

수컷 랫드(Sprague-Dawley)에서 글리옥살(glyoxal)의 단회 기도내 투여에 따른 급성 독성시험

김현영¹ · 김기천¹ · 김인현^{1,2} · 김민석¹ · 김성환^{1,2**} · 이규홍^{1,2*}

¹안전성평가연구소, ²과학기술연합대학원대학교

Acute Toxicity Study of the Glyoxal by Intratracheal Instillation in Male Sprague-Dawley Rats

Hyeon-Young Kim¹ · Kicheon Kim¹ · In-Hyeon Kim^{1,2} · Min-Seok Kim¹ · Sung-Hwan Kim^{1,2**} · Kyuhong Lee^{1,2*}

¹National Center for Efficacy Evaluation of Respiratory Disease Product,
Korea Institute of Toxicology, 30, Baekhak 1-gil, Jeongup-si 56212, Korea

²Department of Human and Environmental Toxicology,
University of Science & Technology, Daejeon 34113, Korea

ABSTRACT

Objectives: The present study was performed to obtain acute toxicity information on glyoxal in male rats after intratracheal instillation.

Methods: In order to calculate the LD₅₀ of glyoxal using Probit analysis with SAS, the test article was one intratracheal instillation to male Sprague-Dawley rats at dose levels of 0, 225, 451 or 902 mg/kg. During the test period, mortality, clinical signs, and body and organ weights were examined. At the end of the 14-day observation period, all animals were sacrificed and complete gross postmortem and histopathological examinations were performed.

Results: Four animals of the 902 mg/kg group died within one week after the administration of glyoxal. All treatment group in a dose dependent manner, decreased body weight was found during the study period. The absolute and relative lung weight, and histopathological changes (bronchiolar-alveolar hyperplasia, chronic inflammation) of lung exhibited an increased in glyoxal treated groups in a dose dependent manner. However, there were no changes on the organ weights and histopathological changes of any other organ except lung.

Conclusions: The results obtained in the present study suggest that the LD₅₀ in male Sprague-Dawley rats after a single intratracheal instillation of glyoxal was considered to be 866.9 mg/kg and the lung was found to be the target organ for glyoxal.

Key words: acute toxicity, glyoxal, intratracheal instillation, LD₅₀, pulmonary toxicity

I. 서 론


글리옥살(glyoxal, oxaldehyde, ethanedial, CAS No.: 107-22-2)은 알데히드류계에 속하는 무색의 액


상 화학물질로 밀도는 1.265 g/ml (20°C)이고, 분자량 58.02 g/mol, 녹는 점 -14°C, 끓는 점 104°C, 발화점 285°C, 증기압 2.4 mmHg (20°C), n-옥탄올/물 분배 계수 -0.85로 수용성의 특징을 가지고 있다. 글리옥살


*Corresponding author: Kyuhong Lee, Tel: +82-63-570-8740, E-mail: khleekit@gmail.com


**Co-corresponding author: Sung-Hwan Kim, Tel: +82-63-570-8757, E-mail: sunghwan.kim@kitox.re.kr, National Center for Efficacy Evaluation of Respiratory Disease Product, Korea Institute of Toxicology, 30, Baekhak 1-gil, Jeongup-si 56212, Korea


Received: September 10, 2019, Revised: October 10, 2019, Accepted: November, 5, 2019


 Hyeon-Young Kim <https://orcid.org/0000-0002-0339-9673>

 In-Hyeon Kim <https://orcid.org/0000-0003-3775-7632>

 Sung-Hwan Kim <https://orcid.org/0000-0001-6876-737X>

 Kicheon Kim <https://orcid.org/0000-0002-9512-0982>

 Min-Seok Kim <https://orcid.org/0000-0001-8431-1516>

 Kyuhong Lee <https://orcid.org/0000-0003-4123-341X>

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

은 유기합성 원료로 사용되고 있으며 섬유, 종이, 페인트, 건축 자재 등 코팅분야와 세정제로 주로 사용된다. 현대사회의 건축, 직물, 화장품 및 제지 산업의 발달로 글리옥살의 활용이 증가하고 있으며 소비자의 사용량도 증가할 것으로 예상된다. 또한 글리옥살을 이용한 제품이 늘어남에 따라 글리옥살에 노출되는 근로자의 수도 증가할 것으로 예상된다.

글리옥살은 자동차 배기가스로부터 발생하는 대기 중 카르보닐 화합물의 중요한 부분을 구성하고 있으며 (Grosjean, 1984), Ho & Yu (2002)의 연구결과에 따르면 버스정류장 근처의 도로변(Clear Water Bay, Kowloon, Hon Kong) 대기를 24시간 동안 분석한 결과 이른 시간(01:00~05:00)의 글리옥살 최저 농도는 약 $1.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 인 반면에, 교통량이 증가한 시간(09:00~13:00)의 글리옥살 최고 농도는 약 $9.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 자동차 배기가스와 글리옥살의 연관성을 규명한 바 있다. 또한 주거용 벽난로에서 연소되는 목재의 kg당 약 600 mg의 글리옥살이 생성되며(McDonald et al., 2000), 담배로부터 미량의 글리옥살이 배출되고(Moree-Testa & Saint-Jalm, 1981), 글리옥살은 고온에서 식품을 조리 시 포도당 자동산화(glucose autoxidation)에 의해서도 생성된다(Shangari & O'Brien, 2004). 이러한 다양한 경로를 통하여 생성된 글리옥살은 직간접적으로 사람에게 노출 될 가능성이 높다.

한국산업안전보건공단(Korea Occupational Safety and Health Agency)에서 제공하고 있는 물질안전보건자료(Material Safety Data Sheet, MSDS)에 따르면 글리옥살은 피부 자극과 알레르기성 피부 반응, 심한 눈 자극, 호흡기 자극 및 유적적인 결합 가능성을 유발하는 것으로 알려져 있으며, Takahashi et al.(1989)의 연구 결과에서도 글리옥살은 몇몇 세포 모델에서 직접적인 돌연변이 유발인자로 보고되었다. 글리옥살은 세포 손상과 단백질의 당화(glycation)를 일으켜 최종당화산물(advanced glycation end products, AGEs)을 생성함으로써 세포독성을 야기하는 것으로 보고되었으며 (Singh et al., 2014), 글리옥살은 단백질이나 DNA에 손상을 주어 심혈관 질환과 백내장, 근육 질환, 당뇨병과 관련된 합병증, 알츠하이머 병 및 파킨슨 병과 같은 신경 퇴행성 질환에 기여할 수 있다고 보고되었다(Shangari et al., 2003; O'Brien et al., 2005).

이전 연구결과에 따르면 랫드 급성 흡입노출 반수치 사량(LC₅₀)은 2.44 mg/L (4시간), 29일 동안의 반복 흡

입노출(비부 노출, 6시간/일, 5일/주)결과 최대무작용량(no observed effect level, NOEL)은 $0.6 \text{ mg}/\text{m}^3$ 이라고 보고되었다(Hoechst AG, 1984; Hoechst AG, 1995). 미국정부산업위생전문가협회(American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)의 노출기준(threshold limit value, TLV)에 따르면 사람에게 허용되는 글리옥살의 1일 8시간 시간 가중 평균 농도(Time weighted average, TWA)는 $0.1 \text{ mg}/\text{m}^3$ 로 보고되었다. 유럽 연합 집행위원회(European commission, EC)는 화장품에 들어있는 글리옥살의 총 함량을 최대 100 mg/L로 제한하였고(WHO, 2004; SCCP, 2005), 독일 정부는 환경 안전 기준을 지킨 제품임을 보증하는 eco-label (Blue Angel) 기준으로 종이 또는 나무 벽지에 글리옥살의 첨가를 금지시켰다(RPA, 2013). 글리옥살의 작업환경 관리나 취급 부주의 시 주로 흡입을 통하여 노출이 이루어지지만, 글리옥살의 흡입으로 인한 독성학적 정보는 매우 제한적으로 알려져 있고 흡입에 의한 유해성 조사 및 평가 연구는 미흡한 실정이다.

정확한 흡입독성시험을 수행하기 위하여 에어로졸 발생기, 노출 챔버, 배기시설 등 다양한 시설과 장비가 필요하며, 이러한 이유로 고비용과 기술적 전문성이 요구되고 있다(Oberdorster, 1996). 흡입독성시험은 공기 중으로 물질을 고농도로 노출하기 때문에 작업자의 안전성에 대한 대비책 또한 잘 준비되어야 한다. 기도내투여법은 흡입독성시험을 위해 사용되는 장비와 비용 및 기술력 등이 흡입독성시험에 비해 상대적으로 적게 요구되고 있기 때문에 흡입 가능한 물질을 폐 내로 전달할 수 있는 간편하고 유용한 방법이며, 많은 시험에서 사용되고 있는 투여법이다(Kim et al., 2018a; Kim et al., 2018b; Kim et al., 2018c; Kim et al., 2018d). 또한 기도내투여법은 흡입노출법보다 다양한 농도의 시험이 가능하고, 동물에게 노출되는 시험물질의 양을 정확하게 산출할 수 있어 노출수준에 따른 독성학적 특성과 용량상관성의 규명이 용이하기 때문에 본 시험에서는 기도내투여를 선택하였다.

본 연구는 소비자와 근로자 및 국민의 건강보호를 위하여 글리옥살에 대한 안전성 평가의 일환으로 good laboratory practice (GLP) 인증기관을 통해 수행하였으며, 흡입 노출 시 발현될 수 있는 급성독성 잠재력과 표적 기관(target organ) 및 반수치사농도(LD₅₀)를 조사하기 위하여 글리옥살을 시험동물에게 단회 기도내

투여 후 사망유무와 일반증상 관찰, 체중 및 장기중량 변화 및 병리조직학적 검사를 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시약 및 실험재료

본 실험에 사용한 글리옥살(Lot No.: STBF6166V, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA)은 Sigma-Aldrich Co.에서 구입하여 사용하였다.

2. 용량 설정 및 투여방법

랫드에서 글리옥살의 단회 흡입노출 반수치사량(LC₅₀)은 2.44 mg/L (4시간)로 알려져 있으며, 이러한 결과를 바탕으로 Alexander et al. (2008)에 의하여 흡입노출농도(mg/L)를 투여농도(mg/kg)로 환산하여 본 시험 용량을 설정하였으며 계산식은 다음의 (1), (2)와 같다.

$$DD = (C \times RMV \times D \times IF) / BW \quad (1)$$

$$RMV = 0.608 \times BW^{0.852} \quad (2)$$

DD: delivered dose (mg/kg)

C: concentration of substance in air (mg/L)

RMV: respiratory minute volume or the volume of air inhaled in one minute (L/min)

D: duration of exposure (min)

IF: inhalable fraction

BW: body weight (kg)

그러므로 각 요소를 대입하여 IF는 1, 체중은 200 g 이라고 가정하면 식(3)으로 정리된다.

$$451 \text{ mg/kg} = (2.44 \text{ mg/L} \times 0.154 \text{ L/min} \times 240 \text{ min} \times 1) / (0.2 \text{ kg}) \quad (3)$$

글리옥살의 흡입노출 반수치사농도(LC₅₀)는 체중 kg당 451 mg을 투여한 농도와 같았으며, 그러므로 본 시험에서는 중간용량을 451 mg/kg으로 설정하였고, 공비 2를 적용하여 치사량과 급성독성에 대한 용량반응을 확인할 수 있도록 고용량을 902 mg/kg, 저용량을 225 mg/kg으로 설정하였다. 각 시험동물은 Isoflurane (아이프란, Lot No. 9009, 하나제약주식회사, 경기도 화성시, 한국)으로 마취한 후, 자동비디오

점적기(automatic video instillator)를 사용하여(Kim et al., 2018a; Kim et al., 2018c) 저용량, 중간용량, 고용량군에 각각 225 mg/kg, 451 mg/kg, 902 mg/kg 를 시험동물의 기도 내(Intratracheal instillation)로 단회 투여하였다. 대조군에는 멸균증류수를 기도내 투여하였고, 투여액량은 50 μ L로 설정하였다.

3. 시험동물 및 사육환경

본 시험에서는 오리엔트바이오(서울, 한국)로부터 입수한 6주령의 수컷 특정병원체 부재(specific pathogen-free) Sprague-Dawley 랫드를 사용하였다. 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 건강하다고 판정된 것을 선발하여 시험에 사용하였으며, 시험동물은 체중을 지표로 하여 군별 체중편차가 최소화 되도록 하였다. 시험동물은 4개의 군으로 구성하였으며, 군당 6마리의 동물을 사용하였다. 각 군의 시험동물은 기도내 투여 후 14일째에 희생시켰다. 동물실의 사육환경은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20%, 환기횟수 10~20회/시간, 조명시간 12시간/일(08:00 점등~20:00 소등) 및 조도 150~300 lux로 설정된 사육환경에서 스테인레스제 망사육상자(255W×465L×200H mm)에 사육상자당 3마리씩 수용하였으며, 실험동물용 고품사료(Lab Diet® #5053, PMI Nutrition International, USA)를 사용하였고 급이기에 고품사료를 넣어 자유 섭취시켰다. 물은 미세여과기 및 자외선을 이용하여 여과시킨 상수도수를 자유 섭취시켰다. 상기 시험들은 미국 실험동물관리인증협회(American Association for Accreditation of Laboratory Animal Care, AAALAC)로부터 인증된 시설에서 수행되었고, 모든 시험법은 기관내 동물관리 사용위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)에 의해 검토되었다(IACUC #1612-0437).

4. 체중측정 및 임상증상관찰

시험동물에 대한 임상증상관찰은 동물도입 후 매일 1회 모든 시험동물에 대해 관찰하였다. 체중측정은 3회/주 측정하였다.

5. 육안 검사 및 장기중량 측정

시험동물에 글리옥살을 기도내 투여 후 14일째까지 생존한 동물은 Isoflurane (아이프란)을 사용하여 마취시키고, 방혈치사 시킨 후 전 장기에 대하여 육안적 검

사를 실시하였다. 시험동물의 폐와 간, 신장, 심장 및 비장을 적출하여 습중량을 측정하고, 부검시 체중에 대한 상대장기중량(organ-to-body weight ratio, %)을 계산하였다.

6. 병리조직학적 검사

폐와 간, 신장, 심장 및 비장은 대조군을 포함한 모든 시험동물에 대하여 병리조직학적 이상 유무를 관찰하기 위해 10% 중성포르말린 용액에 고정하였다. 고정된 조직은 탈수한 후 파라핀으로 포매하고 마이크로톰으로 박절한 후 Hematoxylin-Eosin (H&E) 염색표본을 만들어 광학현미경으로 조직이상 유무를 관찰하였다.

7. 통계학적 분석

시험결과 자료의 통계분석은 Prisma system (Xybion Medical System Co., USA)을 이용하였다. 시험기간 중 측정된 체중과 장기중량 결과는 평균과 표준편차로 표기하였으며, 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하여 유의성이 관찰되면 대조군과 유의적인 차이가 있는 시험군을 확인하기 위하여 Dunnett's t-test를 실시하였다. 반수치사농도(LD₅₀)값은 SAS 프로그램 내의 Probit 분석방법을 이용하였다.

III. 연구결과

1. 사망동물 및 일반증상

시험기간 중 사망동물을 관찰한 결과(Table 1), 902 mg/kg 투여군에서 투여 후 2일째에 1례, 투여 후 3일째에 2례, 그리고 투여 후 5일째에 1례가 사망하였다. 시험기간 중 일반증상을 관찰한 결과는 Table 2에 요약하였다. 시험물질의 투여와 관련하여 호흡곤란(dyspnea)과 활동성 저하(subdued behavior), 비강내 분비물(nasal discharge) 및 사망(death) 소견들이 902 mg/kg 투여군에서 관찰되었다.

2. 체중

시험기간 중 동물의 체중을 측정된 결과, Table 3에 나타낸 바와 같이 투여용량의 증가에 따라 체중 감소가 용량의존적으로 관찰되었다. 특히, 225 mg/kg 투여군에서 투여 4일째(p<0.05)와 451 mg/kg 투여군에서 투여 4일과 7일(p<0.01) 및 11일째(p<0.05) 및 902 mg/kg 투여군에서 투여 4일과 7일, 11일(p<0.01) 및 13일째(p<0.05)의 체중이 대조군에 비해 통계학적으로 유의성 있게 감소하였다.

Table 1. Mortality of male rats after intratracheal instillation of glyoxal

Dose (mg/kg)	Days after treatment															Mortality (%)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
0	0 ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
225	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
451	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
902	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/6 (67)

^a Number of dead animals

Table 2. Clinical signs after intratracheal instillation of glyoxal in male rats

Parameters	Group (mg/kg)			
	0	225	451	902
No. of rats with clinical signs	6 ^a	6	6	6
Appears normal	6	6	6	1
Dyspnea	0	0	0	1
Subdued behavior	0	0	0	1
Nasal discharge	0	0	0	1
Death	0	0	0	4

^a A single rat may be represented more than once in listing individual signs.

Table 3. Body weight changes after intratracheal instillation of glyoxal in male rats

Parameters	Group (mg/kg)			
	0	225	451	902
No. of rats	6	6	6	2 ^a
Body weight (g)				
Day 1	262.8±6.22 ^b	261.5±5.87	263.9±8.24	273.1±12.59
Day 4	280.0±5.31	260.9±8.72*	237.6±14.63**	209.7±16.19**
Day 7	313.1±9.02	295.5±8.46	279.2±16.97**	228.8±16.33**
Day 11	346.5±12.02	326.1±9.84	319.5±19.21*	291.0±25.10**
Day 13	358.9±13.06	342.0±11.74	335.6±20.70	320.7±23.48*
Day 15	367.1±13.68	347.7±13.38	347.4±21.74	338.2±24.40

^a Four animals in 902 mg/kg dose group died within 1 week, for those rats no data were obtained.

^b Values are presented as mean±SD.

* Significant difference at $p<0.05$ level compared with the control group

** Significant difference at $p<0.01$ level compared with the control group

3. 육안적 부검소견

투여개시 후 14일째에 모든 생존동물을 부검하여 육안적 부검소견을 관찰한 결과(자료 미제시), 225 mg/kg 투여군에서 폐의 병소(focus/foci) 1례와 451 mg/kg 투여군에서 폐의 병소 5례 및 902 mg/kg 투여군에서 폐의 변색(discoloration) 4례와 병소 2례가 관찰되었다.

4. 장기중량

투여 후 14일째에 생존동물을 부검하여 주요 장기의 무게를 측정된 결과(Table 4), 225 mg/kg과 451 mg/kg 투여군에서 폐의 절대 및 상대중량이 대조군에 비해 각각 통계학적으로 유의성 있게 증가하였다($p<0.01$). 225 mg/kg 투여군에서 신장의 절대중량이 대조군에 비해 통계학적으로 유의성 있게 증가하였다. 그러나 간과 심장

Table 4. Changes on the absolute and relative organ weights after intratracheal instillation of glyoxal in male rats

Parameters	Group (mg/kg)			
	0	225	451	902
No. of rats	6	6	6	2 ^a
Lung (g)	1.501±0.125 ^b	1.833±0.183**	2.144±0.142**	2.316±0.068
Per body weight (%)	0.409±0.030	0.526±0.040**	0.618±0.036**	0.687±0.070
Liver	17.482±0.897	15.513±1.156	15.293±1.569	15.670±1.414
Per body weight (%)	4.764±0.212	4.458±0.192	4.394±0.187	4.631±0.084
Spleen	0.833±0.115	0.780±0.120	0.779±0.086	0.874±0.012
Per body weight (%)	0.227±0.034	0.224±0.030	0.224±0.017	0.259±0.015
Heart	1.189±0.060	1.213±0.154	1.238±0.074	1.222±0.035
Per body weight (%)	0.324±0.019	0.348±0.034	0.357±0.014	0.363±0.037
Kidneys	3.288±0.281	2.929±0.212*	3.037±0.201	2.841±0.114
Per body weight (%)	0.895±0.054	0.842±0.048	0.875±0.051	0.841±0.027

^a Four animals in 902 mg/kg dose group died within 1 week, for those rats no data were obtained.

^b Values are presented as mean±SD.

* Significant difference at $p<0.05$ level compared with the control group

** Significant difference at $p<0.01$ level compared with the control group

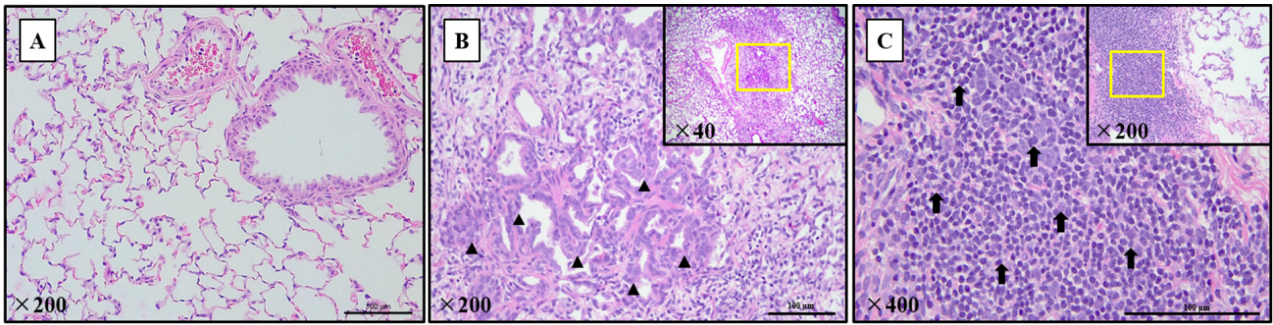


Figure 1. Histopathological analysis of lung tissue after glyoxal treatment. The image A is representative of lung tissue of rats from control group treated with distilled water by intratracheal instillation. The images B and C are representative photographs of lung sections from the high-dose (902 mg/kg of glyoxal) group. Black arrow head indicate bronchiolar-alveolar hyperplasia, black arrow indicate chronic inflammation. Tissues were stained with hematoxyline & eosin, as indicated in materials and methods. Scale bars represents 100 μ m.

Table 5. Histopathological findings after intratracheal instillation of glyoxal in male rats

Findings	Grades	Group (mg/kg)			
		0	225	451	901
No. of rats		6	6	6	2 ^a
Lung	-	6	0	0	0
Bronchiolar-alveolar hyperplasia	+	0	2	0	0
	++	0	4	3	0
	+++	0	0	3	2
	-	6	0	0	0
	Chronic inflammation	++	0	2	0
	+++	0	4	3	0
	++++	0	0	3	2

Grades are as follows: -(normal), +(minimal), ++(Slight), +++(Moderate), ++++(Marked).

^a Four animals in 902 mg/kg dose group died within 2 weeks, for those rats no data were obtained.

및 비장의 장기중량 변화는 관찰되지 않았다.

5. 병리조직학적 소견

병리조직학적 검사결과(Figure 1, Table 5), 대조군에서는 어떠한 조직학적 이상소견도 관찰되지 않았으나 225, 451 및 902 mg/kg 투여군의 폐에서 세기관지폐포 증생(bronchiolar-alveolar hyperplasia) 및 만성 염증(chronic inflammation)이 모든 동물에서 관찰되었고, 비장에서 골수의 조혈(extramedullary hemopoiesis)이 각각 2례, 3례, 2례 관찰되었다(자료 미제시).

IV. 고 찰

본 연구는 글리옥살을 시험동물에게 기도내 투여하여

흡입독성을 연구함으로써 글리옥살을 사용하는 소비자와 근로자 및 국민의 건강보호를 위한 기초자료와 유해성 평가 기초자료를 생산하고자 하였다.

글리옥살의 급성독성을 조사하기 위하여 수컷 랫드에게 0, 225, 451 및 902 mg/kg 용량으로 단회 기도내 투여 후 일반증상과 체중, 육안소견, 장기중량 및 병리조직학적 변화를 관찰하였다. 시험결과, 글리옥살의 단회 기도내 투여는 일반증상과 사망률의 증가, 체중 감소, 폐의 장기중량 변화 및 폐의 병변발생을 초래하는 것으로 확인되었다.

일반증상 관찰 시, 글리옥살 902 mg/kg 투여군에서 호흡곤란과 활동성 저하 및 비강내 분비물 발생이 관찰되었으며, 기도내 투여 5일 안에 6마리 중 4마리가 사망하였다. 이전 연구에 따르면 랫드에게 글리옥살을

2200, 2600 및 2700 mg/m³으로 4시간동안 비부 흡입노출 결과, 불규칙 호흡(irregular breathing)과 비강내 분비물(nasal secretion), 부분적인 눈감김(partly closed eyes), 거친 털(ruffled fur), 현기증(dizziness) 및 복와위(lying on the abdomen)가 관찰되었으며, 2200 mg/m³ 노출군에서 10마리 중 2마리가, 2600 mg/m³ 노출군에서 10마리 중 5마리가, 그리고 2700 mg/m³ 노출군에서 10마리 중 10마리가 흡입노출 9일 안에 사망하였다(SCCP, 2005). 본 시험에서 902 mg/kg 투여군에서 관찰된 일반증상은 이전 연구 결과와 일치하며, 독성증상이 현저하게 나타난 고용량군에서 관찰된 것으로 보아 시험물질의 기도내 투여에 기인된 영향으로 판단된다. 본 시험에서 Probit 분석방법을 통하여 관찰된 글리옥살의 단회 기도내 투여 반수치사농도(LD₅₀)는 866.9 mg/kg이었으며, 이를 Alexander et al. (2008)에 의하여 투여농도(mg/kg)를 흡입노출농도(mg/L)로 환산하면 4.69 mg/L (4시간)으로 산출된다. Hoechst AG (1984), Hoechst AG (1995) 등에서 보고된 글리옥살의 단회 흡입노출 반수치사량(LC₅₀) 수치와 상이한 이유는 투여 방법에 따른 차이로 사료된다.

랫드에 글리옥살을 기도내 투여한 결과 투여 4일째 225 mg/kg 투여군의 체중은 대조군에 비하여 6.84% 감소하였으며, 451 mg/kg 투여군의 체중은 15.16% 감소하였고, 902 mg/kg 투여군의 체중은 25.13% 감소하였다. 체중 측정 시 시험물질 투여군에서 나타난 용량의존적인 체중 감소는 글리옥살 기도내 투여 7일째부터 회복하는 경향을 관찰하였다. 이전에 수행된 랫드 급성 피부 독성시험 결과, 글리옥살 피부노출 이후 일시적인 체중감소를 관찰하였으며, 7일안에 회복하였다(SCCP, 2005). 또한 암수 랫드에 0, 100, 300 및 1000 mg/kg 용량으로 28일 동안 반복 경구투여 독성 시험 결과, 300 mg/kg과 1000 mg/kg 투여군에서 용량의존적인 체중증가의 역제가 관찰되었고(Société Française Hoechst, 1987), 암수 랫드에 0, 32, 63, 125 및 250 mg/kg 용량으로 90일 동안 반복 사료급여실험(feeding study) 결과, 수컷 250 mg/kg 투여군에서 첫 투여 후 2주 동안 유의적인 체중증가의 역제를 관찰하였다(Mellon Institute, 1966). 화학물질에 대한 일반독성평가 시, 체중의 변화는 독성영향에 대한 민감한 표지자로서 잘 알려져 있으며(Kim et al., 2004a; Kim et al., 2004b), 본 시험에서 관찰된 용량의존적인 체중감소는 시험물질에 의한 독성학적 변화로 사료

된다.

글리옥살 기도내 투여 후 14일째 부검 시 시험물질 투여군에서 관찰된 폐의 병소 및 폐의 변색 소견은 호흡곤란 및 비강내 분비물로 나타난 호흡기계 증상과 일치하는 것으로 보아 시험물질의 기도내 투여에 의한 소견으로 판단된다.

일반독성시험에서 주요 장기의 증량변화는 잠재적인 독성물질의 검색에 민감한 표지자로 유용하게 이용되고 있다(Andersen et al., 1999; Bailey et al., 2004). 부검 시 225 mg/kg과 451 mg/kg 투여군의 절대 및 상대 폐중량은 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있는 증가를 보여주었고, 902 mg/kg 투여군의 절대 및 상대 폐중량은 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의적이지는 않지만 용량의존적으로 증가하는 경향을 관찰하였다. 이러한 폐중량의 변화는 폐의 육안적 소견과 병리조직학적 소견이 동반된 것으로 보아 시험물질의 투여에 의한 독성반응으로 판단된다. 반면, 225 mg/kg 투여군에서 관찰된 신장의 절대중량 증가는 용량상관성이 인정되지 않았고 병리조직학적 검사 결과와 일치하지 않기 때문에 시험물질의 투여와는 관련이 없는 우발적인 소견으로 사료된다.

병리조직학적 검사 결과, 시험물질 투여군의 폐에서 용량의존적으로 관찰된 세기관지폐포 증생 및 만성 염증 소견은 높은 빈도로 관찰되었고 육안적 소견인 폐의 병소 및 폐의 변색과 일반증상 관찰 결과 및 장기중량 측정 결과와 일치하는 것으로 보아 시험물질의 투여에 의한 독성학적 변화로 판단된다. 이전에 수행된 연구결과에 따르면 시험물질을 시험동물에 기도내 투여 후 폐의 병리조직학적 검사를 실시한 결과 염증세포 침윤 및 세기관지 폐포 증생 소견이 주요 소견으로 관찰되었고, 이러한 소견은 기도내 투여로 인한 폐 조직 손상 후 나타나는 적응성 변화(adaptive change)로 알려져 있다(Kim et al., 2018a; Kim et al., 2018b; Kim et al., 2018c; Kim et al., 2018d). 본 시험결과 시험물질 투여군 폐에서 관찰된 만성 염증 및 세기관지 폐포 증생 또한 글리옥살의 기도내 투여에 기인된 폐 조직 손상 후 적응성 변화로 사료된다. 한편, 시험물질 투여군의 비장에서 관찰된 골수의 조혈은 변화가 현저하지 않고, 용량상관성이 없으며 장기중량 측정 결과와 일치하지 않기 때문에 독성학적으로 의의는 없는 변화로 사료된다.

V. 결 론

본 실험조건하에서 수컷 랫드에 글리옥살을 0, 225, 451 및 902 mg/kg의 용량으로 단회 기도내 투여 시 일반증상과 육안적 소견, 체중감소, 폐 절대 및 상대중량 증가 및 폐조직 병변발생을 관찰하였다. 따라서 글리옥살의 단회 기도내 투여 시 표적 기관은 폐인 것으로 사료되며, 902 mg/kg 투여군에서 4마리의 사망동물이 관찰되어 반수치사농도(LD₅₀)는 866.9 mg/kg (4.69 mg/L, 4시간) 인 것으로 확인되었다. 본 시험결과는 글리옥살의 단회 기도내 투여에 의한 급성독성 정보를 제공함으로써 유해성 평가자료로서 활용될 수 있을 뿐만 아니라 근로자의 작업환경 관리를 위한 노출기준 설정에도 유용하게 이용될 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업(HI16C0062)과 안전성평가연구소 화학물질 흡입독성평가연구(KK-1904-01)의 지원에 의하여 이루어진 것임

References

- Alexander DJ, Collins CJ, Coombs DW, Gilkison IS, Hardy CJ, Healey G, Karantabias G, Johnson N, Karlsson A, Kilgour JD, McDonald P. Association of inhalation toxicologists (AIT) working party recommendation for standard delivered dose calculation and expression in non-clinical aerosol inhalation toxicology studies with pharmaceuticals. *Inhal Toxicol* 2008;20(13):1179-1189
- Andersen H, Larsen S, Spliid H, Christensen ND. Multivariate statistical analysis of organ weights in toxicity studies. *Toxicology* 1999;136(2-3):67-77
- Bailey SA, Zidell RH, Perry RW. Relationship between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical end point? *Toxicol Pathol* 2004;32(4):448-466
- Grosjean D. Particulate carbon in Los Angeles air. *Sci Total Environ* 1984;32:133-145
- Ho SSH, Yu JZ. Feasibility of collection and analysis of airborne carbonyls by on-sorbent derivatization and thermal desorption. *Anal Chem* 2002;74(6):1232-1240
- Hoechst AG. Glyoxal 40N. Akute Aerosolinhalation an männlichen und weiblichen SPF-Wistar-Ratten. 4 Stunden -LC50. Frankfurt, Hoechst AG, pp. 1-7 (Report No. 84.0378;NTIS/OTS 0535127; EPA/OTS 86-920000799), 1984
- Hoechst AG. Glyoxal 40% (aqueous solution) - testing for subacute (29-days) inhalation toxicity in male and female Wistar rats. Frankfurt, Hoechst AG, Pharma Development, Corporate Toxicology (Unpublished Report No. 94.1056), 1995
- Kim JC, Kim SH, Shin DH, Ahn TH, Kim HC, Kim YB, Jiang CZ, Han J, Chung MK. Effects of prenatal exposure to the environmental pollutant 2-bromopropane on embryo-fetal development in rats. *Toxicology* 2004a;196(1-2):77-86
- Kim JC, Shin DH, Kim SH, Kim JK, Park SC, Son WC, Lee HS, Suh JE, Kim CY, Ha CS, Chung MK. Subacute toxicity evaluation of a new camptothecin anticancer agent CKD-602 administered by intravenous injection to rats. *Regul Toxicol Pharmacol* 2004b;40(3):356-369
- Kim MS, Kim SH, Jeon D, Kim HY, Lee K. Changes in expression of cytokines in polyhexamethylene guanidine induced lung fibrosis in mice: Comparison of bleomycin-induced lung fibrosis. *Toxicology* 2018a;393:185-192
- Kim MS, Kim SH, Jeon D, Kim HY, Han JY, Kim B, Lee K. Low-dose cadmium exposure exacerbates polyhexamethylene guanidine-induced lung fibrosis in mice. *J Toxicol Environ Health A* 2018b;81(11):384-396
- Kim HY, Kim MS, Kim SH, Jeon D, Lee K. Protective Effects of Nintedanib against Polyhexamethylene Guanidine Phosphate-Induced Lung Fibrosis in Mice. *Molecules* 2018c;7:23(8). E1974
- Kim MS, Han JY, Kim SH, Jeon D, Kim HY, Lee SW, Rho MC, Lee K. Oleanolic acid acetate attenuates polyhexamethylene guanidine phosphate-induced pulmonary inflammation and fibrosis in mice. *Respir Physiol Neurobiol* 2018d;252-253:1-9
- Korea Occupational Safety and Health Agency (KOSHA), <http://www.kosha.or.kr/>
- McDonald JD, Zielinska B, Fujita EM, Sagebiel JC, Chow JC et al. Fine particle and gaseous emission rates from residential wood combustion. *Environ Sci Technol* 2000;34(11):2080-2091
- Mellon Institute Special report. Results of feeding glyoxal in the diet of rats and of dogs for three months. Pittsburgh, PA, University of Pittsburgh, Mellon Institute of Industrial Research 1966;1-20 (Report 29-1; NTIS/OTS 852-5072)
- Moree-Testa P, Saint-Jalm Y. Determination of α -dicarbonyl compounds in cigarette smoke. *J*

- Chromatogr A 1981;217:197-218
- O'Brien PJ, Siraki AG, Shangari N. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. Crit Rev Toxicol 2005;35(7):609-662
- Oberdorster G. Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles. Inhal Toxicol 1996;8(suppl): 73-89
- Risk Policy Analysts (RPA). Study on Specific Needs for Information on the Content of Dangerous Substances in Construction Products: Final Report Prepared for DG Enterprise & Industry; RPA: Norfolk, UK, 2013
- Scientific Committee on Consumer Products (SCCP). Opinion on: Glyoxal (SCCP/0881/05) Adopted by the SCCP during the 4th Plenary of 21 June 2005; SCCP: Luxembourg, 2005
- Shangari N, Bruce WR, Poon R, O'Brien PJ. Toxicity of glyoxals-role of oxidative stress, metabolic detoxification and thiamine deficiency. Biochem Soc Trans 2003;31(Part 6):1390-1393
- Shangari N, O'Brien PJ. The cytotoxic mechanism of glyoxal involves oxidative stress. Biochem Pharmacol 2004;68(7):1433-1442
- Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced glycation end products and diabetic complications. Korean J Physiol Pharmacol 2014;18:1-14
- Société Française Hoechst. Glyoxal 40. 28 day dose range finding study in rats by administration in drinking water. Unpublished report (Study No. 2619 TSR; HOE 87.1678) 1987 [cited in BUA, 1997]
- Takahashi M, Okamiya H, Furukawa F, Toyoda K, Sato H, Imaida K, Hayashi Y. Effects of glyoxal and methylglyoxal administration on gastric carcinogenesis in Wistar rats after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. Carcinogenesis 1989;10(10): 1925-1927
- World Health Organization (WHO). Concise International Chemical Assessment Document 57: Glyoxal. International Programme on Chemical Safety II; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2004

<저자정보>

김현영(전임기술원), 김기천(박사후 연수자), 김인현(석사과정 대학원생), 김민석(선임연구원), 김성환(선임연구원), 이규홍(책임연구원)