

시멘트 분진이 랫드의 폐장병변 및 폐포 macrophage의 기능에 미치는 영향

강신석, 강종구*, 정재황*

충청북도 농축산사업소 제천시소, 충북대학교 수의학과*

Study on the pulmonary lesions and the function of alveolar macrophage in the rats exposed to cement dust

Shin-Seok Kang, Jae-Hwang Jung*, Jong-Koo Kang*

*Checheon-branch of Chungbuk Office of Agriculture and Livestock .
Department of Veterinary Medicine, Choongbuk National University**

Abstract

These experiment was carried out to investigate the pulmonary lesions and the function of alveolar macrophages in rats exposed to cement dusts.

1. The number of total cells in bronchoalveolar lavage fluid(BAL) increased remarkably in 1st month. As time goes by, tend to less and less in numbers.

2. The number of neutrophil and lymphocytes obtaining from the total cell of BAL increased remarkably in first month, but as time goes by, they tended to grow less and less in number. Macrophages decreased gradually after being temporarily augmentation.

3. Histopathologically, the thickening of alveolar walls, alveolar interstitial, and infiltrated macrophages containing cement dusts.

Key words : Cement dust, Alveolar macrophages, BAL.

서 론

생활환경 주위에는 항상 분진이 존재하며

우리도 모르는 사이에 분진을 마시면서 생활하고 있다. 분진이 소량이면 호흡기계 존재하는 탐식세포들의 탐식, 제거작용으로 장애가

거의 없으나, 소량일지라도 대기오염으로 인하여 지속적으로 흡입되면 질병을 유발시킬 수 있다. 분진은 유기성 분진과 무기성 분진으로 나누어지는데 분진 중에서 특히 무기성 분진이 장기간 흡입될 시 이로 인한 질병을 진폐(pneumoconiosis)라고 하는데 다량을 흡입한 경우에는 단기간이라도 분진이 폐조직내에 머물러 폐실질 및 림프관에 염증을 일으키고 결정상 변화나 결합직 형성을 일으킨다고 한다¹⁻³⁾.

진폐의 발생은 분진의 흡입인자의 양, 분진의 크기, 분진의 농도, 독성 등이 질환에 영향을 미치나 동일조건과 동일 폭로기간 하에서도 질환의 발생 및 진행 정도에는 차이가 있어서 유전적인 소인이 관련 되는 것으로 밝혀져 있다^{4,5)}.

진폐증 중에서도 가장 잘 알려진 것으로는 석탄분진에 의한 탄분침착증(anthracosis), 유리규산 분진에 의한 규폐증(silicosis), 그리고 석면의 분진에 의한 석면폐증(asbestosis)이 있다. 탄분증은 석탄분진의 장기적인 흡입으로 호흡곤란, 흉부 압박감 및 폐의 섬유화를 일으키며 분진에 폭로된 시점으로 부터 평균 13년~15년이 걸린다고 알려져 있는데 주로 유전적인 소인 및 면역학적인 관점에서 연구가 이루어져 왔다⁴⁻⁶⁾.

규폐증은 1700년 이탈리아 내과의사인 Ramazzini의 저서 De Morbis Artificum Diatriba에서 병리학적인 용어로 처음 사용 되었는데⁷⁾ 진폐증 중에서 약 80% 이상을 차지하며 폐포 macrophage의 결절성 육아종의 형성 후 섬유증으로 진행되며 반흔을 형성한다고 알려져 있다. 순수 유리규산을 포함한 공기중에서 일할 경우에는 발증까지 약 15년~20년 정도가 걸리며 최초 증세는 피부가 검푸르게 되고 호흡장애를 일으킨다고 알려져 있다^{1,2,7,8)}.

석면폐증은 산업화가 급속하게 이루어지는 1960년경부터 연구되기 시작 하였는데 이때에는 주로 소화기계의 암(gastrointestinal cancer)과 연계하여 연구가 이루어졌었다. 사람에서는 분진의 입자가 5~10 μ m인 것은 폐포 macrophage에 의해 탐식되어 섬유증을 발생시키지 않으나, 입자가 10~20 μ m인 것은 흡입초기에 세기관지의 폐포연결부위에 넓고 심한 간질성

섬유증을 유발하는데 이때 macrophage가 섬유증의 유발에 관여한다고 한다. 또한 입자가 20 μ m 이상인것은 macrophage 여러개가 한꺼번에 붙어서 마치 giant cell같이 보이는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾.

랫드에서는 폐포관 분기점에서 우선적으로 석면이 침착되며 세기관지에서 먼쪽 보다는 가까운쪽에 많이 나타나는데 간질 섬유가 석면폐증의 발생에 주요한 역할을 담당하는 것으로 추정되며 폐포상피세포가 또한 석면섬유의 침착에 기여하여 흉막중피종과 기관지원성 압과도 연관성이 있는 것으로 보고되었다¹¹⁻¹⁶⁾.

분진에 의한 폐질환의 진행과정에서 염증세포들이 많이 관여 하는데 특히 macrophage는 폐장 섬유화를 유도하는 것으로 알려져 있다^{11,17-20)}. Macrophage는 단핵탐식세포계에서는 잘 알려진 세포로 일반적으로 골수에서 유래되는 것으로 결합조직 뿐아니라 간장, 림프기관 및 골수등의 혈관내에서 특수한 내피세포로서 존재하는데 이들은 체내에서 탐식작용을 하는 다른 세포들과 더불어 macrophage system 또는 세망내피계를 형성한다. Macrophage의 일반적인 기능은 탐식작용, 분비작용, 항원제시작용(antigen-presenting function), 살균작용, 종양세포 상해작용, 지질의 대사작용, 그리고 조직의 재생에 관여하는것으로 알려져 왔으며 macrophage 표면에 존재하는 Fc 및 C3b수용체는 탐식작용과 관련되는 수용체로 보고되었다^{17,21-24)}.

Macrophage의 폐장으로의 이동은 1) 내피세포, 간질, 상피세포를 통한 폐포로의 직접이동, 2) 단세포 또는 colony-forming units(CFU)에서 간질조직으로의 이동, 3) 간질조직에 남아 있던 macrophages가 분화 성숙후 기낭으로의 이동, 4) 1)~3)까지의 과정이 서로 연관된 이동으로 이루어지며 macrophages는 폐질환의 모든 방어체계에서 중추적인 역할을 수행하며 단핵탐식세포계에서 뿐아니라 면역학적인 관계에서도 필수적인 세포로 알려져 있으며 Warheit 등은 석면은 macrophage의 기능을 저하 시킨다고 하였다^{17,25-33)}.

Nitric oxide(NO)는 생체조직내에서 여러종

류 세포의 arginine으로 부터 생성되는 것으로 상피세포, 간 세포, 뇌, macrophage 등 다양한 세포에서 나타나며 매우 불안정하며 존속 기간이 6~10초 정도이며 탐식세포 등에서의 살균효과, 뇌에서의 신경전달물질로서도 작용하며 혈관내피세포에서는 혈관이완작용도 하는 것으로 알려져 있다. 탐식세포가 이물질을 탐식, 제거하는 과정에서 탐식세포는 superoxide 같은 반응산소중간물질이나 NO같은 반응질소중간물질을 생성할 수 있기 때문에 세포내 이물질을 제거하는 것으로 보고되었다. 최근 Hibbs 등²⁰⁾은 종양세포에 대한 macrophage의 독성도 NO의 생성에 의해서 이루어진다고 하였으며 macrophages에서는 NO가 없으면 탐식기능이 일어나지 않을 뿐아니라 생성되는 세포의 수와 질적인 활성화에서도 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있다^{20,34~38)}. 그러나 진폐증 유발물질 등이 폐포 macrophage의 NO활성에 미치는 영향에 대한 보고는 아직 없었다.

이에 본 연구에서는 시멘트분진이 폐질환에 미치는 영향을 직접적으로 규명하고 질환의 진행정도 등을 관찰하여 환경오염에 의한 직업병의 치료 및 예방에 관한 기초연구로서 시멘트 분진에 폭로시킨 랫드에 대하여 시간경과에 따른 폐장병변의 변화, 기관지폐포세정액 (broncho-alveolar lavage, BAL)내의 폐장세포의 동태 및 폐포 macrophage의 활성능을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 8주령의 암컷 Sprague-Dawley (SD) rat(체중, 210~230g)을 2주간 실험실에서 적응 시킨 후 실험에 사용하였다. 전 실험기간 중에는 시멘트 분진의 농도가 평균 241 μ g/m³ 정도 발생하는 지역내에서 시멘트 분진에 폭로시켰다. 대조군은 폭로군과 같은 장소에서 사육되 filter cap을 씌워 분진의 접촉을 차단시켰다. 사료는 실험동물용으로 생산된 마우스용 고형사료(삼양사료)를 급여 하였으며 급수로는 수도물을 자유롭게 섭취토록 하였다.

2. 시험군배치

시험군의 배치는 Table 1에서와 같이 각 group당 폭로군은 각각 10마리, 대조군은 6마리씩 배치하였으며 group에 따라 1개월, 2개월, 3개월, 4개월간 분진에 폭로시켰다.

Table 1. Experimental group of rats exposed to cement dust

Group	No of aimals		Exposed months
	Exposed	Conrol	
1	10	6	1
2	10	6	2
3	10	6	3
4	10	6	4

3. 폐포 세정액의 채취

폐포 세정액의 채취는 Tokunaga 등³⁹⁾의 방법으로 실시 하였으며 폭로시간의 경과에 따라 랫드를 ether로 마취 시킨 후 70% ethanol로 소독하여 목부위를 종축으로 3cm정도 절개하여 기관지를 노출시킨 다음 무균작업대 위에서 기관지내에 직경 2mm짜리 실리콘 튜브를 삽입시키고 Ca⁺⁺-Mg⁺⁺ free PBS(이하 PBS(-))를 랫드당 1회에 10ml씩 주입하여 총 4회에 걸쳐 40ml를 주입하여 기관지 폐포세정액(bronchoalveolar lavage, BAL)을 회수하였다. BAL을 회수한 후 1,500rpm에서 10분간 원심분리시킨 후 상층액은 버리고 이때 BAL회수 과정에서 채취된 적혈구는 0.83% NH₄Cl-Tris buffer를 약간 가하여 잘 혼합한 후 제거하였으며 다시 PBS(-)로 세포를 3회 세척, 원심분리하여 세포를 채취하였다.

그후 원심분리된 세포는 Doyle 등⁴⁰⁾의 방법으로 실시하였으며 원심분리된 세포에 fetal calf serum(Biological industries)이 5% 함유된 냉장 RPMI 1640배지 5ml를 가하여 잘 현탁시킨 후 세포 현탁액과 0.4% trypan blue액을 1:1로 희석, 염색한 후 혈구계산판을 이용하여 BAL내의 총 세포수를 계산 하였다.

4. 폐장 세포의 분획 검사

Macrophage, neutrophil 그리고 lymphocyte의 시간경과에 따른 세포수의 변화를 파악하기 위해서 BAL에서 채취한 세포를 RPMI 1640배지에 5×10^4 cells/ml이 되도록 부유하여 1,500 rpm에서 10분간 원심도말(cytospin)한 후 Wright-Giemsa염색하여 감별 계산하였다.

5. 폐포macrophage의 rosette 활성 측정

Alsever's 용액에 1:1로 희석한 신선한 면양혈액을 1,500rpm에서 10분간 원심하고 상층액 및 백혈구를 제거하였다. 면양적혈구(SRBC)는 PBS(-)로 3회 원심세척하고, E-MEM배지로 128배 희석한 rabbit anti-SRBC IgG(Cappel, Organon Teknika Corp, USA)를 가하여 37°C shaking water bath에서 1시간 흡착시켰다. 그후 1,500rpm에서 10분씩 3회 원심분리하여 얻은 SRBC를 antibody-sensitized SRBC(erythrocyte antibody : EA)로 이용하였다.

폐포 macrophages의 Fc 수용체 매개성(Fc receptor mediated) rosette 형성능은 35mm plastic dish(녹십자)에 멸균된 22×22mm cover-glass를 넣은 다음 약 1×10^6 cells/ml를 가하고 CO₂ incubator에서 2시간 배양하였다. 이어서 37°C의 RPMI 1640배지를 이용 3회 세척하여 미부착된 세포를 제거하였다. 이어서 5×10^7 cells/0.1ml의 EA를 넣고 37°C에서 15분간 배양한 후 동일 온도의 배지로 3회 조심스럽게 세척한 다음 cover-glass를 꺼내어 건조·고정하여 Wright-Giemsa 염색하고 관찰하였다.

6. NO의 측정

Macrophage에 의해 만들어지는 NO는 NO₂가 대부분이기 때문에 이를 발색시켜 Ding 등⁴¹⁾의 방법을 약간 변형하여 측정하였으며 50μl의 배양액에 동량의 Griess reagent(1% sulfanilamide, 0.1% naphthylene diamine dihydrochloride, 2.5% H₃PO₄)를 섞고 어두운 곳에서 30분간 방치시킨 후 spectrophometer를 이용하여 543nm에서 흡광도를 측정하였다.

NO₂농도에 대한 표준곡선은 sodium nitrite

를 계단 희석하여 흡광도를 측정하여 사용하였다.

7. 병리조직학적 검사

실험동물의 폐를 적출한 후 10% 중성 formalin에 4시간 고정한 후 약 5mm 간격으로 세절한 다음 48시간 고정하여 통상적인 방법으로 파라핀 포매하였다. 포매가 끝난 조직들은 4μm 두께로 박절하여 Hematoxylin-Eosin(이하 H-E 염색)으로 염색한 후 광학 현미경 하에서 관찰하였다.

결 과

기관지폐포 세정액속의 랫드 당 총세포수에 있어서 대조군은 1개월째에는 4.4×10^5 개, 2개월째에는 4.6×10^5 개, 3개월째에는 4.3×10^5 개, 4개월째에는 4.8×10^5 개로 시간경과에 관계없이 비슷한 수준을 유지하고 있으나 폭로군에 있어서는 폭로 1개월째에는 2.4×10^5 개로 현저하게 증가하였다가 폭로 2개월째에는 9.4×10^5 개, 폭로3개월째에는 5×10^5 개로 현저하게 감소하였으며 폭로 4개월째에는 2.8×10^5 개로 대조군 보다도 낮게 나타났다(Fig 1).

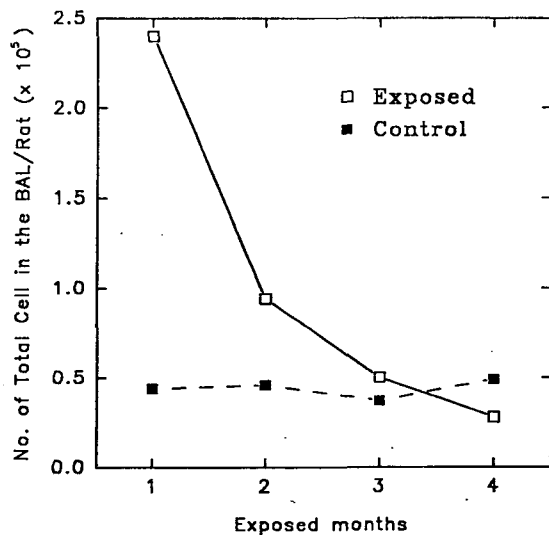


Fig 1. Changes of total cell number in the bronchoalveolar lavage fluid(BAL) from rats exposed to cement dust

폐포 macrophage의 수에 있어서는 대조군이 1개월째에는 3.4×10^5 개, 2개월째에는 4.0×10^5 개, 3개월째에는 4.1×10^5 개, 4개월째에는 3.6×10^5 개로 완만한 증가 및 비슷한 수준을 보이는 반면에 폭로군은 폭로기간 전반에 걸쳐 대조군보다 낮아 폭로 1개월째에는 3.3×10^4 개, 폭로 2개월째에는 3.7×10^5 개, 폭로 3개월째에는 3.2×10^5 개, 폭로 4개월째에는 2.2×10^5 개로 나타났다(Fig 2).

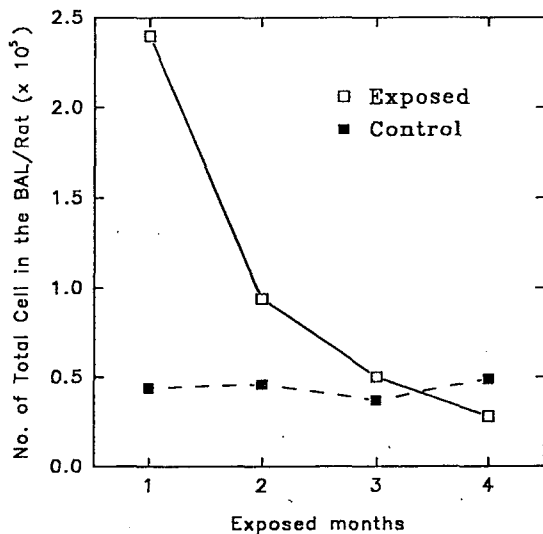


Fig 2. Changes of alveolar macrophages number in the bronchoalveolar lavage fluid(BAL) from rats exposed to cement dust

Neutrophil의 수에 있어서는 대조군은 1개월째에는 7.0×10^3 개, 2개월째에는 1.1×10^4 개, 3개월째에는 1.1×10^4 개, 4개월째에는 1.6×10^4 개로 비슷한 수준을 나타내는 반면에 폭로 1개월째에는 1.9×10^6 개로 현저하게 증가 되었다가 폭로 2개월째에는 2.4×10^5 개로 현저하게 감소되고 폭로 3개월째에는 2.3×10^4 개, 폭로 4개월째에는 5.6×10^3 개로 점차적으로 감소하는 경향을 보였다(Fig 3).

Lymphocyte의 수에 있어서 대조군은 1개월째에 8.7×10^4 개, 2개월째에는 5.5×10^4 개,

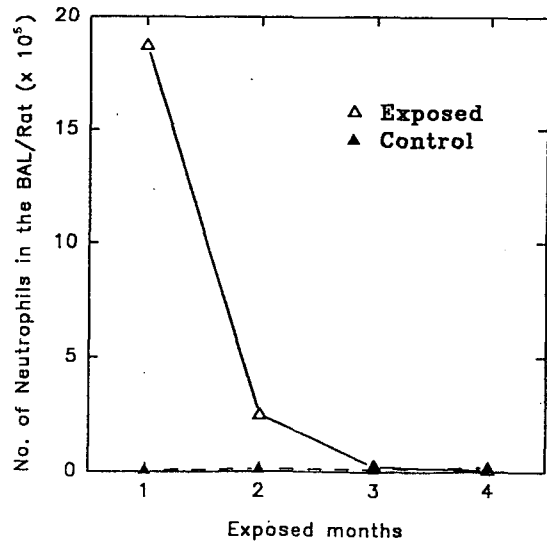


Fig 3. Changes of neutrophils number in the bronchoalveolar lavage fluid(BAL) from rats exposed to cement dust

3개월째에는 7.4×10^4 개, 4개월째에는 1.0×10^5 개로 나타났으나 폭로군에서는 폭로 1개월째에는 4.8×10^5 개로 현저하게 증가 되었다가 폭로 2개월째에는 3.2×10^5 , 폭로 3개월째에는 1.5×10^5 개로 폭로 2개월째에 비하여 현저하게 감소하였으며 폭로 4개월째에는 4.9×10^4 개로 대조군과 비슷한 수준을 나타내었다(Fig 4).

NO realease에서는 대조군은 시간이 경과함에 따라서 12.5 pmoles of citrulline/min/mg/protein, 17.3 pmoles of citrulline/min/mg/protein, 17.9 pmoles of citrulline/min/mg/protein, 19.7 pmoles of citrulline/min/mg/protein인데 비하여 폭로군은 5.4, 7.51 pmoles of citrulline/min/mg/protein, 8.3 pmoles of citrulline/min/mg/protein, 10.6 pmoles of citrulline/min/mg/protein으로 대조군에 비하여 유의성 있게 저하되어 있었다(Fig 5).

시간경과에 따라 세포도말법(cytospin)에 의한 폐포세정액의 세포상에 있어서 대조군에서는 정상무척추동물(Photo 1)에서와 같이 90% 이상이 폐포macrophages로 관찰 되었으나(Photo 2) 폭로군에서는 60% 정도만이 폐포

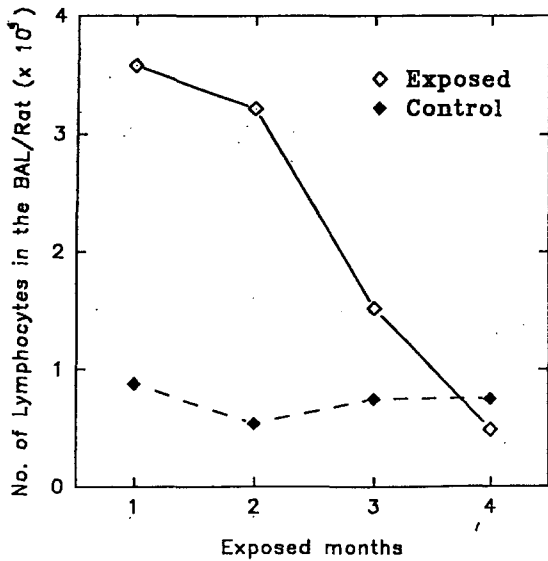


Fig 4. Changes of lymphocytes number in the bronchoalveolar lavage fluid(BAL) from rats exposed to cement dust

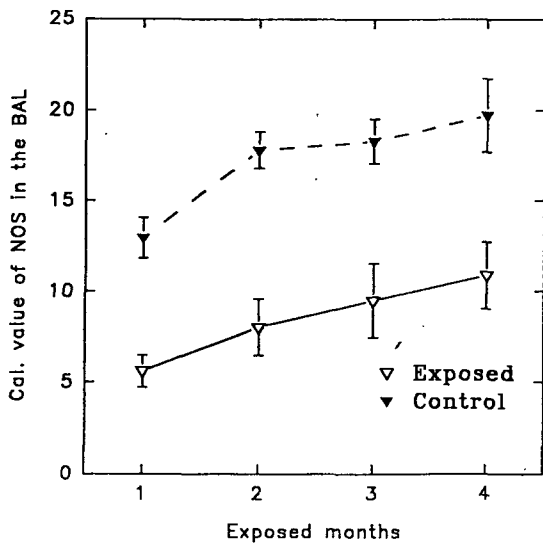


Fig 5. Changes of calculation value of nitric oxide synthase(NOS) in the bronchoalveolar lavage fluid(BAL) from rats exposed to cement dust

macrophages로 그 밖에는 neutrophil, lymphocyte와 같은 세포들이 상당수 관찰 되었다 (Photo 3). 폐포 macrophages의 Fc-receptor mediator 로켓 형성능 실험에서는 대조군의

로켓형성능(Photo 4)에 비하여 폭로군의 로켓형성능(Photo 5)이 보다 현저하게 저하되었다.

폐장 조직의 병리조직학적인 소견에 있어서 대조군에서는 특이할 만한 병변은 관찰되지 않았다(Photo 6). 그러나 폭로군에서는 폭로 초기인 폭로 1개월째에는 시멘트 분진에 의한 특징적인 변화는 관찰되지 않았으나 focal한 폐포벽의 비후가 관찰 되었다(Photo 7).

폭로 2개월째에는 폐포강내에 소수의 macrophage의 침윤과 경도의 폐포벽 비후가 관찰 되었다(Photo 8). 폭로 3개월째에는 일부의 폐포강은 침윤된 폐포 macrophage에 의하여 폐쇄되어 있었으며 간질 또한 섬유화로 비후되어 결절상으로 관찰되었으며(Photo 9), 부위에 따라서는 폐포 macrophage의 집락에 의한 소육아종성 병변이 관찰되기도 하였다(Photo 10). 또한 폐포강 내에는 시멘트 분진을 탐식한 macrophage의 집락소가 관찰 되었다(Photo 11). 폭로 4개월째에는 일부의 폐포벽과 폐포 간질은 섬유화가 진행되어 정상적인 폐포는 거의 관찰되지 않았으며 세기관지 내에는 분진을 탐식한 폐포 macrophage가 간혹 관찰 되었다(Photo 12). 또한 일부 폐포강 내에는 포말세포가 광범위하게 침윤되어 있었으며 (Photo 13) 특히 세기관지(Photo 14) 및 폐쇄된 폐포강내(Photo 15)의 폐포 macrophage 세포질 내에는 탐식된 시멘트 분진의 입자가 특징적으로 다수 관찰되었다.

고 찰

최근 우리나라에서는 국민들의 소득수준 증가와 생활환경에 대한 의식수준의 향상으로 사람들의 생활에 직접적으로 영향을 미치는 환경에 대한 관심이 높아지고 있다.

일반적으로 환경오염이라 하면 크게 수질오염과 대기오염 2가지로 나누어지는데 특히 대기오염은 사람들이 숨쉬는 공기를 오염시키면서 주로 만성적인 건강장애를 일으키게 된다. 대기오염에 의한 건강장애는 여러가지가 있을 수가 있으나 호흡기장애가 가장 특징적이다. 이것은 환경 매개체가 흡입되는 과정에서 호

흡기가 제1차 관문이기 때문에 각종 호흡기질환이 발생하기 쉬운 것이다. 또한 대기오염은 그 특성상 대기중의 각종 분진, 가스 등 오염물질의 혼합체일 뿐 아니라 기후조건, 오염물질의 배출정도, 개인의 감수성과 폭로기간 등에 따라 다르기 때문에 만성인 경우에는 급성장애와는 달리 그 규명이 매우 어려운 실정이다. 환경오염에 의한 대표적인 호흡기 질환으로는 1952년의 London smog와 Yokohama 천식을 들 수 있다^{42~46)}. 이러한 여러가지 호흡기 질환 중에서 분진에 장기간 폭로되어 흡입할 경우에 발생할 수 있는 호흡기 질환이 진폐증이다.

분진은 사람이 호흡하는 대기중에 항상 존재하고 있으며 분진을 소량흡입 할 때에는 호흡기계의 방어체제와 폐장내 macrophage의 탐식작용에 의해서 질병을 유발시키지 않는 것으로 보고되었다^{7,17)}.

분진에 의한 오염은 장기간에 걸쳐서 지속적으로 폭로되어야만 질병이 발생되기 때문에 진단이 쉽지 않으며 일단 분진에 의한 질환이라고 진단되면 치료가 힘든 상태가 된 경우가 많다^{47,48)}. 분진은 유기성과 무기성의 것으로 나누어지는데 유기성 분진은 양모말(羊毛末), 면분(綿粉), 목재설(木材屑), 담배가루 등을 말하는 것으로 이들을 장기간 흡입할 시에는 폐실질보다는 오히려 기도가 침해되어 만성기관지염과 기관지 천식과 같은 증세를 일으키는 예가 많다. 무기성 분진은 광석에서 나오는 것으로 분진의 종류에 따라서 규폐, 석면폐, 활석폐, 탄폐, 규조토폐, 철폐, 베릴륨폐, 시멘트폐 등이 있으며 이들 중 규폐가 그 빈도나 결핵을 합병하는 점에서 중요시 되고 있다⁴⁹⁾.

이러한 무기성 분진 중에서도 인간이 석탄을 많이 사용함으로 인하여 탄분진에 의한 탄분증은 서구에서 일찍 연구되었으며 우리나라에서 70년대의 경제성장을 석탄산업이 주도함으로써 탄분진이 증가하여 강원도 장성지방에 진폐증 전문병원을 둔 예가 있었다. 또한 산업화가 가속되면서 자동차의 제동장치나 방열, 방화용 등 여러 목적에 의한 유리규산과 석면으로 이루어진 공산품의 증가로 인하여 진폐증 중에서도 규폐와 석면폐의 발생이 증가되어 사회문제가

되고 있다.

우리나라에서 시멘트의 생산은 천혜의 자연조건을 갖추고 있는 노천광산으로 그 매장량도 대단히 많은 상태이나 그 생산 지역이 극히 한정되어 있어서 특정지역에서의 주민건강에 상당한 장애가 있을 것이라고 추정된다. 그러나 시멘트 분진에 의한 질환이라고 확실할 수 있는 질환은 아직까지 보고된 바도 없을 뿐 아니라 산업 현장에서 그다지 중요하게 다루어지지 않고 있는 실정이며 이에 대한 연구보고도 희소하다. 이런 이유로는 시멘트가 그 특성상 물과 친화성이 아주 강하여 다른 화학물질과는 달리 호흡기로의 강제투여가 어려워 장기간에 걸쳐서 실험대상을 살아있는 상태에서 유지해야 하는데서 그 원인이 있지 않은가 생각 되어진다.

우리나라에서 시멘트 공업의 역사는 대략적으로 일제시대인 1919년 평안남도에 일본사람에 의해 우리나라 최초로 시멘트 공장이 세워져 소량을 생산한 것이 우리나라 시멘트 공업의 역사의 시작이라고 할 수 있다. 해방후에는 1945년 9월에 일본인이 남겨둔 공장을 보수하여 소량의 시멘트를 생산하였으며 국내회사 이름으로 민간자본에 의하여 본격적인 생산을 시작한 것은 1956년 부터이다. 그 이후로 최근까지의 시멘트 생산은 계속 증가하여 '93년에는 총생산량이 47,313천M/ton이었다⁵⁰⁾.

우리나라에서 생산되는 시멘트는 사용목적에 따라 포틀랜드 시멘트와 특수 시멘트로 나누어지는데 포틀랜드 시멘트는 우리가 흔히 접할 수 있는 시멘트로 제1종에서 제5종까지로 나누어지며 특수 시멘트는 백시멘트, 알루미늄시멘트, 슬라보 시멘트, 후라이 앤즈 시멘트, 실리카 시멘트, 초속경 시멘트 등이 있다. 이 중에서 우리가 흔히 접할 수 있는 포틀랜드 시멘트가 생산량도 가장 많으며 또한 가장 많이 사용되고 있다. 시멘트는 무취, 회색의 미세한 분말로 물에 녹지 않으나 물에 의해서 경화되는 성질을 가지고 있으며 화학적인 성분은 같은 포틀랜드 시멘트라 하더라도 생산회사와 시대에 따라서 조금씩 다를 수 있지만 화학적인 성분은 주로 CaO(60~67%), SiO₂(17~25%), Al₂O₃(3~8%), Fe₂O₃(0.5~6%), MgO(0.1~5.5%),

Na₂O+K₂O (0.5~1.3%), TiO₂(0.1~0.4%), P₂O₃(0.1~0.2%), SO₃(1~3%)의 범위를 유지하고 있다⁵¹⁾. 시멘트의 제조과정에서는 기관지천식, 접촉성 피부염을 유발 시키고 폐암의 발생 가능성이 높은 크롬 성분이 함유되기도 한다^{42,51)}. 본 연구에 이용된 시멘트 분진의 성분에 대해서는 구체적인 성분 조사는 이루어져 있지 않았으나 동일지역에서 생산되는 시멘트의 성분은 SiO₂(21.80%), Al₂O₃(5.8), Fe₂O₃(3.0%), CaO (61.4%), MgO(2.8%), SO₃(2.4%), Na₂O(0.1%), K₂O(1.0%), TiO₂(미량), MnO(미량)인 것으로 조사 되었다.

진폐증은 작업환경에 따라 많이 발생하기 때문에 직업병으로 분류되고 있다. 직업병에 대해서는 기원전 4세기경 Hippocrates가 납광산 노동자에게서 최초로 납 중독에 관한 보고를 한 이후로 사회적 관심이 제기 되었으나¹⁷⁾ 시대적인 상황으로 인하여 1900년까지는 관심을 별로 기울이지 않았으나 세계 제 2차대전 후 산업화가 이루어지는 과정에서 관심을 가지게 되었으며^{7,10,17)}, 1929년 Gardner가 탄화규소 연마제와 화강암 분진의 흡입으로 인한 진폐증에 관한 연구⁴⁷⁾ 이후로 많은 사람들이 분진에 의한 직업병 연구를 시작하였다.

1992년 현재 분진에 의한 진폐증은 우리나라에서 발생하는 직업병 유소견자 중에서 40.7%를 차지하는 대표적인 직업병이며 '92년도 직업병 유소견자 중에서 2,400여명이 진폐증 소견을 나타내고 있다^{4,53)}. 또한 진폐의 발생도 과거에는 주로 탄광업에 종사하는 광부들 사이에서 발생하는 탄분증이었으나 최근에는 제조업체에서도 진폐의 발생이 증가하고 있는 실정이다^{4,11)}. 이러한 분진에 의한 질환으로는 호흡기 장애, 소화기 장애, 관절 및 신경계 질환, 피부질환 및 청력손상 등이 있는데 장기간 폭로시에는 점액분비의 증가로 기관지 폐색증이 유발 된다고 보고 되어있다^{42~46)}. 이와같이 탄분증, 규폐증, 석면폐증에 대하여는 직업병으로 분류되어 이에 대한 역학 및 실험적 연구가 많이 이루어져 있으나 산업화 과정에서 현재 가장 많이 사용되고 생산량이 많아 언제 어디서나 접할 수 있는 시멘트 분진에 대한 연구는 시멘트

분진에 폭로된 오염지역 주민들에 대한 건강장애 조사에 관한 보고⁴²⁾가 있을 뿐, 시멘트 분진이 폐장에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 실험적 연구는 아직 없는 실정이다.

이에 본 실험에서는 시멘트 분진이 폐질환에 미치는 영향을 직접적으로 규명하고 질환의 진행정도 등을 관찰하여 환경오염에 의한 직업병의 치료 및 예방에 관한 기초연구로서 시멘트 분진에 폭로시킨 랫드에 대하여 시간 경과에 따른 폐장병변의 변화, 기관지폐포세정액(BAL)내의 폐장세포의 동태 및 폐포 macrophage의 활성능을 관찰하였다. BAL내의 랫드당 총세포수에 있어서 대조군은 시간경과에 관계없이 비슷한 수준을 유지하고 있었으나, 폭로군에서는 폭로 1개월째에는 현저하게 증가하였다가 폭로 2개월째에는 현저하게 감소하였으며 폭로 4개월째에는 대조군 보다도 적게 관찰되었는데 이러한 소견은 asbestos, silica, 탄분에 노출^{11,12,54)} 되었을 때의 현상과 비슷한 결과로써 폐장의 섬유화에 따른 폐포강내의 세포수의 감소에 기인한다고 사료 되었다. 폐포 macrophage의 수에 있어서 폭로군은 대조군에 비하여 전기간을 통하여 낮았으며, 이러한 현상은 시간이 경과함에 따라 더욱 심화되었다. 이러한 결과는 폐포강의 폐쇄 및 폐포 섬유화에 의한 진행에 따른 BAL내의 세포수의 감소에 의한 것으로 사료된다. Neutrophil과 lymphocyte수에 있어서 폭로군에서는 대조군에 비하여 폭로 초기인 1개월째에 현저하게 증가되었는데 이러한 세포분획의 증가는 폭로군에서의 초기 총세포수의 증가에 직접 관계되는 것으로 asbestos, silica, 탄분에 노출 되었을 때의 현상^{11,12,54)}과 유사하였다.

이러한 neutrophil과 lymphocyte의 초기 증가는 초기 총세포수 및 세포분획에 영향을 미친 것으로 추정되는데 정상 BAL내의 세포분획 내에는 90% 이상이 폐포 macrophage이지만 폭로군(Photo 3)에서는 neutrophil과 lymphocyte의 상대적인 증가로 폐포 macrophage의 30%가 감소되어 있었다. 이러한 결과는 Take-mura⁵⁴⁾가 보고한 asbestos, silica, coal에 각각 노출 되었을때 BAL내의 구성 세포는 macro-

phages가 67~86%, lymphocyte가 12~30% 그리고 neutrophil이 1.9~2.3%로 나타난다는 결과와는 약간의 차이를 보이고 있는데 이것은 시멘트의 제조과정에서 나타났듯이 여러가지의 성분이 합쳐져 이루어진 만큼 시멘트 분진은 폭로 초기에 neutrophil을 위주로 하는 염증성 질환을 유발하는 것으로 생각된다.

폐포 macrophages의 로켓형성능에서는 폭로군은 대조군에 비하여 저하되어 있었는데 이러한 결과는 silicosis에서 유리규산을 탐식한 macrophages에서 유리규산의 독성에 의하여 손상을 받아 유리규산을 다시 방출 시키게 되는데 이과정에서 macrophages의 기능이 저하된다는 Williams 등⁵⁵⁾의 보고와 비교해 볼 때 시멘트 성분중의 SiO₂에 의한 macrophage의 활성능 저하에 기인 되는 것으로 사료된다.

폐포 macrophage의 NO 활성에 있어서도 로켓형성능과 같이 폭로군은 대조군에 비하여 NO 활성이 저하되어 있었는데 이러한 결과 역시 시멘트 성분 중 SiO₂에 의한 폐포 macrophage의 활성 저하에 기인되는 것으로 사료된다.

병리조직학적 소견에 있어서 시멘트 분진의 폭로에 의하여 폐장 섬유화, 폐포 macrophages의 침윤 및 지속적인 만성염증상이 실험적으로 유발되었다. 특히 세기관지, 기관지의 폐포연접부와 폐포관 분기점 주위에 있는 폐포 macrophages 세포질내에는 시멘트 분진의 탐식상이 관찰되었는데 이러한 소견은 Arnold 등¹¹⁾, Wagner 등¹³⁾, Craighead 등¹⁴⁾이 asbestosis, silicosis에서 관찰한 소견과 유사하였다. 또한 본 실험에서는 폐포 macrophage의 집락으로 형성된 소육아종성 병변이 관찰되었는데 이러한 병변은 분진에 장기간 폭로 될 때에는 폐암으로의^{13,14,56)}발전 가능성이 있다는 보고도 있어 보다 장기간 시멘트 분진의 실험적인 폭로에 의한 폐암의 발생기전에 대한 연구도 이루어져야 할 것으로 사료되었다.

또한 본 실험에서는 Enomoto와 Kaneyoshi⁵⁷⁾가 탄분진에 30주 이상 폭로된 마우스에서 관찰한 바와 같이 포말세포가 관찰되었는데 이 세포는 분진에 의한 질환에는 공통적으로 출

현하는 것으로 사료된다.

이상의 결과로 부터 랫드를 실험적으로 시멘트 분진에 폭로시 BAL내의 세포상의 변화와 조직학적인 변화에서 asbestosis, silicosis 등의 진폐증과 유사한 결과가 관찰되어 환경오염에 의한 직업병의 치료 및 예방에 관한 기초자료로서의 유용성이 기대되었다. 또한 폐포 macrophage가 분진의 흡착에 관여하며¹⁹⁾ 진폐의 전 단계인 폐장섬유화에 있어서 폐포 macrophage가 중심 역할을 하고 있는 것으로 밝혀져 앞으로 시멘트 분진에 의한 폐포 macrophage의 기능과 폐장섬유화 유발시 분비되는 여러 가지 인자에 대한 연구가 진행 되어야 할 것으로 본다.

결 론

시멘트 분진이 랫드의 폐장세포에 미치는 영향을 관찰하기 Sprague-Dawley(SD) 랫드를 시멘트 분진이 241 μ g/m³인 지역에 폭로시켜 시경과에 따른 기관지폐포세정액(BAL)내의 총세포수, 폐장 macrophage, neutrophil, lymphocyte의 수와 병리조직학적인 소견을 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. 폭로군은 대조군에 비하여 초기에는 BAL내의 총세포수는 현저하게 증가 하였으나 시간이 경과함에 따라 점차적으로 감소 하였다.

2. 폐포 macrophage의 수는 대조군에 비하여 폭로군은 전반적으로 적게 나타났다.

3. Neutrophil과 lymphocyte의 수는 폭로군이 대조군에 비하여 초기에는 현저하게 증가 하였으나 점차적으로 적게 나타내는 경향을 보였다.

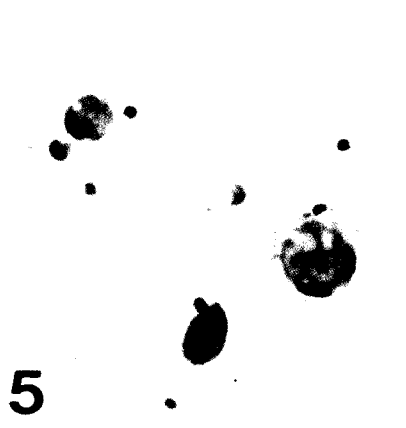
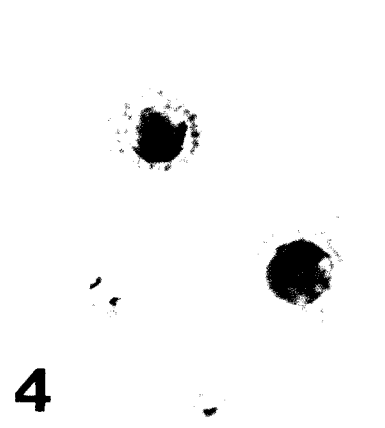
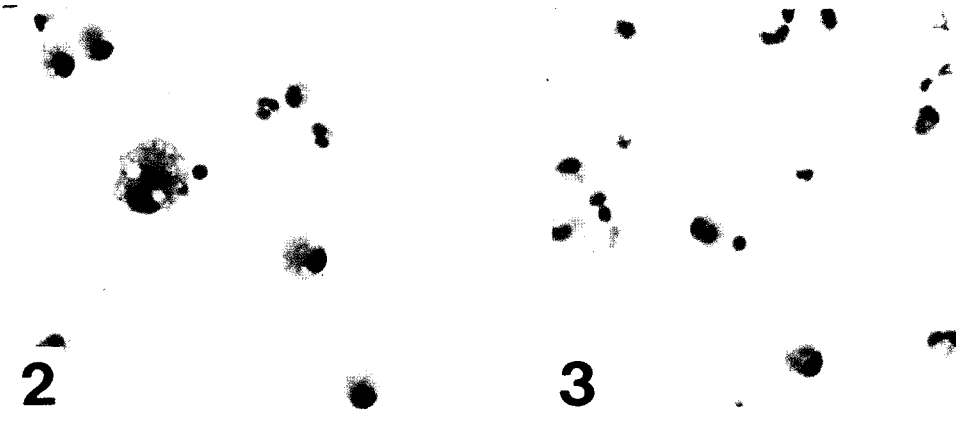
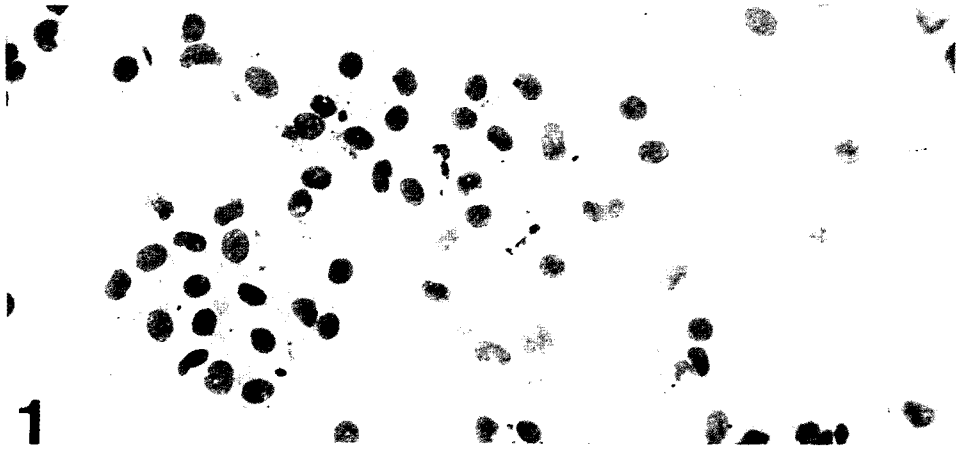
4. 폐포 macrophages의 탐식력에 영향을 미치는 NO의 활력은 대조군 보다 폭로군이 저하되었으며 macrophages의 로켓형성능의 저하도 관찰되었다.

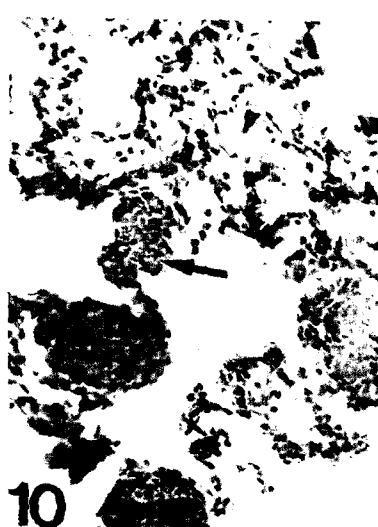
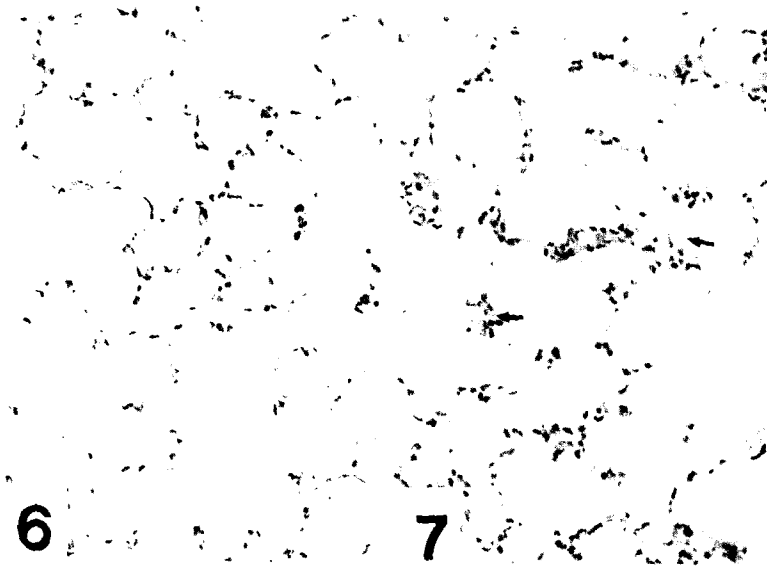
5. 병리조직학적 소견은 대조군에서는 특이할 만한 병변은 관찰 되지 않았으며 폭로군에서는 폭로초기인 1개월째에는 경미한 섬유소증이 관찰되었으며 폭로 2개월째에는 폐포강내에 경도의 macrophage의 침윤과 폐포벽의 비후가 관찰되었다. 폭로 3개월째에는 광범위한 섬유

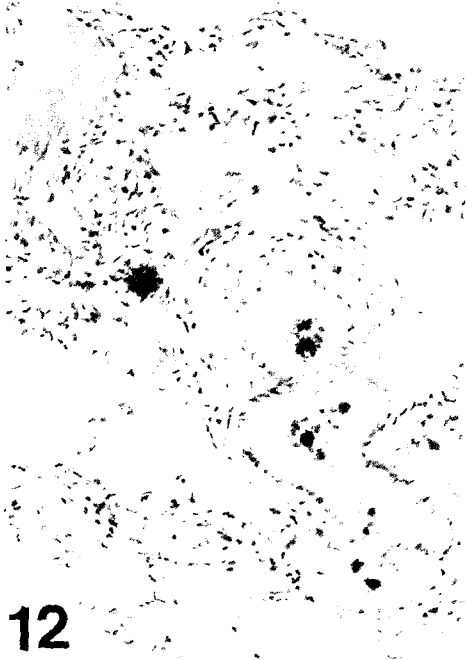
소증이 관찰되었고, 폭로 4개월째에는 폐포벽과 폐포간질의 비후 및 섬유화가 현저하게 나타났으며 포말세포의 출현과 macrophages에 탐식된 시멘트 분진과 소육아중성의 병변도 관찰되었다.

Legends for Photos

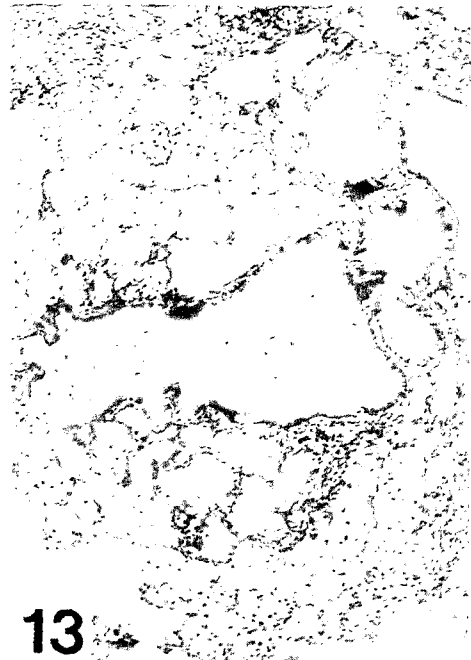
- Photo 1. Alveolar macrophages in normal BAL on rats are observed more than 90 percentage among total cell counting. Wright & Giemsa staining. X 400.
- Photo 2. The morphology of alveolar macrophages in BAL on control rats are constant and any other cell types are not found. Wright & Giemsa staining. X 400.
- Photo 3. The morphology of alveolar macrophages in BAL exposed rats to cement dusts are invariable and others cells(neutrophil, lymphocyte, etc) are found. Wright & Giemsa staining. X 400.
- Photo 4. Rosette formation of alveolar macrophages in control rats is relatively strong. Wright & Giemsa staining. X 400.
- Photo 5. Rosette formaion of alveolar macrophages in rats exposed to cement dusts is irrelatively weak . Wright & Giemsa staining. X 400.
- Photo 6. Lung alveolar of control rats are relatively intact and fibrosis is not seen. H & E. X 200.
- Photo 7. The fibrosis is rarely seen . H&E. X 200.(1st months)
- Photo 8. The slight infiltration of macrophages in alveolar lumens and the thickening of alveolar walls are observed. H & E. X 200(2nd months).
- Photo 9. The thickening of alveolar walls and pulmonary interstitial tissues, the infiltration of macrophages are observed. H & E. X 200.(3rd months).
- Photo 10. The formation of small granuloma tissue are observed. H & E. X 200. (3rd months).
- Photo 11. Cement dust-ingested macrophage in alveoli and bronchioles. H & E. X 200(3rd months)
- Photo 12. The infiltration of macrophages in the alveolar lumens and pulmonary interstitial tissues are observed. H & E. X 200.(4th months).
- Photo 13. The expression of foamy cells in alveolar lumens. H & E. X 200(4th months)
- Photo 14. Alveolar macrophages containing cement dust(arrow) in the bronchioles and alveolar walls are observed. H & E. X 200(4th months)
- Photo 15. Cement dust-cotaining alveolar macrophage(arrow) in bronchioles and alveolar walls are observed. H & E. X 1,000(4th months)







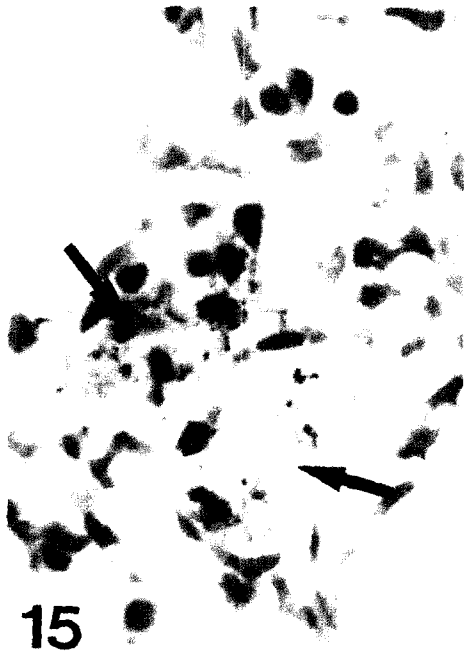
12



13



14



15

참 고 문 헌

1. 강형식, 최인표, 변광. 1994. 규폐증 발생기전에서 IL-6와 TNF- α 의 효과. 한국 BRM 학회지 4 : 97~109.
2. Ziskind M, Jones RN, Weil H. 1976. Silicosis. *Am Rev Respir Dis* 113 : 643~665.
3. Kovacs EJ. 1991. Fibrogenic cytokines : the role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunology* 12 : 17~23.
4. 최병순, 홍정표, 서경범 등. 1993. 탄광부진폐증과 호흡기 증상 및 최초로 탄분진에 폭로되는 연령과의 관계에 관한 연구, 한국산업안전공단, 산업보건연구원 : 1~30.
5. Noweir MH, Moselhi M, Amine EK. 1980. Role of family susceptibility, occupational and family history and individual's blood group in the development of silicosis. *Br J Int Med* 37 : 399~403.
6. Heppleston AG. 1969. The fibrogenic action of silica. *Br Med Bull* 25 : 380~389.
7. George DC, Florence EC. 1991. *Patty's industrial hygiene and toxicology*. 4ed. Wiley stologic assement of lymphocyte population in the pulmonary inflammatory response to intratracheal silica. *Am J Pathol* 134 : 605~614.
9. Buechner HA, Ancari A. 1969. Acute silico-proteinosis. *Dis Chest* 55.
10. George DC, Florence E. 1991. *Patty's industrial hygiene and toxicology*. 4 ed. Wiley Interscience 1 : 301~324.
11. Arnold RB, LiLA H. 1982. Interstitial accumulation of inhaled chrysotile asbestos fiber and consequent formation of micro-calcification. *Am J Pathol* 10 : 107~114.
12. Warheit B, Gerwyn G, LiLA HH. et al. 1985. Inhaled asbestos activates a complementdependent chemoattractant for macrophages. *Lab Invest* 52(5) : 505~514.
13. Wagner JC, Berry G, Skimore JW. et al . 1974. The effect of the inhalation of asbestos in rats. *Br J Cancer* 29 : 252~269.
14. Craighead JE, Mossman BT. 1982. The pathogenesis of asbestos-associated disease. *New England J of Med* : 1446~1455.
15. Selikoff IJ, Lee DHK. 1988. *Asbestos and diseases*. New York Academic Press : 253~269.
16. Timbrell V. 1965. *The inhalation of fibrous dust*. New York Academic Press), 132 : 255~273.
17. Bowden DH. 1984. The alveolar macrophage. *Environ Heal Persp* 55 : 327~341.
18. 김대중. 1992. Verapamil이 bleomycin에 의해서 유발되는 랫드 폐장병변에 미치는 영향에 관한 병리학적 연구. 1~35.
19. Craig H, Jose WM, Fox J. 1993. Macrophage production of basic fibroblast growth factor in the fibroproliferative disorder of alveolar fibrosis after lung injury. *Am J Pathol* 143(4) : 1189~1199.
is mediated by nitric oxide from L-arginine. *J Immunol* 148(12) : 3999~4003.
21. Biozzi G, Stiefel C, Mouton BY. et al. 1968. Kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with spleen erythrocytes. *J Immunol* 14 : 7~15.
22. Vernon-Roberts B. 1972. *The Macrophage*. Cambridge University Press, Cambridge : 25~134.
23. Dethloff LA, Lehnert BE. 1988. Pulmonary interstitial macrophages isolation and flow cytometric comparisons with alveolar macrophages and blood monocytes. *J Leuk Biol* 43 : 80~90.
24. Oghiso Y. 1987. Morphologic and function-

- nal heterogeneity among rat alveolar macrophage fraction isolated by centrifugation on density gradient. *J Leuk Biol* 42 : 188~196.
25. Volkman A, Gowans JL. 1965. The production of macrophages in the rat. *Brit. J Exp Pathol* 46 : 50~61.
 26. Bertram TA, Overby OH, Eling TE, et al. 1988. Pulmonary intravascular macrophages metabolizes arachidonic acid *in vitro*. *Am Rev Respir Dis* 138 : 936~944.
 27. Nathan C. 1987. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 79 : 319~326.
 28. Shellito J, Esparaza C, Armstrong C. 1987. Maintenance of the normal alveolar macrophage cell population. *Am Rev Respir Dis* 135 : 78~82.
 29. Bowden DH, Adamson IYR. 1982. Alveolar macrophage response to carbon in monocyte-depleted mice. *Am Rev Respir Dis* 126 : 708~711.
 30. Schapira RM, Osornio AR, Osornio AR, et al. 1990. Deferoxamine attenuates secretion of platelet-derived growth factor by alveolar macrophages exposed to asbestos *in vitro*. *Am Rev Respir Dis* 141 : 414.
 31. Kelly J. 1990. Cytokines of the lung. *Am Rev Respir Dis* 141 : 765~788.
 32. Kumar RK, Bennett RA, Brody AR. 1988. A homologue platelet-derived growth factor produced by alveolar macrophages. *FASED J* 2 : 2272~2277.
 33. Warheit DB, Chang LY, Hill LH, et al. 1984. Pulmonary macrophage accumulation and asbestos-induced lesions at sites of fiber deposition. *Am Rev Respir Dis* 129 : 301~310.
 34. Hibbs JB, Vavrin Z, Taintor RR. 1987. L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. *J Immunol* 138 : 550.
 35. Solomon HS, David SB. 1992. *Biological roles of nitric oxide*. Scientific American : 135~150.
 36. Philippe V, Sylvie D. 1991. Macrophage cytotoxic effect on *Trypanosoma muscili* involves an L-arginine-dependent mechanism. *J Immunol* 146(12) : 4338~4343.
 37. Jeffrey S, Warren MD, Steven LK, et al. 1988. Macrophage-derived cytokines amplify immune complex-triggered O₂ response by rat alveolar macrophages. *Am J Pathol* 130(3) : 489~494.
 38. Bernaudin JF, Yamauchi K. 1988. Demonstration by in situ hybridization of dissimilar IL-1 gene expression in human alveolar macrophages and blood monocytes in response to lipopolysaccharide. *J Immunol*, 140(11) : 3822~3829.
 39. Tokunaga T, Yoshida T, Akagawa K. 1992. *The laboratory manual of macrophage*. 2 ed. Kangdam Corp, Tokyo : 18~24.
 40. Doyle A, Griffiths JB, Newell DG. 1993. *Cell and Tissue*. Wiley 4. B. 1. 1.
 41. Ding A, Nathan CF. 1988. Release of reactive nitrogen intermediates from mouse peritoneal macrophages : Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol* 141 : 2407.
 42. 정해관, 김정순, 최병순 등. 1992. 시멘트 분진에 폭로된 지역 주민의 건강장애에 대한조사. *한국역학회지* 14(1) : 56~69.
 43. 이석, 임영옥, 정용. 1991. 황사현상이 호흡기질환에 미치는 영향, *한국역학회* 13(2) : 59~168.
 44. 권숙표. (1991) 최신위생환경학, 집현사, 130~344.
 45. Logan WPD. 1953. Mortality in the London fog incident. *Lancet* 264 : 336.
 46. Huber TE, Joseph SW. 1954. New environmental respiratory disease(Yokohama asthma). *Am Arch Indust Hyg* 10 : 399.

47. Lowther PJ. 1970. Air pollution and exacerbations of bronchitis. *Thorax* 25 : 525.
48. 정해관. 1988. 무연탄 저탄장 인근주민에서의 진폐증 발생. *한국역학회지* 10(1) : 102~108.
49. 김유영. 1990. 기관지천식. 한용철. 임상호흡기학. 일조각 : 208~225.
50. 통계청. 1994. 한국주요 경제지표.
51. 윤재환. 1994. 포틀랜드시멘트 및 콘크리트. 도서출판 새진사, 2판 : 16~20.
52. Gardner LU. 1925. Etiology of Pneumococcosis. *J Am Med Assoc* 111.
53. 노동부. 1993. '92 근로자 건강진단 실시 결과 분석. 노동부. 14.
54. Takemura T. 1987. Morphology and function of alveolar macrophages with inorganic particles. *Cell* 19(5) : 17~22.
55. Williams PL, James LB. 1985. *Industrial toxicology*. Van Nostrand Reinhold Company Inc : 184~190.
56. Lippman M, Yeates DB, Albert R. 1980. Deposition, retention, and clearance of inhaled particles. *Br J Ind Med* 37 : 337~362.
57. Enomoto M, Kaneyoshi A. 1987. *Fundamental of morphological observation. Color atlas of toxicological pathology*. Soft Science Publication. Tokyo : 161~166.