한국환경보건학회지, 제44권 제5호(2018)
J Environ Health Sci. 2018; 44(5): 468-479
pISSN: 1738-4087 eISSN: 2233-8616
https://doi.org/10.5668/JEHS.2018.44.5.468

원 저 Original articles

가습기살균제 CMIT/MIT의 기도 점적투여를 통한 임신마우스의 사산에 대한 영향

강병훈* · 김민선** · 박영철*†
*대구가톨릭대학교 GLP센터 & 화학물질독성평가학과
**순천대학교 약학대학 약학과

Intra-tracheal Administration of the Disinfectant Chloromethylisothiazolinone/methylisothiazolinone (CMIT/MIT) in a Pregnant Mouse Model for Evaluating Causal Association with Stillbirth

Byoung-Hun Kang*, Min-Sun Kim, and Yeong-Chul Park*†**
**GLP Center & Dept. of Toxicity Assessment, Daegu Catholic University*
***College of Pharmacy, Sunchon National University*

ABSTRACT

Objectives: Recently, a report was published that the humidifier disinfectant CMIT/MIT did not cause developmental toxicity and was not detected in systemic circulation as a result of an inhalation toxicity test. Therefore, this study was carried out to investigate any associations between CMIT/MIT exposure and developmental toxicity using the in vivo apical toxicity test method.

Methods: Groups of pregnant ICR mice were instilled in the trachea with chloromethylisothiazolinone/methylisothiazolinone (CMIT/MIT) using a visual instillobot over a period of seven days from days 11 to 17 days post-coitum. For the in vivo apical toxicity test method, an LD_{50}-based dose-range finding model was applied to decide the dose range for inducing developmental toxicity.

Results: Among the groups of 0, 0.1, 0.5, 1.0, and 1.5 mg ai/kg/day CMIT/MIT, the exposure groups of 0.5 mg and 1.0 ai/kg/day CMIT/MIT were estimated to reflect the thresholds for the stillbirth and death of pregnant mice, respectively. The groups of 0.5, 1.0, and 1.5 mg ai/kg/day CMIT/MIT induced stillbirth rates of 2.57, 10, and 53.8%, respectively. Another exposure group of 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT did not induce any deaths of pregnant mice and resulted in a stillbirth rate of 8% in only one of six pregnant mice.

Conclusions: CMIT/MIT can induce stillbirth in pregnant mice. It was also concluded that CMIT/MIT moves through the pulmonary circulation system and then continues on through systemic circulation and the placenta. There is a possibility of stillbirth and other health causalities in humans beyond the lungs caused by CMIT/MIT exposure.

Keywords: Humidifier disinfectants, CMIT/MIT, developmental toxicity test, intra-tracheal instillation, stillbirth

†**Corresponding author:** GLP center & Dept. of Toxicity Assessment, Daegu Catholic University, 13-13 Hayang-ro, Hayang-eup, Gyeongsan-si, Gyeongbuk, 38430, Korea, Tel: +82-53-850-3635, E-mail: ycpark@cu.ac.kr
Received: September 20, 2018, Revised: October 15, 2018, Accepted: October 20, 2018

I. 서 론

가습기살균제 CMIT/MIT에 의한 사망을 포함한 건강피해가 역학조사를 통해 확인되었음에도 불구하고 CMIT/MIT 노출과 건강피해의 원인적 연관성(casual association)이 인정 또는 확인되지 않고 있다.[1,2] 미생물 살생물제로 알려진 CMIT/MIT는 생화학적 전환(biotransformation) 과정이 없이 적절한 pH가 조성되는 액상 조건 하에서 자연분해에 의한 활성이 되는 직접작용 독성물질(direct-acting toxicant)이라는 독성학적인 측면에서 이해할 때 CMIT/MIT는 종간 차이가 없이 미생물 외에 동물 및 사람 등에서 독성을 유발할 수 있는 물질이다.[3-7] 이러한 독성학적 고려에도 불구하고 2018년 3월 발표된 '가습기살균제 피해규명을 위한 흡입독성평가와 원인규명기술개발'이라는 연구의 결과에서 CMIT/MIT와 폐 기저질환, 생식독성 그리고 체내이동과의 직접적인 연관성이 또 다시 입증되지 않았다고 보고되었다.[8] 그러나 이와 같은 결과는 결국 CMIT/MIT 노출에 의한 건강피해가 확인된 역학조사의 결과를 뒷받침하지 못하는 독성시험 설계의 오류에 기인하는 것으로 추정된다.

인간집단에서 독성물질과 질병의 원인적 연관성을 규명하는 것이 역학(epidemiology)이라면 동물을 이용하여 독성물질과 원인적 연관성을 규명하는 것은 독성학(toxicology)의 영역이다. 독성물질에 의한 인체건강영향을 확인하는데 있어서 역학과 독성학의 두 분야 모두가 각각 필요한 역할을 하는 것은 분명하다. 그러나 화학물질과 질병 간의 원인적 연관성에 대한 의견일치를 제공할 수 있는 방안으로 두 분야의 자료를 통합적으로 분석이 가능하도록 체계적이고 명확한 방법이 아직까지는 없기 때문에 원인적 연관성을 위한 독성시험에서 항상 신중한 연구 설계가 요구된다.[9] 이러한 독성시험의 설계는 화학물질의 역학적 사고 전후에 따라 달라지는데 역학적 사고 이전의 독성시험은 독성이 나타나지 않는 정량적인 산출을 통한 인체노출안전용량 설정을 위한 시험으로 국제적으로 공통적인 가이드라인에 의해 수행된다.[10,11] 반면에 역학적 사고 이후의 독성시험은 인체노출과 질병발생의 원인적 연관성을 확인하기 위한 목적이므로 가이드라인에 따른 독성시험이 아니라 독성의 정성적 부분이 일치하는지 유무를 확인할 수 있는 독성시험 모델 개발을 통해 이루어진다. 독성시험 모델 개발의 이유는 독성시험 가이드라인 그 자체가 역학적 사고에 의한 건강피해를 반영할 수 있는 독성발현기전과 용량설정을 위한 실험디자인을 구체적으로 반영하지 못하기 때문이다. 이러한 차이를 고려하여 독성시험이 이루어졌다면 CMIT/MIT에 대한 역학조사의 건강피해를 보다 더 빠르게 뒷받침할 수 있는 자료를 얻을 수 있었을 것으로 사료된다.

그러나 어떻게 수행되었든 두 종류의 독성시험 모두는 위해성평가(risk assessment) 과정의 일부인데 가습기에 사용된 CMIT/MIT 권장사용량을 독성시험에서 사용된 사용량과 비교하여 표현한 것은 독성시험 설계를 위한 기본적인 접근에서 상당한 문제점을 노출한 것으로 이해된다. 위해성평가는 2종류의 외삽(extrapolation)을 통해 이루어진다.[12-14] 첫 번째 외삽은 독성시험에서 독성을 유도하기 위해 고용량을 사용하며 이를 통해 저용량에서의 독성 정도를 추정하는 것이다. 두 번째 외삽은 독성시험에서 확인된 독성과 용량 관계를 이용하여 인체에 해당하는 용량을 추정하는 것이다. 이와 같이 독성시험을 통해 얻은 결과를 인체 외삽으로 가능한 것은 독성시험에서 동물의 노출 용량에 대한 제어가 가능하고 동물의 모든 생물학적 특성이 동일하다는 가정 하에 이루어지기 때문이다. 즉, 인간집단에서는 개인의 노출 용량, 기간 그리고 경로에 대한 다양한 양상뿐만 아니라 건강 상태 등의 조건이 모두 다르기 때문에 인간집단에서의 노출량과 독성시험에서 응용된 용량과의 비교는 독성 영향에 대한 편견을 유도한다는 측면에서 적절하지 않다. 특히 이러한 편견을 예방하기 위해 인체에 노출되었다고 추정되는 용량을 전혀 고려하지 않고 인체 독성을 유발할 수 있는 용량을 독성시험 모델을 통해 추정하여 독성시험을 수행하는 것을 기본으로 한다. 이는 화학물질에 의해 동물에서 특정 독성이 유도되느냐 하는 원인적 연관성의 확인이 목적이기 때문이다. 따라서 지금까지 발표된 가습기살균제 사용용법 측면에서 2014년의 1차 독성시험[15] 결과에서 권장사용량 10배, 2018년의 2차 독성시험[8] 결과에서 권장사용량 277배의 CMIT/MIT 사용에도 불구하고 어떤 독성이 확인되지 않았다는 것은 이러한 독성시험의 목적인 외삽의 기본 원리를 고려하지 않았다고 할 수 있다. 즉, 위해성평가에서 동물용량을 인체용량으로 외삽하는 방법을 역으로

평가계수(assessment factor, AF) 400(4<종간>×10<종내>×10<유아 및 기저질환>)을 이용하여 인체용량을 동물용량으로 외삽하면 가습기살균제의 권장사용량 10배 및 277배는 동물시험에서는 CMIT/MIT 권장사용량의 0.025배 및 0.442배에 불과하다. 따라서 독성시험을 통해 역학조사에서 확인된 독성 또는 건강피해 유도하는 용량을 포함하는 시험설계가 이루어져야 되는데 인체 노출의 용량을 지나치게 고려하는 독성시험 설계의 오류가 CMIT/MIT에 의한 건강피해에 대한 원인적 연관성을 규명하는데 실패의 주요 원인으로 추정된다.

이러한 점은 독성시험 설계에 있어서 역학적 사고 전후에 따라 인체노출안전용량 설정을 위한 독성시험과 원인적 연관성 확인을 위한 독성시험을 구분하여 수행되는 것이 CMIT/MIT에 의한 건강피해를 이해 및 해결하는데 있어서 독성시험의 가장 중요한 요소라는 것을 의미한다. 원인적 연관성의 확인을 위한 독성시험은 최상위 표적 독성의 상황을 유도할 수 있는 독성 기전 및 용량을 고려하여 설계가 이루어져야하며 이를 '*in vivo* 최상위 독성-유도 시험방법(*in vivo* apical toxicity test method)'이라고 한다.[16] 이는 역학조사를 통한 인체의 건강피해에서 확인된 표적 독성(target toxicity)을 독성시험에서 '최상위 독성결과'로 상정하여 독성시험을 설계하여 수행하는 모델이라고 할 수 있다.[17,18] 이러한 모델에서 특별히 중요한 점은 '최상위 독성결과'를 유도할 수 있는 용량이 독성시험에서 반드시 포함되어야 한다. 따라서 원인적 연관성 확인을 위한 독성시험에서 무엇보다도 중요한 것은 역학조사에서 추정된 노출용량이 아니라 건강피해인 '최상위 독성결과' 유도에 초점을 둔 독성시험이 요구된다.

여기서는 LD_{50} (lethal dose of 50%, 반수치사량) 응용-용량설정 모델(LD_{50}-based dose-range finding model)을 통해 설정된 용량으로 CMIT/MIT의 기도 점적투여에 의한 임신마우스에서의 발달독성시험(developmental toxicity test)이 수행되었다. 가습기살균제 노출에 의한 산모 및 신생아의 사망을 포함한 건강피해와 유사한 상황이 발생되는 발달독성시험의 용량을 LD_{50} 모델을 통해 설정하여 임신마우스 사망과 신생마우스의 사산에 대한 CMIT/MIT의 영향을 기도 점적투여를 통해 확인하였다. 지난 연구 결과를 통해 CMIT/MIT에 의해 폐염증 유도와 함께 마우스 급사가 확인되었는데[3] 이번 기도 점적투여를 통한 신생마우스에 대한 영향의 결과는 CMIT/MIT의 전신혈관계로의 체내이동뿐만 아니라 폐 이외의 다른 장기 손상의 건강피해 가능성을 확인하는 근거를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 물론 역학조사를 통해 확인된 사람의 건강피해를 동물실험에서 확인하고 이에 따른 결과를 원인적 연관성의 핵심적 판단기준으로 설정하는 것이 화학물질에 의한 인간집단의 피해를 규명하는데 있어서 반드시 최고의 신뢰를 주는 방식은 아니다. 그 어떤 독성시험도 역학조사의 결과를 뒤집을 수 있을 정도로 인간 집단의 특성이 완벽하게 반영된 최상의 정확도를 갖고 있지 않기 때문이다.[19] 그러나 인체노출안전용량 설정을 위해 수행되는 독성시험 방법으로 전 세계 공통적인 시험방법인 독성시험 가이드라인에 따라서 건강피해가 발생하지 않기 때문에 원인적 연관성을 위한 독성시험은 반드시 건강피해를 유도하는 시험방법으로 이루어져야 한다는 것에 의미를 두어 본 시험은 수행되었다.

II. 연구 설계 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 임신 7일차의 암컷 ICR mouse를 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 구입되었다. 시험구역은 대구가톨릭대학교 SPF 동물사육실이며 온도 22±3°C, 배기 10~20회/hr, 상대습도 50±20%, 조도 150~300 Lux, 형광등 명암 1회/12 h 등의 사육환경 조건이었다. 이러한 동물사육환경에서 4일 동안 순화 및 적응이 이루어졌으며 대조군에 4마리, 3가지 용량군을 위해 각각 3마리, 그리고 가장 높은 고용량군에 4마리로 설정하여 군분리가 이루어졌다. 추가적인 실험으로 대조군과 0.75 mg ai/kg/day 용량군에 대해 각각 3마리 및 6마리의 군 설정이 이루어졌다. 사료와 음용수는 자유급여가 이루어졌으며 임신마우스 특성을 고려하여 사육케이지에 한 마리씩 사육이 이루어졌다. 임신마우스를 신생마우스를 분만한 후에 isoflurane으로 마취시켜 복대동맥에서 절단을 통한 방혈치사 후 부검하였다. 임신마우스로부터 출산된 모든 마우스를 신생마우스, 죽은 상태로 출산된 마우스를 사산마우스로 정의하였다. 신생마우스에 대해서는 외표검사를 거친 후에 CO_2에

의한 안락사를 유도하였고 또한 체중을 측정하였다. 외표검사는 출산된 마우스에서 양막과 태반의 분리 유무, 사지 및 꼬리의 유무, 안검개열과 이개열의 유무, 내장과 뇌로 예상되는 피부 속 검은 흔적의 유무, 외형상의 기형적 형태 등의 요소를 기준으로 하여 이루어졌다.[20] 동물실험은 대구가톨릭대학교 동물실험윤리 위원회의 승인 후 실시되었다(Accreditation No. IACUC-2018-021).

2. CMIT/MIT의 기도 점적투여

투여를 위한 CMIT/MIT 시험물질은 ProClinTM300 (CMIT:MIT=2.10~2.80%:0.60~1.00%=3:1, Total Active Ingredient: 3.0-3.6%, Product Number: 48912-U, Sigma, USA)으로 0.9% NaCl 용액에 용해 및 단계 희석하였다. 조제된 시험물질은 50 μL/25 g의 투여액량으로 Visual Instillobot (Sejongbio, Daejeon, Korea)을 이용하여 isoflurane에 의해 마취된 동물의 기도 내 점적투여가 이루어졌다. 임신마우스에 CMIT/MIT의 기도 점적투여는 인체의 배아 및 태아 기간을 포함할 수 있는 기간이 고려되었다. Fig. 1은 Ko(2001)의 연구[21]를 참고 및 변형하여 암컷 마우스의 임신 동안 시기별 발달에 상응하는 인체의 배아 및 태아의 발달을 나타낸 것이다. 임신마우스에 기도 점적투여는 임신 11일부터 17일까지 7일 동안 이루어졌다. CMIT/MIT의 투여기간은 인체 임신기간에서 8주의 배아 기간 및 30주의 태아 기간을 포함한다. 따라서 CMIT/ MIT의 기도 점적투여는 마우스의 배자 및 태자 등의 모두에 영향을 줄 수 있는 투여기간에 포함된다.

3. LD_{50} 응용-용량설정 독성시험 모델

가습기살균제 CMIT/MIT에 의한 임산부 및 신생아의 생존 및 사망 모두를 고려할 수 있는 용량설정을 위해 OECD Test guideline (TG) 425 'Acute Oral Toxicity-Up-and-Down Procedure'에 따라 수행되었다.[22] TG 425에 따라 암컷 마우스의 LD_{50}을 추정한 후 Vit 등[23]에 의해 개발된 LD_{50}/ALD 인자(factor)를 적용하여 본시험의 최고용량이 산출되었다. LD_{50}/ALD 인자는 수많은 독성시험 자료의 분석을 통해 산출된 인자로 단회투여를 통해 개체군의 50% 사망을 초래하는 용량을 개체 죽음을 초래할 수 있는 최소용량인 개략치사량(approximate lethal dose)으로 나눈 값이다. 동물의 독성실험에서 정확한 ALD를 산출하기가 쉽지 않기 때문에 LD_{50}/ALD 인자를 이용하여 LD_{50}에서 ALD를 추정한다. 이에 따라 ALD가 산출되면 임신마우스의 죽음을 유도 및 유도하지 않는 용량을 추정하여 CMIT/MIT 용량군이 설정되었다. 또한 임신마우스의 사망을 초래하지 않는 최고용량을 산출하여 신생마우스의 사망에 대한 영향을 확인하였다.

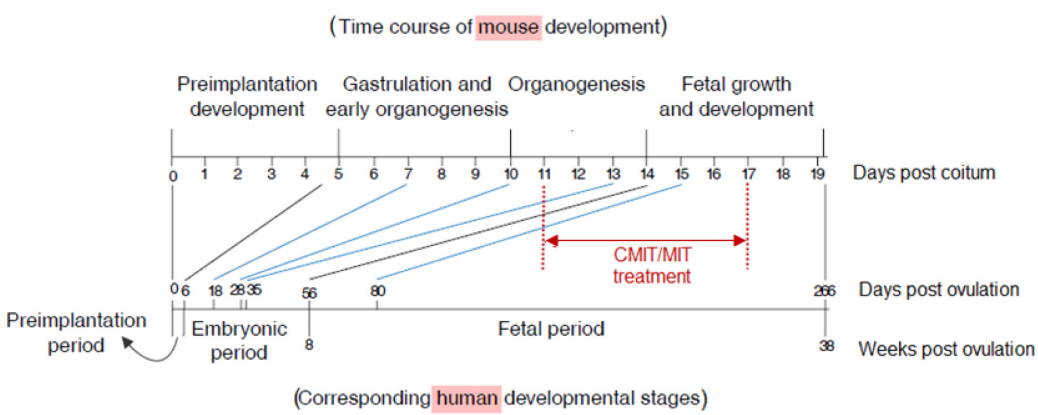

Fig. 1. CMIT/MIT treatment period and comparison of mouse and human development. Intra-tracheal treatment with CMIT/MIT was carried out in pregnant mice to evaluate a causal association with the death of their offspring for 7 days from days 11 to day 17 post-coitum.

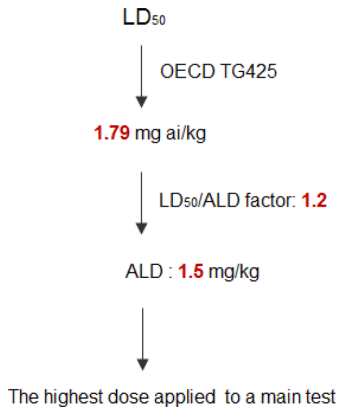

Fig. 2. Flowchart for LD_{50}-based dose-range finding model.

4. 통계처리

통계학적 분석은 널리 사용되는 SPSS 19.0K를 이용하여 일원배치분산분석(ANOVA test)을 하였다. 유의성이 있는 경우 Levene test로 등분산성 검정하여 등분산은 Duncan multiple range test, 이분산은 Dunnett's T-test가 이용되었다. 사망률의 경우에 생존마우스를 1, 그리고 사산마우스를 2로 척도변환하여 통계분석을 하였다. 또한 Kruskal-Wallis test를 실시한 후 유의성이 있는 경우 Mann-Whitney Test로 대조군과 유의성을 확인하였다.

III. 연구 결과

1. LD_{50} 응용-용량설정

기도 점적투여를 통한 암컷 마우스에 대한 CMIT/MIT의 LD_{50}이 1.79 mg ai/kg으로 추정되었다. 이를 이용하여 Fig. 2에서처럼 임신마우스에 투여되는 마우스 모체 및 신생자의 사망과 생존이 고려된 최고용량이 산출되었다. LD_{50}으로부터 ALD를 추정하기 위해 LD_{50}/ALD 인자 1.2가 적용되었다. 이에 따라 임신마우스에 기도 점적투여를 위한 CMIT/MIT의 최고용량은 1.5 mg ai/kg/day, 용량-반응 관계(dose-response relationship)를 위해 0.1, 0.5, 그리고 1.0 mg ai/kg/day 용량군이 추가적으로 설정되었다.

2. 모체마우스 사망

Table 1은 CMIT/MIT 투여 기간 7일 동안 임신마우스의 사망을 나타낸 것이다. CMIT/MIT 1 및 1.5 mg ai/kg/day 용량군에서 투여 2일째 각각 1 마리씩 사망하였으며 특히 1.5 mg ai/kg/day 용량군에서는 마지막일인 7일째 1마리가 더 사망하였다. 따라서 CMIT/MIT 저용량군인 0.1 및 0.5 mg ai/kg/day 용량군에서는 사망한 임신마우스가 없었지만, 그 이상의 용량군인 1 및 1.5 mg ai/kg/day 용량군에서 각각 1마리와 2마리가 사망하는 용량-반응 관계가 확

Table 1. Mortality of pregnant mice by CMIT/MIT treated-groups and -days

Treatment days	Survival/ Death	CMIT/MIT treated-groups (mg ai/kg/day)				
		0	0.1	0.5	1	1.5
1	Survival	4/4	3/3	3/3	3/3	4/4
2	Survival	4/4	3/3	3/3	2/3	3/4
	Death				1	1
3	Survival	4/4	3/3	3/3	2/3	3/4
	Death					
4	Survival	4/4	3/3	3/3	2/3	3/4
	Death					
5	Normal	4/4	3/3	3/3	2/3	3/4
	Death					
6	Survival	4/4	3/3	3/3	2/3	3/4
	Death					
7	Survival	4/4	3/3	3/3	2/3	2/4
	Death					1

Table 2. Stillbirth rate of their offsprings from CMIT/MIT-treated pregnant mice

Groups	CMIT/MIT treated-groups (mg ai/kg/day)				
	0	0.1	0.5	1	1.5
No of survived mother	4/4	3/3	3/3	2/3	2/4
No of total offsprings	56	47	39	20	26
No of stillbirth offsprings	0	0	1	2	14
Stillbirth rate (%)	0	0	2.57	10	53.8
Status of stillbirth Undeveloped	0	0	1	2	14

인되었다. 특히 투여 2일째에 1 mg ai/kg/day 용량군에서 사망한 1개체가 확인되어 이 용량이 임신마우스에 대한 CMIT/MIT의 ALD로 추정된다.

3. 사산률과 사산의 특성

Table 2는 CMIT/MIT를 투여한 후 살아남은 임신마우스에서 출산된 마우스의 출생수와 사산률(stillbirth rate)을 나타낸 것이다. 신생마우스의 수는 0, 0.1, 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day 등의 용량군별에서 임신마우스 1 마리 당 평균 14, 15.6, 13, 10 그리고 13 마리이었다. 그리고 0, 0.1, 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day 용량군별에 대한 사산률은 각각 0, 0, 2.47, 10 그리고 53.8%로 CMIT/MIT 용량의 증가에 따라 사산률이 높아지는 용량-반응 관계가 확인되었다. 수정 후 10일이 지난 후 CMIT/MIT가 투여되었기 때문에 신생마우스의 출생수에는 영향이 없을 것으로 사료된다. 그러나 CMIT/MIT에 의한 임신마우스의 사망에 대한 ALD는 1 mg ai/kg/day 용량군이지만 신생마우스의 사산(stillbirth)에 대한 ALD는 용량이 더 낮은 0.5 mg ai/kg/day 용량군으로 추정되었다. 통계적으로 0.1, 0.5 mg ai/kg/day 용량군이 대조군과 유의한 변화가 없었으나 1, 1.5 mg ai/kg/day 용량군과 대조군의 사산률에서 유의한 변화가 확인되었다($p<0.05$). Table 2에서는 사산의 상태(status of stillbirth)를 외표검사를 통해 정상(normal) 또는 미발달(undeveloped)로 구분하여 나타냈다. 미발달 상태는 정상적인 개체보다 저체중을 포함하여 정상보다 발달이 되지 않아 사지의 미숙한 상태를 의미한다. 미발달 상태의 사산마우스는 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day 등의 용량군에서 각각 1, 2 및 14 마리로 확인되었으며 사산된 모든 신생마우스는 미발달 상태이었다.

이와 같이 CMIT/MIT 용량에 따라 미발달 및 양

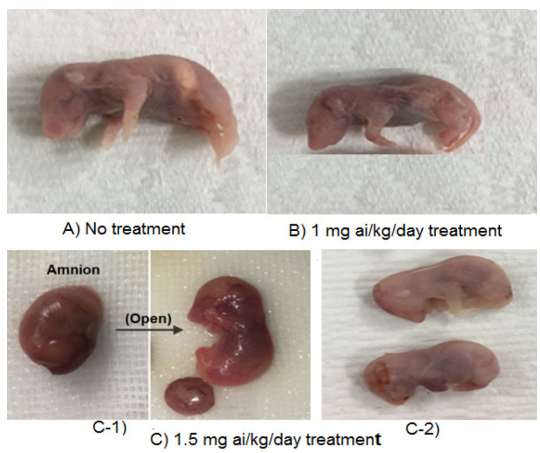

Fig. 3. Stillbirth status from CMIT/MIT-treated pregnant mice. CMIT/MIT 1.0 and 1.5 mg ai/kg/day-treated groups showed offsprings were stillbirthed with amnion and less developed status. (A) Offspring killed mercifully from the control group, (B) offspring killed mercifully from the CMIT/MIT 1.0 mg ai/kg/day-treated group, and (C) offspring from the CMIT/MIT 1.5 mg ai/kg/day-treated group showing more undeveloped than offsprings from CMIT/MIT 1.5 mg ai/kg/day-treated group.

막 상태의 사산마우스를 안락사(mercy kill)된 정상 신생마우스 것과의 비교를 Fig. 3에 나타냈다. Fig. 3의 (A)는 대조군, (B)는 CMIT/MIT 1 mg ai/kg/day 용량군, 그리고 (C)는 CMIT/MIT 1.5 mg ai/kg/day 용량군으로부터 출생한 신생마우스이다. 대조군의 것과 비교하여 CMIT/MIT 1 mg ai/kg/day 용량군의 사산마우스는 크기가 작고 및 저체중의 미발달 상태인 것으로 확인할 수 있었다. Fig. 3의 C)는 CMIT/MIT 1.5 mg ai/kg/day 용량군에서 출생한 사산마우스로 C-1)에서처럼 출생 시 양막(amnion) 상태를 제거한 후 관찰한 결과, 사지 등이 1.0 mg ai/kg/day

Table 3. Weight gains of mice during pregnant period

Treatment day	CMIT/MIT treated-groups (mg ai/kg/day)				
	0	0.1	0.5	1	1.5
1	44.2±1.06	42.0±2.88	41.6±2.69	40.7±0.57	42.4±0.00
7	62.5±2.64	59.9±5.06	51.7±4.10	49.0±8.41	39.9±5.16
gains	18.3±2.68	17.9±2.18	10.1±1.79*	8.3±7.85*	-2.6±5.16*

*; Significant difference from that of control group

용량군의 사산마우스보다 더 발달되지 않은 미숙한 상태이라는 것이 확인되었다. C-2)의 사산마우스도 1.5 mg ai/kg/day 용량군에서 태어난 미숙한 마우스이다. 고용량군인 CMIT/MIT 0.5, 1 및 1.5 mg ai/kg/day 용량군을 통해 투여된 CMIT/MIT 용량이 높을수록 사산마우스의 미발달 정도가 더욱 확연하여 CMIT/MIT 노출 용량이 높을수록 미발달 정도가 심한 용량-반응 관계가 있는 것으로 추정된다.

이와 같은 사산마우스의 미발달에 있어서 용량-반응 관계는 Table 3에서처럼 모체의 증체량(weight gain) 변화에서도 확인이 되었다. Table 3은 CMIT/MIT 투여 1일째와 7일째 사이 체중 증가량을 나타낸 것이다. CMIT/MIT 투여기간에 증가된 체중을 의미하는 증체량(gain weight)은 대조군을 포함하여 0.1, 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day 등의 용량군에서 각각 18.3±2.68, 17.9±2.18, 10.1±1.79, 8.3±7.85 그리고 –2.6±5.16 g 등이었다. 사산마우스가 없었던 CMIT/MIT 0.1 mg ai/kg/day 용량군과 대조군의 증체량에서 차이가 없었지만 사산마우스를 출산한 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day 등의 용량군과 대조군과의 비교에서 증체량의 유의한 차이가 확인되었다($p<0.05$).

4. 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT 투여

지금까지의 결과는 LD_{50} 응용-용량설정 독성시험 모델을 통해 추정된 여러 CMIT/MIT 용량을 응용하여 임신마우스 그리고 이들로부터 출산된 마우스에 대한 영향을 확인한 것이다. 결과적으로 이들 용량에 의해 임신마우스 및 신생마우스에 있어서 사망이 유도되거나 사망이 유도되지 않기도 하였다. 이러한 모델의 중요성은 가습기살균제 CMIT/MIT에 노출되었지만 생존한 임산부에서 사망한 태아가 확인된 실제 역학조사의 상황에 맞는 시험을 설계하는데 있다. 따라서 LD_{50} 응용-용량설정 독성시험 모델을 통한 CMIT/MIT의 ALD인 개략치사량 추정치가

Table 4. Stillbirth rate of their offsprings from 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT treated-group

Groups	CMIT/MIT treated-groups (mg ai/kg/day)	
	0	0.75
No of survived mother	3/3	6/6
No of total offsprings	45	87
No of stillbirthed offsprings	0	7
Stillbirth rate (%)	0	8
Status of stillbirth Undeveloped	0	7

이러한 상황을 반영하기 위해 응용이 이루어졌다. 이미 Table 2에서처럼 0.1, 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day 등의 CMIT/MIT 용량군에서 임신마우스에 대한 ALD가 1.0 mg ai/kg/day, 출산된 신생마우스에 대한 ALD는 0.5 mg ai/kg/day으로 추정되었다. 이를 토대로 하여 단지 '생존한 임신마우스에서의 사산마우스'이라는 상황을 유도할 수 있는 가장 적합한 CMIT/MIT 최대용량은 0.75 mg ai/kg/day으로 추정되었다. Table 4는 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT가 투여된 임신마우스의 생존과 사산률에 대해 나타낸 것이다. 임신마우스 6마리 모두가 출산까지 생존하였다는 것이 확인되어 임신마우스의 사망에 대한 역치(threshold)가 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT으로 추정된다. CMIT/MIT 0.75 mg ai/kg/day 용량군에서 출산된 마우스는 87 마리이었으며 이중 7 마리가 사산되어 사산률이 8%로 산출되었다. 특히 사산된 마우스는 단지 1마리의 임신마우스에서 출산된 21마리 중에서 발생하였다. 사산마우스 7마리 모두 정상 신생마우스보다 사지 발달이 미숙한 상태이었다.

Fig. 4는 대조군과 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT 용량군에서 출산된 신생마우스의 평균체중을 나타낸 것으로 사산마우스의 체중은 제외되었다. 대조군의

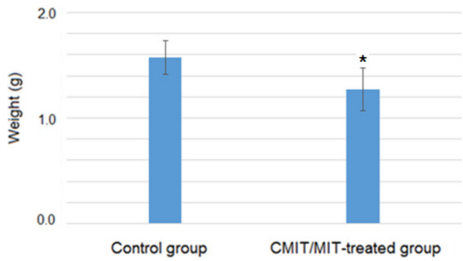

Fig. 4. Comparison of offspring's body weight. *; The mean weight of offsprings from CMIT/MIT 0.75 mg ai/kg/day group are significant difference from that of control group.

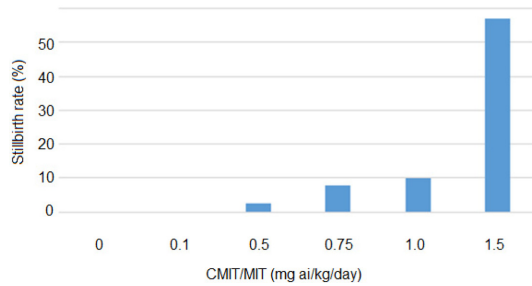

Fig. 5. Stillbirth rate of their offsprings born from CMIT/MIT-treated pregnant mice.

신생마우스 평균체중은 1.57±0.159 g, 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT 용량군의 신생마우스 평균체중은 1.27±0.203 g으로 군간 유의한 차이가 확인되었다 ($p<0.05$). 따라서 CMIT/MIT는 신생마우스의 체중 감소를 유도하는 것으로 추정된다. 그러나 CMIT/MIT 용량군에서 출산된 신생마우스의 체중 감소 이외에 외표검사를 통해 외형적으로 기형적 형태는 없는 것으로 확인되었다. 따라서 CMIT/MIT에 의한 체중감소를 포함한 미숙한 발달이 CMIT/MIT에 의한 사산의 원인일 것으로 추정된다.

5. 사산률과 CMIT/MIT의 용량-반응 관계

Fig. 5는 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT 용량군을 포함하여 0.1, 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day CMIT/MIT 등의 용량군과 함께 사산마우스와의 용량-반응 관계를 다시 나타낸 것이다. 용량군 0.1, 0.5, 0.75, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day CMIT/MIT에 따른 사산률이 각각 0, 0, 2.47, 8, 10 그리고 53.8%으로 확인되어 용량 증가에 따라 사산률이 높아지는 용량-반응 관계가 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT 용량군을 포함하여 재확인되었다.

IV. 고 찰

본 연구에서는 역학조사와 독성시험 결과에서 화학물질에 의한 건강피해의 불일치를 극복하기 위한 방안으로 실제 인간집단에서 발생한 건강피해 유도에 초점을 둔 독성시험이 수행되었다. 건강피해 즉, CMIT/MIT에 의한 임산부와 태아의 영향이 있을 것으로 추정되는 상황이 반영된 독성시험을 위해 암컷 마우스의 임신 11일부터 17일까지 7일 동안 CMIT/MIT의 기도 점적투여가 이루어졌다. 임신마우스에 대한 7일의 투여기간은 인체 임신기간에서 8주의 배아 기간 및 30주의 태아 기간을 포함한다.[21] 따라서 CMIT/MIT의 기도 점적투여는 마우스의 배자 및 태자 등의 모두에 영향을 줄 수 있을 것으로 추정된다.

본 연구에서는 용량설정을 위해 가습기살균제에 노출이 되었지만 생존한 산모의 태아에 대한 영향이라는 인간집단의 역학적 상황이 반영된 독성시험 수행을 위해서 LD_{50} 응용-용량설정 모델이 응용되었다. 모델의 궁극적 목적은 산모의 사망을 초래하지 않으면서 태아의 최대한 영향을 유도할 수 있는 독성시험의 용량을 추정하기 위함이다. 그리고 기도 점적투여를 통한 암컷마우스에 대한 CMIT/MIT의 LD_{50}

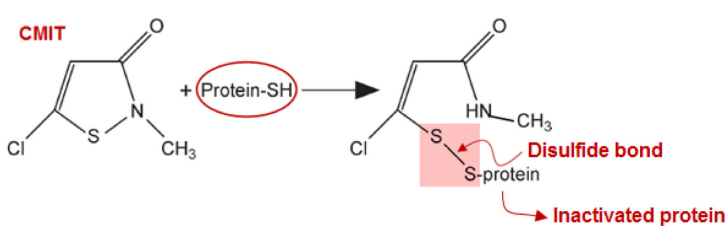

Fig. 6. Disulfide bond of electrophilic CMIT with protein's-SH group (Cited and modified from Ref 5).

이 1.79 mg ai/kg으로 추정되었다.

Vit 등의 연구[23]에 따르면 경구투여를 통한 LD_{50}/ALD 인자가 랫드에서 1.59-2.1, 마우스에서 1.46-2.5, 그리고 정맥투여를 통한 LD_{50}/ALD 인자는 랫드에서 1.25-2.84, 마우스에서 1.27-1.61으로 추정되었다. 본 연구에서는 기도 점적투여에 의한 폐 손상의 우려 때문에 정맥투여를 통한 LD_{50}/ALD 인자의 최저값인 1.25보다 낮은 1.2가 적용되었다. 따라서 CMIT/MIT의 LD_{50}으로부터 임신마우스의 사망을 초래할 수 있는 최소용량인 ALD는 1.5 mg ai/kg/day CMIT/MIT로 추정되었으며 이와 더불어 추가적으로_0.1, 0.5와 1 mg ai/kg/day 등으로 용량군이 설정되었다. 용량군 4단계를 응용한 기도 점적투여를 통해 0.1 및 0.5 mg ai/kg/day 용량군에서는 임신마우스의 사망이 없었지만 1과 1.5 mg ai/kg/day CMIT/MIT 용량군에서는 임신마우스의 사망이 확인되었다. 따라서 암컷마우스에 대한 ALD는 1.5 mg ai/kg/day CMIT/MIT이지만 임신마우스에 대한 ALD는 이 보다 낮은 1 mg ai/kg/day CMIT/MIT으로 추정된다. 따라서 기도 점적투여를 통해 임신마우스의 사망을 유도하지 않는 CMIT/MIT의 최대용량은 0.5 mg ai/kg/day를 상회하고 1 mg ai/kg/day 미만으로 추정되었다.

CMIT/MIT의 4단계 용량군의 전체 임신마우스 13마리 중 3마리가 사망하였지만 나머지 10마리에서 132 마리의 신생마우스가 출산되었다. CMIT/MIT의 4단계 용량군 중 0.1 mg ai/kg/day 용량군만 제외하고 0.5, 1와 1.5 mg ai/kg/day 용량군에서 전체 132마리 중 17마리가 사망하여 CMIT/MIT 노출에 의한 사산률이 12.9%로 확인되었다. 특히 용량군이 높을수록 사산마우스의 비율이 높아 CMIT/MIT 노출 용량과 사산마우스의 출생 사이에 용량-반응 관계가 있는 것으로 추정된다. 기도 점적투여를 통한 사산마우스에 대한 CMIT/MIT의 ALD가 0.5 mg ai/kg/day로 추정되는데 임신마우스의 ALD인 1 mg ai/kg/day의 약 50% 정도이다. 이는 임신마우스보다 배자 및 태자가 CMIT/MIT에 더 민감하다는 것을 의미한다. 즉, 임신마우스가 생존하더라도 사산마우스의 발생이 가능하다는 것이다. 이를 확인하기 위해 임신마우스의 사망을 초래하지 않을 것으로 추정되는 최대용량으로 0.75 mg ai/kg/day CMIT/MIT을 설정하여 임신마우스에 기도 점적투여가 이루어졌다. CMIT/MIT 0.75 mg ai/kg/day 용량군에서 임신마우스 6마리는 모두 생존하였으며 신생마우스 87마리 중 7마리가 사산되었다. 특히 7마리의 사산마우스는 단 1마리의 임신마우스에서 출생된 21마리 신생마우스의 일부이다. 따라서 CMIT/MIT는 임신마우스의 사망을 초래하지 않아도 사산마우스를 유도하는 것으로 추정된다. 이러한 추정은 0.75 mg ai/kg/day이 0.5, 1와 1.5 mg ai/kg/day 등의 용량군과 함께 CMIT/MIT 용량의 증가에 따라 사산마우스의 비율이 증가되는 용량-반응 관계를 통해서도 확인이 되었다.

이와 같이 CMIT/MIT는 신생마우스의 사산을 유도하는데 모든 사산마우스는 미발달 상태로 출산되었다. 이러한 미발달이 출산 후 CMIT/MIT에 의한 사산의 원인으로 추정된다. 사산의 원인으로의 미발달이라는 증거는 모체의 증체량에 대한 결과로도 뒷받침된다. CMIT/MIT 투여와 출산까지의 모체마우스의 평균 증체량이 대조군과 사산마우스를 출산하지 않은 0.1 mg ai/kg/day CMIT/MIT 용량군 등의 두 군에서는 유의한 차이가 없었지만 사산마우스를 출산한 0.5, 1, 그리고 1.5 mg ai/kg/day 용량군은 평균 증체량에 있어서 유의하게 감소되었다. 특히 CMIT/MIT 용량 증가에 따라 증체량은 용량-의존적으로 감소하였다. 사산마우스를 출산한 모체마우스의 이러한 증체량 감소는 태자의 미발달에 의한 저체중에 기인하는 것으로 추정된다. 또한 0.75 mg ai/kg/day 용량군에서 사산마우스를 제외하고 살아 있는 신생마우스의 평균체중도 CMIT/MIT에 노출되지 않은 모체마우스로부터 출생한 신생마우스의 것과 비교하여 약 20% 정도 감소되었다. 이러한 체중감소는 미발달에 기인하는 것으로 추정된다.

본 연구에서 CMIT/MIT의 임신마우스에 대한 기도 점적투여를 통해 사산마우스가 확인되었으며 임신기간 동안 CMIT/MIT 노출에 의한 배자 및 태자의 미발달이 사산의 원인으로 추정된다. 또한 이러한 추정은 외표검사와 더불어 임신마우스의 증체량 감소와 신생마우스의 저체중으로 이미 설명되었다. 사산의 원인으로 추정되는 미발달은 CMIT/MIT 독성기전의 하나인 고에너지 화합물인 ATP (adenosine triphosphate, 아데노신 3인산)의 합성 저해로 이해할 수 있다. 살생물제(biocide)인 CMIT/MIT의 미생물 살생기전은 에너지 생산과 관련된 Krebs cycle 내의 효소, 그리고 ATP 분해효소인 ATPase (adenosine-triphosphatase, 아데노신삼인산가수분해효소) 등과 같

은 세포호흡과 관련된 효소의 활성 저해이다.[3,5] CMIT/MIT에 의한 효소 활성 저해는 성장과 생존에 필수적인 에너지원인 ATP 고갈과 더불어 저산소증에 의한 미생물 살생을 유도하게 된다. 연구에 따르면 ATP 생산 저해는 합성장소인 미토콘드리아 기능의 저하 그리고 모체의 영양부족 현상과 밀접하게 연관되어 임신마우스에서 태자의 성장 저해를 유도하는 것으로 알려졌다.[24-26] 또한 인체에서도 임산부에서의 태아의 발달을 위해 적절한 ATP 생산이 요구되는데 ATP 생산의 저해는 태아 발달에 부정적 영향을 주는 것으로 알려졌다.[27-29] 이와 같은 사실과 더불어 본 연구의 결과는 임산부의 가습기살균제 CMIT/MIT 노출에 의해 사산 또는 저체중 신생아의 출산 가능성을 충분히 보여주는 과학적 증거로 사료된다.

본 연구의 결과를 통한 인체에서의 이러한 독성 유발에 대한 추정은 미생물에서 CMIT/MIT의 살생 기전이 인체에서도 발생할 것이라는 추론으로부터 유래한다. 연구에 따르면 CMIT/MIT는 pH 7-10 정도에서 3개의 아미노산과 결합하는 것으로 확인되었다.[6,7] 특히 Fig. 6에서처럼 CMIT/MIT의 고리구조 내의 황(S)이 친전자성을 띄는 부위로 추정되고 있으며 단백질의 -SH기와 결합하여 효소의 활성을 저해하는 것으로 추정되고 있다.

이와 같이 대부분의 독성물질은 친전자성(electrophilic)의 화학적 특성을 가지고 있는데 화학물질의 친전자성 전환은 두 가지 경로인 '직접경로(direct pathway)'와 '간접경로(indirect pathway)'로 이루어진다.[4] 두 가지 경로의 차이는 약물 등과 같은 외인성물질(xenobiotics)의 대사(metabolism)라고 불리는 'biotransformation(생화학적 전환)'의 유무이다. 생체로 유입된 화학물질이 가수분해(hydrolysis)와 같은 자연분해(natural decomposition) 과정에 의해 친전자성으로 전환되는 경로를 직접경로이라고 하며 이에 해당되는 화학물질을 '직접-작용 독성물질(direct-acting toxicants)'이라고 한다.[4] 반면에 cytochrome P450 등과 같은 효소에 의해 친전자성으로 전환되는 경로를 간접경로이라고 하며 이에 해당되는 화학물질을 '간접-작용 독성물질(indirect-acting toxicants)'이라고 한다. 독성물질에 의한 독성의 종간(interspecies) 차이를 유발하는 결정적인 요소 중의 하나가 종마다 다른 cytochrome P450 효소의 차이다. Cytochrome P450은 체내에 유입된 외인성물질의 대사를 유도하여 체외 배출하는 기능을 하지만 친전자성 대사체로의 전환을 유도하여 화학물질의 독성을 유발하기도 하는 양면성을 가지고 있다.[4] 따라서 화학물질을 친전자성대사체로의 전환이 cytochrome P450-의존성이면 독성 유발의 종간 차이가 있으며 pH 등과 같은 노출 환경-의존성이 있는 자연분해에 기인하면 독성 유발에 있어서 종간 차이가 없다. 친전자성으로의 전환을 유도하는 CMIT/MIT의 활성은 cytochrome P450-의존성이 아니라 pH 7-10의 수분 상태에서 이루어지기 때문에 독성 유발에 있어서 종간 차이가 없는 직접-작용 독성물질이라고 할 수 있다.[5,6] 따라서 CMIT/MIT의 미생물 살생기전으로 사료되는 ATP 합성과 관련된 효소의 활성 저해는 본 연구에서 확인된 임신마우스에 대한 독성뿐만 아니라 종간 차이를 넘어 사람의 임산부에서도 독성을 유발하는 기전으로 이해된다. 또한 본 연구에서 기도 점적투여를 통한 CMIT/MIT는 폐를 통해 임신마우스의 전신혈관계로 이동되어 사산마우스를 유도하기 때문에 전신혈관계를 통한 체내이동을 통해 다른 기관에서도 독성 유발이 가능할 것으로 사료된다.

IV. 결 론

가습기살균제 CMIT/MIT의 임산마우스에서 출생한 신생마우스에 대한 영향과 폐를 통한 체내 이동 가능성을 확인하기 위해 임신마우스에 기도 점적투여를 통한 독성시험이 수행되었다. 임신마우스에 기도 점적투여는 임신 11일부터 17일까지 7일 동안 이루어졌으며 이 기간은 사람의 임신기간 중 8주의 배아 기간의 일부와 30주의 태아 기간을 포함한다.

1. LD_{50} 응용-용량설정 모델을 통해 암컷 마우스에 대한 CMIT/MIT의 LD_{50}이 1.79 mg ai/kg으로 산출되었으며 개체 사망의 유도가 가능한 최소용량인 개략치사량(approxi,ate lethal dose, ALD)은 1.5 mg ai/kg/day로 추정되었다. ALD 1.5 mg ai/kg/day를 최고용량을 하여 0.1, 0.5, 그리고 1,0 mg ai/kg/day 용량군을 설정하여 기도 점적투여가 이루어졌다.

2. CMIT/MIT 저용량인 0.1 및 0.5 mg ai/kg/day 용량군에서는 사망한 임신마우스가 없었지만 그 이상의 용량인 1 및 1.5 mg ai/kg/day 용량군에서 각각 1 마리와 2 마리가 사망하였다.

3. 대조군을 비롯하여 0.1, 0.5, 1 그리고 1.5 mg ai/kg/day 등의 CMIT/MIT 용량군별 사산률은 각각 0, 0, 2.47, 10 그리고 53.8%으로 용량 증가에 따라 사산률이 높아지는 용량-반응 관계가 확인되었다. 사산마우스의 출산을 유도하지 않는 임신마우스에 대한 CMIT/MIT 노출 최대용량은 0.1 mg ai/kg/day으로 추정된다.

4. CMIT/MIT에 노출된 임신마우스로부터 출생한 모든 사산마우스는 저체중을 포함하여 외표검사를 통해 사지가 미발달 상태(undeveloped status)인 것으로 확인되었다.

5. 임신마우스의 사망을 유도하지 않는 CMIT/MIT의 최고용량인 0.75 mg ai/kg/day를 임신마우스 6마리에 노출한 결과, 신생마우스 87마리가 출산되었으며 이중 7마리의 사산마우스가 확인되었다. 사산마우스 7마리는 단 1마리의 임신마우스에서 모두 출산되었으며 미발달 상태이었다.

6. 결론적으로 CMIT/MIT의 폐를 통한 임신마우스의 노출을 통해 사산마우스가 확인되었으며 이는 CMIT/MIT가 폐를 통해 전신혈관계 및 태반 등으로 이동이 이루어진다는 것을 의미한다.

7. CMIT/MIT에 의한 사산마우스는 대부분 미발달 상태인데 이는 ATP 생성과 관련된 효소 활성 저해에 의한 에너지원의 공급 저해 즉, CMIT/MIT의 미생물 살생기전과 유사한 기전에 기인하는 것으로 추정된다.

8. 일반적으로 독성물질은 친전자성(electrophilic) 특성을 갖는 물질로 전환되어 생체를 구성하는 거대분자인 당, 지질, 단백질 그리고 DNA 등과의 공유결합을 통해 독성을 유발한다. 이러한 독성물질의 친전자성으로의 전환은 생체 내에서 효소에 의한 생화학적 전환(biotranformation)과 가수분해와 같은 자연분해(natural decomposition) 등의 2가지 방법으로 이루어진다. 특히 생화학적 전환은 cytochrome P450과 같은 효소에 의해 이루어지는데 이러한 효소의 종간 차이가 있어 화학물질의 독성 유발에 있어서 종간 차이의 원인이 된다. 반면에 자연분해에 의한 친전자성으로의 전환은 생체 내 pH 등이 중요한 요소로 작용한다. CMIT/MIT는 pH 7-10 정도에서 친전자성으로 전환되는 자연분해를 통해 독성을 유발한다는 점을 고려할 때 미생물, 동물 그리고 인체 등에서 종간 차이가 없이 독성을 유발할 것으로 추정된다.

감사의 글

본 논문은 환경부의 화학물질 유위해성 정보관리 전문인력 사업의 지원을 받아 이루어졌으며 이에 감사의 말씀을 드립니다.

References

1. Park DU, Ryu SH, Lim HK, Kim SK, Cho YY, Ahn JJ, et al. Types of householdhumidifier disinfectant and associated risk of lung injury (HDLI) in South Korea. *Sci Total Environ*. 2017; 596-597: 53-60.
2. Asian Citizen's Center for Environment and Health. Humidifier disinfectant manufacturer Prosecutor recall and report center installation request Available: http://ecopoll.bomnae.net/bbs/board.php?bo_table=sub02_04&wr_id=171&sca=2016%EB%85%84&page=4 [accessed 2016].
3. Kim HY, Park YC, Chung YH. Intra-tracheal Administration of the Disinfectant Chloromethylisothiazolinone/methylisothiazolinone (CMIT/MIT) in a Mouse Model to Evaluate a Causal Association with Death. *J Environ Health Sci*. 2017; 43(4): 247-256.
4. Park YC. The molecular and biochemical principles of toxicology. Korea: Korean studies Information Publishing Company Press; 2010.
5. Williams TM. The mechanism of action of isothiazolone biocides. Power Plant Chemistry. 2007; 9(1): 14-22.
6. Cóllier PJ, Ramsey A, Waigh RD, Douglas KT, Austin P, Gilbert P. Chemical reactivity of some isothiazolone biocides. *J Appl Bacteriol*. 1990; 69(4): 578-84.
7. Basic Module in Bioorganic Chemistry. Reaction of isothiazolinones with glutathione. VAK 02-317-7-406 WS 2007/2008. Available: http://chem.uft. uni-bremen.de/ranke/pdf/isothiazolone_GSH_bmb.pdf [accessed 2008].
8. Yonhapnews. Shin CH. “Dept of Environment, The toxicity of CMIT·MIT not observed in animal toxicity test”. Available: http://www.yonhapnews.co.kr/bulletin/2018/03/21/0200000000AKR2018032113700001 HTML [accessed 21 March 2018].
9. Adami HO, Berry SC, Breckenridge CB, Smith LL, Swenberg JA, Trichopoulos D, et al. Toxicology and Epidemiology: Improving the Science with a Framework for Combining Toxicological and Epidemiological Evidence to Establish Causal Infer-

ence. Toxicol Sci. 2011; 122(2): 223-234.
10. OECDiLibrary. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4; Health Effects. Available: www.oecd-ilibrary.org/ [accessed 2018].
11. ICH. M3(R1): Maintenance of the ICH Guideline on Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals; 2000.
12. Hacker M, Messer WS, Bachmann KA. Pharmacology:Principles and Practice. United States: Academic Press; 2009. p. 353-369.
13. Bhattacharya S, Zhang Q, Carmichael PL, Boekelheide K, Andersen ME. Toxicity Testing in the 21st Century: Defining New Risk Assessment Approaches Based on Perturbation of Intracellular Toxicity Pathways. PLoS ONE. 2011; 6(6): 1-11.
14. Rhomberg LR, Goodman JE, Haber LT, Dourson M, Andersen ME, Klaunig JE, et al. Linear low-dose extrapolation for noncancer health effects is the exception, not the rule. Crit Rev Toxicol. 2011; 41(1): 1-19.
15. A white paper for Humidifier disinfectants-induced health injury. Inspection Committee for lung damage Korea Centers for Disease Control and Prevention Press; 2014. p. 44-49.
16. Keller DA, Juberg DR, Catlin N, Farland WH, Hess FG, Wolf DC, et al. Identification and Characterization of Adverse Effects in 21st Century Toxicology. Toxicol Sci. 2012; 126(2): 291-297.
17. EU SCIENCE HUB. Toxicity Pathways-from concepts to application in chemical safety assessment. Available: http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC86467/lb-na-26389-en-n%20.pdf [accessed 2013].
18. Krewski D, Andersen ME, Mantus E, Zeise L. Toxicity Testing in the 21st Century: Implications for Human Health Risk Assessment. *Risk Analysis*. 2009; 29(4): 474-497.
19. Pastoor T, Stevens J. Historical perspective of the cancer bioassay. *Scand J Work Environ Health.* 2005; 31(1): 129-40.
20. NATIONAL INSTITUTE OF ENVIRONMENTAL RESEARCH. Study on health effects caused by toxic chemical-containing household product. Available: http://webbook.me.go.kr/DLi-File/NIER/06/021/5591231.pdf [accessed December 2014].
21. Ko MSH. Embryogenomics: developmental biology meets genomics. *TRENDS in Biotechnology*. 2001; 19(12): 511-518.
22. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). OECD Guidelines 425 for the testing of chemicals: Acute Oral Toxicity-Up-and-Down Procedure. 2001.
23. Vit PJ. Approximate lethal dose versus median lethal dose in acute toxicity testing of pharmaceuticals. *Arch Toxicol.* 1989; 63(4): 343-344.
24. Chiaratti MR, Malik S, Diot A, Rapa E, Macleod L, Morten K, et al. Is Placental Mitochondrial Function a Regulator that Matches Fetal and Placental Growth to Maternal Nutrient Intake in the Mouse?. PLOS ONE. 2015.
25. Dumollard R, Duchen M, Carroll J. The role of mitochondrial function in the oocyte and embryo. *Current topics in developmental.* 2007; 77: 21-49.
26. Gambling L, Kennedy C, McArdle HJ. Iron and copper in fetal development. *Seminars in Cell & Developmental Biology.* 2011; 22(6): 637-644.
27. Milczarek R, Sokołowska E, Rybakowska I, Kaletha K, Klimek J. Paraquat inhibits progesterone synthesis in human placental mitochondria. *Placenta.* 2016; 43: 41-46.
28. Holland OJ, Hickey AJR, Alvsaker A, Moran S, Hedges C, Chamley LW, et al. Changes in mitochondrial respiration in the human placenta over gestation. *Placenta.* 2017; 57: 102-112.
29. Mattison DR, Thomford PJ. The Mechanisms of Action of Reproductive Toxicants. *Toxicologic Pathology.* 1989; 17(2): 364-376.

저자 정보

강병훈(학생), 김민선(교수), 박영철(교수)