학적 변화에 대한 연구는 거의 보고된 바 없어 저자는 CS가 폐장의 폐포막내 제 2 형 편포세포에 대한 변화를 야기시킬 것으로 사료되어 전자현미경을 이용하여 형태적 변화를 추구하고자 본 연구에 착수하였다.

실험재료 및 방법

본 실험에 사용된 동물은 사육실에서 장기간 사육한 체중 150~200g 되는 건강한 흰쥐(Wistar계)를 사용하였다. 흰쥐는 대조군과 실험군으로 나누고 대조군에 10마리, 실험군에 40마리를 각각 배정하였다. 본 실험에 사용한 CS는 분말형 O-chlorobenzylidene malononitrile(한영화학 제조)을 사용하였다. 실험용으로 제작한 용적이 1m^3인 프라스틱 chamber에 CS 분말 2gm을 투

입한 다음 소형 fan을 이용하여 chamber 내에 고르게 분산시킨 후 실험동물을 투입한 20분간 CS개스를 흡입시켰다. 이때 chamber 내에는 산소를 일정량 계속 공급하였다. CS흡입을 중지한 다음 3시간, 1일, 2일 및 4일 후에 희생시켜 폐조직을 절제하였다. 실험동물에서 절제한 폐조직은 1mm³의 크기로 세절한 후 Millonig's phosphate buffer(pH 7.2)로 완충한 2% glutaraldehyde-2.5% paraformaldehyde 용액에서 4℃에서 3~4시간 전고정하였으며, 동일한 buffer로 완충한 1% osmium tetroxide로 2시간 고정한 후 ethanol-acetone 농도차에 따라 탈수하고 Epon 812로 포매한 후 미세절편제작기(Sorvall MT II)로 두께 1μm의 초박절편을 제작하여 methylene blue로 적정 부위를 확인하고 다시 두께 600~800Å의 초박절편을 제작한 후 uranyl acetate 및 lead citrate로 이중 염색을 시행한 후 전자현미경(Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

실험 결과

1. 대조군

폐포간중격에 제2형 폐포세포, 모세혈관내피세포, 모세혈관내 적혈구 등이 관찰되며, 직경 5~10μm 모세혈관은 공기혈관장벽(air-blood barrier)이 구분되는데 내강에서는 2~3개의 적혈구가 관찰된다. 제2형세포에서는 폐포강에 면한 표면에서는 소수의 미세융모가 관찰되며 핵은 타원형, 원형 및 부정형으로 세포중앙에 위치하는데 그 주변에서는 이염색질이 내부에서는 진염색질이 관찰되었다. 세포질에서는 층판체(직경 1~1.5μm)가 다수 관찰되었다. 층판체내부에는 층판구조가 나선형으로 관찰되었고, 일부 미성숙 층판체에는 층판구조가 관찰되지 않고 소포가 관찰되었다. 세포질 일부에서는 조면내형질세망, 소수의 사립체, 용해소체 등이 관찰되었다(Fig. 1).

2. 실험군

1) 3시간군 : CS gas에 20분간 폭로후 3시간이 경과한 흰쥐 폐장의 제2형 폐포세포에서는 세포표면의 미세융모가 일부 유합되어 있었으며 세포는 전체적으로 일그러진 모양을 보였고 조면내형질세망 소조는 심하게 팽대되어 있었으며, Golgi복합체의 소조는 위축되어 있었다. 층판체내 층판구조의 일부는 농축되었거나 부분적으로 소실되어 있었으며 전자밀도가 높은 core로 관찰되었다(Fig. 1).

2) 1일군 : CS gas에 20분간 폭로한 후 만 1일이 경과한 흰쥐 폐장의 제2형 폐포세포에서는 층판체의 층판구조가 일부 소실되었거나 층판체의 막에서 이탈되었고, 사립체에서는 2중막 구조가 관찰되지 않았으며, 소수의 다소포체가 관찰되었다. 조면내형질세망 소조가 단절되었거나 소멸된 양상이 보였다. 핵은 이염색질이 다량 핵질을 찾이하였으며, 세포내 유리리보좀의 수가 감소되었다. 그러나 모세혈관의 구조는 정상이었으며 제2형 폐포와 모세혈관 사이에 제1형 폐포세포도 관찰되었다(Fig. 2).

3) 2일군 : CS gas에 20분간 폭로한 후 2일이 경과한 흰쥐 폐장의 제2형 폐포세포에서는 핵이 약간 농축된 형태를 보였고 팽대된 층판체내 층판구조는 대부분 소실되었으며 전자밀도가 높은 사립체가 다수 관찰되었다. 조면내형질세망과 유리리보좀 과립은 비교적 정상적인 형태를 나타내었다(Fig. 3).

4) 4일군 : CS gas에 20분간 폭로한 후 4일이 경과한 흰쥐의 큰 폐포세포에서 핵은 거의 정상구조를 보였으며 소수의 조면내형질세망, 유리리보좀 과립이 다수 관찰되었다. 층판체는 대부분 원형을 보였고 층판구조가 느슨하게 모든 층판체내에 관찰되었으나 정상대조군의 것과는 치밀정도가 낮게 분포되었다(Fig. 4).

고 찰

O-chlorobenzylidene malononitrile(CS)는 폭동진압에 사용되는 체루성 자극제로서 W-chloracetophenone 보다 10배 이상 자극성이 높지만 독성은 덜하다고 알려져 왔다. Punte등(1963)에 의하면 CS나 CN 최루성 작용제는 후추와 같은 냄새를 가지며, 생리적인 효과를 보면 특히 눈과 상부기도 및 피부에 극심한 자극을 주고 농도가 짙어지는 경우에는 눈에 심한 고통을 주어 눈물이 나게 되며 충혈과 함께 눈꺼풀이 저절로 닫혀지게 된다. 호흡에 의해서는 상부기도에 자극을 주어 숨을 막히게 하고 재채기 및 기침을 동반하면서 흉통을 느끼게 하고, 더욱 농도가 짙어지면 위를 자극하여 구토를 유발하기도 한다. 이렇게 작용제에 노출되어 증상이 나타날 경우, 통풍이 잘 되는 신선한 곳에 안정하게 되면 수분이 지나 그 증상이 해소된다고 보고하였다.

Shmunes등(1973) CS 제조 공장에 근무하는 28명의 노동자 중 25명이 팔과 목의 피부에 피부질환이 유발되었다고 보고하였고, 이 25명의 노동자 중 2명은 Olive oil CS를 1 : 1000으로 희석한 액으로 도포 실험했을 때 Patch test에 양성반응을 보였다고 하였다. 즉 48시간에 발적 부종 그리고 미세한 공포변성(vesiculation)이 있었다고 하였다.

Gaskins등(1972)은 흰쥐를 이용한 실험에서 CS의 투여는 심한 위장염의 발생으로 인하여 2일 이내에 치사가 되었고, CS에 노출되었을 때 30분내에 물이나 비누로 세척했을 때 피부의 회복은 되나 완전히 정상화는 5주 정도 걸린다. 한편 일부 학자들은 CS가 시위진압용으로 빈번히 사용되고 있으나 인체에 큰 손상은 주지 않고 일시적인 체루성자극에 그친다고 주장한 이가 많다. 특히 Upshall(1973)은 임신한 흰쥐와 가토(Newzealand계)에 6.20 및 60mg/m³을 5분간 임신 6일에서 15일 및 6일에서 18일에 이르기까지 매일 CS을 흡입시켰어도 태아의 사망이나 기형은 없었다고 하였고, Cook 및 Fairweather(1968)과 Cook등(1969)도 달걀부화시에 1~5mg/egg의 CS를 주입해도 태아의 사망이나 기형이 유발되지 않았다고 하였다.

이와 같이 CS에 대한 독성에 대해서 학자들은 대립적인 소견을 내어 놓고 있다. 포유동물의 호흡기관인 폐에서 가스교환이 일어나는 폐포모세혈관막장벽(blood-air barrier)은 폐포상피세포(alveolar epithelial-cells), 모세혈관의 내피세포 및 각 세포의 기저막으로 구성되어 있으며, 상피세포는 폐포면(alveolar-surface)의 90%를 피복하는 제1형 폐포세포(type I pneumocyte; squamous pneumocyte)의 폐포면의 약 5%를 점유하고 surfactant를 분비하는 제2형 폐포세포(type II pneumocyte; greater alveolar cell)로 구분된다. 폐포세포와 내피세포의 기저막은 모세혈관이 폐포강내로 돌출된 부위에서는 서로 융합되어 있으나 그 외의 부위에서는 교원섬유등 결체조직성분으로 구성된 간질극(interstitial space)에 의하여 서로 분리되어 있으며, 제1형 폐포세포는 세포질이 사방으로 길게 연장되어 폐포면의 대부분을 점유하고 있으나 세포수는 제2형 폐포세포가 제1형 폐포세포보다 더 많은 것으로 알려져 있다. Defow와 Berendsen(1978)에 의하면 제1형 폐포세포와 내피세포의 세포질내에는 정상적으로 다수의 음소포(pinocytotic vesicle)가 포함되어 있으나, 폐부종이 유발되면 음소포의 수가 더욱 증가되면서 폐포강 및 모세혈관강으로 배출되는 음소포의 수도 증가된다고 하였다. 폐독성을 나타내는 화학물질이나 폐장세포내 핵산과 단백질대사 및 합성에 장애를 초래한 농약, 공업용 유기용매제, 항생제, 항암제 등 실험동물이나 인체에 투여하면 폐포에서 간질성부종, 폐포구성 세포의 형태학적 변화 특히 제2형 폐포세포의 증식이 일어남이 여러 연구자에 의하여 보고되었다. Yuen과 Sherwin(1971), Kauffman(1972)과 Popenie(1979)는 nitrogen dioxide, urethane과 paraquat에 노출된 실험동물의 폐에서 제2형 폐포세포가 증식됨을 보고하였고 Fasca등(1974)과 Zwiker등(1978)은 흡연시킨 개의 폐에서 폐포간 중격의 비후, 세기관지상피내 세포층의 증가, 제1형 폐포세포내 장원섬유(tonofilament)의 침착, 제2형 폐포세포의 증식, 다수의 지방소적을 함유한 대식세포의 출현을 관찰할 수 있었다고 주장했고, Brooks(1971), Vijeyaratnam과 Corrin(1971), Modee(1972)는 실험동물에 농약인 paraquat dichloride를 투여한 바 폐포간 중격내 모세혈관의 울혈, 간질성부종, 제1형 폐포세포 및 모세혈관의 내피세포부종에 의한 국소적 팽창, 세포질내 부정형의 봉입체수의 증가 및 기저막의 손상과 제2형 폐포세포내 사립체의 변태, 조면내형질세망 소조의 팽대, 미세융모의 소실 및 파괴된 제2형 폐포세포의 탈락등 폐포가 손상되는 소견을 관찰할 수 있었다고 하였다. 18마리의 쥐를 3군으로 나누어 CS를 각각 90,000, 60,000 그리고 30,000mg/m³를 투여한 결과 폐장에 조직변화는 노출된 18시간에서 36시간내에 가장 심하게 나타났으며, 90,000mg/min/m³의 경우 4마리가 사망하였고 60,000mg/min/m³ 2마리가 사망하였는데 폐포의 심한 울혈 및 충혈과 간질성부종이 초래되었다고 하였다. 전자현미경상 폐포막중격의 기저막층과 교원질이 함유된 부분사이에 수액이 농축되는 폐포상피세포 및 간질에 변화가 나타났다고 한다. Whitshi와 Cote(1976)는 항산화제인 butylated hydroxyl toluene을 투여한 mouse 폐에서 thymidine kinase, RNA polymerase, uridine kinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase 및 5'nucleotidase 활성이 증가되었고, 폐포벽의 비후, 간질내 단핵구 침윤과 폐포내 세포수의 증가를 관찰하였다고 하였으며, Pawlowski(1977)는 Phosgene에 노출된 흰쥐의 폐에서 초기에는 종말세기관지에 존재하는 상피세포내에 다수의 소포

가 출현하였고 시간이 경과함에 따라 제 1 형 폐포세포의 파괴, 제 2 형 폐포세포의 부종과 광범위한 간질성부종이 초래되었다고 하였다. Fleishman등(1971)은 강력한 핵산 및 단백질 합성 억제제인 bleomycin을 투여한 개의 폐에서 늑막의 인접부에 국한된 간질성폐렴, 국소적 증식, 제 2 형 폐포세포의 증식과 이형성이 유발되었다고 하였고, Bedrossian등(1973)은 bleomycin을 투여받은 환자의 폐를 전자현미경으로 관찰한 결과, 간질성부종, 교원섬유의 축적, 제 1 형 폐포세포의 감소 및 제 2 형 폐포세포의 증식을 관찰할 수 있었고, 이때 관찰되는 제 2 형 폐포세포는 짧은 미세융모를 지니고 있었다고 하였다. 김등(1990)은 interleukin-2를 투여받은 mouse 폐포간 중격에서 제 2 형 폐포세포내 층판체의 융합 및 공포화, 혈액공기장벽의 제 1 형 폐포세포 및 내피세포의 부종이 유발되었음을 보고하였다. 권(1992)은 cis-platin을 mouse 복강에 투여하고 폐포간 중격의 형태학적 변화를 관찰한 결과 폐포간 중격의 모세혈관 내피세포의 부종과 제 2 형 폐포세포내 층판체의 파괴가 관찰되었다고 발표한 바 있다.

이상과 같이 실험동물과 인체의 폐포의 구성세포는 농약, 항생제 등의 유독물질의 투여에 의해서 손상이 야기된다고 많은 학자들이 실험적으로 증명하고 있다.

본 실험에서 체루성작용제를 흰쥐에 흡입시킨 후 폐포를 관찰한 결과 상기 여러 학자들이 발표한 결과 비슷한 형태학적 변화가 일어났다. CS가 분해되어 생성되는 malononitrile이 조직내 cyanide로 분해되어 세포독성이 야기되는 것이 제 2 형 폐포세포내에서 층판체 형성을 억제하는 간접적인 원인으로 생각되어진다. 제 2 형 폐포세포에서 생성되는 층판체는 조면내형질세망의 일부에서 형성된 구조물에 Golgi complex에서 재합성되어 층판체(multivesicular bodies)로 전환된다는 Ghadially(1977)의 이론이 가설이기는 하지만 지금까지 여러 연구자들이 이 이론에 동의하고 있다. 그렇다면 CS에서 생성된 cyanide가 세포독성으로 작용하는 것은 RER 및 Golgi 등에도 그 독성이 미칠 수 있으리라 가정할 수 있다. 또 cyanide가 사립체의 전자전달계에 작용하여 ATP 형성을 억제한다는 Janes와 Israel(1970)의 주장을 적용하면 CS가 큰 폐포세포에 직접 작용하여 층판체에 독성으로 작용할 수 있다고 생각된다. 본 실험에서 CS에 폭로한 후 시간이 경과될수록 층판체내 전자밀도가 높은 소포(vesicles)의 집단이 층판을 형성한 후 층판체로 형성된 후 층판구조가 융해되어 소멸되는 현상이 일어나고(CS 투여후 24시간군과 48시간군) 4일 경과후에는 층판구조가 다시 생성되는 현상은 CS에 의한 층판체 손상이 야기되었다가 다시 재생되는바 이것은 CS가 폐포의 제 2 형 폐포세포에 독성으로 작용한다고 생각할 수 있었다.

결 론

체루성 gas로 알려진 CS gas 흡입이 생체의 폐포내 제 2 형 폐포세포에 미치는 영향을 추구하고자 본 연구를 시도하였다.

실험동물로는 실험실에서 사육한 체중 150~200g되는 건강한 웅성 흰쥐를 사용하였다. 본 실험에 사용한 CS는 한영화학 Co.에서 제조한 분말형 O-chlorobenzylidene malononitrile이였다. CS분말 2gm 흡입시킨 후 3시간, 1일, 2일 및 4일 후에 절취한 폐조직을 전자현미경으로 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. CS gas 흡입후 3시간 경과군의 흰쥐의 제 2 형 폐포세포에서는 미세융모의 유합, 조면내형질세망의 소조팽대, Golgi 복합체의 소조 위축 및 층판체내 층판구조의 소실 및 농축이 야기되었다.

2. CS gas 흡입후 1일 및 2일 경과군의 흰쥐 제 2 형 폐포세포에서는 사립체의 2중막구조의 소실, 조면내형질세망의 소조의 단절 및 유리리보좀 과립이 감소되었다. 특히 층판체내 층판구조는 대부분 소실되어 막에서 이탈되었다.

3. CS gas 흡입후 4일 경과군의 흰쥐 제 2 형 폐포세포에서는 소수의 조면내형질세망, 유리리보좀이 다수 관찰되었고 층판체내 느슨한 층판구조의 재생이 관찰되었다.

이상과 같은 소견은 CS gas 흡입은 흰쥐 폐장의 제 2 형 폐포세포에 독성으로 작용하여 흡입초기에 여러 세포내 소기관 특히 층판체에 퇴행성 변화를 유발하나 시간이 경과할수록 회복되는 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

Balantyne, B. and Callaway, S. 1972. Inhalation toxicology and pathology of animals exposed to O-chlorobenzylidene malononitrile (CS). Med. Sc

Law 12 : 43-65.

Bedrossian, C.W.H., Luna, M.A., Mackay, B. and Lichtiger, B. 1973. Ultrastructure of pulmonary bleomycin toxicity. Cancer 32 : 44-51.

Bils, R.F. 1966. Ultrastructural alterations of alvelar tissue of mice I due to heavy Los Angeles Smog. Arch Environ Health 12 : 689-697.

Bils, R.F. and Romanovsky, J.C. 1967. Ultrastructural alterations of alveolar tissue of mice II synthetic photochemical Smog. Arch Environ Health 14 : 844-858.

Brimblecombe, R.W., Green, D.M., Muir, A.W. 1972. Pharmacology of O-chlorobenzylidene malononitrile (CS). Br. J. Pharmacol 44 : 561-576.

Brooks, R.E. 1971. Ultrastructure of lung lesions produced by ingested chemicals Lab Invest 25 : 536-545.

Chowdhurg, A.R., Deshmukh, M.B., Raghureeran, C. D., Nashkkar, A.B., ChaHerjee, A.K. 1978. Histological changes in thyroid of rat under the acute exposure of O-chlorobenzylidine malononitrile. Experientia Det. 15 : 3217.

Colgrave, H.F. and Creasey, J.M. 1975. Ultrastructure of rat lungs following exposure to O -chlorobenzylidene malononitrile (CS). Med Sci Law 15 : 187-197.

Cook, M.J. and Fairweather, F.A. 1968. Methods used in teratogenic testing. Lab Anim. 2 : 219-228.

Cook, M.J., Fairweather, F.A. and Hardwick, M. 1969. Further thoughts on teratogenic testing. Im: Teratology (E. Bletelli and L. Donati. eds). Excerpta medice Foundation, Amsterdam. 34-42.

Defow, D.O., Berendsen, P.B. 1978. Morphological change in isolated perfused dog lungs after acute hydrostatic edema, Circ. Res. 43 : 72-82.

Fasca, J.N., Auerbach, O., Parks, V.R. and Jamieson, J.D. 1974. Alveolar cell hyperplasia in the lungs of smokings dogs Exp. Mol. Pathol 21 : 300-312.

Fleischman, R.W., Standnicki, S.W. and Either, M.F. 1975. Ototoxicity of cis-Dichlorodiammineplatinum (II) in the guinea pig. Toxicol Appl Pharmacol 33 : 320-332.

Gaskins, J.R., Hehir, R.M., McCaulley, D.F., Ligon, E.W. 1972. Lacrimating agents (CS and CN) in rats and rabbits acute effects on mouth, eyes and skin. Arch Environ Health, 24 : 449-466.

Ghadially, F.N. 1982. Ultrastructural pathology of the cell and matrix. Butterworth Co., London 448 -451.

Holland, P., White, R.G. 1972. The cutaneous reactions produced by O-chlorobenzylidene malononitrile and W-chloroacetophenone when applied directory to the skin of human subjects. Br. J. Derm 86 : 150-154.

Janes, G.R.N., Ksrael, M.S. 1970. Mechanism of toxicity of injected CS gas. Nature 228 : 1315-1316.

주현석, 김종관, 이종호, 조기승. 1992. 생쥐에서 최루성작용제 (CS 및 CN)의 생화학적 및 CS의 잔류성 연구. 한양생명과학 학술지 제 1 권 84-91.

Kauffman, S.L. 1972. Alterations in cell proliferation in mouse lung following urethane exposure Am. J. Pathol 68 : 317-323.

권익승. 1992. cis-Dichlorodiammineplatinum (II)이 mouse 폐포간중격의 미세구조에 미치는 영향. 한양대학교 대학원 박사학위논문.

김종관, 주현석, 조기승. 1990. 최루성 작용제 (CS 및 CN)의 독성에 대한 생리 생화학적연구. 한양대학교 산업과학논문집 31 : 273-279.

김종우, 황세진, 정호삼, 이규식. 1990. Interleukin-2가 Mouse 폐장의 폐포간 중격의 미세구조에 미치는 영향. 한양의대 학술지, 제10권 제 1 호 : 1-16.

Meshram, G.P., Malini, R.P., Rao, K.H. 1992. Mutagenecity of N, N-methylurea and methylamine hydrochloride in the ames samonella microsome test-absence of mutagenic response. Muta Research 279 : 275-280.

Mode, J., Ivemark, B.I., Robertson, B. 1972. Ultrastructure of alveolar wall in experimental paraquat poisoning. Acta Path Microbiolol Scan 80 : 54-60.

Pawlowski, R. and Frosolono, M.F. 1977. Effect of phosgene on rat lungs after single high level exposure. Arch Env Health 62 : 278-283.

Popene, D. 1979. Effects of paraquat aerosol on mouse lung. Arch path Lab Med 103 : 331-334.

Punte, C.L., Owens, E.J., Gutentag, P.J. 1963. Exposures to orthochlorobenzylidene malononitriles, Archs envir Health 6 : 72.

Punte, C.L., Weimer, J.T., Baward, T.A. and Wilding, J.L. 1962. Toxicologic studies on O-chlorobenzylidene malononitrile. Toxi Appl Pharmac 4 : 652-662.

Shmues, E., Taylor, J.S. 1973. Industrial contact dermatitis effect of the riot control agent ortho -chlorobenzylidene malononitrile, Arch Dermatol 107 : 212-216.

Upshall, D.G. 1973. Effect of O-chlorobenzylidene malononitrile (CS) and the stress of aerosol inhalation upon rat and rabbit embryonic development. Toxicol. Appl Pharmacol 24 : 45-59.

Vijeyaratonam, G.S. and Corrin, B. 1971. Experimental paraquat poisoning: A histological and electron optical study of the changes in the lung. J. Pathol 103 : 123-129.

Whitichi, H. and Cote, M.G. 1976. Biochemical pathology of lung damage produced by chemicals Fed Proc 35 : 89-94.

Yeun, T.G.H. and Sherwin, R.P. 1971. Hyperplasia of type II pneumocytes and nitrogen dioxide (10ppm) exposure. Arch Env Health 22 : 178-188.

Zwicker, G.M., Filipy, R.E., Park, J.F., Loscutoff, S. M., Ragan, H.A. and Stevens, D.L. 1978. Clinical and pathological effects of cigarette smoke exposure in beagle dogs. Arch pathol Lab Med 102 : 623 -628.

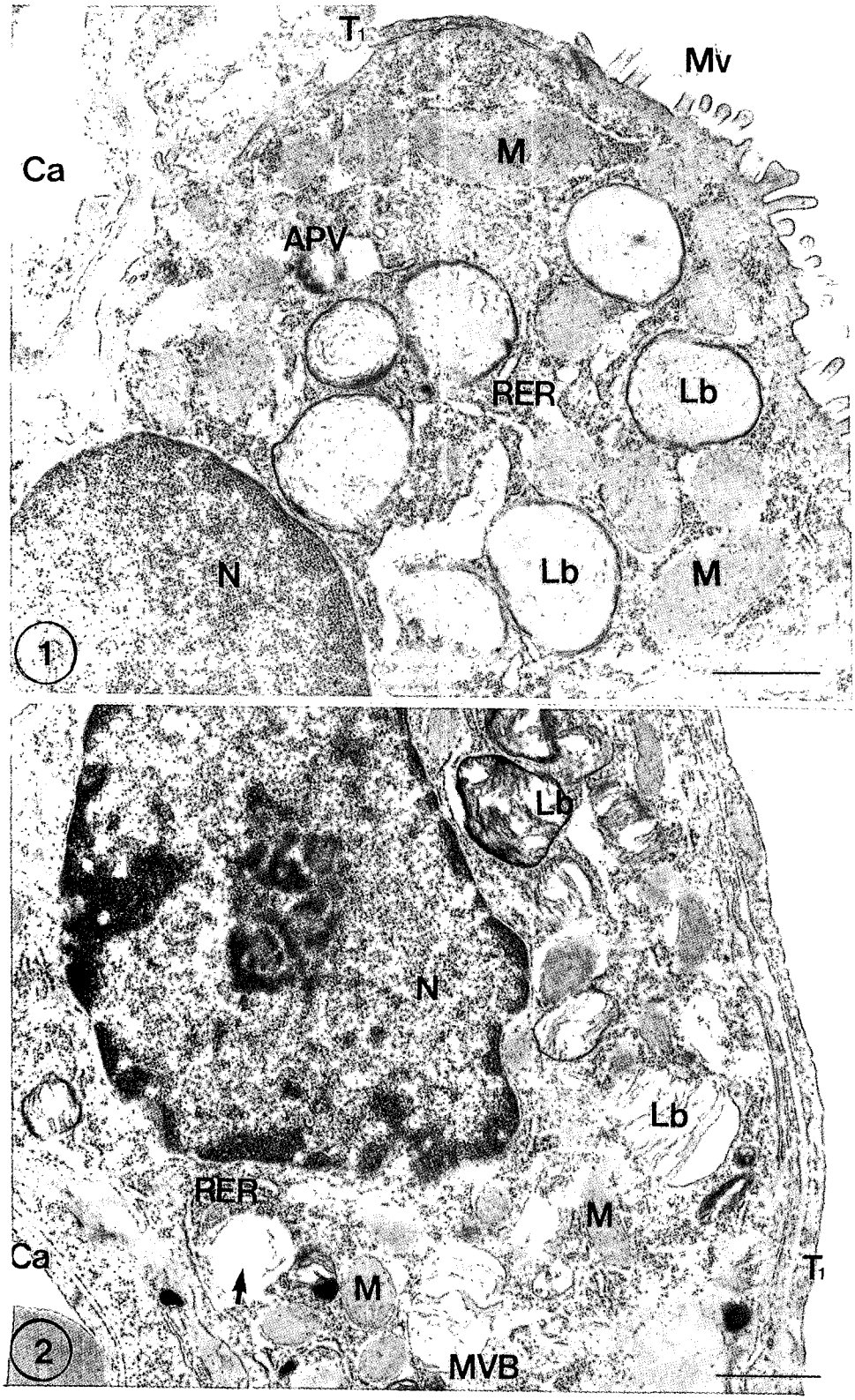
FIGURE LEGENDS

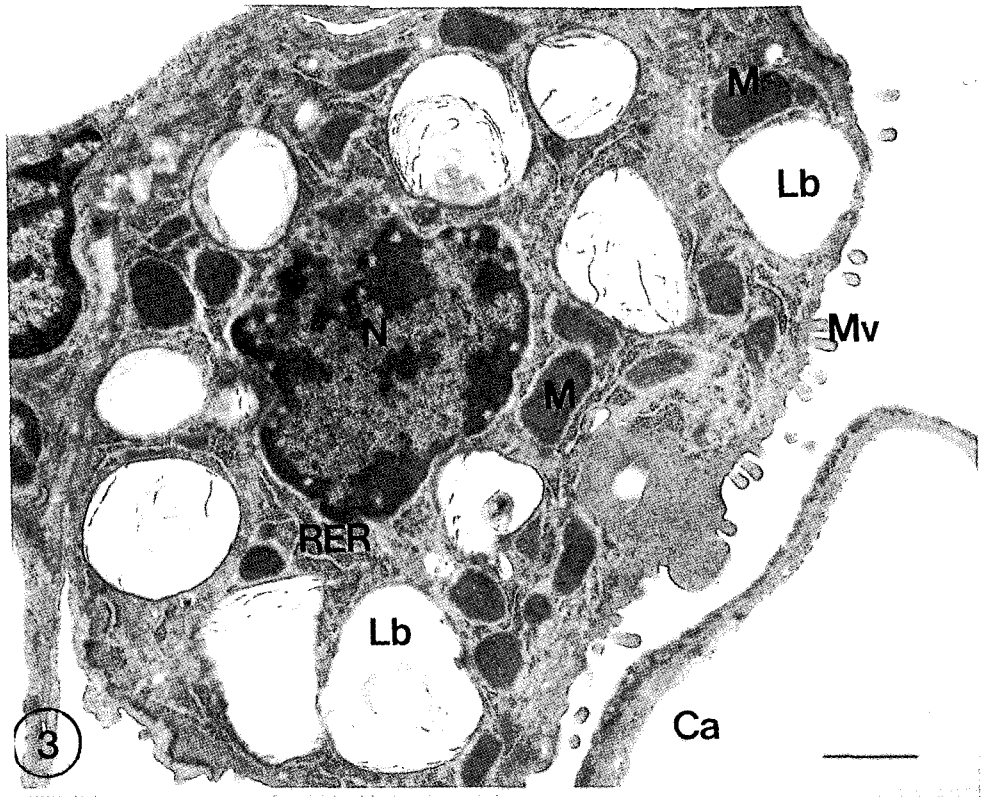
Fig. 1. An electron micrograph of type II pneumonocyte from control rat. Large nucleus (N), round lamellated bodies (Lb), elongated mitochondria (M), few autophagic vacuoles (Apv), scattered rough endoplasmic reticulum (RER), and blunt and short microvilli (Mv) are arranged on surface of the cell. At upper left corner, capillaries (Ca) and cytoplasm of type I pneumonocyte (T_1) are observed. ×18,000

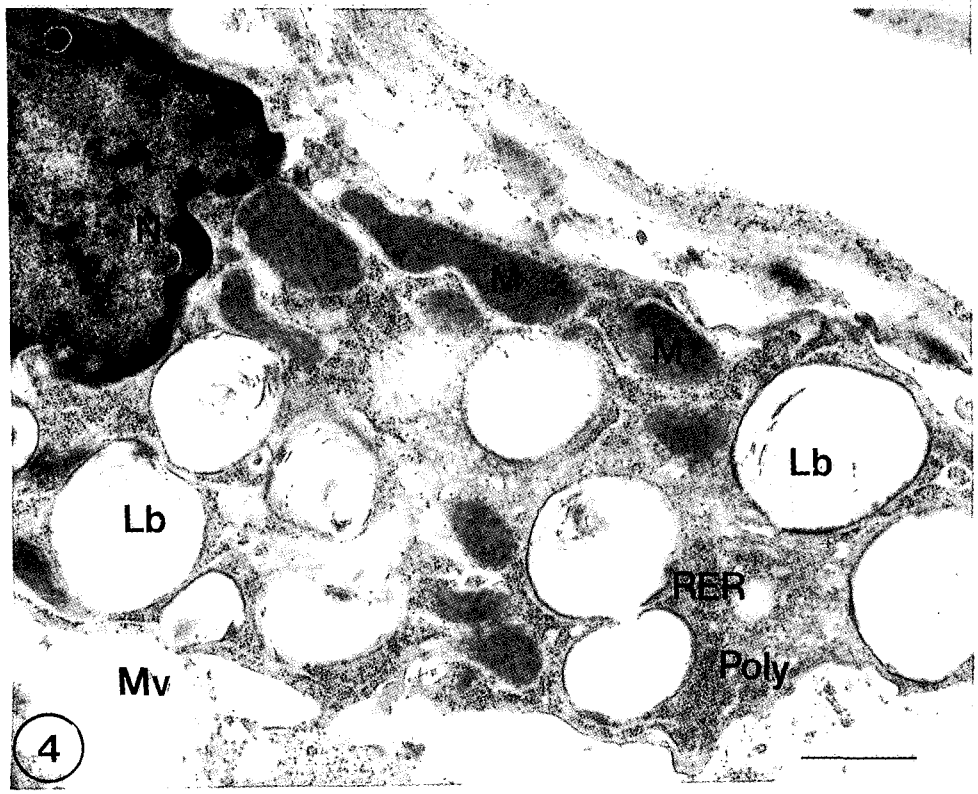
Fig. 2. An electron micrograph of type II pneumonocyte from the rat exposed to CS for 24hr. Nucleus (N) is intact, lamellated bodies (Lb) distributed in cytoplasm. Lamellated membranes are partly reduced or losed compact lamellation. Few lamellated bodies (arrow) shows no lamellation, a few multivesicular bodies (MVB) and intact rough endoplasmic reticulum (RER) are seen. Cristae of mitochondria (M) are not observed evidently. ×18,000

Fig. 3. An electron micrograph of rat type II pneumonocyte from the rat exposed to CS for 2 days. Irregular shaped nucleus (N) contained large amount heterochromatin in peripheral region. Lamellated structures of lamellar bodies (Lb) were decreased or reduced. The empty spaces of lamellated bodies are increased. Mitochondria (M) were shown electron dense matrix. Microvilli (Mv) were decreased. Rough endoplasmic reticulum (RER) were arranged arround mitochondria. ×14,400

Fig. 4. An electron micrograph of type II pneumonocyte from the rat exposed to CS for 4 days. Lamellated bodiés (Lb) contained loose regenerated lamellated membranes, mitochondria (M) and nucleus (N) were shown intact structures. Numerous free ribosomal granules (Poly) were seen over the cytoplasm. ×18,000


T1
Mv
M
Ca
APV
RER
Lb
N
Lb
M
1
Lb
N
Lb
RER
M
Ca
T1
M
2
MVB


M
Lb
N
Mv
M
RER
Lb
Ca
3


M
M
M
Lb
Lb
RER
Poly
Mv
4