

아황산가스가 백서 기관상피에 미치는 영향에 관한 광학현미경 및 주사전자현미경적 연구

건국대학교 의과대학 이비인후과학교실

홍 식 찬

충북대학교 의과대학 이비인후과학교실

추 무 진

= Abstract =

Light Microscopic and Scanning Electron Microscopic Study of Tracheal Epithelium by Exposure to Sulfur Dioxide Gas in Mice

Seok-Chan Hong, M.D.

Department of Otolaryngology, College of Medicine, Kon-Kuk University

Moo-Jin Choo, M.D.

Department of Otolaryngology, College of Medicine, Chung-Buk University

Sulfur dioxide, one of the important environmental pollutants, has been related to the increased morbidity rates or death due to respiratory damage. To investigate the effects of sulfur dioxide on the tracheal epithelium, an experiment was performed with 48 mice from the same colony. Experimental animals were divided into 3 groups, 30-minute exposure group, 60-minute exposure group, and 120-minute exposure group to 20 ppm sulfur dioxide gas.

Histopathological findings of mice exposed to sulfur dioxide were studied in each group with light microscope immediately, 24 hours and 48 hours after sulfur dioxide exposure. No specific differences were noted among 3 groups.

Scanning electron microscopic examination showed a tendency for ciliary compounding and ciliary lying-down in tracheal epithelium of mice exposed to sulfur dioxide. Ciliary compounding and lying-down were increased in severity as the exposure time was increased. However, ciliary compounding and lying-down disappeared 48 hours after exposure in all groups.

KEY WORDS : Sulfur dioxide · Scanning electron microscope · Light microscope · Ciliary compounding and lying-down.

* 본 논문은 1993년도 건국대학교 학술진흥처 연구비에 의해 수행되었음.

우리나라가 산업화, 공업화함에 따라 환경오염도 비례하여 더욱 더 심해지고 있다. 1992년도 환경처의 대기오염 분석결과를 보면 대기오염의 주요 오염 가스인 아황산가스(SO₂) 농도가 서울이 0.035ppm, 부산이 0.033ppm, 안양이 0.043ppm, 수원이 0.043ppm으로 보고되고 있어 우리나라의 아황산가스 기준치인 0.03ppm을 상회하는 것으로 알려져 있다¹⁾.

대기오염이 증가하면 이에 따른 유병상태가 증가된다는 것은 1952년 London의 smog에 의한 호흡기질환의 증가와 1960년대초 일본의 미에현 모카이치시에서의 아황산가스에 의한 집단적 기관지 천식환자의 발생의 경우 등에서 알 수 있다²⁾. 정³⁾의 보고에 의하면 서울시의 호흡기질환자의 일별 내원률이 대기중의 아황산가스 및 일산화탄소 농도와 밀접한 관계를 나타내었다고 하였다. 박⁴⁾은 아황산가스 폭로군에 있어서 혈색소량, hematocrit치 및 백혈구수가 모두 감소하였으며, 그 정도는 농도와 비례한다고 하였고, 장기의 수분함유량의 변화에 있어서 폐장에서만 증가하였고 부신에서는 감소하였으며, organ-body weight ratio의 변화에 있어서 폐장에서만 증가하였고 부신에서는 감소한다고 하였다. 추⁵⁾는 급성 아황산가스 폭로가 백서의 기도에 미치는 영향에 대한 실험에서 1,000ppm 이상 고농도의 아황산가스흡입은 주기관지까지의 상기도에 심한 병리조직학적 병변을 가져오는 반면, 저농도의 아황산가스흡입에 있어서는 폐엽기관지나 폐포에 비교적 많은 변화를 가져온다고 하였으며, 고농도 아황산가스의 단시간 폭로는 주로 화농성 또는 점액성 삼출물을 분비시키나 저농도 아황산가스의 비교적 장시간폭로는 출혈성인 병변을 가져오는 특징이 있다고 하였다.

최근에 주된 관심사는 일상적으로 노출되는 저농도의 대기오염이 인간의 건강에 어느 정도의 영향을 미치는가 하는 점이다. 이에 저자는 아황산가스가 기관(trachea)에 미치는 영향에 대하여 알아보기 위하여 광학현미경 및 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 병리조직학적

재료 및 방법

1) 실험동물의 선정

실험동물로서는 체중 25~35g의 외견상 건강한 백서 암컷 48마리를 사용하였다. 백서는 동일한 군체에서 생긴 ICR 백서로서 생후 동일한 사육실에서 백서표준사료로 사육시킨후 생후 7~8주 되는 시점에 실험을 시행하였다. 또한 가스방(gas chamber)에 익숙하게 적응시키기 위해 실험 3일전부터 가스방에서 사육한 뒤 실험에 사용하였다.

2) 실험동물군

실험에 사용된 48마리의 백서중 20ppm의 아황산가스에 폭로시킨 것은 36마리를, 30분간 폭로된 12마리를 제1군, 60분간 폭로된 12마리를 제2군, 120분간 폭로된 12마리를 제3군으로 분리하였고, 12마리는 대조군으로 각 군마다 4마리씩 사용하였다. 각 군별로 제1군에서는 20ppm 아황산가스에 30분 폭로시킨 12마리를 폭로직후, 폭로후 24시간, 48시간 경과한 후에 각각 4마리씩을 희생시키었고, 제2군은 아황산가스에 60분 폭로시킨 12마리를 폭로직후, 폭로후 24시간, 48시간 경과한 후에 각각 4마리씩 희생시키었으며, 제3군 역시 아황산가스에 120분 폭로시킨 12마리를 폭로직후, 폭로후 24시간, 48시간이 경과한 후에 각각 4마리씩 희생시키어 광학현미경 및 주사전자현미경으로 관찰하였다.

3) 아황산가스 폭로 환경

아황산가스방은 내경 29cm, 길이 63cm의 아크릴제 원통형으로 유독가스에 동물을 폭로시키기 위해 고안되었다. 백서는 아황산가스에 폭로되기전 3일간 아황산가스방에서 사육하여 아황산가스방에 적응시켰다. 아황산가스의 폭로는 30분부터 120분까지 20ppm으로 지속적으로 폭로시켰다. 아황산가스의 공급은 한국표준과학연구원의 제조로 100기압으로 압축된 가

스를 사용하였고 아황산가스의 농도 측정은 일본 Gastec사에서 제조되어 아황산가스 5~100ppm까지 측정가능한 검지관을 사용하여 농도를 20ppm으로 유지하였다.

4) 병리조직학적 검색

아황산가스 폭로가 소정시간대로 끝난 백서에 대하여 sodium pentobarbital을 체중 kg당 30mg을 주사하여 마취한 후 경부에 피부절개를 가한 후 기관을 채취하였다.

가. 광학현미경 검색

광학현미경 검색을 위해 채취한 기관을 10% 포르말린(formalin : formaldehyde)용액에 넣어 고정하였다. 고정된 조직을 에칠알콜(ethyl alcohol)에서 순차적으로 탈수시킨 다음 실렌(xylene)에서 세척하고 파라핀을 부어 고정하였다. 이 파라핀 블록을 7mm 두께로 박절하여 헤마톡실린-에오신(hematoxylin-eosin)으로 염색한 후 광학현미경하에서 기관점막의 병리조직학적 변화를 관찰하였다. 광학현미경 검색은 기관점막의 병변에 대하여 염증세포의 침윤, 부종, 상피층의 박탈 및 위축 등에 대하여 대조군과 폭로 30분, 60분, 120분군과 폭로시간에 따라 폭로직후, 폭로후 24시간, 48시간 경과군을 비교하였다.

나. 주사전자현미경 검색

주사전자현미경 검색을 위해 채취한 기관을 2.5% 글루타르알데하이드(glutaraldehyde)용액에 전고정하였다. 전고정된 절편을 완충액(buffer)으로 세척한 후 1% 오스mium(OsO₄)용액 및 TCH(thiocarbohydrazine)로 고정하고 알콜로 탈수시킨 후 임계점 건조를 거쳐 봉입하여 관찰하였다. 주사전자현미경(Hitachi S-2500C) 검색은 기관점막의 병변에 대하여 섬모의 모양 및 손상정도, 점액세포의 모양 등에 대하여 대조군과 폭로 30분, 60분, 120분군과 폭로시간에 따라 폭로직후, 폭로후 24시간, 48시간 경과군을 비교하였다.

1. 광학현미경 소견

기관점막의 병변에 대하여 염증세포의 침윤, 부종, 상피층의 박탈 및 위축 등에 대하여 대조군과 폭로 30분, 60분, 120분군과 폭로시간에 따른 폭로직후, 24시간, 48시간 경과군을 비교하여 보았으나 특이한 차이점을 발견할 수 없었다.

2. 주사전자현미경 소견

(1) 대조군과 폭로 30분, 60분, 120분군간의 비교

대조군의 기관의 주사전자현미경상은 섬모들(cilia)이 조모로 뒤덮힌 용단의 모양(shag-rug texture)¹⁰⁾을 나타내었으며, 섬모들의 사이 사이에 점액세포들이 있었으며 점액세포들의 둥근 지붕모양의 표면(dome-shaped free surfaces)에는 미세용모 모양의 돌출물(microvillus-type projections)이 보였다(Fig. 1, 2).

이황산가스에 30분폭로군에서는 대조군과 섬모의 모양에 있어서는 커다란 차이점을 보이지 않았으나 점액물질은 약간 증가된 양상을 보여주었다(Fig. 3, 4).

아황산가스에 60분폭로군에서는 대조군이나 30분폭로군에 비하여 섬모의 모양에 있어서 커다란 차이점을 보여주었는데 섬모들의 융합

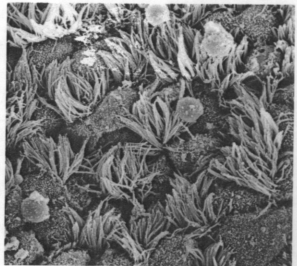


Fig. 1. Electromicroscopic findings of the tracheal epithelium of control mouse, ×2,500



Fig. 2. Electromicroscopic findings of the tracheal epithelium of control mouse, $\times 1,200$, $\times 6,000$

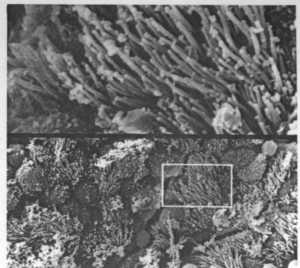


Fig. 4. Tracheal epithelium of a mouse exposed to 20ppm sulfur dioxide for 30 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

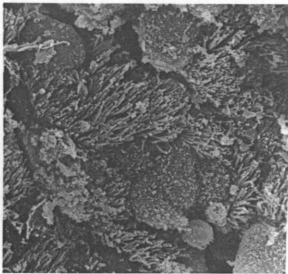


Fig. 3. Tracheal epithelium of a mouse exposed to 20ppm sulfur dioxide for 30 minutes, $\times 2,500$

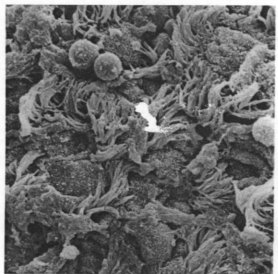


Fig. 5. Tracheal epithelium of a mouse exposed to 20ppm sulfur dioxide for 60 minutes, $\times 2,500$

(ciliary compounding)이나 횡와(ciliary lying-down) 등이 나타났으며, 점액물질도 증가된 양상을 보여주었다(Fig. 5).

아황산가스에 120분폭로군에서는 대조군이나 30분폭로군, 60분군에 비하여 섬모의 모양에 있어서 더욱 커다란 차이점을 보여주었는데 섬모들의 융합이나 횡와 등이 더욱 심하여졌으며, 점액물질도 더욱 증가된 양상을 보여주었다(Fig. 6, 7).

(2) 30분, 60분, 120분 폭로군의 24시간 및 48시간 경과후의 비교

아황산가스에 30분 폭로군에서 24시간 경과후의 섬모모양에 있어서는 커다란 차이점을 보이지 않았으나(Fig. 8, 9), 48시간 경과후에는 점액물질은 약간 증가되었으나 섬모들의 모양이 많은 회복을 보였다(Fig. 10, 11).

아황산가스에 60분 폭로군에서 24시간 경과후의 섬모의 모양은 융합이나 횡와 등이 지속

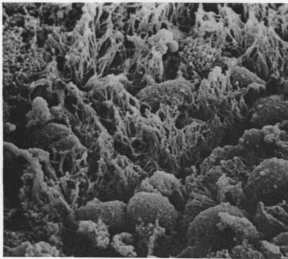


Fig. 6. Tracheal epithelium of a mouse exposed to 20ppm sulfur dioxide for 120 minutes, $\times 2,500$

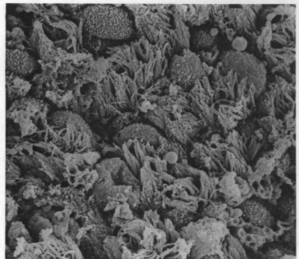


Fig. 8. Tracheal epithelium of a mouse 24 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 30 minutes, $\times 2,500$

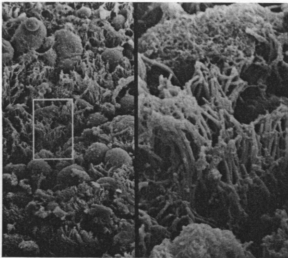


Fig. 7. Tracheal epithelium of a mouse exposed to 20ppm sulfur dioxide for 120 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

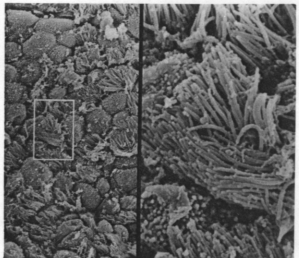


Fig. 9. Tracheal epithelium of a mouse 24 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 30 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

되었으며(Fig. 12, 13), 48시간 경과후의 섬모의 모양에 있어서는 많은 회복을 나타내었다(Fig. 14, 15).

아황산가스에 120분 폭로군에서 24시간 경과후의 섬모의 모양은 심한 융합이나 횡와 등이 지속되었으며(Fig. 16, 17), 48시간 경과후의 섬모의 모양에 있어서는 많은 회복을 나타내었다(Fig. 18, 19).

고 찰

아황산가스는 대기오염의 주요 오염가스로써 인체에 미치는 영향에 대하여 많은 업적이 보고되고 있다. Dalhamn과 Sjoeholm⁷⁾은 안정 호흡(quiet breathing) 시에 흡기중의 아황산가스는 대부분 코에서 흡수됨을 실험적으로 증명하였으며, Speizer와 Frank¹¹⁾은 사람에서

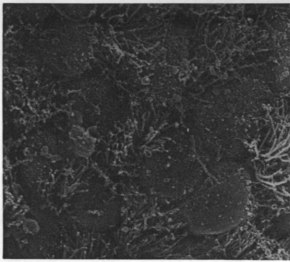


Fig. 10. Tracheal epithelium of a mouse 48 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 30 minutes, $\times 2,500$

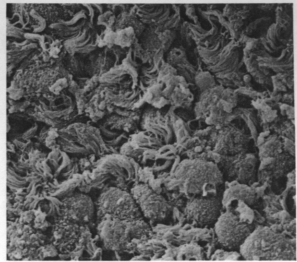


Fig. 12. Tracheal epithelium of a mouse 24 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 60 minutes, $\times 2,500$

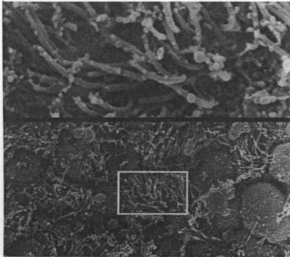


Fig. 11. Tracheal epithelium of a mouse 48 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 30 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

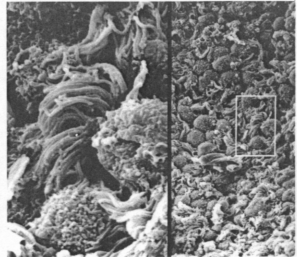


Fig. 13. Tracheal epithelium of a mouse 24 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 60 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

코로 들어온 흡기중의 1%미만의 아황산가스만 구인두에 도달한다고 하여 코로 들어온 흡기중의 대부분의 아황산가스는 비강내에서 흡수된다고 하였다. 지금까지 아황산가스는 점막의 부종, 분비물의 증가, 평활근 긴장도를 변화시킨다고 알려졌고 만성폐쇄성 폐질환(chronic obstructive lung disease)을 유발하는 원인 물질로 잘 알려져 있다. 아황산가스의 만성적 흡입은 호흡기질환의 원인이 되고 고농도의

아황산가스를 급성으로 흡입하게 되는 산업재해에 대한 보고가 있었다²⁹⁾. Kehol[®]은 아황산가스의 농도가 아주 낮은 환경아래서 생활할 지라도 시간이 길면 비인후염의 이환율이 높다고 보고하고 있다. Amdur[®]에 의하면 단시간 고농도의 폭로에 의하여는 기관협착, 후두경련이 나타나고, 장시간 폭로에 의하여는 모세관의 충혈과 출혈이 초래되어 폐에 더 많은 손상을 준다고 보고하고 있다.

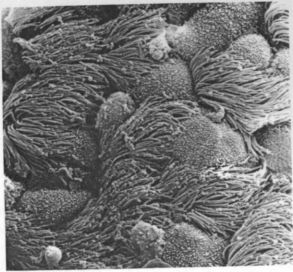


Fig. 14. Tracheal epithelium of a mouse 48 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 60 minutes, $\times 2,500$

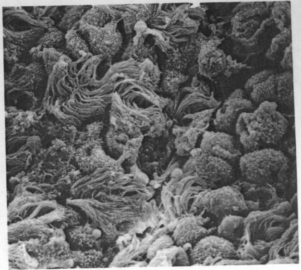


Fig. 16. Tracheal epithelium of a mouse 24 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 120 minutes $\times 2,500$

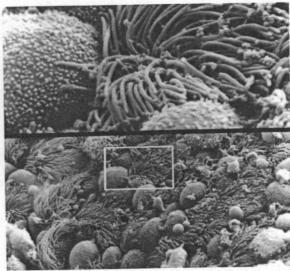


Fig. 15. Tracheal epithelium of a mouse 48 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 60 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

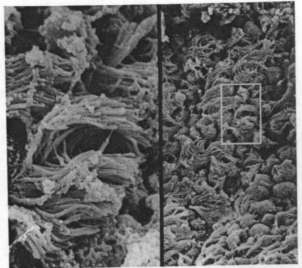


Fig. 17. Tracheal epithelium of a mouse 24 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 120 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

본 실험에서 광학현미경으로 기관점막의 병변에 대하여 염증세포의 침윤, 부종, 상피층의 박탈 및 위축 등에 대하여 대조군과 30분 폭로군, 60분 폭로군, 120분 폭로군 등을 비교하여 보았으나 특이한 차이점을 발견할 수 없었

는데 이는 Speizer와 Frank¹¹⁾ 등이 보고한 것처럼 코로 들어온 흡기중의 1% 미만의 아황산가스만 구인두에 도달한다는 것과 일맥상통한 것으로 생각되었다.

주사전자현미경으로 검색하였을 때에는 광

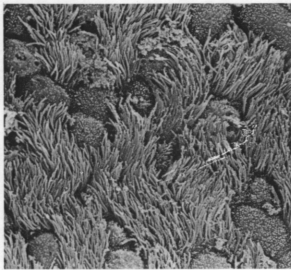


Fig. 18. Tracheal epithelium of a mouse 48 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 120 minutes, $\times 2,500$

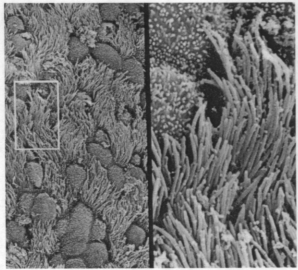


Fig. 19. Tracheal epithelium of a mouse 48 hours after 20ppm sulfur dioxide exposure for 120 minutes, $\times 1,200$, $\times 6,000$

학현미경으로 검색하였을 때에는 알 수 없었던 섬모들의 모양의 변화가 뚜렷이 관찰되었는데, 이는 주사전자현미경이 상피의 역학(dynamics)에 관한 정보를 얻기 위하여 유용한 수단일 수 있음을 입증한다고 하겠다. 본 실험에서 보는 바와 같이 아황산가스에 30분 폭로된 군보다는 60분 폭로된 군이, 60분 폭로된 군보다는 120분 폭로된 군이 기관의 주사전자현미경상인 조모로 뒤덮인 용단의 모양에 있어서 섬모의 융합이나 횡와가 증가되는 양상을 보여 주었다. 한편 30분 폭로된 군에 있어서 24시간 경과후에 주사전자현미경상에 있어서 커다란 변화가 보이지 않으나, 48시간이 경과한 후에는 많은 회복을 보이는 것으로 보아 30분과 같은 단기간의 폭로에 있어서는 48시간 정도가 경과하면 많은 회복이 되는 것으로 생각된다. 60분 폭로된 군에 있어서는 24시간 경과후에 30분 폭로군이 24시간 경과된 것과 비교할 때 보다는 섬모의 융합이나 횡와가 심하였으나, 48시간 경과후에는 많은 회복을 나타내었다. 120분 폭로된 군에 있어서는 24시간 경과후에 60분 폭로군이 24시간 경과된 것과 비교할 때 보다는 섬모의 융합이나 횡와가 심했으나 역시 48시간 경과후에는 많은 회복이

관찰되었다.

이상과 같은 관찰에서 20ppm과 같은 저농도의 아황산가스에 폭로되었을 경우에는 폭로시간이 증가할수록 섬모의 융합이나 횡와가 증가하나, 48시간 정도가 경과하면 많은 회복이 나타나는 것을 알 수 있겠다.

결 론

저자는 저농도(20ppm)의 아황산가스에 폭로된 백서 36마리와 대조군 백서 12마리를 사용하여 기관의 병변에 관한 광학현미경 및 주사전자현미경 검색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 광학현미경으로 염증세포의 침윤, 부종, 상피층의 박탈 및 위축 등에 대하여 검색한 결과, 대조군과 30분 폭로군, 60분 폭로군, 120분 폭로군 사이에 특이한 차이점을 관찰할 수 없었다.

2) 주사전자현미경으로 섬모의 모양에 관하여 관찰한 결과, 30분 폭로군보다는 60분 폭로군이, 60분 폭로군보다는 120분 폭로군이 섬모의 융합이나 횡와가 증가되는 양상을 보여

주었다.

3) 주사전자현미경 검색상 30분 폭로군에 있어서 24시간이 경과시에는 커다란 차이점이 발견되지 않았으나, 48시간이 경과시에는 많은 회복을 나타내었다.

4) 주사전자현미경 검색상 60분 및 120분 폭로군에 있어서 24시간 경과시에는 섬모의 융합이나 황화가 지속되었으나, 48시간 경과시에는 많은 회복을 나타내었다.

References

- 1) 박상용 : 이상화질소 및 아황산가스 급성 폭로가 백서의 호흡기계 및 각 장기에 미치는 영향에 관한 연구. 한이인지 17(1) : 1~12, 1974
- 2) 윤명조 · 조규상 : 도시대기오염의 현황 및 건강에 미치는 피해에 관한 조사연구 카톨릭의학논집. 20 : 215~232, 1971
- 3) 정규철 : 서울시 대기오염이 시민건강에 미치는 영향에 관한 조사연구. 예방의학회지 2 : 5~22, 1969
- 4) 추광철 : 급성 아황산가스 폭로가 백서의 기도에 미치는 병리조직학적 병변에 관한 실험적 연구. 한이인지 17(1) : 13~

27, 1974

- 5) 환경청 : 한국환경연감, 서울, 환경청, 1992
- 6) Amdur MD : Respiratory absorption data and sulfur dioxide-response curve. Arch Environ Health 12 : 729~732, 1986
- 7) Dalhamn T, Sjoeholm J : Studies on SO₂, NO₂ and NH₃ : Effect on ciliary activity in rabbit trachea of single in vitro exposure and resorption in rabbit nasal cavity. Acta Physiol Scand 58 : 287~291, 1963
- 8) French JG, Lowrimore G, Nelson WC et al : The effect of sulfur dioxide and suspended sulfates on acute respiratory disease. Arch Environ Health 27 : 129~133, 1973
- 9) Kehol RA : On the effects of prolonged exposure to SO₂. J Ind Hyg 14 : 159, 1932
- 10) Porter KR, Bonneville MA : Fine structure of cell and tissues, 4th Ed. Philadelphia, Lea & Febiger, pp 39~41, 1973
- 11) Speizer FE, Frank NR : The uptake and release of SO₂ by the human nose. Arch Environ Health 12 : 725~728, 1966