

벤조피렌의 급성독성시험 연구

김미나¹ · 이승길² · 조삼래³ · 김덕현*

¹한국산업기술대학교 생명화학공학과, ²장안대학교 환경보건과, ³한국화학물질관리협회

An Experimental Study on Acute Toxicity of Benzo[a]pyrene

Mina Kim¹ · Seungkil Lee² · Samrae Cho³ · Dukhyun Kim*

¹Department of Chemical Engineering & Biotechnology, Korea Polytechnic University, Siheung-si, Korea

²Department of Environment and Public Health, Jangan University, Seoul, Korea

³Korea Chemical Management Association, Seoul, Korea

ABSTRACT

Objectives: This study was performed to observe the toxicological changes caused by a single exposure to benzo[a]pyrene.

Methods: Based on the results of a preliminary study, 300 mg/kg was set as the middle dose. A highest dose of 2,000 mg/kg and a lowest dose of 50 mg/kg were selected based on GHS guidelines. Benzo[a]pyrene was orally administered once to female and male SD rats at dose levels of 50, 300, and 2,000 mg/kg (body weight). All animals were monitored daily for clinical signs and mortality over 14 days. Hematological and biochemical values were examined as well.

Results: There were neither dead animals nor significant changes in body weights during the experimental period. In addition, no differences were found between the control and treated groups in clinical sign, hematology, serum biochemical, and histopathological analysis.

Conclusion: Compared with the control group, we could not detect any toxic alteration in all treated groups. These studies indicate that the acute toxicity of benzo[a]pyrene is relatively low.

Key words: acute toxicity, Benzo[a]pyrene, 50 mg/kg, 300 mg/kg, 2000 mg/kg

I. 서 론

다환방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, 이하 PAHs)는 2개 이상의 벤젠고리를 갖는 방향족 탄화수소로 벤젠고리가 2~4개인 물질은 기체나 고체에 흡착된 형태로, 벤젠고리가 5개 이상인 물질은 주로 고체에 흡착된 형태로 자연계에 존재하게 된다(IARC, 1991). PAHs는 구성 성분에 따라 200여개의 물질이 있지만 US EPA(United States Environmental Protection Agency)나 NIOSH(The National Institute for Occupational Safety and Health) 등에서 관심을 갖는 물질은 대표적으로 17개가

있다. 이 중 Benzo[a]pyrene, Benzo[a]anthracene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Indeno(1,2,3-c,d)pyrene, Dibenzo(a,h)anthracene은 발암물질로 알려져 있다. IARC(International Agency for Research on Cancer)에 의한 발암물질인 PAHs는 산불, 유기화합물 분해, 화석연료 및 내연기관의 연소 등에 의해 자연적으로 환경에 오염이 되고 있는 물질로서 대부분 지방친화성이 매우 커서 체내 흡수 시 축적성이 매우 크며, 체내에서 대사과정을 거치면서 발암성이 유발되는 것으로 알려져 있다(Ishiwatani et al., 1975). 1976년 Jerina와 Daly에 의해 최초로 ‘bay-region theory’가 제안되어 체내에서

*Corresponding author: Dukhyun Kim, Tel: 010-8231-1842, E-mail: manakim@nate.com

Department of Chemical Engineering & Biotechnology, Korea Polytechnic University, 2121 Jeongwang-dong, Siheung-si, Gyeonggi-do, Korea

Received: March 4, 2018, Revised: March 24, 2018, Accepted: March 26, 2018

© Mina Kim <https://orcid.org/0000-0003-3335-0616>

© Seungkil Lee <https://orcid.org/0000-0001-7119-4250>

© Samrae Cho <https://orcid.org/0000-0003-0417-1029>

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.

벤젠 링의 diol epoxide 생성여부가 PAHs의 발암성을 결정하는 주요 체내 대사 경로임이 알려진 이래 PAHs의 발암성에 관한 연구는 상당히 많이 이루어져 방향족 환의 수 및 위치에 따라 발암성의 정도에 차이를 보인다는 사실이 알려졌다(Thakker et al., 1982). 벤조피렌은 PAHs를 가장 대표하는 물질로서 1933년 콜타르로부터 처음 분리되어 돌연변이 및 발암성을 띠는 것이 확인되었고(Phillips, 1983), 벤조피렌은 일반적으로 화석연료, 목재 및 여타 유기물의 연소과정에서 발생되며, 상당한 양이 디젤 배기가스, 담배연기, 숯불구이 음식 및 공업 폐기물의 부산물 등에 존재하는 것으로 알려졌다(Hecht, 1999). 벤조피렌은 평균적으로 담배 한 개피당 20 ~ 40 ng(Kuller et al., 1986) 정도 들어있고 제철소의 용광로 근무자들의 경우 $42 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 정도로 노출되고 있다(Lewtas et al., 1997). 벤조피렌은 세포노출 실험을 통하여 돌연변이 유발성 및 발암성이 증명되었고, 에스트로겐 활성이 있다고 알려졌다(Walle et al., 2006). 이러한 외인성 에스트로겐 작용으로 인해(Santodonato, 1997) 내분비계장애물질로 간주될 수 있으며(Hoyer, 2001), 결과적으로 생식기계의 기능에 영향을 미칠 가능성이 매우 높다. 이처럼 유전독성, 발암성 및 내분비계 장애물질로도 분류되는 벤조피렌에 노출되는 농도는 일반적으로 법적 한계를 벗어나지는 않겠지만, 환경 및 식품 오염물질에서 직간접적으로 노출되는 수준에 따라 생식과 발육에 독성을 나타낼 수 있는 유력한 내분비 장애물질로 이에 대한 건강 영향 평가를 위한 연구의 관심이 최근 고조되고 있다. 그러나 벤조피렌의 경구 투여에 의한 독성학적 연구가 드물며, 오래 전에 이루어져 현재의 기준으로 볼 때 연구 방법 상 신뢰성이 확보되지 않아 그 결과를 인용하기가 어려운 상태이다. 따라서 본 연구는 벤조피렌의 경구 투여에 의한 급성 독성학적 연구를 시행하여 기존의 연구 결과와 비교하고 앞으로 내분비계 장애 연구에 필요한 기초자료를 얻고자 시행하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

시험종은 Sprague-Dawley계통의 랫트이며, 5주령 된 수컷 20마리, 암컷 20마리를 입수하여 투여개시 시 약 6주령 동물을 사용하였다. 첫 투여 시 전체 평

균 체중의 $\pm 20\%$ 내외 동물을 사용하였다. Sprague-Dawley 계통은 다양한 종류의 화학물질 독성을 평가하는데 널리 사용되고 있으며, 풍부한 시험기초 자료가 있으므로 본 시험의 실험동물로 선택하였다.

2. 연구방법

본 연구는 벤조피렌을 암·수 랫트에 단회 경구투여 후 발현되는 급성독성을 조사하기 위해 실시하였으며, 식품의약품안전처 고시 제2015-82호 의약품등의 독성시험기준 별표 1(단회투여독성시험) 및 국립환경과학원 고시 제2017-4호 화학물질의 시험방법에 관한 규정 제5장 제18항(급성경구독성시험)을 참조하여 실시하였다. 본 시험계획서는 고려대학교 IACUC 심의 [KOREA-2016-0157]를 통과하였으며, 동물보호 표준 작업지침서에 따라 동물에 대한 일반적인 복지를 실시하고, 실험동물 복지법에 따라 동물의 고통과 통증을 최대한 예방할 수 있는 의약적 조치를 취하였다. 부형제는 corn oil로 하였는데, corn oil은 일반적으로 급성 경구독성시험에서 유의한 독성을 유발하지 않기 때문에 물에 용해되지 않는 시험물질의 부형제로 사용된다. 본 실험 전 실시한 예비실험 결과와 화학물질 분류·표지에 관한 국제 조화시스템(Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals, GHS)의 분류기준을 참조하여 노출 농도를 0 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg으로 결정하였다. 시험물질은 고용량군의 시험물질을 칭량하여 부형제에 용해 및 현탁하여 균질하게 한 후 단계 희석하여 사용하였다(Table 1). 모든 시험동물을 대상으로 측정 및 관찰을 실시하였으며 1일 2회 동물의 사망 및 빈사 상태를 관찰하였다. 사망률, 빈사, 외관 및 행동 변화 등을 포함하는 일반증상을 관찰하고, 날짜와 시간, 지속정도 등을 기록하였다. 계획 도살되는 동물을 CO₂ 흡입을 통해 마취 후 후대정맥과 복대동맥을 절단하여 방혈 치사시켜 육안으로 복강 및 흉강의 비정상 유무를 관찰하였고, 육안소견이 관찰된 장기는 적절한 고정액에 고정 한 후 조직병리학적 검사를 실시하였다. 암·수컷 부형제 대조군과 최고 용량군의 동물에 대하여 뇌, 간, 비장, 심장, 폐, 전립선, 신장, 고환, 부고환, 위, 자궁 및 난소 조직을 적출하여 10% 중성 완충 포르말린액에 고정하였다. 고환과 부고환은 Bouin's액에 약 24~72시간 고정 후 70% 에탄올로 옮겼다. 폐는 포

Table 1. Experimental group composition and dosage

Group	Sex	No. of Animals	Animal ID	Dose (mg/kg/day)
Control*	Male	5	1-5	0
	Female	5	21-25	
T1†	Male	5	6-10	50
	Female	5	26-30	
T2‡	Male	5	11-15	300
	Female	5	31-35	
T3§	Male	5	16-20	2000
	Female	5	36-40	

* Control : 0 mg/kg/day

† T1 : 50 mg/kg/day

‡ T2 : 300 mg/kg/day

§ T3 : 2000 mg/kg/day

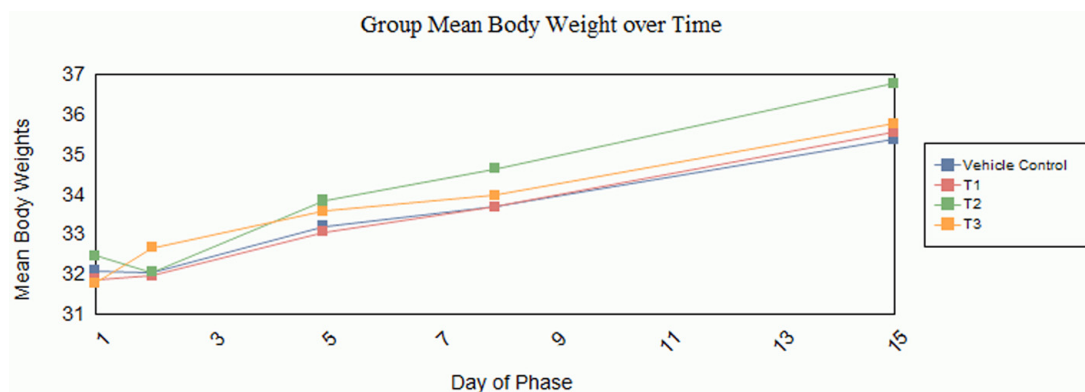
르말린을 주입하여 고정하였다. 수컷 부형제 대조군과 최고 용량군의 동물에 대한 모든 생존동물, 사망 후 발견된 동물, 빈사동물의 위 장기에 대하여 조직표본을 만들고 hematoxylin & eosin으로 염색 후 병리조직학적 검사를 실시하였다. 시험자료의 분석은 SAS/STAT를 이용하여 통계적으로 분석하였으며, 군간 비교는 다중비교분석을 실시하였다. 데이터는 Bartlett's Test를 이용하여 등분산 검정을 실시한 후 등분산된 데이터는 일원배치분산분석(ANOVA)으로 검정하고, 군간차이는 Dunnett's Test로 분석하였다. 등분산되지 않은 데이터는 Kruskal-Wallis Test로 분석하고, 투여군과 대조군간의 차이는 Dunn's Rank Sum Test로 확인하였다.

III. 연구결과

1. 벤조피렌 경구 투여에 따른 독성 결과

1) 일반 증상 결과

랫트를 이용한 벤조피렌 단회 경구 투여 독성시험 결과 암·수컷의 투여일수(1, 2, 7, 15 day)에 따른 농도별 사망은 대조군을 포함한 모든 실험군에서 사망이 관찰되지 않았으나, 2,000 mg/kg의 벤조피렌 투여 3일 후 항문주위에서 설사와 관련된 비정상적인 오염이 관찰되었다. 수컷 랫트의 몸무게 변화 결과 대조군은 투여 후 1일, 2일, 5일, 8일 및 15일에서 평균 몸무게가 32.1±1.25 g, 32.0±1.66 g, 33.2±1.66 g, 33.7±2.20 g 및 35.4±2.33 g이었으며, 실험군 중 50 mg/kg(T1)의 평균 몸무게는 31.9±1.39 g, 32.0±1.76 g, 33.1±1.68 g, 33.7±2.10 g 및 35.6±2.60 g이었다. 300 mg/kg(T2)의 평균 몸무게는 32.5±1.14 g, 32.0±1.11 g, 33.8±1.70 g, 34.6±2.01 g 및 36.8±2.49 g이었고, 2,000 mg/kg(T3)의 평균 몸무게는 31.8±1.25 g, 32.7±1.43 g, 33.6±2.29 g, 34.0±1.95 g 및 35.8±2.18 g으로 투여 후 대조군 및 실험군의 체중 변화는 시간변화에 따라 점차 증가하는 것으로 나타났으나 대조군이 실험군에 비해 낮은 수준으로 관찰되었다. 투여 1일 대조군의 평균 몸무게는 32.1±1.25 g이었으며, 벤조피렌 50 mg/kg 실험군의 평균 몸무게는 31.9±1.39 g, 300 mg/kg 실험군은 32.5±1.14 g, 2000 mg/kg의 실험군은 31.8±1.25 g으로 대조군과 실험군간에 큰 차이가 없었으며, 통계적으로 유



Date represent the mean ± S.D

Control : 0 mg/kg/day(1 day 32.1±1.25)

T1 : 50 mg/kg/day(1 day 31.9±1.39)

T2 : 300 mg/kg/day(1 day 32.5±1.14)

T3 : 2000 mg/kg/day(1 day 31.8±1.25)

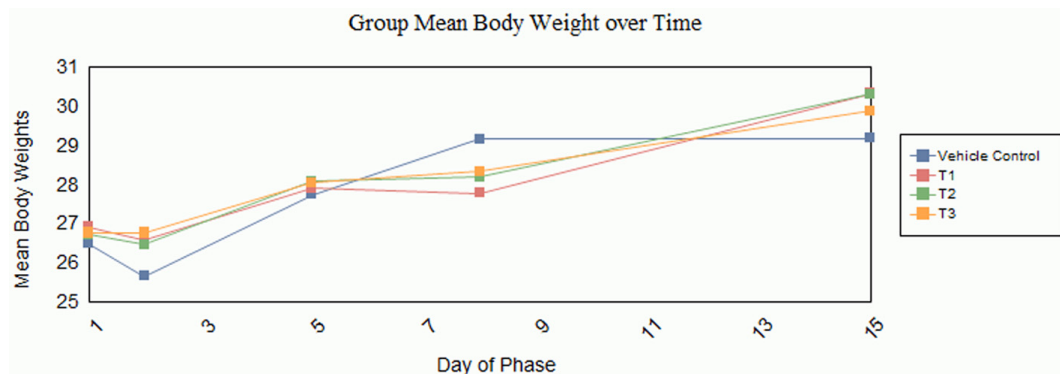
Figure 1. Male weight change result

의한 차이도 없었다. 또한 투여 5일, 15일 후에도 대조군과 실험군간에 차이가 없었으며, 통계적으로 유의한 차이가 발생하지 않았다(Figure 1). 암컷 랫트의 몸무게 변화 결과는 대조군은 투여 후 1일, 2일, 5일, 8일 및 15일 평균 몸무게 26.5±1.83 g, 25.7±2.32 g, 27.7±2.15 g, 29.2±2.68 g 및 29.2±1.93 g이었다. 실험군 중 50 mg/kg(T1)의 평균 몸무게는 26.9±1.42 g, 26.6±1.84 g, 27.9±1.48 g, 27.8±2.08 g 및 30.3±2.57 g이었다. 300 mg/kg(T2)의 평균 몸무게는 26.7±2.09 g, 26.5±1.25 g, 28.1±2.22 g, 28.2±1.971 g 및 30.3±1.68 g이었고, 2,000 mg/kg(T3)의 평균 몸무게는 26.8±1.49 g, 26.8±1.79 g, 28.0±1.30 g, 28.3±1.48 g 및 29.9±2.61 g으로 투여 후 대조군 및 실험군의 체중 변화는 시간변화에 따라 점차 증가하는 것으로 나타났으나 대조군이 실험군에 비

해 낮은 수준으로 관찰되었다. 투여 1일 대조군의 평균 몸무게는 26.5±1.83 g이었으며, 벤조피렌 50 mg/kg 실험군의 평균 몸무게는 26.9±1.42 g, 300 mg/kg 실험군은 26.7±2.09 g, 2000 mg/kg의 실험군은 26.8±1.49 g으로 대조군과 실험군간에 큰 차이가 없었으며, 통계적으로 유의한 차이도 없었다. 투여 5일, 15일 후에도 대조군과 실험군간에 차이가 없었으며, 통계적으로 유의한 차이가 발생하지 않았다(Figure 2).

2) 혈액학적 검사 결과

벤조피렌을 투여한 실험군(group T1, T2, T3)을 CO₂ 흡입을 통해 마취하고 복부대동맥으로부터 채혈하여 혈액학적 지표인 WBC, RBC, Hemoglobin, HCT, Platelet, MCV, MCH, MCHC를 혈구 자동측정기로 측정



Date represent the mean ± S.D

Control : 0 mg/kg/day(1 day 26.5±1.83)

T1 : 50 mg/kg/day(1 day 26.9±1.42)

T2 : 300 mg/kg/day(1 day 26.7±2.09)

T3 : 2000 mg/kg/day(1 day 26.8±1.49)

Figure 2. Female weight change result

Table 2. Hematological values of male after oral treatment of Benzo[a]pyrene

	control	T1	T2	T3
WBC [*] (10 ³ /μℓ)	6.30 ± 0.79	6.08 ± 0.17	6.03 ± 0.45	6.23 ± 0.54
RBC [*] (10 ⁶ /μℓ)	8.15 ± 0.72	8.25 ± 0.86	7.69 ± 0.96	7.95 ± 0.55
Hemoglobin(g/dL)	10.86 ± 2.56	8.46 ± 3.14	9.23 ± 2.75	9.14 ± 2.31
HCT [†] (%)	47.9 ± 1.4	47.8 ± 0.9	48.1 ± 1.2	47.9 ± 1.27
Platelet(10 ³ /μℓ)	893.32 ± 26.12	970.33 ± 29.70	881.11 ± 29.85	863.91 ± 65.32
MCV [§] (fl)	50.2 ± 6.38	50.6 ± 4.41	51.58 ± 7.20	51.0 ± 5.08
MCH (pg)	13.11 ± 3.79	11.35 ± 2.53	13.55 ± 0.20	12.61 ± 2.58
MCHC [¶] (g/dL)	32.87 ± 3.30	32.5 ± 4.54	33.83 ± 4.31	32.36 ± 1.45

Date represent the mean ± S.D.

^{*}WBC : White blood cell, [†]RBC : Red blood cell, [‡]HCT : Hematocrit, [§]MCV : Mean cell volume, ^{||}MCH : Mean cell hemoglobin,

[¶]MCHC : Mean cell hemoglobin concentration

Table 3. Hematological values of female after oral treatment of Benzo[a]pyrene

	control	T1	T2	T3
WBC [*] (10 ³ /μℓ)	4.19 ± 0.53	4.64 ± 0.66	4.40 ± 0.24	4.53 ± 0.27
RBC [†] (10 ⁶ /μℓ)	7.24 ± 0.70	7.70 ± 0.76	7.82 ± 1.07	7.79 ± 0.17
Hemoglobin(g/dL)	15.08 ± 1.70	15.14 ± 1.44	15.26 ± 2.50	15.62 ± 1.46
HCT [‡] (%)	45.3 ± 1.92	45.5 ± 1.85	45.4 ± 4.47	46.6 ± 2.69
Platelet(10 ³ /μℓ)	953.11 ± 130.32	952.37 ± 61.50	920.40 ± 64.63	870.30 ± 61.09
MCV [§] (fl)	43.09 ± 4.35	46.14 ± 8.18	46.85 ± 10.42	48.91 ± 12.09
MCH (pg)	17.7 ± 2.45	17.7 ± 3.81	17.8 ± 2.76	17.6 ± 3.49
MCHC [¶] (g/dL)	33.31 ± 2.17	31.70 ± 2.45	32.17 ± 3.19	33.70 ± 4.07

Date represent the mean ± S.D.

^{*}WBC : White blood cell, [†]RBC : Red blood cell, [‡]HCT : Hematocrit, [§]MCV : Mean cell volume, ^{||}MCH : Mean cell hemoglobin, [¶]MCHC : Mean cell hemoglobin concentration

하였다. 그 결과, 혈액학적 지표들은 암·수컷 모두 실험군(group T1, T2, T3)과 대조군(group control)의 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.(Table 2, 3).

3) 혈액생화학적 검사 결과

벤조피렌을 투여한 실험군(group T1, T2, T3)으로부터 혈액을 채취하여 Total protein, Albumin, Total bilirubin, ALP, AST, ALT, Creatinine, BUN, Total cholesterol, Triglyceride, Glucose의 수치를 측정하였다. 혈액생화학적 지표들의 검사에서 실험군(group

T1, T2, T3)과 대조군(group control)사이에서 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다. 이러한 결과는 암·수컷 모두에서 동일하게 나타났다(Table 4, 5).

4) 조직병리학적 검사 결과

암·수컷 부형제 대조군과 최고 용량군의 동물에 대하여 뇌, 간, 비장, 심장, 폐, 전립선, 신장, 고환, 부고환, 위, 자궁 및 난소 조직의 현미경 관찰 결과 대조군과 비교하여 2,000 mg/kg 벤조피렌을 투여한 실험군의 조직에서 유의한 차이가 없었다(Figure 3).

Table 4. Serum biochemical values of male after oral treatment of Benzo[a]pyrene

Index	control	T1 [†]	T2 ^{**}	T3 ⁺⁺
Total protein(g/dL)	5.1 ± 0.2	5.1 ± 0.2	5.2 ± 0.7	4.9 ± 0.45
Albumin(g/dL)	1.50 ± 0.38	1.50 ± 0.32	1.7 ± 0.30	1.44 ± 0.2
Total Bilirubin(mg/dL)	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.05 ± 0.03
ALP [*] (IU/L)	127.8 ± 14.9	129.2 ± 9.6	125.0 ± 9.4	124.5 ± 7.8
AST [†] (IU/L)	97.6 ± 14.0	96.5 ± 11.6	98.1 ± 8.8	89.6 ± 8.4
ALT [‡] (IU/L)	56.1 ± 7.1	55.2 ± 7.1	55.8 ± 6.9	52.5 ± 4.61
Creatinine(mg/dL)	0.55 ± 0.08	0.48 ± 0.12	0.50 ± 0.09	0.50 ± 0.08
BUN [§] (mg/dL)	14.5 ± 2.6	12.4 ± 2.73	11.4 ± 0.9	12.4 ± 0.91
Cholesterol(mg/dL)	66.3 ± 4.5	61.7 ± 10.8	65.4 ± 5.1	57.6 ± 4.1
Triglyceride(mg/dL)	158.45 ± 31.86	146.80 ± 17.39	140.95 ± 26.33	128.55 ± 19.80
Glucose(mg/L)	131.2 ± 14.3	135.54 ± 12.5	130.7 ± 19.2	133.1 ± 22.1

Date represent the mean ± S.D.

^{*}ALP : Alkaline phosphatase, [†]AST : Aspartate aminotransferase, [‡]ALT : Alanine aminotransferase, [§]BUN : Blood urea nitrogen

^{||}Control : 0 mg/kg/day

[†]T1 : 50 mg/kg/day

^{**}T2 : 300 mg/kg/day

⁺⁺T3 : 2000 mg/kg/day

Table 5. Serum biochemical values of female after oral treatment of Benzo[a]pyrene

Index	control	T1 [†]	T2 ^{**}	T3 ⁺⁺
Total protein(g/dL)	4.25 ± 0.44	4.52 ± 0.50	4.71 ± 0.40	4.98 ± 0.38
Albumin(g/dL)	3.95 ± 0.19	3.80 ± 0.33	3.87 ± 0.30	3.97 ± 0.23
Total Bilirubin(mg/dL)	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.03	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.01
ALP [*] (IU/L)	98.3 ± 11.3	111.1 ± 5.09	110.8 ± 12.3	100.5 ± 6.73
AST [†] (IU/L)	85.5 ± 9.5	82.9 ± 8.1	86.3 ± 9.2	96.5 ± 9.8
ALT [‡] (IU/L)	34.2 ± 4.9	33.2 ± 3.7	38.4 ± 6.4	33.0 ± 17.7
Creatinine(mg/dL)	0.43 ± 0.06	0.43 ± 0.07	0.47 ± 0.08	0.50 ± 0.07
BUN [§] (mg/dL)	14.4 ± 2.5	14.5 ± 2.61	13.3 ± 2.66	18.65 ± 2.87
Cholesterol(mg/dL)	95.2 ± 20.24	118.22 ± 13.71	96.9 ± 26.14	90.1 ± 29.25
Triglyceride(mg/dL)	27.2 ± 5.4	31.1 ± 6.65	33.6 ± 5.31	39.7 ± 6.90
Glucose(mg/L)	164.23 ± 23.17	168.47 ± 11.09	152.41 ± 25.44	154.57 ± 10.34

Date represent the mean ± S.D.

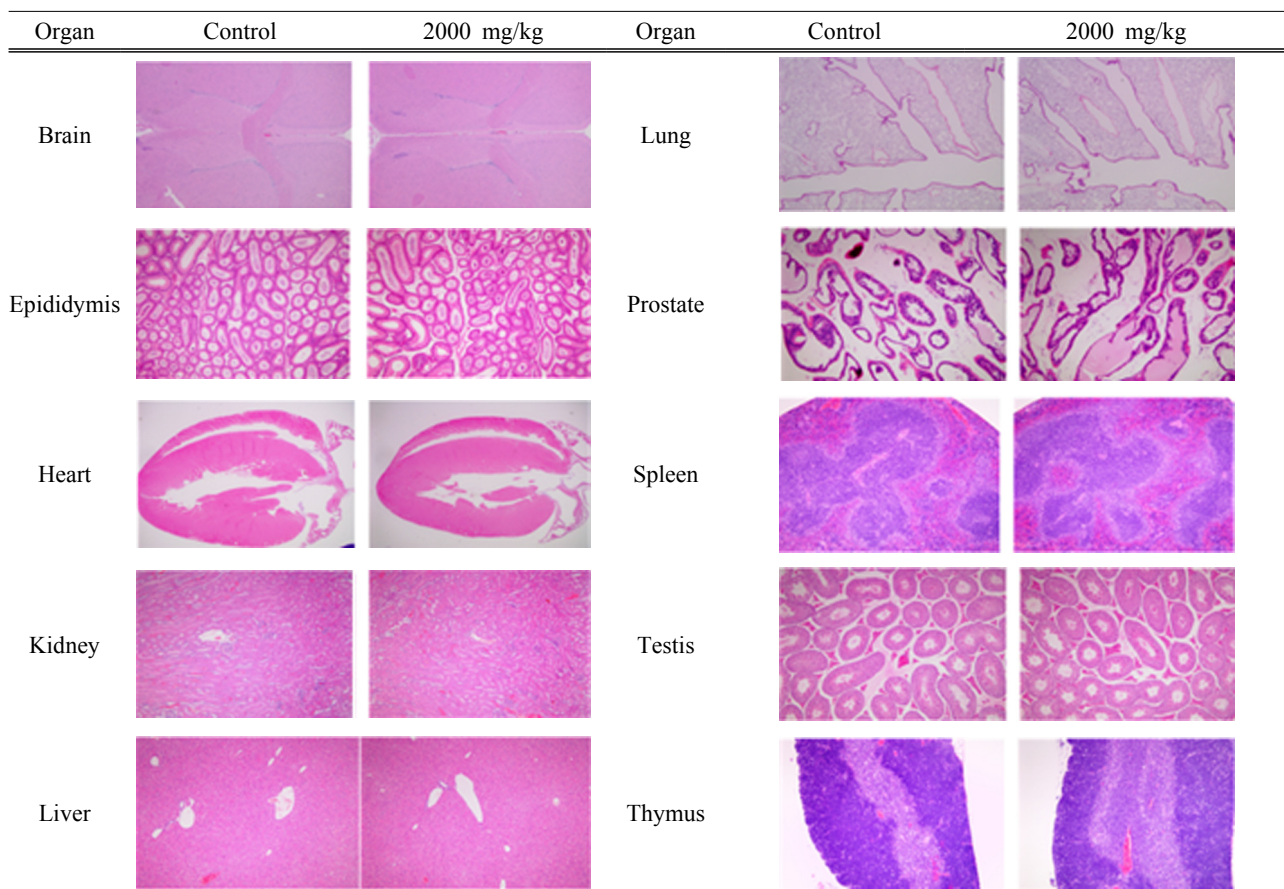
*ALP : Alkaline phosphatase, †AST : Aspartate aminotransferase, ‡ALT : Alanine aminotransferase, §BUN : Blood urea nitrogen

^{||}Control : 0 mg/kg/day

[†]T1 : 50 mg/kg/day

^{**}T2 : 300 mg/kg/day

⁺⁺T3 : 2000 mg/kg/day

**Figure 3.** Histopathological changes of the organs

IV. 고 찰

연구 결과 벤조피렌 2,000 mg/kg 투여 3일 후 항문 주위에서 설사와 관련된 오염이 관찰되었으며, 대조군 및 실험군에서 몸무게의 변화가 나타나는 것으로 측정되었다. 벤조피렌 투여에 따른 체중의 변화에 대한 다양한 결과가 보고되고 있는데 2006년 Irigaray 등에 따르면 11주령 C57BL/6 랫트에 14일 동안 0.5 mg/kg의 벤조피렌을 48시간마다 복강 내 투여한 결과 먹이 섭취량에 상관없이 벤조피렌이 지방세포 분해를 조절하는 β -adrenergic 호르몬 분비를 방해하여 체내 fat mass를 증가시킨다는 결과를 발표하였으나(Irigaray et al., 2006), 2007년 Izawa 등에 따르면 벤조피렌이 다량 함유된 디젤 입자 24.7, 74.0 및 220.0 μ g을 6주령 BALB/c 수컷 마우스에 5주간 10번 피하주사 했을 경우 벤조피렌에 의한 체중변화는 나타나지 않았다(Izawa et al., 2007). 2008년 조인호 연구결과에 따르면 벤조피렌 1.0 mg/kg 및 10.0 mg/kg을 C57BL/6 수컷 마우스에 6주간 경구 투여한 후 체중의 변화를 살펴보았는데 변화는 나타나지 않았다(Cho, 2008). 앞서 체중의 변화를 증가시킨다는 결과와 본 연구가 다른 연구 결과를 보인 것은 벤조피렌의 투여 용량, 투여 방법, 투여 시간 및 투여되는 실험군의 나이에 따라 다르게 나타날 수 있을 것으로 추정되기에 보다 통계적으로 확실한 결과를 얻기 위해서는 더 많은 실험쥐를 대상으로 연구를 수행하여야 할 것이다. Knuckles et al.(2001)은 암·수컷 F344 랫트에 벤조피렌 0, 100, 600, 1000 mg/kg을 투여하여 혈액학적 변화를 관찰하였는데 고농도 수컷들만이 백혈구의 감소와 평균 세포-헤모글로빈 농도 증가를 보였다고 하였으며, 혈중 화학성분(ALT, AST, BUN) 또는 소변의 여러 요소들(glucose, bilirubin, protein, pH, urobilinogen, nitrite, leukocytes)은 유의 있는 영향은 없다고 하였다. 다만 90일 투여기간 후 몇 가지 혈중 화학성분이 암·수 모두에서 유의 있게 감소하였는데 RBC(최대 10%), Hct(최대 12%), 헤모글로빈(최대 12%), 혈액 화학적 요소들(ALT, AST, BUN)에서는 고용량(100 mg/kg) 투여군의 수컷에서만 BUN이 유의 있게 증가하였다고 하였다. 그 외 조직학적 검사는 90일간 2개의 고용량 투여군 내 수컷에서만 신장의 비정상성을 보여주었다(Knuckles et al., 2001). 김종민 등의 연구결과에 따르면 벤조피렌 0.01 및 10.0 mg/kg을 Sprague-Dawley 1개월

령 랫트 수컷 및 수컷 차산자를 대상으로 경구 투여한 후 부신, 뇌하수체, 뇌, 간, 위장, 소장, 췌장, 비장, 신장 조직에서 노출군의 해당조직은 대조군과 비교해서 특별한 형태적 변화를 보이지 않는다고 하였으나, 폐 조직에서 벤조피렌에 노출된 폐 조직 모두에서 폐포낭(alveolar sac)의 수가 감소하는 경향을 보였고, 폐포세포의 과다증식현상이 관찰되었으며, 폐조직의 말단을 구성하는 있는 부위를 중심으로 조직학적 변화가 조사되었다고 하였다. 또한, reticulin 염색결과 reticulin 양성 조직이 벤조피렌에 노출된 폐조직에서 유의하게 증가하는 것이 관찰되었으며, 세포의 증식현상을 확인하기 위해 PCNA(Proliferating Cell Nuclear Antigen) 면역조직화학을 수행한 결과 PCNA 양성세포가 벤조피렌을 투여한 군에서 대조군에 비해 유의하게 증가한 것을 관찰할 수 있었다고 하였다. 이는 차산자에서도 동일하게 벤조피렌에 노출된 폐조직 모두에서 폐포낭의 수가 감소하는 경향을 보였으며, 폐포세포의 과다증식현상이 관찰되었다고 하였다(Kim, 2009). 이는 본 연구에서 2,000 mg/kg을 투여한 노출군 폐 조직에서 조직병리학 적 검사 결과 양-반응적인 관계는 보이지 않았다는 결과와 차이가 있는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 벤조피렌에 의한 급성 독성이 상대적으로 낮은 편이며, 특히 혈액요소와 장기에 영향을 주고 암컷보다는 수컷에서 더 영향을 끼친다고 할 수 있다. 수컷에서만 일어난 신장의 이상은 오직 신장 기능손상의 지표일지도 모르며 벤조피렌에 대한 내성의 성별 차이를 입증해 준다고 할 수 있다. 본 연구는 의미는 벤조피렌에 대한 급성 독성시험 결과를 제시한 것으로 인체에 유해한 영향을 미치지 않는 최대 투여량(NOEL), 벤조피렌에 대한 독성 참고치(RfD) 및 벤조피렌의 허용기준 등 기존의 단위투여독성시험 결과와 비교, 고찰하고 이를 바탕으로 시험결과의 의미를 부여하는 것이 중요하다고 생각되어 진다.

References

- Cho YH. The role of polycyclic aromatic hydrocarbons in epigenetic multi-transgenerational reproductive problems. Ministry of food and drug safety.; 2008. p. 12-15
- Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. J Natl Cancer Inst. 1999(91):1194-1210
- Hoyer PB. Reproductive toxicology: current and future

- directions. *Biochem Pharmacol* 2001(62):1557-1564
- International Agency for Research on Cancer(IARC). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 1991. p. 43-53
- International Agency for Research on Cancer(IARC). Polynuclear aromatic compounds part I : chemical environmental and experimental data. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 1983. vol. 32
- Irigaray P, Ogier V, Jacquenet S, Notet V, Sibille P, et al. Benzo[a]pyrene impairs beta-adrenergic stimulation of adipose tissue lipolysis and causes weight gain in mice. A novel molecular mechanism of toxicity for a common food pollutant. *FEBS J.* 2006;273(7): 1362-1372
- Ishiwatani R, Takahisa H. Organic geochemistry of a 200-meter core sample from lake biwa(II) vertical distribution of mono and dicarboxylic acids and polynuclear aromatic hydrocarbons. *Proc. jpn acad.* 1975(51):436
- Izawa H, Kohara M, Watanabe G, Taya K, Sagai M. Diesel exhaust particle toxicity on spermatogenesis in the mouse is aryl hydrocarbon receptor dependent. *J Reprod Dev.* 2007;53(5):1069-1078
- Jerina, D. M, and Daly, J. W. Oxidation at Carbon. In: D. V. Parke and R. L. Smith(eds.), *Drug Metabolism*, PP. 15-33. London : Talyor and Francis,1976
- Kim CM. Epigenetic actions of Benzo[a]pyrene on transgenerational effect in reproduction. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation. 2009
- Kuller LH, Garfinkel L, Correa P, Haley N, Hoffmann D, Preston-Martin S, Sandler D 1986 Contribution of passive smoking to respiratory cancer. *Environ Health Perspect* 70:57-69
- Lewtas J, Walsh D, Williams R, Dobias L. Air pollution exposure-DNA adduct dosimetry in humans and rodents: evidence for non-linearity at high doses. *Mutat Res.* 1997(378):51-63
- Maurice E.Knuckles, Frank I, Aramandla R. Acute and subchronic oral toxicities of benzo[a]pyrene in F-344 rats. *Toxicological Sciences* 2001(61):382-388
- Phillips DH. Fifty years of benzo[a]pyrene. *Nature.* 1983 (303):468-472
- Santodonato J. Review of the estrogenic and antiestrogenic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons: relationship to carcinogenicity. *Chemosphere.* 1997(348):35-48
- Thakker D, yagi H, Nordqvist M, Lehr R, Levin WW, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and carcinogenesis: the bay-region theory. In *Chemical Induction of cancer*. New York academic press. 1982. p. 727-747
- Van de Walle I, De Smedt M, Taghon T, De Smet G, Leclercq G. Notch signaling induces cytoplasmic CD3 epsilon expression in human differentiating NK cells. *Blood.* 2006(110):2696-2703