J. Toxicol. Pub. Health
Vol. 14, No. 2, pp. 129-141, 1998

2-Bromopropane의 수컷 랫트를 이용한 4주간 반복 경구투여 아급성독성시험

이현숙 · 강부현 · 손화영 · 김희연 · 조영채* · 노정구
한국화학연구소 안전성연구센터, *충남대학교 의과대학 예방의학교실

A 4-Week Oral Toxicity Study of 2-Bromopropane in Sprague-Dawley Male Rats

Hyoun-Suk Lee, Boo-Hyon Kang, Hwa-Young Son, Hee-Youn Kim, Young-Chae Cho* and Jung-Koo Roh

Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-606, Korea
**Department of Preventive Medicine & Public Health, School of Medicine, Chungnam National University, Taejon 301-130, Korea*
(Received April 4, 1998)
(Accepted June 2, 1998)

***ABSTRACT** : Toxic effects of 2-bromopropane (2-BP) on the hematopoietic system and testis were investigated in male Sragues-Dawley (SD) rats. 80 male SD rats, 5 weeks old, were treated with 2-BP in corn oil at levels of 0, 100, 330 and 1,000 mg/kg/day for 4 weeks orally. 10 animals from each group were maintained for additional 8 weeks following the treatment. In addition, 60 male SD rats were divided into 2 groups and administered 2-BP in corn oil at levels of 0 and 1,000 mg/kg/day orally and sacrificed after 1, 2 and 3 weeks of treatment. Clinical observation, body weight changes, food consumption, organ weight changes, hematology, serum chemistry and histopathology of the testis were performed in the study. No clinical sign and mortality were observed in the study. The body weights were significantly reduced with the treatment but gradually recovered. The relative organ weights of the testis and thymus significantly decreased in both of the groups treated with 1,000 mg/kg/day for 3 and 4 weeks. In the recovery groups, organ weights of the testis and epididymis were significantly reduced in both of the groups treated with 330 and 1,000 mg/kg/day. Platelets and reticulocytes were significantly reduced in both of the group treated with 1,000 mg/kg/day for 3 and 4 weeks. While red blood cells were decreased but mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH) were increased in the recovery group. Significant increase of chloride was observed in all of the treatment groups except the recovery groups, and calcium was significantly increased in both of the groups treated with 1,000 mg/kg/day for 3 and 4 weeks. On the other hand, there were significant decreases in alanine aminotransferase (ALT) and aspatate aminotransferase (AST) in most of groups treated with 1,000 mg/kg/day. In the testis, the spermatogonia in stages I-VI were mostly depleted and the spermatocytes in stages VII-VIII were degenerated or necrotized at week 1 after treatment of 2-BP. The degeneration of germ cells and the atrophy of seminiferous tubules became more severe in time-dependent and dose-dependent manners. The damaged tubules showed regeneration in part, however, they did not appear to be completely recovered within 8 weeks of the recovery period. On the basis of the results, it is suggested that 2-BP would cause toxicities in hematopoiesis by possibly interfering the production of red blood cells and platelets and in spermatogenesis by the destruction of spermatogonia in SD male rats.*

***Key Words** : 2-Bromopropane, Spermatogenesis, Hematopoiesis, SD rat*

I. 서 론

현대사회가 도시화 산업화로 급속한 발전을 거듭하면서 인체에 유해한 화학물질의 사용은 날로 증가하고 있고 그로 인한 피해도 커지고 있다. 따라서 기존에 사용하고 있는 화학물질에 대한 영향평가 결과, 환경오염이나 인체에 미치는 피해가 큰 물질에 대해서는 그 대체물질을 개발하여 여러 산업장에서 이용하고 있다.

*To whom correspondence should be addressed

2-bromopropane(2-BP)은 전자제품 제조 및 조립공정 시 사용하는 침지액인 Solvent 5200의 주성분이 되는 유기용제로 1994년 2월 freon이 환경규제물질로 공표된 후 그 대체물질로 국내 산업체에서 수입하여 사용하고 있는 물질이다. 최근 경남 양산의 전자제품 조립공장에서 이 물질을 사용하는 근로자들 가운데 여성에서는 무월경 등의 난소기능저하증, 남성에서는 정자생성기능저하증 등의 생식기능장애를 보였으며, 이들 중 일부는 재생불량성 빈혈 등의 골수기능저하 소견을 함께 보였다(한국산업안전공단, 1995). 이와 같은 집단적인 건강장해 문제가 발생한 이후, 한국산업안전공단 산업보건연구원에서 실시한 역학조사 결과, 2-BP를 가장 유력한 원인물질로 추정하였고(한국산업안전공단, 1995), 2-BP의 유해성에 대한 관심이 고조되어 많은 독성연구가 진행되고 있다.

Solvent 5200의 집단적인 중독사건 이 후 시행된 최근의 연구에 의하면 2-BP는 포유류 배양세포에 대한 염색체 이상시험과 마우스를 이용한 소핵시험에서 음성의 결과를 나타냈으나, 전적혈구수당 다염성 적혈구의 비율에 있어서는 용매대조군에 비해 현저한 감소를 유발했음이 확인되었는데(Maeng 등, 1997; 한국화학연구소, 1995-1), 이것은 2-BP가 골수에서의 적혈구 생성과정에 다소 영향을 주고 있음을 시사한다. 또한 살모넬라균을 이용한 복귀 돌연변이시험에서는 양성의 결과를 나타냄으로서 2-BP가 살모넬라균주에 있어서 염기쌍 치환형의 돌연변이를 유발함을 확인하였다(한국화학연구소, 1995-2). 2-BP의 복강내 반복투여시험(Ichihara 등, 1997)과 흡입독성시험(Yu 등, 1997) 결과, 2-BP의 표적장기가 고환이며 조혈기관에도 영향이 있음이 보고되었다. 암컷 랫트를 이용한 복강내 반복투여시험에서 2-BP는 생식주기를 용량상관성있게 지연시켰는데, 이것은 2-BP가 여성근로자들에게 월경불순을 유발할 수 있음을 뒷받침하고 있다(Lim 등, 1997).

Alkylating agent중 2-BP와 구조가 비슷한 1,2-dibromo-3-chloro-propane(DBCP)은 할로겐 프로판 가운데 가장 강력한 독성을 일으키고 있는 것으로 알려져 있다(Lag 등, 1991). DBCP에 노출된 사람들에게서 무정자증, 정액결핍증, 정자수감소 등의 생식기능 이상으로 인한 불임이 여러 차례 보고되었으며(Potashnik 등, 1978; Whorton 등, 1977; Potashnik 등, 1979; Whorton 등, 1977), 랫트, 기니픽, 토끼, 원숭이 등의 포유동물을 이용한 독성실험에서 체중감소, 고환무게 감소, 정자수 감소 등 사람에게 노출되었을 때와 유사한 독성증상이 확인되었고, 암컷 원숭이에서는 DBCP에 노출되어 쇠약해진 상태에서 2차 감염을 일으켰으며, 그 결과로 재생불량성 빈혈과 같은 혈액학적 변화를 유발하였다고 보고되었다(Torkelson 등, 1961). 그 외에도 DBCP는 랫트에서 신장 및 간장에 독성을 나타낸다고 보고되었으며(Lag 등, 1991; Kluwe 등, 1981), 만성시험 결과 랫트와 마우스에서 신장, 위 및 간장의 종양 발생빈도가 증가함으로써 DBCP는 발암성이 매우 높은 것으로 분류되어 있다(Olson 등, 1975; Ward 등, 1974). 2-BP의 또 다른 유사물질인 isopropyl methanesulfonate(IPMS)도 마우스에서 흉선 및 골수의 혈구생성억제로 인한 세포분포의 감소와 순환혈구수의 감소를 야기하였다고 보고되었다(Snyder 등, 1987).

이상에서 살펴본 바와 같이, 2-BP와 그 유사물질들은 주로 조혈기와 생식기에 손상을 일으키며, 일부 물질은 발암성이 있는 것으로 보고되어 있다. 그러나 2-BP의 독성시험 자료는 대부분 단기간의 시험을 통해 얻어진 것으로서 아급성 또는 만성시험을 통한 변화를 확인하는 것이 필요한 실정이다. 따라서 본 실험은 2-BP를 Sprague-Dawley 수컷 랫트에 4주간 반복 경구투여하여 2-BP의 노출에 의해 야기되는 일반적인 변화와 조혈기능 장애 및 고환의 정자형성과정에서 일으키는 변화를 규명하기 위하여 실시되었다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

시험물질로 사용한 2-BP[CAS 00075-26-3, $(CH_3)_2$ CHBr; Aldrich Chemical Co., USA]는 순도 99% 이상의 것으로 옥수수기름(corn oil, Sigma Chemical Co., USA)과 혼합하여 사용하였다.

2. 공시동물 및 사육환경

Sprague Dawley 계통의 특정 병원체 부재(specific pathogen free; SPF)의 수컷 랫트 4주령 170 마리를 한국화학연구소 안전성연구센터에서 입수하여 실험실에서 1주일간 순화시키고, 순화기간 중 일반상태를 관찰하여 건강한 동물 140마리를 실험에 사용하였다. 실험은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10~20회/시간, 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시), 조도 150~300 룩스의 사육환경에서 실시하였으며, 스테인레스제 망사육상자(220 W×410 L×200H mm)에 사육상자당 3마리 이하로 사육하였다. 사료는 실험동물용 고형사료((주)제일사료 : 대전)를 방사선 조사(라듐 2.0 Mrad) 멸균하여 자유섭취시켰으며, 물은 상수도 물

을 자외선 살균기로 소독시킨 후 자유섭취시켰다.

3. 투여농도 및 시험군의 구성

투여농도는 Solvent 5200의 급성독성 시험결과 LD_{50} 값이 5,000 mg/kg 정도로 추정되었고(한국화학연구소, 1995-3), Registry of Toxic Effects of Chemical Substances(RTECS)에 의하면 4,839 mg/kg 으로 보고되어 있어(NOISH, 1995) 2-BP의 LD_{50}값을 5,000 mg/kg 정도로 예상하고 이것의 일반독성이 저독성임을 고려하여 일반적인 아급성 반복 경구투여 독성시험에서의 한계용량(OECD guidelines, 1981)인 1,000 mg/kg/day 를 최고농도로 하고 공비 3.3을 두어 저농도와 중간농도를 설정하였고, 시험물질의 매체인 옥수수기름을 투여하는 매체대조군을 설정하였다. 각 군마다 1, 2, 3 및 4주 투여군과 8주 회복군으로 구분하여 각 군당 10 마리씩 무작위법을 이용하여 배치하였다. 단, 1, 2 및 3주 투여군에는 예비시험 결과 저농도와 중간농도에서 시험물질 투여로 인한 특별한 증상이 발견되지 않음에 따라 매체대조군과 최고농도군만을 설정하였으며, 회복시험은 2-BP를 28일간 투여 후 랫트의 정자형성주기와 유사한 8주간의 회복기간을 두는 것으로 하였다(Table 1).

시험물질은 매일 아침 옥수수기름에 2-BP를 각 농도별로 혼합하여 조제하였으며, 인체 노출경로 중 하나인 경구로 경구투여용 바늘을 사용하여 매일 1회씩 28일간 반복 투여하였다. 투여액량은 10 ml/kg/day로 하여 투여시기로부터 근접한 시기의 체중자료를 기초로 투여하였다.

4. 임상관찰과 체중 및 사료섭취량 측정

시험기간 중 모든 동물에 대하여 매일 1회 이상 일반상태, 중독증상 및 사망 유무를 관찰하였다. 체중은 모든 동물에 대하여 투여개시 직전 1회, 이후 4주까지 주 2회, 그 이후에는 주 1회의 빈도로 측정하였다. 사료섭취량은 사육상자별로 체중측정일에 정량을 급여하고 익일에 잔량을 측정하여 평균사료섭취량(g/rat/day)을 계산하였다.

Table 1. Experimental design of a 4 weeks toxicity study of 2-bromopropane[a]

Dose (mg/kg/day)	Number of rats sacrificed at the end of experimental periods (week)					
	1	2	3	4	12[b]	Total
VC[c]	10	10	10	10	10	50
100	-	-	-	10	10	20
330	-	-	-	10	10	20
1000	10	10	10	10	10	50

[a]2-bromopropane was administered orally to rats once daily for 28 days, followed by a recovery period of 8 weeks
[b]At the end of eight-week recovery period
[c]Vehicle control (VC) was treated with corn oil.

5. 표본채취 및 장기중량 측정

모든 동물에 대하여 12시간 이상 절식시킨 후, 에테르 마취하에 후대정맥에서 혈액을 채취하였다. 채혈한 혈액의 일부는 EDTA-2K 처리된 CBC 채혈병(녹십자)에 넣어 응고를 방지하였고, 나머지는 혈액생화학적 검사를 위해 혈청분리관에 옮겨 담았다. 채혈한 동물은 복대동맥을 절단하여 방혈시킨 후, 육안적 장기검사를 실시하였다. 장기중량의 변화를 관찰하기 위해서 투여개시 1, 2, 3 및 4주와 투여종료 8주 후에 부검직전 모든 동물의 체중을 측정하고 고환, 부고환, 비장, 흉선, 부신, 간장 그리고 신장을 적출하여 중량을 측정하였으며, 체중에 대한 상대중량을 산출하였다.

6. 혈액학적 및 혈액생화학적 검사

혈액학적 검사는 채혈 후 20분 이내에 자동혈구계측장치(Coulter counter, Mod.T540, Coulter Electronics, U.S.A.)를 사용하여 백혈구수(white blood cell count; WBC), 적혈구수(red blood cell count; RBC), 헤모글로빈 농도(hemoglobin concentration; Hgb), 헤마토크리트(hematocrit; Hct), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume; MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin; MCH), 적혈구평균혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC), 혈소판수(platelet count; Plt)를 측정하였다. 망상적혈구수 검사는 혈액검사 실시 후, 여분의 혈액으로 new methylene blue 염색액을 이용하여 초생체 염색을 실시하고 슬라이드글라스에 도말하여 메타놀 고정 후 다시 Wright 염색을 실시하였다(Humason GL, 1979). 슬라이드를 광학현미경으로 1,000배의 배율에서 관찰하고, 결과는 적혈구 1,000개당 출현하는 망상적혈구수로 표시하였다. 혈액생화학적 검사는 채혈 후 10~30분간 실온에 방치 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 혈청으로 자동분석기(Shimadzu CL-7200, Shimadzu Co., Japan)를 이용하여 아스파테이트 아미노트란스페라제(aspartate aminotransferase; AST), 알라닌 아미노트란스페라제(alanine aminotransferase; ALT), 알카라인 포스파타제(alkaline phosphatase; ALP), 요소질소(blood urea nitrogen; BUN), 크레아티닌(creatinine; CREA), 글

루코스(glucose; GLU), 총콜레스테롤(total cholesterol; TCHO), 총빌리루빈(total bilirubin; TBIL), 총단백질(total protein; TP), 알부민(albumin; ALB), 알부민 글로부린비(albumin globulin ratio; A/G), 크레아틴 포스포키나제(creatine phosphokinase; CPK), 중성지방(triglyceride; TG), 칼슘(calcium; Ca), 무기인(inorganic phosphorus; IP), 인지질(phospholipid; PL)을 측정하였고, 전해질 자동분석장치(Na, K, Cl analyzer, Mod. 644, Ciba-Corning, Germany)를 이용하여 나트륨(sodium; Na), 칼륨(potassium; K), 염소(chloride; Cl)를 측정하였다.

7. 고환의 병리조직학적 검사

장기중량을 측정한 장기 중 고환을 취하여 Bouin액에 고정하였다. 충분히 고정된 고환을 조직처리과정에 따라 처리한 후, 파라핀으로 포매하고 microtome(microtome 820 Mark II, Reichert-Jung, Germany)을 이용하여 5 μm 두께로 박절한 다음 Hematoxylin & Eosin(HE) 염색을 하여 광학현미경을 이용하여 관찰하였다. 또한 정자생성단계의 구분을 용이하게 하기 위하여 periodic acid Schiff(PAS) 염색(Humason GL, 1979)을 추가로 실시하였다. 고환의 정세관은 이것을 구성하고 있는 정세포의 종류에 따라 I기(stage)에서 XIV기까지 구분되는데, 독성물질에 따라 정세관을 구성하는 세포가 부분적으로 영향을 받을 수 있다. 따라서 고환에 대한 병리조직학적 소견에서는 2-BP의 투여에 의해 각 기에서 유발되는 정세포의 변성과정을 구체적으로 관찰하였다.

8. 통계처리

시험결과 자료에 대한 통계분석은 다중비교검정법을 실시하였다. 체중, 사료섭취량, 장기중량, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사에 대하여 일원배치분산분석(ANOVA test)을 유의수준 α=0.05로 검정하였다. 검정결과 유의한 결과가 나타날 경우에는 매체대조군과 투여군간에 차이가 있는지를 검사하기 위하여 다중비교법인 Dunnett's test를 실시하였다. 검정의 위험율은 5% 및 1%로 정하였다.

III. 결 과

1. 임상관찰과 체중 및 사료섭취량

모든 시험군에서 특별한 증상은 관찰되지 않았고, 전 시험기간동안 사망동물도 관찰되지 않았다. 체중은

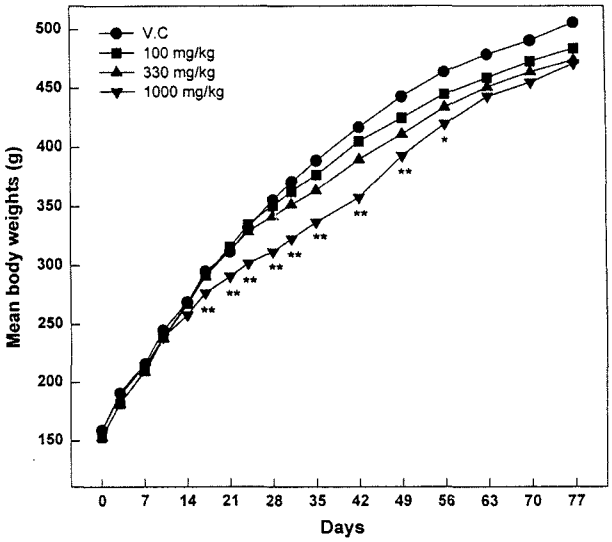

Fig. 1. Body weight changes of SD male rats administered orally with 2-bromopropane. An asterisk indicaes the value signigicantly different from the vehicle control (V.C) at $p<0.05$(*) or $p<0.01$(**).

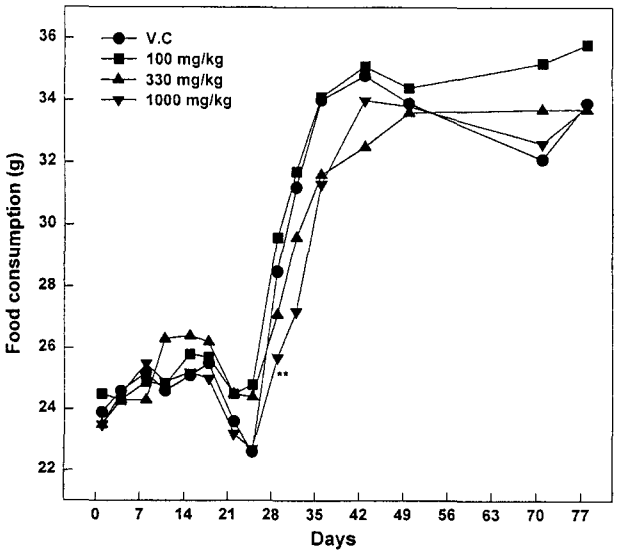

Fig. 2. Food consumption of SD male rats administered orally with 2-bromopropane. An asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control (V.C) at $p<0.01$(**).

투여 17일 이후부터 통계적으로 유의한 증가억제가 관찰되었다. 그러나 투여 종료 후 점차 체중을 회복하여 투여종료 35일 이후에는 유의성이 나타나지 않았다(Fig.1). 사료섭취량은 1,000 mg/kg/day 투여군에서 투여시작 31일째에 통계적으로 유의한 감소를 나타냈으나 그 외에는 대조군과 차이가 없었다(Fig. 2).

2. 장기중량

절대장기중량의 변화에서 1주 부검군에서는 모든 장

기에서 아무런 변화를 관찰할 수 없었다. 2주 부검군에서는 1,000 mg/kg/day 투여군의 고환, 비장 및 흉선의 중량이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였다. 3주 부검군에서는 1,000 mg/kg/day 투여군의 고환 및 흉선의 중량이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였다. 4주 부검군에서는 고환, 비장 및 흉선의 중량이 100과 330 mg/kg/day 투여군에서는 대조군과 비교하여 통계적 유의성이 관찰되지 않았으나 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였다. 회복군에서는 고환 부고환 및 비장의 중량이 용량상관성있게 감소하였다. 부검시 체중은 1 및 2주 부검군에서는 대조군과 차이가 나타나지 않았고, 3 및 4주 부검군에서는 100과 330 mg/kg/day 투여군은 대조군과 차이가 나타나지 않았으나 1,000 mg/kg/day 투여군은 대조군에 비해 통계적으로 유의한 증가억제가 관찰되었다. 부신, 간장 및 신장의 중량은 어떤 투여군에서도 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 변화가 관찰되지 않았다(Table 2).

상대장기중량 변화는 1주 부검군에서는 1,000 mg/kg/day 투여군의 고환중량이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였다. 2주 부검군에서는 1,000 mg/kg/day 투여군의 흉선중량이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였다. 3주 부검군에서는 1,000 mg/kg/day 투여군의 고환 및 흉선의 중량이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였다. 4주 부검군에서는 고환 및 흉선의 중량이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였고, 부신, 간장 및 신장의 중량은 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다(Table 3).

Table 2. Body and absolute organ weight (g) of male rats treated orally with 2-bromopropane.

Week	Dose (mg/kg/day)	Body weight	Testis	Epididymis	Spleen	Thymus	Adrenal gland	Liver	Kidney
1	VC	195±16.2	2.10±0.27	0.28±0.06	0.52±0.10	0.61±0.15	0.038±0.005	6.51±0.60	1.81±0.10
	1000	196±14.4	1.88±0.34	0.29±0.02	0.46±0.05	0.56±0.17	0.038±0.006	6.63±0.50	1.76±0.25
2	VC	244±23.1	2.54±0.22	0.43±0.04	0.53±0.08	0.58±0.13	0.041±0.007	8.28±1.00	2.20±0.55
	1000	234±12.5	2.29±0.14**	0.43±0.05	0.46±0.06*	0.41±0.08**	0.042±0.006	8.10±0.72	2.02±0.15
3	VC	297±30.9	2.92±0.29	0.58±0.06	0.55±0.08	0.61±0.10	0.043±0.008	9.56±1.90	2.29±0.31
	1000	267±25.1*	2.08±0.16**	0.55±0.06	0.48±0.07	0.34±0.10**	0.044±0.006	9.32±1.76	2.13±0.29
4	VC	320±20.6	2.80±0.57	0.68±0.11	0.56±0.05	0.60±0.11	0.043±0.008	10.13±1.27	2.32±0.14
	100	332±20.1	2.83±0.45	0.73±0.09	0.57±0.08	0.54±0.11	0.044±0.008	10.57±0.71	2.38±0.27
	330	324±24.7	2.67±0.21	0.73±0.07	0.57±0.07	0.52±0.10	0.048±0.005	10.48±1.33	2.29±0.24
	1000	291±17.2*	1.75±0.19**	0.65±0.06	0.48±0.07*	0.25±0.05**	0.046±0.006	10.23±0.83	2.30±0.20
12	VC	490±33.2	3.49±0.15	1.33±0.08	0.82±0.10	0.30±0.05	0.045±0.012	13.80±1.60	2.88±0.23
	100	471±49.8	3.28±0.17	1.28±0.09	0.77±0.12	0.27±0.05	0.053±0.006	12.63±1.84	2.73±0.20
	330	462±41.2	2.82±0.35**	0.96±0.11**	0.72±0.08	0.28±0.09	0.047±0.007	12.51±1.42	2.80±0.50
	1000	458±45.8	1.05±0.12**	0.65±0.09**	0.67±0.04**	0.35±0.10	0.044±0.013	12.69±1.71	2.74±0.30

Each value represents the mean±SD of ten animals.
An asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control (VC) at $p<0.05$(*) or $p<0.01$(**).

Table 3. Relative organ weight (g) of male rats treated orally with 2-bromopropane

Week	Dose (mg/kg/day)	Testis	Epididymis	Spleen	Thymus	Adernal gland	Liver	Kidney
1	VC	1.08±0.11	0.15±0.03	0.27±0.05	0.31±0.075	0.020±0.002	3.34±0.18	0.93±0.04
	1000	0.95±0.15*	0.15±0.01	0.24±0.03	0.28±0.079	0.020±0.003	3.38±0.12	0.90±0.11
2	VC	1.05±0.12	0.18±0.01	0.22±0.03	0.24±0.059	0.017±0.003	3.39±0.12	0.90±0.18
	1000	0.98±0.08	0.18±0.02	0.20±0.03	0.18±0.042*	0.018±0.002	3.46±0.23	0.87±0.08
3	VC	0.99±0.07	0.20±0.01	0.18±0.02	0.21±0.042	0.014±0.002	3.19±0.34	0.77±0.06
	1000	0.78±0.06**	0.21±0.03	0.18±0.02	0.13±0.042**	0.017±0.001**	3.47±0.34	0.80±0.08
4	VC	0.87±0.16	0.21±0.03	0.18±0.02	0.19±0.044	0.013±0.003	3.16±0.25	0.73±0.03
	100	0.85±0.11	0.22±0.02	0.17±0.02	0.16±0.029	0.013±0.002	3.19±0.14	0.72±0.07
	330	0.83±0.09	0.23±0.03	0.17±0.02	0.16±0.031	0.015±0.001	3.26±0.20	0.71±0.06
	1000	0.60±0.06**	0.22±0.02	0.17±0.02	0.09±0.020**	0.016±0.002*	3.51±0.12**	0.79±0.04*
12	VC	0.71±0.04	0.27±0.03	0.17±0.02	0.06±0.009	0.009±0.002	2.81±0.17	0.59±0.07
	100	0.70±0.07	0.27±0.04	0.16±0.03	0.06±0.013	0.011±0.002	2.68±0.18	0.58±0.09
	330	0.61±0.08**	0.21±0.02**	0.16±0.01	0.06±0.018	0.010±0.001	2.70±0.09	0.60±0.09
	1000	0.23±0.03**	0.14±0.02**	0.15±0.02	0.08±0.020	0.010±0.002	2.77±0.14	0.60±0.09

Each value represents the mean±SD of ten animals.
An asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control (VC) at $p<0.05$(*) or $p<0.01$(**).

Table 4. Hematological values of male rats treated orally with 2-bromopropane

Week	Dose (mg/kg/day)	PLT $\times 10^3/mm^3$	Reticulocyte Ret.#/1000	WBC $\times 10^3/mm^3$	RBC $\times 10^6/mm^3$	MCH pg	MCV fl	Hgb g/dl	Hct %	MCHC %
1	VC	1221±105	50±13	9.5±3	6.2±0.3	22.7±0.8	66±1.7	14.1±0.5	41.1±1.3	34.3±0.5
	1000	1152± 74	48±11	8.7±2	6.2±0.2	22.4±0.6	65±1.3	13.8±0.5	40.0±1.8	34.6±0.8
2	VC	1075± 89	30± 4	10.2±2	6.5±0.4	22.6±0.6	64±1.7	14.8±1.0	41.6±2.7	35.5±0.3
	1000	1126± 96	28± 8	9.1±1	6.7±0.3	22.2±0.8	62±2.0	14.8±0.5	41.6±1.4	35.6±0.3
3	VC	1130± 93	21± 8	13.7±3	6.9±0.2	21.8±0.7	62±2.0	15.1±0.5	42.8±1.6	35.2±0.8
	1000	846±107**	13± 5*	9.5±2**	7.1±0.3	21.6±0.6	61±1.7	15.2±0.4	43.0±1.0	35.3±0.6
4	VC	973± 94	15± 6	12.3±3	7.2±0.4	20.9±0.9	60±1.0	15.1±0.7	43.3±2.2	34.8±1.4
	100	972±136	16± 5	13.5±5	7.2±0.4	21.5±0.7	61±1.7	15.4±0.6	43.8±2.3	35.2±1.2
	330	947±123	13± 5	13.7±4	7.2±0.4	21.5±0.7	60±1.3	15.4±0.4	43.2±2.0	35.6±1.2
	1000	624±231**	6± 2**	9.2±3	7.1±0.6	21.5±0.9	60±1.5	15.2±0.8	42.5±3.0	35.7±1.01
12	VC	1046±100	18± 8	10.6±3	8.2±0.3	18.7±0.5	54±1.8	15.3±0.6	44.1±1.4	34.7±0.8
	100	1003± 85	21±10	10.6±1	8.3±0.3	18.3±0.5	52±1.4	15.1±0.5	43.2±1.7	35.0±0.6
	330	1018± 52	19± 7	10.3±3	8.0±0.4	19.2±0.7	55±2.4	15.4±0.3	43.9±0.8	35.0±0.5
	1000	978±130	14± 5	11.1±3	7.5±0.4**	20.2±1.3**	58±2.7**	15.2±0.3	43.4±0.8	34.9±0.4

Each value represents the mean±SD of ten animals.
An asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control (VC) at $p<0.05$(*) or $p<0.01$(**).

3. 혈액학적 및 혈액생화학적 검사

혈액학적 검사에서 1 및 2주 부검군에서는 어떤 항목에서도 대조군과 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 3주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 백혈구수, 혈소판수, 망상적혈구수가 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였고, 그 외의 항목에서는 변화가 관찰되지 않았다. 4주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 혈소판수와 망상적혈구수가 대조군에 비해 통계적으로 유의한 감소를 보였고, 백혈구수는 감소경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. 그 외의 항목에서는 3주와 마찬가지로 변화가 관찰되지 않았다. 회복군에서는 1,000 mg/kg/day 투여군에서 적혈구수 감소와 MCV 및 MCH 증가가 대조군과 통계적으로 유의하게 변화되었다. 그러나 백혈구수, 혈소판수, 망상적혈구수를 비롯한 그 외의 항목에서는 대조군과 통계적으로 유의한 변화가 관찰되지 않았다 (Table 4).

혈액생화학적 검사에서는 1주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서 ALT와 BUN 감소 및 Cl 증가가 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보였고, 그 외의 항목에서는 통계적으로 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 2주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 ALT 감소 및 TP, ALB, Cl 증가가 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보였고, 그 외의 항목에서는 변화가 관찰되지 않았다. 1,000 mg/kg/day 을 3주간 투여한 군에서는 ALT와 ALP 감소 및 Ca과 Cl 증가가 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 나타냈고, 그 외의 항목에서는 변화가 관찰되지 않았다. 4주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 TCHO 감소 및 Ca과 Cl 증가가 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보였고, 그 외의 항목에서는 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 회복군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 ALT가 여전히 대조군에 비해 통계적으로 유의한 감소를 보였으나, 그 외의 항목에서는 아무런 변화도 관찰되지 않았다 (Table 5).

4. 고환의 병리조직학적 검사(Table 6)

부검시 육안소견은 4 및 12주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서만 고환위축이 관찰되었고 그 외에서는 특별한 소견이 관찰되지 않았다.

1주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 대조군 (Fig. 3)과 달리 10마리 모두에서 I-VI기의 정세관에서 정조세포(spermatogonia)가 대부분 소실되어 비후기 (pachytene)의 정모세포(spermatocyte)가 기저막 가까이에 위치해 있었다(Fig. 4). 일부 정세관에서 소수의 정조세포가 관찰되었으나 대부분 변성 또는 괴사 소견을 보였으며, VII-IX기의 정세관에서는 일부 정모세포가 변성 또는 괴사를 나타내었다. 변성된 정세포는 핵이 진하게 염색되거나 분해되어 파편으로 나타났으며, 세포질은 호산성으로 염색되고 종창되어 정상세포보다 크게 나타났다. 변성된 세포는 Sertoli 세포로부터 분리되어 주위에 빈 공간이 형성되어 있었다. 또한 VII-VIII기의 정세관에서는 세사전기(preleptotene)의 정모세포가 소실되어 비후기 정모세포들이 기저층에 위치하고 있었다. X-XIV기의 정세관에서는 정상소견을 나타내었으며, 정자세포(spermatid)의 변성은 관찰되지 않았다.

2주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 10마리

Table 5. Serum biochemical values of male rats treated orally with 2-bromopropane

Week	Dose (mg/kg/day)	Cl mmol/L	CA mg/dl	AST IU/L	ALT IU/L	ALP (IU/L)	BUN (mg/dl)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	A/G	CREA (mg/dl)
1	VC	104±1.5	9.6±0.3	122±27	38±4	557± 84.9	11.6±2.68	5.4±0.22	4.1±0.15	3.0±0.24	0.4±0.04
	1,000	109±1.1**	10.0±0.4	101±21	32±4**	540± 43.8	9.0±1.	5.4±0.18	4.0±0.07	3.0±0.28	0.4±0.06
2	VC	103±1.0	10.0±0.5	115±20	33±6	505± 73.9	10.0±2.41	5.5±0.22	4.1±0.14	2.7±0.23	0.5±0.04
	1,000	112±2.6**	10.1±0.4	104±27	27±4*	443± 74.7	10.2±1.39	5.8±0.19*	4.2±0.10*	2.6±0.19	0.5±0.09
3	VC	103±1.2	9.6±0.3	119±40	39±6	443± 41.3	11.4±1.39	5.7±0.19	4.1±0.08	2.6±0.24	0.5±0.11
	1,000	113±2.6**	10.0±0.3*	111±25	30±4**	363± 49.4**	11.7±2.27	5.8±0.15	4.2±0.06	2.6±0.22	0.5±0.07
4	VC	102±3.5	10.0±0.4	121±32	43±16	471±151.0	13.1±2.76	6.0±0.21	4.2±0.10	2.3±0.21	0.5±0.06
	100	107±2.0**	10.2±0.7	114±38	48±19	522±165.3	12.7±2.64	6.1±0.17	4.2±0.14	2.2±0.16	0.5±0.09
	330	111±1.5**	10.2±0.5	119±37	43±16	484±167.7	12.7±2.37	6.0±0.21	4.2±0.09	2.4±0.22	0.5±0.04
	1,000	119±3.3**	10.5±0.6*	103±29	35±10	398±106.4	13.4±2.41	6.1±0.36	4.3±0.17	2.3±0.18	0.5±0.03
12	VC	108±1.4	9.6±0.2	132±43	49±8	223± 57.3	17.4±1.78	6.6±0.16	4.2±0.13	1.7±0.15	0.5±0.07
	100	108±0.9	9.5±0.2	132±34	42±5*	217± 51.9	16.3±1.87	6.5±0.22	4.2±0.12	1.8±0.19	0.5±0.08
	330	108±1.2	9.5±0.2	132±31	42±6	218± 41.5	16.6±1.48	6.4±0.15	4.2±0.09	1.9±0.06	0.6±0.06
	1,000	108±1.5	9.4±0.1	124±38	38±6**	190± 41.7	17.6±2.30	6.4±0.14	4.1±0.10	1.9±0.15	0.6±0.08

Week	Dose (mg/kg/day)	TBIL (mg/dl)	IP (mg/dl)	PL-E (mg/dl)	TG (mg/dl)	CPK (IU/L)	GLU (mg/dl)	TCHO (mg/dl)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)
1	VC	0.07±0.018	9.8±1.03	128±11.8	86.4±34.06	305±134.6	115±25.5	81.4±13.17	143±1.85	5.1±0.74
	1,000	0.06±0.017	9.5±0.74	128±13.1	98.2±12.49	213± 98.2	112±10.6	77.5±10.92	143±1.48	5.0±0.46
2	VC	0.06±0.016	9.6±1.11	128±15.7	115.3±35.41	292±145.9	130±21.3	70.5±11.68	144±1.15	5.7±1.13
	1,000	0.05±0.009	9.4±0.78	119±13.9	97.2±37.31	270±131.0	130±22.3	65.3±10.03	144±1.33	5.1±0.44
3	VC	0.05±0.008	8.4±0.66	123±13.4	99.0±35.68	297±165.2	121±21.1	70.7± 9.31	143±0.92	4.9±0.25
	1,000	0.05±0.010	8.6±0.45	113±12.9	85.1±33.06	267±108.3	122±16.7	64.0± 8.28	143±0.97	4.7±0.38
4	VC	0.05±0.011	8.7±0.68	133±26.4	83.7±36.52	332±166.3	155±26.4	73.7±14.29	142±3.81	5.1±0.48
	100	0.05±0.011	8.6±0.71	134±21.7	91.3±39.46	260±153.9	170±58.5	69.4± 8.97	143±2.12	5.3±0.60
	330	0.05±0.009	8.5±0.81	135±23.2	84.9±45.49	266±157.6	143±21.7	71.8± 9.22	143±1.35	4.9±0.35
	1,000	0.06±0.016	8.4±0.77	122±21.5	64.4±34.01	210±144.1	166±38.8	63.8±10.76*	144±1.13	4.8±0.49
12	VC	0.08±0.015	7.7±0.81	145±23.6	90.7±41.74	358±187.9	158±21.7	81.8±18.77	146±1.07	5.4±0.96
	100	0.09±0.010	7.4±0.57	135±19.7	72.8±47.23	352±185.3	152±18.9	76.6±14.75	146±0.94	5.1±0.54
	330	0.09±0.009	7.5±0.49	150±16.4	84.9±57.13	380±188.2	160±11.2	86.3±14.54	146±0.88	5.5±0.61
	1,000	0.08±0.016	7.3±0.79	144±21.0	82.3±28.55	330±184.0	157±22.8	79.0±16.86	146±1.10	5.1±0.53

Each value represents the mean±SD of ten animals.
An asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control (VC) at $p<0.05$(*) or $p<0.01$(**).

Table 6. Histopathological changes of testis in rats treated orally with 2-bromopropane

Week	1		2		3	
Dose (mg/kg/day)	VC	1,000	VC	1,000	VC	1,000
Testis						
Degeneration, germ cell	0/10[a]	10/10	0/10	10/10	0/10	10/10
Regeneration, germ cell	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Delayed spermiation	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Testicular atrophy						
Depletion of spermatogonia	0/10	10/10	0/10	10/10	0/10	10/10
Depletion of spermatocyte	0/10	0/10	0/10	10/10	0/10	10/10
Depletion of round spermatid	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Depletion of elongate spermatid	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

Week	4				12			
Dose (mg/kg/day)	VC	100	330	1,000	VC	100	330	1,000
Testis								
Degeneration, germ cell	0/10	2/10	1/10	8/10	0/10	0/10	0/10	4/10
Regeneration, germ cell	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	4/10
Delayed spermiation	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	9/10	0/10
Testicular atrophy								
Depletion of spermatogonia	0/10	1/10	1/10	10/10	0/10	0/10	0/10	10/10
Depletion of spermatocyte	0/10	1/10	1/10	10/10	0/10	0/10	0/10	10/10
Depletion of round spermatid	0/10	1/10	0/10	10/10	0/10	0/10	0/10	10/10
Depletion of elongate spermatid	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	10/10

[a]Incidences are represented as the number of animals exhibiting the lesion over the number of animals examined.

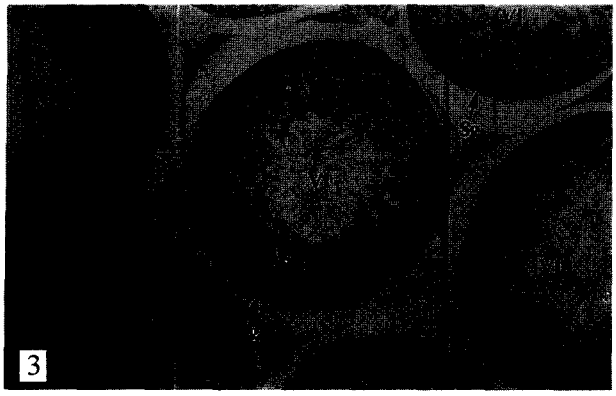

Fig. 3. *Testis*; 6 week old male SD rat from the control group. Normal seminiferous tubules in various stages. Sg; spermatogonia, Ps; pachytene spermatocyte. H-E, bar=40 μm.

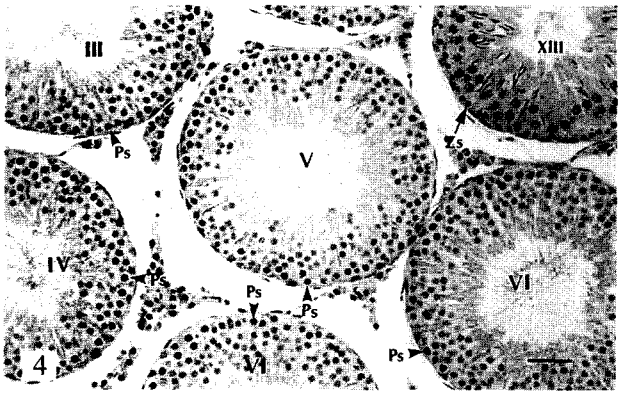

Fig. 4. Testis; 6 week old male SD rat treated orally with 1000 mg/kg/day of 2-bromopropane for 1 week. Seminiferous tubules show depletion of spermatogonia in stages III-VI. Ps; pachytene spermatocytes, Zs; zygotene spermatocytes. H-E, bar=40 μm.

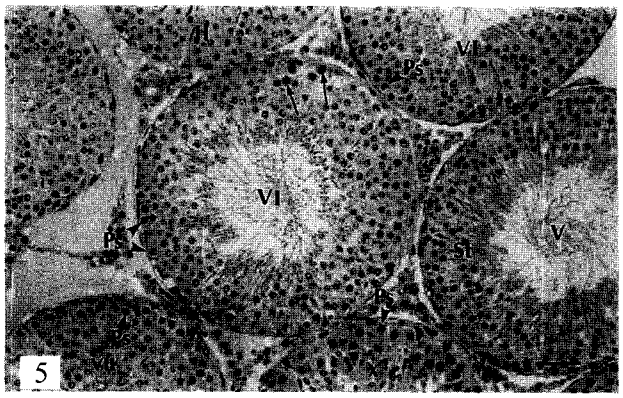

Fig. 5. Testis; 7 week old male SD rat treated with 1000 mg/kg/day of 2-bromopropane for 2 weeks. Seminiferous tubules show depletion of spermatogonia or early spermatocytes and degeneration of pachytene spermatocytes (↑). Ps; pachytene spermatocytes, St; spermatids. H-E, bar=40 μm.

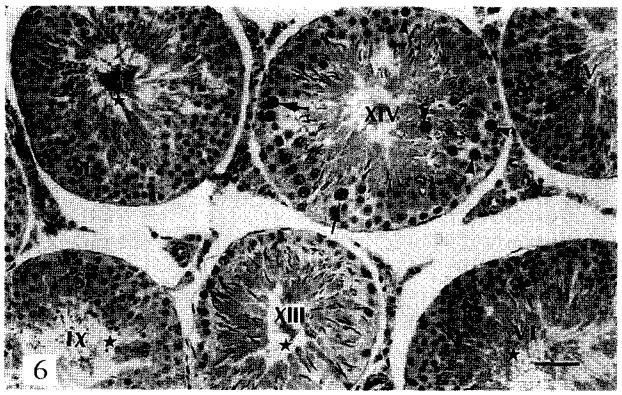

Fig. 6. *Testis*; 8 week old male SD rat treated orally with 1000 mg/kg/day of 2-bromopropane for 3 weeks. Seminiferous tubules show complete depletion of spermatocytes and spermatogonia (★) or degeneration of pachytene (▲) and diplotene (↑) spermatocytes in stage XIV. St; spermatids. H-E, bar=40 μm.

모두에서 기저층의 세사전기에서 초기 비후기의 정모세포들이 대부분 소실되어 I~VI기의 정세관에서 정모세포가 거의 관찰되지 않았고, VII~VIII기의 정세관에서는 세사전기의 정모세포가 대부분 소실되어 비후기의 정모세포가 정세관 기저막 가까이 위치하고 있었으며, 일부 비후기의 정모세포가 변성을 나타내었다. IX~XIV기의 정세관에서도 세사기 또는 접합기(zygotene)의 정모세포가 거의 관찰되지 않아 비후기의 정모세포가 기저막 가까이 위치해 있었다(Fig. 5).

3주 부검군의 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 10마리 모두에서 정조 및 정모세포의 소실로 심한 위축을 나타내었다. XIII~XIV기의 정세관에서만 비후기와 이배사기(diplotene)의 정모세포가 관찰되었으나 대부분 변성되는 소견을 보였으며, 다른 기에서는 정조세포 및 정모세포가 모두 소실되어 원형 정자세포(round spermatid)가 기저막에 인접해 위치해 있었다(Fig. 6).

4주 부검군에서는 정세포 변성 및 정세관 위축이 100, 330과 1,000 mg/kg/day 투여군의 순으로 각각 20%, 100%와 100% 로 용량상관성 있게 관찰되었으며, 병변의 정도도 용량에 따라 증가하였다. 100 mg/kg/day 투여군에서는 정조세포 및 정모세포의 변성이 소수 관찰되었으나, 정세관에 큰 변화가 나타나지 않았다. 330 mg/kg/day 투여군에서는 정조세포와 정모세포의 소실이 현저하게 나타났으며, 남아 있는 정조세포와 정모세포는 변성되는 소견을 보이는 것이 대부분이었다. 일부 원형 정자세포가 변화되어 다핵거세포(multinucleated giant cell)를 형성하는 것도 관찰되었다. 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 모든 동물에서 정세관의 변화가 관찰되었고, 모든 정세관에서 정조세포, 정모세포와 정자세포의 소실로 인한 정세관의 심한 위축이 관찰되었다(Fig. 7). 정세관의 변성에 관해서는 VII~VIII기에서만 원형 정자세포가 관찰되었으며, 다른 기에서는 정세관내에 정조세포, 정모세포와 원형

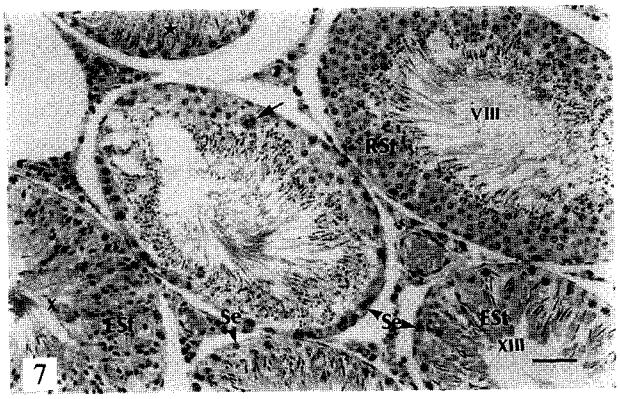

Fig. 7. Testis; 9 week old male SD rat treated orally with 1000 mg/kg/day/day of 2-bromopropane for 4 weeks. Seminiferous tubules show depletion of spermatogonia, spermatocytes and round spermatid (★). Multinucleated giant cell is present in the lumen (↑). Rst; round spermatid, Est; Elongate spermatid. Sc; Sertoli cells. H-E, bar=40 μm.

정자세포가 모두 소실되어 Sertoli 세포와 타원형 정자세포(elongate spermatid)만 관찰되었다. 소수의 정세관에서 다핵 거세포가 한 두 개 관찰되었다.

회복군에서는 100 mg/kg/day 투여군의 경우, 정세관의 변성이 전혀 관찰되지 않아 4주 투여군에 비해 회복상태를 나타내었다. 330 mg/kg/day 투여군의 경우 90%(9/10)의 동물에서 IX-XIV기의 정세관에서 정자의 방출지연이 관찰되었으나 정세포의 변성은 관찰되지 않았다. 1마리에서 타원형 정자세포가 거의 관찰되지 않았으나, 정조세포, 정모세포 및 원형 정자세포는 거의 정상 수준이었다. 1,000 mg/kg/day 투여군에서는 거의 모든 동물에서 정세관이 심하게 변성되어 대부분의 정세관내에서 Sertoli 세포만 관찰되고 정세포는 관찰되지 않았다. 위축된 정세관의 정세포의 재생은 40%

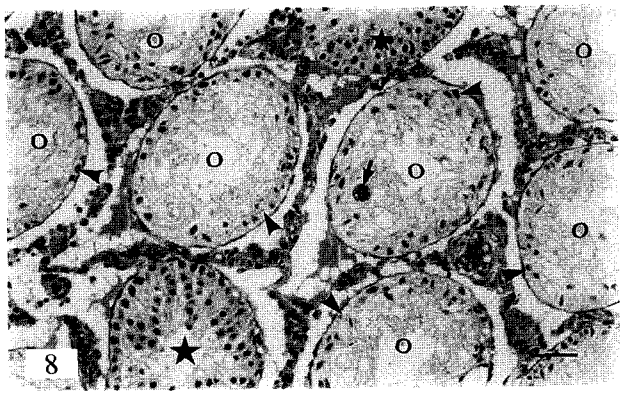

Fig. 8. Testis; 17 week old male SD rat treated orally with 1000 mg/kg/day/day of 2-bromopropane for 4 weeks with 8 weeks of the recovery period. Seminiferous tubules show complete depletion of germ cells (○), degenerating multinucleated giant cell (↑), regenerating germ cells (★) and mild Leydig cell hyperplasia with eosinophilic materials. ▲; Sertoli cells.

(4/10)의 동물에서 미약하거나 경미한 정도로 나타났다 (Fig. 8). 경미한 재생을 나타낸 20%(2/10)의 동물의 경우 40~50%의 정세관에서 정조세포, 정모세포와 원형 정자세포들이 불규칙하게 배열되어 있었으나, 아직 성숙한 정세포는 관찰되지 않았으며, 핵이 농염된 세포들과 다핵 거세포가 가끔 관찰되었다. 비후기의 정모세포들이 미약한 재생을 나타낸 20%(2/10)의 동물의 경우는 거의 모든 정세관이 심한 위축상태로 재생을 나타내지 않았고, 고환 단면에서 10여개 이하의 정세관만이 정모세포의 재생을 나타내고 있었다. 나머지 동물의 경우는 모든 정세관이 심한 위축을 나타내었고 재생되는 정세관은 관찰되지 않았다. 또한 간질에서는 Leydig 세포의 수가 경도로 증가하였으며 호산성의 단백질양 물질이 다량 관찰되었다.

IV. 고 찰

2-BP의 투여와 관련된 변화를 관찰한 결과, 전 시험기간을 통해서 사망동물은 없었으며, 2-BP의 영향으로 보이는 특별한 증상도 관찰되지 않았다. 그러나 2-BP 투여 후, 관찰된 체중의 증가억제, 장기중량의 감소, 혈액 및 혈액생화학적 수치의 일부 변화와 조직학적 변화는 시험물질에 의한 영향으로 생각된다. 더욱이 체중의 증가와 관련된 사료섭취량이 대조군과 차이를 보이지 않아 2-BP는 체중증가 억제 작용이 있음을 뒷받침하고 있다. 한편, 다른 연구자들의 보고에 의하면 활동력저하, 보행실조, 호흡수 감소 및 졸음 등의 중추신경계 억압에 의한 증상과, 근육긴장도 저하와 산동 등의 자율신경계에 영향을 주는 임상증상이 관찰되었는데(한국화학연구소, 1997-3; Ichihara 등, 1997), 이러한 점들은 본 시험의 결과와 달랐다. 이는 투여경로에 따른 흡수율과 투여농도의 차이 때문으로 생각된다 (Kluwe, 1981; Pratt 등, 1992).

장기중량 결과에서 나타난 정소, 정소상체, 흉선의 절대 및 상대중량의 감소는 투여용량 및 투여기간과 상관성이 있어 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다. 반면 부신, 간장, 신장 등은 상대중량에서만 증가를 나타냈는데 이는 체중감소에 의한 변화로서 특별한 의의는 없는 것으로 생각된다.

본 실험의 혈액학적 검사 결과에서 혈소판수 및 망상적혈구수가 3주 이후 유의성있게 감소하였으며, 투여기간의 연장에 따라 변화의 정도도 점차 심해졌다. 그리고 적혈구수, MCH, MCV는 투여기간 동안 아무런 변화가 나타나지 않았으나 8주 회복군의 고농도군에서 적혈구수의 유의성있는 감소와 MCH 및 MCV의

유의성 있는 증가가 관찰되었다. 백혈구수는 투여 3주 후부터 유의성있게 감소하였고, 회복기에는 완전히 회복되어 오히려 대조군보다 증가되었다. 이는 2-BP의 투여가 적혈구, 백혈구 및 혈소판 등 모든 계통에 영향을 주었으나 골수의 stem cell에는 영향을 주지 않았다고 해석된다. 회복군에서 관찰된 적혈구의 감소와 MCV 및 MCH 치의 증가는 골수의 조혈기능의 지속적 손상에 의해 나타난 변화로 생각되며, 마우스의 적혈구 평균 수명이 30일(Haschek 등, 1991)정도로서, 투여 후 4주까지는 2-BP의 투여에 의한 영향이 나타나지 않았으나, 투여중단 8주후에는 2-BP의 영향을 받은 적혈구가 순환혈액내 잔존함으로써 경도의 빈혈로 나타난 것으로 생각된다. 이 결과로 보아 완전한 회복에는 투여중단 후 8주보다 더 긴 기간이 소요됨을 알 수 있다. 그러나 회복군에서 나타난 백혈구수의 완전한 회복과 적혈구의 재생성반응을 고려해 볼 때, 2-BP를 4주간 1,000 mg/kg/day 투여시 골수모세포는 큰 영향을 받지 않는 것으로 추정되며 회복군에서 나타난 변화는 시간의 경과에 따라 점차 회복될 것으로 생각된다. 빈혈은 임신, 영양결핍, 고분자 글로부린혈증, 비장종대 등에 의한 상대적 빈혈과 적혈구 생성 감소와 적혈구 손상 및 손실에 의한 절대적 빈혈로 분류된다. 절대적 빈혈은 골수모세포 손상에 의한 분화이상, 적혈구 전구세포의 분열 증식 이상, DNA 합성 이상, 영양결핍 등에 의해 발생한다. 재생불량성 빈혈은 조혈간세포 부전, 조혈미세환경부전, 면역기전에 의한 골수부전, 독성물질, 방사선 조사 등에 의해 발생하는데, 화학물질에 노출되었을 경우에 발생되는 빈혈은 골수손상으로 인한 조혈간세포의 감소로 야기된다(Jain, 1986; Williams 등, 1990). 재생불량성 빈혈의 혈액학적소견은 적혈구 성상이 정염성(normochromic), 정상적혈구(normocytic)이며, 망상적혈구수, 백혈구수 그리고 혈소판수 감소 등의 범혈구감소증(pancytopenia)으로 나타나고, 골수의 생검 또는 조직 소견은 세포감소와 골수의 지방화로 나타난다(서울대학교 의과대학, 1985). 그런데 2-BP에 폭로된 근로자들에서 혈소판감소증, 재생불량성 빈혈 등을 일으켰다는 보고(한국산업안전공단, 1995)가 있으나 본 시험에서는 재생불량성 빈혈이 관찰되지 않았다. 이것은 아마도 노출기간, 노출농도와 관련된 것으로 추정된다. 한편 ethylene oxide(Mori 등, 1990)나 nitrobenzene(Mitsumori 등, 1994)은 대구성(macrocytic) 그리고 정염성적혈구, 망상적혈구수 증가, 적혈구수 감소, 혈색소량 감소 그리고 헤마토크리트치의 감소 등을 유발하여 2-BP와는 차이가 있다. 일부 보고에 의하면 재생불량성 빈혈(Yamauchi 등, 1978), 겸상적혈구 질환(Varma 등, 1983), 철결핍 그리고 다발성 골수종(Avissar 등, 1986) 등의 혈액학적 질환에서 적혈구의 glutathione reductase(GR) 활성이 감소된다고 하였고, ethylene oxide(Mori 등, 1990), sulfoxone(Desforges 등, 1959), nitrogen mustard(Roth 등, 1975), 1,3-bis (chloroethyl)-1-nitrosourea(Frischer & Ahmad, 1977) 등과 같은 alkylating agent 또한 GR 활성을 감소시킨다고 보고되었다. 앞으로 2-BP가 골수의 혈구생성단계에서 각 세포에 미치는 영향, GR 활성을 포함하여 2-BP에 의해 유발되는 빈혈의 기전, 백혈구수 감소 및 흉선 무게의 현저한 감소와 관련된 면역기능에 미치는 영향 등을 확인하기 위한 시험이 필요하다고 생각된다.

혈액생화학적 결과에서 염소가 투여기간 및 투여용량과 상관성있게 증가하였다. 염소는 주요한 세포외 음이온으로 사구체에서 혈장으로 여과되고 원위곡세뇨관에서 Na^+과 함께 능동적으로 재흡수된다. 혈청내 염소 농도의 증가 원인은 탈수, 신세뇨관 산증(renal tubular acidosis), 급성신부전(acute renal failure), 만성설사와 관련된 대사성 산증, sodium bicarbonate의 손실, 요붕증, 부신피질기능항진증, salicylate 중독 등 여러 가지가 있다(Burtis & Ashwood, 1994). 그러나 본 실험에서는 이와 관련된 특별한 증상은 확인할 수 없었다. 한편 브롬을 함유한 치료제 투여로 유발된 브롬 중독에서 혈청 브롬의 상승과 함께 염소치의 상승이 보고된 바 있다(Graham 등, 1968; Blume 등, 1968). 브롬 중독시의 혈청 염소치 상승에 대한 이론이 여러가지 제시되었는데, 그 중 Palatucci(1978)의 보고에 의하면 세포외액의 균형을 조절하는 기전은 할로겐 농도를 일정한 수준으로 유지하는 것으로서 브롬의 투여가 동일한 양의 염소를 치환하게 되며 그 결과 세포외액에서 염소량이 감소하게 된다는 것이다. 그런데 염소의 농도가 증가하여 나타나는 것은 일반적으로 임상검사에서 측정하는 염소는 할로겐총량이 포함된 총염소량을 측정하기 때문이다. 실제로 브롬 중독의 어떤 보고에서는 혈청 염소치의 감소를 보고하였는데(Finken, 1963), 이것은 할로겐 수치에서 브롬 수치를 감하여 얻은 결과였다. 이것으로 보아 혈청 중에 브롬의 양이 유의하게 증가하였을 경우에는 혈청 염소 농도가 감소하였음에도 불구하고 측정 결과는 증가한 것으로 생각할 수 있다. 즉, 브롬의 중독에 있어서 혈청 염소치의 증가가 절대적인 것은 아니지만, 혈청 염소치의 증가는 브롬 중독의 진단에 있어서 중요한 단서가 될 수 있다. 본 실험에서 혈청 브롬의 농도를 별도로 측정하지 못하였으나, 브롬이 함유된 화학물질인 2-BP의 투여가 수컷 랫트의 혈청내 브롬 농도를 높였고 이로 인해 혈청 염

소치가 상승한 것으로 추정된다.

칼슘은 혈장내에서 50%는 유리 또는 이온화 상태로, 40%는 단백질(주로 알부민)과 결합되어 있고 나머지 10%는 bicarbonate, lactate, phosphate, citrate 등의 음이온과 결합하여 있다. 따라서 칼슘 농도의 증가를 판단하기 위해서는 혈청 알부민의 변화를 동시에 고려해야 한다. 혈청 알부민이 정상치보다 높았을 때는 고칼슘증(hypercalcemia)에 대한 진단이 더욱 정확해지고, 유리 칼슘을 검사하면 더욱 좋다고 한다(Burtis & Ashwood, 1994). 또한 알부민과 결합하는 칼슘은 pH의 영향을 받게 되는데 알카리에서는 이 결합이 증가하여 유리 칼슘이 감소하고, 산성에서는 이 결합이 감소하여 유리 칼슘이 증가하게 된다. 본 실험에서는 염소와 칼슘이 유의성있게 증가하였고 총단백질과 알부민이 증가경향을 보이고 있다. 이러한 결과는 원발성 부갑상선 기능항진증 또는 신장의 재흡수 기능 이상 등을 의심할 수 있으나 이것을 뒷바침할만한 자료가 없어 그 원인을 단정하기는 어렵다. 또한 칼슘, 총단백질 및 알부민은 변화 정도가 매우 미약한 수준이며 용량상관성이 결여되어 시험물질에 의한 영향으로 판단하기는 어려웠다. ALT는 1,000 mg/kg/day 투여군의 경우 1주 부검군부터 회복군까지 지속적으로 감소하였고 4주 부검군의 경우 330 mg/kg/day 투여군에서도 대조군에 비해 통계적으로 유의한 감소를 나타내고 있다. DBCP의 경우 정자생성 기능장해 외에 간장 및 신장의 손상이 보고되었는데(Kluwe 등, 1983; 1985), 간장이 손상된 경우 ALT의 상승으로 나타났다. 본 실험의 ALT 감소는 이 점과 상반되어 그 이유를 추정할 수 없다. 따라서 2-BP에 의한 칼슘의 증가와 ALT의 감소에 관해서는 보다 집중적인 연구가 필요하다고 생각된다.

고환의 정세관은 성장단계에 따라 정조세포, 정모세포와 정자세포로 크게 분류할 수 있는 정세포와 이들을 지지해주고 영양을 공급해주는 지지세포인 Sertoli cell로 구성되어 있다. 정조세포는 다시 형태에 따라 A정조세포, 중간정조세포와 B정조세포로, 정자세포는 세사전기(preleptotene), 세사기(leptotene), 접합기(zygotene), 비후기(pachytene), 두배사기(diplotene), 감수분열기 세포로 세분한다. 또한 정자세포는 원형 정자세포와 타원형 정자세포로 나뉜다. 정세포는 이러한 일련의 과정을 지나 정자로 성숙하며, 이러한 정세포가 정자로 성숙하는 과정을 정자형성(spermatogenesis)이라 한다. 정세관에서 정자형성 단계를 분류하는 방법은 정세관을 종축으로 잘랐을 때, 정세관을 구성하는 정세포의 종류에 따라 구분하는 것으로 I기에서 XIV기까지 로마자로 표기한다(Leblond & Clermont, 1952). 최근의 연구에서 정세관의 기(stage) 구성세포가 독성물질에 의해 부분적으로 변하는 것이 보고되고, 이러한 형태학적 변화의 검사를 통해 일반적인 정액검사나 수태능력검사에 비해 고환의 독성을 더 정확하게 알아낼 수 있다고 알려져 있다(Creasy, 1997). 2-BP의 투여 중단이 후, 체중의 회복에도 불구하고 고환과 부고환의 무게가 여전히 낮은 상태였는데, 이러한 결과는 조직학적 소견을 통해 확인되었다. 고환의 병변은 정조세포와 정모세포의 변성이 시험기간의 경과에 따라 점차 원형 정자세포, 타원형 정자세포의 소실로 이어졌다. 이는 정조세포의 손실에 의해 다음 세포로의 분화가 진전되지 않아 나타나는 결과로 보인다. 100 mg/kg/day 투여군의 경우는 8주 회복기 후에 정세관이 거의 모두 재생되었으며 잔존하는 변성세포도 거의 관찰되지 않아 저용량의 노출에 의한 변화는 8주의 회복기간을 통해 쉽게 회복될 수 있는 것으로 사료된다. 그러나 1,000 mg/kg/day 투여군의 경우 불완전한 재생을 나타낸 4례를 제외한 모든 동물에서 8주간의 회복기를 거친 후에도 정세관내에서 정세포가 거의 관찰되지 않아 고용량을 장기간 투여한 경우에 stem cell도 손상될 가능성이 있는 것으로 사료된다. 위에서 언급한 4례에서는 정조세포, 정모세포와 원형 정자세포가 일부 정세관에서 관찰되었는데, 이는 정세포의 재생이 진행되고 있음을 시사한다. 그러나 정모세포와 원형 정자세포에 변성 소견이 나타나고 정세포의 재생이 일부의 정세관에서만 관찰되어 정세포의 재생은 일부 손상이 적은 정세관에서 일어나는 것으로 사료되었으며, 8주의 회복기간에 의해서도 완전히 회복되지 않는다고 생각된다. Shemi 등(1982)에 의하면 DBCP의 경우 투여 중단 27주 후에 50~90% 의 고환위축 회복효과를 관찰한 바 있다. 그러나 Sod-Moriah 등(1988)에 의하면 투여 후 50주에서도 여전히 대부분의 동물이 생식능력을 회복하지 못한 점으로 보아 정자생산능력의 회복이 곧 생식능력의 회복은 아니라고 생각되며 2-BP의 경우도 회복기간을 연장한 실험을 수행하여 정자생산능력 및 수태능력을 확인할 필요가 있다고 사료된다.

참고문헌

Avissar N., Farkash Y. and Shaklai M. (1986): Erythrocyte enzymes in polycythemia vera: A comparison to erythrocyte enzyme activities of patients with iron deficiency anemia. *Acta. Haematol.*, 76, 37.

Blume R.S., BacLowry J.D. and Wolff S.M. (1968): Limitations of chloride determinations in the di-

agnosis of bromism. *N. Engl. J. Med.*, 27, 593.

Burtis C.A. and Ashwood E.R. (1994): Tietz textbook of clinical chemistry(2nd edition), WB Saunders Company, Philadelphia, p. 1366, p. 1887.

Creasy D.M. (1997): Evaluation of testicular toxicity in safety evaluation studies: The appropriate use of spermatogenic staging. *Toxicol. Pathol.*, 25(2). 119.

Desforges J.F., Thayer W.W. and Dawson J.P. (1959): Hemolytic anemia induced by sulfoxone therapy, with investigations into the mechanism of its production. *Am. J. Med.*, 27, 132.

Finken R.L. (1963): Transplacental bromism. *Am. J. Dis. Child.*, 106, 224.

Frischer H. and Ahmad T. (1977): Severe generalized glutathione reductase deficiency after antitumor chemotherapy with BCNU[1,3-bis(chloroethyl)-1-nitrosourea]. *J. Lab. Clin. Med.*, 89, 1080.

Glass R.I., Lyness R.N., Mengle D.C., Powell K.E. and Kahn E. (1979): Sperm count depression in pesticide exposed to dibromochloropropane. *Am. J. Epidemiol.*, 109, 346-351.

Graham D., Slezman H.M. and Noall M.W. (1968): Pseudo-chloremia associated with bromism. *G.P.*, 38, 105.

Haschek W.H and Rousseaux C.G. (1991): Handbook of toxicologic pathology, Academic Press, Inc., San Diego, p. 396.

Humason G.L. (1979): Animal tissue techniques. 4th ed., WH Freeman and Company, San Francisco, pp. 210-212, pp. 233-234.

Ichihara G., Asaeda N., Kumazawa T., Tagawa Y., Kamijima M., Yu X., Kondo H., Nakajima T., Kitoh J., Yu IJ., Moon YH., Hisanaga N. and Takeuchi Y. (1997): Reproductive and hematopoietic toxicity of 2-bromopropane. *Soc. Toxicol.*, 36(1), 357.

Jain N.C. (1986): Qualitative and quantitative disorders of platelets. In: *Schalm's veterinary hematology*. 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, p. 465-486.

Kluwe W.M. (1981): Acute toxicity of 1,2-dibromo-3-chloropropane in the F344 male rat. 1. Dose-response relationships and differences in route of exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 59, 71-83.

Kluwe W.M., Gupta B.N. and Lamb IV J.C. (1983): The comparative effects of 1,2-dibromo-chloropropane(DBCP) and its metabolites, 3-chloro-1,2-propaneoxide(epichlorohydrin), 3-chloro-1,2-propanediol(alphachlorohydrin), and oxalic acid, on the urogenital system of male rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 70, 67.

Kluwe W.M., Weber H., Greenwell A. and Harrington F. (1985): Initial and residual toxicity following acute exposure of developing male rats to dibromochloropropane. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 79, 54.

Lag M., Soderlund E.J., Omichinski J.G., Brunborg G., Holme J.A., Dahl J.E., Nelson S.D. and Dybing E. (1991): Effect of bromine and chlorine positioning in the induction of renal and testicular toxicity by halogenated propanes. *Chem. Res. Toxicol.*, 4, 528-534.

Leblond C.P. and Clermont Y. (1952): Spermatogenesis of rat, mouse, hamster and guinea-pig as revealed by the "periodic acid-fushin sulfurous acid" technique. *Am. J. Anat.*, 90, 167.

Lim C.H., Maeng S.H., Lee J.Y., Chung Y.H., Park J. H., Kim H.Y., Moon Y.H. and Yu I.J. (1997): Effect of 2-bromopropane(2-BP) on female reproductive function in Sprague-Dawley rats. *Soc. Toxicol.*, 36(1), 357.

Maeng S.H. and Yu I.J. (1997): Mutagenicity of 2-bromopropane. *Ind. Health.*, 35, 87-95.

Mitsumori K., Kodama Y., Uchida O., Takada K., Saito M., Naito K., Kawashima K., Yasuhara K., Toyoda K., Onodera H., Furukawa F., Takahashi M. and Hayashi Y. (1994): Confirmation study, using nitrobenzene, of the combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity test protocol proposed by the organization for economic cooperation and development(OECD). *J. Toxicol. Sci.*, 19, 141-149.

Mori K., Inoue N., Fujishiro K., Kikuchi M. and Chiba S. (1990): Biochemical changes in rat erythrocytes caused by ethylene oxide exposure. *Fund. Appl. Toxicol.*, 15, 441.

National Institute for Occupational Safety and Health (NOISH) (1995): Registry of toxic effects of chemical substances (RTECS). RTECS number TX4111000.

OECD guideline for testing of chemicals (1981), "subchronic oral toxicity-rodent: 90-day study". No. 408, p. 4.

Olson W.A., Habermann R.T., Weisburger E.K. and Kraybill J.F. (1975): Carcinogenicity of ethylene dibromide (EDB) and 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) after oral administration in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 33, 171-172.

Palatucci D.M. (1978): Paradoxical halide levels in bromide intoxication. *Neurology*, 28, 1189.

Pratt W.B. and Taylor P. (1992): The entry, distribution and elimination of drugs. In: Principles of drug action. The basis of pharmacology. 3rd ed., Churchill Linvingstone, New York, p. 203.

Potashnik G., Ben-Aderet N., Israeli R., Yanai-Inbar I. and Sober I. (1978): Suppressive effect of 1,2-di-

bromochloropropane on human spermatogenesis. *Fertile. Steril.*, 30, 444-447.

Potashnik G., Yanai-Inbar I., Sacks M.I. and Israeli R. (1979): Effect of dibromochloropropane on human testicular function. *Isr. J. Med. Sci.*, 15, 438-442.

Roth E.F. Jr., Nagel R.L., Neuman G., Vanderhoff G., Kaplan B.H. and Jaffe E.R. (1975): Metaboliceffects of antisickling amounts of nitrogen and nor-nitrogen mustard on rabbit and human erythrocytes. *Blood*, 45, 779.

Shemi D., Sod-Moriah U.A., Kaplanski J., Potashnik G. and Yanai-Inbar I. (1982): Suppression and recovery of spermatogenesis in dibromochloropropane treated rat. *Andrologia*, 14(2), 191.

Snyder C.A. and Valle-Paul C. (1987): Isopropyl methanesulfonate is a potent red cell hematotoxicant. *Toxicol. Lett.*, 36, 61.

Sod-Moriah U.A., Sror U., Shemi D., Potashnik G., Chayoth R., Shaked I. and Kaplanski J. (1988): Logn-term effects of dibromochloropropane (DBCP) on male rats' reproductive system. *Andrologia*, 20(1), 60.

Torkelson T.R., Sadek S.E., Rowe V.K., Kodama J.K., Anderson H.H., Laguram C.S. and Hine C.H. (1961): Toxicology investigations of 1,2-dibromo-3-chloropropane. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 3, 545-559.

Varma R.N., Mankad V.N., Phelps D.D., Jenkins L.T. and Suskind R.M. (1983): Depressed erythrocyte glutathione reductase activity in sickle cell desease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 38, 884.

Ward J.M. and Habermann R.T. (1974): Pathology of stomach cancer in rats and mice induced with the agricultural chemical ethylene dibromide and dibromochloro-propane. *Bull. Soc. Pharmacol. Environ. Pathol.*, 74, 10.

Whorton D., Milby T.H., Krauss R.M. and Stubbs H. A. (1977): Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. *J. Occup. Med.*, 21, 161-166.

Whorton D., Krauss R.M., Marshall S. and Milby T.H. (1977): Infertility in male pesticide workers. *Lancet*, 2, 1259-1261.

Williams W.J., Beutler E., Erslev A.J. and Lichtman M.A. (1990): Hemopoietic stem cell disorder; Aplastic. In: Hematology. 4th ed., McGraw-Hill Publishing Company, New york, p. 158.

Yamauchi K., Nakashima K. and Miwa S. (1978): Human erythrocyte glutathione reductase. II. Envidences for molecular aging of normal erythrocytes and apoenzyme defect in aplastic anemia. *Acta. Haematol.* Japan., 41, 34.

Yu I.J., Chung Y.H., Lim C.H., Maeng S.H., Lee J.Y., Kim H.Y., Lee S.J., Kim C.H., Kim T.G., Lim C.H., Park J.S. and Moon Y.H. (1997): Reproductive toxicity of 2-bromopropane. *Soc. Toxicol.*, 36(1), 358.

서울대학교의과대학(1985): 골수부전에 기인하는 빈혈. 혈액학. 서울대학교출판부, 서울, p. 117.

한국산업안전공단 산업보건연구원(1995): 양산 LG전자부품(주) 역학조사 보고서.

한국화학연구소 안전성연구센터(1995): Solvent #5200 혼합용매의 CHO-K1세포를 이용한 염색체이상시험 보고서.

한국화학연구소 안전성연구센터(1995): Solvent #5200 혼합용매의 살모넬라를 이용한 복귀돌연변이시험 보고서.

한국화학연구소 안전성연구센터(1995): Solvent #5200 혼합용매의 랫트에 있어서 급성경구독성시험 보고서.