

랫드의 기도로 투여된 투각섬석함유활석이 호흡기계에 미치는 영향 연구

정용현* · 한정희 · 강민구 · 이성배 · 김종규 · 김현영 · 양정선

산업안전보건연구원 화학물질안전보건센터

Toxicity of Talc Containing Tremolite asbestos on Respiratory System in Sprague-Dawley Rats

Yong Hyun Chung[†] · Jeong Hee Han · Min Gu Kang · Sung Bae Lee · Jong Kyu Kim · Hyeon Yeong Kim · Jung Sun Yang

Chemical Safety and Health Research Center, Occupational Safety & Health

Pulmonary toxicity of talc containing tremolite asbestos (TCT) has been studied in term sequential in Sprague-Dawley rats. UICC chrysotile(average diameter $0.03\mu\text{m}$, average length $2.93\mu\text{m}$) was applied as the positive control. TCT was analyzed for its physicochemical properties by transmission electron microscope equipped with energy dispersive X-ray spectrometer(TEM-EDS). The effects of 2mg TCT(talc average diameter $9.7\pm 8.4\mu\text{m}$; tremolite average diameter $1.6\pm 1.6\mu\text{m}$, average length $10.8\pm 7.0\mu\text{m}$) on pathological changes were evaluated after 1, 8 weeks instilled into rat lungs. 2mg Chrysotile continuously affected lung pathological changes. Inflammation and granuloma response broke out from 1 week after instilled with chrysotile and the pathological examination further showed increased legions of lung after 8 weeks. But TCT did not showed lung pathological changes. The biopersistence of TCT

and chrysotile was evaluated by TEM-EDS. Whereas chrysotile continuously have retained to 8 weeks instilled into rat lungs, talc of TCT showed statistically significant decrease of diameter from 1 weeks and statistically significant change in Si atomic % compositions at 8 weeks instilled into rat lungs. Physicochemical properties of tremolite of TCT were not affected until 8 weeks instilled into rat lungs. This study showed that the durability of TCT in the lungs is much weaker than chrysotile.

Key Words: Talc containing tremolite, rat, biopersistence, intratracheal instillation, TEM-EDS

접수일: 2010년 4월 7일, 채택일: 2010년 6월 1일

† 교신저자: 정용현(대전시 유성구 문지동 104-8번지 산업안전보건연구원,
Tel : 042-869-0344, Fax : 042-863-9001, E-mail : ch935@kosha.net)

I. 서론

최근 석면 광산 인근 주민의 석면폐증, 석면함유활석 제품 문제 등 석면과 관련된 사회적 문제들이 급증하여 석면에 대한 규제가 강화됨에 따라 석면대체재의 사용이 증가하고 있으나 석면대체재에 대한 관리는 미흡한 상태이다. 석면대체재로 사용되는 활석은 단사정계 광물로서 판상 또는 섬유상 집합체를 이루는 마그네슘 점토광물의 한 종류이다. 층상구조 광물로 경도는 1.0이며 비중은 2.6~2.8이다. 활석은 포함된 여러 미량 원소에 따라 여러 가지 색깔을 띠게 되며 열전도율이 낮고 전기 절연성을 가지며 쉽게 분말이 되는 특징이 있다. 활석 광물에는 녹니석(chlorite)과 탄산염(carbonate)이 자주 발견되지만, 어떤 활석 광산에서는 투각섬석, 직섬석(anthophyllite), 양기석(actinolite) 등이 발견되기도 하는데 이러한 광물이 석면형일 수도 있고 아닐 수도 있으므로 석면형 활석(asbestiform talc)과 구별이 되어야 한다(Harben & Kuzvart, 1996). 활석은 채광과정이나 제분과정에서 폭로되는 수준은 1-5mg/m³(기하평균) 정도이지만(Boundy 등, 1979; Gamble 등, 1982) 더 높은 수준으로 폭로되는 보고도 있다(Wild 등, 1995). 광물 생성 과정에서 투각섬석(tremolite)과 같은 발암물질과 혼합되어 있는 활석에 폭로되면 치명적일 수 있다. 2009년도 6월에 산업안전보건연구원에 활석 내 석면 분석을 위하여 의뢰된 경기도에 소재하고 있는 의약품 및 의약부의품제조업 39업체에서 사용 중인 활석 원료 40종에 대한 석면 함유 유무분석결과에서는 모든 활석 원료에서 석면이 검출되지 않았지만, 충주에 소재하고 있는 Y 업체의 활석 제품시료 16개 중 투각섬석(tremolite)이 검출된 시료가 7개가 나타났고 Y 업체에서 사용 중인 국내산 원석 2종과 중국산 원석 1종에서는 석면이 검출되지 않았다. Y 제조업체의 포장 공장에서 활석을 취급하고 있는 근로자는 6명이었으며 Y 업체의 월 활석 취급량은 3,700톤 정도였으며 사용용도는 대부분 페인트 첨가제로 사용되고 있었으며 공업용 그리고 농약 첨가제로도 일부 사용되고 있었다. 2009년 4월에 활석 내 석면 분석을 위하여 산업안전보건연구원에 의뢰된 국내산 원석 1종과 중국산 원석 2종을 분석한 결과 석면은 검출되지 않았으나 의뢰된 활석 제품 10종 중 2종에서는 투각섬석이 검출되었다.

활석은 2007년에 40개국 이상에서 7,620,000톤이 생산되었으며 중국(32%), 미국(10%), 인도(7%), 핀란드(7%), 프랑스(6%), 브라질(5%) 등에서 주로 생산되고 있다(USGS, 2007). 우리나라의 활석의 총 매장량은 8백만 톤 이상이나 최근 생산량은 국내 전체 소비량의 10% 정도로 1만 톤 정도를 유지하고 있다(한국광물자원공사, 2007; 한국지질자원연구원, 2008). 우리나라 중원군 일대의 활석광상은 백운암질 석회암으로부터 변질되어 형성된 활석광상으로 활석보다 투각섬

석(tremolite)이 다량 산출되어 투각섬석계 석면류광물(tremolite asbestos)을 함유할 가능성이 있으며, 충남지역의 활석광상은 사문암으로부터 변질되어 형성된 활석광상으로 사문석 중 비석면형인 안티고라이트(antigorite)가 주로 산출되지만 백석면(chrysotile)이 수반될 가능성이 있다(이와 박, 1998). 우리나라의 활석 국내 유통현황(환경부, 2009)은 2002년도에 955업체에서 약 24만 톤이 사용되었으며 2006년도에 1,115업체에서 약 23만 톤이 사용되었으며 전체 사용량 중 70% 이상이 중국에서 수입되었다. 우리나라의 활석은 총 46가지 용도로 사용되고 있는데 안료와 도료 그리고 잉크의 첨가제(32.6%), 제지용 필러(fillers)(27.8%), 접착제(10.7%), 안정제(6.7%), 합성수지(3.6%), 금속방청 및 방부제(0.9%) 등의 사용 용도로 82.4%가 사용되고 있으며, 부식억제제, 내화방염제, 고정제, 합성출발물질 및 중간체로 각각 0.2% 정도가 사용되고 있다. 활석을 사용하는 업종은 화합물 및 화학제품 제조업(39.5%), 펄프 및 종이제품 제조업(34.4%), 고무 및 플라스틱 제조업(9.0%), 기타 운송장비 제조업(8.9%), 비금속광물제품 제조업(3.3%) 등으로 알려져 있다. 미국에서는 2007년에 681,000톤이 생산되어 세라믹(31%), 페인트(19%), 제지(21%), 플라스틱(5%), 화장품(2%), 의약품의 증량제 등에 사용되었다(USGS, 2007).

활석은 산업안전보건법에서 관리대상 유해물질로 분류하고 있지 않으나 우리나라 노동부의 화학물질 및 물리적인자의 노출기준(노동부 고시 제 2007-25호)에 의하면 석면이 함유되어 있지 않는 활석의 노출기준은 2mg/m³으로 되어 있으며, 석면이 함유되어 있는 활석은 석면의 기준을 따르도록 되어 있다. 국제암연구소(IARC, International Agency for Research on Cancer, 2006)에서는 석면형 섬유를 함유한 활석을 Group 1(인체발암물질), 활석함유 바디파우더를 Group 2B(인체발암 가능물질), 석면형 섬유를 포함하지 않는 활석(흡입노출)을 Group 3(인체발암물질로 분류할 수 없는 물질)로 분류하고 있다.

본 연구는 우리나라에서 유통되었던 석면함유 베이비파우더에 대한 물리화학적인 특성을 분석하고 실험동물의 기도 내로 석면 함유 베이비파우더를 주입하여 호흡기에 미치는 영향과 생체내구성을 평가하고자하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

시험물질은 투각섬석함유활석을 사용하였으며, 양성대조물질로 사용한 백석면 표준품은 General Science

Coperation(Tokyo, Japan)에서 구입한 UICC 백석면을 사용하였다.

1) 특성 분석을 위한 시료제작

수집한 시료는 Sakai 등(1991)의 시료제작 방법에 따라 각 시료를 mortar에서 잘게 부수어, 증류수 100ml가 들어 있는 유리병에 1mg씩 넣고, 2시간 동안 초음파발생기(SWEEPZONE, Quantrex S280)로 분산시킨 후, polycarbonate membrane filter(Millipore GTTP 02500, nuclepore filter, pore size 0.2 μ m, diameter 25mm)에 흡인 여과하였다. 여과시킨 필터를 건조한 후 진공증착기(EMITECH, K950)를 사용하여 탄소막을 입히고, 그 필터를 carbon coated nickel grid(EMS CF200-Ni, diameter 3mm, 200mesh) 위에 올려놓고 chloroform vapor를 이용하여 12시간 동안 용해, 건조시켰다.

2) 분석 방법

제작된 grid는 EDS(Energy Dispersive X-ray Spectrometer, HORIBA, 7099H)가 장착된 투과전자현미경(HITACHI H-7100FA)을 사용하여 분석하였다. 투과전자현미경의 가속전압은 100kv로 하였다. 각 시료는 투과전자현미경으로 전반적으로 관찰한 후 10,000배 ~ 5,000배율에서 길이와 직경의 비율이 3:1이 넘는 10개의 섬유를 임의로 선정하여 섬유의 길이와 직경 등의 특성을 파악하고, EDS로 각 섬유의 구성원소 성분비율(atomic %)을 구하였다. 시험물질의 외형은 주사전자현미경(SEM, HITACHI S-3000N)을 이용하여 관찰하였다.

2. 시험동물 및 사육환경

시험동물은 특정병원체 부재동물(Specific Pathogen Free, SPF)인 Sprague-Dawley(SD) 랫드 수컷 7주령을 중앙실험동물(주)에서 분양 받아 barrier system의 동물실에서 14일간 순화시킨 후 건강하고 발육 양호한 동물을 사용하였다. 시험동물은 체중을 지표로 하여 대상군별 체중편차가 최소화 되도록 하여, 대조군 10마리, 백석면 투여군 10마리, 투각섬석함유활석 투여군 10마리 등으로 군을 구성하였다. 시험물질을 단회 투여한 각 군별 시험동물은 시험물질 투여 후 1주, 8주에 각 군별로 5마리씩을 병리검사, 전자현미경과 EDS 분석 등에 사용하였다.

동물사육실은 온도 22 \pm 3 $^{\circ}$ C, 상대습도 50 \pm 20%, 환기회수 13 ~ 18회/hr, 조명시간 12시간(오전 9시 ~ 오후 9시) 및 조도 150 ~ 300 Lux로 설정되었으며, 사료는 방사선 멸균된 실험동물용 고형사료(Labdiet 5002PMI)를 구입하여 자유롭게 섭취시켰다. 물은 미세여과기 및 자외선을 이용하여 여과, 소독된 상수도수를 자유로이 섭취시켰다. 모든 동물은 전 시험기간 동안 스테인레스 망사육상자(280W \times 500L \times 200H mm)

에 1마리씩 수용하였다. 시험기간 중 개별케이지에는 시험번호 및 동물번호를 기입한 개체식별 라벨을 붙였다.

3. 투여경로 및 투여방법

시험동물은 Ketamin(유한양행)으로 마취한 후, 시험물질은 잘게 갈아서 자동 멸균하여 시험동물 한 마리당 2mg/0.3ml in saline 농도로 시험동물의 기도내로 투여(intratracheal instillation) 하였다(Bellmann & Muhle, 1997).

4. 체중측정 및 임상증상관찰

시험동물에 대한 임상증상관찰은 동물 도입 후 매일 1회 모든 시험동물에 대해 관찰하였다. 체중측정은 군분리시와 시험물질 투여 후 매 1주마다 8주간 측정하였다.

5. 병리검사

1) 임상관찰 및 육안 검사

모든 시험동물에 대하여 1일 1회 임상관찰을 실시하고, 부검시 모든 시험동물에 대하여 에어레인(Isoflurane, Ilsung Pharm, Korea)으로 시험동물을 마취시켜 복대동맥에서 채혈한 후 전 장기에 대하여 육안 검사를 하였다.

2) 장기중량 측정 및 조직 검사

모든 시험동물은 부검하여 폐 중량을 측정하였다. 채취한 폐 장기는 10% 중성포르마린 용액에 고정하였다. 고정된 오른쪽 폐 장기조직은 탈수한 후 파라핀 포매하고 마이크로톰으로 박절한 후 Masson's trichrome 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다. 고정된 왼쪽 폐 장기는 폐 내의 fiber 분석을 위한 투과전자현미경 시료제작에 사용하였다.

6. 폐내 fiber 분석

10% 중성포르마린에 고정시킨 후 왼쪽 폐 조직은 동결건조기(FD8505, Ilsin Lab.)에서 하룻밤 건조시킨 다음, 폐 무게를 측정 후 저온회화로(Low Temperature Plasma Asher, Yamato, Japan)에 산소를 공급하면서 12시간 동안 회화시켰다. 회화된 폐 조직은 Fiber free 증류수에 녹여 nucleopore filter에 여과하고, 필터를 건조한 후 진공증착기를 사용하여 탄소막을 입히고, 그 필터를 carbon coated nickel grid 위에 올려놓고 chloroform vapor를 이용하여 12시간 동안 용해시킨 후 건조시켜 고정된 후 폐내 섬유 측정을 위한 시료로 사용하였다. 시험동물에 시험물질을 기도 내로 투여하기 전의 시험물질 분석방법과 같은 조건으로 투과전자현미경과 EDS를 이

용하여 각 동물의 폐 시료에서 10개의 fiber를 선정하여 각 fiber의 성분을 분석하였다.

7. 통계처리

시험물질 분석, 체중, 폐 무게, 등 시험결과는 평균과 표준편차로 표시하였으며, 통계 프로그램 SPSS를 이용하여 비모수검정법인 일원배치분산분석(one-way ANOVA)법으로 검정하였다. 일원배치분산분석에서 유의성이 인정된 자료는 Dunnett 다중비교법을 이용하여 유의성을 검정하였다. 폐내 fiber 분석은 t-test로 유의성을 검정하였다.

III. 연구결과

1. 시험물질 특성분석

EDS가 부착된 투과전자현미경과 주사전자현미경을 이용하여 파우더로 사용되고 있는 석면함유 활석의 형태를 살펴보고 원소구성비를 분석 결과, 파우더에는 활석에 투각섬석

(tremolite)이 1% 미만 함유되어 있었으며, 투각섬석함유활석(talc containing tremolite) 내 활석은 입자상을 보였으며 투각섬석함유활석 내 투각섬석은 섬유상을 보였다. 투각섬석함유활석 내 활석(평균직경 $9.7 \pm 8.4 \mu\text{m}$)은 양성대조물질로 사용된 백석면(평균직경 $0.03 \mu\text{m}$, 평균길이 2.93 ± 2.83) 보다 300배 이상 굵은 모양을 보였고, 투각섬석함유활석 내 투각섬석(평균직경 $1.6 \pm 1.6 \mu\text{m}$, 평균길이 $10.8 \pm 7.0 \mu\text{m}$)은 백석면보다 약 50배 이상 굵은 모양을 보였다(table 1, figure 1). 시험물질의 크기(직경) 분포는 백석면은 $1.0 \mu\text{m}$ 미만이 100%인데 비하여 활석은 $5 \mu\text{m}$ 이상이 74%였으며 투각섬석은 $5 \mu\text{m}$ 이하가 90%였다(table 2). 시험물질의 구성원소를 분석한 결과, 백석면은 Mg 58.07%, Si 40.50%, Fe 1.43% 으로 나타났으나, 활석은 Mg 43.0%, Si 57.01%로 나타났으며 투각섬석은 Mg 34.68%, Si 54.38%, Ca 10.91%, Fe 0.06%로 나타났다(table 1).

2. 체중 변화

시험물질 투여 후 1주일 간격으로 체중변화를 측정한 결과, 투여 후 1주차에 대조군에 비하여 백석면 투여군에서는 유의한 차이($p < 0.01$)를 보였으나, 2주후부터 시험 종료시점까지

Table 1. Size and element composition of chrysotile and talc containing tremolite.

| | Diameter (μm) | Length (μm) | Element Composition (Atomic %) |
|---------------------------|----------------------------|--------------------------|---|
| Chrysotile (n=20) | 0.030 ± 0.015 | 2.93 ± 2.83 | Mg 58.07 ± 0.82 Si 40.50 ± 0.92 Fe 1.43 ± 0.13 |
| Talc (n=50) | 9.7 ± 8.4 | - | Mg: 43.00 ± 2.76 Si: 57.01 ± 2.76 |
| Talc containing tremolite | | | |
| Tremolite (n=10) | 1.6 ± 1.6 | 10.8 ± 7.0 | Mg: 34.68 ± 0.67 Si: 54.38 ± 0.75 Ca: 10.91 ± 0.67 Fe: 0.06 ± 0.13 |

All values are expressed as mean \pm SD

Table 2. Size distribution of chrysotile and talc containing tremolite.

| | Diameter (μm) | | | Length (μm) | | |
|----------------------------|----------------------------|---------|------------|--------------------------|-------|-----------|
| | <1.0 | 1.0-5.0 | ≥ 5.0 | <10 | 10-50 | ≥ 50 |
| Chrysotile(n=20) | 100% | - | - | 85% | 15% | - |
| Talc containing talc(n=50) | 6% | 20% | 74% | - | - | - |
| tremolite Tremolite(n=10) | 40% | 50% | 10% | 50% | 50% | - |

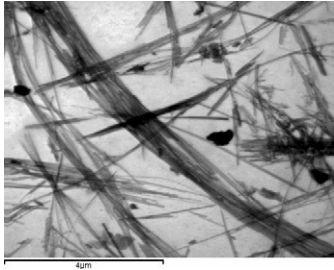
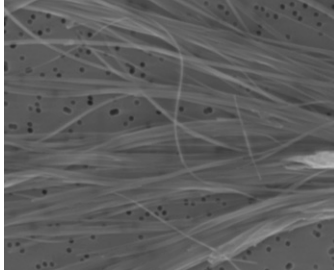
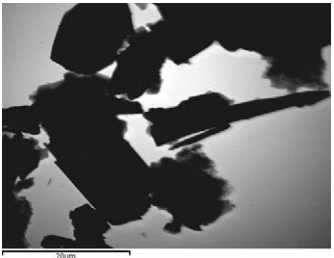
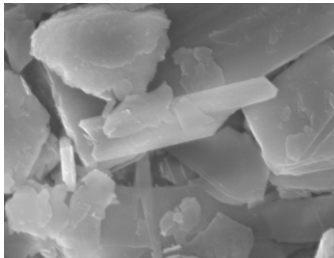
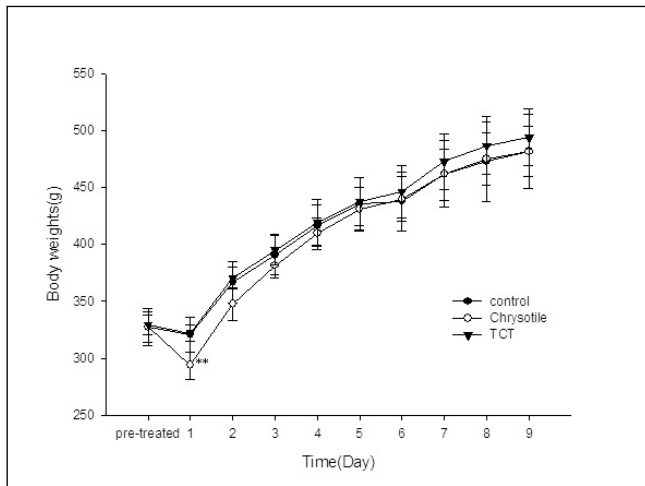
| Material (Magnification) | TEM | SEM |
|---------------------------------------|---|--|
| Chrysotile (×10,000) |  |  |
| Talc containing tremolite (×5,000) |  |  |

Figure 1. TEM and SEM image of chrysotile and talc containing tremolite.

모든 군에서 통계적 유의성은 나타나지 않았다(figure. 2).



TCT=talc containing tremolite
Significant differences as compared with control :
** p < 0.01

Figure 2. Body weight change of SD male rats after instillation.

3. 병리검사

1) 폐 무게 변화

시험물질을 투여한 후 시간경과별로 폐 무게를 측정하고, 대조군에 비하여 백석면 투여군은 절대 장기무게와 체중에 대한 장기무게의 비율로 계산한 상대 폐 무게에서 통계적으로 유의한 증가($p < 0.01$)를 보였으나 투각섬석함유활석 투여군에서는 유의한 변화가 없었다(table 3).

2) 임상관찰 및 육안검사

시험물질 투여 후 8주간 동안 모든 시험동물에 대한 임상관찰 결과, 시험물질에 의한 특별한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 시험물질 투여 후 시간 경과별로 시험동물을 희생하여 모든 장기에 대한 육안 검사 결과에서 시험물질에 의한 특별한 증상은 관찰되지 않았다.

3) 조직 병리검사

시험물질 투여 후 시간 경과별로 시험동물을 희생하여 오른쪽 폐 조직을 절취하여 광학현미경으로 폐 조직을 관찰한 결과(table 4, figure 3, 4), 백석면 투여군은 투여 후 1주일에 시험동물 5마리 중 3마리에서 염증반응 (granuloma)을 보이기 시작하여 투여 후 8주 후에는 염증 반응이 모든 시험동물에서 나타났으나, 투각섬석함유활석 투여군에서는 시험기간

Table 3. Right lung weight of SD male rats of 8 weeks after instillation.

| | | Absolute lung weight (unit : mg) | Relative lung weight (unit : %) |
|---------------------------|---------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Control | 1 week | 840.6 ± 52.9 | 0.227 ± 0.015 |
| | 8 weeks | 920.4 ± 69.9 | 0.201 ± 0.019 |
| Chrysotile | 1 week | 992.6 ± 70.4** | 0.280 ± 0.025** |
| | 8 weeks | 1135.0 ± 35.5** | 0.236 ± 0.014** |
| Talc containing tremolite | 1 week | 828.2 ± 73.1 | 0.230 ± 0.014 |
| | 8 weeks | 991.0 ± 58.6 | 0.201 ± 0.014 |

All values are expressed as mean ± SD
 Significant differences as compared with control : ** p < 0.01

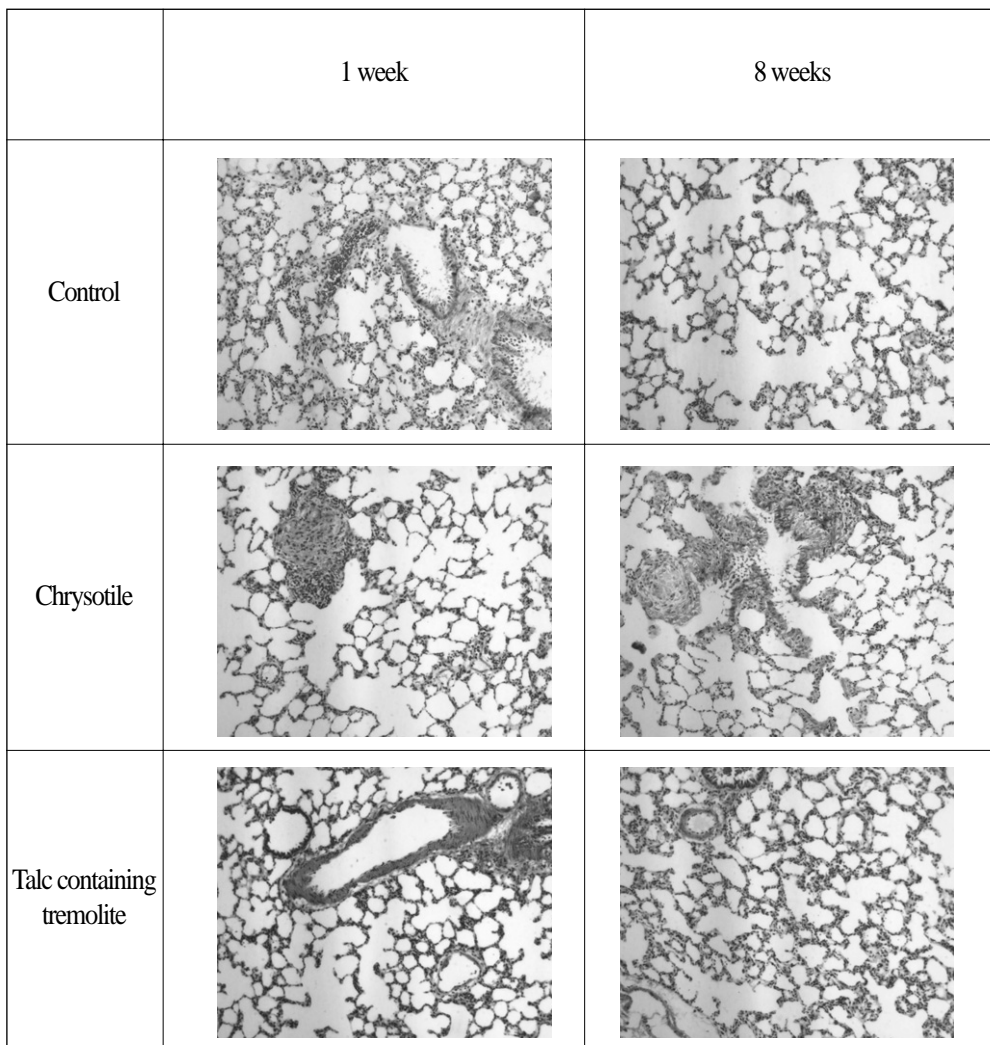


Figure 3. Histopathology of the lung of SD male rats instilled chrysotile and talc containing tremolite. Chrysotile ; granuloma and slight fibrosis. (Masson' trichrome, x 100, SD rat).

Table 4. Histopathological finding of lungs of SD male rats of 8 weeks after instillation

| | Control | | Chrysotile | | Talc containing tremolite | |
|---------|-----------|----------|-----------------|----------|---------------------------|----------|
| | granuloma | fibrosis | granuloma | fibrosis | granuloma | fibrosis |
| 1 week | 0/5 | 0/5 | ***3/5 | #3/5 | 0/5 | 0/5 |
| 8 weeks | 0/5 | 0/5 | ***4/5 **1/5 | #5/5 | 0/5 | 0/5 |

*** : granuloma +++, ** : granuloma ++, * : granuloma +
slight fibrosis

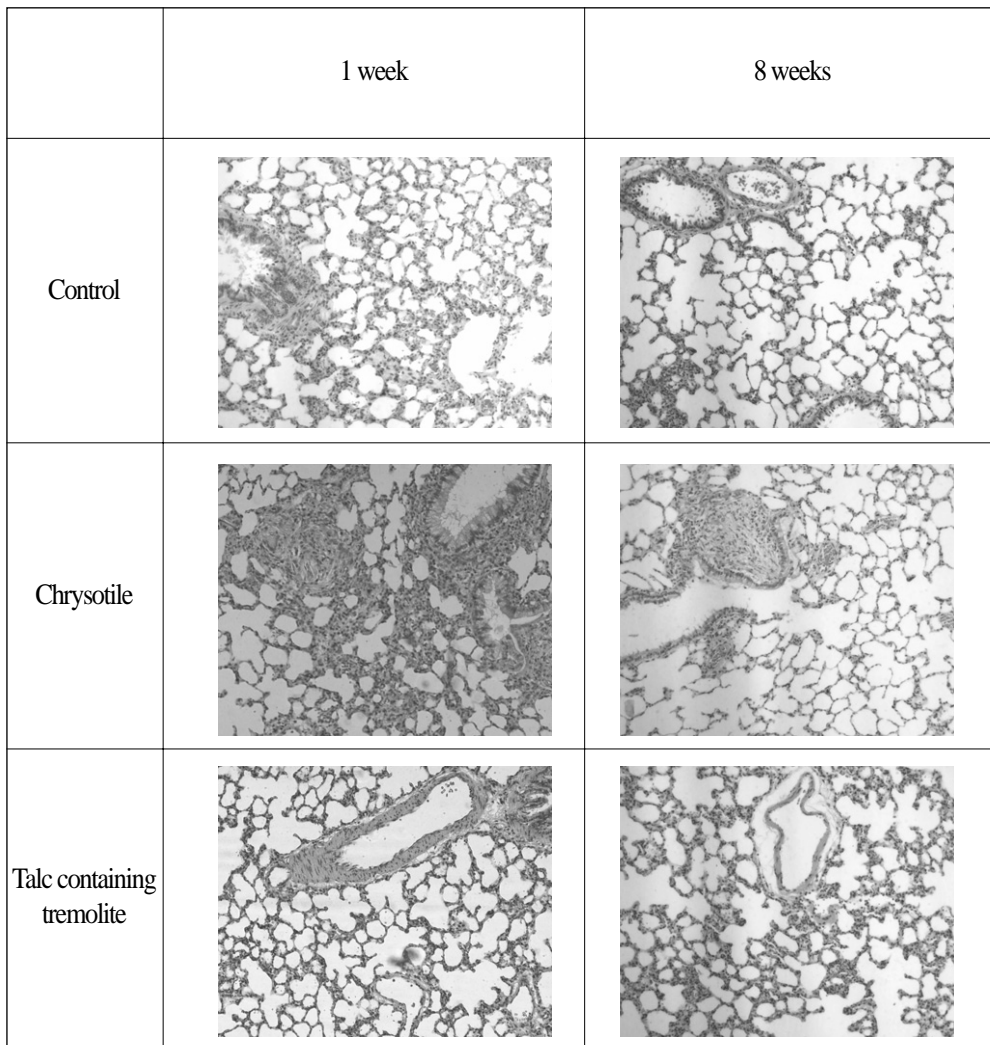


Figure 4. Histopathology of the lung of SD male rats instilled chrysotile and talc containing tremolite. Chrysotile ; granuloma and slight fibrosis. H&E staining (X 100)

중 모든 시험동물에서 염증반응이 나타나지 않았다. 폐조직의 섬유화를 감별하기 위하여 Masson's trichrome 염색을 하여 광학현미경으로 관찰한 결과에서는 백석면 투여군에서는 백석면 투여 후 1주의 시험동물 5마리 중 3마리에서 나타나기 시작하여 백석면 투여 후 8주에는 모든 시험동물에서 섬유증(slight fibrosis)를 관찰할 수 있었으나, 투각섬석함유활석

투여군에서는 시험기간 중 모든 시험동물에서 섬유증을 관찰할 수 없었다.

1) 폐 조직 내 입자의 형태 변화 및 농도 분석

백석면과 투각섬석함유활석을 한 마리당 2mg/0.3ml in saline 농도로 시험동물의 기도 내로 단회 투여하고 1주, 8주 후에 부검하여 각 동물의 폐 내의 입자를 투과전자현미경의

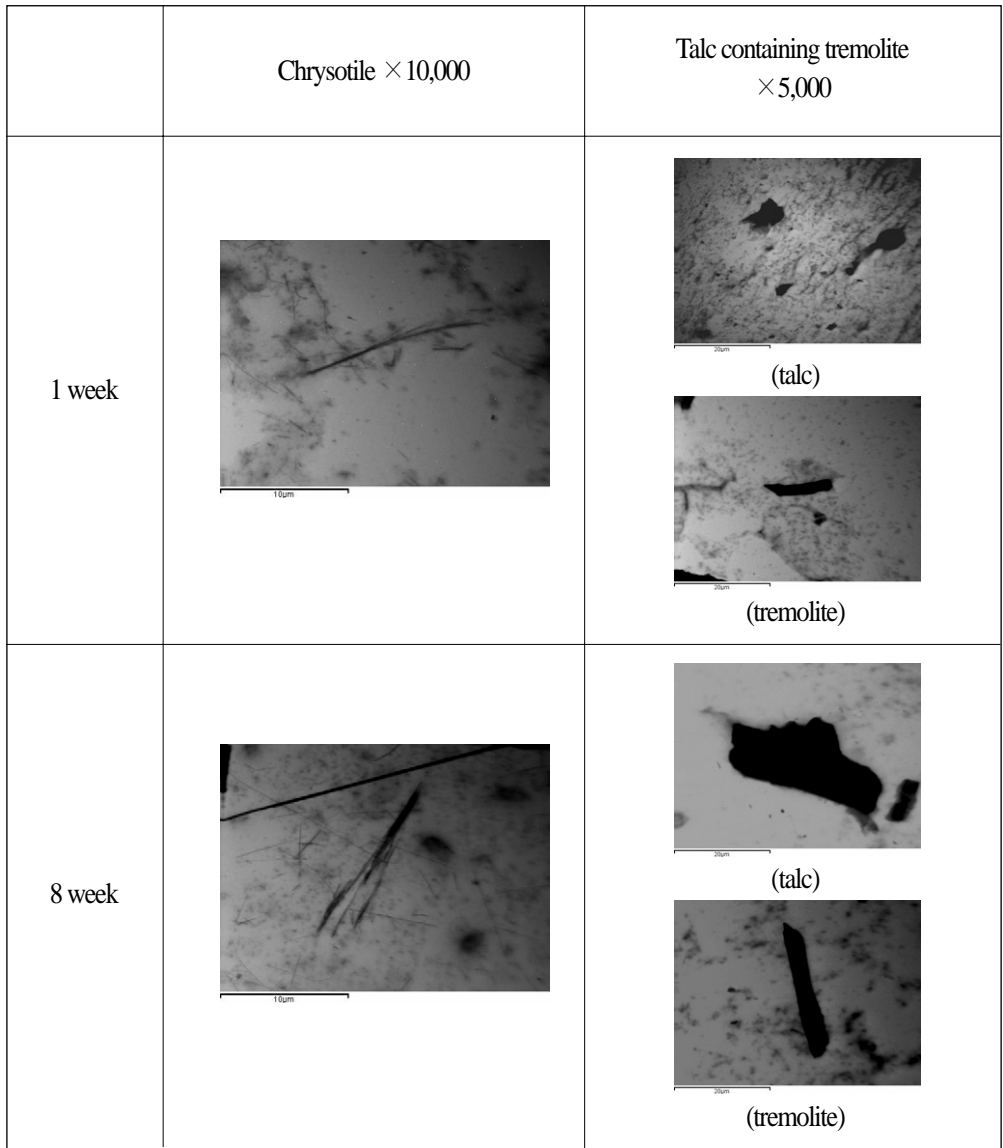


Figure 5. STEM image of fibers in the lung of SD male rats after instillation.

Table 5. Change of diameter(μm) from lung of SD male rats instilled chrysotile and talc containing tremolite.

| | Chrysotile | Talc containing tremolite | |
|---------|---------------|---------------------------|--------------|
| | | Talc | Tremolite |
| Before | 0.030 ± 0.015 | 9.7 ± 8.4 | 1.59 ± 1.588 |
| 1 week | 0.027 ± 0.013 | 5.4 ± 8.1 ** | 0.59 ± 0.384 |
| 8 weeks | 0.026 ± 0.013 | 4.1 ± 5.4 ** | 0.53 ± 0.353 |

All values are expressed as mean ± SD
 Significant differences as compared with control : ** p < 0.01
 Talc No. = 50, Tremolite No.=10, Chrysotile No.=20

Table 6. Change of diameter size(μm) distribution(%) from lung of SD male rats instilled talc containing tremolite.

| | Chrysotile | | Talc containing tremolite | | | | |
|---------|------------|------|---------------------------|------------|-----------|---------|------------|
| | | | Talc | | Tremolite | | |
| | <1.0 | <1.0 | 1.0-5.0 | ≥ 5.0 | <1.0 | 1.0-5.0 | ≥ 5.0 |
| Before | 100% | 6% | 20% | 74% | 40% | 50% | 10% |
| 1 week | 100% | 24% | 44% | 32% | 90% | 10% | |
| 8 weeks | 100% | 18% | 54% | 28% | 90% | 10% | |

Talc No. = 50, Tremolite No.=10, Chrysotile No.=20

Table 7. Change of Si atomic % from lung of SD rats instilled chrysotile and talc containing tremolite.

| | Chrysotile | Talc containing tremolite | |
|---------|------------------|---------------------------|------------------|
| | | Talc | Tremolite |
| Before | 40.50 \pm 0.92 | 57.01 \pm 2.76 | 54.35 \pm 0.75 |
| 1 week | 45.35 \pm 2.59 | 56.85 \pm 1.56 | 54.38 \pm 1.06 |
| 8 weeks | 41.76 \pm 0.97 | 60.11 \pm 1.66** | 54.38 \pm 2.40 |

All values are expressed as mean \pm SD

Significant differences as compared with control : ** p < 0.01

Chrysotile No.=20, Talc No. = 50, Tremolite No.=10

로 관찰한 결과(**figure 5, table 5**), 투각섬석함유활석을 시험동물에 투여하기 전에는 투각섬석함유활석 내 활석의 평균직경이 $9.7 \pm 8.4 \mu\text{m}$ 이었으나 기도 내로 주입 후 1주에서는 $5.4 \pm 8.1 \mu\text{m}$ 로 유의한 변화를 보였으며 투여 후 8주에는 $4.1 \pm 5.4 \mu\text{m}$ 로 유의한 변화를 보였으나, 시험동물에 투여된 투각섬석함유활석 내 투각섬석은 유의한 변화가 없었다. 백석면 투여군에서도 유의한 변화가 없었다. 시험물질을 기도 내로 투여 후 시간 경과에 따른 시험 물질의 크기(직경) 분포 변화는 백석면은 투여 후 변화가 없었으나, 투각섬석함유활석 내 활석은 시험동물에 투여하기 전에는 $5 \mu\text{m}$ 이상이 74%였으나 시험물질 투여 후 1주에는 $5 \mu\text{m}$ 이상이 32%로 줄어들었고 투여 후 8주에는 28%로 줄어들었으며, $1 \mu\text{m}$ 미만은 투여 전에는 6%였으나 투여 후 1 주에서는 24%, 투여 후 8주에서는 18%로 늘어났다(**table 6**). 투각섬석함유활석 내 투각섬석은 시험물질 투여 전에는 $1 \mu\text{m}$ 이상이 60%였으나 시험물질 투여 후 1주에는 $1 \mu\text{m}$ 이상이 10%로 줄어들었으며 투여 후 8주에도 $1 \mu\text{m}$ 이상이 10%로 시간이 경과하여도 변화는 없었다(**table 6**).

2) 폐 조직 내 입자의 원소변화 분석

시험물질의 시간 경과별 생체내구성을 비교하기 위하여 시험물질을 시험동물의 기관내로 1회 투여하고 투여 후 시간 경과별로 시험동물을 해부하여 시험물질별로 폐 내에서의 시험물질의 원소변화(Si 기준)를 투과전자현미경과 EDS를 이용하여 분석한 결과, 백석면과 투각섬석함유활석 내 투각섬석은 시험경과 별로 유의한 변화가 없었으나, 투각섬석

함유활석 내 활석은 투여 전에는 Si가 $57.01 \pm 2.76\%$ 이었으나 시험물질 투여 후 8 주에서는 Si가 $60.11 \pm 1.66\%$ 로 유의한 변화($p < 0.05$)를 보였다 (**table 7**).

IV. 고 찰

그동안의 활석에 대한 역학조사 결과를 살펴보면 활석에 함유된 조성물에 따라 역학조사 결과는 지역적으로 다양하게 나타난다(Baan, 2007). 미국 뉴욕 활석 광산 근로자 4명에서 중피종이 발생한 바 있으나(Vianna 등, 1981) 이 지역의 활석에는 석면형 투각섬석과 석면형 직섬석이 함유되어 있었으며(Kleinfeld 등, 1973), 이 지역에서 15년 이상 종사한 근로자 260명에 대한 조사에서는 폐암이나 흉막암 사망률(mortality)이 3배가 증가하였고 1명의 중피종 환자가 발견되었다(Kleinfeld 등, 1974). 미세한 투각섬석이 포함된 활석에 폭로된 이탈리아의 광산 및 제분소 근로자에 대한 조사에서는 유의한 규폐증(silicosis) 발생이 보고된 바 있으나(Rubino 등, 1976), 최근 이 지역에 대한 새로운 조사에서는 비악성 호흡기 질환의 증가에 의한 활석 취급 광산 근로자의 총 사망률은 증가하였으나 폐암을 포함한 모든 암에 의한 사망률은 증가하지 않았으며 중피종의 발생도 없었다(Coggiola 등, 2003). 석면은 함유되지 않고 0.25% 이하의 호흡성 실리카가 함유된 활석에 폭로된 미국 버몬트 활석 광산 및 제분소 근

로자 조사에서는 호흡성 암이 평균 이상으로 나타났다고 하였지만 조사 대상의 근로자는 담배 연기에서 검출되는 유해 방사선 분자(radon daughters)에 폭로되었으며 흡연 유무는 알 수 없었다(Selevan 등, 1979). 석면은 함유되지 않고 석영(quartz)이 0.5%-3% 함유된 프랑스의 활석 취급 근로자 조사에서는 비악성 호흡성질환이 나타났으나(Leophonte 등, 1983), 최근 이 지역에 대한 새로운 조사에서 통계적으로 유의한 암에 의한 사망률의 증가는 나타나지 않았다(Wild, 2000). 마그네사이트와 1% 미만의 석영과 석면(투각섬석, 직섬석)이 함유된 활석을 취급한 노르웨이의 광산 및 제분소 근로자에 대한 조사에서는 최고 높은 농도에 폭로된 근로자 80명 중 6명에서 암이 발생하였으나 폐암이나 중피종의 발생은 없었다(Wergland 등, 1990). Wild 등(2002)의 조사에 의하면 오스트리아 지역의 활석 취급 근로자에서 폐암을 포함한 모든 암의 증가는 없었으며, 활석에 폭로된 프랑스와 오스트리아 폐암 환자 30명에 조사에서 연간 활석 누적폭로량 증가에 의한 폐암의 증가는 없었으며, 흡연이나 석영 폭로 그리고 지하 작업도 이러한 결과를 변화시키지는 않았다고 하였다. Wild(2006)가 미국(Selevan 등, 1979), 프랑스(Wild, 2000), 오스트리아(Wild 등, 2002), 노르웨이(Wergland 등, 1990) 그리고 이탈리아(Coggiola 등, 2003) 등의 비석면형 활석을 취급한 근로자의 폐암 사망률을 조사한 결과 5나라의 활석 제분소 근로자의 표준 사망률(SMR)은 0.92(95% CI, 0.67-1.25)였으며, 이탈리아와 노르웨이 그리고 미국의 활석 광산 근로자의 표준 사망률은 1.20(95% CI, 0.86-1.63)으로 나타났다. Siemiatycki(1991)가 캐나다에서 다양한 종류의 암 환자 20명을 포함한 다양한 업종의 근로자 4000명을 대상으로 조사한 결과에서는 활석 폭로는 발암성 증가와는 통계적으로 유의성이 없었다. 2006년 IARC에서는 이러한 조사 자료를 근거로 석면을 함유하지 않거나 석면형 섬유를 함유하지 않은 흡입된 활석은 사람의 발암성에 대한 충분한 증거가 될 수 없는 group 3로 분류하였다.

미국 NTP(National Toxicology Program, 1993)에서 활석(최대 입자크기 10 μm)을 0, 6, 18 mg/m^3 으로 Fischer 344N 랫드에 일일 6시간, 주 5회, 113주(수컷) 혹은 122주(암컷) 동안 폭로시킨 결과, 시험동물의 생존율은 대조군과 유사하였으며 활석에 폭로된 시험동물에서 뚜렷한 임상 증상이 나타나지는 않았고, 활석에 최고 농도로 폭로된 암컷 랫드군에서는 유의한($p < 0.001$) 종양(alveolar/bronchiolar carcinoma or adenoma and carcinoma)이 나타났으며 수컷 랫드에서는 호흡기 종양은 대조군과 비슷하게 나타났다. 또한 B6C3F₁ 마우스에 랫드와 동일한 농도로 104주간 활석을 폭로시킨 시험결과에서는 활석 폭로군의 생존율이나 최종 평균 체중은 대조군과 유사하였으며 활석 폭로군에서 특이한 임상증상이 관찰되지 않았다.

병리조직학적 소견에서도 유의한 종양의 증가를 볼 수 없었다(National Toxicology Program, 1993). IARC는 2006년 NTP 동물시험 결과를 평가한 후 석면형섬유나 석면이 함유되지 않은 활석은 동물시험에서 제한적인 증거만 있으므로 사람 발암성으로 분류할 수 없다고 평가하였다(group 3).

본 연구에서 시험물질 투여 후 시간경과별로 폐 무게를 측정한 결과에서 투각섬석함유활석 투여군에서는 시간경과별로 폐 무게의 유의한 변화가 없었으나, 백석면 투여군은 투여 후 1주군과 투여 후 8주군은 유의한 폐 무게의 증가를 보였다. 백석면 투여군에서 나타난 폐 무게의 증가는 주입된 백석면에 의한 염증세포의 유입과 부종 그리고 collagen 축적으로 인한 것으로(Porter 등, 2004), 백석면을 투여한 후 각 시험동물의 폐 조직을 시간경과별로 관찰한 폐 조직병리검사에서 시간경과별로 나타난 염증반응과 같은 경향을 보였다. 투각섬석함유활석 투여군에서는 폐 무게의 유의한 변화가 없었으며 투각섬석함유활석을 투여한 후 폐 조직을 시간경과별로 관찰한 폐 조직병리검사에서 특이한 병변이 발견되지 않은 것과 일치하였다.

본 연구에서 시험물질의 시간 경과별 생체내구성을 비교하기 위하여 시험물질 투여 후 시간 경과별로 시험동물의 폐 내의 시험물질을 투과전자현미경으로 관찰한 결과, 백석면이 투여된 시험동물 폐 조직 내의 백석면의 구성성분과 크기는 유의한 변화는 없어서 백석면은 생체내구성이 매우 강한 물질로 판단되었다. 일반적으로 모든 각섬석(amphibole minerals) 특히 투각섬석은 강산에 의한 화학적인 공격에 매우 저항력이 커서 흡입될 경우 생체내구성이 강할 것으로 예측되는데(Addison 과 Davies, 1990), 본 연구에서도 시험동물에 투여된 투각섬석함유활석 내 투각섬석은 시간이 경과하여도 구성성분과 크기가 유의한 변화가 없었다.

활석의 폐 내 생체내구성을 평가한 결과 1 μm 입자의 활석의 최대 체류시간이 8년으로 예측되었지만(Jurinski & Rimstidt, 2001), 본 연구에서 투각섬석함유활석 내 활석은 기도 내로 주입 후 1주에서는 평균직경이 $5.4 \pm 8.1 \mu\text{m}$ 였으나 주입 후 8주에는 평균직경이 $4.1 \pm 5.4 \mu\text{m}$ 로 유의한 감소를 보였다. 이러한 결과는 시험동물 폐 내의 활석은 시간이 경과됨에 따라 용해되어 나타나는 현상으로 판단되었다.

본 연구에서 시험물질을 기도 내로 주입 후 시간 경과에 따른 시험 물질의 크기(직경) 분포 변화는 백석면은 주입 후 변화가 없었으나, 투각섬석함유활석 내 활석은 시험물질 주입 후 1주에는 5 μm 이상이 32%였으나 주입 후 8주에는 28%로 줄어들었으며, 1 μm 미만은 주입 후 1주에서는 24%였으나 주입 후 8주에서는 18%로 줄었다(table 6). 이러한 크기 분포의 변화는 활석이 시간이 지남에 따라 용해되어 활석의 크기가 줄어들어서 나타나는 현상으로 판단되었다. 본 연구에서 투각

섬석함유활석 내 투각섬석은 시험물질 주입 후 시간이 경과하여도 크기 분포의 변화는 없었지만(table 6), 시험물질로 사용된 투각섬석함유활석의 크기 분포 변화가 시험동물의 기도 내로 주입하기 전과 주입한 후의 크기 분포 변화가 큰 이유는 시험물질을 시험동물의 기도 내 주입과정에서 투각섬석함유활석의 크기가 백석면에 비하여 활석은 300배 이상 크고 투각섬석은 50배 이상 크기 때문에 폐 실질까지 도달하기가 어려웠기 때문으로 판단되었다.

본 연구에서 시험물질의 시간 경과별 생체내구성을 비교하기 위하여 시험물질별로 폐 내에서의 시험물질의 원소변화(Si 기준)를 분석한 결과, 백석면과 투각섬석함유활석 내 투각섬석은 시험경과 별로 유의한 변화가 없었으나, 투각섬석함유활석 내 활석은 투여 전에는 $57.01 \pm 2.76\%$ 이었으나 시험물질 투여 후 8주에서는 $60.11 \pm 1.66\%$ 로 유의한 변화($p < 0.05$)를 보였다(table 7). 이러한 변화는 활석이 시험물질의 폐 조직 내에서 시간이 지남에 따라 용해되어 활석 구성원소의 변화가 일어난 결과로 판단되었다.

V. 결론

1% 미만의 투각섬석이 함유된 활석(활석 평균직경 $9.7 \pm 8.4 \mu\text{m}$, 투각섬석 평균직경 $1.6 \pm 1.6 \mu\text{m}$) 2mg을 랫드의 기도내로 1회 주입하고 1주 후, 8주 후 시간 경과별로 호흡기계 내에서의 변화를 살펴본 결과, 투각섬석함유활석이 주입된 시험동물의 폐 조직에서는 시간이 경과하여도 염증반응은 나타나지 않았으며, 투각섬석함유활석 내 활석은 랫드의 폐 조직 내에서 시간이 지남에 따라 용해되어 크기 변화 및 구성원소의 변화가 쉽게 일어나 백석면보다 생체내구성이 약한 것으로 나타났지만, 투각섬석함유활석 내 투각섬석은 랫드의 폐 조직 내에서 시간이 지나도 용해되지 않아 생체내구성이 강한 것으로 나타났다. 이러한 결과로 활석 내에 1% 미만의 투각섬석이 함유되어 있는 활석은 호흡기계 염증을 유발하지는 않지만, 활석 내 투각섬석은 생체내구성이 강하여 지속적으로 폐 조직 내에 남아 있으므로 활석 취급 근로자의 건강 보호를 위하여 활석에 대한 석면 함유 유무를 지속적으로 관리하여야 한다고 판단되었다.

REFERENCES

노동부. 화학물질 및 물리적인자의 노출기준 (고시 제 2007-25호). 2007.
이인성, 박희인. 한국의 광상. 1998. (238쪽)

한국광물자원공사. 광물자원매장량 현황. 2007.
한국지질자원연구원. 2007년도 광산물수급현황. 2008.
환경부. 회의자료 626호. 2009.
Addison J, Davies, L.S.T. Analysis of amphibole asbestos in chrysotile and other minerals. *Ann. Occup. Hyg.* 1990;34:159-175
Baan RA. Carcinogenic hazards from inhaled carbon black, titanium dioxide, and talc not containing asbestos or asbestiform fibers: recent evaluations by an IARC monographs working group. *Inhalation Toxicology.* 2007;213-228
Bellmann B, Muhle H, Kamstrup O, Graeger UF. Investigation of the biodurability of man made vitreous fibers ion rat lungs. *Environ Health perspect* 1997;102(suppl 5): 185-189
Boundy MG, Gold K, Martin KP, Jr. Burgess WA and Dement JM. Occupational exposure to non-asbestiform talc in Vermont. dust and disease, eds. Lemen R. and Dement M. Park Forest South, IL: Pathotox; 1979. p.365-378.
Coggiola M, Bosio D, Pira E, Piolatto PG, La Vecchia C, Negri E. Michelazzi M. and Bacaloni A. An update of a mortality study of talc miners and millers in Italy. *Am. J. Ind. Med.* 2003;44:63-69
Gamble J, Greife A. and Hancock J. An epidemiological industrial hygiene study of talc workers. *Ann. Occup. Hyg.* 1982; 26:(1-4):841-859
Harben PW and Kuzvart M. eds. Talc and soapstone. In *Industrial minerals: A global geology.* London: Industrial Minerals Information Ltd Metal Bulletin;1996. p.407-417.
IARC(International Agency for Research on Cancer) : Preamble to the IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans. <http://monographs.iarc.fr/monoeval/premable-new-06.pdf>. Accessed March 2006.
Jurinski JB and Rimstidt JD. Biodurability of talc. *Am. Mineral.* 2001;86:392-399
Kleinfeld M, Messite J and Langer AM. A study of workers exposed to asbestiform minerals in commercial talc manufacture. *Environ. Res.* 1973;6:132-143
Kleinfeld M, Messite J and Zaki MH. Mortality experiences among talc workers: A fellow-up study. *J. Occup. med.* 1974;16:345-349
Leophonte P, Basset MF., Pincemin J, Louis A, Pernet P and Delaude A. (Mortality of talc workers in france. retrospective epidemiological study). *Rev. Fr. Mal. Respir.* 1983;11:489-490
National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of talc (CAS No. 14807-96-6)(non-asbestiform) in

- F344/N rats and B6C3F1 mice(inhalation studies). NIH publication 93-3152. Washing, DC: National Institutes of Health. 1993
- Porter D, Hubbs AF, Mercer R, Robinson VA, Ramsey D, McLaurin J, Khan A, Battelli L, Brumbaugh K, Teass A and Castranova V. Progression of lung inflammation and damage in rats after cessation of silica inhalation. *Toxicological science* 2004;79:370-380
- Rubino GF, Scansetti G, Pilolatto G. and Romano CA. Mortality study of talc miners millers. *J. Occup. Med.* 1976;18:187-193
- Sakai K, Hisanaga N, Kojima A and Takeuchi Y. Elemental composition of asbestos fibers recovered from human lung, Annual Report of Nagoya City Public Health Research Institute 1991;37:116-119
- Selevan SG, Dement JM, Wagoner JK and Froines JR. Mortality patterns among miners and millers of non-asbestiform talc: preliminary report. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 1979;2:273-284
- Siemiatycki J. Risk factors for cancer in the workplace. Boca Raton, FL: CRC press. 1991
- USGS. Talc and Pyrophyllite. in 2007 Minerals Yearbook, USGS. 2007.
- Vianna NJ, Maslowsky J, Roberts S, Spellman G. and Patton RB. Malignant mesothelioma; Epidemiologic patterns in New York State. *NY State J. Med.* 1981;81:735-738
- Wergeland E, Andersen A. and Baerheim A. morbidity and mortality in talc-exposed workers. *Am. J. Ind. Med.* 1990;17:505-513
- Wild P. A mortality study in the talc producing industry. Technical report, INRS/EE/TMT. 2000;1-73
- Wild P. Lung cancer risk and talc not containing asbestiform fibers: A review of the epidemiological evidence. *Occup. Environ. Med.* 2006;63:4-9
- Wild P, Refregier M, Aubuetin G, Carton B. and Moulin JJ. Survey of the respiratory health of the workers of talc producing factory. *Occup. Environ. Med.* 1995;52:470-477
- Wild P, Leodolter K, Refregier M, Schmidt H, Zidek T. and Haidinger G. A cohort mortality and nested case-control study of French and Austrian talc workers. *Occup. Environ. Med.* 2002;59:98-105