

Isoprene 아급성 흡입독성 연구

A Study on Subchronic Inhalation Toxicity of Isoprene Using Sprague-Dawley Rats

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

Yong Hyun Chung* · Sung Bae Lee · Jeong Hee Han · Min Gu Kang · Jong Kyu Kim ·

Kyung Taek Rim · Jung Sun Yang

산업안전보건연구원 화학물질안전보건센터

Chemical Safety and Health Research Center, Occupational Safety & Health Research Institute

ABSTRACT

The purpose of this study was to obtain scientific information regarding classification and health hazards that may result from a 13 weeks inhalation exposure of isoprene in Sprague-Dawley (SD) rats. The testing method was conducted in accordance with OECD guidelines for the testing of chemicals No. 413. The Rats were divided into 4 groups (10 male and 10 female rats in each group) and exposed to 0, 360, 1,620, 7,300 ppm isoprene in each exposure chamber for 6 h/day, 5 days/week, for 13 weeks. As a result, there were no mortality or abnormality during the period of study and did not show any significant changes of body weight. There were no dose response changes in urinalysis, hematological and serum biochemical value examination. Relative organ weight was increased significantly the right kidney in 7,300 ppm group of male rats. In female rats, relative organ weight of the left kidney and the both lungs in 1,620 ppm group and the left lung and the both kidneys in 7,300 ppm group were increased significantly. But the histopathological findings did not reveal any exposure-related changes. According to the above results, the no observable adverse effect level (NOAEL) of isoprene was 7,300 ppm (20.3 mg/L) in both male and female rats. In conclusion, Isoprene was not classified specific target organ toxicity of the 'Standard for Classification and Labeling of Chemical Substance and Material Safety Data Sheet' (Ministry of Employment and Labor, 2009).

Key words : Isoprene, subacute inhalation toxicity, rat.

I. 서 론

Isoprene (CAS No. 78-79-5)은 석유로부터 생산하는 에틸렌(ethylene) 제조과정에서 분리되어 폴리머 합성에 사용되는 휘발성 유기화합물이다. Isoprene은 전 세계적으로 연간 150만 톤 이상이 생산되어 약 95%가 천연고무와 같은 cis-1,4-isoprene로 중합되고 나머지는 부틸고무(butyl rubber) 생산이나 테르펜(terpene) 합성 등에 사용된다(Watson 등, 2001). 국내에서는 페인트 수지, 타이어, 신발, 접착제 등으로 연간 7만여 톤이 사용되고 있으므로 제조업 종사 근로자에 노출 가능성이 있다. 그리고 나무 펄프 생산, 석유 연소, 나무나 생물체 연소, 흡연, 자동차 배기 등으로도 발생되기 때문에 대기 중에도 많은 양이 노출이 될 수 있는 물질이다. 또한, isoprene은 식물이나 동물에서 자연적으로 생성되는 바이오합성물로(Watson

등, 2001), 박테리아에서도 생산될 수 있다(Kuzma 등, 1995). 식물에서 내뿜는 isoprene은 연간 7,000만 톤 정도이다(Sharkey, 1996). 식물의 광합성으로 생산되는 isoprene은 온도변화, 광산화 스트레스, 화학적 스트레스 등의 조절에 이용되는 것으로 알려져 있다(Affek와 Yakir, 2002).

Isoprene은 미국 국립산업안전보건연구소(National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH)와 미국 정부 산업위생전문가협회(American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH) 그리고 우리나라 산업안전보건법에는 아직 노출기준이 설정되어 있지 않지만, 미국 독성프로그램(National Toxicology Program, NTP)은 사람에게 암을 유발 할 수 있는 물질(reasonably anticipated to be a human carcinogen)로 규정하고 있으며(NTP, 2005c), 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC, 1999c)는 동물실험에서 충분한 증거가 있고 사람에게 발암가능성이 있는 물질(Group 2B)로 규정하고 있다.

본 연구는 isoprene에 대한 아급성 흡입독성시험을 수행하여 isoprene 취급근로자를 위한 MSDS/GHS 정보제공과 노동부고시의 유해성기준에 따른 관리대상물질의

*Corresponding author: Chung Yong Hyun
대전시 유성구 문지동 104-8번지 산업안전보건연구원
Tel : 042-869-0344, Fax : 042-863-9001
E-mail : ch935@kosha.net
Received: 2011. 3. 28, Revised: 2011. 5. 27.
Accepted: 2011. 5. 30.

Table 1. Urinalysis of male & female rats exposed to isoprene for 13 weeks

Parameter	Units		Male				Female			
			G1 N=9	G2 N=10	G3 N=10	G4 N=10	G1 N=10	G2 N=10	G3 N=10	G4 N=10
Blood	RBC/ μ l	-	4	7	5	8	9	9	9	10
		\pm	4	2	5	2	1	0	0	0
		+	0	1	0	0	0	1	0	0
		++	1	0	0	0	0	0	1	0
Bilirubin	mg/dl	-	9	10	10	10	10	10	10	10
Urobilinogen	mg/dl	\pm	9	10	10	10	10	10	10	10
Glucose	mg/dl	-	9	10	10	10	10	10	10	10
Keton body	mg/dl	-	0	1	0	0	1	7*	2	5
		\pm	4	1	4	3	7	3*	6	5
		+	5	8	6	7	2	0*	2	0
		-	1	3	1	2	6	7	6	3
Protein	mg/dl	\pm	2	0	1	2	0	0	0	4
		+	1	3	4	2	2	1	2	0
		++	3	3	4	4	2	2	1	3
		+++	1	1	0	0	0	0	0	0
		++++	1	0	0	0	0	0	1	0
Nitrite	-	-	9	9	10	9	10	10	10	10
		+	0	1	0	1	0	0	0	0
		5.5	0	0	0	0**	0	0	1	0
		6.0	3	0	3	0**	3	3	3	5
pH	-	6.5	5	5	5	3**	5	4	2	1
		7.0	1	3	2	3**	0	2	1	1
		7.5	0	2	0	2**	2	1	3	1
		8.0	0	0	0	2**	0	0	0	2
		1.010	0	2	0	0	3	2	0	0
SG	mg/dl	1.015	1	3	4	3	3	4	3	1
		1.020	3	0	1	5	0	2	5	5
		1.025	5	4	5	2	4	2	1	4
		1.030	0	1	0	0	0	0	1	0
		-	1	1	0	0	4	6	6	5
Leukocyte	WBC/ μ l	\pm	1	2	0	1	5	4	3	5
		+	2	2	4	6	1	0	1	0
		++	4	4	5	3	0	0	0	0
		+++	1	1	1	0	0	0	0	0

G1=control group, G2=360 ppm group, G3=1620 ppm group, G4=7300 ppm group.
Significant differences as compared with control : * p < 0.05, ** p < 0.01.

분류 및 작업환경노출기준 제·개정에 필요한 동물실험 기초자료를 확보하기 위하여 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

시험물질 Isoprene (Lot # A0214161)은 Acros Organics (USA)에서 구입하여 GC-MSD를 이용하여 정성분석하고 GC를 이용하여 정량 분석하여 순도 99.8%인 물질임을 확인하고 사용하였다. 대조물질은 Hepa filter로 정화된 청정공기를 사용하였다.

2. 노출농도 설정

노출농도 설정은 isoprene 급성흡입독성시험 결과와 화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준(고용노동부, 2009)의 표적장기 독성 반복노출 구분 2(0.2<C<1.0 mg/L/6h/day : 360ppm)에 따라 저농도를 360 ppm으로 정하고, 랫드에 반복 노출한 시험(Melnick, 1994)의 최고농도(7,000ppm)에서 정소 독성이 발현된 것을 고려하여 본 연구에서는 노출농도를 공배 4.5로 하여 대조군 0ppm, 저농도 노출군 360ppm, 중농도 노출군 1,620ppm, 고농도 노출군 7,300ppm으로 설정하였다.

3. 시험방법

1) 시험동물 및 사육환경

시험동물은 SLC Japan에서 생산된 6주령의 특정병원체 부재 Sprague-Dawley (S.D) 랫드(rat)를 구입하여 1주간 순화시킨 후 시험군 별로 암·수 각각 10마리씩 대조군, 360 ppm 군, 1,620 ppm 군 및 7,300 ppm 군으로 구성하여 4기의 흡입챔버(내부용적 : 1m³, Model No. SIS-20RG, SIBATA Co., LTD, Japan) 내의 철망케이지(W 750mm×L 220mm×H 180mm)에 개별 수용하였다.

사육환경은 온도 22±3℃, 상대습도 50±20%(시험물질 노출 시는 제외), 환기회수 12-15회/시간, 조명(150-300 Lux)은 12시간 주기로 명암을 유지하였다. 사료는 실험동물용 멸균사료 Picolab Rodent Diet 5053 (LabDiet, USA)을 자유롭게 섭식하도록 하였으며, 음용수는 수도물 정수하고 자외선 살균기로 소독한 후 자유롭게 섭취토록 하였다.

2) 흡입챔버 환경 모니터링

시험물질 노출은 가스발생기(Model No. VG-4R, SIBATA Co., LTD, Japan)로 시험물질을 기화시킨 후 시험군 별로 청정공기와 일정 비율로 혼합하여 각 흡입챔버에 공급하였다. 챔버 내 온도, 습도, 압력, 환기량은 챔버 내 부착된 센서와 환경제어장치(Model No. ICS-20RG, SIBATA Co., LTD, Japan)로 30분에 1회씩 측정하였다. 시험물질의 농도는 자동 샘플링장치가 부착된 gas chromatography (Model No. GCS-14PFFS, SHIMADZU, Japan)를 이용하여 폭로기간 중 15분 간격으로 1회씩 모니터링을 하였다. 시험물질 농도 모니터링을 위한 표준 가스는 Ri-gas사에서 제조한 isoprene 표준 가스를 사용하였다.

3) 시험방법 및 항목

본 시험은 OECD의 화학물질 테스트 가이드라인 413 (Subchronic Inhalation Toxicity, 2009)에 따라 GLP(good laboratory practice) 시스템으로 랫드에 1일 6시간, 주 5일, 13주간 전신으로 반복노출 시켰다.

(1) 임상증상, 사료섭취량, 체중변화

시험기간 중 시험동물의 행동, 외관, 분변 상태 등에 대한 임상증상은 매일 관찰하였으며, 체중과 사료섭취량은 매주 측정하였다.

(2) 안검사 및 요검사

안검사는 시험물질 노출 종료 1주일 전에 각막검사기 (Model No : Portable slit lamp SL-14)와 안저카메라(Model No : GENESIS K9L22)를 이용하여 실시하였다. 요검사는 시험물질 노출 종료 하루 전에 요시험지(Uriscan strip 10 test) 및 요자동분석장치 Bio-Gen 10SGLM (Uriscan S-300)로 수행하였다.

(3) 혈액, 생화학검사 및 혈액응고시간검사

혈액검사는 시험물질 노출을 종료한 후에 에어레인 (Isoflurane, Ilsung Pham, Korea)을 사용하여 시험동물을 마취한 후에 복대동맥에서 채혈하여 자동혈액분석기(Hemavet 850, Drew Scientific, USA)로 혈구수를 측정하였다. 혈액생화학검사는 자동생화학분석기(TBA-20FR, Japan)로 측정하였다. 전해질은 전해질분석기(DRICHEM 800, FUJI, Japan)로 측정하였다. 혈액응고시간검사는 채혈한 혈액을 sodium citrate로 처리하여 혈액응고검사기(Humaclo Duo, Human, Germany)를 사용하여 측정하였다.

(4) 장기중량 측정 및 조직병리검사

시험물질 노출을 종료한 후에 각 시험동물을 부검하여 각 장기별로 외부소견을 관찰하고, 장기중량을 측정하였다. 적출한 장기 중 고환 및 부고환은 Bouin액에 고정하고, 안구는 Davison액에 고정하였다. 다른 장기는 10% 중성완충포름알데하이드액에 고정하였다. 고정된 장기는 hematoxylin & eosin (H&E) 염색하여 광학현미경(Olympus BX41TF, Japan)으로 검정하였다.

4. 통계처리

시험군 간의 비교에는 모수적인 다중비교(parametric multiple comparison procedures) 혹은 비모수적인 다중비교(non parametric multiple comparison procedures)를 사용하였으며, 통계프로그램은 SPSS 10.1K 및 Sigmapstat 2.03을 사용하였다. 정규성을 가정하고 Levene test로 등분산성을 검정하여 등분산인 경우 모수적 방법인 분산분석으로 집단 간 평균의 차이를 검정하였다. 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 혈액응고시간 검사 및 장기중량에 대하여 one-way ANOVA test로 집단간 차이를 평가하였으며 p 값(p-value)이 0.05 미만인 경우에 유의수준 5%에서 통계적으로 유의하다고 추정하였다. 사후분석으로 등분산인 경우에는 Duncan을 사용하였고, 등분산을 가정하지 않을 경우에는 Dunnett T3를 사용하였다. 노검사결과와 같이 증상의 정도로 표기되는 데이터의 경우에

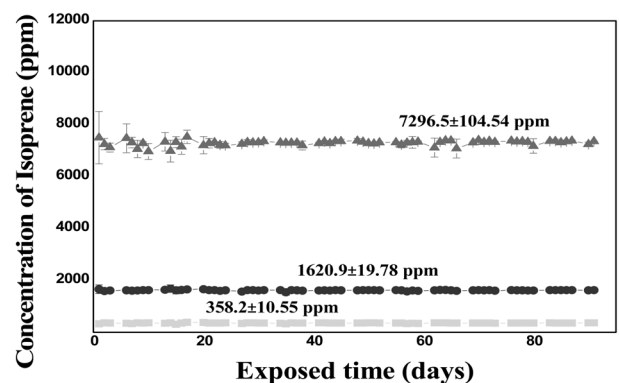


Fig 1. Changes of concentration in inhalation chamber during the experiment.

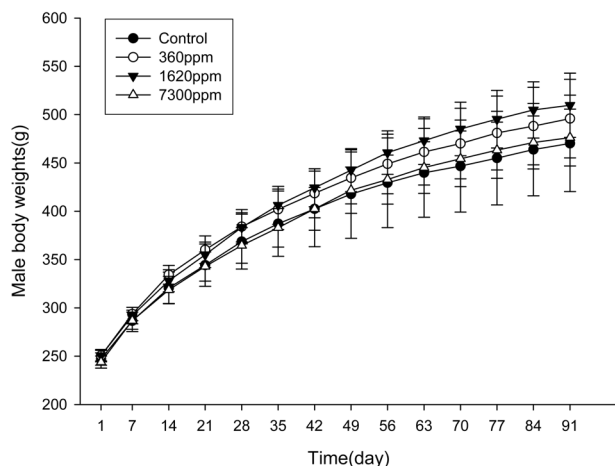


Fig 2. Changes of body weight in male rats exposed to isoprene for 13 weeks.

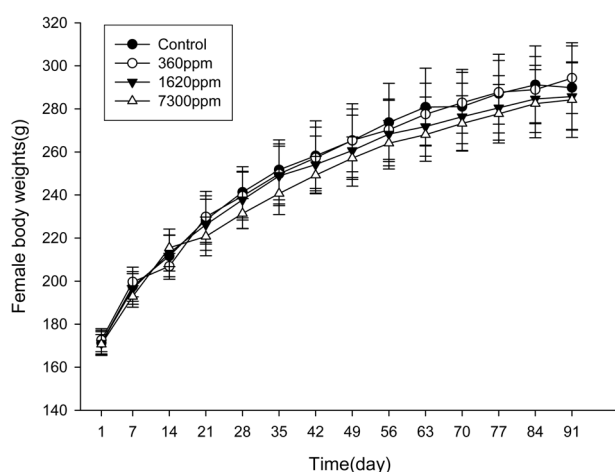


Fig 3. Changes of body weight in female rats exposed to isoprene for 13 weeks.

는 척도변환을 한 후 비모수적 다중비교 검정방법인

Kruskal-wallis test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

III. 연구결과

1. 흡입챔버 내 환경과 노출농도

시험물질 투여기간 중 각 군의 흡입챔버 내 온도는 23.3-24.0℃, 상대습도 44.8-49.1%, 압력 -9.8--10.3mm H₂O이었으며, 환기 횟수는 1시간당 12.6-12.9회로 하였다.

각 노출군의 흡입챔버 내 시험물질의 평균농도(ppm)는 저농도군 358.2±10.55, 중농도군 1,620.9±19.78, 고농도군 7,296.5±104.54로 나타났다(Fig 1).

2. 임상증상, 사료섭취량, 체중변화, 안검사

시험기간 중 탈출한 대조군의 수컷 시험동물 1마리를 제외한 모든 시험동물에서 사망례와 특이한 이상 소견은 없었다(data not shown). 사료섭취량 검사에서는 수컷은 1주차에 7,300ppm 군이 대조군에 비해 유의하게($p<0.05$) 감소하였으나 2주차 이후에는 유의한 차이가 없었으며, 1,620ppm 군에서는 7주차에서만 일시적으로 대조군에 비해 유의하게($p<0.01$) 증가하였다. 암컷은 2주차의 7,300ppm 군에서만 대조군에 비해 유의하게($p<0.01$) 감소하였다(data not shown). 암·수 시험동물의 체중은 모든 군에서 유의한 변화는 없었다(Fig 2,3). 안 검사 결과에서도 모든 군에서 특이한 증상이 관찰되지 않았다(data not shown).

3. 뇨검사

뇨검사결과(Table 1), pH 값이 대조군에서는 모든 동물에서 7.0이하였으나 7,300ppm 군에서는 7.5이상인 4마리로 대조군에 비하여 유의하게 증가하였고($p<0.01$), 암컷

Table 2. Hematological values of male rats exposed to isoprene for 13 weeks

Parameter	Units	Control N=9	360ppm N=10	1620ppm N=10	7300ppm N=10
WBC	103/ μ l	5.48±0.954	5.55±2.596	5.68±1.55	5.86±1.978
NEU	103/ μ l	1.88±0.496	1.67±0.725	1.81±0.593	1.73±0.781
LY	103/ μ l	2.86±0.627	3.35±1.911	3.18±1.182	3.55±1.152
MO	103/ μ l	0.72±0.484	0.51±0.386	0.68±0.491	0.56±0.436
EO	103/ μ l	0.01±0.008	0.02±0.016	0.02±0.014	0.01±0.013
BA	103/ μ l	0.00±0.000	0.00±0.000	0.00±0.000	0.00±0.007
RBC	106/ μ l	9.31±0.394	9.55±0.472	9.75±0.290	9.60±0.400
HB	g/ μ l	16.94±1.522	16.68±1.412	16.89±1.69	16.39±0.962
HCT	%	46.23±1.418	46.90±2.63	47.62±2.877	47.22±2.236
MCV	fL	49.69±0.948	49.16±3.089	48.85±2.31	49.22±1.729
MCH	pg	18.23±1.731	17.48±1.608	17.35±1.802	17.09±1.167
MCHC	g/dl	36.69±3.381	35.55±1.99	35.45±2.733	34.75±1.969
RDW	%	18.08±1.031	18.05±1.128	18.03±1.034	17.49±0.927
PLT	103/ μ l	960.8±86.96	956.1±140.57	964.6±43.71	906.4±92.98
MPV	fL	6.49±0.831	6.18±0.551	6.20±0.693	6.45±0.715

All values are expressed as mean±SD.

WBC, white blood cell count; NE, neutrophil; LY, lymphocyte; MO, monocyte; EO, eosinophil; BA, basophil; RBC, red blood cell count; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet; MPV, Mean platelet volume.

Table 3. Hematological values of female rats exposed to isoprene for 13 weeks

Parameter	Units	Control N=10	360ppm N=10	1620ppm N=10	7300ppm N=10
WBC	103/ μ l	3.26 \pm 0.352	3.57 \pm 0.646	3.88 \pm 1.118	3.75 \pm 0.739
NEU	103/ μ l	0.77 \pm 0.116	0.90 \pm 0.197	0.93 \pm 0.229	0.92 \pm 0.271
LYM	103/ μ l	2.32 \pm 0.321	2.45 \pm 0.432	2.72 \pm 0.813	2.59 \pm 0.501
MONO	103/ μ l	0.15 \pm 0.053	0.20 \pm 0.058	0.18 \pm 0.08	0.2 \pm 0.061
EOS	103/ μ l	0.02 \pm 0.021	0.02 \pm 0.022	0.04 \pm 0.045	0.03 \pm 0.026
BASO	103/ μ l	0.01 \pm 0.007	0.00 \pm 0.007	0.02 \pm 0.026	0.01 \pm 0.008
RBC	106/ μ l	8.52 \pm 0.322	8.85 \pm 0.577	8.86 \pm 0.384	8.82 \pm 0.182
HB	g/dl	15.53 \pm 0.241	15.80 \pm 0.587	15.82 \pm 0.466	15.99 \pm 0.553
HCT	%	46.89 \pm 1.744	48.70 \pm 3.013	49.4 \pm 2.743	48.19 \pm 1.605
MCV	fL	55.06 \pm 0.672	55.09 \pm 1.696	55.75 \pm 2.003	54.61 \pm 1.396
MCH	pg	18.26 \pm 0.712	17.90 \pm 0.845	17.87 \pm 0.675	18.12 \pm 0.601
MCHC	g/dl	33.15 \pm 1.241	32.51 \pm 1.626	32.11 \pm 1.684	33.2 \pm 1.163
RDW	%	14.89 \pm 0.401	15.08 \pm 0.447	14.92 \pm 0.394	14.85 \pm 0.435
PLT	103/ μ l	940.7 \pm 91.18	990.4 \pm 120.97	1039.1 \pm 104.2	1007.9 \pm 119.93
MPV	fL	6.58 \pm 0.796	6.45 \pm 0.81	7.61 \pm 0.922	6.80 \pm 1.275

All values are expressed as mean \pm SD.

WBC, white blood cell count; NE, neutrophil; LY, lymphocyte; MO, monocyte; EO; eosinophil; BA, basophil; RBC, red blood cell count; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platlet; MPV, Mean platelet volume.

Table 4. Serum biochemical values of male rats exposed to isoprene for 13 weeks

Parameter	Units	Control N=9	360ppm N=10	1620ppm N=10	7300ppm N=10
TP	mg/dl	6.50 \pm 0.287	6.63 \pm 0.337	6.62 \pm 0.187	6.45 \pm 0.184
ALB	mg/dl	4.22 \pm 0.164	4.28 \pm 0.14	4.23 \pm 0.095	4.21 \pm 0.088
BUN	mg/dl	15.62 \pm 2.909	15.75 \pm 1.619	16.12 \pm 2.153	16.55 \pm 3.362
CREA	mg/dl	0.57 \pm 0.050	0.59 \pm 0.032	0.56 \pm 0.052	0.54 \pm 0.052
TBIL	mg/dl	0.20 \pm 0.000	0.20 \pm 0.000	0.20 \pm 0.000	0.20 \pm 0.000
ALT	IU/l	44.2 \pm 6.59	48.7 \pm 13.07	56.8 \pm 23.04	47.7 \pm 11.54
AST	IU/l	93.3 \pm 10.93	104.8 \pm 20.54	104.9 \pm 34.80	93.8 \pm 19.03
LDH	IU/l	1713.1 \pm 409.62	1519.6 \pm 375.75	1299.6 \pm 578.05	1303.3 \pm 363.44
ALP	IU/l	399.89 \pm 69.75	429.3 \pm 108.83	441.2 \pm 133.5	368.5 \pm 33.23
GLU	mg/l	153.2 \pm 20.30	144.0 \pm 17.46	146.4 \pm 22.35	148.7 \pm 15.49
TCHO	mg/dl	78.8 \pm 11.79	70.7 \pm 16.76	88.3 \pm 19.02	66.2 \pm 14.76
TG	mg/dl	73.6 \pm 10.27	71.7 \pm 35.92	81.5 \pm 24.74	58.7 \pm 15.62
CPK	IU/l	551.8 \pm 113.47	472.3 \pm 118.59	457.3 \pm 202.72	397.1 \pm 135.92
Ca ²⁺	mg/dl	9.86 \pm 0.26	10.00 \pm 0.531	9.98 \pm 0.394	9.64 \pm 0.241
IP	mg/dl	5.79 \pm 0.923	5.68 \pm 1.266	5.61 \pm 0.705	5.84 \pm 0.729
Na ⁺	mmol/l	143.3 \pm 7.11	141.1 \pm 1.45	140.5 \pm 0.71	140.9 \pm 0.74
K ⁺	mmol/l	4.96 \pm 0.283	4.79 \pm 0.197	5.01 \pm 0.208	4.95 \pm 0.255
Cl ⁻	mmol/l	105.2 \pm 1.39	105.3 \pm 2.16	104.7 \pm 2.21	105.0 \pm 2.21

All values are expressed as mean \pm SD.

TP, total protein; ALB, albumin; BUN, urea nitrogen in blood; CREA, Creatinine; TBIL, total bilirubin; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; GLU, glucose; TCHO, total cholesterol; TG, Triglyceride; CPK, Creatine phosphokinase; IP, Inorganic phosphorus.

은 360ppm 군의 ketone body 값만 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05).

4. 혈액, 생화학검사 및 혈액응고시간 검사

1) 혈액검사

암·수 모든 노출군은 대조군에 비해 유의한 차이가 없었다(Table 2,3).

2) 생화학검사

암·수 모든 노출군은 대조군에 비해 유의한 차이가 없었다(Table 4,5).

3) 혈액응고시간검사

암·수 모든 노출군은 대조군에 비해 유의한 차이가 없었다(Table 6).

Table 5. Serum biochemical values of female rats exposed to isoprene for 13 weeks

Parameter	Units	Control N=10	360ppm N=10	1620 pm N=10	7300ppm N=10
TP	mg/dl	6.75±0.272	6.58±0.175	6.81±0.335	6.52±0.301
ALB	mg/dl	4.42±0.199	4.37±0.116	4.45±0.222	4.32±0.123
BUN	mg/dl	16.99±2.576	16.75±2.069	18.18±2.283	18.18±1.585
CREA	mg/dl	0.54±0.052	0.53±0.048	0.55±0.053	0.55±0.053
TBIL	mg/dl	0.20±0.000	0.20±0.000	0.20±0.000	0.20±0.000
ALT	IU/l	41.1±7.45	39.3±9.15	38.3±4.76	35.2±5.53
AST	IU/l	81.1±17.44	90.8±17.08	82±13.98	82±18.77
LDH	IU/l	1043.7±561.56	1328.3±739.43	1121.7±556.74	1074±682.15
ALP	IU/l	204.9±36.6	219.5±74.14	179.3±31.06	222.2±46.64
GLU	mg/l	154.2±15.49	146.3±11.34	145.4±8.97	146.6±15.88
TCHO	mg/dl	95±15.54	91.1±11.27	93.6±15.75	81.5±10.44
TG	mg/dl	46.0±10.46	36.1±8.66	44.0±16.47	40.5±9.47
CPK	IU/l	336.2±176.37	415.4±212.52	336.8±166.84	331.7±222.08
Ca ²⁺	mg/dl	10.12±0.199	9.96±0.227	10.09±0.251	9.98±0.326
IP	mg/dl	5.83±0.416	6.33±0.263	6.10±0.464	6.05±0.534
Na ⁺	mmol/l	139.6±0.7	139.8±0.63	140.5±1.08	140.4±1.17
K ⁺	mmol/l	4.79±0.191	4.89±0.202	4.94±0.255	4.82±0.308
Cl ⁻	mmol/l	105.2±1.32	105±1.49	105.5±1.96	104.4±1.58

All values are expressed as mean±SD.

TP, total protein; ALB, albumin; BUN, urea nitrogen in blood; CREA, Creatinine; TBIL, total bilirubin; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; GLU, glucose; TCHO, total cholesterol; TG, Triglyceride; CPK, Creatine phosphokinase; IP, Inorganic phosphorus.

Table 6. Plasma coagulation values of male and female rats exposed to isoprene for 13 weeks

	Control	360ppm	1620ppm	7300ppm
Male	N=9	N=10	N=10	N=10
PT	15.90±1.421	16.31±1.979	16.95±1.354	16.48±1.671
APTT	19.42±1.812	17.72±3.191	20.50±3.825	19.80±3.098
Female	N=10	N=10	N=10	N=10
PT	17.38±1.482	16.66±1.495	16.64±1.472	17.17±1.35
APTT	17.81±2.593	18.15±3.339	18.46±2.252	18.37±2.909

All values are expressed as mean ± SD.

PT, prothrombin time; APTT, Activated Partial Thromboplastin Time

Table 7. Relative organ weights (%) of male rats exposed to isoprene for 13 weeks

	Control	360ppm	1620ppm	7300ppm
	N=9	M=10	N=10	N=10
Body weights (g)	470.26±49.97	495.98±40.64	509.76±33.24	476.29±29.45
Thymus	0.075±0.009	0.089±0.015*	0.085±0.012	0.077±0.009
Heart	0.282±0.011	0.282±0.013	0.266±0.010	0.288±0.023
Adrenal gland L	0.007±0.001	0.006±0.001	0.007±0.002	0.007±0.001
Adrenal gland R	0.006±0.001	0.006±0.001	0.005±0.002	0.006±0.001
Testis L	0.411±0.059	0.408±0.043	0.387±0.033	0.418±0.029
Testis R	0.400±0.059	0.398±0.042	0.381±0.030	0.406±0.029
Lung L	0.097±0.006	0.094±0.006	0.091±0.007	0.099±0.004
Lung R	0.179±0.014	0.187±0.037	0.168±0.006	0.180±0.010
Kidney L	0.295±0.017	0.285±0.021	0.292±0.014	0.313±0.021
Kidney R	0.287±0.026	0.287±0.019	0.290±0.018	0.318±0.022**
Spleen	0.156±0.017	0.155±0.017	0.141±0.020	0.166±0.033
Liver	2.58±0.105	2.572±0.140	2.684±0.155	2.683±0.170
Brain	0.491±0.035	0.469±0.039	0.461±0.032	0.482±0.019

Relative organ weights (%)=(organ weights/body weights)×100

All values are expressed as mean±SD.

Significant differences as compared with control : * p<0.05, ** p<0.01.

Table 8. Relative organ weights (%) of female rats exposed to isoprene for 13 weeks

	Control N=10	360ppm N=10	1620ppm N=10	7300ppm N=10
Body weights (g)	289.87±19.42	294.27±16.45	285.74±15.62	284.27±17.55
Thymus	0.121±0.009	0.124±0.016	0.125±0.015	0.120±0.014
Heart	0.330±0.018	0.320±0.013	0.323±0.015	0.327±0.014
Adrenal gland L	0.013±0.002	0.013±0.002	0.013±0.002	0.013±0.001
Adrenal gland R	0.011±0.001	0.012±0.001	0.013±0.002	0.012±0.001
Ovary L	0.018±0.002	0.021±0.003	0.019±0.004	0.019±0.003
Ovary R	0.018±0.003	0.020±0.003	0.020±0.002	0.018±0.002
Lung L	0.120±0.008	0.126±0.007	0.128±0.004*	0.128±0.006*
Lung R	0.222±0.012	0.227±0.010	0.238±0.016*	0.234±0.009
Kidney L	0.294±0.023	0.313±0.014	0.317±0.017**	0.325±0.022**
Kidney R	0.304±0.027	0.313±0.016	0.321±0.014	0.333±0.020*
Spleen	0.168±0.025	0.181±0.013	0.172±0.020	0.180±0.021
Liver	2.366±0.164	2.306±0.136	2.355±0.153	2.338±0.124
Brain	0.747±0.032	0.742±0.032	0.766±0.049	0.770±0.048

Relative organ weights (%)=(organ weights/body weights)x100

All values are expressed as mean±SD.

Significant differences as compared with control : * p<0.05, ** p<0.01.

5. 부검 및 상대 장기중량

1) 부검 소견

수컷에서는 폐 발적이 대조군에서 1례, 360ppm 군에서 1례, 7,300 군에서 ppm 1례가 관찰되었다. 간장 중간엽의 결절은 360ppm 군에서 1례(직경 4mm), 1,620ppm 군에서 1례(직경3mm)가 관찰되었다.

암컷에서는 폐 발적이 대조군에서 3례, 360ppm 군에서 1례, 1,620 pm 군에서 2례, 7,300ppm 군에서 4례가 관찰되었다. 간장에서는 중간엽의 결절이 360ppm 군에서 1례(직경 3mm)가 관찰되었다. 7,300ppm 군의 오른쪽 후지 대퇴부에서 종괴(mass, 직경 20mm) 1례가 관찰되었다.

2) 상대 장기중량

수컷의 상대 장기중량(Table 7)은 우측 신장이 시험물질 노출 용량에 비례하여 증가하는 경향을 보였으나 7,300ppm 노출군에서만 유의하였다(p<0.01). 흉선은 360 ppm 노출군에서만 대조군에 비해 유의한 증가를 나타내었다(p<0.05). 다른 장기에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다.

암컷의 상대 장기중량(Table 8)은 좌폐와 좌 우 신장이 대조군에 비해 노출군에서 시험물질 노출 용량에 비례하여 증가하는 경향을 보였다. 1,620ppm 노출군은 좌폐(p<0.05), 우폐(p<0.05) 및 좌측 신장(p<0.01)이 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 7,300ppm 노출군에서는 좌 폐 (p<0.05)와 좌측 신장(p<0.01), 우측 신장(p<0.05)이 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 다른 장기에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다.

6. 조직병리학적 검사

1) 수컷

수컷의 조직병리검사 결과(Table 9), 비강, 부신, 근육, 척수, 좌골신경, 흉선, 갑상선, 부갑상선, 기관, 대뇌, 소뇌, 고환, 부고환, 피부, 췌장, 위, 대퇴골, 방광, 비장, 안구, 유선 등에서는 시험물질에 의한 병리학적 소견이 관찰되지 않았다. 신장에서는 미약한 재생성 세뇨관이 360 ppm 군에서 1례, 1,620ppm 군에서 4례, 7,300ppm 군에서 1례가 관찰되었고, 신장의 미약한 염증세포 침윤은 대조군에서 3례, 360ppm 군에서 2례, 7,300ppm군에서 1례가 관찰되었다. 폐에서는 폐포 간질에 미약한 염증세포 침윤이 대조군에서 1례, 360ppm 군에서 3례, 1,620ppm 군에서 2례, 7,300ppm 군에서 1례가 관찰되었다. 간에서는 미약한 염증세포 침윤이 대조군에서 2례, 360ppm 군에서 2례, 1,620ppm 군에서 1례, 7,300ppm 군에서 2례가 관찰되었다. 미약한 국소성 괴사는 대조군에서만 2례가 관찰되었다. 담관에서는 미약한 담관 증생이 대조군에서 1례, 1,620ppm 군에서 1례가 관찰되었다. 하트리안선에서는 미약한 염증세포 침윤이 대조군에서 3례, 360ppm 군에서 1례, 1,620ppm 군에서 3례에서 관찰되었다. 심장에서는 미약한 심근증이 360ppm 군에서 1례에서 관찰되었으며, 경미한 심근증이 1,620ppm 군에서 1례가 관찰되었다. 뇌하수체에서는 중등도의 낭포가 360ppm 군에서 1례가 관찰되었다.

2) 암컷

암컷의 조직병리검사 결과(Table 10), 비강, 부신, 근육,

Table 9. Histopathological findings of male rats exposed to isoprene for 13 weeks

Groups		Control N=9	360ppm N=10	1620ppm N=10	7300ppm N=10
Kidney	Tubular degeneration/regeneration		1 (10)	4 (40)	1 (10)
	Inflammatory cell infiltrate	3 (33)	2 (20)		1 (10)
Lung	Inflammatory cell infiltrate	1 (11)	3 (30)	2 (20)	1 (10)
	Inflammatory cell infiltrate	2 (22)	2 (20)	1 (10)	2 (20)
Liver	Focal necrosis	2 (22)			
	Bile duct Hyperplasia	1 (11)		1 (10)	
Harderian gland	Inflammatory cell infiltrate	3 (33)	1 (10)	3 (30)	
Heart	Cardiomyopathy		1 (10)	1 (10)	
Pituitary gland	Cyst (distalis)		1 (10)		

() ; Number of animals with the histopathological findings / Number of animals examined (%)

Table 10. Histopathological findings of female rats exposed to isoprene for 13 weeks

Groups		Control N=10	360ppm N=10	1620ppm N=10	7300ppm N=10
Kidney	Corticomedullary mineralization		1 (10)		2 (20)
	Inflammatory cell infiltrate	2 (20)	1 (10)	1 (10)	
Lung	Inflammatory cell infiltrate	1 (10)	1 (10)	2 (20)	
Liver	Inflammatory cell infiltrate	2 (20)	2 (20)	1 (10)	1 (10)
Harderian gland	Inflammatory cell infiltrate	2 (20)		3 (30)	1 (10)
Heart	Cardiomyopathy		1 (10)		
Mammary gland	Adenocarcinoma				1 (10)

() ; Number of animals with the histopathological findings / Number of animals examined (%)

척수, 좌골신경, 췌장, 흉선, 갑상선, 부갑상선, 기관, 대뇌, 소뇌, 뇌하수체, 난소, 질, 자궁, 피부, 심장, 위, 대퇴골, 방광, 비장, 안구 등에서는 시험물질에 의한 소견이 관찰되지 않았다. 신장에서는 피질수질경계부에 미약한 세뇨관내 무기질 침착이 360ppm군에서 1례, 7,300ppm군에서 2례가 관찰되었다. 신장의 미약한 염증세포 침윤은 대조군에서 2례, 360ppm 군에서 2례, 1,620ppm 군에서 1례가 관찰되었다. 폐에서는 폐포 간질에 미약한 염증세포 침윤이 대조군에서 1례, 360ppm 군에서 1례, 1,620ppm 군에서 2례가 관찰되었다. 간에서는 미약한 염증세포 침윤이 대조군에서 2례, 360ppm 군에서 2례, 1,620ppm 군에서 1례, 7,300 ppm 군에서 1례가 관찰되었다. 하드리안선에서는 미약한 염증세포 침윤이 대조군에서 2례, 1,620ppm 군에서 3례, 7,300ppm 군에서 1례가 관찰되었다. 심장에서는 미약한 심근증이 360ppm 군에서 1례가 관찰되었다. 육안관찰에서 7,300ppm 군의 1마리에서 보였던 오른쪽 후지 대퇴부의 덩어리는 유선 adenocarcinoma로 판단되었다.

IV. 고찰 및 결론

Isoprene의 산화 대사경로와 해독기전은 동족관계(homology)인 부타디엔(butadiene)과 비슷한 것으로 알려

져 있다(Hurst, 2007). 다른 디엔(dienes) 물질과는 달리 isoprene은 식물이나 동물에서 자연적으로 생성되기도 하는 물질이므로 isoprene에 대한 역학조사 및 유해성을 평가하기 위해서는 외부 노출과 생체 내부 생산을 고려할 필요가 있다(Hurst, 2007). 사람의 호흡 중에는 isoprene이 50-1,000ppb 정도가 함유되어 있고(Karl 등, 2001). 시간당 0.15micromoles/kg을 생산함으로 체중이 70kg인 사람의 일일 isoprene 생산량은 17mg 정도이다(NTP, 2005c).

그 동안의 isoprene에 대한 독성시험결과에 의하면, isoprene의 표적장기는 마우스 시험에서는 후각상피, 정소, 전위 등으로 나타났고(Melnick and Sills, 2001), Placke 등(1996)은 간, 폐, 하드리안선, 전위에서 종양이 증가하였으며 최저영향관찰농도(lowest observed effect level)는 70 ppm이었고, Isoprene의 신생물 영향(neoplastic effects) 가능성은 부타디엔의 1/10로 평가하였다. Melnick 등(1994)이 isoprene을 일일 6시간 주 5일 26주간 F344 랫드와 B6C3F1 마우스에 0, 70, 220, 700, 2,200, 7,000ppm 으로 노출시킨 시험에 의하면 최고농도에 노출된 모든 랫드의 정소에서 간세포종양이 26주 노출 후에 나타났다. 노출 후 26주간의 회복기간을 거친 랫드에서는 양성 정소 간세포 종양이 증가하였다. 마우스에서는 간, 폐, 전위, 하드리안선 등에서 종양이 발생하였으며 비종양성 병변으로는 척수 변성, 불안정한 뒷다리마비, 정소 위축,

후각상피 변성, 전위상피 증생, 대적혈구성 빈혈 등이 나타났다. Hurst (2007)는 isoprene을 F344 랫드에 2년간 노출시킨 시험(Melnick와 Sills, 2001; NTP, 1999)에서 농도 의존적으로 유선의 fibroadenomas와 정소의 간질세포선종(interstitial cell adenoma) 그리고 신장의 renal tubule adenoma의 증가가 관찰되었다고 하였다. Melnick 등 (1994), Melnick와 Sills (2001), NTP (1999) 등의 시험결과에서는 공통적으로 isoprene에 의한 영향이 정소에서 나타나지 않았으나, Isoprene을 13주간 노출시킨 본 시험에서는 정소에 대한 영향은 나타나지 않았다.

본 시험에서는 모든 검사 항목에서 시험물질에 의한 독성학적인 변화는 관찰되지 않았다. 사료섭취량에서 산발적으로 유의한 변화가 있었지만, 용량상관성이 없어서 시험물질에 의한 독성학적인 변화는 아닌 것으로 판단되었다. 체중도 유의한 변화가 없었다. 일부 노출군의 요검사에서 산발적으로 나타난 pH 값과 ketone body 값의 변화도 용량상관성이 없고 다른 검사 항목과도 연관성이 없어서 시험물질에 의한 변화는 아니라고 판단되었다. 부검시 육안적으로 나타난 폐의 발적은 암수 시험군 모두에서 가장 빈번하게 관찰된 소견으로 시험물질 노출군 뿐만 아니라 대조군에서도 유사한 빈도로 관찰되어 시험물질과는 직접적인 연관이 없는 것으로 판단되었다. 상대 장기무게 변화는 수컷 동물에서 우측 신장이 증가하는 경향을 보였으나 신장의 조직병리검사에서 나타난 재생성 세노관과 염증세포 침윤은 시험물질 노출 용량과는 상관성이 없어서 시험물질에 의한 독성학적인 변화는 아니라고 판단되었다. 암컷 동물에서는 좌측 폐와 좌 우 신장의 상대 장기무게가 증가하는 경향을 보였으나, 신장의 조직병리검사에서 나타난 세노관 내 무기질 침착과 염증세포 침윤과 폐의 조직병리검사에서 나타난 염증세포 침윤도 시험물질 노출 용량과는 상관성이 없어서 시험물질에 의한 독성학적인 변화는 아니라고 판단되었다. 간과 하트리안선에서 나타난 염증세포 침윤도 대조군에서도 나타나고 노출 용량과도 상관성이 없었다. 일부 노출군에서 산발적으로 나타난 심근증, 뇌하수체의 낭포, 대퇴부 유선 adenocarcinoma도 시험물질 노출 용량과는 상관성이 없어서 시험물질에 의한 영향은 아니라고 판단되었다.

이상의 Isoprene 13주 아급성 흡입독성시험결과로 시험물질의 무유해영향농도(NOEL, no observable adverse effect level)는 암, 수 모두 7,300ppm (20.3mg/L) 로 평가되어 노동부고시 제2009-68호 “화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준”의 특정표적장기 독성(반복노출)물질로는 분류되지 않았다.

REFERENCES

- 노동부고시 제2009-68호 “화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준” 2009.
- Affek HP, Yakir D, Protection by isoprene against singlet oxygen in leaves, *Plant Physiol* 2002;129:269-277
- Karl, T, Prazeller, P, Mayr, D, Jordan, A, Rieder, J, Fall, R, Lindinger, W, Human breath isoprene and its relation to blood cholesterol levels; new measurements and modeling, *J Appl Physiol* 2001;91:762-770
- Kuzuyama T, Seto H, Diversity of the biosynthesis of the isoprene units, *Nat Prod Rep* 2003;20:171-183
- Hurst HE, Toxicology of 1,3-butadiene, Chloroprene, and Isoprene. Reviews of environmental contamination and Toxicology 2007;189:131-179
- Melnick RL, Sills RC, Comparative carcinogenicity of 1,3-butadiene, isoprene, and chloroprene in rats and mice. *Chem-Biol Interact* 2001;135-136:27-42
- Melnick RL, Sills RC, Roycroft JH, Chou BJ, Ragan HA, Miller RA, Isoprene, and endogenous hydrocarbon and industrial chemical, induces multiple organ neoplasia in rodents after 26 weeks of inhalation exposure. *Cancer Res* 1994;54:5333-5339
- NTP, NTP toxicology and carcinogenesis studies of isoprene in F344/N rats (inhalation studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 1999;486:1-176
- NTP, Isoprene CAS No. 78-79-5. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 2005c.
- OECD, OECD guideline for Testing of chemicals: 413 Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day study, 2009.
- IARC, Isoprene, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 1999c; vol 71, pt 3, 1015-1025
- Placke ME, Griffis L, Bird M, Bus J, Persing RL, Cox LA Jr, Chronic inhalation oncogenicity study of isoprene in B6C3F mice. *Toxicology* 1996; 113:253-262
- Sharkey TD, Isoprene synthesis by plants and animals, *Endeavour* 1996;20:74-78
- Watson WP, Cottrell L, Zhang D, Golding BT, Metabolism and molecular toxicology of isoprene, *Chem-Biol Interact* 2001;135-136:223-238