

페놀 중독이 간 및 위장관에 미치는 영향에 대한 연구

충남대학교 의과대학 병리학교실

강 대 영

A Pathological Study of Phenol Induced Hepatic and Gastrointestinal Lesions

Dae-Young Kang, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine Chungnam National University

In an attempt to elucidate the pathological effects of phenol, the present study was undertaken in male Sprague-Dawley rats. The control group of animals was fed a basal diet, and potable underground water. The experimental group of animals was fed a basal diet and potable underground water containing 30ppm, 60ppm, and 1% phenol with once a week administration of dimethylnitrosamine(DMN) 10 mg/kg I.P.

Each group of animals was sacrificed on the 3rd, 6th, and 9th month. The liver and gastrointestinal tract were examined light microscopically, along with transmission electron microscopic studies of the liver and scanning electron microscopic studies of the gastric mucosa.

The results were as follows:

1) In the acute phenol intoxicated group, the liver showed fatty changes in the hepatocytes with mitochondrial membrane destruction and myelin figure formation.

2) In the chronic phenol intoxicated group, fatty changes in the liver were observed. In addition, there was chronic inflammation in the gastrointestinal tract, with gastric mucosal erosion and central necrosis of the hepatic lobules, especially in the high phenol contaminated water treated group.

3) As a result of the examination under the light microscope, the DMN treated group showed hyperplastic nodules and liver cell dysplasia, the degree of which was proportional to the duration of the experiment, and was more severe in the DMN + phenol treated group.

4) As a result of the examination under the electron microscope, fatty changes in the liver, pleomorphism of the mitochondria and loss or shortness of bile canalicular microvilli in the DMN + phenol treated group were more severe than in the group treated only with DMN.

In summary, the results obtained by the present study indicate chronic highly concentrated phenol intoxication induce liver cell necrosis and chronic inflammatory changes in the gastrointestinal tract. Also the toxicity of phenol increased synergetically with a hepatotoxin such as DMN. (**Korean J Pathol 1993; 27: 561 ~572**)

Key Words: Phenol toxicity, Dimethylnitrosamine, Liver, Gastrointestine

접 수: 1993년 4월 12일, 게재승인: 1993년 8월 3일
주 소: 대전직할시 중구 문화동 6번지, 우편번호 301-131
충남대학교 의과대학 병리학교실, 강대영

*이 논문은 1991년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술 연구 조성비에 의해 연구되었음.

서 론

페놀(phenol)은 광의의 의미로 페놀류 전체를 의미하는 경우와 페놀류의 대표적 화합물이라고 하는 벤젠의 수소 원자 1개와 수산기가 치환된 화합물 즉 옥시벤젠을 의미하는 경우가 있다^{1,2)}.

페놀은 방부 효과가 크기 때문에 방부제로 사용되고 있으며 병원에서는 소독용으로 쓰이고 있다^{1,2)}.

또한 페놀은 1966년 Maher에 의해 치료 불가능한 악성 종양으로 인한 통증을 제거하기 위해 지주막하 고장액 사용을 보고한 이래, 그후 Kelly등이 상운동 신경원 병변에 의한 경련성(spasticity)의 치료에 사용한 이후 통증과 경련성의 치료에도 이용되고 있다^{3,4)}.

페놀의 용도⁵⁾는 염료, 살리실산, 피크린산등 중요한 유기물질의 원료로 사용되는 외에 페놀 수지를 비롯하여 에폭시수지나, 카보네이트 수지의 원료로 사용되기도 하며 산업장에서 광범위하게 사용되고 있어 오염 및 중독의 기회가 많아졌다.

페놀에 의한 수질 오염은 1980년 일본과 1984년 영국에서 있었다는 보고^{6,7)}가 있으며 몇년전 우리나라에서도 낙동강 페놀 오염 문제로 이에 대한 경각심이 높아졌다. 페놀은 고농도에서는 피부에 자극을 줘서 케양을 일으키기도 하지만, 주로 폐, 소화기계 및 피부를 통해 흡수되어 독성 작용을 유발하게 된다고 알려져 있다^{1,2,5,7,8)}.

급성 중독 증상으로는 식욕부진, 암갈색뇨, 근육통, 맥박 이상, 피부 창백, 경련, 혼수 및 사망을 초래할 수 있고 만성 중독시 구토, 연하 곤란, 설사, 식욕부진, 두통, 간 및 신장 장애, 현기증등이 나타난다는 보고가 있다^{1,2,9-11)}.

그밖에도 페놀은 돌연변이나 발암과정의 촉진인자로 작용할 수도¹²⁻¹⁹⁾ 있고 태아의 기형발생에 관련이 있다는 간단한 보고²⁰⁻²³⁾가 있으나 형태학적인 연구보고는 거의 없다. 한편 방부제로 많이 사용되어온 dimethylnitrosamine(DMN)은 일부 식품이나 음료수에서 검출이 되고, 아민이 포함되어 있는 음식물을 섭취시 위장관에서 생성되기도 하며, 또한 오염된 대기중에 함유되어 있어 인체에 중독될 기회가 많아졌다. 실험동물에 중독량의 DMN을 투여하게 되면 급성으로 출혈성 괴사를 일으키고 만성 중독시 간경화증이나 간암을 유발한다고 한다²⁴⁻²⁸⁾. 그런데 이제까지의 DMN에 의한 만성 중독성 병변에 관한 연구는 제한적이며 간에 대한 연구가 대부분이고 또한 화학적 발암과정중 촉진인자로 알려져 있는 페놀의 급성 및 만성 독성 작용에 의한 간이나 위장관에 대한 형태학적 연구보고는 문헌상 거의 찾아 볼 수 없어 본 연구를 시도하였던 것이다. 그래서 저자는 페놀 중독시 간 및 위장관에 미치는 영향 및 DMN과 같은 발암 물질의 작용에 어떠한 영향을 미치는가를 연구하기 위하여 페놀 단독

투여군과 DMN 및 페놀을 함께 투여한 군에서 나타나는 형태학적 변화를 연속적으로 비교 관찰하여 의미 있는 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물: 본 실험에 사용된 동물은 생후 7주이고 체중이 170~200 g 내외의 Sprague-Dawley종 숫컷 흰쥐로서 약 2주일간 기본 배합사료로 사육하면서 건강한 것만 골라 본 실험에 사용하였다.

2) 실험약물: 본 실험에 사용된 페놀(phenol cryst; C₆H₆O)은 독일 Merck회사 제품을 사용하였으며, DMN은 미국 Sigma 회사제로서 생리식염수에 1%의 비율로 혼합 희석하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험동물의 약물처리: 모든 실험동물은 음료수로 적합 판정된 지하수에 페놀을 30 ppm, 60 ppm 및 1%의 농도로 섞어서 먹는 물로 공급하였으며 실험동물은 다음 각 군으로 나누어 실시하였다.

I군: 대조군으로 먹는 물로 지하수를 주고 기본 배합사료로 사육하였다.

II군: 기본 배합사료로 사육하면서 30 ppm 농도의 페놀이 섞인 물을 먹는 물로 주었다.

III군: 기본 배합사료로 사육하면서 60 ppm 농도의 페놀이 섞인 물을 먹는 물로 주었다.

IV군: 기본 배합사료로 사육하면서 1% 농도의 페놀이 섞인 물을 먹는 물로 주었다.

V군: DMN을 체중 kg당 10 mg을 주 1회 복강내에 투여하고 먹는 물로 지하수를 주고 기본 배합사료로 사육하였다.

VI군: 기본 배합사료로 사육하면서 체중 kg당 10 mg의 DMN을 주 1회 복강내에 투여하고 30 ppm 농도의 페놀이 섞인 물을 먹는 물로 주었다.

VII군: 기본 배합사료로 사육하면서 체중 kg당 10 mg의 DMN을 주 1회 복강내에 투여하고 60 ppm 농도의 페놀이 섞인 물을 먹는 물로 주었다.

VIII군: 기본 배합사료로 사육하면서 체중 kg당 10 mg의 DMN을 주 1회 복강내에 투여하고 1% 농도의 페놀이 섞인 물을 먹는 물로 주었다.

급성 중독시 나타나는 병변을 비교 관찰하기 위하여 예비 실험으로 5마리에 페놀을 corn oil에 1:4비율로 희석하여 체중 kg당 530 mg(LD₅₀ 용량)을 경구 투여하였다. 실험동물은 각군마다 20마리를 배정하여 사용하였으며 실험 시작후 1주, 3개월, 6개월 및 9개월째에 각각 5마리씩 희생하였다(Table 1 참조).

2) 조직표본 작성 및 광학현미경적 고찰: Ether 마취하에 체중을 측정후 해부하여 각 장기를 적출하

여 증류수에 깨끗이 씻은 후 10% buffered neutral formalin에 24~48시간 충분히 고정된 다음에 간, 위 및 창자에서 각각 조직을 절취하여 통상의 방법으로 파라핀 블록(paraffin block)을 만들었다. 모든 블록을 5 μ 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin, Masson trichrome 염색을 시행하였다.

간 세포 이형성(liver cell dysplasia)를 관찰하기 위하여 슬라이드중 3부분을 각각 400배 시야로 사진 촬영하여 5 \times 7인치로 인화한 다음 이형성 세포의 수를 세어 평균하였다.

3) 주사전자현미경적 관찰: 페놀 투여후 조기에(1주) 위점막 표면에 나타는 입체적 변화를 관찰하고자 다음과 같이 처리하였다.

4 $^{\circ}$ C 2.5% glutaraldehyde에 고정된 조직을 0.1 M phosphate buffer saline(pH 7.4)으로 세척한 다음 1% osmium tetroxide에 2시간 정도 후고정하고 다시 0.1 M phosphate buffer saline으로 세척하였다. 이 조직을 계열 알콜로 탈수하여 100% 알콜에 넣은 다음 액체질소로 동결하여 조직을 할단하였다.

할단된 조직을 다시 100% 알콜에 넣은 후 역으로 계열 알콜에 수화(hydration)시켜 0.1 M phosphate buffer saline으로 세척한 다음 1% osmium tetroxide에 넣은 후 다시 계열 알콜로 탈수시켜 입체 건조(critical point drying)시켰다. 건조된 시료는 ion coater(EIKO IB.3)를 사용하여 pt-pd 합금으로 약 15 nm두께로 coating한 다음 Hitachi S-2500 주사전자현미경으로 관찰하였다.

4) 투과전자현미경적 관찰: 간에 나타난 변화를 관찰하기 위하여 적출된 흰쥐의 간을 신속히 1 mm³ 크기로 절제하여 4 $^{\circ}$ C 2.5% glutaraldehyde 용액에

2.5시간 고정된 후 다시 1% osmium tetroxide에 2.5시간 고정하여 통상의 방법에 의하여 에탄올로 탈수하였다. Luft방법²⁹⁾에 의하여 propylen oxide로 치환한 다음 epon 혼합체로 포매하여 35 $^{\circ}$ C, 40 $^{\circ}$ C, 60 $^{\circ}$ C에서 각각 24시간씩 열중합시켜 epon 포매괴를 만들었다.

Epon 포매괴를 Sorvall MT 5000 초박절기를 이용하여 1 μ 두께의 절편으로 만들고 toluidine blue로 염색하여 전자현미경으로 관찰하고자 하는 부위를 정하였다. 결정된 부위는 또한 같은 초박절기를 이용하여 60 nm두께로 세절한 다음 Reynolds³⁰⁾법에 의해 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 Hitachi H-600 전자현미경으로 가속 전압 75 KV에서 관찰하였다.

실 험 성 적

1. 폐사율

대조군에서는 폐사한 예가 없었으나 30 ppm 페놀 투여군에서 1마리(6.7%), 60 ppm 페놀 투여군에서 2마리(13.3%), 그리고 1% 페놀 투여군에서 6마리(40.0%)가 폐사하였다.

DMN을 체중 kg당 10 mg 투여군에서는 4마리(26.7%), DMN과 30 ppm 페놀 투여군은 5마리(33.3%), DMN과 60 ppm 페놀 투여군에서는 7마리(46.7%)가 폐사하였고, DMN과 1% 페놀 투여군에서는 10마리(66.7%)가 폐사하였다(Table 2).

2. 각 실험군의 체중의 변화

정상 대조군에서는 실험기간이 경과함에 따라 체중이 증가하였으나 실험군에서는 증가되더라도 정도가 작았고 고농도 페놀 투여군에서는 일시적으로 감소하였다가 약간 증가하였다. 즉 정상대조군에선 3개월, 6

Table 1. Experiment design and the number of rats

Group & \ Duration treatment	1 week	3Ms	6Ms	9Ms
I: water	5	5	5	5
II: water with 30 ppm p.	5	5	5	5
III: water with 60 ppm p.	5	5	5	5
IV: water with 1% p.	5	5	5	5
V: DMN + water	5	5	5	5
VI: DMN + water with 30 ppm p.	5	5	5	5
VII: DMN + water with 60 ppm p.	5	5	5	5
VIII: DMN + water with 1% p.	5	5	5	5

*DMN: dimethylnitrosamine
p: phenol

Table 2. The number of animal death during experiment

Group \ Duration (Month)	3rd	6th	9th	Total(%)
I (15)	0	0	0	0(0.0)
II (15)	0	0	1	1(6.7)
III (15)	0	1	1	2(13.3)
IV (15)	1	2	3	6(40.0)
V (15)	1	1	2	4(26.7)
VI (15)	1	2	2	5(33.3)
VII (15)	1	3	3	7(46.7)
VIII (15)	2	3	5	10(66.7)

(): Total number of rats

개월 및 9개월째에 각각 481.17 g, 555.00 g, 599.33 g 이었으나 케놀 60 ppm 투여군에서는 각각 493.67 g, 472.33 g, 529.00 g으로 6개월째는 감소가 있었고, 케놀 1% 투여군에서도 각각 383.33 g, 374.33 g 및 398.67 g로 실험기간 체중 감소가 관찰되었다.

또한 DMN 만 투여한 군에서 체중은 각각 452.77 g, 533.60 g, 569.17 g로 실험기간에 비례해서 증가현상을 보였으나 DMN과 케놀 30 ppm 투여군과 DMN과 케놀 60 ppm 투여군에서는 DMN만 투여군에 비해 증가 정도가 경미하였다. DMN과 케놀 1% 투여군에서는 3개월, 6개월 및 9개월째에 각각 380.65 g, 361.32 g 및 390.67 g로 6개월째에 체중이 오히려 감소되었고, DMN 단독 투여군에 비해 현저한 체중 감소가 있었다(Table 3 참조).

3. 광학현미경적 소견

1) 간세포이형성 세포수: Anthony등³¹⁾과 Anthony³²⁾는 세포 크기가 커지고, 핵의 다형성 및 다염색(nuclear pleomorphism with hyperchromasia)과 다핵형성이 있는 세포를 간세포 이형성이라고 정의하였다.

본 연구에서 대조군이나 케놀만 투여한 실험군에서는 3개의 400배 시야에서 1~2개가 관찰되었으나 DMN 투여군에서는 3개월, 6개월 및 9개월째에 실험기간에 비례하여 상대적으로 증가하였다. 즉 DMN만 투여군에서는 3개의 400배 시야에서 5~13개가 관찰되었으나 DMN과 케놀을 동시 투여한 군에서는 6~19개가 관찰이 되어 DMN과 케놀 1% 투여군에서 상대적으로 많이 관찰되었다(Table 4 참조)

2) 광학현미경적 일반적 소견:

(1) 1주일 투여군: 30 ppm, 60 ppm 농도의 케놀이 섞인 물을 1주일 동안 먹인 후 페사시킨 실험동물에서 광학현미경적으로 특별한 소견이 관찰되지 않았

으며 위나 장에서도 대조군과 비교하여 특별한 변화가 없었다. 1% 농도의 케놀이 섞인 물을 1주일 동안 먹인 실험군에서는 간의 중심정맥 주위에 경한 괴사 및 지방변성이 나타났으며 소장이나 대장의 점막하 부위에 있는 림프성 여포(lymph follicles)가 대조군에 비해 커져있고 위점막에 출혈이 관찰되었다(Fig. 1).

LD₅₀ 용량을 투여한 예비실험군에서는 위점막에 출혈이 나타나고 간에 심한 출혈이 관찰되었다. DMN 투여군에서는 간에서 중심 정맥 주위에 경도의 출혈성 괴사가 관찰되고 부분적으로 지방 변성이 나타났으나 투여한 케놀 농도에 따른 변화의 정도는 구별하기가 어려웠다.

(2) 3개월 투여군: 30 ppm 농도의 케놀이 함유된 물을 먹인 실험군에서는 간의 중심 정맥 주위에 경도의 지방 변성이 관찰되는 외에 특이한 소견이 없었다. 또한 위장관에서는 특기할 소견이 관찰되지 않았다.

60 ppm 농도의 케놀이 함유된 물을 투여한 실험군에서는 간에서 경도 내지 중등도의 지방변성이 관찰되고, 위장관에서는 점막에 염증세포의 침윤이 관찰되고 점막하 부위에 림프성 여포가 커져있어 만성 염증의 소견을 보였다.

1% 농도의 케놀이 함유된 물을 투여한 실험군에서는 간의 소엽 중심 정맥 주위에 경한 괴사 소견이 있고 미만성으로 경도내지 중등도의 지방변성이 관찰되었다. 위점막에는 출혈이 있고 염증세포의 침윤이 미만성으로 있으며, 장에서는 점막에 만성염증 세포의 침윤이 60 ppm 농도의 케놀이 함유된 물을 투여한 군에 비해 현저히 심해졌다.

DMN 투여군에서는 간소엽에 경계가 불분명한 증식성 결절이 나타나고 섬유화 및 염증세포의 침윤과 지방 변성이 미만성으로 나타났다. 고배율상에서 관찰시 간세포 이형성의 세포가 불규칙하게 흩어져 관찰되었으나 부위별로 일정하지는 않았다.

Table 3. The body weight change according to the experiment duration(Unit; g)

Group	Duration (Months)		
	3Ms	6Ms	9Ms
I	481.17 ± 3.06	555.00 ± 9.17	599.33 ± 9.29
II	422.00 ± 6.56	474.33 ± 6.03	545.67 ± 4.40
III	493.67 ± 9.02	472.33 ± 10.50	529.00 ± 5.29
IV	388.33 ± 8.50	374.33 ± 8.61	398.67 ± 3.51
V	452.77 ± 9.10	533.60 ± 13.31	569.17 ± 6.29
VI	409.47 ± 3.88	474.73 ± 4.58	490.00 ± 7.50
VII	460.57 ± 12.04	508.10 ± 7.9	519.47 ± 2.54
VIII	380.65 ± 9.01	361.32 ± 8.72	390.67 ± 3.50

*Mean ± SD

Table 4. Number* of liver cell dysplasia of each group

Group	Duration (Months)		
	3rd	6th	9th
I	0	0	1
II	0	0	0
III	0	1	1
IV	1	1	2
V	5	9	13
VI	6	7	14
VII	7	9	15
VIII	6	13	19

*Total average number of dysplastic cells in three high power fields

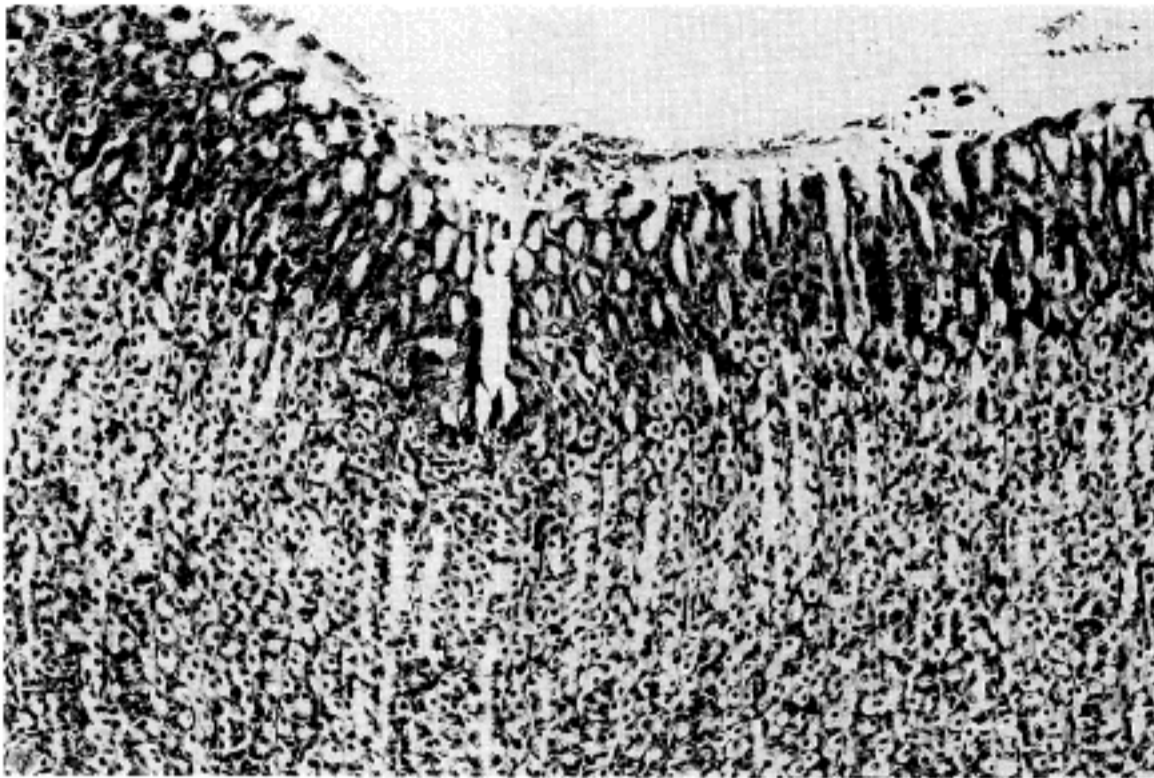


Fig. 1. Acute gastritis with erosion, 1% phenol treated group, 1 week.

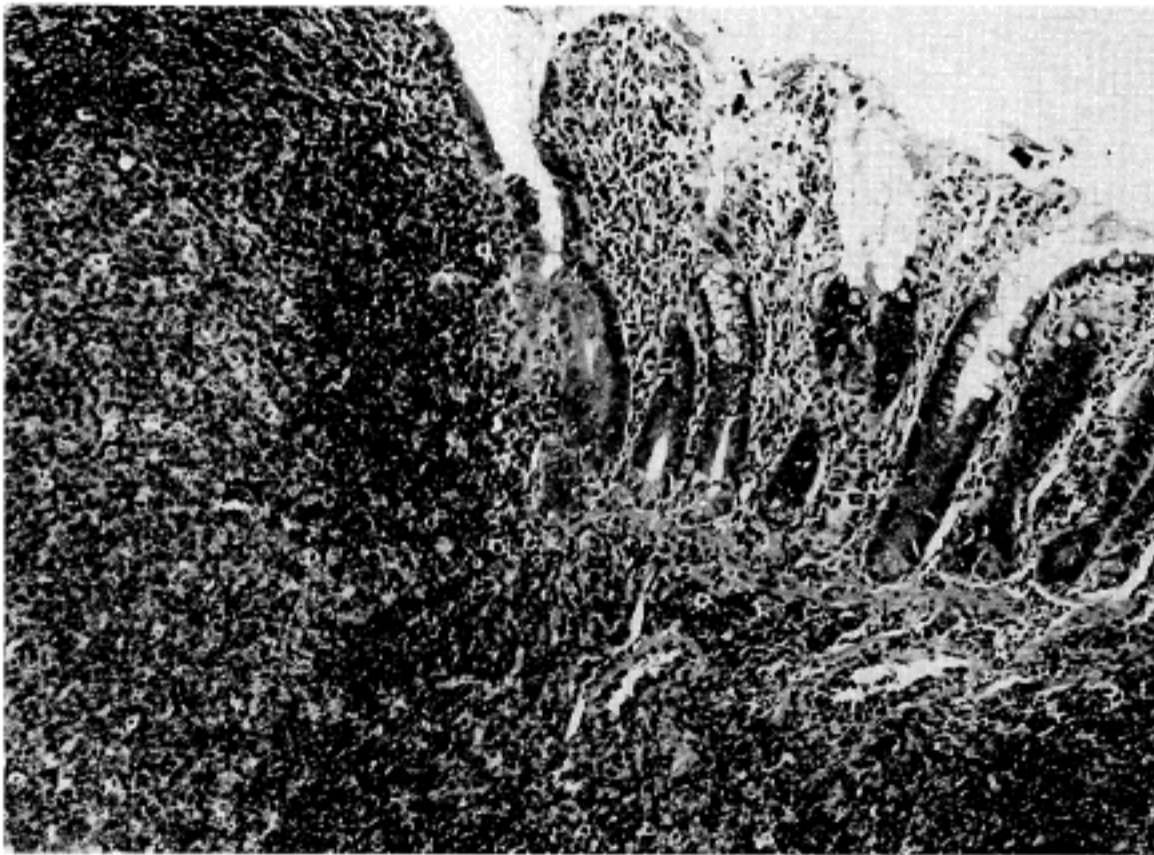


Fig. 2. Chronic ileitis with reactive hyperplasia of follicle, 60 ppm phenol treated group, 6th month.

위장관에서는 전반적으로 만성 염증 세포의 침윤이 위점막에서 관찰이 되었다. 30 ppm 및 60 ppm의 페놀 투여군에서 간이나 위장관에 나타난 변화는 유사한 양상을 보였다. 1% 농도의 페놀이 섞인 물을 먹인 실험군에서는 간에서 섬유화가 좀 더 심하고 주위에 출혈이 있었으며 위점막에 출혈 및 만성 염증 세포의 침윤이 다소 심하게 나타났다.

(3) 6개월 및 9개월 투여군: 페놀이 함유된 물을 투여한 실험군에서 간이나 위장관에 관찰되는 소견은

3개월에 관찰된 소견과 거의 유사하였다(Fig. 2).

DMN을 투여한 실험군에서 간에서는 증식성 결절의 크기가 다소 커지고 간소엽에서 주위와의 경계도 다소 뚜렷해졌다(Fig. 3). 고배율상에서 간세포 이형성 세포가 6개월에 더 많이 관찰되고(Fig. 4), 9개월에서는 6개월째에 비해 상대적으로 더 증가되었다. 재생성 결절 주위에 섬유화가 더 심해지고 섬유성 대(fibrotic band)가 더 넓게 관찰이 되어 경화성 변화가 심하게 되었다. 이러한 현상은 6개월에 비해 9개월째에 심

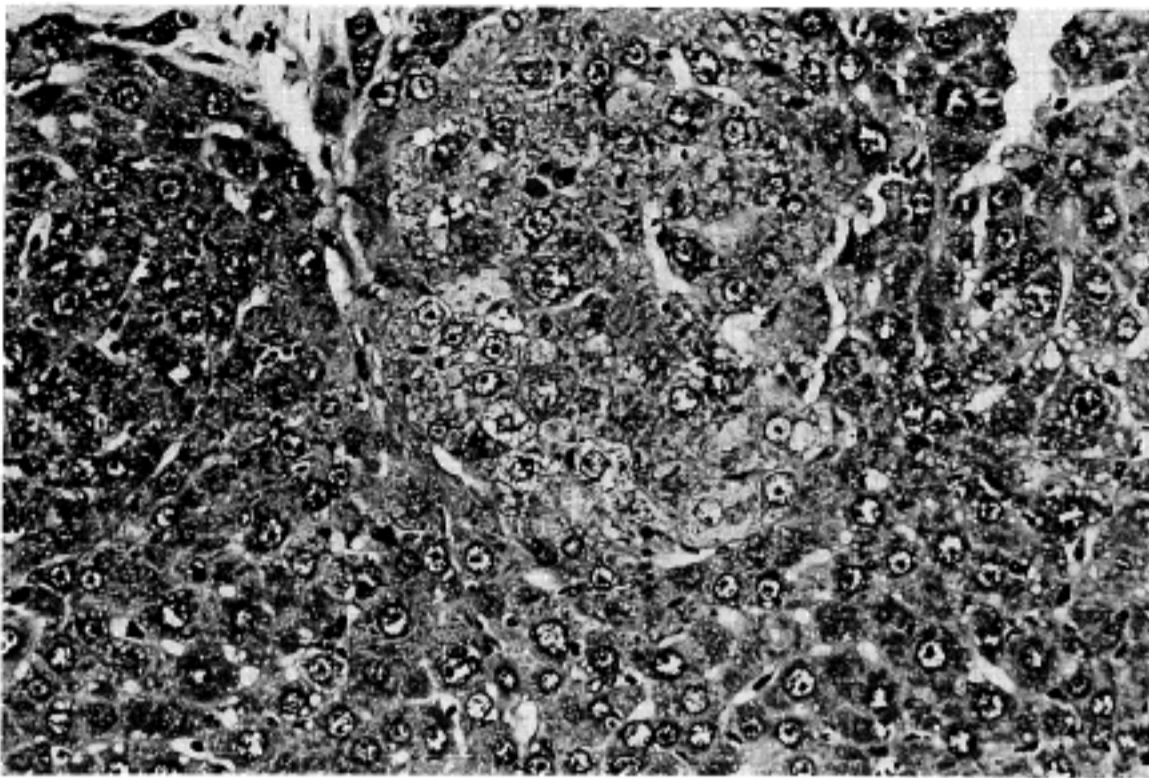


Fig. 3. Ill demarcated regenerated nodule with fatty change, DMN + 30 ppm phenol treated group, 6th month.

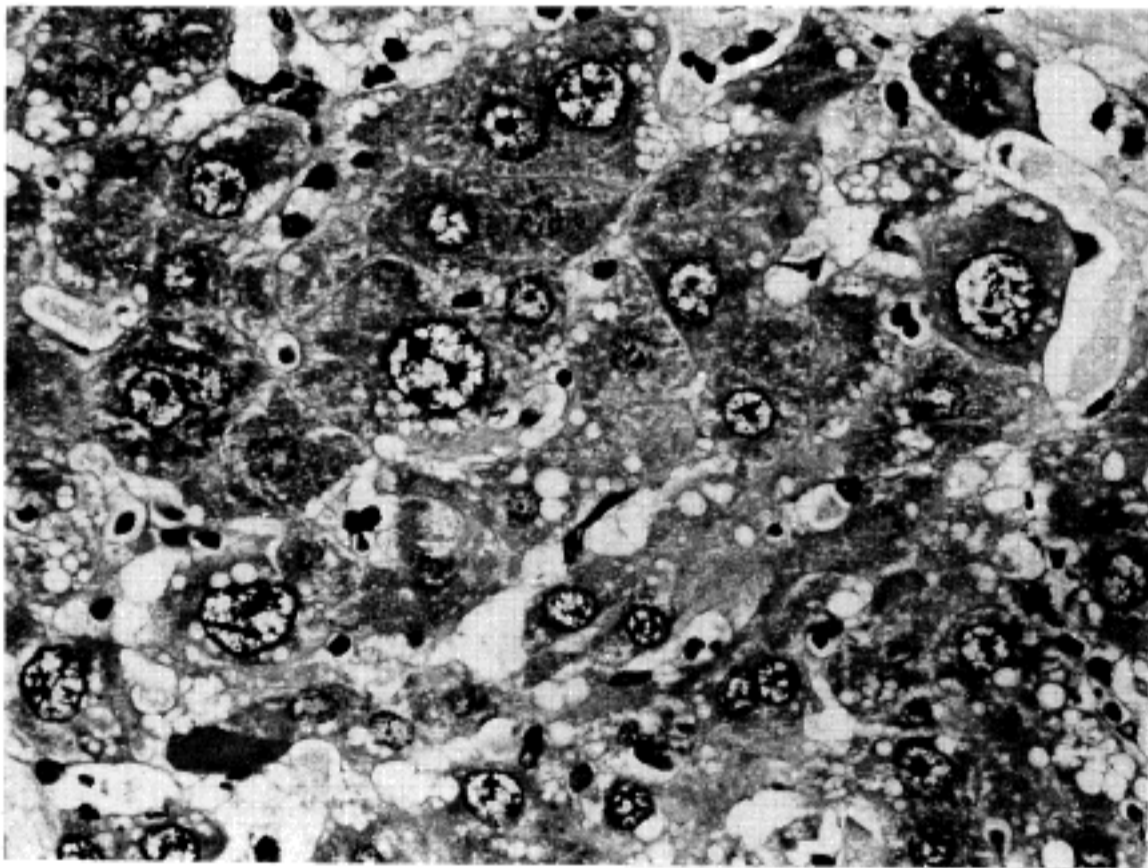


Fig. 4. Liver cell dysplasia, DMN + 1% phenol treated group, 6th month.

하게 되었다. DMN을 투여하고 30 ppm, 60 ppm 농도의 페놀이 함유된 물을 주로 사육한 실험군에서 간에 나타난 변화는 유사하였고 위장관에 나타난 변화도 또한 3개월째에 관찰되었던 소견과 유사하였다. 그런데 DMN을 주고 1% 농도의 페놀이 함유된 물을 주고 사육한 실험군에서는 상대적으로 간에 지방변성이 심했고 섬유화를 일으킨 주위에 총혈 및 출혈이 심하게 나타났다.

4. 주사현미경적 소견

페놀 투여후 1주째 위 점막을 주사전자현미경으로 관찰한 바 정상 대조군에서는 표면이 평활하고 (smooth) 둥근 용종모양으로 관찰되었으며 30 ppm 농도 투여군은 대조군과 유사하였다. 60 ppm 농도를 투여한 실험군에서는 표면이 부분적으로 떨어져 나가고 불규칙하게 되었으며 (Fig. 5), 1% 농도의 페놀을 투여한 실험군에서는 60 ppm 투여군에 비해 위 점막

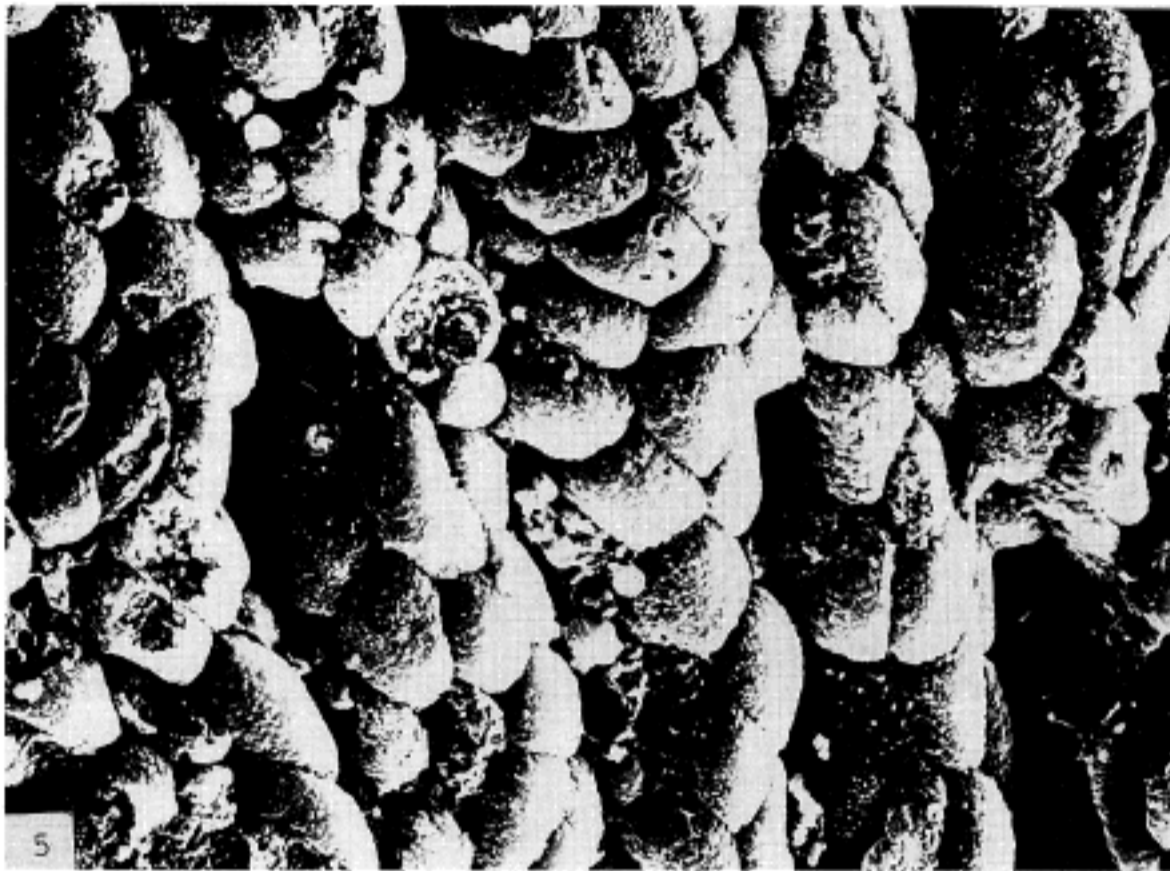


Fig. 5. Mamillated areas with irregular surface and focal erosion, 60 ppm phenol treated group, 1 week. ($\times 1,200$)

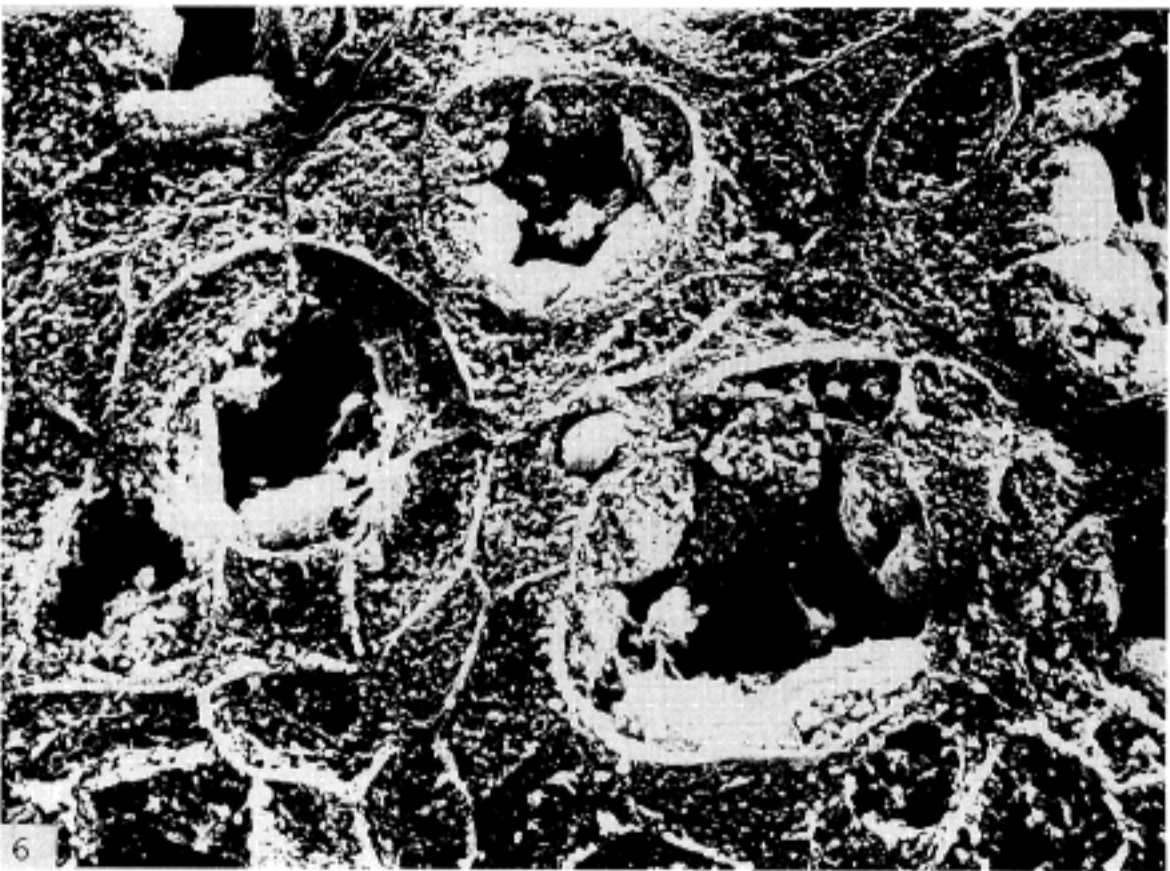


Fig. 6. Mamillated areas with marked erosion and hole formation, 1% phenol treated group, 1 week. ($\times 2,400$)

의 유두 모양 부분(mamillated areas)이 더 깊숙히 부식되어 구멍이 형성된 모양을 나타내었다(Fig. 6).

5. 투과전자현미경적 소견

투과전자현미경적 관찰은 간조직에서만 관찰한 바 다음과 같았다.

1) 페놀 투여군: 30 ppm 농도의 페놀이 섞인 물을

투여한 군에서 대조군에 비해 다소 지방적이 많이 세포질내에 침착이 되었다. 60 ppm의 페놀이 섞인 물을 투여한 군에서는 30 ppm 투여군에 비해 지방적이 더 많이 세포질내에서 관찰이 되었고 미토콘드리아에 부종이 있고 능(crista)이 불분명하며 부분적으로 막이 파괴되고 수초도(myelin figure) 형성도 나타났다(Fig. 7).

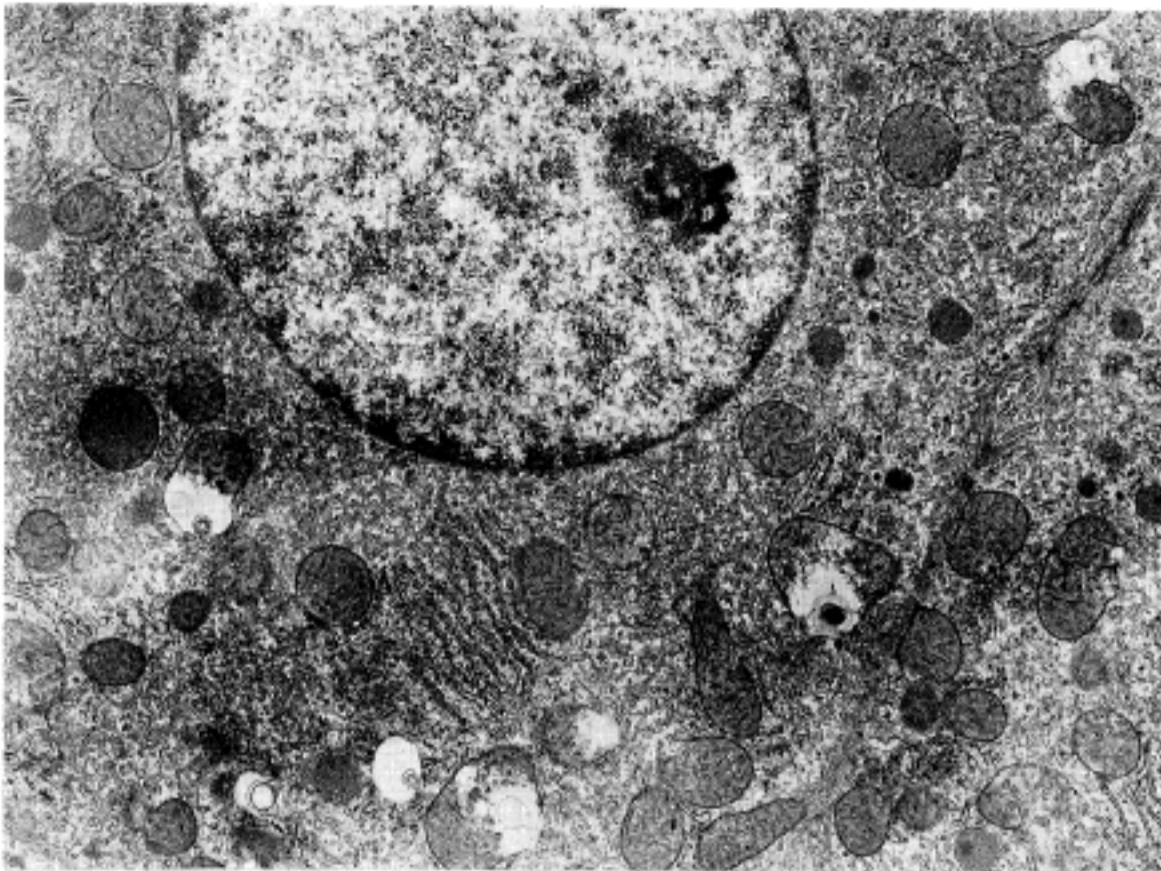


Fig. 7. Mitochondria with focal membrane destruction and myelin figure formation, 60 ppm phenol treated group, 1 week. ($\times 10,000$)

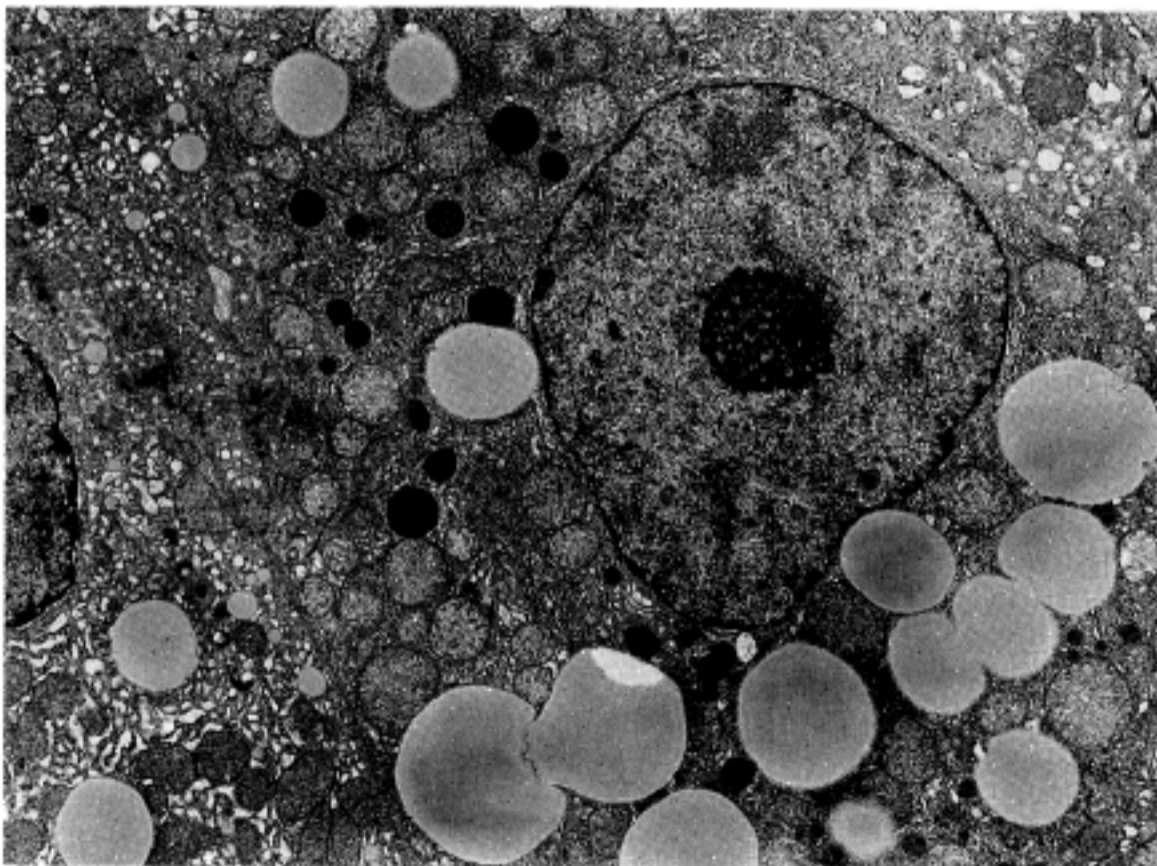


Fig. 8. Hepatocyte showing enlarged nucleus, prominent nucleoli, many fat droplets, various shape of mitochondria and increased number of lysosome, DMN treated group, 3rd month. ($\times 3,000$)

1%의 페놀이 함유된 물을 투여한 군에서 간세포내에 지방이 미만성으로 나타났고 미토콘드리아는 막이 파괴되고 수초도가 형성된 부위도 있었다. 또한 세포질내에 리소솜(lysosome)이 부분적으로 관찰되었다.

LD₅₀ 용량의 페놀을 경구 투여한 실험군에서는 간세포에 지방적이 많이 나타나고 1% 페놀 투여군에 비해 미토콘드리아의 막의 파괴 및 수초도 형성이 현저

히 증가되었고 미토콘드리아 모양도 불규칙해졌다.

상기한 소견들은 실험기간이 길어질수록 다소 심해지는 경향이 있었다.

2) DMN 투여군: 각 실험군 간에 나타난 소견이 실험기간에 따라 정도의 차이는 있었으나 전자 현미경 관찰 소견상 유사하였으므로 함께 기술하고자 한다. 실험기간이 경과함에 따라 간세포의 핵이 커지고 핵소

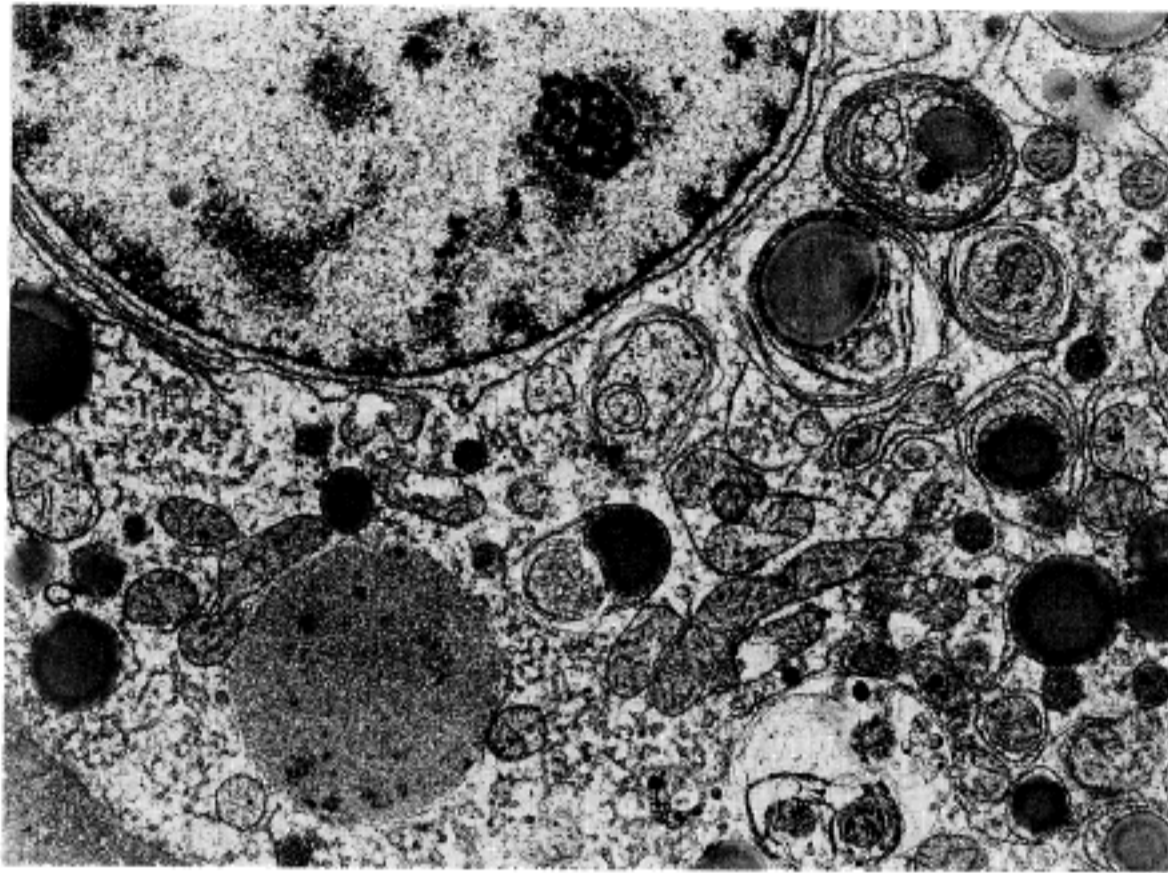


Fig. 9. Hepatocyte showing enlarged nucleus, prominent nucleoli, irregular size fat droplets, and mitochondrial membrane destruction with myelin figures, DMN and 1% phenol treated group, 3rd month. ($\times 4,000$)

체가 뚜렷해 졌으며 핵막이 대조군에 비해 두껍고 불규칙하게 되었다. 염색질은 불규칙하고 조대해(coarse)졌으며 핵막 근처에 많이 모여 있었다. 또한 세포질내에 지방적이 많이 나타나고 리소솜도 많이 관찰되었다(Fig. 8).

간 세포 사이에 교원질이 풍부했고, 사이 사이에 섬유모세포, 중성구, 대식세포등이 위치하고 있었다. 간 세포질내에 미만성으로 나타나는 지방적의 크기는 불규칙했고, 특히 1% 농도의 페놀이 함유된 물을 투여한 군에서는 지방적의 크기와 모양이 매우 불규칙했다(Fig. 9).

담소관안에 위치한 미세용모는 대조군에 비해 실험군에서는 떨어져 나가고 길이가 짧아지고 수가 감소되는 양상이 관찰되었는데 투여한 물에 함유된 페놀의 농도가 높을수록 심하게 나타났다.

고 찰

산업의 발달과 더불어 많은 화학 물질들을 사용하게 되어 이들에 의한 중독이나 피해등이 빈번히 발생하게 되었다. 페놀은 방부 효과가 크게 때문에 방부제로 사용되고 있으며 병원에서는 소독용으로 사용되고 있다. 또한 페놀은 치료 불가능한 악성 종양으로 인한 통증을 제거하기 위해서나 상운동 신경원 병변에 의한 치료에 이용되기도 하였다¹⁻⁴⁾.

페놀에 의한 중독은 산업장에서 중독의 기회가 많은 뿐만 아니라 수질오염에 의해서도 일어난다. 페놀에 의한 수질 오염은 1980년 일본과 1984년 영국에서 보고^{6,7)}된 이외에 최근 우리나라에서도 낙동강물 페놀

오염 문제로 많은 문제가 제기 되었다.

페놀 그 자체는 물과 쉽게 혼합성이 있고 순수한 용액에서는 거의 무취(tasteless)하나 쉽게 다른 화학 물질과 반응하여 사람에서는 위장관이나 피부를 통해 빨리 흡수되고 대개는 24시간 안에 신장을 통해 배설된다. 높은 농도에 의한 중독시 부식성 국소적 손상을 일으키고 전신적 속을 유발하게 되고 체중 kg당 800~1,300 mg이 치사량으로 알려져 있다^{1,2,5)}.

수도물을 소독하는 과정에서 페놀은 염소처리(chlorination)에 의해 대부분 2, 4, 6-trichlorophenol이 만들어지고 소량의 chlorophenol이 생성된다. 페놀은 염소처리에 의해 독성이 증가되며 chlorophenol의 산물들이 각각 다른 특성을 가지게 되는데 2, 4, 6-trichlorophenol이 가장 독성이 강한 형태이고 쥐나 생쥐에서 암을 유발하는 속성을 가지고 있다는 연구 보고도 있다¹²⁻¹⁹⁾.

일반적으로 화학적 발암과정에서 인체와 관련되어 종양성을 증가시키는 물질(촉진인자)로 담배의 타르에서 발견이 되는 페놀, 페노바르비탈, 사카린, 사이클라메이트 및 여러가지 호르몬 특히 에스토로젠이 있다. 한편 방부제로 많이 사용되어온 DMN은 일부식품이나 음료수에서 검출이 되고, 오염된 대기중에 함유되어 있어서 인체에 중독이 될 기회가 많아졌으며, 실험동물에서 만성 중독시 간경화증이나 간암을 유발한다고 한다²⁴⁻²⁸⁾.

DMN이 간에 미치는 독성 작용은 이들이 간에서 분해되어 나오는 중간대사산물에 기인하는 것으로 이는 간세포의 cytochrome P-450 mixed function oxidase system에서 이루어 진다고 하며, 이때 페놀

바르비탈을 전처치하면 그 독성 작용은 강화된다고 한다²⁴⁻²⁶).

실험 동물의 폐사율은 폐놀만 투여한 실험군 간에 비교시 1% 농도로 폐놀을 섞어 투여한 군의 폐사율이 30 ppm이나 60 ppm 농도의 폐놀을 투여한 군에 비해 높게 나타나 고농도에서 중독의 정도가 강하게 나타났다.

DMN를 매주 1회씩 체중 kg당 10 mg을 복강내 투여하면서 폐놀을 함께 투여한 실험군에서 사망율은 DMN만 단독 투여한 군에 비해 폐놀을 함께 투여한 군에서 사망율이 높았고 투여한 폐놀의 농도가 높을수록 사망율이 높았다. 이는 DMN 자체의 독성도 있지만 폐놀을 함께 투여함으로써 독성 작용이 상승하여 나타난 결과로 사료된다.

각 실험군에서 3개월, 6개월 및 9개월에 측정된 체중의 변화를 보면 지하수만 음료수로 준 군은 실험 기간에 비례해서 아주 많이 체중이 증가되었으나 30 ppm 및 60 ppm의 폐놀이 섞인 지하수를 음료수로 투여한 군에서는 체중의 증가가 경미했으며 1% 폐놀 투여군에서는 아주 경미하였고 6개월째는 상대적으로 물을 적게 먹는데 원인이 있을 수도 있고 높은 농도의 폐놀이 함유된 물을 먹은 실험군의 동물에서 자주 설사나 피가 섞인 대변을 보았는데 이에 원인이 되었을 가능성도 있다. 30 ppm 농도와 60 ppm 농도 투여군을 비교시 60 ppm 농도 투여군에서 오히려 상대적으로 체중 증가가 있었는데 이의 원인이 무엇인지는 규명할 수 없었다.

또한 DMN을 투여하면서 각각 다른 농도의 폐놀을 투여한 실험군에 나타난 체중의 변화도 마찬가지로 폐놀의 농도가 높을수록 체중이 감소하였다. 이는 아마도 DMN이 간에 미친 독작용이 폐놀의 독작용과 상승작용을 일으켰을 것으로 사료된다.

폐놀의 의한 급성 중독 소견은 30 ppm이나 60 ppm 농도의 투여군에서 광학 현미경적으로 간이나 위장관에서 대조군과 비교해 차이가 없었으나 1% 농도 폐놀 투여군에서는 간 및 위장관에 변화가 있었다. 즉 간의 중심정맥 주위에 경한 괴사 및 지방변성이 나타났으며 위 점막에 출혈이 있었고 소장 및 대장의 점막하 부위에 림프성 여포가 대조군에 비해 증가되었다.

위 점막을 주사전자현미경으로 관찰시 대조군에서는 점막의 표면이 평활하고 둥글게 규칙적으로 융종 양상으로 나타났으나 폐놀이 많이 함유된 물을 투여한 군에서는 움푹파이고 표면이 불규칙하였다. 이의 정도는 폐놀 투여 농도가 높을수록 심하여졌다.

간조직의 투과전자현미경적 소견상 폐놀 투여군에서는 대조군에 비해 세포질내에서 지방적이 많이 관찰되었으며 높은 농도의 폐놀을 투여한 군일수록 미토콘드리아 막의 파괴 및 수초도 형성이 관찰되고 리소솜이 많이 나타났다.

DMN 투여군에서는 간 중심 정맥주위에 출혈성 괴사 및 주변에 지방변성이 나타났는데 투여군 폐놀 농도에 따른 차이점을 발견할 수는 없었다. 폐놀을 장기간 투여한 군에서 광학현미경적으로 60 ppm 농도 투여군의 간에 지방변성 및 위장관에 염증이 관찰되었고 1% 투여군에서는 간에 경한 괴사 및 위점막에 출혈이 있었다.

장기간 폐놀 투여군의 투과전자현미경적 소견상 간 세포내 관찰되는 소견은 정도의 차이는 있었으나 실험 초기 소견과 유사하였다. DMN만 투여한 군이나 DMN과 폐놀을 함께 투여한 군에서 간세포는 핵이 커지고 핵막이 불규칙해지며 핵소체가 분명해졌다. 세포질내에 미토콘드리아는 모양이 매우 불규칙하고 막이 파괴된 것도 관찰되었으며 리소솜이 많이 관찰되었다.

광학현미경적으로 DMN만 투여한 실험군이나 DMN과 폐놀을 함께 장기간 투여한 실험군에서 간소엽이 파괴되고 변형이 되며 여러가지 크기의 증식성 결절이 관찰 되었는데 실험기간이 경과할수록 증식성 결절은 경계가 명확해지고 커지는 경향이였다. 간 조직편의 슬라이드를 400배의 배율로 3부분을 사진 촬영하여 5×7 인치로 인화한 후 관찰 결과 간세포가 커지고 핵의 다형태 및 과염색과 다핵형성등이 관찰되었는데 Anthony²¹와 Anthony²²는 이를 간세포 이형성으로 명명하였다. 이러한 간세포 이형성은 대조군이나 폐놀 투여군에서 3개의 400배 시야상 1~2개가 관찰되었으나 DMN과 폐놀을 함께 투여한 실험군에서는 상당히 많이 관찰되었다. 즉 DMN만 투여한 군에서는 3개월째에 5개, 6개월째 9개, 9개월째에 13개가 관찰되었으나 DMN과 1%의 농도의 폐놀을 투여한 군에서는 각각 6개, 13개 및 19개가 관찰이 되었다. 이러한 간세포 이형성을 일으킨 세포의 수는 DMN만 투여한 군에 비해 DMN과 폐놀을 함께 투여한 군에서 많이 관찰되어 DMN의 만성독성 작용에 폐놀이 상승작용을 일으킨 객관적 근거가 될 수 있다고 판단된다.

Boutwell과 Rosch¹²들은 성숙한 흰생쥐(albino mice)를 대상으로 9, 10-dimethyl-1, 2-benz anthracene(DMBA)를 투여하고 5% 및 10%의 폐놀이나 폐놀 유도체를 투여한 실험에서 폐놀만 투여한 실험군에서는 피부종양(유두종과 암종)이 발생되지 않았으나 DMBA를 투여후 폐놀을 투여한 실험군에서 DMBA만 투여한 군에 비해 10% 폐놀 투여군에 특히 유두종이 빨리 나타나고 종양의 수도 많이 나타나며 암종이 서서히 발생됨을 관찰하고 폐놀이 발암과정의 촉진인자라고 하였다.

Wynder와 Hoffman¹⁴들은 tobacco 물질의 발암 현상 실험에서 6주된 Swiss(Millerton) 자성 생쥐를 대상으로 DMBA 투여후 5% 및 10% 폐놀을 투여한 결과 투여한 폐놀 농도에 차이는 없었으나 종양형성이

촉진되어 실험 7개월째 50% 이상에서 유두종이 형성됨을 관찰하여 페놀이 발암과정의 촉진인자로 보고하였다.

Hirose 등³³⁻³⁹⁾은 6주된 웅성 F344 백서를 실험동물로 하여 N-methyl-N'-Nitro-N-nitroguanidine (MNNG)을 체중 kg당 150 mg을 gastric tube를 통해 투여하고 1주일 후부터 여러 종류의 페놀류를 투여한 결과 MNNG로 유발된 전위(forestomach) 부위의 편평상피암의 빈도가 MNNG 투여후 2-tert-butyl-4-methylphenol이나 p-tert-butylphenol을 함께 투여한 실험군에서 유의있게 증가됨을 관찰하고 페놀류가 발암과정의 촉진인자라고 하였다.

Anthony 등³¹⁾과 Anthony³²⁾는 간세포 이형성을 전암 상태로 생각하였으며 이의 출현 빈도는 정상 간에서 1%, 경화간에서 20.3%, 간암을 동반한 경화간에서 64.5%가 나타난다고 하였는데 자자의 실험에서 DMN을 9개월 투여한 모든 실험동물에서 간세포 이형성이 관찰되었다.

대조군이나 페놀 단독 투여군에 비해 DMN이나 DMN과 페놀 동시 투여군에서 훨씬 많은 수의 간세포 이형성 세포가 관찰되었는데 이는 DMN에 의한 암발생 전단계로 판단되었다.

이상의 소견으로 보아 페놀을 높은 농도로 투여시 위장관에 염증, 위점막에 출혈 및 간에 괴사를 유발할 수 있고, DMN과 같은 발암 물질을 투여후 페놀을 투여시 간세포 이형성 세포의 수가 증가하는 것으로 미루어 페놀이 발암과정의 촉진인자로 작용하여 위장관 특히 간에 암발생을 촉진시킬 것으로 추정되나 앞으로 이에 대한 생화학적 및 유전정보에 대한 연구가 계속 되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

페놀에 의한 중독시 간 및 위장관에 미치는 영향을 연구 관찰하기 위하여 숫컷 흰쥐를 실험동물로 하여 식수로 전격 판정된 지하수에 페놀을 30 ppm, 60 ppm 및 1%의 농도로 섞어서 매일 먹는 물로 공급하였으며, 또한 간독으로 알려진 dimethylnitrosamine (DMN)중독시 페놀의 상승 작용 유무를 연구하고자 DMN을 백서 체중 kg당 10 mg을 복강내에 주 1회 투여하였다.

실험 3개월, 6개월 및 9개월째에 실험 동물의 간과 위장관에 나타난 변화를 광학현미경적으로 관찰하고, 간조직을 투과전자현미경으로 관찰하였으며, 급성 중독시 위점막을 주사전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) DMN 단독 투여군에 비해 페놀이 고농도로 섞인 물을 함께 투여시 실험 동물의 폐사율이 높았다.
- 2) 페놀 급성 중독시 간세포내에는 지방변성 및 미토콘드리아의 막파괴나 수초도 형성이 있었다.

3) 페놀 만성 중독시 간에 지방 변성이 있고 위장관에 만성 염증이 있으며, 고농도 투여군에서는 위점막에 출혈 및 간소엽 중심정맥 주위에 괴사가 나타났다.

4) 광학현미경 소견상 DMN 중독시 간에 증식성 결절 및 간세포 이형성이 실험 기간에 비례해서 심하게 나타났으며, DMN과 페놀을 함께 투여한 군에서 더욱 심한 경향을 보였다.

5) 전자현미경적 소견상 DMN과 페놀을 함께 투여한 군에서 DMN 단독 투여군에 비해 간세포의 지방 변성이 심하고 미토콘드리아의 모양도 다양했으며, 담소관에 미세용모의 수도 감소되거나 짧아졌다.

이상의 소견으로 미루어 페놀은 고농도로 장기간 투여시 간 및 위장관에 괴사 및 만성염증을 유발하고 DMN과 같은 간독과 상승작용을 일으키는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Klaassen CD, Amdur MD, Doull JD. *Casarett and Doull's toxicology*. 4th ed. New York: Macmillan Publishing Co., 1986; 276-7.
- 2) Hodgson E, Guthrie FE. *Introduction to biochemical toxicology*. New York: Elsevier, 1982; 118-9.
- 3) Ferre-Brechner T. *Cancer; Rational management of cancer related pain, practical management of pain*. Year Book Medical Publishers, 1986; 312-23.
- 4) Young RR, Shahani BR. *Spasticity in spinal cord injured patients*. Ralph FB, Mel Basbaum(ed), *Management of spinal cord injuries*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1986; 241-53.
- 5) Rom WN, Renzetti AD, Lee JS, Archer VE. *Environmental and occupational medicine*. Boston: Little, Brown and Company, 1989; 527-8.
- 6) Baker EL, Landrigan PJ, Berozzi PE, Field PN. *Phenol poisoning due to contaminated drinking water*. Arch Environ Health 1978; 33: 89-94.
- 7) Jarvis SN, Staube RC, Williams ALJ, Bartlett CLR. *Illness associated with contamination of drinking water supplies with phenol*. Br Med J 1985; 290: 1800-3.
- 8) Piotrowski JK. *Evaluation of exposure to phenol: absorption of phenol vapour in the lungs and through the skin and excretion of phenol in urine*. Br J Industr Med 1971; 28: 172-9.
- 9) Gleason MN, Gosselin RE. *Clinical toxicology of commercial products*. 4th ed, Baltimore: Williams & Wilkins, 1976; 7-27.
- 10) Merliss RR. *Phenol marasmus*. JOM 1972; 14: 55-64.
- 11) Stajduhar-Caric Z. *Acute phenol poisoning*. J Forensic Med 1968; 15: 41-51.
- 12) Boutwell RK, Rosch DK. *The tumor promoting*

- action of phenol and related compounds for mouse skin. *Cancer Res* 1959; 19: 413-24.
- 13) Criteria for a Recommended Standard. *Occupational Exposure to phenol. DHEW publication No. (NIOSH) 76-196, 1976. Washington, D.C.: U.S. government printing office, 1976; 76-196.*
- 14) Wynder EL, Hoffman D. A study of tobacco carcinogenesis: The role of the acidic fractions as promoters. *Cancer* 1961; 14: 1306-15.
- 15) Van Durren BL, Sivak A, Langset L. *Initiators and promoters in tobacco carcinogenesis. Natl Cancer Inst Monogr* 1968; 28: 173-80.
- 16) Van Duuren BL, Goldschmidt BM. *Cocarcinogenic and tumor promoting agents in tobacco carcinogenesis. J Natl Cancer Inst* 1976; 56: 1237-42.
- 17) Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E. *Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. Environ Mutagen, Suppl*, 1983; 1: 3-142.
- 18) Witschi HP, Kehrer JP. *Adenoma development in mouse lung following treatment with possible promoting agents. J Am Coll Toxicol* 1982; 1: 171-84.
- 19) Williams GM. *Epigenetic promoting effects of butylated hydroxyanisole. Food Chem Toxicol* 1986; 24: 1163-6.
- 20) Brown NA, Coakley ME, Clarke DO. *Structure teratogenicity relationships of valproic acid congeners in whole embryo culture. In: Welsch F(ed), Approaches to elucidate mechanisms in teratogenesis, Washington: Hemisphere Publ. Corp. 1987; 17-29.*
- 21) Faustman EM, Kirby Z, Gage D, Varnum M. *In vitro developmental toxicity of five direct acting alkylating agents in rodent embryos: Structure-activity patterns. Teratology* 1989; 40: 199-210.
- 22) Kavlock RJ. *Structure-activity relationships in the developmental toxicity of substituted phenols: In vivo effects. Teratology* 1990; 41: 43-59.
- 23) Oglesby LA, Erbon-McCoy MT, Logsdon TR, Copeland F, Beyer PE, Kavlock RJ. *In vitro embryotoxicity of a series of parasubstituted phenols: Structure, activity, and correlation with in vivo data. Teratology*, 1992; 45: 11-33.
- 24) Zimmerman HJ, Ishak KG. *Hepatic injury due to drugs and toxins. In: MacSwen, R.N.M(ed.), Pathology of the liver, 2nd ed, New York: Churchill Livingstone, 1987; 503-38.*
- 25) Zimmerman HJ. *Hepatotoxicity: The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. New York: Appleton-Century-Crofts, 1978; 145-64.*
- 26) Sherlock DS. *Diseases of liver and biliary system. 7th ed. London: Blackwell scientific publications, 1985; 108-16.*
- 27) Madden JW. *Dimethylnitrosamine induced hepatic cirrhosis: A new canine model of an ancient human disease, Surgery* 1970; 68: 260-71.
- 28) Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. *Pathologic basis of disease. 4th ed. Philadelphia: Saunders Co., 1989; 28-9.*
- 29) Luft JH. *Improvement in epoxy resin embedding method. J Biophys Biochem Cytol* 1961; 9: 409-14.
- 30) Reynolds ES. *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol* 1963; 17: 208-12.
- 31) Anthony PP, Vogel CL, Barker LF. *Liver cell dysplasia: A premalignant condition. J Clin Path* 1973; 26: 217-23.
- 32) Anthony PP. *Precursor lesions for liver cancer in humans. Cancer Res* 1976; 36: 2679-83.
- 33) Hirose M, Masuda A, Imaida K, Kagawa M, Tsuda H, Ito N. *Induction of forestomach lesions in rats by oral administrations of naturally occurring antioxidants for 4 weeks. Jpn. J. Cancer Res* 1987; 78: 317-21.
- 34) Hirose M, Inoue T, Asamoto M, Tagawa Y, Ito N. *Comparison of the effects of 13 phenolic compounds in induction of proliferative lesions of the forestomach and increase in the labelling indices of the glandular stomach and urinary bladder epithelium of syrian golden hamsters. Carcinogenesis* 1986; 7: 1285-9.
- 35) Hirose M, Kurata Y, Tsuda H, Fukushima S, Ito N. *Catechol strongly enhances rat stomach carcinogenesis: a possible new environmental stomach carcinogen. Jpn J Cancer Res* 1987; 78: 1144-9.
- 36) Hirose M, Fukushima S, Kurata Y, Tsuda H, Tatematsu M, Ito N. *Modification of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine-induced forestomach and glandular stomach carcinogenesis by phenolic antioxidants in rats. Cancer Res* 1988; 48: 5310-15.
- 37) Hirose M, Kagawa M, Ogawa K, Yamamoto A, Ito N. *Antagonistic effect of diethylmaleate on the promotion of forestomach carcinogenesis by butylated hydroxyanisole(BHA) in rats pretreated with N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine. Carcinogenesis* 1989; 10: 2223-6.
- 38) Hirose M, Masuda A, Fukushima S, Ito N. *Effects of subsequent antioxidant treatment on 7, 12-dimethyl-benz(a) anthracene-initiated carcinogenesis of the mammary gland, ear duct and forestomach in Sprague-Dawley rats. Carcinogenesis* 1989; 9: 101-4.
- 39) Hirose M, Yamaguchi S, Hasegawa R, Takahashi S, Ito N. *Promotion by dihydroxybenzene derivatives of N-methyl-N-nitro-nitrosoguanidine-induced F344 rat forestomach and glandular stomach carcinogenesis. Cancer Res* 1989; 49: 5143-7.