

간손상 유발실험동물에서 Toluene의 피부독성

채순님 · 이상희* · 윤종국*† · 이상일** · 조현국***

동원대학 피부미용과
* 계명대학교 공중보건학과
** 계명문화대학교 식품과학과
*** 경운대학교 안경광학과

Skin Toxicity of Toluene on Liver Damage-Induced Rats

Soon Nim Chae, Sang Hee Lee*, Chong Guk Yoon*†

Sang Il Lee** and Hyun Gug Cho***

Department of Beauty Science, Tongwon College

** Department of Food Science, Keimyung College, Taegu 705-037, Korea

*** Department of visual optics, Kyungwoon University

(Received 15 March, 2001 ; Accepted 10 May 2001)

ABSTRACT

To evaluate the cutaneous injury in liver damaged rats by toluene application to the skin, toluene(35 mg/cm²) was sequentially applied for 5 days to the dorsal skin of liver damaged rats with CCl₄(6 times every other day:0.1 ml/100 g body weight-50% CCl₄ in olive oil). The cutaneous ultrastructural changes were unexpectedly not observed in liver from CCl₄-treated rats although necrotic liver damage appeared under light microscope. In these animals by the application of toluene to rat skin the cutaneous xanthine oxidase activity was significantly increased(p<0.05); but cytochrome P450 content was not different from that of the control or only CCl₄-treated rats.

On the other hand, the cutaneous superoxide dismutase and catalase activities in liver damaged animals were significantly respectively(p<0.05, p<0.001), decreased by toluene application to the skin compared with control and especially the former enzyme activity was significantly decreased(p<0.01), compared with that of liver damaged rate rat but glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase activities were not significantly different from those of the control or liver damaged rats. Furthermore, the reduced gluathione content of skin was also significantly decreased by toluene application to the liver damaged animals.

In conclusion, the great deposits of cerrous peroxide and ultramorphological changes in skin tissue of liver damaged animals by toluene application may be responsible for the oxygen free radical.

Keywords : Skin, Oxygen free radical, Toluene, CCl₄ induced liver damage, Rat

I. 서 론

최근 산업 발전에 따른 산업화학물질의 인체폭로로 여러 가지 질병이 유발되고 있으며, 특히 산업장 및 생활공간에 있어서 화학물질에 의한 피부 질환이 사회 문제로 대두되고 있어 피부독성에 대한 문제도 간과할 수 없는 실정이다.¹⁾

일반적으로 피부계 질환은 대사성, 순환장애, 염증성 및 중양성 등으로 인한 병리현상으로 인하여 초래

*Corresponding author : Department of Public Health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea.

Tel : 053-580-5230, Fax : 053-580-5164

E-mail : jky@kmucc.keimyung.ac.kr

되는 것으로 알려져 있다.²⁾ 특히 염증성 피부 손상은 대개 피부염으로 기계적 찰과상, 화학물질, 물리적 및 생물학적 요인에 의해 야기되며 대부분 화학물질에 기인된다고 한다.³⁾ 일찍이 1700년경 Ramazzini가 직업성 피부질환에 대하여 보고⁴⁾한 이래 많은 연구자들에 의하여 산업화학물질에 의한 피부질환에 대하여 보고되어 왔다.⁵⁾ 이들 산업화학물질 중 toluene은 산업장에 널리 이용되고 있는 유기용제로서 비교적 안정성이 인정되고 있으나⁶⁾ 신경계^{7,8)}, 순환계^{9,10)}, 조혈계^{11,12)} 및 간손상^{13,14)}을 야기시키는 것으로 알려져 있다. 특히 toluene과 피부질환과의 관련성에 대한 역학적 조사연구^{3,12)}는 된바 있으나 병태생리적인

인에 대해서는 아직까지 불분명하다. 그리고 피부질환이 유해산소에 기인하여 유발되는 점¹⁵⁾과 toluene 대사물질이 유해산소의 대사계에 영향을 미친다는 보고¹⁶⁾를 고려해 볼 때 toluene이 유해산소에 의한 피부염을 유발시킬 것으로 생각된다. 더욱이 피부상태는 당뇨병, 신장질환과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있고^{17,18)}, 특히 간질환과 피부질환간의 관련성에 대한 많은 연구가 된 바 있으며¹⁹⁻²¹⁾, 최근 채 등²²⁾은 CCl₄에 의한 간손상시 피부조직에 유해산소에 의한 피부독성이 초래됨을 보고하였다. 그러므로 간손상시 피부에 toluene이 폭로될 때 피부의 독성이 심화될 것으로 생각되며, 더욱이 산업화학물질의 오염 가능성이 있는 산업장과 일반 대기오염 가능성이 있는 생활공간에서 간질환자의 피부에 이들 유해물질의 폭로가 피부건강에 심각한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 따라서 이에 대한 이론적 근거를 제시하는 일환으로 CCl₄에 의한 간손상 유도 모델실험동물의 피부에 toluene을 도포하여 피부의 병태생리를 검토함은 의의가 있을 것으로 생각된다.

이에 본 연구는 CCl₄에 의한 간손상시 toluene을 도포한 다음 피부조직의 손상 정도를 전자 현미경으로 관찰하고 이 때 피부조직의 형태학적 변화기전을 구명코자 세포 화학실험을 실시함과 더불어 oxygen radical의 대사에 관여하는 효소활성을 측정하여 이들 실험결과를 상호비교 관찰하고자 한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험동물 및 처치

동물은 체중 200 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 수 흰쥐를 시중에서 구입후 동물사료(삼양사 제품)와 물을 충분히 공급하면서 사육실에서 1주일 적응시켜 실험에 사용하였다. 각 실험군은 대조군, CCl₄(99.5%, Junsei)투여군 및 CCl₄ 투여 후 toluene(99%, Yakuri) 도포군으로 각각 7마리씩 분리수용 하였으며 실험기간중 물과 사료의 양은 제한 없이 공급하였고 사육실 온도는 25±1℃를 유지하였다.

급성 간손상의 유도는 CCl₄를 olive oil과 1:1 혼합액을 만들어 Rubin 등의 방법²³⁾에 준해 체중 100 g 당 0.1 ml를 실험군 각 14마리에 2일 간격으로 6회 복강 내 주사하였다. 그리고 CCl₄를 전처치한 14마리의 실험동물 중 7마리의 등의 일정부위에 털을 깎은 다음 피부면적 cm² 당 35 ml의 toluene을 5일간 연속 도포하였다. 이때 toluene의 휘발을 방지하기 위하여

Hiroshi의 방법²⁴⁾에 의하여 O-ring의 유리관을 toluene도포 전에 제모한 부위에 toluene을 완전히 흡수시킨 후 떼어내었다.

동물의 처치는 효소 활성의 일 중 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였다. 동물은 약한 ether 마취 하에서 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시킨 후, 4℃ 생리식염수로 간문맥을 통하여 간을 관류하여 간 내에 남아있는 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출한 간은 효소 활성도 측정 및 병리조직검사에 사용하였다.

피부조직(표피와 진피부분 포함)을 적출한 후 실험에 사용한 유기용제의 함유를 배제하기 위해 생리식염수로 조직의 표면을 닦은 다음 효소 활성도 측정 및 전자 현미경 검사에 사용하였다.

2. 효소시료의 조제

적출한 피부 조직의 일부를 취하여 4배의 0.25 M sucrose용액을 가하여 병냉하에 bio-homogenizer (M 133/1281-0)로 마쇄하였다. 이 마쇄균질액(20% w/v)을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 다음, 상층액을 10,000×g에서 20분간 원심분리한 후, 침전된 mitochondria 분획을 얻고 그 상층액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리(Hitachi SCR20BB 및 709-72)하여 microsome 및 cytosol 분획으로 분리하였다.

Cytosol 분획은 xanthine oxidase(XO), glutathione peroxidase(GPx), glutathione S-transferase(GST), superoxide dismutase(SOD) 활성 측정에 사용하였으며 mitochondria 분획은 catalase 활성측정, microsome 분획은 cytochrome P450(CYP) 함량측정에 사용하였다.

3. 효소 활성 측정

피부조직 중 catalase 활성은 H₂O₂ 분해정도를 측정하는 Aebi의 방법²⁵⁾, GPx 활성은 기질인 과산화수소의 제거에 이용된 산화형 glutathione을 환원시키는 데 필요한 NADPH의 함량을 측정하는 Paglia와 Valentine의 방법²⁶⁾, GST는 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione의 포합정도를 측정하는 Habig 등의 방법²⁷⁾, XO 활성은 기질인 xanthine로부터 생성되는 뇨산의 함량을 측정하는 Stirpe와 Della Corte의 방법²⁸⁾에 준하였다. 그리고 SOD 활성은 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 측정하는 Martin 등의 방법²⁹⁾에 준하였으며 활성도 단위는

hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1unit로 나타내었다.

4. CYP 함량 측정

CYP의 함량 측정은 Omura와 Sato의 방법³⁰⁾에 준하여 450~490 nm에서 흡광도의 차이를 CYP-CO complex에 의한 흡광량으로 하고 CYP-CO complex의 분자흡광계수($\epsilon = 91 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 CYP의 양을 계산하였다. Microsome의 CYP 함량은 단백질 1 mg 당 nmole로 표시하였다.

5. 피부 조직 GSH 함량 측정

GSH의 함량은 Ellman의 방법³¹⁾에 따라 비단백성 sulfhydryl group을 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (99.7%, Sigma)로 발색시켜 412 nm에서 비색 정량하였다. GSH의 함량 단위는 간 조직 1 g 당 μ mole로 나타내었다.

6. 피부 조직 단백질 정량

단백질 정량은 Lowry 등의 방법³²⁾에 준하여 bovine serum albumin(99%, Sigma)을 표준품으로 하여 측정하였다.

7. 간 조직검사와 피부 조직의 미세구조 및 H_2O_2 반응양상 관찰

실험동물을 ether로 마취시킨 후 복대동맥으로 채혈하여 실험사 시킨 후 간정맥으로 생리식염수를 관류시켰다. 간 조직 적출 즉시 10% neutral buffered formalin(99%, Junsei)에 고정시킨 다음, 수세, 탈수 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 포매된 조직을 4 μm 두께로 절편하여 hematoxylin(99%, Sigma)과 eosin(99%, Sigma)으로 염색한 다음 광학현미경(BH-2, Olympus)으로 관찰하였다.

피부조직의 미세구조와 H_2O_2 반응양상을 관찰하기 위하여 피부조직을 적출 즉시 세절하고, 세절조직의 일부를 2.5% glutaraldehyde(0.1 M phosphate buffer pH 7.4)와 1% osmium tetroxide(0.1 M phosphate buffer pH 7.4)로 이중고정시켰다. Alcohol-propylene oxide 계열로 순차적으로 증가하는 농도에 따라 탈수한 다음, epoxy resin에 포매하였다. 포매된 조직은 열중합시키고 60~70 nm로 초박절편한 다음(Reichert supernova, Reichert) uranyl acetate와 lead citrate(99%, Junsei)로 이중 염색한 후 투과전자현미경(Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

세절조직의 나머지는 세절 즉시 2.0 mM cerium

chloride, 10 mM 3-amino-1,2,4-triazole, 0.1 M tris-maleate buffer(pH 7.5), 7% sucrose, 0.0002% triton X-100으로 조제된 기질에 담그고, 37°C에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직을 0.1 M tris-maleate buffer(pH 7.5)와 0.1 M sodium cacodylate buffer(pH 7.4)로 각각 차례로 수세한 후 1% osmium tetroxide 고정한 다음 위와 같은 표본제작법으로 탈수, 포매, 중합, 절편을 만들어 uranyl acetate 단염색하여 투과전자현미경으로 관찰하였다.

8. 성적 검정

이상의 생화학실험 데이터는 대조군에 대한 백분율로 표시하였다. 그리고 통계처리는 Student's t-test³³⁾로 하였으며 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

III. 결 과

1. CCl_4 투여에 의한 간손상 모델 실험동물의 간조직학적 변화

흰쥐에 CCl_4 를 투여하였을 때, 간 세포의 비대와 함께 중심정맥 주변부의 세포괴사와 지방변성이 함께 관찰되었으며, 부분적인 울혈현상이 관찰되었다(Fig. 1).

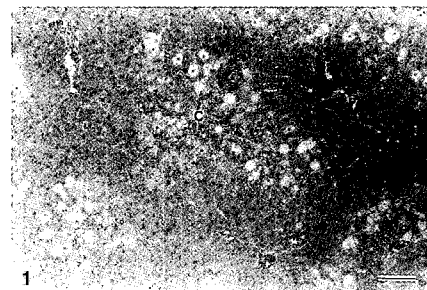


Fig. 1. Liver tissue in CCl_4 -treated group: Centrilobular necrosis with cell hypertrophy and local congestion in hepatic lobules were noted. C: central vein, P: portal vein, H&E stain, scale bar=100 μm .

2. 피부조직의 미세구조 변화

대조군의 표피는 3~4층의 세포들로 구성되어 있었으며, 상피세포는 기저막을 경계로 진피층과 잘 결합된 모습이였다. 표피층의 기저세포는 입방형으로 관찰되었고, 과립층 세포들은 편평형으로 관찰되었다. 상피세포의 세포간 연결에는 부착반점(desmosome)의 형성이 뚜렷하였는데, 기저막과 접한 기저세포면을 제외하고는 모두 돌기를 내어 인접세포와 연결하고 있었으며 연결부에는 부착반점이 잘 발달되어 있었다(Fig. 2a).

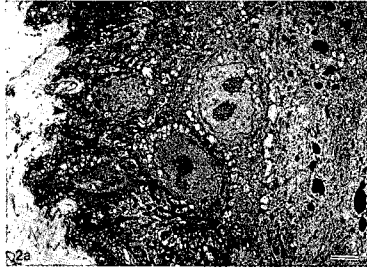


Fig. 2. Skin tissue in normal group : a) The cellular structure was intact. Epidermal cells consist of 3~4 layers and adhered with adjacent cells by desmosome. Arrowhead : basement membrane, Arrow : desmo-some, uranyl acetate and lead citrate stain, scale bar = 4 μ m.

CCl_4 투여군의 미세구조는 대조군과 유사하였는데, 상피세포의 기저막 아래로 정상적으로 진피층이 형성되어 있었으며, 기저층의 세포는 핵이 둥근 입방형으로 세포간 연결이 잘 형성되어 있었다. 표피도 3~4층이 뚜렷하였고 자유면의 케라틴은 층상의 정상적인 형태로 관찰되었다(Fig. 3a).



Fig. 3. Skin tissue in CCl_4 -treated group : a) The cellular structure was intact like normal cell. Arrow : basement membrane, K : keratin, uranyl acetate and lead citrate stain, scale bar = 2.9 μ m.

CCl_4 투여 후 toluene 도포군은 상피층을 지지하는 기저막은 잘 보존되어 있었으나, 과립층과 케라틴층은 탈락되고 표피층 내 지방소적들이 다수 관찰되었다. 하지만 기저세포층의 형태는 정상적인 모습으로 관찰되었다(Fig. 4a).

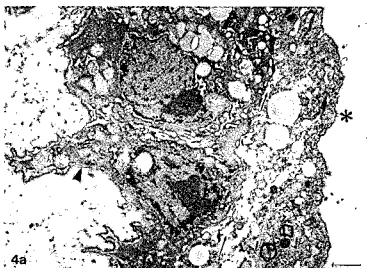


Fig. 4. Skin tissue in toluene application to CCl_4 -pretreated group : a) Granular cells, keratinized cells and keratin layer detached from basal cells. Lipid droplets were found in the cytoplasm of epidermal cells. Arrowhead

: basement membrane, Arrows : space of epithelial cell detachment, Asterisk : apical surface, uranyl acetate and lead citrate stain, scale bar = 2.5 μ m.

3. 피부조직 H_2O_2 localization의 세포화학적 관찰
대조군은 H_2O_2 반응 산물인 cerrous perhydroxide 과립들이 기저막에 연한 기저세포의 세포간질 부분에 한정적으로 분포되어 있었으나 반응양상은 약하였다(Fig. 2b).

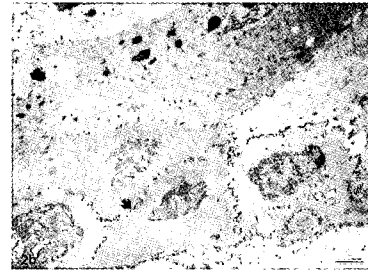


Fig. 2. Skin tissue in normal group : b) Deposits of cerrous perhydroxide reacted with hydrogen peroxide were found in the intercellular spaces of basal cells. Arrow: cerrous perhydroxide deposit, uranyl acetate stain, scale bar = 2.5 μ m.

CCl_4 투여군에서는 과립의 분포가 주로 기저막과 진피층에서 관찰되었다(Fig. 3b).

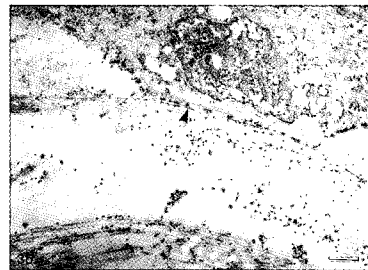


Fig. 3. Skin tissue in CCl_4 -treated group : b) Deposits of cerrous perhydroxide were found in the dermis and in the basement membrane. Arrow: basement membrane, uranyl acetate stain, scale bar = 1.7 μ m.

CCl_4 투여 후 toluene 피부도포군에서는 기저세포의 간질과 기저막, 그리고 진피층에 광범위하게 분포하고 있었으며 반응양상 또한 강하였다(Fig. 4b).

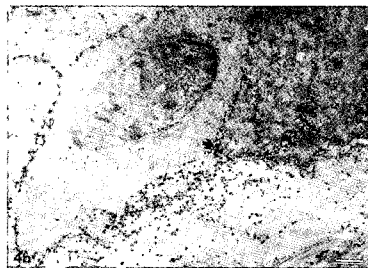


Fig. 4. Skin tissue in toluene application to CCl₄-pretreated group : b) Deposits of cerrous perhydroxide were found in the intercellular spaces of epithelial cells, in the basement membrane, and in the dermis. Arrow: cerrous perhydroxide deposit, uranyl acetate stain, scale bar=1.7 μ m.

4. 피부조직의 유해산소 대사효소

CCl₄ 투여군, CCl₄ 투여후 toluene 도포군 및 대조군의 피부조직에 있어서 CYP 함량 및 XO 활성을 대조군에 대한 백분율로 표시하여 나타낸 것이 Fig. 5와 같다. CYP 함량은 세 군간에는 별다른 차이를 볼 수 없었으나 XO 활성은 CCl₄ 투여군이 대조군에 비하여 약 15% 증가되는 경향을 보였으며 CCl₄ 투여후 toluene 피부도포군은 약 30%의 유의한($p<0.05$) 증가를 보였다.

한편 피부조직의 SOD, CAT, GPx 및 GST 활성을 대조군에 대한 백분율로 표시하여 나타낸 것이 Fig. 6

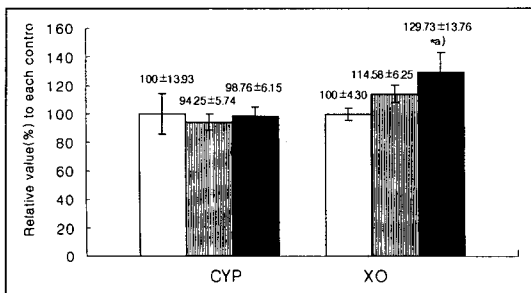


Fig. 5. Effect of the toluene application to rat skin on cutaneous CYP content and XO activity

Each bar represents the mean \pm S.E. of 7 rats and expresses as the relative percentage(%) to the control.

a); Significantly different from the control $p<0.05$

□ ; Control ▨ ; CCl₄ treated group

■ ; Toluene application to CCl₄ pretreated group

과 같다. 즉, SOD 활성에 있어서는 CCl₄ 투여군은 대조군에 비하여 약 16%의 유의한 감소($p<0.01$)를 나타내었으며, CCl₄ 투여후 toluene 피부도포군은 20%의 유의한($p<0.05$) 감소를 보였다. CAT 활성은 각각의 대조군에 비하여 CCl₄ 투여군은 약 30% ($p<0.05$), CCl₄ 투여후 toluene 도포군은 약 75% ($p<0.001$)의 현저한 감소를 보였다. 그리고 GPx 활성은 CCl₄ 투여군과 CCl₄ 투여후 toluene 피부도포군은 대조군에 비하여 각각 51% ($p<0.01$), 31% 감소되었으며, GST 활성에 있어서는 CCl₄ 투여군은 대조군에 비하여 다소 감소되는 경향을 보였으며, CCl₄ 투여후 toluene 도포군은 대조군에 비하여 약 13% 감소되는 경향을 보였다.

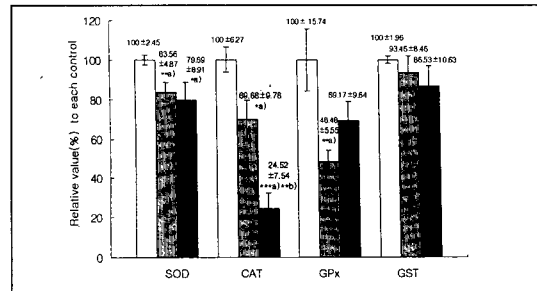


Fig. 6. Effect of the toluene application to rat skin on the cutaneous oxygen free radical scavenging enzyme activities Other abbreviations are the same as in Fig. 5.

a); Significantly different from the control * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

b); Significantly different from the control ** $p<0.01$

□ ; Control ▨ ; CCl₄ treated group

■ ; Toluene application to CCl₄ pretreated group

5. 피부조직의 GSH 함량

CCl₄ 투여군, CCl₄ 투여후 toluene 피부도포군 및 대조군의 피부조직에 GSH 함량을 측정하여 각 대조군에 대한 백분율로 나타낸 것이 Fig. 7과 같다. 대조군과 투여군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었으나 CCl₄ 투여후 toluene 피부도포군은 대조군 및 CCl₄ 투여군 보다 각각 40% ($p<0.05$), 35% ($p<0.01$)의 유의한 감소를 보였다.

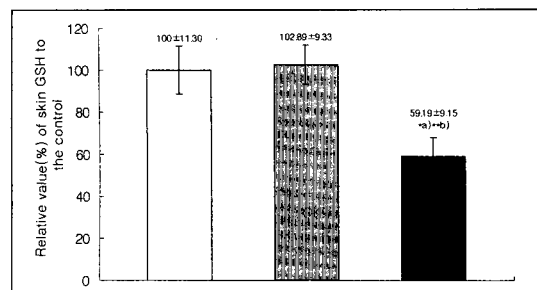


Fig. 7. Effect of toluene application to rat skin on cutaneous GSH content Other abbreviations are the same as in Fig. 5.

a); Significantly different from the control * $p<0.05$

b); Significantly different from the control ** $p<0.01$

□ ; Control ▨ ; CCl₄ treated group

■ ; Toluene application to CCl₄ pretreated group

IV. 고 찰

산업화학물질에 의한 접촉성 피부질환에 대해서 많은 보고³⁾가 있으나 이 경우에 피부 조직에 있어서 병태생리적 기전에 대해서는 불분명하다. 최근 채 등²²⁾

은 CCl_4 에 의한 급성 간손상시 피부조직 세포에 있어서 미세구조 변화가 초래되며 이는 유해산소에 기인되어 나타난다고 하였다. 더욱이 산업화학물질의 오염이 문제가 되는 현대사회에서 간 질환 환자들에게 산업화학물질의 피부폭로가 피부조직에 병태생리 작용에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

이에 본 실험에서는 실험동물에 CCl_4 를 투여하여 간손상을 유도한 다음 피부에 toluene을 도포시에 병리적 변화를 검토하기 위하여 우선 CCl_4 를 투여한 실험동물 조직의 병리조직학적 검사를 한 바, 중심정맥 주변부에 심한 괴사와 지방변성이 관찰되어 급성 간손상을 확인 할 수 있었다. 조직에 있어서 미세구조 변화가 다소 초래되었으며 세포화학적 관찰에서 H_2O_2 과립의 양성 반응도 나타났다. 이 결과는 채의 보고²²⁾와 일치하였다. 본 실험에서 이와 같은 간손상 유발 실험동물에 5일간 연속해서 toluene을 도포한 경우에 피부조직에 상피조직과 진피층에 미세구조 변화가 CCl_4 에 의한 간손상 실험동물 보다 심하게 나타났다. 또한 H_2O_2 과립반응에 대한 양성반응이 강하게 나타났다.

따라서 간손상 실험동물의 피부에 toluene 도포시에 피부조직에 미세구조의 변화가 H_2O_2 과립반응이 강하게 나타남은 유해산소에 기인됨을 암시해주고 있다. 이의 기전을 규명하기 위하여 본 실험에서 유해산소 대사기구에 관련된 효소 활성을 측정하였다. 최근 한 등³⁴⁾은 비록 피부조직에 있어서 간조직에 대한 활성도가 낮게 나타났지만 CYP 및 XO, SOD, CAT, GPx 활성이 의의 있는 활성치로 측정되었으며, 특히 XO, SOD, CAT가 괄목한 활성을 나타낸다고 하였다. 또한 채 등²²⁾은 CCl_4 에 의한 간손상시 이들 효소활성이 피부조직에서 의의 있는 변동이 나타난다고 하였다. 그러므로 간손상의 실험동물의 피부에 toluene도포한 다음 피부조직에 있어서 이들 효소 활성 변동을 중심으로 검토하였다. 유해산소 중 superoxide 생성에 관여하는 XO 활성과 CYP 함량 변동을 살펴보면 CYP는 대조군과 실험군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었으나 XO 활성은 CCl_4 유도 간손상 실험군에서는 증가되는 경향을 보였다. 그리고 toluene을 피부에 도포함으로써 XO 활성은 유의하게 증가되었다. 따라서 간손상 실험동물의 피부에 toluene을 도포함으로써 세포상해의 한 요인인 superoxide 생성은 촉진됨을 알 수 있다. 그러나 생체의 병태생리적 조건에 따라서 생성된 superoxide에 의한 독성은 유해산소의 생성 및 해독기구의 불균형에 의하여 야기되기 때문에 이와 관계된 효소활성을 측정하였다. CCl_4 에 의한 간손

상 실험동물에 있어서 SOD, CAT, GPx 활성은 대조군에 비하여 유의하게 감소되었으며, 이 결과는 채 등²²⁾의 결과와 일치하였다. 또한 이들 실험동물의 피부에 toluene을 도포함으로써 피부조직에서 이들 효소 활성 감소율이 CCl_4 투여군 보다 높게 나타났다. 특히 유해산소 중 H_2O_2 해독에 관여하는 catalase 활성 감소율이 가장 크게 나타났다. 더욱이 CCl_4 에 의한 간손상 실험동물에 toluene을 도포함으로써 유해산소 해독에 관여하는 생리활성 물질인 GSH 활성이 피부조직 중에서 현저히 감소되었다. 따라서 이러한 실험결과는 간손상 실험동물의 피부에 toluene을 도포함으로써 피부조직에 H_2O_2 가 축적됨을 시사해주고 있다.

이상 유해산소 해독기구를 검토한 결과 CCl_4 에 의한 간손상 실험동물 피부에 toluene을 도포한 경우 세포화학적 검사에서 H_2O_2 이 증가된 것은 피부조직에 있어서 유해산소의 생성효소 활성의 증가에도 불구하고 해독효소활성과 GSH 함량 감소에 기인된 결과로 생각된다.

V. 결 론

간손상 모델 실험동물의 피부에 toluene 도포시 피부조직의 형태학적 변화와 유해산소 대사기구를 관찰하고자 흰쥐에 50% CCl_4 (in olive oil)를 체중 100 g당 0.1 ml를 복강으로 2일 격으로 6회 투여후 급성 간손상을 유도한 다음 피부에 toluene을 5일간 연속 도포한 뒤 처치하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

피부조직의 미세구조변화에서 케라틴층이 완전히 실 되었으며, 세포연접이 부전되었고, 세포화학적 소견에서는 cerrous perhydroxide 과립이 기저층 부분과 진피층 부분에서 매우 강한 반응양상을 보였다.

피부조직의 cytochrome P450(CYP) 함량은 대조군 CCl_4 투여군, CCl_4 투여후 toluene 피부도포군의 세 군간에 별다른 차이를 볼 수 없었으나 xanthine oxidase 활성은 CCl_4 투여후 toluene 투여군이 대조군에 비하여 유의한($p < 0.05$) 증가를 보였다.

한편, CCl_4 의한 간손상의 실험동물의 피부에 toluene을 도포함으로써 피부조직의 superoxide dismutase 활성은 대조군에 비하여 유의한($p < 0.01$) 감소를 보였으며 catalase 활성은 현저하게 ($p < 0.001$) 감소됨과 더불어 간손상 실험동물에 비해서도 유의한($p < 0.01$) 감소를 보였다. 이때 피부조직의 glutathione peroxidase 및 GST 활성은 대조군에 비하여 감소되는 경향을 나타내었다. 그리고 CCl_4 투여후 toluene 피부도포군의 피부조직 glutathione 함

량 역시 대조군 및 CCl₄ 투여군 보다 유의한($p < 0.01$) 감소를 보였다.

이상 실험결과는 간손상 실험동물의 피부에 toluene 도포시 피부조직에 있어서 미세구조변화와 세포화학검사에서 H₂O₂ 과립의 출현은 유해산소 대사기구와 관련이 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- 1) Mathias CGT : The cost of occupational skin disease., Arch Dermatol., 121, 332-334, 1989.
- 2) Robbins SL : Pathologic basis of disease. In "Cellular injury and adaptation" (RS Cortran, V Kumar, SL Robbins, eds.), 9-12, WB Saunders. Com. Philadelphia.
- 3) Toby CG : Occupational medicine In "Occupational dermatoses" (Zenz C, Dickerson OB and Horvath EP, eds), Mosby. Philadelphia, 93-131, 1994.
- 4) Tucker SB and Key MM : Occupational skin disease. In "Environmental and occupational medicine" (2nd ed, William N, Rom, ed.), 551-560, 1992.
- 5) Mathias CGT : The cost of occupational dermatoses. In "occupational medicine" (3rd ed, Zenz, C, ed.), Mosby. Baltimore/Boston/Chicago, 93-128, 1994.
- 6) ACGIH(1989) : Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices, Cincinnati, OH, ACGIH, 1989-1990.
- 7) Boor JW and Hurtig HI : Persistent cerebellar ataxia after exposure to toluene. Ann. Neurol., 2(5), 440~442, 1977.
- 8) Rees DC, Knisely JS and Jordan S : Discriminative stimulus properties of toluene in the mouse. Toxicol. Appl. Pharmacol., 88(1), 97~104, 1987.
- 9) Zee-Cheng CS, Mueller CE and Gibbs HR : Toluene sniffing and severe sinus bradycardia. Ann. Intern. Med., 103(3), 482, 1985.
- 10) Vidrio H, Magos GA and Lorenzana-Jimenez M : Electrocardiographic effects of toluene in the anesthetized rat. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 279(1), 121~129, 1986.
- 11) Rosin J, Bartosz G and Wronska Nofer T : Studies on the effect of ethanol and/or toluene on rat erythrocytes. J. Appl. Toxicol., 8(5), 369~372, 1988.
- 12) Langman JM : Xylene : its toxicity, measurement of exposure levels, absorption, Metabolism and clearance. Pathology, 26(3), 301~309, 1994.
- 13) Toftgard R Nilsen OG and Gustafsson, JA : Dose dependent induction of rat liver microsomal cytochrome P-450 and microsomal enzymatic activities after inhalation of toluene and dichloromethane. Acta Pharmacol. Toxicol. Copenhagen, 51(2), 108-114, 1982.
- 14) Morris RJ : Toluene and hepatotoxicity. J. Occup. Environ. Med., 31(12), 1014~1015, 1989.
- 15) Grossrau R, Frederiks WM and Noorden CJ : Histochemistry of reactive oxygen-species(ROS)-generating oxidase in cutaneous and mucous epithelia of laboratory rodents with special reference to xanthine oxidase. Histochemistry, 94(5), 539~544, 1990.
- 16) Tabatabaie T and Floyd RA : Inactivation of glutathione peroxidase by benzaldehyde. Toxicol. Appl. Pharmacol., 141(2), 389-393, 1996.
- 17) Bocquet H, Bagot M and Roujeau JC : Drug-induced pseudolymphoma and drug hypersensitivity syndrome, Semin. Cutan. Med. Surg., 15(4), 250-257, 1996.
- 18) Rosas VE : Cholorance in the skin and liver injury, Int. J. Dermatol., 35(9), 643-645, 1996.
- 19) Read AE : Active "juvenile" cirrhosis considered as part of systemic disease and effect of corticosteroid therapy. Gut., 4, 378, 1963.
- 20) MacLachlan MJ : Chronic active("lupoid") hepatitis, Ann., Intern., Med., 62, 425, 1965.
- 21) Mistilis SP, Skyring AP and Blackburn CR : Natural history of active chronic hepatitis. I, (Clinical features, course, diagnostic criteria, morbidity, mortality and survival.) Austr. Ann. Med., 17(3), 214-223, 1968.
- 22) 채순남, 전태원, 윤종국 : 급성 간손상시 실험동물 피부조직에 있어서 oxygen free radical의 대사효소활성 변동, 대한의생명과학회지, 5(1), 51-58, 1999.
- 23) Rubin E, Hutterer F and Popper H : Cell proliferation and fiber formation in chronic carbon

- tetrachloride in toxication, a morphologic and chemical study, Am. J. Pathol., **42**, 715-728, 1963.
- 24) Hiroshi T : Percutaneous absorption of organic solvents, Ind. Health, **20**(4), 335-345, 1982.
- 25) Aebi H : Catalase in "Methods of Enzymatic Analysis." ed. HU Bergmeyer, Vol. 2, 673-684, Academic Press, New York, 1974.
- 26) Paglia ED and Valentine WN : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. J. Lab. Clin. Med., **70**(1), 158-169, 1967.
- 27) Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB : Glutathione S-transferase : The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem., **249**(22), 7130-7139, 1974.
- 28) Stirpe F and Della Corte E : The regulation of rat liver xanthine oxidase. J. Biol. chem., **244**(14), 3855-3863, 1963.
- 29) Martin JP, Dailey M and Sugarman E : Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. Arch. Biochem. Biophys., **255**(2), 329-336, 1987.
- 30) Omura T and Sato R : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes : Evidence for its hemoprotein nature. J. Biol. Chem., **239**, 2370-2378.
- 31) Ellman GL : Tissue sulfhydryl group. Arch. Biochem. Biophys., **82**, 70-77, 1959.
- 32) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., **193**, 265-275, 1951.
- 33) Scheffler WC : Statistics for the biological sciences., Addison-Wesley Co., USA, 84-89, 1980.
- 34) 한선일, 전태원, 윤종국 : 흰쥐에 있어서 피부노출 차단이 피부조직의 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. 대한의생명과학회지, **6**(1), 37-43, 2000.