

국내산 백석면과 안소필라이트의 물리화학적 특성과 호흡기계 내 변화 연구

Physicochemical Property Changes on Respiratory System of Rats After Intratracheal Instillation Exposure to Korea Chrysotile and Anthophyllite

정용현* · 한정희 · 강민구 · 김종규 · 양정선

Yong Hyun Chung* · Jeong Hee Han · Min Gu Kang · Jong Kyu Kim · Jeong Sun Yang

산업안전보건연구원 화학물질센터

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

ABSTRACT

Objectives: To assess the hazard of Korea chrysotile and anthophyllite, fibers were analyzed for their physicochemical properties by transmission electron microscope equipped with energy dispersive X-ray spectrometer (TEM-EDS).

Methods: To evaluate the biopersistence of 2 domestic asbestos, Sprague-Dawley rats were exposed to 2 mg asbestos by intratracheal instillation. Each asbestos (chrysotile ; $8,814,244 \times 10^6$ fibers/mg, average size $0.08 \mu\text{m} \times 4.39 \mu\text{m}$, anthophyllite ; $5,182 \times 10^6$ fibers/mg, average size $0.95 \mu\text{m} \times 7.29 \mu\text{m}$) were evaluated after a single intratracheal instillation. At times from 1 week to 4 weeks after exposure, the numbers of asbestos fibers in the bronchoalveolar lavage fluid and in the lung were calculated.

Results: Anthophyllite fibers continuously have retained for 4 weeks but chrysotile fibers were rarely found at 4 weeks after exposure in the bronchoalveolar lavage fluid. Chrysotile fibers at 4 weeks after treatment were not observed but anthophyllite was easily observed in the lung with phase contrast microscopy. According to electron microscopic observation of asbestos in the lung, within 1 week after the administration of chrysotile fibers were decreased rapidly but anthophyllite fibers were very little change for 4 weeks. When chrysotile fibers have been lost Fe in 1 week, there were no significant changes in anthophyllite fibers in the lung.

Conclusions: These findings indicate that after a long time exposure to chrysotile, asbestos bodies can not be found in the bronchoalveolar lavage fluid.

Key words : chrysotile, anthophyllite, intratracheal instillation, transmission electron microscope

I. 서 론

폐 내에 연간 25~200 fibers/mL 정도의 석면이 누적 되면 석면폐증(asbestosis)이 나타날 수 있으며(Dupres 등, 1984; De와 Gevenois, 2002), 독일의 중피종 등록 사례분석에 의하면 연간 석면 노출량이 25 fibers/mL 인 경우에는 42%에서 석면폐증이 인정되었으며 24%가 중피종 의양성으로 나타났다(Fischer, 2002).

최근 우리나라도 석면이 사용된 지 50년을 넘기면

서 석면취급자 및 석면 광산 주변 주민 등 석면에 노출된 사람에 대한 피해보상 문제가 사회적 문제로 대두됨에 따라 2011년부터 석면피해구제법이 시행되고 있다. 석면피해구제법에서는 원발성 악성중피종과 원발성 폐암 그리고 석면폐증 등에 관한 석면 피해 인정기준을 정하고 있다. 석면피해구제법에서 인정하는 석면에 의한 질병 중 원발성 폐암은 조직 병리검사와 임상적 판단 및 영상의학적 판단을 통해 원발성 폐암으로 진단되는 경우와 의학적 판단이

*Corresponding author: Yong Hyun Chung, 대전시 유성구 문지동 104-8 산업안전보건연구원, Tel: 042-869-0344, Fax: 042-863-9001, E-mail: ch935@kosha.net, Received: 2012. 7. 27., Revised: 2012. 9. 6., Accepted: 2012. 9. 12.

‘석면폐증의 병형 판정기준’에 따른 병형이 진행형 또는 초기형인 경우와 석면에 의한 흉막반이 있는 경우에 인정하고 있다. 또한 원발성 폐암의 인정기준에는 건조폐 중량 1 g 당 석면소체가 5,000개 이상, 건조폐 중량 1 g 당 길이 1 μm 이상인 석면섬유가 5,000,000개 이상, 건조폐 중량 1 g 당 길이 5 μm 이상인 석면섬유가 2,000,000개 이상, 기관지폐포 세정액 1 mL 당 석면소체가 5개 이상인 경우에도 원발성 폐암으로 인정하고 있다.

우리나라에서는 석면 사용량이 1970년 이후 급격히 증가하여 2007년까지 약 2백만 톤이 수입되었으며, 국내 석면광산에서 9만 톤 정도가 생산되었다(정용현, 2008). 주로 캐나다에서 수입된 석면에 대한 유해성은 이미 잘 알려져 있으나 국내산 석면에 대한 유해성평가 자료는 부족한 실정이다.

본 연구는 아직 물리화학적 특성과 폐 조직 내 생체내구성이 평가되지 않은 국내산 석면에 대한 유해성평가 자료를 확보하기 위하여 국내 석면광산에서 채취한 시험물질의 물리화화학적 특성을 분석하고, 석면피해구제법에서 제시하고 있는 석면피해인정 평가방법인 기관지폐포 세정액과 폐 조직 내의 석면섬유수 계수 방법을 확립하기 위하여 랫드의 기도 내로 석면을 투여한 후 시간경과에 따른 기관지폐포 세정액 내 석면소체의 수와 건조폐 단위중량 당 석면섬유의 수 등을 위상차현미경과 투과전자현미경으로 관찰하고 호흡기계 내에서의 변화를 평가하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

충청남도 석면광산에서 채취한 사문석 1종과 각섬석 1종을 시험물질로 사용하였다.

1) 투과전자현미경용 시료제작

수집한 2종의 시험물질은 각각 막자사발에 넣어 잘게 부수어, 증류수 100 mL가 들어 있는 유리병에 1 mg 씩 넣고, 2시간 동안 초음파발생기(SWEEP-ZONE, Quantrex S280)로 분산시킨 후, polycarbonate membrane filter (Millipore GTTP 02500, nucleopore filter, pore size 0.2 μm , diameter 25 mm)에 흡인하여 여과하였다. 필터를 건조한 후 진공증착기(EMITECH, K950)를 사용하여 탄소막을 입히고, 그 필터를 car-

bon coated nickel grid (EMS CF-200 Ni, diameter 3 mm, 200 mesh) 위에 올려놓고 chloroform vapor를 이용하여 12시간 동안 용해한 후 건조시켰다.

2) 시험물질 분석

제작된 grid는 EDS (Energy Dispersive X-ray Spectrometer, HORIBA, EX-200)가 장착된 투과전자현미경(transmission electron microscope, HITACHI H-7100FA)로 20개의 섬유를 임의로 선정하여 각 섬유의 길이와 직경을 측정하고 각 섬유의 성분비율(atomic %)을 분석하였다.

2. 시험동물 및 사육환경

시험동물은 특정병원체 부재동물(Specific Pathogen Free, SPF) SD (Sprague Dawley) 수컷 7주령 랫드를 중앙실험동물(주)에서 분양받아 barrier system 동물실에서 7일간 순화시킨 후 건강한 동물 40마리를 선별하여 사용하였다. 시험동물군은 군별 체중편차가 최소화 되도록 하여 대조군 10마리, 시험물질 투여 후 1주군 10마리, 투여 후 2주군 10마리, 투여 후 4주군 10마리 등 4개 군으로 구성하였다. 각 군의 10마리 중 5마리는 세정액 내 석면 검사용으로 사용하였으며, 5마리는 폐 조직 내 석면 검사용으로 사용하였다.

동물사육실은 온도 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 20\%$, 환기회수 13~18회/hr, 조명시간 12시간(오전 9시 ~ 오후 9시) 및 조도 150 ~ 300 Lux로 설정하였으며, 각 시험동물에게는 멸균된 실험동물용 고형사료(Labdiet 5002PMI)와 미세여과기 및 자외선을 이용하여 여과시킨 상수도수를 공급하였다.

3. 시험물질 투여

시험물질 투여 전에 모든 시험동물은 Ketamin(유한양행)으로 마취하였다. 각 시험물질은 자동멸균기로 멸균하여 2 mg을 생리식염수 0.3 mL에 넣어 기도 내로 1회 투여하였다. 대조군에는 생리식염수 0.3 mL만 투여하였다.

4. 기관지폐포 세정액 내 석면 관찰

1) 기관지폐포 세척

시험물질 투여 후 1주, 2주, 4주에 각 시험동물의 기관지를 절개한 후 PBS (calcium-and magnesium-free phosphate buffer solution, pH 7.4) 3 mL로 시험동물의

호흡기계를 총 6회 세척하여 기관지 폐포 세정액(BAL, Bronchoalveolar lavage fluid)을 수집하였다.

2) 기관지폐포 세정액 내 석면 관찰

(1) 위상차현미경 관찰

각 시험동물로부터 수집된 기관지폐포 세정액은 원심분리(2000 rpm, 10 min.)하여 3 mL만 남기고 상층액을 제거하였다. 남은 BAL 세정액 3 mL에 물 5 mL를 추가하여 다시 원심분리 (2000rpm, 10min.)하여 상층액을 제거하고 3 mL만 남겼다. 남은 3 mL를 균질하게 교반한 후 100 μ L를 취하여 슬라이드에서 1시간 건조한 후 cytospin (1500rpm, 10 min.)으로 처리한 후 Giemsa 염색하여 위상차현미경(phase contrast microscope, AXIOSKOP2 plus, ZEISS)으로 관찰하였다.

(2) 전자현미경 관찰

기관지 폐포 세정액을 원심 분리한 3 mL 중 2 mL를 취하여 투과전자현미경용 시료를 제작하여 EDS가 부착된 투과전자현미경으로 석면의 수와 크기를 측정하였다.

5. 폐 조직 내 석면 관찰

1) 위상차현미경 관찰

시험물질 투여 후 1주, 2주, 4주에 isoflurane(에어레인, Ilsung Pharm, Korea)을 사용하여 시험동물을 마취시킨 후 폐 조직을 절취하여 10% 중성포르마린 용액에 고정하였다. 고정된 왼쪽 폐 장기조직은 탈수한 후 파라핀으로 포매하여 마이크로톰으로 박절한 후 H&E 염색을 하여 위상차현미경(AXIOSKOP2 plus, ZEISS)으로 관찰하였다.

2) 투과전자현미경 관찰

시험물질 투여 후 1주, 2주, 4주에 절취한 오른쪽 폐 조직은 dry oven에서 하룻밤 건조시킨 다음, 건조 폐 무게를 측정하였다. 저온회화로(Low Temperature Plasma Asher, Yamato, Japan)에서 12시간 동안 회화시킨 폐 조직을 증류수에 넣어 nuclepore filter (Millipore GTTP 02500, nuclepore filter, pore size 0.2 μ m, diameter 25 mm)로 여과하고, 건조한 후 진공증착기(EMITECH, K950)로 탄소막을 입히고, carbon coated nickel grid (EMS CF200-Ni, diameter 3mm, 200mesh) 위에 놓고 chloroform vapor로 용해하고 건조시켜 사

용하였다. 시험동물에 시험물질을 주입하기 전의 시험물질 분석방법과 같은 조건으로 투과전자현미경을 이용하여 각 시험동물의 건조폐 1 g당 숫자를 계수하고, 20개의 석면을 선정하여 석면의 수와 크기(길이, 직경)를 측정하고 EDS를 이용하여 석면의 구성성분을 분석하였다.

6. 통계처리

시험물질 분석, 기관지폐포 세정액과 폐내 석면분석 등의 시험결과는 평균과 표준편차로 표시하였으며, 일원배치분산분석(one-way ANOVA)에서 유의성이 인정된 자료는 Dunnett 다중비교법을 이용하여 유의성을 검정하였다.

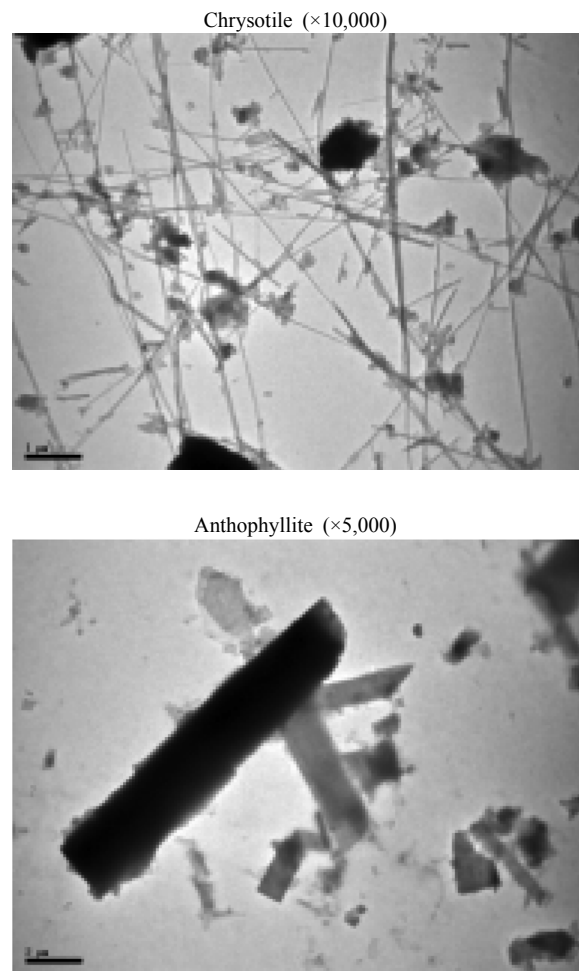


Fig. 1. Characteristics of chrysotile and anthrophyllite by transmission electron microscope.

III. 연구결과

1. 시험물질 특성분석

EDS가 부착된 투과전자현미경으로 관찰한 결과, 시험물질은 백석면(chrysotile)과 안소필라이트(anthophyllite)로 판단되었으며 안소필라이트($0.95 \mu\text{m} \times 7.29 \mu\text{m}$)가 백석면($0.08 \mu\text{m} \times 4.39 \mu\text{m}$)에 비하여 평균직경은 12 배 정도 굵고 평균길이는 1.8배 정도 긴 섬유상이었다(Fig. 1, Table 1).

백석면의 섬유수는 $8,814,244 \times 10^6$ fibers/mg 로 안소필라이트의 섬유수 $5,182 \times 10^6$ fibers/mg에 비하여 1,700배 정도 많았으며, 백석면은 길이가 $5 \mu\text{m}$ 이상이 40% 였으나, 안소필라이트는 길이가 $5 \mu\text{m}$ 이상이 60% 였다(Table 2).

시험물질의 구성원소 비율은 백석면은 Mg(57.51%), Si(47.57%), Fe(0.93%)이었고, 안소필라이트는 Mg(39.34%), Si(57.06%), Fe(3.59%)로 나타났다(Table 1).

2. 기관지폐포 세정액 내 석면 관찰

1) 위상차현미경 관찰

각 시험동물로부터 수집한 기관지폐포 세정액을 Giemsa 염색하여 400배율의 위상차현미경으로 관찰한 결과(Fig. 2), 백석면 투여군은 시험물질 투여 후 1주군과 2주군에서는 석면소체가 빈번히 관찰되었으나, 4주군에서는 관찰이 쉽지 않았다. 안소필라이트

투여군에서는 시험물질 투여 후 1주, 2주, 4주 등 시간이 경과될수록 백석면 투여군 보다 높은 빈도로 석면소체가 관찰되었다.

2) 투과전자현미경 분석

투과전자현미경으로 시간 경과별로 수집한 기관지폐포 세정액 내 석면을 관찰하고(Fig. 3) 크기를 측정된 결과(Table 3), 백석면 투여군에서는 투여 후 1주군(길이 $5 \mu\text{m}$ 이상, 75%)과 2주군(길이 $5 \mu\text{m}$ 이상, 57.1%)에서는 다양한 크기의 백석면이 발견되었으나 4주군에서는 섬유를 찾기가 어려웠다. 안소필라이트 투여군에서는 투여 후 1주군에서는 길이 $5 \mu\text{m}$ 미만(33.3%)과 $5 \mu\text{m}$ 이상(66.7%)의 안소필라이트가 다양하게 발견되었으나 투여 후 2주군과 4주군에서는 $5 \mu\text{m}$ 이상의 안소필라이트만 발견되었으며, 투여 후 시간이 경과됨에 따라 석면의 수는 줄어들었다.

3. 위상차현미경을 이용한 폐 조직 내 석면 관찰

폐 조직을 400배율의 위상차현미경으로 관찰한 결과(Fig. 4), 백석면 투여 후 1주군에서는 폐포강 공간에서 석면이 주로 관찰되고 투여 후 2주군에서는 폐포 내에서 석면이 관찰되었으나, 투여 후 4주군에서는 폐 조직 내에서 석면을 관찰하기 어려웠다. 안소필라이트 투여군에서는 투여 후 1주군, 2주군, 4주군 등 시간경과별로 관찰한 모든 폐 조직 내에서 석면이 쉽게 관찰되었다.

4. 전자현미경을 이용한 폐 조직 내 석면 분석

1) 석면 수 분석

중량(mg)당 섬유수가 1,700배 정도 많은 백석면과 안소필라이트를 투여한 후 각 시험동물의 폐조직

Table 1. Fibers size and element composition of domestic asbestos.

	diameter (μm) \times length (μm)	Element Composition (Atomic %)		
		Mg	Si	Fe
Chrysotile N=20	$(0.08 \pm 0.07) \times (4.39 \pm 3.61)$	57.51 ± 0.86	41.57 ± 0.85	0.93 ± 0.19
Anthophyllite N=20	$(0.95 \pm 1.06) \times (7.29 \pm 5.31)$	39.34 ± 1.42	57.06 ± 1.75	3.59 ± 1.47

All values are expressed as mean \pm SD

Table 2. Fibers numbers (fibers/mg) and size distribution of domestic asbestos.

	Fibers numbers ($\times 10^6$ fibers/mg)	diameter (μm)		length (μm)	
		<0.25	≥ 0.25	≥ 1	≥ 5
Chrysotile N=20	8,814,244	95%	5%	60%	40%
Anthophyllite N=20	5,182	30%	70%	40%	60%

Table 3. Fibers concentration (fibers/mL, %) from bronchoalveolar lavage fluid of SD male rats instilled asbestos with transmission electron microscopy.

Time point (Weeks)	Chrysotile ($\times 10^3$ fibers/mL)			Anthophyllite ($\times 10^3$ fibers/mL)		
	Sum	<5 μm	$\geq 5 \mu\text{m}$	Sum	<5 μm	$\geq 5 \mu\text{m}$
1	472 (100%)	118 (25%)	354 (75%)	708 (100%)	236 (33.3%)	472 (66.7%)
2	826 (100%)	354 (42.9%)	472 (57.1%)	472 (100%)	-	472 (100%)
4	-	-	-	118 (100%)	-	118 (100%)

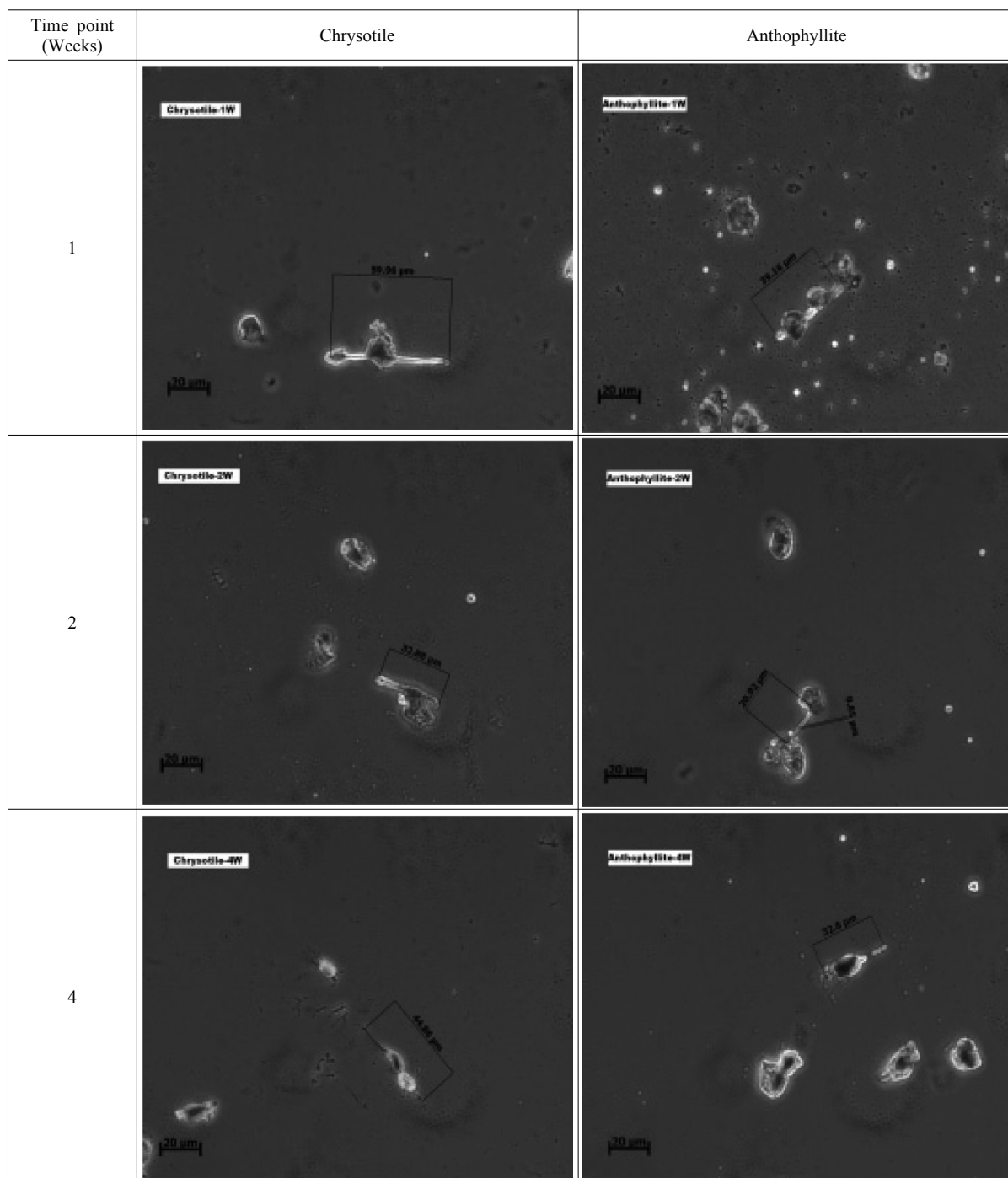


Fig. 2. Asbestos body in bronchoalveolar lavage fluid of SD male rats instilled asbestos. Giemsa staining, X 400, phase contrast microscopy.

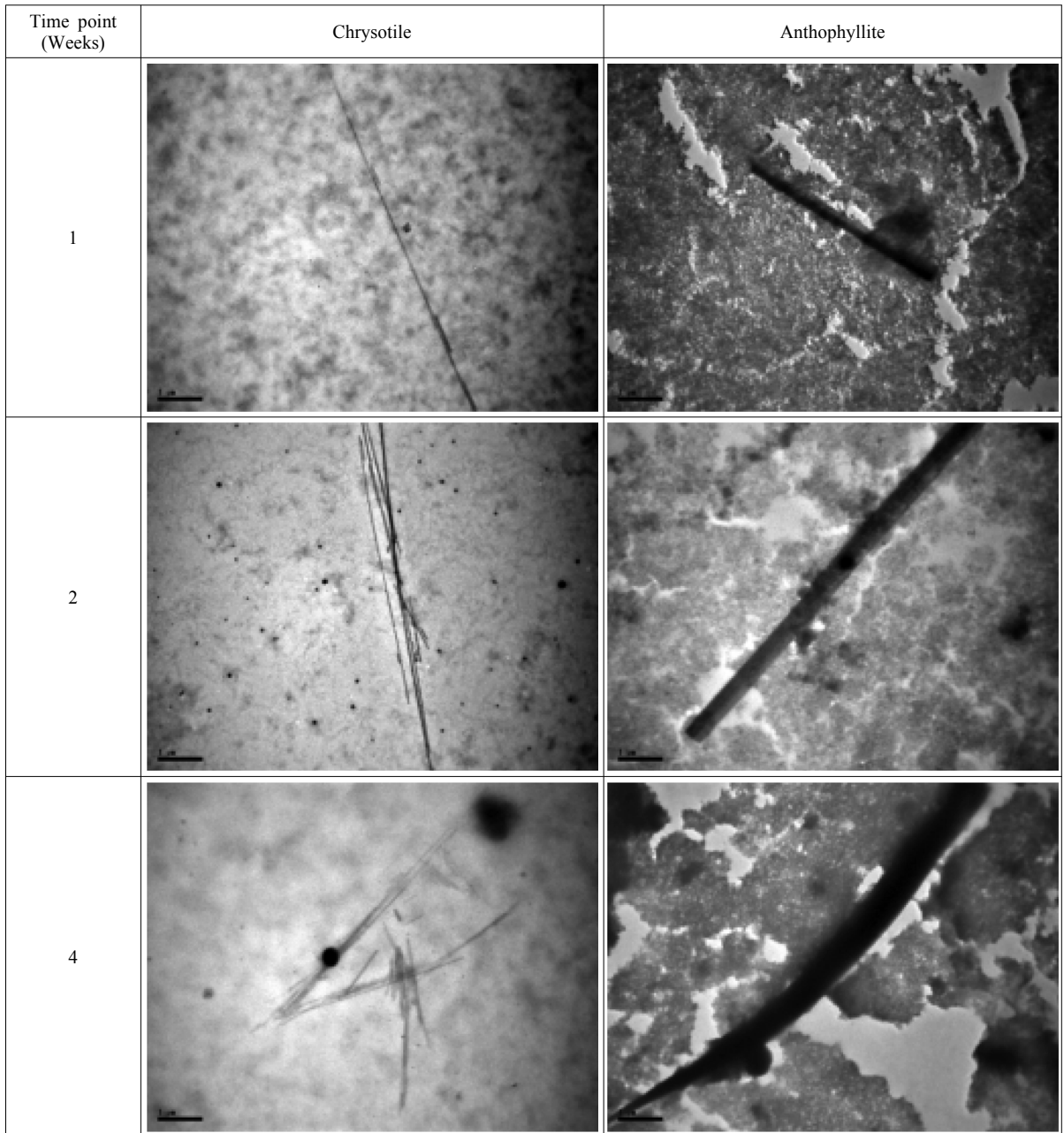


Fig. 3. Bronchoalveolar lavage fluid of SD male rats instilled asbestos. X 10,000 transmission electron microscopy.

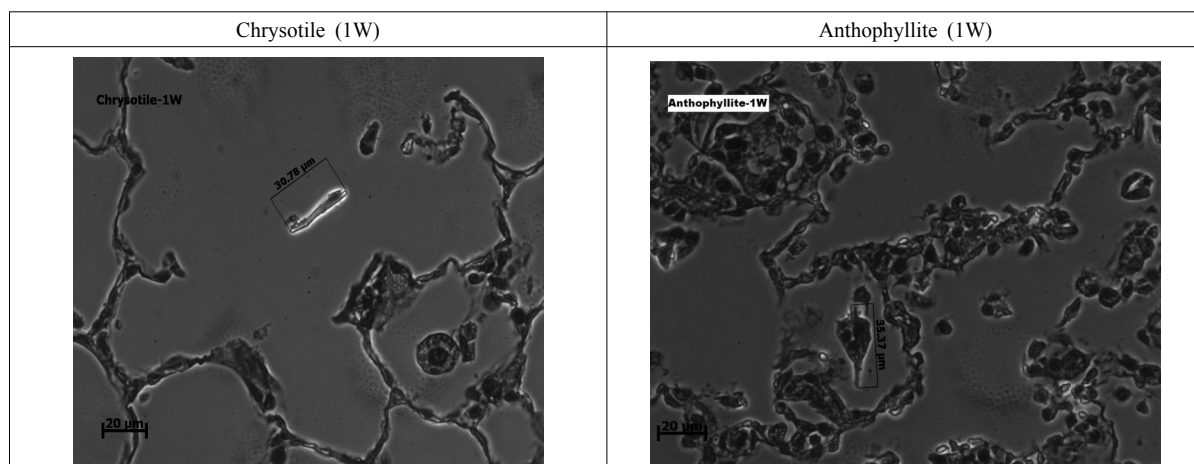


Fig. 4-1. After 1 week asbestos body in the lung of SD male rats instilled asbestos. (H&E, x 400, phase contrast microscopy).

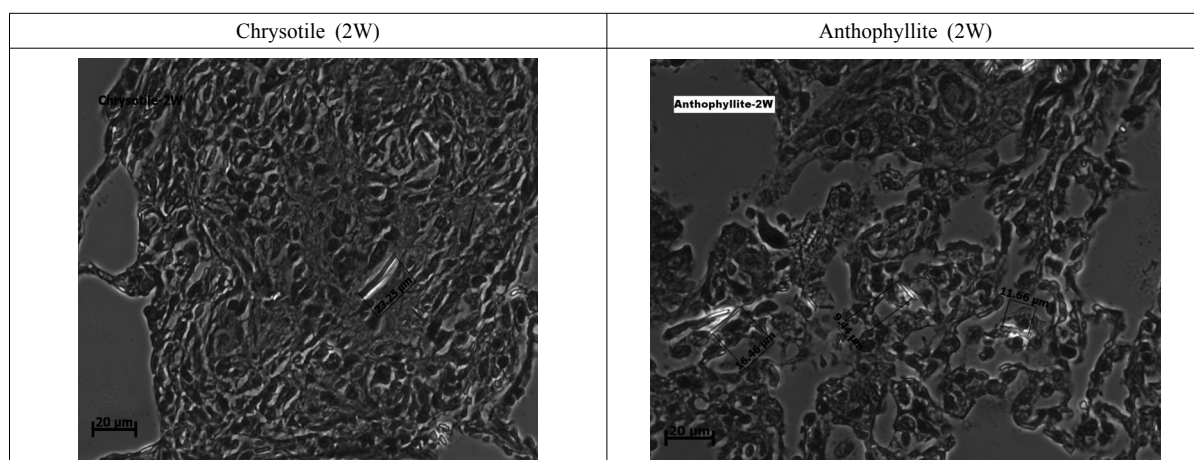


Fig. 4-2. After 2 weeks asbestos body in the lung of SD male rats instilled asbestos. (H&E, x 400, phase contrast microscopy).

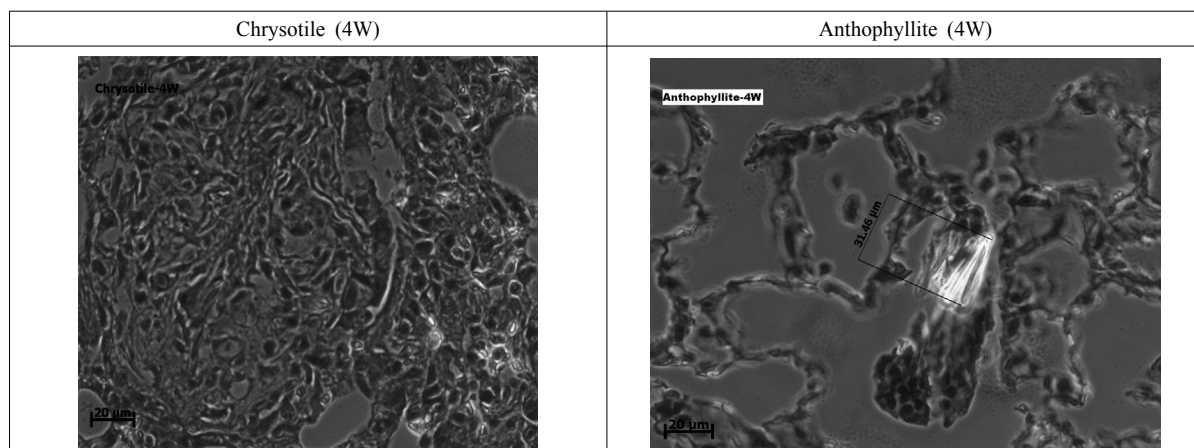


Fig. 4-3. After 4 weeks asbestos body in the lung of SD male rats instilled asbestos. Chrysotile ; No asbestos (H&E, x 400, phase contrast microscopy).

을 관찰한 결과 시험물질 투여 후 1 주일 만에 백석면은 급격히 감소하였고 안소필라이트는 상대적으로 변화가 적었다(Fig. 5, Table 4). 안소필라이트 투여 후 1주군에서는 건조폐 g 당 211.2×10^6 fibers 이 나타났으나, 백석면 투여 후 1주군에서는 안소필라이

트 투여군보다 106배 많은 건조폐 g 당 $22,340 \times 10^6$ fibers 이 나타났다. 백석면 투여 후 2주군에서는 안소필라이트 투여 후 2주군보다 165배 많은 섬유수가 나타났으며, 백석면 투여 후 4주군에서는 안소필라이트 투여 후 4주군보다 245배 많은 섬유수가 나타났다.

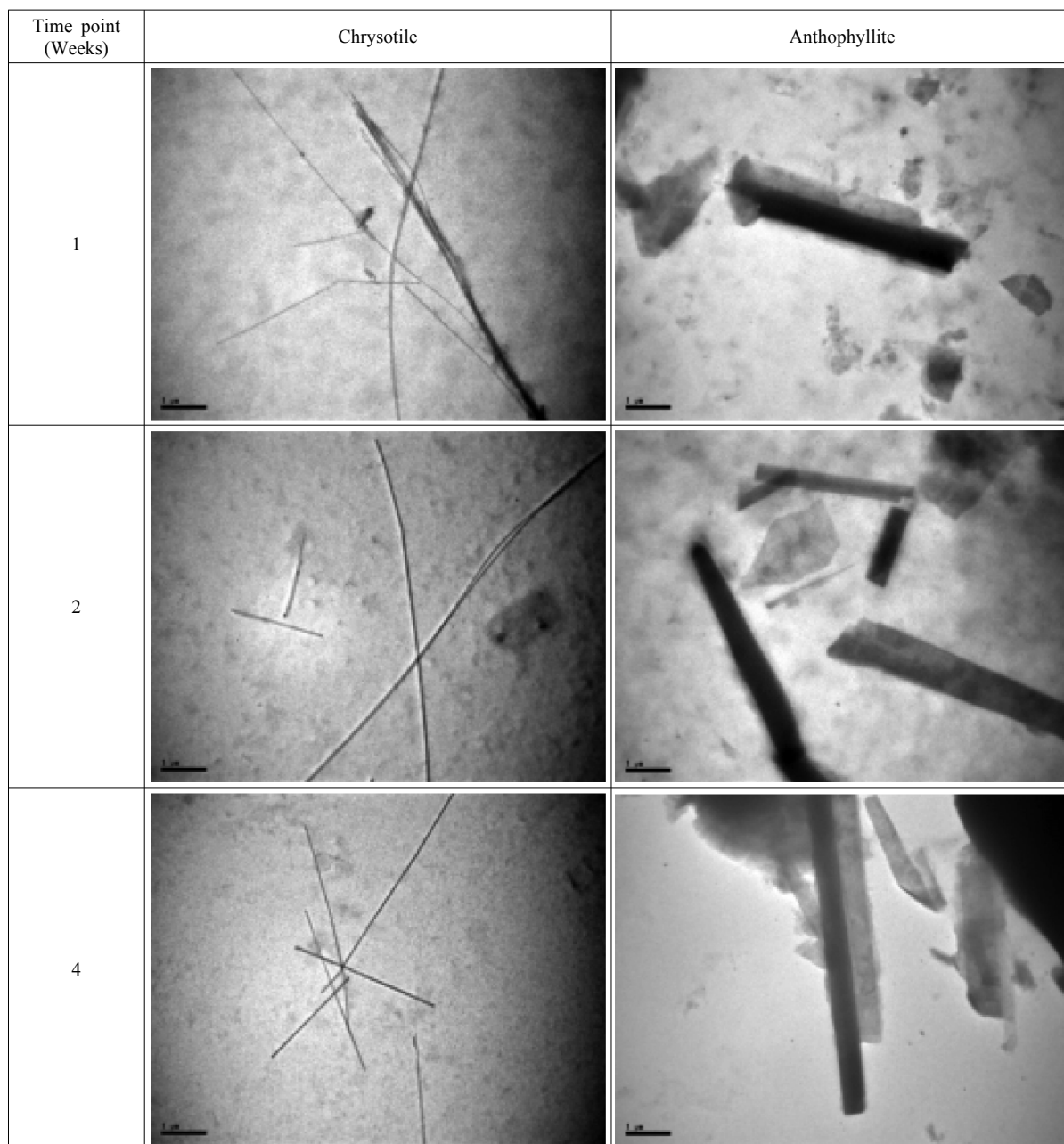


Fig. 5. Fibers in the lung of SD male rats after asbestos instillation. X 10,000 Transmission electron microscopy.

Table 4. Fibers concentration (fibers/g of dry lung) from lung of SD male rats instilled asbestos.

Time point (Weeks)	Chrysotile ($\times 10^6$ fibers/g)			
	Sum	< 1 μ m (L)	<5 μ m (L)	≥ 5 μ m (L)
1	22,340 \pm 6,110	5,810 \pm 1,540	13,490 \pm 3,580	3,040 \pm 1,080
2	36,020 \pm 11,000	3,830 \pm 1,240	25,970 \pm 8,390	6,220 \pm 1,820
4	42,610 \pm 10,130	5,640 \pm 1,350	26,290 \pm 6,290	10,680 \pm 3,040
Time point (Weeks)	Anthophyllite ($\times 10^6$ fibers/g)			
	Sum	< 1 μ m (L)	<5 μ m (L)	≥ 5 μ m (L)
1	211.2 \pm 41.45	10.45 \pm 2.11	85.67 \pm 17.28	115.1 \pm 22.70
2	217.7 \pm 31.21	12.75 \pm 1.68	102.0 \pm 13.46	102.9 \pm 16.54
4	174.1 \pm 32.28	6.91 \pm 1.46	103.6 \pm 21.97	63.6 \pm 10.26

All values are expressed as mean \pm SD

L = length

Table 5. Length (μ m) and diameter (μ m) of fibers from lung of SD male rats instilled asbestos.

Time point (Weeks)	Chrysotile		Anthophyllite	
	length (μ m)	diameter (μ m)	length (μ m)	diameter (μ m)
Before N=20	4.39 \pm 3.61	0.08 \pm 0.07	7.29 \pm 5.31	0.95 \pm 1.06
1 N=20	3.69 \pm 6.09	0.14 \pm 0.16	7.68 \pm 8.70	0.96 \pm 1.19
2 N=20	4.51 \pm 4.71	0.07 \pm 0.04	6.60 \pm 6.38	0.84 \pm 0.96
4 N=20	4.66 \pm 4.96	0.06 \pm 0.02	5.11 \pm 4.97	0.61 \pm 0.61

All values are expressed as mean \pm SD

2) 석면 크기 분석

폐 조직 내에 남아있는 시험물질의 크기와 분포를 분석한 결과(Table 5), 백석면 투여 후 남아있는 백석면의 평균길이는 투여 후 1주군 3.69 μ m, 2주군 4.51 μ m, 4주군 4.66 μ m 등으로 투여 후 시간이 경과됨에 따라 폐 조직에 남아 있는 백석면의 평균길이는 길었다. 안소필라이트 투여 후 남아있는 안소필라이트의 평균길이는 투여 후 1주군 7.68 μ m, 2주군 6.60 μ m, 4주군 5.11 μ m 등으로 시간이 경과됨에 따라 폐 조직에 남아있는 안소필라이트의 평균길이는 작았다. 백석면과 안소필라이트의 평균직경은 투여 전에 비하여 모두 감소하는 경향을 보였다.

3) 석면 성분 비율 변화 분석

시험물질 투여 후 시험물질의 구성성분 비율 변화를 분석한 결과(Table 6), 백석면 투여군에서는 투여 후 1주군부터 Fe 성분이 감소하여 나타나지 않았고 Si 성분은 시간이 경과함에 따라 감소하고 Mg 성분은 증가하는 경향을 보였으나, 안소필라이트 투여군에서는 유의한 구성성분 비율 변화는 나타나지 않았다.

IV. 고 찰

본 연구는 국내 석면 광산에서 채취한 백석면과 안소필라이트의 호흡기계 내에서의 변화를 비교 평가하기 위하여 랫드의 기도 내로 동일한 용량을 투여한 후 호흡기계 내 시험물질의 섬유수를 시간 경과별로 분석하였다. 시험물질로 사용된 백석면은 안소필라이트보다 중량이 가벼워서 백석면 mg 당 섬유수는 $8,814,244 \times 10^6$ fibers 로 안소필라이트 mg 당 섬유수 $5,182 \times 10^6$ fibers 에 비하여 중량당 섬유수는 1,700배 정도가 많았다.

Bernstein 등(2003)이 랫드에 흡입시킨 캐나다산 백석면(>20 μ m)의 반감기는 11일로 나타났고, 인체 내에서의 백석면의 반감기는 수 주에서 몇 개월로 평가되었다(Churg와 Wright, 1994). 각섬석계 석면은 폐 내에서 조각이 나지 않고 화학적 공격에 민감하지 않아 랫드에 흡입된 갈석면(200 fibers/cm³)의 반감기는 400일 이상이였으며(Hesterberg 등, 1998), 인체 내에서 각섬석 반감기는 수 십 년으로 알려져 있다(Churg와 Wright, 1994). 1980년대에 폐 조직 내 광

Table 6. Change of atomic % from lung of SD rats instilled asbestos.

Time point (Weeks)	Chrysotile			Anthophyllite		
	Si	Mg	Fe	Si	Mg	Fe
Before N=20	41.57±0.85	57.51±0.86	0.93±0.19	57.06±1.75	39.34±1.42	3.59±1.47
1 N=20	47.36±1.16	52.64±1.16	ND	56.78±1.31	39.94±1.58	3.28±1.47
2 N=20	45.15±1.28	54.85±1.28	ND	56.04±1.81	40.12±0.97	3.89±1.50
4 N=20	44.55±3.06	55.45±3.06	ND	55.92±1.90	40.30±1.05	3.78±1.33

All values are expressed as mean ± SD, ND; No detected

물리적인 연구 결과에 의하면 폐 섬유증(lung fibrosis)과 각섬석 석면(amphibole asbestos)과는 용량반응 관계가 인정되었지만 백석면은 폐 섬유증과 용량반응 관계가 인정되지 않았다(Roggli 등, 2010). 본 연구에서 시험물질 투여 후 폐 조직 내 섬유수 변화를 투과전자현미경으로 관찰한 결과, 안소필라이트 투여군보다 1,700배 정도 많은 양의 섬유수가 투여된 백석면 투여군의 섬유수는 시험물질 투여 후 1주일 동안 급격히 감소하여 안소필라이트 투여군의 106배 정도만 남아있었다. 투여 후 2주차와 투여 후 4주차에서는 폐 조직 내에 남아있는 시험물질의 섬유수의 변화는 상대적으로 적었다. 투과전자현미경으로 기관지폐포 세정액 내의 석면을 관찰한 결과에서도 안소필라이트 투여군에서는 모든 군에서 안소필라이트가 관찰되었지만, 백석면 투여군의 4주군에서는 섬유를 관찰하기 어려웠다. 이러한 결과는 백석면 투여 후 1주군과 2주군에서는 세기관지나 폐포강 공간에 있던 백석면이 쉽게 녹아 세정액으로 배출되었지만, 투여 후 4주군에서는 백석면이 주로 폐 내 섬유조직에 분포되어 쉽게 배출되지 않고 용해도 잘 되지 않기 때문에(Roggli 등, 2010) 생긴 결과로 판단되었다.

위상차현미경으로 기관지폐포세정액 내의 섬유를 관찰한 결과, 백석면 투여군보다 안소필라이트 투여군에서 발견되는 섬유 빈도수가 높았다. 폐 조직 내의 석면을 위상차현미경으로 관찰한 결과에서도 안소필라이트 투여군에서는 모든 폐 조직 내에서 석면이 쉽게 관찰되었으나, 백석면 투여 후 1주군에서는 폐포강 사이에서 섬유가 관찰되었으나 시간이 경과될수록 폐 조직 내에서 섬유를 관찰하기 어려웠다. 백석면 투여 후 2주군, 4주군의 폐 조직 내에서

섬유가 관찰되지 않은 이유는 위상차현미경으로는 직경이 0.25 μm 보다 큰 섬유만 관찰될 수 있으나 백석면의 직경은 대부분 0.25 μm 보다 작고, 쉽게 짧은 섬유로 쪼개져서 대식세포에 탐식되며, 폐 내의 산(acid) 환경에서 안정적이지 않기 때문에(Hume과 Rimstidt, 1992) 폐 조직 내에서 빠르게 용해되어서 생긴 결과로 판단되었다.

Roggli 등(2010)에 의하면 폐 조직 내로 들어간 석면은 폐포 대식세포의 작용에 의하여 황갈색의 얇고 반투명의 아령 형태인 석면소체가 된다. 석면폐증에서는 주로 섬유조직 내에 석면소체들이 발견되지만, 세기관지 주위 폐포 공간이나 대식세포 세포질이나 다핵 거대세포 내에서 발견되기도 한다. 폐 내에서 내구성이 강한 각섬석은 석면폐증 정도와 농도 관련성이 높지만, 폐 내에서 용해가 빠른 백석면은 석면폐증 정도와 농도 관련성이 낮다(Roggli 등, 2010). Pooley와 Ransome (1986)이 석면소체를 분석한 결과 갈석면과 청석면은 많이 나타나지만 백석면이 나타나는 비율(0.14%)은 적었다. 석면작업 경력이 없는 근로자 82명으로부터 600개의 석면소체를 분석한 결과에서도 98%가 각섬석이었으며 백석면은 2% 뿐이었다(Churg, 1982). 석면소체의 수는 폐 내의 석면 형태, 길이, 석면 농도 등에 영향을 받기 때문에 폐 내의 석면소체의 수와 노출된 석면 수는 일관성 있는 상관성을 보이지는 않으며 폐 내의 석면수를 정확히 반영하지는 않는다(Roggli 등, 2010).

본 연구결과, 안소필라이트보다 1,700배 정도 섬유수가 많은 백석면은 폐 내 반감기가 1 주일 이내로 나타나 투여 후 4주 이후에는 위상차현미경으로 기관지폐포 세정액이나 폐 조직 내에서 백석면을 발견하기는 쉽지 않았다.

V. 결 론

국내 석면 광장에서 수집한 2종의 석면 광물의 물리화학적 특성을 파악하고, SD 랫드의 기도 내로 1회 투여한 후 4주 동안 시험동물의 기관지폐포세정액과 폐 조직 내의 석면의 수와 구성원소 변화를 시간 경과별로 분석한 결론은 다음과 같다.

1) 위상차현미경으로 기관지폐포 세정액과 폐를 관찰한 결과, 백석면 투여 후 1주군과 2주군의 기관지폐포 세정액과 폐에서는 섬유가 관찰되었으나 4주군의 기관지폐포 세정액과 폐에서는 섬유를 찾기 어려웠다. 안소필라이트 투여군에서는 모든 군의 기관지 세정액과 폐에서 섬유가 쉽게 관찰되었다.

2) 투과전자현미경으로 기관지폐포 세정액을 관찰한 결과, 백석면 투여 후 1주군과 2주군의 세정액에서는 섬유가 관찰되었으나 4주군의 세정액에서는 섬유를 찾기 어려웠다. 안소필라이트 투여군에서는 모든 군의 기관지 세정액에서 섬유가 쉽게 관찰되었다.

3) 투과전자현미경으로 폐를 관찰한 결과, 백석면 투여군의 섬유수는 1주일 동안 급격히 줄어들었다.

4) 폐 조직 내 시험물질의 구성성분 비율 변화를 분석한 결과, 백석면 투여군에서는 투여 후 1주군부터 Fe 성분이 나타나지 않고 Si 성분이 감소하고 Mg 성분이 증가하는 경향을 보였으나, 안소필라이트 투여군에서는 유의한 구성성분 비율 변화는 나타나지 않았다.

본 연구결과, 백석면보다 mg 당 섬유수가 1,700배 정도 적고 직경과 길이가 긴 직선 형태의 안소필라이트는 4주 동안 폐 조직과 기관지폐포 세정액 내에 지속적으로 남아 있고 구성성분 비율 변화가 나타나지 않았지만, 백석면은 투여 후 1주차에 섬유수가 급격히 감소하고 Fe 성분이 사라졌으며 4주차에서는 위상차현미경으로 기관지폐포 세정액과 폐 조직 내에서 섬유를 발견하기 어려웠다. 이러한 결과로 백석면에 노출된 후 시간이 오래되면 기관지폐포 세정액 내에서는 백석면이 발견되지 않을 수도 있으므로 석면피해인정 시에 유의하여야 할 것으로 판단되었다.

참고문헌

- 정용현, 한정희. 석면대체재 표시성분 신뢰도 조사연구. 산업안전보건연구원; 2008. (p. 5-6)
- Bernstein DM, Rogers R, Smith P. The biopersistence of Canadian chrysotile asbestos following inhalation. *Inhal Toxicol.* 2003;15(13):1247-1274.
- Churg A. Fibre counting and analysis in the diagnosis of asbestos fibres from lung tissue. *Human Pathol.* 1982; 13 (4): 381-392.
- Churg A, Wright JL. Persistence of natural mineral fibers in human lungs: an overview. *Environ Health Perspect.* 1994; 102(suppl 5): 229-233.
- De Vuyst P, Gevenois PA. Asbestosis. In: Hendrick DJ, Burge PS, Beckett WS, Churg A, eds. *Occupational Disorders of the Lung: Recognition, Management, and Prevention.* London, England: Saunders; 2002: 143-162.
- Dupres JS, Mustard JF, Uffen RJ. Report of the Royal Commission on Matters of Health and Safety Arising From the Use of Asbestos in Ontario. Toronto, Canada: Queen's Printer for Ontario; 1984.
- Fischer M, Gunther S, Muller KM. Fibre-years, pulmonary asbestos burden and asbestosis. *Int J Hyg Environ Health.* 2002; 205 (3): 245-248.
- Hesterberg TW, Chase G, Axten C, et al. Biopersistence of synthetic vitreous fibers and amosite asbestos in the rat lung following inhalation. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1998; 151 (2): 262-275.
- Hume LA, Rimstidt JD. The biodegradability of chrysotile. *Am Mineral.* 1992; 77(9-0): 1125-1128.
- Pooley FD, Ransome DL. Comparison of the results of asbestos fibre counts in lung tissue obtained by analytical electron microscopy and light microscopy. *J Clin Pathol.* 1986; 39 (3): 313-317.
- Roggli VL, Gibbs AR, Attanoos R, Churg A, Popper H, Cagle P, Corrin B, Franks TJ, Galateau-Salle F, Galvin J, Hasleton PS, Henderson DW, Honma K. Pathology of asbestosis- An update of the diagnostic criteria: Report of the asbestosis committee of the college of american pathologists and pulmonary pathology society. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 Mar; 134 (3): 462-80.