

## 가습기 살균제 성분(PHMG, PGH, CMIT/MIT)의 사람 피부세포 독성 및 제브라피쉬 뇌신경 독성 비교 연구

조경현<sup>1,2,\*</sup>, 김재룡<sup>2</sup>

<sup>1</sup>영남대학교 의생명공학과

<sup>2</sup>영남대학교 의과대학 생화학분자생물학교실 스마트에이징 융복합 연구센터

## Comparison study of dermal cell toxicity and zebrafish brain toxicity by humidifier sterilizer chemicals (PHMG, PGH, CMIT/MIT)

Kyung-Hyun Cho<sup>1,2,\*</sup> and Jae-Ryong Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>LipoLab, Department of Medical Biotech, Yeungnam University, Gyeongsan 38541, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Smart-Aging Convergence Research Center, College of Medicine, Yeungnam University, Daegu 42415, Republic of Korea

### \*Corresponding author

Kyung-Hyun Cho  
Tel. 053-964-1990  
E-mail. kcho68@naver.com

Received: 11 May 2020

First Revised: 2 June 2020

Second Revised: 6 June 2020

Revision accepted: 8 June 2020

**Abstract:** Toxicities to many organs caused by humidifier disinfectants have been reported. Recently, humidifier disinfectants have been reported to cause cardiovascular, embryonic, and hepatic toxicities. This study was designed to investigate the toxic mechanism of humidifier disinfectants and compare toxicity in a cellular model and a zebrafish animal model. Because brain toxicity and skin toxicity have been less studied than other organs, we evaluated toxicity in a human dermal cell line and zebrafish under various concentrations of humidifier disinfectants that included polyhexamethyleneguanidine phosphate (PHMG), oligo-[2-(2-ethoxy)-ethoxyethyl-guanidinium-chloride] (PGH) and methylchloroisoithiazolinone/methylisothiazolinone (CMIT/MIT). A human dermal fibroblast cell line was treated with disinfectants (0, 2, 4, 6, 8, and 16 mg L<sup>-1</sup>) to compare their cytotoxicity. The fewest PHMG-treated cells survived (up to 33%), while 49% and 40% of the PGH- and CMIT/MIT-treated cells, respectively, survived. The quantification of oxidized species in the media revealed that the PHMG-treated cells had the highest MDA content of around 28 nM, while the PGH- and CMIT/MIT-treated cells had 13 and 21 nM MDA, respectively. As for brain toxicity, treatment of the zebrafish tank water with CMIT/MIT (final 40 mg L<sup>-1</sup>) for 30 min resulted in a 17-fold higher production of reactive oxygen species (ROS) than in the control. Treatment with PGH or PHMG (final 40 mg L<sup>-1</sup>) resulted in 15- and 11-fold higher production, respectively. The humidifier disinfectants (PHMG, PGH, and CMIT/MIT) showed severe dermal cell toxicity and brain toxicity. These toxicities may be relevant factors in understanding why some children have language disorders, motor delays, and developmental delays from exposure to humidifier disinfectants.

**Keywords:** humidifier disinfectants, brain toxicity, skin toxicity, PHMG, PGH, CMIT/MIT, zebrafish

## 서 론

가습기 살균제 성분들인 PHMG (polyhexamethylene-guanidine phosphate), PGH (oligo-[2-(2-ethoxy)-ethoxyethyl]-guanidinium-chloride), CMIT/MIT (Methylchloro-isothiazolinone/Methylisothiazolinone) 사용에 의한 인명 피해와 사회적 참사는 1,532명 이상의 사망자가 한국에서만 발생한 미증유의 화학물질 참사이다(The Humidifier Sterilizer Damage Support Portal 2020, <https://www.healthrelief.or.kr/>). 2011년도 말에 PHMG와 PGH를 함유한 제품은 판매가 금지되었지만 그 후유증은 10년이 지난 지금도 계속 보고되고 있다. 그러나 그동안 정부는 피해자들의 범위를 폐손상자로만 국한하여, 폐 이외의 손상을 받은 많은 피해자들의 고통은 소외되어 온 것이 사실이다(Choi and Jeon 2020). 현재 정부가 지원하는 가습기 살균제의 피해 지원 범위는 폐질환, 천식, 태아 피해, 기관지 확장증, 독성 간염, 간질성 폐질환, 폐렴 등으로 한정되어 있으며, 대부분의 선행연구 또한 폐와 호흡기 질환에 집중되어 있다(Koh *et al.* 2020; Yon *et al.* 2020).

본 연구진은, 가습기 살균제들이 폐 이외의 조직에도 손상을 일으킬 수 있다는 가능성을 증명하기 위해, PHMG와 PGH가 각각 함유된 가습기 살균제 제품으로 제브라피쉬 동물모델을 이용하여 심혈관독성, 배아독성, 간독성, 피부 독성을 증명하여 2012년 12월에 보고하였다(Kim *et al.* 2013). 이후 다른 연구진들의 보고와 사례에서도 다양한 장기에서의 독성이 추가로 확인되어 관련 연구의 진행 필요성은 더욱 고조되고 있다(Leem and Lee 2017; Park *et al.* 2019; Koh *et al.* 2020).

2012년도에 발표된 본 연구진의 선행연구논문에서 피부세포의 노화가 PHMG와 PGH에 의해 유발되는 것을 제기하였으나(Kim *et al.* 2013), 이후 물티슈, 손세정제 등에서도 CMIT/MIT가 들어간 제품이 많아 사회적 이슈가 되었지만 PHMG와 PGH와 CMIT/MIT의 세 가지 원료 물질에 대한 피부 독성 동시 비교 시험은 이루어지지 않았다. 또한 피해자들 중에는 염증성 혈관질환, 자가면역질환, 만성피로증후군 등 후유질환, 스트레스 및 우울증 등과 어린이의 주의력결핍 과잉행동장애(ADHD)를 비롯한 언어장애, 운동장애, 발달장애 사례가 가습기 살균제피해지원 종합포털과 피해자모임 커뮤니티(<https://www.healthrelief.or.kr/>) 등에 계속 접수되어 왔고, 그 관련 가능성이 제기되어 왔지만 동물시험에 대한 보고는 아직 없다.

더욱이 상기 세 가지의 가습기 살균제 성분들 중에서 어떤 성분이 더 많이 뇌신경조직에 해로운지 가습기 살균제 성분들이 관련 뇌신경 장애를 일으킬 수 있는지에 대한 비교 논문은 아직 없다.

따라서 본 연구에서는 PHMG, PGH, CMIT/MIT의 사람 피부섬유세포를 모델로 한 피부 독성 비교 시험과 함께, 뇌신경조직 손상의 가능성을 조사하기 위해 제브라피쉬 동물모델에 30분간 노출하여 두뇌의 조직 손상을 비교하였다. 가습기 살균제 참사는 한국에서만 일어난 대형 인명피해이므로 해외의 선행연구에서 다양한 전신성 질환에 대한 선행연구와 참고문헌을 찾기는 힘들다. 따라서 가습기 살균제의 전신성 질병 유발 연구는 한국 국민들에게 더 많이 알려져서, 추가 연구를 통해 안전성을 신속하게 확보할 필요성이 있다. 본 연구는 예비적 성격의 연구로서 잠재적인 피부 독성과 두뇌 독성에 대한 가습기 살균제 원료물질의 독성을 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 가습기 살균제 성분들과 처리농도

PHMG (polyhexamethyleneguanidine phosphate)와 PGH (oligo-[2-(2-ethoxy)-ethoxyethyl]-guanidinium-chloride) 원료는 국립환경과학원과 안전성평가연구소 전북 흡입안전성연구본부로부터 공급받았고, CMIT/MIT (Methylchloroisothiazolinone/Methylisothiazolinone) 혼합물은 Kathon CG (Cat #500127, Sigma-Aldrich, USA)를 구입하여 사용하였다.

PHMG 혹은 PGH와 유사한 구조를 가지는 구아니딘 계열의 살균제인 Akacid Plus의 살균효과를 보고한 선행논문(Buxbaum *et al.* 2006)에 따르면 최저 저해 농도(minimal inhibitory concentrations; MIC)가 대부분 세균과 곰팡이의 경우  $1\sim 32\text{ mg L}^{-1}$ 에 해당하였으므로, 본 연구에서는 피부세포 독성의 경우 최종  $1\sim 16\text{ mg L}^{-1}$  농도가 되도록 배양액에 처리하였고, 제브라피쉬 두뇌 독성의 경우  $40\text{ mg L}^{-1}$ 의 농도로 사육수에 희석하여 실시하였다.

### 2. 사람피부세포 배양 조건

사람 피부섬유 아세포(human dermal fibroblasts; HDF)는 본 연구진의 선행논문에서 따라 세포배양 배지 Dulbecco's

modified Eagle's medium (DMEM; Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)에서 계대 배양하였다(Cho 2011). HDF는 100 mm 세포 배양 접시에  $1 \times 10^5$  개의 세포를 37°C에서 5% CO<sub>2</sub>-humidified incubator를 사용하여 배양하였다. 세포의 핵과 세포질 염색은 Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색 방법으로, 세포의 생존율은 Trypan blue 염색 방법으로 살아있는 세포를 hematocrit 계수방법으로 산출하였다. 세포 노화 정도의 염색은 Itahana 등의 방법에 따라서 Senescence-Associated (SA)- $\beta$ -gal 염색 방법으로 비교하였다(Itahana *et al.* 2007).

세포배양액에 생성된 산화물의 양을 정량하기 위해 산화물을 발색시키는 기능을 가진 Thiobarbituric acid (TBA) 시약과 반응하는 방법 Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)으로 정량하였다(Blois 1958). 이때 산화물 표준물질로 malondialdehyde (MDA)를 사용하였다.

### 3. 제브라피쉬 사육 및 노출 실험

야생형(wild-type) 제브라피쉬 10~12 주령을 충남대학교 질환모델링제브라피쉬은행(ZCDM)에서 분양받아서 표준사육방법에 따라 사육하였고(Nusslein-Volhard and Dahm 2002), 가슴기 살균제 성분(PHMG, PGH, CMIT/MIT)이 각각 최종농도 0.004%로 희석되어 있는 사육수조에서 30분간 노출하였다. 다양한 약물들 15종을 제브라피쉬에게 10분, 20분, 30분, 120분 투여하였을 때 두뇌장벽 통과가 30분 만에도 충분히 일어난다는 선행 보고(Kim *et al.* 2017)와 제브라피쉬의 생존 시간을 고려하여 노출시간을 30분으로 정하였다. 각 그룹당 20 마리씩 사용하였으며, 노출 후 즉시 해부하여 조직 적출과 냉동 박편염색을 실시하였다. 제브라피쉬의 사육과 모든 실험 프로토콜은 영남대학교 실험동물위원회의 승인을 받았고, 제브라피쉬의 사육과 실험은 영남대학교 생명공학관에서 실시하였다.

### 4. 제브라피쉬 조직 분석

제브라피쉬 노출 후, 뇌를 분리하여 중뇌 시개영역(mid-brain optic tectum)을 확보하고, 확보된 두뇌조직을 급속 냉동 박편기(microcryotome, Leica 1510S, Germany)를 사용하여 7  $\mu$ m 두께로 미세 횡단절단하여 냉동 박편조직을 준비하였다. 냉동 박편된 두뇌조직 내의 산화물 형성 정도를 Owusu-Ansah 등의 방법에 따라 DHE (Dihydroethidium cat # 37291; Sigma, St. Louis, MO, USA) 염색으로 비교하

였다(Owusu-Ansah *et al.* 2008). 산화물과 반응한 DHE가 발색하는 빨간색 형광을 형광현미경(Nikon Eclipse 2000 microscope, Tokyo, Japan)으로 분석하였다(Ex = 588 nm, Em = 615 nm). 발색된 형광이미지의 정량적인 분석은 Image-Pro plus software (version 4.5.1.22; Media Cybernetics, Bethesda, MD, USA)를 사용하여 실시하였다.

### 5. 데이터 분석 방법

모든 실험 결과 수치는 평균  $\pm$  표준편차(mean  $\pm$  SD)로 표시하였으며, 이중 샘플을 사용하여 3회 이상의 독립적 실험을 통해 도출되었다. 제브리피쉬 노출시험에서는 4개 그룹(대조군, PHMG, PGH, CMIT/MIT) 간의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)를 이용한 Duncan multiple range test를 사용하여 유의성을 구하였다. 통계 프로그램은 SPSS software program (version 23.0; IBM, Chicago, IL, USA)을 사용하였으며 유의성은  $p < 0.05$ 로 규정하였다.

## 결과 및 고찰

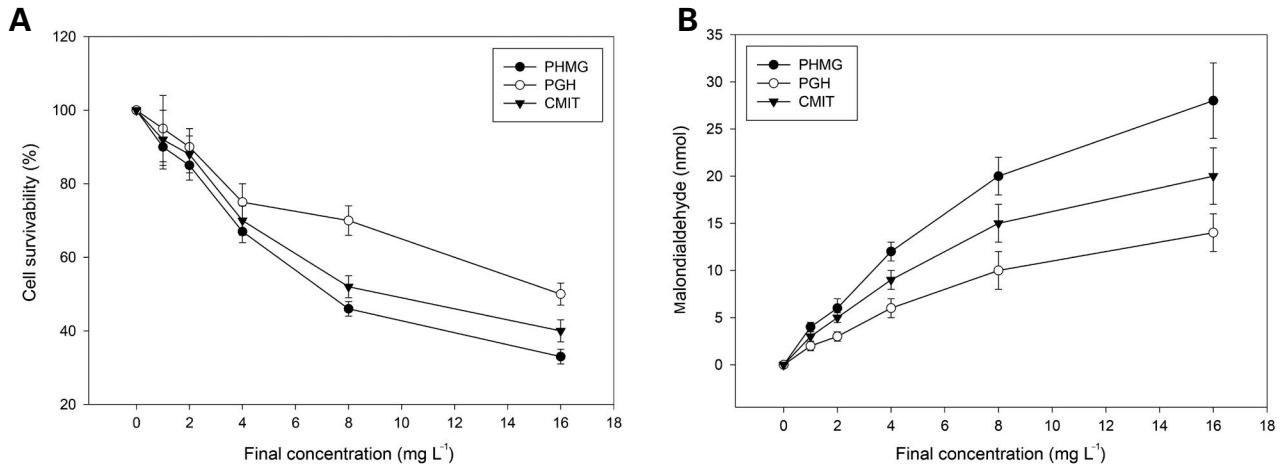
### 1. 사람 피부세포 독성 분석

사람 피부섬유아세포 (passage, P=7)에 동등한 농도로 희석된 PHMG, PGH, CMIT/MIT를 최종농도 1, 2, 4, 8, 16 mg L<sup>-1</sup> 되도록 처리한 결과, 아래와 같이 처리농도에 의존하여 세포 생존율은 반비례하여 감소하였다(Fig. 1A). 그 중에서도 PHMG가 처리된 세포의 생존율이 가장 낮았는데 16 mg L<sup>-1</sup> 처리농도에서 32%의 생존율을 보였고, PGH는 49%, CMIT/MIT는 41%의 생존율을 보였다. 선형 추세선 분석을 실시하였을 때, 50%의 생존율을 보이는 살균제의 농도는 PHMG가 4.9 mg L<sup>-1</sup>, PGH가 6.5 mg L<sup>-1</sup>, CMIT/MIT가 5.4 mg L<sup>-1</sup>을 보여 모두 유사한 독성 정도를 보였지만, 특히 PHMG가 피부 독성이 가장 높았다. Fig. 1의 그래프에서 도출된 선형 추세선의 1차함수 표현식은 아래와 같다.

$$\text{PHMG: } y(\text{세포생존율}) = -14x + 119$$

$$\text{PGH: } y(\text{세포생존율}) = -9.857x + 114.33$$

$$\text{CMIT/MIT: } y(\text{세포생존율}) = -12.371x + 117.13$$



**Fig. 1.** Comparison of skin toxicity using human dermal fibroblast (HDF) cells treated with various concentrations of polyhexamethylene guanidine phosphate (PHMG), oligo-[2-(2-ethoxy)-ethoxyethyl-guanidinium-chloride] (PGH) and methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone (CMIT/MIT). A: Cell viability was assessed by the trypan blue assay and hematoxylin-eosin staining during passage of the HDF cell line. B: Quantification of oxidized products in HDF cell culture media using the thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) assay.

세포배양액 속에 생성된 산화물의 양을 TBARS 방법으로 정량하여 MDA의 양으로 표현한 결과 Fig. 1B와 같이 살균제들의 처리농도와 정비례 증가하였다. 그중에서도 PHMG를 처리한 세포에서 28 nmol MDA로 가장 높았고, CMIT/MIT를 처리한 세포에서 20 nmol MDA, PGH를 처리한 세포에서 14 nmol MDA 순이었다. 이 결과들은 PHMG를 처리한 세포에서 가장 생존율이 낮고, 산화물의 생성이 가장 많은 결과를 제시한다. 세포의 생존율이 감소할수록 산화물의 양이 늘어나는 것으로 살균제의 독성 정도와 산화물의 생성 정도가 잘 일치함을 보여준다.

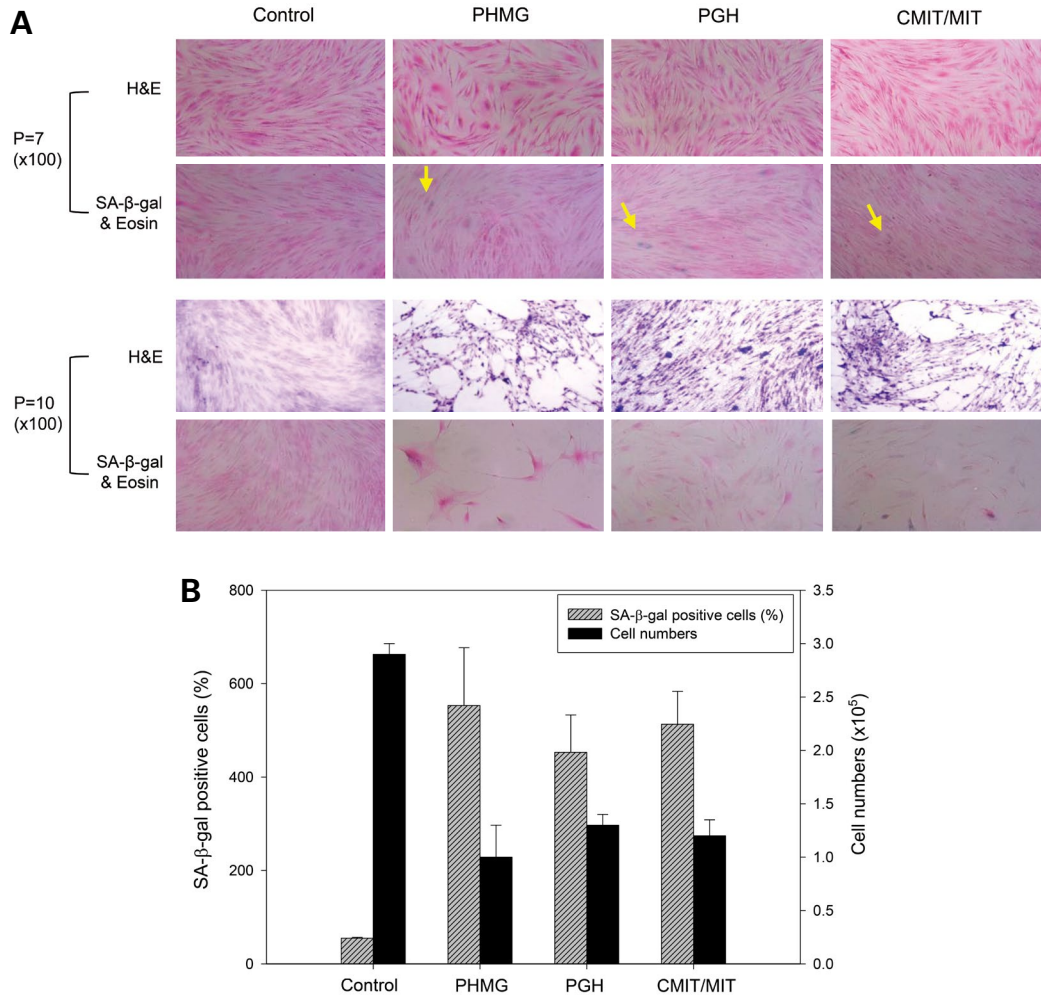
세포의 계대 배양 기간 동안 형태학적 변화를 핵과 세포질 염색 및 노화 정도 염색으로 비교해본 결과 Fig. 2와 같이 계대 배양 초기(p=7)부터 세포의 사멸로 인하여 세포수가 감소하고(H&E 염색), 노화된 세포의 염색(SA-β-gal)이 파란색의 증가로 관찰되었으며, 계대 배양이 진행될수록(p=10) 세포사멸이 늘어나 세포수는 크게 감소하면서, 핵의 크기가 증대하고 노화된 세포의 수는 더욱 증가하였다. Fig. 2A에서 나타난 바와 같이 PHMG를 처리한 세포에서 가장 심한 세포사멸과 핵의 크기 증가를 보여주었고, CMIT/MIT를 처리한 세포에서 두 번째 심각한 세포사멸과 세포노화를 보여주었다. Fig. 2B에서 보는 바와 같이 PHMG를 처리한 경우 대조군에 비해 10배 많은 SA-β-gal에 염색된 세포를 보여주었고, PGH와 CMIT/MIT를 처리한 경우도 대조군에 비해 8배와 9배 많은 SA-β-gal에 염색된 세포를 보여주었다. 총세포수는 대조군에 비해, PHMG

를 처리한 경우 2.9배 감소하였고, PGH와 CMIT/MIT를 처리한 경우도 대조군에 비해 2.2배와 2.4배 감소하였다. 이러한 피부 섬유세포의 독성은 Lundov 등이 보고한 MIT의 피부 알러지 독성(Lundov *et al.* 2011)의 메커니즘을 설명하는 근거가 될 수 있다.

## 2. 제브라피쉬 뇌신경조직 독성 분석

제브라피쉬를 각 PHMG, PGH, CMIT/MIT 살균제가 최종농도 40 mg L<sup>-1</sup>로 희석되어 있는 사육수조에 30분 동안 노출시킨 후, 선행논문에서(Gorelick *et al.* 2008) 제시하는 바와 같이 중뇌의 optic tectum 부분(Fig. 3A의 F-G 영역)을 횡면 절단하여 산화물의 생성을 비교해본 결과, 아래의 DHE 형광염색 사진과 같이 CMIT/MIT에 노출된 제브라피쉬가 대조군에 비해 17배 더 많은 산화물을 보여, 가장 심각한 두뇌 독성을 보여주었고, PGH는 15배, PHMG는 11배 더 많은 산화물을 보여주었다. 모든 살균제 그룹들이 대조군에 비해 유의적인 증가를 보여주었고(p<0.05), CMIT/MIT 그룹과 PGH 그룹은 PHMG 그룹에 비해 유의적인 차이를 보여주었다(p<0.05).

Fig. 3A에서와 같이 CMIT/MIT 노출그룹은 periventricular grey zone (PGZ)과 outer tectal superficial layer (TeO)에 걸쳐 산화물의 형성이 폭넓게 나타나는 것을 볼 수 있다. 제브라피쉬 두뇌의 optic tectum 영역은 사람의 중뇌 영역에 해당하는 부분으로 중뇌 상부에 위치하며 1차



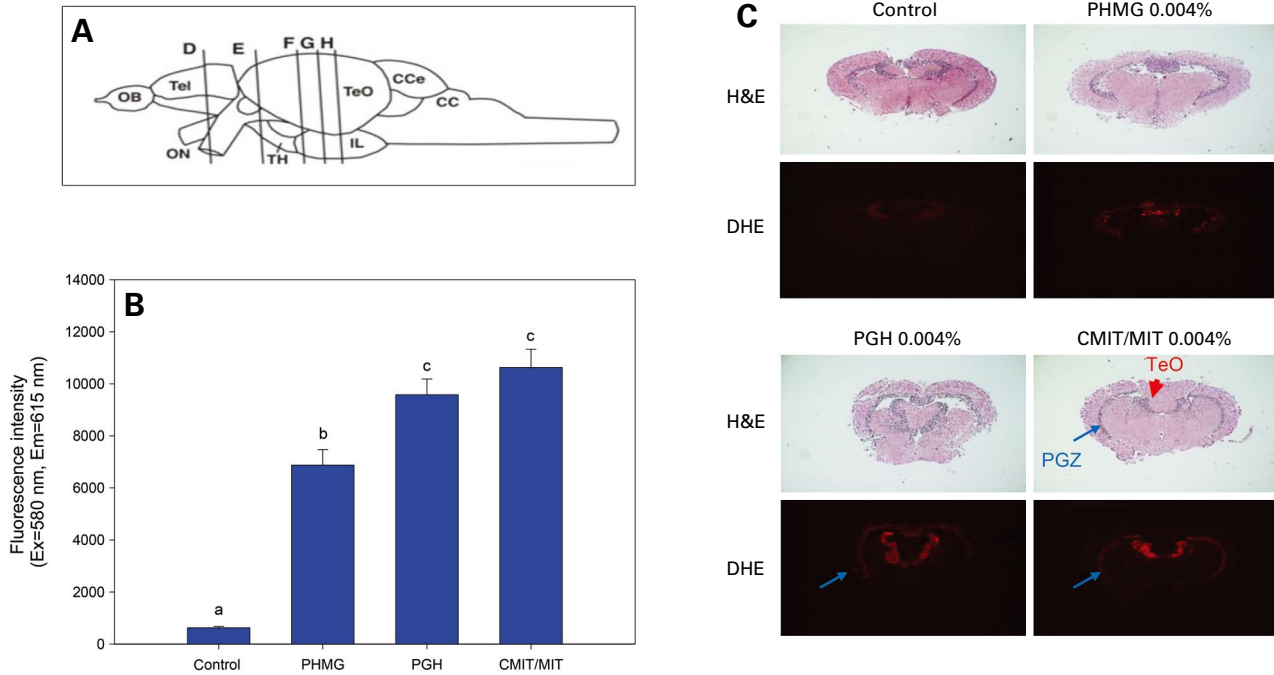
**Fig. 2.** A: Morphological changes in human dermal fibroblast cells treated with 2 mg L<sup>-1</sup> of PHMG, PGH, and CMIT/MIT (× 100 magnifications). During the consecutive subculture of passage 7 (P = 7) and passage 10, severe cytotoxicity and senescence were observed in PHMG, PGH, or CMIT/MIT-treated cells by H&E staining and senescence associated-beta-galactosidase (SA-β-gal) staining. The yellow arrows indicate SA-β-gal-positive cells. B: The percentage of SA-β-gal-positive cells in the same size (7.4 mm<sup>2</sup>) cell culture area and the same total number of cells at P = 7. The data are shown as the mean ± SD of three independent experiments performed in duplicate.

시각 중추기능과 정보처리 및 행동조절에 관여하며 신경 세포의 발달에 관여하는 것으로 알려져 있다(Marachlian *et al.* 2018). 이 결과는 제브라피쉬에게 가습기 살균제 PHMG를 노출하였을 때 뇌신경조직에 독성을 유발하며, 특히 최근에 보고된 가습기 살균제에 의한 제브라피쉬 내분비 시스템이 교란된다는 Kim 등의 연구 결과와도 일부 일치함을 알 수 있다(Kim and Ji 2019).

## 결론

2017년도 이전의 가습기 살균제 관련 논문들은 대부분

폐질환과 폐손상에만 관심을 둔 연구가 많았고, 피해자들의 구제 범위도 폐질환에만 한정되어 있었다. 특히 CMIT/MIT의 경우는 아예 흡입독성이 없는 것으로도 2013년 보고되기까지 하여(Kim 2013) 가습기 살균제 참사의 실제적 규명에 혼란이 많았고, 현재까지도 혼선은 계속되고 있다. 본 연구진의 2013년 선행연구 이후에, 가습기 살균제에 의한 폐 이외의 다양한 장기 손상에 대한 사회적 관심도 높아지게 되었고, 최근에 학문적 근거를 제시하는 다양한 논문들이 보고되기 시작하고 있다. 특히 CMIT/MIT가 폐질환을 유발하고(Park *et al.* 2020), 사람 각막유사세포의 손상을 일으킨다는 결과도 제시된 바 있다(Park *et al.*



**Fig. 3.** Quantification of oxidized species in the optic tectum of zebrafish, which were exposed to humidifier sterilizers, PHMG, PGH, and CMIT/MIT. A: Schematic illustration of zebrafish brain structure (Gorelick *et al.* 2008). B: Fluorescence intensity in the DHE-stained area using computer-assisted morphometry. The data are shown as the mean ± SD of each group ( $p < 0.05$ ). Means in groups not sharing a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ). C: Photos on the right show representative micro-sectioned images with H&E staining and dihydroethidium (DHE) staining. PGZ, periventricular grey zone; TeO, outer tectal superficial layer.

2019).

결론적으로, 본 연구진의 선행논문 및 현재 결과와 함께, 다른 참고논문들을 종합해 볼 때, 가슴기 살균제의 세 가지 주요 성분들 PHMG, PGH, CMIT/MIT가 피부 독성과 뇌신경조직 독성에도 영향을 미칠 수 있음을 제시할 수 있다. 따라서, 본 연구에서 도출된 결과를 바탕으로 향후 마우스를 비롯한 다른 포유류 동물모델을 이용한 검증 실험도 필요할 것으로 기대가 되며, 가슴기 살균제에 의한 다양한 조직 및 장기의 손상, 전신 질병, 유전 독성에 관한 후속연구가 계속 진행될 수 있도록 정부의 중, 장기적인 지원이 절실히 필요하다.

## 적 요

가슴기 살균제 성분 (PHMG, PGH, CMIT/MIT)의 노출에 의한 다양한 장기에 대한 독성들에 대해서 피해사례는 계속 증가하고 있으나, 세포모델과 동물모델에서의 연구와 보고는 아직 부족한 실정이다. 심혈관 독성, 간 독성,

배아 독성에 대해서는 최근 알려져 있으나 뇌신경 독성과 피부 독성에 대해서는 상대적으로 적게 알려져 있다. 본 연구에서는 이들 세 가지 성분들의 피부 독성과 뇌신경 독성을 사람 피부섬유세포와 제브라피쉬 동물모델을 대상으로 각각 평가하였다. 사람피부섬유세포에 세 가지의 성분들을 0, 2, 4, 6, 8, 16 mg L<sup>-1</sup> (최종농도)로 처리하였을 때, 세포 생존율은 PHMG가 33%로 가장 낮았고, PGH가 49%, CMIT/MIT가 40%의 생존율을 보였다. 세포배양액 내의 산화물을 정량해본 결과, PHMG 처리된 세포가 28 nmol MDA로 가장 높았고, PGH가 13 nmol MDA, CMIT/MIT가 21 nmol MDA를 보였다. 제브라피쉬 사육수조에 PHMG, PGH, CMIT/MIT를 40 mg L<sup>-1</sup>의 최종농도가 되도록 희석한 후, 제브라피쉬를 30분간 노출시킨 후 중뇌의 광시계영역(optic tectum)을 횡면 미세절단하여 산화물의 생성 정도를 비교해본 결과, CMIT/MIT를 처리한 그룹에서 대조군 대비 17배 많은 산화물의 생성이 있었고, PGH를 처리한 그룹에서는 15배, PHMG를 처리한 그룹에서는 11배 많은 산화물이 관찰되어 심각한 뇌신경계 독성을 보여주었다. 결론적으로 세 가지 종류의 가슴기 살균제 성분들에

서 모두 심각한 피부세포 독성과 뇌신경계 독성이 나타났는데, 피부 독성은 특히 PHMG가, 뇌신경계 독성은 특히 CMIT/MIT가 가장 심각하였다. 이들 결과들은 가슴기 살균제에 노출된 어린이들이 뇌신경계 독성을 통하여 언어장애, 운동장애, 발달장애 등을 겪게 될 수도 있음을 실험적으로 제시한다.

## 사 사

본 연구는 한국연구재단이 지원한 영남대학교 스마트 에이징 융복합 연구센터(2015R1A5A2009124)의 지원을 받아 수행되었습니다.

## REFERENCES

- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Buxbaum A, C Kratzer, W Graninger and A Georgopoulos. 2006. Antimicrobial and toxicological profile of the new biocide Akacid Plus. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:193-197
- Cho KH. 2011. Enhanced delivery of rapamycin by V156K-apoA-I high-density lipoprotein inhibits cellular proatherogenic effects and senescence and promotes tissue regeneration. *J. Gerontol. Ser. A-Biol. Sci. Med. Sci.* 66:1274-1285.
- Choi YJ and MS Jeon. 2020. How business interests and government inaction led to the humidifier disinfectant disaster in South Korea: Implications for better risk governance. *Risk Anal.* 40:240-253.
- Gorelick DA, W Watson and ME Halpern. 2008. Androgen receptor gene expression in the developing and adult zebrafish brain. *Dev. Dyn.* 237:2987-2995.
- Itahana K, J Campisi and GP Dimri. 2007. Methods to detect biomarkers of cellular senescence: The senescence-associated beta-galactosidase assay. *Methods Mol. Biol.* 371:21-31.
- Kim JY, HH Kim and KH Cho. 2013. Acute cardiovascular toxicity of sterilizers, PHMG, and PGH: severe inflammation in human cells and heart failure in zebrafish. *Cardiovasc. Toxicol.* 13:148-160.
- Kim H and K Ji. 2019. Exposure to humidifier disinfectants induces developmental effects and disrupts thyroid endocrine systems in zebrafish larvae. *Ecotox. Environ. Safe.* 184:109663.
- Kim SS, SH Im, JY Yang, YR Lee, GR Kim, JS Chae, DS Shin, JS Song, S Ahn, BH Lee, JC Woo, JH Ahn, CS Yun, P Kim, HR Kim, KR Lee and MA Bae. 2017. Zebrafish as a screening model for testing the permeability of blood-brain barrier to small molecules. *Zebrafish* 14:322-330.
- Kim YH. 2013. Humidifier disinfectant: 78 deaths and still in progress. *Iran. J. Public Health* 42:113.
- Koh TH, JT Park, D Kwon and K Kwak. 2020. Association between use of humidifier disinfectant and allergic rhinitis in Korean children: a cross-sectional study based on the eighth Panel Study on Korean Children (PSKC). *Ann. Occup. Environ. Med.* 32:e9.
- Leem JH and JH Lee. 2017. Humidifier disinfectant-associated specific diseases should be called together as "humidifier disinfectant syndrome". *Environ. Health Toxicol.* 32:e2017017.
- Lundov MD, C Zachariae and JD Johansen. 2011. Methylisothiazolinone contact allergy and dose-response relationships. *Contact Dermatitis* 64:330-336.
- Marachlian E, L Avitan, GJ Goodhill and G Sumbre. 2018. Principles of functional circuit connectivity: Insights from spontaneous activity in the zebrafish optic tectum. *Front. Neural Circuits* 12:46.
- Nusslein-Volhard C and R Dahm. 2002. *Zebrafish: A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Owusu-Ansah E, A Yavari, S Mandal and U Banerjee. 2008. Distinct mitochondrial retrograde signals control the G1-S cell cycle checkpoint. *Nat. Genet.* 40:356-361.
- Park EJ, JS Han, E Seong, EJ Park, BS Lee, SJ Lee and K Lee. 2020. Inhaled Kathon may induce eosinophilia-mediated disease in the lung. *Environ. Toxicol.* 35:27-36.
- Park J, H Lee and K Park. 2019. Eye irritation tests of polyhexamethylene guanidine phosphate (PHMG) and chloromethylisothiazolinone/methylisothiazolinone (CMIT/MIT) using a tissue model of reconstructed human cornea-like epithelium. *Environ. Health Toxicol.* 34:e2019004.
- Yon DK, SW Lee, A Woo, HY Koh, HM Jee, EK Ha, KJ Lee, YH Shin and MY Han. 2020. Exposure to humidifier disinfectants is associated with upper and lower airway diseases. *Pediatr. Allergy Immunol.* doi: 10.1111/pai.13233.