

수컷 랫드(Sprague-Dawley)에서 2-부톡시에탄올(2-butoxyethanol)의 단회 기도내 투여에 따른 급성 독성시험

김현영^{1,2} · 김인현^{1,2} · 김민석¹ · 김성환^{1**} · 이규홍^{1,3*}

¹안전성평가연구소, ²전남대학교, ³과학기술연합대학원대학교

Acute Toxicity Study of the 2-butoxyethanol by Intratracheal Instillation in Male Sprague-Dawley Rats

Hyeon-Young Kim^{1,2} · In-Hyeon Kim^{1,2} · Min-Seok Kim¹ · Sung-Hwan Kim^{1**} · Kyuhong Lee^{1,3*}

¹Jeonbuk Branch Institute, Korea Institute of Toxicology, Jeongup 56212, Republic of Korea

²College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 61186, Republic of Korea

³Department of Human and Environmental Toxicology, University of Science & Technology, Daejeon 34113, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives: The present study aimed to evaluate the potential toxicity of 2-butoxyethanol after intratracheal instillation in male rats.

Methods: In order to calculate median lethal dose (LD₅₀) of 2-butoxyethanol using Probit analysis with SAS program, the 2-butoxyethanol was administered with dose levels of 0, 101.64, 203.28 and 406.56 mg/kg by once intratracheal instillation to male rats. During the test period, clinical signs, mortality, body weights, organ weights, hematology, and serum biochemistry were examined. At the end of 14 days observation period, all animals were sacrificed and gross finding and histopathological examination were performed.

Results: All animals of 406.56 mg/kg group died within 2 weeks after the administration of 2-butoxyethanol. Treatment-related clinical signs, gross observation and histopathological changes (mucous cell hyperplasia, alveolar macrophage aggregation, and hemorrhage) of lung exhibited an increased in 2-butoxyethanol treated groups in a dose dependent manner. However, there were no changes in the organ weights, hematology and serum biochemistry, and histopathology of any other organ except lung.

Conclusions: On the basis of the results, it was concluded that a single intratracheal instillation of 2-butoxyethanol in male Sprague-Dawley rats resulted in some adverse effects on mortality, clinical sign, and histopathology in the lung. In the experimental conditions, the LD₅₀ of 2-butoxyethanol was considered to be 287.2 mg/kg and lung was founded to be the target organ of 2-butoxyethanol.

Key words: acute toxicity, 2-butoxyethanol, intratracheal instillation, LD₅₀, pulmonary toxicity

1. 서 론

2-부톡시에탄올(2-butoxyethanol, butyl cellosolve,

butyl glycol, CAS No.: 111-76-2)은 무색의 액상 화학물질이며, 밀도 0.902 g/cm³ (25 °C), 분자량 118.17 g/mol, 녹는 점 -70 °C, 끓는 점 171.2 °C, 발화점

*Corresponding author: Kyuhong Lee, Tel: +82-63-570-8740, E-mail: khlee@kitox.re.kr

**Co-corresponding author: Sung-Hwan Kim, Tel: +82-63-570-8757, E-mail: sunghwan.kim@kitox.re.kr

Jeonbuk Branch Institute, Korea Institute of Toxicology, Jeongup 56212, Republic of Korea

Received: October 28, 2021, Revised: November 27, 2021, Accepted: December 19, 2021

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

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

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

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

 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.

245 °C, 증기압 0.76 mmHg (20 °C) 및 n-옥탄올/물 분배계수 0.81을 특징으로 하고, 알코올과 에테르, 유기 용제 및 광물성 기름에 녹으며 물에도 잘 녹는다. 2-부톡시에탄올은 알루미늄 코팅제와 에나멜, 바니시, 니스 제거제 및 라텍스 페인트와 같은 표면 코팅제의 용매제로 널리 사용되며, 접착제와 세정제, 공업용 도료, 농약, 제초제, 탈색약, 염색약, 직물 염료 및 화장품으로도 사용된다(NIOSH, 1991; Zhu et al., 2001; IWMB, 2003; HSDB, 2005). 미국 산업안전보건연구소(National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH)의 직업적 노출조사(National Occupational Exposure Survey, NOES)에 따르면 미국에서 1981~1983년도 2-부톡시에탄올에 노출된 노동자의 수는 약 2백만 명이라고 보고되었다(NIOSH, 1989; ATSDR, 1998; HSDB, 2015). 2-메톡시에탄올(2-methoxyethanol) 또는 2-에톡시에탄올(2-ethoxyethanol)은 2-부톡시에탄올과 유사한 짧은 사슬 글리콜에테르류(shorter chain glycol ethers)지만 생식독성으로 인해 사용이 감소하였으며(Ghanayem et al., 1990; NIOSH, 1991), 대체물로서 2-부톡시에탄올의 사용은 증가되었고 생산량 또한 증가하는 추세이다(NTP, 2000). 2-부톡시에탄올은 1992년 미국에서 18만 톤, 유럽에서 15만 톤이 생산되었다고 보고되었다(SCHER, 2008; OECD, 2012). 또한, 전 세계적으로 2-부톡시에탄올은 20만~50만 톤이 생산되며, 생산량 중 약 75%는 도료 및 코팅에, 약 18%는 세정제에 사용된다고 보고되었다(Rebsdats & Mayer, 2001; NLM, 2014). 광범위한 2-부톡시에탄올의 사용으로 인하여 2-부톡시에탄올을 이용한 제품이 늘어남에 따라 2-부톡시에탄올에 노출되는 근로자의 수가 증가할 것으로 사료되며, 다양한 환경을 통하여 노출된 2-부톡시에탄올은 피부접촉뿐만 아니라 눈과 흡입을 통해 인체에 유입될 가능성이 있다.

한국산업안전보건공단(Korea Occupational Safety and Health Agency, KOSHA)에서 제공하고 있는 물질안전보건자료(Material Safety Data Sheet, MSDS)에 따르면 2-부톡시에탄올은 호흡기 자극과 피부 자극, 심한 눈 자극 및 발암 가능성을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 2-부톡시에탄올에 중독된 사람은 호흡곤란과 혼수상태, 대사성 산증, 저칼륨 혈증, 헤모글로빈 감소, 혈색소뇨증 및 저혈압과 같은 심각한 독성이 유발된다고 보고되었다(Rambourg-Schepens et al., 1988; Gijzenbergh et al., 1989; Litovitz et al., 1991;

Bauer et al., 1992). 또한, F344 랫드와 B6C3F1 마우스에게 2년간 2-부톡시에탄올을 흡입 노출시킨 결과 F344 암컷 랫드에서 부신 수질의 양성 및 악성 갈색세포종과 B6C3F1 수컷 마우스에서 간세포암종과 간의 혈관육종이 관찰되었다(NTP, 2000). 2-부톡시에탄올은 2006년 국제 암 연구 기관(IARC)에서 그룹 C (possible human carcinogen)로, 2009년 미국 환경보호청(United States Environmental Protection Agency, USEPA)에서 2-부톡시에탄올은 그룹3(not classifiable as to carcinogenicity to humans)로 분류되었다(USEPA, 2009).

이전 연구결과에 따르면 랫드 급성 흡입노출 반수치사량(LC₅₀)은 2.2 mg/L (4시간), 90일 동안의 반복 흡입노출(6시간/일, 5일/주)결과 최대무작용량(no observed effect level, NOEL)은 0.37 mg/L라고 보고되었다(Bushy Run Research Center, 1980; Dodd et al., 1983). 미국정부산업위생전문가협의회(American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)의 노출기준(Threshold Limit Value, TLV)에 따르면 사람에게 허용되는 2-부톡시에탄올의 1일 8시간 시간 가중 평균 농도(time weighted average, TWA)는 97 mg/m³로 보고되었고 우리나라 현행 기준은 ACGIH의 TLV에 근거하여 자극증상과 전신장애를 일으키지 않는 120 mg/m³로 보고되었다. 우리나라는 위해우려제품 지정 및 안전·표시기준 고시를 개정하여(환경부 공고 제2016-254호) 2-부톡시에탄올이 함유되어있는 생활화학제품에 대하여 함유량과 관계없이 제품의 겉면에 명칭과 기능 및 함유량을 기재하고 독성이 있음을 표시하는 등 안전기준을 강화하였다. 또한, 한국산업안전보건공단은 산업안전보건법(제98조 제2호)에 따라 유해인자에 노출되는 업무에 종사하는 근로자의 건강관리를 위해 2-부톡시에탄올을 특수건강진단대상물질로 등록하였다. 이외에도 2-부톡시에탄올은 노출기준설정물질과 관리대상유해물질 및 작업환경측정대상물질로 등록되었을 만큼 작업환경 관리나 취급 부주의 시 주로 흡입과 피부를 통하여 노출이 이루어지지만, 2-부톡시에탄올의 흡입으로 인한 독성학적 정보는 매우 제한적으로 알려져 있고 흡입에 의한 유해성 조사 및 평가 연구는 미흡한 실정이다.

흡입독성시험 수행 시 시험물질을 고농도로 노출하는 과정에서 작업자의 안전성을 확보하기 위하여 흡입노출 시험에 대한 전문적인 지식과 기술, 다양한 시설 및 장비가 요구되며, 이러한 이유로 고비용의 문제가 발생한

다. 최근 보고된 연구에서는 흡입독성시험에 비해 상대적으로 수행이 간편하지만 동물에게 노출되는 시험물질의 양을 정확하게 산출 가능하여 용량상관성의 규명이 용이한 기도내 투여법이 흡입독성시험을 대체하는 방법으로 널리 사용되고 있다(Kim et al., 2018a; Kim et al., 2018b; Kim et al., 2018c; Kim et al., 2018d). 본 연구는 Kim et al.(2019) 연구를 참고하여 기도내 투여법을 선택하였으며, 소비자 및 근로자 및 국민의 건강보호를 위하여 2-부톡시에탄올에 대한 안전성 평가의 일환으로 good laboratory practice(GLP) 인증기관을 통해 수행하였다. 또한, 흡입 노출 시 발현될 수 있는 급성독성 잠재력과 표적 기관(target organ) 및 반수치사농도(LD₅₀)를 조사하기 위하여 2-부톡시에탄올을 시험동물에게 단회 기도내 투여 후 사망유무와 일반증상 관찰, 체중 및 장기중량 변화, 혈액학적 변화, 혈청생화학적 검사 및 병리조직학적 검사를 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시약 및 실험재료

본 실험에 사용한 2-부톡시에탄올(CAS No. 111-76-2)은 Sigma-Aldrich Co.(Saint Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 용량 설정 및 투여방법

랫드에서 2-부톡시에탄올의 단회 흡입노출 반수치사농도(LC₅₀)은 2.2 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.

$$406.56 \text{ mg/kg} = (2.2 \text{ mg/L} \times 0.154 \text{ L/min} \times 240 \text{ min} \times 1) / (0.2 \text{ kg}) \quad (3)$$

2-부톡시에탄올의 흡입노출 반수치사농도(LC₅₀)는 체중 kg당 406.56 mg을 투여한 농도와 같았으며, 그러므로 본 시험에서는 치사량과 급성독성에 대한 용량반응을 확인할 수 있도록 고용량을 406.56 mg/kg으로 설정하였고, 공비 2를 적용하여 203.28 mg/kg 및 101.64 mg/kg 투여군과 부형제 대조군(vehicle control, 0 mg/kg)을 추가하였다. 각 시험동물은 아이프란(isoflurane, 하나제 약주식회사, 화성, 한국)으로 약 2분동안 마취한 후, 자동 비디오 점적기(automatic video instillator)를 사용하여(Kim et al., 2018a; Kim et al., 2018b; Kim et al., 2018c; Kim et al., 2018d; Kim et al., 2019) 저용량, 중간용량, 고용량군에 각각 2-부톡시에탄올 101.64, 203.28 및 406.56 mg/kg를 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 사용하였다. 동물실의 사육환경은 온도 22 \pm 3 $^{\circ}$ C, 상대습도 50 \pm 20%, 조명시간 12시간/일 (08:00 점등~20:00 소등), 환기횟수 10~20회/시간 및 조도 150~300 Lux로 설정된 사육환경에서 스테인레스제 망사육상자(255W \times 465L \times 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. 시험동물은 4개의 군으로 구성하였으며, 군당 6마리의 동물을 사용하였다. 각 군의 시험동물은 투여 15일에 희생시켰다. 상기 시험들은 미국 실험동물관리인증협회(American Association

for Accreditation of Laboratory Animal Care, AAALAC)로부터 인증된 시설에서 수행되었고, 모든 시험법은 기관내 동물관리사용위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)에 의해 검토되었다(IACUC #1704-0157).

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

2-부톡시에탄올 투여 15일에 모든 생존동물은 아이프란을 사용하여 마취시키고 개복하여 후대정맥에서 채혈을 실시한 후, 복대동맥 및 후대정맥을 절단하여 방혈치사 시켰다. 채혈 후 전 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였으며, 시험동물의 폐와 간, 신장, 심장 및 비장을 적출하여 습중량을 측정하고, 부검시 체중에 대한 상대장기중량(organ-to-body weight ratio, %)을 계산하였다.

6. 혈액학적 검사

채혈하기 전 모든 시험동물에 대하여 약 16시간 이상 절식을 실시하였다. 부검 시 채혈한 혈액 중 약 0.5 mL을 항응고제인 EDTA-2K가 들어있는 CBC bottle (vacutainer 3 ml, BD, USA)에 주입한 후 자동혈액분석기(ADVIA 2120, SIEMENS, USA)를 이용하여 백혈구(white blood cell count, WBC)와 적혈구(red blood cells, RBC), 호중구(neutrophils, NEU), 림프구(lymphocytes, LYM), 호산구(eosinophils, EOS), 호염기구(basophils, BAS), 대형비염색성세포(large unstained cells, LUC), 망상적혈구수(reticulocyte count, RET), 혈소판수(platelet count, PLT), 헤마토크리트(hematocrit, HCT), 헤모글로빈(hemoglobin, HGB), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH) 및 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)를 측정하였다.

7. 혈청생화학적 검사

채혈하기 전 모든 시험동물에 대하여 약 16시간 이

상 절식을 실시하였다. 부검 시 채혈한 혈액 중 약 1.5 mL의 혈액을 clot activator가 들어있는 5 mL 용량의 vacutainer tube (BD, USA)에 주입하고 약 30분 이상 상온에 방치하여 응고시킨 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 분리된 혈청은 혈액생화학분석기(TBA 120 FR, Toshiba Co., Japan)를 이용하여 아스파라진산 아미노전이효소(aspartate aminotransferase, AST)와 알라닌 아미노전이효소(alanine aminotransferase, ALT), 알칼리성 인산가수분해효소(alkaline phosphatase, ALP), 감마 글루타미드전이효소(gamma glutamyl transferase, GGT), 혈중요소질소(blood urea nitrogen, BUN), 크레아티닌(creatinine, CRTN), 혈당(glucose, GLU), 총콜레스테롤(total cholesterol, T-CHO), 총빌리루빈(total bilirubin, T-BIL), 총단백질(total protein, TP), 알부민(albumin, ALB), 알부민글로불린비(albumin globulin ratio, A/G), 크레아틴 인산효소(creatine phosphokinase, CPK), 중성지방(triglycerides, TG), 칼슘(calcium, Ca), 무기인산(inorganic phosphate, IP), 인지질(phospholipid, PL), 나트륨(sodium, Na), 칼륨(potassium, K) 및 염소(chlorine, Cl) 농도를 측정하였다.

8. 병리조직학적 검사

폐와 신장, 심장, 비장 및 간은 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 광학현미경(DM3000 LED; Leica, Wetzlar, Germany)으로 조직이상 유무를 관찰하였다.

9. 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), 406.56 mg/kg 투여군에서 투여 2일에 2례, 투여 3일에 1례, 투여 5일에 1례, 투여 11일에 1례, 그리고 투여 13일에 1례가 사망하였다. 시험기간 중 일반증상을 관찰한 결과는 Table 1에 요약하였다. 시험물질의 투여와 관련하여 헐떡거림(panting breath)과 천명(noisy respiration), 야윈(thin appearance) 및 사망(death) 소견들이 406.56 mg/kg 투여군에서 관찰되었다. 시험기간 중 동물의 체중을 측정된 결과(자료 미제시), 대조군 동물은 정상적인 체중증가를 나타내었고, 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군에서도 대조군과 유사한 체중증가를 나타내었다.

2. 육안적 부검소견 및 장기중량

투여 15일에 모든 생존동물을 부검하여 육안적 부검소견을 관찰한 결과(자료 미제시), 203.28 mg/kg 투여군에서 폐의 변색(discoloration) 1례가 관찰되었다.

반면, 대조군과 101.64 mg/kg 투여군의 동물에서는 시험물질의 투여에 기인된 어떠한 육안적 소견도 관찰되지 않았다. 부검 시 주요 장기의 무게를 측정된 결과(Table 2), 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군에서는 대조군과 비교하였을 때 측정된 모든 장기에서 통계학적으로 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다.

3. 혈액학적 및 혈청생화학적 검사

혈액학적 검사결과(Table 3), 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군에서 백혈구(WBC) 수가 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 증가하였다($p < 0.01$). 혈청생화학적 검사결과(Table 4), 101.64 mg/kg 투여군에서 총빌리루빈(T-BIL) 및 알부민(ALB) 수치가 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였다(각각 $p < 0.01$, $p < 0.05$). 203.28 mg/kg 투여군에서는 아미노전이효소(AST)와 크레아틴 인산효소(CPK) 및 염소(CI) 수치가 대조군에 비해 유의성있게 증가한 반면(각각 $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$), 혈당(GLU)과 총빌리루빈(T-BIL), 알부민(ALB) 및 칼슘(Ca) 수치가 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였다(각각 $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.05$).

Table 1. Clinical signs after intratracheal instillation of 2-butoxyethanol in male rats

Parameters	Groups treated with 2-butoxyethanol (mg/kg)			
	0	101.64	203.28	406.56
No. of rats with clinical signs	6a	6	6	6
Appears normal	6	6	6	0
Panting breath	0	0	0	3
Noisy respiration	0	0	0	2
Thin appearance	0	0	0	3
Death	0	0	0	6

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

Table 2. Changes in absolute weights after intratracheal instillation of 2-butoxyethanol in male rats

Parameters	Groups treated with 2-butoxyethanol (mg/kg)			
	0	101.64	203.28	406.56
No. of rats	6	6	6	6 ^a
Lung (g)	1.458±0.124 ^b	1.461±0.089	1.462±0.073	-
Liver (g)	16.513±1.810	17.379±0.054	0.829±0.060	-
Spleen (g)	0.775±0.134	0.810±0.072	0.744±0.069	-
Heart (g)	1.216±0.073	1.260±0.069	1.189±0.086	-
Kidneys (g)	3.127±0.163	3.105±0.273	2.913±0.248	-

^a Six animals in the 406.56 mg/kg dose group died within 2 weeks, for those rats no data were obtained.

^b Values are presented as mean±SD.

Table 3. Hematological values after intratracheal instillation of 2-butoxyethanol in male rats

Parameters	Groups treated with 2-butoxyethanol (mg/kg)			
	0	101.64	203.28	406.56
No. of rats	6	6	6	6 ^a
RBC (10 ⁶ /μL)	7.34±0.278 ^b	7.04±0.275	7.18±0.420	–
HGB (g/dL)	14.6±0.41	14.2±0.49	14.6±0.51	–
HCT (%)	46.8±1.42	45.1±1.26	46.5±1.57	–
MCV (fL)	63.7±1.27	64.1±1.57	65.0±2.32	–
MCH (pg)	19.9±0.42	20.2±0.56	20.3±0.80	–
MCHC (g/dL)	31.2±0.45	31.5±0.27	31.3±0.58	–
RET% (%)	4.12±0.590	4.29±0.318	3.90±0.506	–
RETA (10 ⁹ /L)	301.7±35.96	301.6±23.98	278.7±23.84	–
PLT (10 ³ /μL)	994.7±70.54	971.3±108.69	992.7±69.42	–
WBC (10 ³ /μL)	7.84±1.198	10.27±0.545**	10.49±1.325**	–
NEU (%)	12.4±2.14	12.7±1.53	14.3±4.89	–
LYM (%)	80.7±3.15	81.0±1.61	79.6±4.54	–
EOS (%)	1.6±0.41	1.5±0.34	1.7±0.43	–
MON (%)	1.4±0.66	1.0±0.33	1.1±0.48	–
BAS (%)	0.5±0.20	0.4±0.13	0.5±0.19	–
LUC (%)	3.3±1.20	3.5±0.66	2.8±0.84	–

^a Six animals in the 406.56 mg/kg dose group died within 2 weeks, for those rats no data were obtained.

^b Values are presented as mean±SD.

** $p < 0.01$, compared with the vehicle control

Abbreviations: RBC, red blood cells; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RET%, reticulocyte count (%); RETA, reticulocyte count (absolute); PLT, platelet count; WBC, white blood cell count; NEU (%), neutrophils (%); LYM (%), lymphocytes (%); EOS (%), eosinophils (%); MON (%), monocytes (%); BAS (%), basophils (%); LUC (%), large unstained cells (%)

Table 4. Serum biochemical values after intratracheal instillation of 2-butoxyethanol in male rats

Parameters	Groups treated with 2-butoxyethanol (mg/kg)			
	0	101.64	203.28	406.56
No. of rats	6	6	6	6 ^a
AST (IU/L)	106.2±10.53b	99.4±6.89	129.7±11.25**	–
ALT (IU/L)	47.4±7.73	48.6±2.69	52.6±6.22	–
ALP (IU/L)	1271.1±193.21	1109.2±155.53	1320.6±219.54	–
GGT (IU/L)	0.33±0.264	0.37±0.227	0.40±0.253	–
BUN (mg/dL)	19.4±1.63	19.9±1.76	20.0±1.80	–
CRTN (mg/dL)	0.53±0.053	0.54±0.034	0.53±0.056	–
GLU (mg/dL)	178.5±18.23	156.1±28.51	133.3±7.76**	–
T-CHO (mg/dL)	72.2±11.30	71.5±13.75	65.7±5.39	–
T-BIL (mg/dL)	0.065±0.0094	0.043±0.0113**	0.046±0.0099*	–
TP (g/dL)	6.31±0.110	6.23±0.230	6.12±0.151	–
ALB (g/dL)	4.23±0.032	4.12±0.097*	4.08±0.068**	–
A/G (ratio)	2.04±0.099	1.96±0.094	2.00±0.101	–

Table 4. Continued

Parameters	Groups treated with 2-butoxyethanol (mg/kg)			
	0	101.64	203.28	406.56
CPK (IU/L)	479.3±57.71	427.0±74.14	689.0±117.11**	-
TG (mg/dL)	113.4±41.82	131.9±30.46	108.1±21.38	-
Ca (mg/dL)	11.88±0.105	11.74±0.350	11.37±0.304*	-
IP (mg/dL)	11.46±0.371	11.30±0.642	11.73±0.842	-
PL (mg/dL)	136.5±14.77	136.2±14.66	125.8±5.31	-
Na (mmol/L)	143.0±0.63	143.5±1.05	144.2±1.60	-
K (mmol/L)	7.24±0.708	7.11±0.308	6.57±0.858	-
Cl (mmol/L)	96.0±0.89	97.3±1.51	97.7±0.82*	-

^a Six animals in the 406.56 mg/kg dose group died within 2 weeks, for those rats no data were obtained.

^b Values are presented as mean±SD.

*, ** $p < 0.05$, $p < 0.01$, compared with the vehicle control

Abbreviations: AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; GGT, gamma glutamyl transferase; BUN, blood urea nitrogen; CRTN, creatinine; GLU, glucose; T-CHO, total cholesterol; T-BIL, total bilirubin; TB, total protein; ALB, albumin; A/G, albumin globulin ratio; CPK, creatine phosphokinase; TG, triglycerides; Ca, calcium; IP, inorganic phosphate; PL, phospholipid; Na, sodium; K, potassium; Cl, chlorine

Table 5. Histopathological findings after intratracheal instillation of 2-butoxyethanol in male rats

Findings	Grades	Groups treated with 2-butoxyethanol (mg/kg)			
		0	101.64	203.28	406.56
No. of rats		6	6	6	6 ^a
Lung	-	6	6	4	-
Mucous cell hyperplasia	+	0	0	1	-
	++	0	0	1	-
Alveolar macrophage aggregation	-	6	6	2	-
	+	0	0	4	-
Hemorrhage	-	6	6	5	-
	+	0	0	1	-

^a Six animals in the 406.56 mg/kg dose group died within 2 weeks, for those rats no data were obtained.

Grades are as follows: - (normal), + (minimal), ++ (slight), +++ (moderate), ++++ (marked), +++++ (severe)

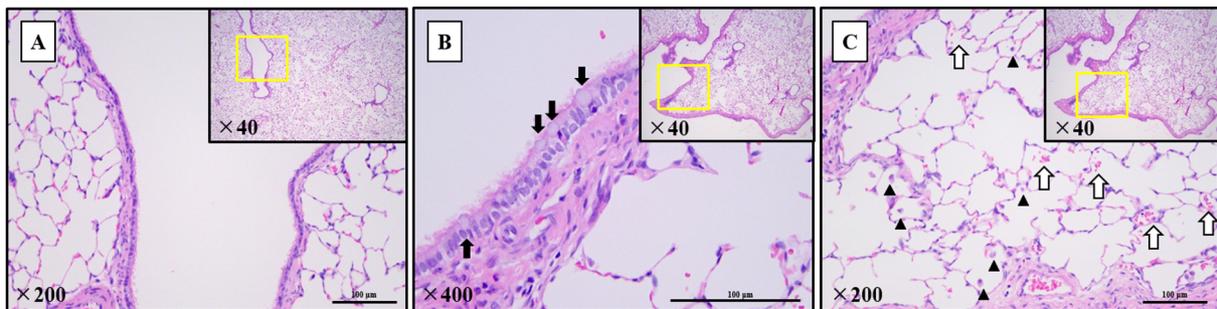


Figure 1. Histopathological analysis of lung tissue after 2-butoxyethanol treatment. The image A is representative of lung tissue of rats from control group treated with distilled water by intratracheal instillation. The images B and C are representative photographs of lung sections from the middle-dose (203.28 mg/kg of 2-butoxyethanol) group. Black arrow indicate mucous cell hyperplasia, black arrow head indicate alveolar macrophage aggregation, and white arrow indicate hemorrhage. Tissues were stained with hematoxyline & eosin, as indicated in materials and methods. Scale bars represents 100 μ m.

4. 병리조직학적 소견

부검 시 육안적 소견이 관찰된 폐를 적출하여 조직학적 이상 유무를 관찰한 결과(Table 5, Figure 1), 대조군과 101.64 mg/kg 투여군에서는 어떠한 조직학적 이상 소견도 관찰되지 않았으나 203.28 mg/kg 투여군의 폐에서 점액세포 증생(mucous cell hyperplasia) 2례와 폐포 대식세포 응집(alveolar macrophage aggregation) 4례 및 출혈(hemorrhage) 1례가 관찰되었다. 신장과 간, 심장 및 비장에서는 어떠한 변화도 관찰되지 않았다.

IV. 고 찰

본 연구는 2-부톡시에탄올을 시험동물에게 기도내 투여하여 흡입독성을 연구함으로써 2-부톡시에탄올을 사용하는 소비자와 근로자 및 국민의 건강보호를 위한 기초자료와 유해성 평가 기초자료를 생산하고자 하였다.

2-부톡시에탄올의 급성독성을 조사하기 위하여 수컷 랫드에게 0, 101.64, 203.28 및 406.56 mg/kg 용량으로 단회 기도내 투여 후 일반증상과 체중, 육안소견, 장기중량, 혈액학적 검사, 혈청생화학적 검사 및 병리조직학적 변화를 관찰하였다. 시험결과, 2-부톡시에탄올의 단회 기도내 투여는 일반증상과 사망률의 증가 및 폐의 병변 발생을 초래하는 것으로 확인되었다. 본 시험에서 Probit 분석방법을 통하여 관찰된 2-부톡시에탄올의 단회 기도내 투여 반수치사농도(LD₅₀)는 287.2 mg/kg이었으며 Miller & Tainter(1944)와 Randhawa(2009)가 발표한 문헌을 참고하여 계산하였다. 2-부톡시에탄올의 단회 기도내 투여 반수치사농도(LD₅₀)를 Alexander et al.(2008)에 의하여 투여농도(mg/kg)를 흡입노출농도(mg/L)로 환산하면 1.55 mg/L(4시간)으로 산출된다. Bushy Run Research Center(1980)에서 보고된 2-부톡시에탄올의 단회 흡입노출 반수치사농도(LC₅₀) 2.2 mg/L(4시간)과 본 시험에서의 반수치사농도(LC₅₀)이 상이한 이유는 투여 방법 차이에 기인된 것으로 사료된다.

일반증상 관찰 시, 2-부톡시에탄올 406.56 mg/kg 투여군에서 험떡거림과 천명 및 야침이 관찰되었으며, 기도내 투여 13일 안에 6마리 모두 사망하였다. 또한 2-부톡시에탄올 406.56 mg/kg 투여 후 사망한 동물의 육안적 부검소견 관찰 결과, 폐의 변색(discoloration)이 일부 개체에서 관찰되었다(자료 미제시). Bushy Run Research Center(1980)에서 발표

된 연구결과에 따르면 F344 랫드에 2-부톡시에탄올을 202, 523 및 867 ppm(약 0.99, 2.55 및 4.23 mg/L)으로 4시간동안 단회 전신 흡입노출 결과, 얇은 호흡(shallow breathing)이 관찰되었으며 523 ppm(약 2.55 mg/L) 노출군에서 6마리 중 3마리가, 867 ppm(약 4.23 mg/L) 노출군에서 6마리 모두 흡입노출 14일 안에 사망하였다. 또한, Raymond et al.(1998)과 IARC(2006)가 발표한 연구결과에 따르면 호흡기를 통하여 2-부톡시에탄올에 노출된 근로자에게 눈과 호흡기 자극, 심한 호흡곤란 등이 관찰되었고 증상은 3일간 지속되었다. 본 시험의 406.56 mg/kg 투여군에서 관찰된 일반증상 및 사망률은 이전 연구결과와 유사하며, 일반증상과 육안적 부검소견결과가 일치하고 독성증상이 현저하게 나타난 고용량군에서 관찰된 것으로 보아 시험물질에 의한 독성학적 영향으로 판단된다.

랫드에 2-부톡시에탄올을 기도내 투여한 결과 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군은 대조군과 비슷한 체중증가를 나타내었지만 406.56 mg/kg 투여군은 일반증상으로 야침이 관찰되었고 체중이 감소되었다. Dodd et al.(1983)의 연구결과에 따르면 F344 랫드에 2-부톡시에탄올을 202, 523 및 867 ppm(약 0.99, 2.55 및 4.23 mg/L)으로 4시간동안 단회 전신 흡입노출 결과 노출 첫날 523 및 867 ppm 노출군에서 유의적인 체중감소가 관찰되었고 체중감소는 노출 7~14일 사이에 정상 체중으로 회복되었다. 화학물질에 대한 일반독성평가 시, 체중의 변화는 독성영향에 대한 민감한 표지자로서 잘 알려져 있으며(Kim et al., 2004a; Kim et al., 2004b), 본 시험에서 406.56 mg/kg 투여농도는 2.2 mg/L(4시간) 흡입노출량을 환산한 값으로 본 시험결과와 이전 연구결과는 유사한 경향을 나타내었다. 따라서 2-부톡시에탄올 406.56 mg/kg 투여군에서 관찰된 체중감소는 시험물질에 의한 독성학적 반응으로 판단된다.

2-부톡시에탄올 기도내 투여 15일에 부검 시 203.28 mg/kg 투여군에서 관찰된 폐의 변색(1례)은 빈도수는 낮으나 2-부톡시에탄올 406.56 mg/kg 투여 후 사망한 동물에서 동일한 소견이 관찰되었고 병리조직학적 검사 결과와 일치하기 때문에 시험물질에 의한 것으로 사료된다.

부검 시 폐와 간, 비장, 심장 및 신장의 중량 측정 결과 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교했을 때 통계학적으로 유의성있는 변화는 관찰되지

않았고 Dodd et al.(1983)의 연구결과 또한 F344 랫드에 0, 5, 25 및 75 ppm의 2-부톡시에탄올을 90일 동안의 반복 흡입노출(6시간/일, 5일/주) 후 신장과 간, 폐 및 고환의 노출 관련 증량 변화는 관찰되지 않았다.

혈액학적 검사 결과 2-부톡시에탄올 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군에서 대조군 대비 백혈구(WBC) 수의 유의성있는 차이가 용량의존적으로 관찰되었다. 하지만 백혈구(WBC) 수와 관련된 다른 항목에서 일치하는 변화가 없었고 정상범위 수준에서의 차이로서 독성학적으로 의미있는 변화는 아닌 것으로 사료된다(Wolford et al., 1986; Kang et al., 1995).

혈청생화학적 검사 결과 대조군 대비 2-부톡시에탄올 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군에서 총빌리루빈(T-BIL) 수치의 감소와 2-부톡시에탄올 203.28 mg/kg 투여군에서 아미노전이효소(AST)와 크레아틴 인산효소(CPK) 수치의 증가가 관찰되었지만 이는 용량의존적인 변화가 아니며 관련된 다른 항목에서 일치하는 변화가 관찰되지 않았으므로 시험물질의 투여와는 관련이 없는 우발적인 소견으로 사료된다. 대조군 대비 2-부톡시에탄올 101.64 및 203.28 mg/kg 투여군에서 알부민(ALB) 수치의 감소와 2-부톡시에탄올 203.28 mg/kg 투여군에서 혈당(GLU)과 칼슘(Ca) 수치의 감소 및 염소(Cl) 수치의 증가가 관찰되었지만 이는 변화가 미미하고 정상범위 수준에서의 차이로서 독성학적으로 의미있는 변화는 아닌 것으로 사료된다.

병리조직학적 검사 결과, 2-부톡시에탄올 203.28 mg/kg 투여군의 폐에서 점액세포 증생(mucous cell hyperplasia)과 폐포 대식세포 응집(alveolar macrophage aggregation) 및 출혈(hemorrhage) 소견이 관찰되었다. Bowden(1984)과 Brain(1971), Louahed et al. (2000) 및 Temann et al.(1997, 1998)의 연구결과에 따르면 외부 물질의 기도내 침입 시 폐포 내 대식세포가 증가하고 염증세포에서 사이토카인(cytokine)의 분비를 유도하여 점액세포의 증생(mucous cell hyperplasia)이 유발된다고 보고되었다. 본 시험의 병리조직학적 검사에서 관찰된 2-부톡시에탄올 203.28 mg/kg 투여군 폐의 점액세포 증생(mucous cell hyperplasia)과 폐포 대식세포 응집(alveolar macrophage aggregation) 소견은 육안적 부검소견인 폐의 변색(discoloration)과 일치하였고 2-부톡시에탄올 406.56 mg/kg 투여 후 사망한 동물에서 또한 동일한 소견의 정도 및 빈도가 증가하였으므로(자료 미제시) 시험물질에 의한 독성학

적 변화로 판단된다. 폐의 출혈(hemorrhage)은 호흡마취 시 일반적으로 발생하는 소견으로 잘 알려져있으며(Nikula et al., 2014), 2-부톡시에탄올 203.28 mg/kg 투여군 폐에서 관찰된 출혈(hemorrhage) 소견은 정도 및 빈도가 낮아 시험물질의 영향이 아닌 부검 전 호흡마취로 인한 우발적인 소견으로 사료된다.

V. 결 론

본 실험조건하에서 수컷 랫드에 2-부톡시에탄올을 0, 101.64, 203.28 및 406.56 mg/kg의 용량으로 단회 기도내 투여 시 사망률의 증가, 일반증상 관찰 및 폐의 병변발생을 관찰하였다. 따라서 2-부톡시에탄올의 단회 기도내 투여 시 표적 기관은 폐인 것으로 사료되며, 406.56 mg/kg 투여군에서 6마리의 사망동물이 관찰되어 반수치사농도(LD₅₀)는 287.2 mg/kg(약 1.55 mg/L, 4시간) 인 것으로 확인되었다. 본 시험결과는 2-부톡시에탄올의 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(HI16C0062000021, BB-2101)의 지원에 의하여 이루어진 것이며, 안전성평가연구소의 일부 지원에 의해 수행되었음.

References

- Alexander DJ, Collins CJ, Coombs DW, Gilkison IS, Hardy CJ, et al. 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
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for 2-butoxyethanol and 2-butoxyethanol acetate. U.S. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, 1998
- Bauer P, Weber M, Mur JM. Transient non-cardiogenic

- pulmonary edema following massive ingestion of ethylene glycol butyl ether. *Intensive Care Med* 1992;18(4):250-251
- Bowden DH. The alveolar macrophage. *Environ Health Perspect* 1984;55:327-341
- Brain JD. The effects of increased particles on the number of alveolar macrophages. *Inhaled particles III* (W. H. Walton, ed.), Vol. I, Unwin Bros., Old Woking, Surrey, England. 1971;209-225
- Bushy Run Research Center (1980): Butyl cellosolve: four-hour LC50 inhalation study on rats and analytical analysis of butyl cellosolve. Report 43-42, Unpublished data submitted by Union Carbide (9 pp)
- Dodd DE, Snellings WM, Maronpot RR, Ballantyne B. Ethylene glycol monobutyl ether: Acute, 9-day, and 90-day vapor inhalation studies in Fischer 344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983;68(3):405-414
- Ghanayem BI, Chapin RE. Calcium channel blockers protect against ethylene glycol monomethyl ether (2-methoxyethanol)-induced testicular toxicity. *Exp Mol Pathol* 1990;52(3):279-290
- Gijzenbergh FP, Jenco M, Veulemans H, Groeseneken D, Verberckmoes R, et al. Acute butylglycol intoxication: a case report. *Hum Toxicol* 1989;8(3):243-245
- HSDB (Hazardous Substances Data Bank). Ethylene glycol mono-n-butyl ether (CASRN: 111-76-2). <http://toxnet.nlm.nih.gov/>, 2015
- HSDB. Ethylene glycol mono-n-butyl ether (CASRN: 111-76-2). TOXNET-Toxicology Data Network. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?db s+hsdb:@term+@DOCNO+538>, 2005
- IARC (International Agency for Research on Cancer). Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 2006;88:1-478.
- IWMB (Integrated Waste Management Board). Building materials emissions study. <http://www.calrecycle.ca.gov/Publications/Documents/GreenBuilding%5C43303015.pdf>. (2003)
- Kang BH, Son HY, Ha CS, Lee HS, Song SW. Reference values of hematology and serum chemistry in Krc: Sprague-Dawley rats. *Kor J Lab Anim Sci* 1995;11:141-145
- Kim JC, Kim SH, Shin DH, Ahn TH, Kim HC, et al. 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, et al. 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, et al. 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 K, Kim IH, Kim MS, Kim SH, et al. Acute toxicity study of the glyoxal by intratracheal instillation in male Sprague-dawley rats. *Journal of Korean Society of Occupational and Environmental Hygiene*, 2019;29(4):508-516
- 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;23(8):1974
- Kim MS, Han JY, Kim SH, Jeon D, Kim HY, et al. Oleonic acid acetate attenuates polyhexamethylene guanidine phosphate-induced pulmonary inflammation and fibrosis in mice. *Respir Physiol Neurobiol* 2018d;252-253:1-9
- Litovitz TL, Bariley KM, Schmits BF, Holm KC, Klein-Schwartz W. Annual report of the American association of poison control centers national data collection system. *Am J Emerg Med* 1991;9(5):461-509
- Louahed J, Toda M, Jen J, Hamid Q, Renauld JC, et al. Interleukin-9 upregulates mucus expression in the airways. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;22(6):649-656
- Miller LC, Tainter ML. Estimation of the ED50 and Its Error by Means of Logarithmic-Probit Graph Paper. *Proc Soc Exp Biol Med* 1944;57(2):261-264
- Nikula KJ, McCartney JE, McGovern T, Miller GK, Odin M, et al. STP position paper: interpreting the significance of increased alveolar macrophages in rodents following inhalation of pharmaceutical materials. *Toxicol Pathol* 2014;42(3):472-486
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health). National Occupational Exposure Survey, Cincinnati, OH, US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control (1989)
- NIOSH. U.S. National Institute for Occupational Safety and Health: criteria for a recommended standard: occupational exposure to ethylene glycol monobutyl

- ether and ethylene glycol monobutyl ether acetate. Pub. No. 90-188. NIOSH, Cincinnati, OH (1991)
- NLM (National Library of Medicine). Ethylene Glycol Mono-N-Butyl Ether, <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+538>. (2014)
- NTP (National Toxicology Program). Toxicology and carcinogenesis studies of 2-butoxyethanol (CAS No. 111-76-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). NTP Technical Report Series No. 484, U. S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, USA, (2000) http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr484.pdf
- OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development). OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 166, SIDS. SIDS Initial Assessment Profiles agreed in the course of the OECD HPV Chemicals Programme from 1993-2011. [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2012\)4/PART5&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2012)4/PART5&doclanguage=en). (2012)
- Rambourg-Schepens MO, Buffet M, Bertault R, Jaussaud M, Journe B, et al. Severe ethylene glycol butyl ether poisoning. Kinetics and metabolic pattern. *Hum Toxicol* 1988;7(2):187-189
- Randhawa MA. Calculation of LD50 values from the method of Miller and Tainter, 1944. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2009;21:184-185
- Raymond LW, Williford LS, Burke WA. Eruptive cherry angiomas and irritant symptoms after one acute exposure to the glycol ether solvent 2-butoxyethanol. *J Occup Environ Med* 1998;40(12):1059-1064
- Rebsdats S, Mayer D. Ethylene Oxide. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14356007.a10_117/abstract. (2001)
- SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks). SCHER Opinion on the risk assessment report on 2-butoxyethanol (EGBE), CAS 111-76-2, Human Health Part. European Commission, Health & Consumer Protection DG, Directorate C: Public Health and Risk Assessment, Unit C7 - Risk Assessment Office. Brussels, Belgium. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scher/docs/scher_o_087.pdf. (2008)
- Temann UA, Geba GP, Rankin JA, Flavell RA. Expression of interleukin 9 in the lungs of transgenic mice causes airway inflammation, mast cell hyperplasia, and bronchial hyperresponsiveness. *J Exp Med* 1998;188(7):1307-1320
- Temann UA, Prasad B, Gallup MW, Basbaum C, Ho SB, et al. A novel role for murine IL-4 in vivo: induction of MUC5AC gene expression and mucin hypersecretion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16(4):471-478
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). Integrated Risk Information System (IRIS) [<http://www.epa.gov/iris/>]. Accessed 07-07-10. (2009)
- Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, et al. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J Toxicol Environ Health* 1986;18(2):161-188
- Zhu J, Cao XL, Beauchamp R. Determination of 2-butoxyethanol emissions from selected consumer products and its application in assessment of inhalation exposure associated with cleaning tasks. *Environ Int* 2001;26(7-8):589-97

<저자정보>

김현영(연구기술원), 김인현(박사과정 대학원생), 김민석(선임연구원), 김성환(책임연구원), 이규홍(책임연구원)