

반도체 가공 작업환경에서 부산물로 발생하는 주요 금속산화물의 입자 크기, 형상, 결정구조에 따른 독성 고찰

최광민*

삼성전자 건강연구소

Size, Shape, and Crystal Structure-dependent Toxicity of Major Metal Oxide Particles Generated as Byproducts in Semiconductor Fabrication Facility

Kwang-Min Choi*

Samsung Health Research Institute, Samsung Electronics Co. Ltd.

ABSTRACT

Objectives: The purpose of this study is to review size, shape, and crystal structure-dependent toxicity of major metal oxide particles such as silicon dioxide, tungsten trioxide, aluminum oxide, and titanium dioxide as byproducts generated in semiconductor fabrication facility.

Methods: To review the toxicity of major metal oxide particles, we used various reported research and review papers. The papers were searched by using websites such as Google Scholar and PubMed. Keyword search terms included 'SiO₂(or WO₃ or Al₂O₃ or TiO₂) toxicity', 'health effects SiO₂(or WO₃ or Al₂O₃ or TiO₂)'. Additional papers were identified in references cited in the searched papers.

Results: In various cell lines and organs of human and animals, cytotoxicity, genotoxicity, hepatotoxicity, fetotoxicity, neurotoxicity, and histopathological changes were induced by silicon dioxide, tungsten trioxide, aluminium oxide, and titanium dioxide particles. Differences in toxicity were dependent on the cell lines, organs, doses, as well as the chemical composition, size, surface area, shape, and crystal structure of the particles. However, the doses used in the reported papers were higher than the possible exposure level in general work environment. Oxidative stress induced by the metal oxide particles plays a significant role in the expression of toxicity.

Conclusions: The results cannot guarantee human toxicity of the metal oxide particles, because there is still a lack of available information about health effects on humans. In addition, toxicological studies under the exposure conditions in the actual work environment are needed.

Key words: aluminum oxide, process byproduct, semiconductor facility, silicon dioxide, titanium dioxide, tungsten trioxide

I. 서 론

반도체 제조설비들은 대부분 밀폐구조로 되어 있고, 공정에 사용된 화학물질은 설비 내 배기시스템에 의해 제거되며, 저압(진공) 조건에서 진행되는 주요 공정에 대해서는 공정이 진행된 챔버(chamber) 내부

는 in-situ 챔버 세정을 통해 설비 내 반응잔여물을 제거한다(Ino et al., 1996; Ji et al., 2009). 그리고 설비유지보수 작업 시에는 국소배기시스템을 가동함으로써 화학물질의 공기 중 확산, 교차오염 등에 의한 공정불량을 사전에 방지하고 있다. 하지만, 이러한 설비 내부 오염제거 시스템의 활용에도 불구하고, 공

*Corresponding author: Kwang-Min Choi, Tel: +82-31-209-1206, E-mail: k.m.choi@samsung.com

Samsung Health Research Institute, Samsung Electronics Co. Ltd. 95, Samsung 2-ro, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, 446-811, Korea
Received: April 7, 2016, Revised: June 21, 2016, Accepted: June 24, 2016

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.

정에 사용된 화학물질 및 그 부산물을 설비 내부로부터 완전히 제거하는 것은 불가능하기 때문에, 설비 유지보수 작업 시 반도체 공정에 사용된 화학물질 및 이들 물질간의 부반응에 의해 생성되는 부산물의 공기 중 노출 및 작업자 흡입 영향을 고려해야 한다(Choi et al., 2015a).

반도체 제조 작업환경 내 존재 가능한 가장 대표적인 입자상 부산물인 실리카(SiO₂)는 결정구조에 따라 결정형(crystalline)과 비결정형(amorphous)으로 분류된다. 결정형 SiO₂의 경우 흡입 시 발암성 및 만성적 폐질환을 일으키며, 전통적 공정에서의 비결정형 SiO₂는 독성이 낮은 것으로 알려져 있다(Bhaskar et al., 1989; Parks et al., 1999). 최근 일부 나노미터 크기의 SiO₂ 입자의 독성이 보고되고 있으나, 아직까지 독성영향이 명확하지 않다(Napierska et al., 2010; Zhang et al., 2011). 한편, 입자 크기 및 형상에 따라 서도 흡입 시 독성이 달라지는 것으로 보고되고 있다(Sayes et al., 2006; Yang et al., 2009). 따라서 작업환경 내에서의 작업자 건강증진 및 유지를 위한 사전예방원칙(precautionary principle)에 기초해서 설비 유지보수 작업 시에 설비 챔버 내부 및 주변 공기 중에 존재하는 입자상 부산물의 화학적 조성, 크기, 형상, 결정구조 등의 물리화학적 특성분석, 노출 및 흡

입에 의한 작업자 건강영향에 대한 연구가 중요하다.

지금까지의 연구결과로부터 반도체 작업환경에서는 입자상 형태의 공정 부산물로서 금속산화물이 발생되고 있는 것으로 확인되었다(Choi et al., 2013; 2015b; 2015c). Table 1에 나타난 바와 같이 대표적인 부산물 성분으로 Si, W, Al, Ti 등의 금속이 산소와 함께 검출됨에 따라 silicon dioxide(SiO₂), tungsten trioxide(WO₃), aluminum oxide(Al₂O₃) 및 titanium dioxide(TiO₂) 입자가 작업환경 내 존재하는 주요 입자상 물질일 것으로 추정할 수 있었다(Choi et al., 2013; 2015b). 또한 SiO₂ 및 WO₃ 입자는 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM), 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope, TEM) 및 X선 회절(X-ray Diffraction, XRD) 분석에서 크기, 형상, 결정구조 등이 밝혀졌다(Choi et al., 2015b; 2015c).

따라서 본 연구에서는 반도체 가공공정을 진행하는 작업환경 내 주요 공정의 설비 유지보수 작업 및 정상공정 진행 시 부산물로 생성되는 파우더 및 에어로졸 형태의 비결정형 SiO₂, WO₃, Al₂O₃ 및 TiO₂의 입자 크기, 형상, 결정구조 등에 따른 독성 문헌 조사를 통해 작업현장에서 근무하는 작업자의 질병 예방 및 건강증진을 위한 자료로 활용하고자 하였다.

Table 1. Chemicals used and powder byproducts chemical composition in the major semiconductor fabrication processes

Process	Detail step	Chemicals used	Chemical composition*
Diffusion	SiO ₂ deposition	SiH ₂ Cl ₂ , N ₂ O	O, Si, (Cl)
Photolithography	PR coating	PR [‡] (Resins + PAC [§]), [(CH ₃) ₃ Si] ₂ NH, (CH ₃) ₄ NOH, Thinner	C, O, S
Dry Etching	Al Pad etching	CF ₄ , CHF ₃ , SF ₆ , Ar, O ₂ , N ₂	F, Al, S, (Ti)
Ion Implantation	As, P, B doping	AsH ₃ , PH ₃ , BF ₃ PH ₃ , BF ₃	O, As, P O, P, (Fe)
Chemical Vapor Deposition	SiO ₂ deposition	SiH ₄ , NH ₃ , H ₂ , Ar, O ₂ , He Si(OC ₂ H ₅) ₄ , O ₃ , NF ₃ , N ₂ Si(OC ₂ H ₅) ₄ , O ₃ , NF ₃ , N ₂	C, O, F, Al, (Ti) C, O, F, Al O, Si, (Cl) [†]
Metallization	W deposition Ti/TiN deposition	WF ₆ , SiH ₄ , H ₂ , Ar, N ₂ , NF ₃ TiCl ₄ , NH ₃ , ClF ₃ , Ar, N ₂	O, F, Al, W, Ti O, F, Mg, Al, Cl, Ti
Chemical Mechanical Polishing	SiO ₂ polishing W polishing	SiO ₂ , CeO ₂ , NH ₄ OH, H ₂ O, Organic acid, KOH	O, Si, (K)
Wet Cleaning	Organics removal	H ₂ SO ₄ , H ₂ O ₂ , H ₂ O	N, O, S
	Oxides removal	NH ₄ F, HF, H ₂ O	O, F, Si, S
	Particles removal	NH ₄ OH, H ₂ O ₂ , H ₂ O	N, O, F, W, (P), (Ti)

*Elements in parentheses are minor components with low intensity from scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy, [†]Components of powder collected from atmospheric pressure chemical vapor deposition equipment, [‡]PR ; photo resist, [§]PAC ; photo active compound

II. 연구방법

1. 문헌검색

본 연구는 문헌고찰로 수행되었다. SiO₂, WO₃, Al₂O₃ 및 TiO₂ 금속산화물 입자의 독성 관련된 국외 논문은 구글 학술검색 프로그램(<http://scholar.google>).

co.kr)과 미국 NIH(National Institute of Health)와 NLM(National Library of Medicine)에서 제공하는 PubMed(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)를 이용하여 찾았다. 검색기간은 2015년 11월10일부터 23일까지 2주간이었으며, 1989-2014년까지 발표된 논문을 대상으로 고찰하였다. 검색 주요어(key word)로서

Table 2. Studies on amorphous silicon dioxide particles toxicity

Size (nm)	Exposure concentration (time)	Cell line (animal model)	Toxicity	Result	Reference
10 150, 500	100 µg/mL(2-24h)	Calu-3(Human)	Cytotoxicity/Genotoxicity Cytotoxicity/Genotoxicity	(+/ -/-)	Mccarthy(2012)
12 40, 200	0.1-500 µg/mL(24-72h)	HT29(Human)	Cytotoxicity Cytotoxicity	(+) (-)	Gehrke(2012)
14-335	33-254 µg/cm ² (2-3hr)	EAHY923(Human)	Cytotoxicity	(+)	Napierska(2009)
14	0.1-100 µg/mL(24h)	HT29, HaCaT, A549(Human)	Cytotoxicity Genotoxicity	(+) (+)	Mu(2012)
15-46	10-100 µg/mL(24-72h)	A549(Human)	Cytotoxicity	(+)	Lin(2006)
15-80	50-200 µg/mL(24-72h)	NCI-H41, ISO-HAS1, THP-1(Human)	Cytotoxicity	(+)	Farcal(2012)
19-498	100 µg/mL(24h)	HepG2(Human)	Cytotoxicity Morphological transformation	(+) (+)	Li(2011)
20-50	20-100 µg/mL(24h)	HEK293(Human)	Cytotoxicity	(+)	Wang(2009)
21 48, 86	0.2-1.0 mg/mL(24-48h)	L-02(Human)	Cytotoxicity Cytotoxicity	(+) (-)	Ye(2010a)
43	0-200 µg/mL(3-24h)	HepG2(Human)	Cytotoxicity	(+)	Sun(2011)
50	0.156-10 µg/mL(3-72h)	H1299(Human)	Cytotoxicity/Genotoxicity	(+/-)	Chu(2012)
50, 500	0-200 µg/mL(24h)	BEAS-2B(Human)	Cytotoxicity/Genotoxicity	(+/-)	Skuland(2014)
70-1,000	0.25-0.5 µg/mL(24h)	HaCaT(Human)	Cytotoxicity/Genotoxicity	(+/-)	Nabeshi(2011)
80, 500	5-200 µg/mL(10h)	Dermal fibroblast(Human)	Cytotoxicity	(+)	Zhang(2010)
14	0-50 mg/kg(24h-14w)	BAL(Mouse)	Cytotoxicity	(+)	Cho(2007)
15-300	1-100 µg/mL(72h)	BALB/3T3(Mouse)	Cytotoxicity/Genotoxicity Morphological transformation	(-/-) (-)	Uboldi(2012)
21-48	0.1-1.6 mg/mL(12-48h)	H9c2(2-1)(Rat)	Cytotoxicity	(+)	Ye(2010b)
25	5-10 µg/mL(6-24h)	J774, embryo BALB/c 3T3 (Mouse)	Cytotoxicity	(+)	Rabolli(2012)
30-300	10-200 mg/kg(6h)	BLAB/c(Mouse)	Genotoxicity	(+)	Lu(2013)
30-535	100 µg/mL(24h)	HEL-30(Mouse)	Cytotoxicity	(+)	Yu(2009)
70 300,1000	10-100 mg/kg(24h)	BALB(Mouse)	Hepatotoxicity Hepatotoxicity	(+) (-)	Nishimori(2009)
70 300,1000	0.2-0.8 mg/mouse(24h)	BALB/c(Pregnant Mouse)	Fetotoxicity Fetotoxicity	(+) (-)	Yamashita(2011)
N/A	0-100 µg/mL(0-48h)	Hs578T(Human)	Cytotoxicity	(+)	Alexander(2012)
N/A	4-40 µg/mL	3T3-L1(Mouse)	Genotoxicity	(-)	Barnes(2008)

N/A ; Not applicable, (+) ; positive, (-) ; negative

“SiO₂(or WO₃, Al₂O₃, TiO₂) toxicity”, “health effects SiO₂(or WO₃, Al₂O₃, TiO₂)”를 개별 또는 조합으로 문헌을 검색하였다. 1차적으로 105편의 독성논문(SiO₂: 41편, WO₃: 9편, Al₂O₃: 21편, TiO₂: 34편)을 검색·수집하였으며, 입자 크기, 형상 및 결정구조와 같은 물리화학적 특성이 상세히 기술되지 않았거나, 전문을 확보하지 못하는 논문을 배제하여 동물(사람 포함) 독성연구 논문을 중심으로 최종 64편의 논문(SiO₂: 24편, WO₃: 8편, Al₂O₃: 11편, TiO₂: 21편)을 선정하여 고찰하였다. WO₃ 입자의 독성 내용은 다른 3종류의 입자와 달리 입자의 물리화학적 특성에 따른 독성 내용이 상세히 기술되어 있지 않아 표로 정리하지 않았다.

2. 주요고찰내용

SiO₂, WO₃, Al₂O₃ 및 TiO₂ 금속산화물 입자의 물리화학적 특성 특히 화학적 조성, 크기, 형상 및 결정구조에 따라 발현되는 다양한 독성 영향을 중심으로 고찰하였다. 나노미터 크기의 입자 독성에 대해 관심이 높아짐에 따라 이에 대한 연구가 활발히 보고되고 있는 만큼 100 nm 이하 입자를 이용한 사람과 동물의 *in vitro* 및 *in vivo* 실험의 주요 연구 결과를 정리하였다. 또한, 금속산화물 입자 별 독성이 나타나는 투여(노출) 농도 및 독성 발현 메커니즘에 대해서도 고찰하였다.

III. 입자 별 독성

1. SiO₂ 입자

SiO₂는 결정구조에 따라 결정형(crystalline)과 비결정형(amorphous)으로 분류되는데, 결정형 SiO₂의 경우 흡입 시 발암성 및 만성적 폐질환을 일으킬 수 있는데 반해, 비결정형 SiO₂는 폐에 영향을 거의 미치지 않는 물질로 알려져 있다(Bhaskar et al., 1994; Parks et al., 1999; Johnston et al., 2000). 따라서 미국정부산업위생협회(American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH) 및 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서는 결정형 SiO₂에 대해 각각 A2(Suspected human carcinogen: 인체발암의심물질) 및 Group 1(Carcinogenic to humans)으로 분류하였다(ACGIH, 2008; IARC, 2012). 한편 비

결정형 SiO₂에 대해서는 IARC Group 3(Not classifiable as to its carcinogenicity to humans, 인체발암물질로 분류할 수 없음)로 분류하고 있다. 이와 같이 비결정형 SiO₂는 종래까지 거의 독성이 없는 것으로 알려져 있었지만, 최근 연구에서는 높은 투여량에서는 독성을 나타낼 수 있는 것으로 보고되고 있으며 특히, 나노 크기의 비결정형 SiO₂ 입자가 폐 내 염증성 반응을 일으킬 수 있다는 연구 사례가 점점 증가하고 있다. 반도체 FAB 내에서 확인되는 SiO₂ 입자도 비결정형을 나타내는 것으로 확인됨에 따라(Choi et al., 2013; 2015b), 비결정형 SiO₂ 입자의 크기, 형상, 용량, 시간 및 대상 세포종류 등에 따른 독성 사례 검토 결과를 Table 2에 나타내었다.

1) 입경 및 표면적 효과

McCarthy et al.(2012)은 비결정형 10 nm SiO₂ 입자를 사람의 기관지 상피세포(human bronchial epithelial cell) Calu-3에 노출 시켰을 때 세포생존능력 감소, 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 증가, 염증성 유전자 발현 등의 독성이 나타났으며 LC50은 24시간 노출 후 9.7 µg/m³이었다. 한편, 150 nm 및 500 nm SiO₂ 입자는 Calu-3 세포에 있어서 독성효과를 나타내지 않았다. Gehrke et al.(2012)은 12, 40 및 200 nm SiO₂ 입자가 사람의 결장암 세포(human colon carcinoma cell) HT29에 세포독성을 일으키며, 입자 크기에 따른 독성 차이가 있음을 보고하였다. 12 nm 입자의 경우 24시간 후 세포성장 자극이 확인된 반면, 40 및 200 nm 입자에서는 72시간 노출 후에도 세포성장 관련 어떠한 효과도 나타나지 않았다. DNA 보존성 조사 결과로부터 중요한 산화적 DNA 손상은 나타나지 않았다고 보고하였으며 ROS 유도신호가 없었기 때문에 세포 GHS 레벨의 변화는 산화스트레스의 생성과는 관계가 없을 것으로 판단하였다.

Napierska et al.(2009)은 14 및 16 nm 크기의 SiO₂ 입자에 노출된 사람의 내피세포(human endothelial cell) EAHY923에서 생체 내 조직세포의 괴사에 의한 세포사멸(apoptosis)이 빠르게 일어난다고 보고하였다. 반면에 104 및 335 nm 크기의 입자에서는 나노 크기의 입자에 비해 아주 낮은 세포독성을 나타낸 것으로부터 표면적이 SiO₂ 입자의 독성 결정에 중요

한 인자라고 추정하였다. 또한, 비결정형 SiO₂ 입자를 이용한 대부분의 *in vitro* 연구에서 세포흡수, 입자 크기 및 용량 의존적인 세포독성을 나타내며, ROS 레벨과 전염증성 자극이 증가한다고 보고하였다. 그리고 제한적인 *In vivo* 연구에서는 대체로 가역적인 폐 염증, 육아종 형성 그리고 폐기종이 발현되지만 폐 섬유화로 진행되지는 않는다고 하였다 (Napierska et al., 2010).

Mu et al.(2012)은 14 nm SiO₂ 입자의 세포독성, 예를 들면 세포 생존 능력 감소 현상이 입자 농도 $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ 에서 나타났으나, DNA 손상은 $0.1 \mu\text{g/mL}$ 이상에서 관찰된다고 보고하였다. 흡수 메커니즘으로 사람의 폐포성 암종 세포(human lung alveolar carcinoma cell)인 A549가 혈청(serum) 단백질 없이 SiO₂ 입자에 노출되었을 때는 입자가 직접적으로 세포질로 흡수된다는 결과로부터 지질막과의 부착반응은 SiO₂ 입자가 세포 내에 수동적으로 이동될 수 있다고 제시하였다. 그러나 나노 크기의 SiO₂ 입자는 환경 노출 수준에서 사람 건강에는 중요한 영향을 나타내지는 않을 것으로 추정하였다. Lin et al.(2006)과 Wang et al.(2009)은 15-50 nm SiO₂ 입자를 10-100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 사람의 기관지 폐포 암종-유도 세포(human bronchioalveolar carcinoma-induced cell) A549와 사람의 태아 신장세포(human embryonic kidney cell) HEK293에 각각 노출시켰을 때 용량 의존성을 갖는 세포독성, ROS 증가 및 GSH 감소가 관찰되었으며 이는 산화스트레스(oxidative stress)의 증가와 관련이 있다고 보고하였다. 특히 산화스트레스가 사람의 태아 신장 세포에 있어서 SiO₂의 독성에 중요한 역할을 하며 50 nm 입자에 비해서 20 nm 입자가 세포 내 ROS 생성을 더 잘 시킨다고 보고하였다. 더구나, 세포 생존능력 감소와 ROS 증가는 강한 상관관계를 갖고 있음을 관찰하였다.

Farcas et al.(2012)은 15-80 nm SiO₂ 입자를 사람 폐포 장벽세포(human alveolar barrier cell) NCI-H441에 노출시켜 사이토카인(cytokine) 생성, 산화스트레스 유도, 표면 단백질 A mRNA 발현 효과분석을 수행하였다. SiO₂ 입자에 노출된 NCI-H441에서 TNF- α 및 IL-8가 높게 발현하여 전염증성 반응이 야기되는 것으로 관찰되었다. 산화스트레스는 SiO₂ 입자에 의해 생성되는 ROS로 유도되는 독성 메커니즘에 관계

가 있다고 보고하였다. Li et al.(2011)은 19, 43, 68 및 498 nm SiO₂ 입자를 이용하여 HePG2 세포의 형태학적 변화, 세포 생존능력, 세포 내 ROS 분석, HepG2 세포막 및 DNA손상, 세포사멸 등에 대해 확인한 결과, 입자 크기에 크게 의존하는 세포독성 및 HepG2의 형태학적 변화를 관찰하였다.

Ye et al.(2010a)은 21 nm SiO₂ 입자를 사람의 간세포(human hepatic cell) L-02에 노출시켰을 때 ROS-mediated 산화스트레스에 의해 세포사멸을 야기했다고 보고하였다. SiO₂ 입자 크기가 작을수록, 농도가 높을수록, 노출 시간이 증가할수록 세포 생존능력 감소 현상이 나타남에 따라 세포독성이 더 큰 것으로 관찰되었는데, 구체적으로 21 nm SiO₂ 입자는 L-02 내 세포독성을 나타내지만, 48 및 86 nm 입자는 독성을 나타내지 않았다. 또한, 21 nm 와 48 nm SiO₂ 입자를 24h 동안 rat 배아 심실 심근 세포(embryonic ventricular myocardial cell)인 H9c2(2-1)의 CC50에 노출(0.1-1.6 mg/mL)시킨 결과, 21 nm 입자가 48 nm 입자 대비 세포독성이 더 강하다는 것을 관찰하였다. 세포 생존능력 감소는 시간과 용량 의존성을 나타내었으며 세포 손상은 산화스트레스 발현에 의해 발생된다고 제시하였다(Ye et al., 2010b).

Sun et al.(2011)은 43 nm SiO₂ 입자가 사람의 간종양 세포(human hepatoma cell) HepG2 내 산화스트레스를 유도하여 세포독성을 발현하며 용량 의존성을 나타낸다고 보고하였다. ROS 생성이 많아지면 미토콘드리아 막이 잠정적으로 감소하고 미토콘드리아 경로를 통해 세포 사멸을 일으킬 수 있다고 하였다. Chu et al.(2012)은 결정형 및 비결정형 SiO₂가 사람 폐암종 세포(human lung carcinoma cell) H1299에 대해서 세포이물흡수과정을 통해 세포 내로 침투한다고 보고하였다. 비결정형 SiO₂는 막 결합 세포기관 내에 존재하는 반면, 결정형 SiO₂는 어떠한 피막형성 없이 세포질 내에 대부분 존재하고 있음이 관찰되었다. 미토콘드리아 양 증식(세포 손상의 발현을 의미)는 비결정형 SiO₂ 대비 결정형 SiO₂를 처리한 세포에서 2.5배 증가하는 것이 확인되었으며, 세포 내 ROS 레벨 증가로 이어졌다. 또한 DNA 분열로 인해 결국 직접적인 세포사멸에 이르게 하였다. 그러나 비결정형 SiO₂에서는 세포 내 유전독성효과는 없다고 보고하였다. Skuland et al.(2014)은 50 nm 및 500 nm

SiO₂ 입자를 사용하여 입경 및 표면적 효과에 대해 연구하였다. 사람의 기관지 상피 폐 세포(human bronchial epithelial cell)인 BEAS-2B 내 사이토카인(cytokine) 반응 확인 결과, mass 기준에서는 50 nm SiO₂ 입자의 경우 cytokine 반응이 더 강하였다. 반면에, 유사한 표면적 농도로 노출시켰을 경우 500 nm SiO₂ 입자가 더 강하게 나타났다. 이는 집합(agglomeration)/응집(aggregation)과 침적(sedimentation) 특성에 기인된 것으로 추정하였으며, 입자 반응성 또는 세포 내 입자 흡수 차이에 대한 영향을 배제할 수는 없다고 보고하였다.

Nabeshi et al.(2011a)은 BALB/c mouse를 대상으로 SiO₂의 피부흡수, 세포성 국한(cellular localization), 세포독성을 조사했으며, 70 nm SiO₂ 입자는 피부 막 투과에 의해 전신노출 되어 돌연변이 활성화를 일으킨다고 보고하였다. 또한, 나노 크기의 SiO₂ 입자는 사람의 케라티노사이트(human keratinocyte: 켈틴생성세포)인 HaCaT 내에서 ROS 생성 및 DNA 손상을 일으켜 세포이물흡수(endocytosis)를 유발시켰다(Nabeshi et al. 2011b). 70 nm SiO₂ 입자의 경우 ROS 증대, DNA 손상이 확인되었으며, 입자가 커질수록(300 nm 및 1000 nm) 반응성은 감소되는 것으로 나타났다. Zhang et al.(2010)은 비결정형 80 nm SiO₂ 입자가 사람의 피부 섬유아 세포(human dermal fibroblast)의 생존능력 감소 및 미토콘드리아 전위 감소를 일으키며 cell adhesion 및 cell migration은 SiO₂ 투여 농도(dose)에 크게 영향을 받는다고 보고하였다. 80 nm SiO₂ 입자 50 µg/mL 및 100 µg/mL 용량에서 세포 생존능력이 각각 control group 대비 83.9% 및 73.9% 수준으로 감소하였다. 반면에 500 nm SiO₂의 경우 매우 약한 세포독성을 나타냈다(200 µg/mL 농도에서 91.4% 수준을 나타낸 control group 과 큰 차이가 없음). 본 연구결과와 같이 나노 크기의 SiO₂ 입자가 세포생존능력 면에서 사람의 섬유아 세포에 약영향을 유발시킨다는 것은 15 nm SiO₂ 입자가 내피세포에 심각한 세포독성을 일으킨다는 Napierska et al.(2009)의 연구결과와 일치한다. Cho et al.(2007)은 14 nm SiO₂ 입자를 기관 내 주사(intratracheal injection)한 경우 폐 조직 내에서 IL-1β 및 IL-8 mRNA 레벨이 초기단계에서 각각 66배 및 10배 상승하였지만, 주사 후 1주일 만에 control level

로 회복됨을 관찰하였다. Ubaldi et al.(2012)은 15-300 nm SiO₂ 입자를 1-100 µg/mL 농도로 BALB/3T3 mice 섬유아세포(fibroblasts)에 노출시켰을 때 세포에는 내재하지만, 세포독성, 유전독성 및 형태학적 변화를 야기하지 않는다고 보고하였다.

한편, Rabolli et al.(2011)은 25 nm SiO₂ 입자의 세포독성이 응집(180 nm, small aggregated에 한함)에 의한 것이 아니라 표면적에 기인된다고 보고하였다. Mouse 대식세포(macrophage) J774 및 BALB/c 3T3 mouse 섬유아세포(fibroblast)의 ED50은 각각 6-9 µg/mL 및 15-22 µg/mL이었으며, 이는 SiO₂ 입자의 비표면적과 일치하는 것으로 확인되었다. 일반적으로 나노 크기 입자의 응집 상태는 입자의 독성 활성화에 대한 평가에서 중요한 요소이다. 따라서 실험계에서 입자 분산을 증가시키거나 또는 응집을 감소시키기 위해 노력하고 있지만 응집상태에 대한 영향이 크지 않다는 연구결과가 지속적으로 발표되고 있다.

Lu et al.(2013)은 30, 70, 300 nm의 모든 SiO₂ 입자에서 BALB/c mice 간에 대한 급성염증이 발생된다고 보고하였다. In vivo imaging에서 정맥 주사한 SiO₂ 입자는 간, 비장, 소화관에서 주로 나타나는 것으로 관찰되었으며, SiO₂ 입자는 염증과 산화스트레스로 미토콘드리아 기능장애를 유발하여 결국 호중구 매개 간 손상(neutrophil-mediated liver injury)에 의한 간세포 탈지(hepatocyte necrosis)를 일으키고 간에서 활성화된 세포 반응경로는 입자 용량에 독립적으로 영향을 받는다는 것을 확인하였다. 세포반응경로 활성화는 입자크기가 동일할 때 우선적으로 입자 용량에 의존하거나, 나노 또는 submicron 크기의 SiO₂ 입자가 주사되는 경우 입자 크기, 표면적 및 입자 수에 의존한다는 것이 관찰되었다.

Yu et al.(2009)은 다양한 입경(30, 48, 118, 535 nm) 별 SiO₂ 입자의 mice HEL-30(케라티노사이트: 켈틴생성세포) 세포에 대한 세포독성 및 생화학적 변화를 관찰하였는데, SiO₂ 입자는 세포질(cytoplasm) 내에 분포하고 있으며, LDH leakage가 용량 및 크기(30 nm 및 48 nm) 의존성을 가지는 것으로 관찰되었다. 미토콘드리아 생존능력 분석에서는 30 nm 및 48 nm 입자가 115 nm 및 535 nm 입자에 비해 100 µg/mL 농도에서 독성이 강한 것으로 나타났다. 최종적으로 100 nm 미만의 SiO₂ 입자는 입경이 생물학적

영향을 발현하는데 중요한 인자임을 제시하였다. 또한 Nishimori et al.(2009)도 입자 크기 및 용량 의존성이 있는 mouse 간독성(hepatotoxicity) 효과에 대해서 보고하였다. 입경 별 100 mg/kg 농도에서의 간 급성 독성 조사 결과, 70 nm SiO₂ 입자를 경구 투여했을 경우 50 mg/kg과 100 mg/kg 농도에서 빈번히 사망했으나, 300 nm 및 1000 nm 입자의 경우 생존했으며 간, 비장, 폐, 신장 등에 독성을 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. 70 nm SiO₂ 입자의 경우 30 mg/kg 농도를 투여했을 경우 비장, 신장 및 폐에 이상증상은 나타나지 않았으나, 간 내 혈구의 퇴행성 괴사(degenerative necrosis)가 확인되었는데 이는 70 nm SiO₂ 입자가 간에 독성이 있음을 시사한다. 또한 70 nm 입자를 투여한 만성독성 실험 결과, 간 섬유화를 야기했는데 나노 크기 입자의 간 독성에 있어서 표면적이 중요한 인자임을 알 수 있다. 한편 300 nm SiO₂ 입자의 투여용량 100 mg/kg은 표면적으로 환산하면 70 nm SiO₂ 입자의 약 30 mg/kg에 해당하며, 이 용량에서는 독성을 나타내지 않았는데 나노 크기 입자의 간 독성에 있어서 표면적이 중요한 인자임을 알 수 있다.

Yamashita et al.(2011)은 70 nm SiO₂ 및 35 nm TiO₂(rutile-type) 입자 0.2-0.8 mg이 투여된 임신 중인 BALB/c mice의 태반, 태아 간, 태아 뇌에서 이들 입자가 발견되었으며, 이들 입자에 주사된 mice는 다른 비노출 mice 대비 자궁 및 태아가 더 작은 것으로 관찰됨에 따라 이들 입자에 의한 임신합병증(pregnancy complications)을 일으킬 수 있다고 보고하였다. 하지만 300 nm 및 1000 nm SiO₂ 입자에서는 이러한 합병증을 일으키지 않는다고 하였다.

2) 형상 효과

Alexander et al.(2012)은 nanowire 형태의 SiO₂ 입자가 50 µg/mL 이상의 농도에서는 사람 유방암 세포(human breast cancer cell) Hs578T에 세포독성을 나타내며, 세포 내 존재하는 nanowire의 높은 수가 기계적 장애를 유발하여 세포사멸이 일어난다고 보고하였다. 한편, Barnes et al.(2008)은 나노 크기의 SiO₂ 입자가 4-40 µg/mL 용량범위 내에서 섬유세포 유사 형태학(fibroblast-like morphology)을 가지는 mouse 3T3-L1 세포에 유전독성을 나타내지 않는다고 보고

하였다.

2. WO₃ 입자

SiO₂, Al₂O₃, TiO₂ 등 다른 3종의 금속산화물 대비 WO₃ 입자의 독성에 관한 연구사례가 많지 않았다. WO₃ 입자의 경우 형상(섬유형 및 구형) 및 용량에 따른 독성 연구만이 보고되어 있는 것으로 확인되었다. 입자 크기 및 결정구조 등에 대한 연구 사례는 없는 것으로 나타났으며, 일반적으로 WO₃ 입자를 흡입하게 되면 폐 자극성이 나타난다고 알려져 있으며, 본 조사에서도 대부분 폐 독성에 대한 연구로 확인되었다. 한편 발암성 관련하여 IARC 및 ACGIH에서는 현재까지 분류물질에서 제외되어 있다. 현재까지 보고된 WO₃ 입자 독성은 다음과 같다.

Leanderson & Sahle(1995)는 섬유형 WO₃ 입자를 이용하여 배양된 사람 폐 세포(human lung cell)의 독성과 용혈 활성(hemolytic activity)에 대해 청석면과 비교 분석하였다. 사람 폐 세포에 200 µg/cm²의 노출 농도 조건에서는 WO₃ 입자가 청석면에 비해 세포독성은 더 강하지만 적혈구 내 용혈(혈액속의 적혈구가 파괴되어 헤모글로빈이 유출되는 현상) 활성은 낮은 것으로 나타났으며(청석면 대비 약1/5수준), 독성은 폐 섬유화의 발현에 잠재적으로 기여할 수 있는 hydroxyl radical 생성량에 의존한다고 보고하였다. 따라서 섬유형의 WO₃ 입자 노출로 인해 중금속 근로자에게서 진폐증 발병이 증가할 수 있으므로 산업현장에서의 노출을 간과할 수 없다고 기술하였다. 한편 Wang et al.(1994)은 WO₃ 입자가 rat에게 폐 섬유화를 발현시키지 않는다고 보고하였으나, Keith et al.(2007)은 mild한 폐 섬유화를 발현시킨다고 보고하였다.

White rat을 대상으로 식염수 0.5 mL내 50 mg WO₃를 단일의 기관 내 주입했을 때 4, 6, 8 개월 후 사망하는 것으로 확인되었다. 병리조직학적 변화는 폐에 제한적이었으며, 특히 입자가 축적되는 곳에서는 경 섬유증이 발현되었다. 또한 젊은 rat을 대상으로 3.96 % 텅스텐(W)에 해당하는 텅스텐 산화물을 70일간 경구 투여 했을 때, 심각한 독성이 나타났는데 초기 체중이 줄면서 10일 내에 사망하였다. 0.5% 텅스텐에 해당하는 텅스텐 산화물을 주입한 경우 rat의 3/4이 죽었다(Nordberg et al., 2011).

WO₃ 입자를 rat에 기도 투여하여 특정표적장기 전 신독성(단회폭로) 실험 결과, 특히 폐의 주입부위에 백혈구와 조직구의 증식 및 경 섬유화가 확인되었다. 70일간 반복투여의 경우 0.5%(90일 환산용량: 약 194 mg/kg) 이상에서 사망하는 것으로 관찰되었지만, 저용량(0.1%)에서의 소견은 체중저하의 기록만이 있다. 장기근로 이력이 있는 노동자를 대상으로 한 조사에서는 텅스텐 또는 그 불용물질에 노출된 사람에게서 진폐의 발병은 없었다고 보고되어 있다 (ACGIH, 2001). 한편 WO₃ 입자를 포함하는 분진에 노출된 노동자에게서 폐 섬유증의 특징이 나타났다 (ATSDR 2005).

Hasegawa et al.(2012)은 WO₃의 변이원성은 5종의 박테리아 계통을 사용하는 에임스 검사법(Ames test_ 돌연변이 유발성 측정에 의한 발암성 물질 검출 시험)으로 조사되었으며, WO₃ 입자의 다변성은 v-Haras-transfected BALB/c 3T3 세포(Bhas 42 cells)를 사용하는 세포-변형 분석법에 의해 확인되었다. 나노

크기의 WO₃ 입자는 TA98(균주_strain: 순수하게 분리하여 배양한 세균이나 균류)에서 positive 돌연변이 반응을 나타냈으나, 마이크로 크기의 WO₃ 입자에서는 어떠한 변형도 나타나지 않았다. 다변성은 입자의 크기가 아니라 화학적 조성에 기인한다고 할 수 있지만, WO₃ 입자에 의한 변이원성(돌연변이)은 입자 크기에 의존한다고 하였다. Laulicht et al.(2014)은 WO₃ 입자의 사람의 기관지 상피 세포(human bronchiolar epithelial cell) Beas-2B에 노출 시 세포독성 및 발암 가능성에 대해 조사하였다. 6주 노출 후 세균 배양액(agar) 당 평균 8개의 집락(colony)을 보였고, 더 낮은 용량(0.25-1.0 µg/cm²)에서 평균 25개 집락을 보였으며, 더 높은 용량 (5.0-15.0 µg/cm²)에서는 30-75개 집락을 형성했다. 따라서 Beas-2B 세포에 WO₃ 입자를 만성적으로 노출시킬 경우 세포 내 변형을 유발하기 때문에 흡입된 WO₃ 입자는 폐 자극 뿐만 아니라, 높은 농도에서는 폐 발암 가능성이 있다고 하였다.

Table 3. Studies on aluminum oxide particles toxicity

Size (nm)	Exposure concentration(time)	Cell line (animal model)	Toxicity	Result	Reference
10-20	1.0-250 µg/mL (0-40h)	Human umbilical vein endothelial cell, Porcine arterial endothelial cell	Cytotoxicity	(+)	Oesterling (2008)
13	0.25-100 µg/mL (1-72h)	A549 (Human)	Cytotoxicity	(+)	Simon-Deckers (2008)
13	0.25-1.50 mg/mL (48h)	HFL1 (Human)	Cytotoxicity Morphological transformation	(+) (+)	Zhang (2011)
32.7	0-500 µg/mL (24h)	A549, U937 (Human)	Cytotoxicity	(+)	Braydich-Stolle (2010)
N/A	N/A	HBMEC(Human) Oral treatment(Rat)	Genotoxicity	(+)	Chen (2008)
50-80	10-200 µg/mL (24h)	BJ(Human), L929(Murine)	Cytotoxicity	(-)	Radzium (2011)
N/A	100 µg/mL (24h)	Human lymphocyte	Cytotoxicity Genotoxicity	(-) (+)	Rajiy (2015)
N/A	N/A	Human lung epithelial cell, A549, L-132(Human)	Cytotoxicity	(-)	Kim (2010)
30, 40 bulk	500-2,000 mg/kg (3-14days)	Oral treatment (Wistar rat)	Hepatotoxicity Hepatotoxicity	(+) (-)	Prabhakar (2012)
30, 40 bulk	500-2,000 mg/kg (18-30h)	Peripheral blood cell (Wistar rat)	Genotoxicity Genotoxicity	(+) (-)	Balasubramanyam (2009)
< 100 nm	1-50 mg/kg (30-60days)	ED1, GFAP, Nestin (Sprague-Dawley rat)	Neurotoxicity	(+)	Li (2009)

N/A ; Not applicable, (+) ; positive, (-) ; negative

3. Al₂O₃ 입자

Al₂O₃는 백색의 분말로서 육방정계(hexagonal system)의 결정구조를 가지며 IARC 및 ACGIH에서는 발암성 물질로 분류하고 있지 않다. 반도체 작업 환경에서는 ETCH 공정 및 METAL 공정에서 발생 가능성이 높은 것으로 확인되며 지금까지 보고된 Al₂O₃ 입자의 독성을 Table 3에 정리하였다.

Oesterling et al.(2008)은 10-20 nm Al₂O₃ 입자가 혈청 포함 매체 내 생리적 pH 7.4에서 집합체(agglomerates)를 나타내는 경향이 있으며, 사람의 제대 정맥 혈관 내피 세포(human umbilical vein endothelial cell)에 대한 활성 단백질의 흡착력을 증가시킨다고 밝혔다. 이는 나노 크기의 Al₂O₃ 입자가 전염증성 반응을 이끌어내어 동맥경화와 같은 심혈관 질환 위험을 나타낼 수 있음을 시사하고 있다. 또한 Simon-Deckers et al.(2008)은 13 nm Al₂O₃ 입자(serum media에서 응집하여 50-200 nm를 나타냄)가 A549세포 내로 신속히 침투하여 세포질(cytoplasm)과 세포소낭(intracellular vesicle)에 분포할 수 있으며, 입자 크기, 결정상 및 화학적 조성에 따라 생물학적 반응이 상당히 다르다고 보고하였다. MTT (methyl thiazolyl tetrazolium) 세포독성 분석결과로부터 Al₂O₃ 100 µg/mL을 48h 노출 후 세포사멸속도(cell death rate)는 3% 증가하는 것으로 나타났다.

Zhang et al.(2011)은 구형의 13 nm (분산 평균입경 186.8±5.6 nm) Al₂O₃ 입자를 사람의 태아 폐 섬유아 세포(human fetal lung fibroblasts) HFL1에 48h 노출시켰을 때의 독성영향을 조사하여 0.25-1.50 mg/mL의 농도영역에서 세포 미토콘드리아 기능장애, 형상 변형 및 세포사멸을 확인하였으며, 용량의존성을 나타내고 보고하였다. Braydich-Stolle et al.(2010)은 32.7 nm Al₂O₃ 입자(혈청존재 media에서 응집체 형성 시 입경: 839-948 nm)를 이용하여 폐세포(pneumocyte) A549 및 사람의 폐포 대식세포(human alveolar macrophages) U937 내 독성 발현에 대해 관찰하였다.

다. Al₂O₃ 나노입자에 의해 면역세포의 식세포 능력이 감소되고 면역반응의 변화가 관찰됨에 따라, Al₂O₃ 입자가 독성은 낮지만 사이토카인(cytokine)의 분비를 억제하여 식세포에 반응하는 세포의 자연적 능력을 변화시킨다고 보고하였다. Chen et al.(2006)은 Al₂O₃ 나노입자를 사람의 뇌 미세혈관 내피세포(human brain microvascular endothelial cells, HBMEC)에 처리한 경

우 HBMEC 생존능력의 급격한 감소, 미토콘드리아 전위 변형, 세포산화 증가 및 밀착연결 단백질 발현(tight junction proteins)이 control 나노입자에 비해 감소되었다고 보고하였다. 또한 rats에 Al₂O₃ 29 mg/kg을 주입한 결과, 뇌는 밀착연결 단백질 발현을 위해 세포산화되었으며, claudin-5 및 오클루딘(occluding)의 심각한 절단 및 붕괴(분열)가 관찰되었다. 이러한 결과로부터 Al₂O₃ 입자에 의해 뇌 맥관구조가 영향을 받을 수 있음을 언급하였다.

한편, Al₂O₃ 입자가 독성을 나타내지 않는다는 연구결과도 보고되고 있다. Radzium et al.(2011)은 구형의 50-80 nm(평균 응집체 크기 230-550 nm) Al₂O₃ 입자가 생쥐 섬유아세포(murine fibroblast cell) L929 과 정상적인 사람 피부 섬유아세포(normal human cell, skin fibroblasts) BJ 막을 통과하지만, 10-200 µg/mL 농도범위에서는 통계적으로 유의한 수준의 세포소멸 증가 또는 세포 생존력 감소는 관찰되지 않는다고 보고하였다($p < 0.05$). 따라서 나노 크기의 Al₂O₃ 입자가 포유류 세포에 대해서는 세포독성을 나타내지 않는다고 하였다. 그리고 Rajiy et al.(2015)은 Al₂O₃ 나노입자가 100 µg/mL 노출조건에서 사람의 임파세포(human lymphocytes)에 대해 염색체 이상은 관찰되지 않았으며, 동일조건에서 SiO₂, Co₃O₄, Fe₂O₃ 나노입자 대비 DNA 손상이 가장 작다는 것을 확인하였다. 그리고 Kim et al.(2010)은 나노 크기의 Al₂O₃ 입자가 A549 및 L-132 세포에 대해서 세포증식 및 세포생존능력에 악영향은 거의 나타내지 않는다고 보고하였다.

한편 Prabhakar et al.(2012)은 wistar rats 내 30 nm 및 40 nm Al₂O₃ 입자와 bulk Al₂O₃ 입자를 500-2000 mg/kg의 농도로 경구 투여한 경우, 나노 크기의 Al₂O₃ 입자는 bulk 입자에 비해서 심각한 산화스트레스를 야기시킨다고 보고하였다. 한편 병리조직학적 시험에서는 나노 크기의 Al₂O₃ 입자가 2000 mg/kg의 농도에서 간 손상만을 나타냈다. 이 연구에서는 OECD guideline(2001)에 따른 rat 내 나노 크기의 Al₂O₃ 입자의 경구독성을 평가하기 위해 농도(500-2000 mg/kg)가 실제 노출 가능한 농도보다는 상당히 높았다. Balasubramanyam et al.(2009)은 30 nm 및 40 nm Al₂O₃ 입자의 경우(농도: 1000, 2000 mg/kg) wistar rats의 말초혈액세포(peripheral blood

cell) 내에서 tail DNA가 유의하게 증가하나 bulk Al₂O₃는 control value와 유의한 차이가 없음을 확인하였다. Al₂O₃ 입자의 입경 의존성은 rats의 다른 조직, 소변, 배설물에서도 관찰되었다. 따라서 나노 크기의 Al₂O₃ 입자는 유전독성(유전적 손상 및 장애)을 일으킬 수 있는 것으로 추정하였다.

Li et al.(2009)은 Al₂O₃ 입자의 Sprague-Dawley rats 복강 내 주사(intraperitoneal injection)를 통해 피질(cortex)과 해마(hippocampus) 내 대상세포 수의 변화를 관찰하였다. 노출 60일 경과 후 rat 에서 해마가 아주 높게 나타났으며, 피질 및 해마 내에서 ED1 세포의 상당한 축적이 혈관주위 공간에서 관찰되었다. 또한 GFAP 및 nestin 발현이 확인되었는데 이는 성상세포의 활성화에 기인한 것으로 추정되었다. 해마에 위치해 있는 신경교질세포가 피질 내에 위치해 있는 신경교질세포보다 더 민감하며, ED1과 GFAP는 신경교질세포 활성화에 대한 민감한 식별표식 세포이다. 따라서 나노 크기의 Al₂O₃ 입자는 rat 뇌의 선천 면역계에 잠재적인 영향을 가질 수 있다고 보고하였다.

4. TiO₂ 입자

일반적으로 TiO₂는 타이타늄(Titanium, Ti)의 산화물로, 결정구조에 따라 고온에서 안정한 rutile형, 저온에서 안정한 anatase형, 중간온도에서 안정한 brookite형으로 분류된다. 전 세계 도로 생산 volume의 약 70%를 차지하고 있으며 1차 입자는 직경 200-300 nm이나, 더 큰 응집체(aggregates) 및 집합체(agglomerates)를 쉽게 형성한다(Baan et al., 2006). 초미세 등급의 TiO₂(10-50nm)는 자외선 차단제 및 촉매 등으로 이용된다. 다양한 역학적 코호트 연구가 보고되고 있지만 아직까지는 TiO₂가 발암물질이라는 증거가 불충분하다. 한편, 도로 등급의 TiO₂ 및 초미세 TiO₂를 rats, mice, 그리고 hamsters에 다양한 경로로 투여한 경우, 흡입 및 기관 내 주사 시에 동물에게서는 TiO₂의 발암성이 충분히 증명됨에 따라 IARC에서는 Group 2B(possibly carcinogenic to humans)로 분류하고 있다(Baan et al., 2006). 반도체 FAB 내에서 존재할 것으로 추정(현재까지 충분한 근거자료 없음)되는 TiO₂ 입자의 크기, 표면적, 형상, 용량, 시간 별 대상 세포종류에 대한 독성 사례 검토 결과를 Table 4에 나타내었다.

1) 입경 및 표면적 효과

Hackenberg et al.(2011)은 15-30 nm TiO₂(anatase) 입자가 사람 말초혈액임파구(human peripheral blood lymphocytes)에 DNA 손상을 일으키지 않는다고 보

고하였다. TiO₂는 핵 뿐만 아니라 세포질에도 도달했으나 말초혈액임파구 내에서 세포독성 또는 유전독성을 유발하지는 않았다. Singh et al.(2007)은 20-80 nm TiO₂(anatase/rutile: 80/20)가 A549 세포에 대해 산화스트레스 및 IL-8 mRNA 발현을 유도하는 등 염증성 반응을 유발하며, 40-300 nm TiO₂(anatase) 입자 대비 A549 세포 내 세포이물흡수가 신속하게 이루어짐을 관찰하였다. 이러한 효과는 TiO₂ 입자의 특이적인 표면적에 의한 입자와 세포간의 상호작용에 의해 생성되는 산화스트레스에 기인된다고 제시하였다. Saquib et al.(2012)은 30.6 nm TiO₂(rutile) 입자가 사람 양막 상피 세포(human amnion epithelial cell) WISH 내 세포독성, 산화스트레스(생체 내 활성 산소 즉 ROS가 많아져 생체 산화 균형이 무너진 상태) 및 DNA 손상을 야기하며, 이 때 농도 의존성을 나타내는데 10 µg/mL에서 현저한 촉매활성 감소, 글루타티온 레벨 감소, 세포 내 ROS 증가 현상을 관찰하였다. 배지 내 TiO₂ 입자는 응집형태로 존재하며 주로 세포 흡수를 통해 세포 내로 들어간다. 한편, Karlsson et al.(2009)도 나노미터와 마이크로미터 크기의 다양한 금속산화물 입자의 독성에 대한 입경 의존성에 대해 조사한 결과 나노 크기의 입자가 마이크로 크기 입자보다 동일 조성의 조건하에서 항상 독성이 더 강한 것은 아니라고 보고하였다.

Shukla et al.(2013)은 124.9-192.5 nm 크기의 anatase 형 TiO₂ 입자가 저농도(1 µg/mL) 조건에서 미토콘드리아 매개(mitochondria-mediated) 경로를 통해서 사람 간세포(human liver cells) HepG2 내 산화적 DNA 손상과 세포사멸(80 µg/mL(6h) 농도에서 90% 세포 생존)을 야기한다고 보고하였다. 그 원인으로 지질과산화물 및 ROS 증가와 동시에 글루타티온 레벨 감소에 기인되었다고 추정할 수 있다. 또한 Iglesias et al.(2014)은 나노 크기의 TiO₂(anatase) 입자가 rat과 사람의 신경교세포(gial cell), 신경교종세포(C6), 신경아중세포주(U373)에 독성을 나타낸다고 보고하였다. TiO₂ 입자는 지질과산화물 내 매개변화에 의해 신경교세포 내 강한 산화스트레스를 야기했

Table 4. Studies on titanium dioxide particles toxicity

Titania form	Size (nm)	Exposure concentration(time)	Cell line (animal model)	Test type	Result	Reference
anatase	15-30	20-200 µg/mL (24h)	Peripheral blood lymphocyte(Human)	Cytotoxicity Genotoxicity	(-) (-)	Hackengerg (2010)
rutile anatase	20-300	16-80 µg/cm ³ (4h)	A549 (Human)	Cytotoxicity	(+)	Singh (2007)
rutile	30.6	0.625-10 µg/mL (24h)	WISH (Human)	Cytotoxicity Genotoxicity	(+) (+)	Saquib (2012)
rutile/anatase	63-1000	40 µg/cm ² (4h)	A549 (Human)	Cytotoxicity Genotoxicity	(+) (+)	Karlsson (2009)
anatase	124.9-192.5	0-80 µg/mL (6-48h)	HepG2 (Human)	Cytotoxicity Genotoxicity	(+) (+)	Shukla (2013)
anatase	< 300	20 µg/cm ² (2-24h)	Glial cells(Human & Rat) U373(Human), C6(Rat)	Cytotoxicity	(+)	Iglesias (2014)
anatase	3	0.4 mg/kg 4 mg/kg	Inhalation (C57B1/6 Mouse)	Acute toxicity Acute toxicity	(-) (+)	Grassian (2007)
anatase	5	62.5 mg/kg 125-250 mg/kg (30 days)	80 CD-1(Mouse)	Hepatotoxicity Hepatotoxicity	(-) (+)	Duan (2010)
anatase	19, 28 176	1.5-5 mg/kg (1day-1month)	BALF(Rat)	Inflammation Inflammation	(+) (-)	Kobayashi (2009)
anatase	20, 250	22.3-23.5 mg/m ³ (6h/day, 12w)	Inhalation Fisher 344(Rat)	Inflammatory response	(+)	Oberdörster (1994)
anatase	25, 80	5 mg/kg (24-72h)	Oral administration (Mouse)	Acute toxicity Histopathological change	(+) (-)	Wang (2007)
anatase	33, 160	40-1,000 mg/kg (daily for 7days)	Oral administration (CBAB6F1 Mouse)	Cytotoxicity/ Genotoxicity	(+/ (+)	Sycheva (2011)
anatase	N/A	10 mg/m ³ (90 days)	Inhalation (Rat, Mouse, Hamster)	Tumorigenesis (Rat only)	(+)	Hext (2005)
rutile anatase	200 x 35	5 mg/kg (24h-3months)	Intratracheal instillation (Rat)	Acute lung toxicity	(+)	Warheit (2006)
anatase	> 5µm(short) > 15µm(long)	30 µg/murine (2-24h)	Oral administration (C57BL/6 Murine)	Cathepsin activity	(+)	Hamilton (2009)
anatase/rutile rutile	3-5 3.2	0.3-3,000 µg/mL (48h)	HDF(Human), A549(Human)	Cytotoxicity Cytotoxicity	(+) (+)	Sayes (2006)
anatase	12-132	12.5 mg/kg(6h) 50 µg/mL(48h)	Gut epithelia (Human, Mouse) Caco-2, Caco-2/HT29-MTX	Cytotoxicity	(+)	Brun (2014)
rutile,anatase	< 5µm, < 25	1-100 µg/cm ² (24-72h)	BEAS 2B(Human)	Cytotoxicity/ Genotoxicity	(+/ (+)	Falck (2009)
anatase,rutile	< 100, > 100	N/A (24-72h)	Embryo cell (Syrian Hamster)	Cytotoxicity/ Genotoxicity	(+/ (+)	Guichard (2012)
anatase/rutile rutile	129.4 136-382	1-5 mg/kg (24h-3months)	Organ administration (Rat)	Inflammation/ Cytotoxicity/ Histopathology	(+/ (+/ (+)	Warheit (2007)

N/A; Not applicable, (+) ; positive, (-) ; negative

으며, 입자의 형태학적 변화, 미토콘드리아 손상 그리고 미토콘드리아막 전위 증가가 관찰됨에 따라

TiO₂ 입자가 신경교세포에 세포독성을 나타내는 것으로 확인되었다. 한편, Grassian et al.(2007)은 3 nm

TiO₂ 입자의 mouse C57B1/6 폐 주입 시험에서는 급성독성은 0.4 mg/kg에서는 출현하지 않고, 4 mg/kg에서 약한 독성이 확인되었다고 보고하였다.

Duan et al.(2010)은 5 nm TiO₂ 입자(anatase)를 62.5-250 mg/kg의 농도조건에서 80 CD-1 mice의 위내에 30일간 매일 투여(intragastric administration)한 결과, TiO₂ 입자가 고농도(125-250 mg/kg)에서 mice의 간의 coefficients 증가, 간 내 조직병리학적 변화 등의 간 기능을 손상시킨다고 보고하였다. 이는 지혈계(haemostasis blood system) 및 면역반응(immune response) 손상과 관계있을 것으로 추정되며, 저농도(62.5 mg/kg)에서는 이러한 손상을 거의 나타내지는 않았다. 이러한 현상은 Liu et al.(2009)의 연구결과와 유사하다. 또한 Kobayashi et al.(2009)은 rat을 대상으로 19 nm, 28 nm, 176 nm의 TiO₂를 기관 내 주사(용량 1.5-5 mg/kg) 후 폐 염증반응 확인 결과 입자 크기에 따른 독성차이를 관찰하였다. 176 nm TiO₂ 입자에서는 폐 염증이 관찰되지 않았으나, 주사 1주일 후 19 nm 및 28 nm TiO₂ 입자에 의한 폐 염증반응이 관찰되었다. 즉 입자 크기에 따른 독성이 확인되었으며 이는 입자 표면적 또는 입자 수에 기인할 수 있다. 하지만, long term(>1 month) 효과에 대해서는 폐 염증이 두 입자 모두의 경우 급격히 회복됨이 관찰되었다(입경에 따른 차이가 없음). 하지만, 응집 상태(표면적 30배 다름)가 다른 입자에 대해서는 독성 차이가 관찰되지 않았다. 즉 급성독성은 입자 크기 영향이 나타나지만 1개월 이상 장기간 관찰 시 효과는 미미함을 알 수 있다.

Oberdörster et al.(1994)은 20 nm와 250 nm TiO₂ 입자를 이용한 fisher 344(rat)의 흡입독성시험에서 같은 농도에서 작은 입자가 폐에 많이 정체하고, 지질(lipid)을 통과하여 폐의 림프절에 도달한다는 것을 관찰하였다. 20 nm 입자가 250 nm 입자 대비 염증반응 지표들의 증가를 보였으며, 폐의 표피세포, 지질의 섬유화 및 대식세포 기능의 변화를 보여주었다. 또한 20 nm 입자의 폐에서의 제거는 훨씬 많은 시간이 소요되는 것으로 나타났다. Wang et al.(2007)은 25 nm 및 80 nm TiO₂를 mice에 경구섭식 시켰을 때 5 mg/kg의 농도에서 급성독성을 야기했으며, 간, 비장, 신장 및 폐 조직에 남아있음이 관찰되었지만 비정상적인 병리조직학적 변화는 확인되지 않았다고

보고하였다. 이 연구에서는 나노 크기의 TiO₂ 입자가 위장관 내로 섭취된 후 다른 조직이나 기관에 이동될 수 있음을 나타낸다.

한편, Sycheva et al.(2011)은 male CBAB6F1 mice를 대상으로 한 경구섭식(oral gavage) 투여방법에 의해 TiO₂ 입자의 입경 별 multiple-organ(brain, liver, bone marrow)에서의 유전독성 및 세포독성 효과에 대해 조사했다. 160 nm TiO₂ 입자는 골수(bone marrow) 세포 내에서 DNA 손상과 micronuclei를 야기시켰으며, 33 nm TiO₂ 입자는 골수 및 간세포 내에서 DNA 손상을 야기시켰다. 또한, 입경이 다른 2종의 TiO₂ 입자는 전위(forestomach)와 대장상피(colon epithelia), 2개 및 그 이상의 핵을 갖는 정자세포(spermatid) 내 분열지수를 증가시키는 것으로 확인되었다. Hext et al.(2005)은 나노 크기의 TiO₂를 rat, mice, 그리고 hamster에 고농도(10 mg/m³)로 90일 동안 흡입시켜 1년간 관찰한 결과, rat에서는 조직병리학적 손상이 급격히 진행되며 폐 내 종양이 확인되었으나 mice 및 hamster에서는 노출 후 뚜렷한 회복을 가지면서 최소한의 초기 손상만 나타내며 종양은 확인되지 않았으며, 폐 부담(lung burden)에 있어 중량보다는 표면적이 더 생물학적 효과에 관계가 있다고 하였다. 이 연구에서 저자는 발암성 반응은 rat에서의 특이적 현상일 수 있지만 인체에 잠재적인 건강영향을 일으킬 수 있다고 보고하였다.

2) 형상 효과

Warheit et al.(2006)은 rat에 대하여 나노 크기의 TiO₂ rods(wide 20-35 nm, long 92-233 nm)와 dot(5.8-6.1 nm)를 이용해서 기관 내 주사를 통한 급성 폐 독성 연구를 수행한 결과, 독성은 입자의 크기 및 표면적에 영향을 받지 않는다고 보고하였다. TiO₂는 5 mg/kg 용량에서 rat에게 심각한 폐 독성을 일으키지 않았다. 일반적으로는 나노 입자는 bulk 입자에 비해 폐 염증과 세포독성 증가를 일으키는 것으로 알려져 있으나, 이 연구에서의 결과는 종래 알려진 내용과 불일치한다. 원인은 불명확하지만 복합적인 변수(크기, 표면적, 결정형)의 작용에 의한 것일 수도 있을 것이다. Hamilton et al.(2009)은 murine C57BL/6를 대상으로 fiber형 TiO₂ 입자(short: > 5 μm, long : > 15 μm)에 폐포 대식세포 및 생물학적 활성(in

vivo) 변화를 관찰하였는데, fiber형 TiO₂ 입자가 염증성 활성화(inflammatory activation) 및 카텝신(cathepsin: 동물조직에 있는 단백질 분해효소의 총칭) B-mediated 메커니즘을 통해 염증성 사이토카인(cytokines)의 발현을 야기 시킨다고 보고하였다.

3) 결정구조 효과

Sayes et al.(2006)은 상대적으로 높은 수준의 농도(100 µg/mL)인 anatase TiO₂ 나노입자 사람 피부섬유아세포(human dermal fibroblasts cell) 및 폐 상피세포(human lung epithelial cell)에 대한 세포독성과 염증 반응을 관찰한 결과, 세포반응에서는 전형적인 양성 반응을 보였으며 시간 경과와 함께 증가하였다. Anatase/rutile(80:20) TiO₂(3-5 nm)는 동일량의 rutile TiO₂(3.2 nm) 보다 100배 독성이 높은 것으로 나타났다. 여기서 세포독성이 높은 Anatase/rutile TiO₂가 ROS를 6배 많이 생산했으며, Ex-vivo 실험에서 UV에 의해 생성되는 ROS의 생성과 높은 상관관계를 보였다. 따라서 ROS가 잘 생성되도록 디자인된 TiO₂의 독성이 더 클 것으로 추론된다. 이 연구에서는 물질의 입경 및 표면적에 따라 반응을 하는 것이 아니라 TiO₂ 입자의 위상성분(phase composition)에 따라 반응함을 제시하였는데, Xue et al.(2010)도 anatase형 TiO₂ 입자가 rutile형 TiO₂ 입자 대비 훨씬 큰 잠재적인 독성을 가진다고 보고하였다. 또한 US EPA(2007)에서는 나노 크기의 TiO₂ 독성은 입자의 사이즈와 표면적에 관련이 없고, 특이한 결정구조 및 산화활성의 능력이 중요하다고 보고하였다.

Brun et al.(2014)은 TiO₂ 입자가 응집체 상태로 정상적인 회장(ileum: 소장의 마지막 부위) 상피 내벽을 통해서 이동하여 상피 손상을 일으키고, 내장 상피 세포(gut epithelia cell) 내에서 용해되지 않고 지속되어 결국 만성 손상을 발현시킬 수 있다고 보고하였다. 한편, Caco-2 세포를 이용한 연구에서는 어떠한 세포독성도 관찰하지 못했다. 이것은 TiO₂ 입자의 표면특성으로 설명되어질 수 있는데, 이 연구에 사용된 입자는 혈청포함 medium(serum-containing medium), 즉 단백질 코팅 집합체와 음으로 대전되었다. 나노 크기의 입자와 세포막과의 상호작용은 표면특성에 지배를 받으며, 음으로 대전된(negatively-charged) 입자는 negatively-charged 세포막과 정전기

척력(electrostatic repulsion) 작용을 받기 쉽게 되어 세포막을 갖는 입자의 작용은 코팅된 단백질에 의해 막 수용체의 특이적 인식으로 제한된다고 할 수 있다(Liang et al., 2010; Lesniak et al., 2012). 반대로 serum-free exposure medium 내에서 준비했을 때 입자는 세포막에 강하게 부착하며 비특이적으로(non-specifically) 축적되었는데, 결과적으로 serum-containing medium 내에서 준비될 때 입자의 영향이 낮다는 것을 알 수 있다. 한편 이 연구결과는 고농도에서 수행되었기 때문에 저농도에서의 만성적 노출 모델에 따른 결과가 필요할 것이라고 기술하고 있다.

Falck et al.(2009)은 사람의 기관지내피세포(human bronchial epithelial cell) BEAS 2B를 대상으로 rutile형 TiO₂(<5 µm)와 anatase형 TiO₂(<25 nm)의 독성 연구결과, rutile형 TiO₂의 경우 나노 크기의 anatase형 TiO₂ 대비 낮은 농도에서 세포 생존능력이 감소되어 세포독성이 더 크게 나타난다고 보고하였다. 또한 2종의 TiO₂ 모두 DNA 손상을 야기 시켰으며 DNA 손상을 일으키는 가장 낮은 농도는 < 5 µm 크기의 rutile형이 1 µg/cm², < 25 nm 크기의 anatase형이 10 µg/cm²인 것으로 나타났다.

Guichard et al.(2012)은 Syrian hamster의 배아(embryo) 세포를 대상으로 한 in vitro 연구에서 동일 용량에서는 나노 크기의 TiO₂(anatase&rutile) 입자가 마이크로 크기의 입자보다 ROS 레벨이 높게 나타난다고 보고하였다. 하지만, rutile형 마이크로 크기의 TiO₂ 입자는 나노 크기의 입자보다 심한 DNA 손상을 유발한 반면, anatase형의 경우 입자 크기에 관계없이 유사한 DNA 손상을 나타냈다. 따라서 나노 크기의 TiO₂ 입자에 의해 유발되는 in vitro 세포독성과 유전독성이 마이크로 크기의 입자에 의해 유발되는 독성보다 항상 크지는 않다고 보고하였다. 한편, Shi et al.(2013)은 정맥주사에 의한 노출 상에서, TiO₂ 나노입자는 간, 비장, 신장 및 뇌에 조직병리학적 손상을 야기할 수 있지만 이와 같은 현상은 매우 높은 용량의 TiO₂를 사용했기 때문인 것으로 추정하였다.

Warheit et al.(2007)은 rat 기관 내 주사(intratracheal instillation)를 통해 TiO₂ 결정구조에 따른 독성을 조사하였다. 폐 염증, 세포독성, 세포증식 및 조직병리학적 반응의 순서는 anatase/rutile(80/20) TiO₂(입경 129.4 nm) > rutile TiO₂(입경 382.0 nm) = rutile

TiO₂(136.0 nm) = rutile TiO₂(149.4 nm)로 나타났다. Anatase/rutile TiO₂가 폐 염증, 세포독성, 그리고 폐조직에 악영향을 일으키는 반면에, 3종의 rutile TiO₂ 입자는 24시간, 5 mg/kg 노출 시 일시적 염증을 일으켰으나 노출 1주일 후 회복되었다. 이 연구에서는 이러한 독성 차이를 TiO₂의 결정구조, 입자의 pH, 표면 화학 반응성과 관계가 있으며, 흡입된 rutile TiO₂ 입자는 폐 영향을 일으킬 잠재성은 낮을 것으로 예측하였다. 한편, 나노 크기 TiO₂의 경우 화학적 조성이나 결정구조에 따라서도 다른 폐 영향을 나타낼 수 있기 때문에 anatase/rutile TiO₂의 폐 독성이 모든 나노 크기 TiO₂ 입자 형태에 있어서 대표성을 나타낸다고는 볼 수 없다고 하였다.

IV. 독성발현 농도 및 메커니즘

1. 독성발현 농도

SiO₂ 입자의 경우 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 SiO₂ 입자 기준 0.5-200 µg/mL 및 10-200 mg/kg의 농도범위에서 대상 세포 및 기관 별 독성이 각각 발현되는 것으로 나타났다. 한편, WO₃ 입자의 경우 독성 연구사례가 적지만 100 mg/mL 및 194 mg/kg(90 일 환산용량)에서 실험 대상 동물(rats)이 사망하는 것으로 나타났다. Al₂O₃ 입자의 경우 2000 mg/kg 농도에서만 rat의 간 손상만이 발현되었다. 그리고 TiO₂ 입자의 경우 120-250 mg/kg 및 10 mg/m³ 농도에서 급성독성 및 종양(rats) 등이 나타났다. 이와 같이 각 입자로부터 다양한 독성이 발현되는 것으로 보고되고 있다. 하지만, 실험 연구에서 적용된 용량(농도)은 실제 작업환경 내에서는 노출 가능한 수준과 비교했을 때 극히 높은 수준이기 때문에 사람 건강영향에 대해 활용 가능한 data는 여전히 부족하다고 할 수 있다(Ref. 추가). 또한 이들 입자의 위험성 분석은 사람을 대상으로 한 노출과 용량-반응 분석에 있어서 불완전 또는 data 부족으로 제한적이다.

2. 독성발현 메커니즘

1) 호흡기를 통한 입자의 이동 경로

입자의 호흡기를 통한 독성발현에 있어서 가장 중요한 요인 중 하나로 흡입된 입자의 폐포 도달 가능성을 들 수 있다. 기존의 독성학적 개념으로는 폐를

통해 노출되는 입자의 경우 5 µm 이상의 입자는 상기도, 1 µm 이하의 입자는 폐포 까지 침투하는 것으로 알려져 있으나, 100 nm 이하의 입자는 호흡기 전역에서 조직을 쉽게 투과하여 혈액을 통해 전체 몸에 분포함으로써 백혈구를 포함한 혈액세포, 간, 심장, 혹은 신경에 축적되기 때문에 다양한 표적장기에서 유해효과를 나타낼 가능성이 있다고 알려져 있다. 한편, 1 nm 입자는 90%가 코와 상기도 부위(nasopharyngeal region), 10%가 기도 및 기관지 부위(tracheobronchial region)에 침착(폐포에는 전혀 도달하지 못함), 5 nm 입자는 세 부분에 약 30%씩 분포, 20 nm 입자는 폐포에 50% 도달(가장 큰 독성유발 조건)한다. 그러나, 20 nm 이하의 크기를 가진 입자는 확산성이 매우 커서 주로 기도부위에 침착한다(Kumar, 2006). 일반적으로 폐포에 도달된 입자상 물질은 폐포 대식세포에 의해 처리되고 이는 다시 호흡기의 점막과 섬모에 의한 기계적 배출기전(mucociliary escalation)에 의해 체외로 배출된다. 대식세포가 입자를 처리하는 속도는 입자의 크기에 비례하는데, 입자가 작을수록 폐포 대식세포에 의해 감지되어 처리되는 효율은 감소되며, 반대로 폐의 상피세포나 간질액에 흡수되는 비율은 높아진다고 알려져 있다(Oberdörster et al., 2005). 체내 유입되어 폐에 침착된 나노 크기의 입자는 입자크기, 표면특성에 따라 폐 외 표적장기로도 이동 가능하다. 폐에 침착된 나노 입자가 혈류순환을 통해 전신으로 이동되는 과정이 밝혀졌다(Oberdörster et al., 2005). 한편, 흡입된 공기 중 나노 크기의 입자는 폐를 통과하여 폐 외 조직, 예를 들면 심장, 골수, 간, 신장, 그리고 심지어 중추신경계 내에서도 발견될 수 있다(Krelying et al., 2002; Nemmar et al., 2004; Chen et al., 2006).

2) 세포독성 및 유전독성 발현 메커니즘

4종의 주요 금속산화물 입자 중 SiO₂ 및 TiO₂에 대한 독성메커니즘 연구가 가장 많이 알려져 있어 그 주요 내용을 요약 정리하였다. 비결정형 SiO₂는 결정형 SiO₂ 대비 폐 내로부터 다른 기관으로 빨리 제거되기 때문에 독성을 거의 나타내지 않는다고 알려져 있다(Oberdorster et al., 2002; Nemmar et al., 2006). 한편, SiO₂ 입자를 이용한 다양한 *in vivo* 및 *in vitro* 연구에서 ROS 및 산화스트레스가 증가한다고 보고

하고 있다. 미토콘드리아는 SiO₂ 입자의 노출에 의한 세포독성에 있어서 주요한 세포기관이다. 미토콘드리아 손상은 산화스트레스와 입자의 직접적 손상과 관련이 있다. SiO₂ 입자에 의해 유발된 산화스트레스는 미토콘드리아 막 손상과 세포사멸에 있어서 중요한 역할을 하는데 입자가 세포 내로 들어가고 세포질 내에서 분산되어 미토콘드리아 내부에 침적하게 된다. 산화스트레스에 의해 매개된 미토콘드리아 경로를 통한 세포사멸은 SiO₂ 입자에 의해 야기된 세포독성의 메커니즘이다(Wang et al., 2009). 또한, 기관지 폐포 암세포에 대한 독성연구에서는 SiO₂ 입자에 의해 MDA 및 LDH 활성이 증가하게 되고 GSH 감소, 지질과산화(lipid oxidation)되고 세포막 손상 및 세포 생존력이 감소되어 산화스트레스가 발생된다고 하였다(Lin et al., 2006).

폐에 흡수된 나노미터 크기의 입자에 의해 산화스트레스와 염증반응이 유발되는 것에 대해서는 나노미터 크기의 입자가 산화스트레스를 유발하고 그 결과 지질과산화물이나 산화형 글루타치온을 생성한다. 세포 내의 산화환원평형이 산화쪽으로 변화하게 되면 다양한 반응이 일어나게 되는데 그 중 하나는 염증반응의 중요한 조절물질인 NF-κB(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, 유전자의 발현을 조절하는 transcription factor로, 핵으로 이동하여 promoter나 enhancer 부위에 결합함)의 활성화와 이에 의해 조절되는 많은 염증관련 단백질의 합성이다(Donaldson et al., 2003). ROS 생성 레벨이 세포의 산화방지 방어를 압도한다든가, 미토콘드리아 세포사멸 메커니즘을 유발할 경우 ROS 생성이 세포독성을 유발할 수 있다(Jin et al., 2011).

한편, 마이크로미터 크기의 SiO₂ 입자는 세포 내 ROS 레벨을 급격히 촉진시키지 않았지만 DNA 손상, 세포 주기 정지(cell cycle arrest), 그리고 HepG2 세포사멸을 일으키는 것이 관찰됨에 따라 산화스트레스에 기인하는 경로 외에, 세포 손상은 세포 이하의 구조와의 직접적 반응과 같은 다른 경로에 의해서도 일어날 수 있는 것으로 추정된다.

TiO₂ 입자의 독성 메커니즘은 기존 독성 메커니즘과 유사하게 기술하고 있는데 산화 스트레스는 TiO₂가 DNA 손상을 일으키는데 있어서 중요한 역할을 한다. 또한 ROS는 입자의 유전독성에 중요한 역할을

하는데 이는 표면특성, 천이금속의 존재, 지질과산화물에 기인한다고 추정하고 있다. 나노 크기 입자의 큰 표면적은 ROS 생성을 위한 더 많은 활성 사이트를 제공한다. 입자에서 생성된 ROS는 통상 superoxide radical(O₂⁻), hydroxylradicals(•OH) 및 singlet oxygen(¹O₂)로 구성된다. ROS는 세포, 지질과산화, 효소의 산화제 손상 또는 단백질 산화, 막 투과성 등을 변화시킨다. 하지만, ROS가 입자의 독성을 모두 대변할 수는 없으며 결정구조, 입자 크기에 따른 표면적 등을 고려해야 한다. 한편, 나노입자가 ROS, RNS 또는 자유라디칼을 심하게 증가시키면, 세포막 및 미토콘드리아 내 혈장산화방지제, 지질산화 감소, DNA 손상과 유전자 발현의 활성화를 갖는 단백질의 구조적 변화를 일으키는 잠재력을 갖는다. 세포 레벨에서 산화 손상이 조직 부상으로 이어진다는 이론이 수많은 만성질환으로 발전하는 것과 관련된다고 받아들여지고 있다. 반면, TiO₂에 의해 야기된 발암에 대한 정확한 메커니즘은 불명확하다. 제한된 data로 부터 세포가 발암유전자로 변형되는 것은 ROS, 산화스트레스, 비교적 많은 양의 TiO₂ 입자가 중요한 인자로 간주된다.

V. 결 론

반도체 작업환경 내 발생 가능한 주요 금속산화물인 SiO₂, WO₃, Al₂O₃ 및 TiO₂ 입자의 물리화학적 특성 별 사람 및 동물의 각종 세포 및 기관에 대한 독성 연구 사례를 검토하여 다음과 같은 결과를 확인할 수 있었다.

(1) SiO₂ 입자(비결정형)

사람의 기관지 상피 및 내피세포, 폐암종세포, 태아 신장세포 등에 독성을 나타내며, mouse 간독성, 급성염증 등이 발현되는데, 입경, 표면적 및 용량의 존성을 가지며 특히 입경(100 nm 이하)이 생물학적 영향을 발현하는데 중요한 인자인 것으로 나타났다. 한편, 세포 종류 및 동물의 기관에 따라 SiO₂ 입자의 독성이 발현되지 않는다는 연구 사례도 확인되었다.

(2) WO₃ 입자

형상(섬유형 및 구형) 및 용량에 따른 독성 연구만

이 보고되어 있으며 대부분 폐 독성에 대한 연구로 확인되었다. 섬유형 입자의 경우 사람의 폐 세포에 대해 독성을 나타내며, 독성은 폐 섬유화 발현에 잠재적으로 기여할 수 있는 hydroxyl radical 생성량에 의존한다고 하였다. 산업현장에서 WO₃ 입자 노출로 인해 중금속 근로자에게서 진폐증 발병이 증가할 수 있으며 폐 섬유증의 특징이 나타났다.

(3) Al₂O₃ 입자

나노 크기(100 nm 이하)의 입자는 사람의 제대 정맥 혈관 내피 세포에 전염증성 반응을 유도하여 동맥경화와 같은 심혈관 질환 위험을 나타낼 수 있으며, 태아 폐 섬유아 세포 및 폐세포에 대해 세포사멸 및 세포의 자연적 능력을 변화시킨다고 보고하였다. 또한, 30-40 nm 입자는 bulk 입자에 비해 rats 유전독성(유전적 손상 및 장애)을 일으킬 수 있다고 하였다. 한편, Al₂O₃ 입자가 생쥐의 섬유아세포, 사람의 피부 섬유아세포 등 포유류 세포에 대해서는 세포독성을 나타내지 않는다는 연구 사례도 있었다.

(4) TiO₂ 입자

사람의 폐세포, 양막상피세포, 신경세포, 피부섬유아세포, 기관지내피세포, 그리고 mice의 폐포 대식세포, 간 기능 등에 영향을 나타내는 것으로 나타났다. 입자 크기, 표면적, 형상 및 결정구조 등에 대한 독성 발현 정도에 차이가 있는데, 100 nm 이하의 입자 및 anatase 형 입자의 독성이 강한 것으로 확인되었다. 한편, 나노 크기의 입자가 마이크로 크기 입자보다 동일 조성의 조건하에서 항상 독성이 강한 것은 아니라는 보고도 있으며, 실제 사람의 말초혈액임파구에 DNA 손상을 일으키지 않는다는 연구 사례도 확인되었다.

지금까지 보고된 4종의 금속산화물 입자 별 독성 연구의 상당 부분이 높은 용량 조건(0.2-200 µg/mL, 5-2000 mg/kg, 10 mg/m³)에서 수행되었으며 또한 독성이 발현됨을 확인할 수 있다. 한편, 실험 대상 동물 및 세포의 종(species)에 따라 독성이 발현되지 않는 사례도 볼 수 있다. 동물독성 연구결과를 사람에게 적용할 경우 안전계수를 활용하는 방법을 고려할 수 있으나 불확실성이 존재하며, 사람 건강영향성에

대해 활용 가능한 자료는 여전히 부족하다. 따라서 각 입자 별 인체 독성에 대해서 명확히 단정할 수 없으며, 작업환경 내 해당 금속산화물 입자의 노출조건과 유사한 상태에서의 지속적인 연구를 통해 보다 명확한 독성 확인이 가능해 질 것이다.

References

- Agency for Toxic Substances and Disease Research (ATSDR), 2005. Toxicological Profile for Tungsten. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA
- Alexander Jr FA, Huey EG, Price DT, Bhansail S. Real-time impedance analysis of silica nanowire toxicity on epithelial breast cancer cells. *Analyst* 2012;137: 5823-5828
- American Conference of Government Industrial Hygienists (ACGIH) TLVs and BEIs. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH, 2008
- American Conference of Government Industrial Hygienists (ACGIH), 2001. Tungsten and Compounds
- American Conference of Government Industrial Hygienists (ACGIH): 2015 TLV and BEIs. Cincinnati, OH, 2015
- Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Ghissassi FE, Cogliano V. Carcinogenicity of carbon black, titanium dioxide, and talc. *Lancet Oncol* 2006;7:295-296
- Balasubramanyam A, Sailaja N, Mahboob M, Rahman MF, Hussain SM, Grover P. In vivo genotoxicity assessment of aluminium oxide nanomaterials in rat peripheral blood cells using the comet assay and micronucleus test. *Mutagenesis* 2009;24(3): 245-251
- Barnes CA, Elsaesser A, Arkusz J, Smok A, Palus J et al. Reproducible comet assay of amorphous silica nanoparticle detects no genotoxicity. *Nano Lett* 2008; 8(9):3069-3074
- Bhaskar R, Li J, Xu L. A comparatively study of particle size dependency of IR and XRD methods for quartz analysis. *Am Ind Hyg Asso J* 1994; 55:605-609
- Brun E, Barreau F, Veronesi G, Fayard B, Sorieul S et al. Titanium dioxide nanoparticle impact and translocation through ex vivo, in vivo and in vitro gut epithelial. *Part Fibre Toxicol* 2014;11(1):13
- Byaydich-Stolle LK, Speshock JL, Castle A, Smith M, Murdock RC, Hussain SM. Nanosized aluminum altered immune function. *ACS Nano* 2010;4(7): 3661-3670

- Chen X, Mao SS. Synthesis of titanium dioxide (TiO₂) nanomaterials. *J Nanosci Nanotechnol* 2006;6:906-925
- Cho WS, Cho M, Han BS, Cho M, Oh JH et al. Inflammatory mediators induced by intratracheal instillation of ultrafine amorphous silica particles. *Toxicol Lett* 2007;175:24-33
- Choi KM, Kim TH, Kim KS, Kim SG. Hazard identification of powder generated from a chemical vapor deposition process in the semiconductor manufacturing industry. *J Occup Environ Hyg* 2013;10(1):D1-D5
- Choi KM, Yeo JH, Jung MK, Kim KS, Cho SH. Size, shape, and crystal structure of silica particles generated as by-products in the semiconductor workplace. *J Korean Soc Occup Environ Hyg* 2015a;25(1):36-44
- Choi KM, An HC, Kim KS. Identifying the hazard characteristics of powder by-products generated semiconductor fabrication processes. *J Occup Environ Hyg* 2015b;12(2):114-122
- Choi KM, Kim JH, Park JH, Kim KS, Bae GN. Exposure characteristics of nanoparticles as process by-products for the semiconductor manufacturing industry. *J Occup Environ Hyg* 2015c;12(8):D153-D160
- Chu Z, Huang Y, Li L, Tao Q, Li Q. Physiological pathway of human cell damage induced by genotoxic crystalline silica nanoparticle. *Biomaterials* 2012;33:7540-7546
- Donaldson K, Stone V, Borm PJ, Jimenez LA, Gilmour PS et al. Oxidative stress and calcium signaling in the adverse effects of environmental particles (PM10). *Free Radic Biol Med* 2003;34:1369-1382
- Duan Y, Liu J, Ma L, Li N, Liu H et al. Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice. *Biomaterials* 2010;31:894-899
- Falck GCM, Lindberg HK, Suhonen S, Vippola M, Vanhala E, Catalan J, Savolainen K, Norppa H. Genotoxic effects of nanosized and fine TiO₂. *Hum Exp Toxicol* 2009;28:339-352
- Farcal LR, Uboldi C, Mehn d, Giudetti G, Nativo P et al. Mechanisms of toxicity induced by SiO₂ nanoparticles of in vitro human alveolar barrier: effects on cytokine production, oxidative stress induction, surfactant proteins A mRNA expression and nanoparticles uptake. *Nanotoxicology* 2012;7(6):1095-1110
- Gehrke H, Frühmesser A, Pelka J, Esselen M, Hecht LL et al. In vitro toxicity of amorphous silica nanoparticles in human colon carcinoma cells. *Nanotoxicology* 2012;793:274-293
- Grassian VH, O'Shaughnessy PT, Adamcakova-Dodd A. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ Health Perspect* 2007;115(3):397-402
- Guichard Y, Schmit J, Darne C, Gate L, Goutet M et al. Cytotoxicity and genotoxicity of nanosized and microsized titanium dioxide and iron oxide particles in Syrian hamster embryo cells. *Ann Occup Hyg* 2012;56(5):631-644
- Hackenberg S, Friehs G, Kessler M, Froelich K, Ginzkey C et al. Nanosized titanium dioxide particles do not induce DNA damage in human peripheral blood lymphocytes. *Environ Mol Mutagen* 2011;52(4):264-268
- Hamilton Jr RF, Wu N, Porter D, Buford M, Wolfarth M, Holian A. Particle length-dependent titanium dioxide nanomaterials toxicity and bioactivity. *Part Fibre Toxicol* 2009;6:35
- Hasegawa G, Shimonaka M, Ishihara Y. Differential genotoxicity of chemical properties and particle size of rate metal and metal oxide nanoparticles. *J Appl Toxicol* 2012;32(1):72-80
- Hext PM, Tomenson JA, Thompson P. Titanium dioxide: inhalation toxicology and epidemiology. *Ann Occup Hyg* 2005;49(6):461-472
- Iglesias EG, Perez-Arizti JA, Marquez-Ramirez SG, Delgado-Buenrostro NL, Chirino YI et al. Titanium dioxide nanoparticles induce strong oxidative stress and mitochondrial damage in glial cells. *Free Radic Biol Med* 2014;73:84-94
- Ino K, Natori I, Ichikawa A, Vrtis RN, Ohmi T. Plasma enhanced in situ chamber cleaning evaluated by extracted-plasma-parameter analysis. *IEEE Transactions on Semiconductor Manufacturing* 1996;9(2):230-240
- International Agency for Research on Cancer(IARC). "IARC Monographs Volume 100C: Arsenic, Metals, Fibres and Dusts; A Review of Human Carcinogens. 2012
- Ji B, Elder DL, Yang JH, Badowski PR, Karwacki EJ. Power dependence of NF₃ plasma stability for in situ chamber cleaning. *J Appl Phys* 2009;95: 84446-84451
- Jin C, Tang Y, Yang G, Li XL, Xu S et al. Cellular toxicity of TiO₂ nanoparticles in anatase and rutile crystal phase. *Biol Trace Element Res* 2011;141(1):3-15
- Johnston CJ, Driscoll KE, Finkestein JN, Baggs R, O'Reilly MA et al. Pulmonary chemokine and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of amorphous and crystalline silica. *Toxicol Sci* 2000;56:405-413
- Karlsson HL, Gustafsson J, Cronholm P, Möller L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles-A comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol Lett* 2009;188:112-118
- Keith LS, Moffett DB, Rosemond ZA, Wohlers DW. ATSDR

- evaluation of health effect of tungsten and relevance to public health. *Toxicol Ind Health* 2007;23(5-6): 347-387
- Kim IS, Baek M, Choi SJ. Comparative cytotoxicity of Al₂O₃, CeO₂, TiO₂ and ZnO nanoparticles to human lung cells. *J Nanosci Nanotechnol* 2010;10(5): 3453-3458
- Kobayashi N, Naya M, Endoh S, Maru J, Yamamoto K, Nakanishi J. Comparative pulmonary toxicity study of nano-TiO₂ particles of different sizes and agglomerations in rats : different short- and long- term post-instillation results. *Toxicology* 2009;264: 110-118
- Krelying WG, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenata S et al. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent by very low. *J Tox Environ Health* 2002;65:1513-1530
- Kumar C.(Ed) *Nanomaterials-Toxicity, Health and Environmental Issues, Nanotechnologies for the Life Sciences Volume 5*. Weinheim, Baden-Wurttemberg, Gernay: Wiley-VCH, 2008, pp. 86-87
- Laulicht F, Cartularo L, Medict S, Peana MF, Zoroddu MA, Costa M. Investigating the potential carcinogenic effects of chronic tungsten(VI) oxide exposure to immortalize human lung cells. *Soc Toxicol* 2014; 138(1):1297e
- Leanderson P, Sahle W. Formation of hydroxyl radicals and toxicity of tungsten oxide fibers. *Toxic in Vitro* 1995;9(2):175-183
- Lesniak A, Fenaroli F, Monopoli MP, Aberg C, Dawson KA, Salvati A. Effects of the presence or absence of a protein corona silica nanoparticle uptake and impact on cells. *ACS Nano* 2012;6:5845-5857
- Li XB, Zheng H, Zhang ZR, Li B, Huang ZY et al. Glia activation induced by peripheral administration of aluminum oxide nanoparticles in rat brains. *Nanomedicine: Nanotechnol Biol Med* 2009;5: 473-479
- Li Y, Sun L, Jin M, Du Z, Liu X et al. Size-dependent cytotoxicity of amorphous silica nanoparticles in human hepatoma HepG2 cells. *Toxicol in Vitro* 2011;25:1343-1352
- Liang M, Lin IC, Whittaker MR, Minchin RF, Monteiro MU, Toth I. Cellular uptake of densely packed polymer coatings on gold nanoparticles. *ACS Nano* 2010;4: 403-413
- Lin W, Huang YW, Zhou XD, Ma Y. In vitro toxicity of silica nanoparticle in human lung cancer cells. 2006;217: 252-259
- Liu H, Ma L, Liu J, Zhao J, Yan J, Hong F. Toxicity of nano-anatase TiO₂ to mice: Liver injury, oxidative stress. *Toxicol Environ Chem* 2009;92(1):175-186
- Lu X, Jin T, Jin Y, Wu L, Hu B et al. Toxicogenomic analysis of the particle dose- and size-response relationship of silica particles- induced toxicity in mice. *Nanotechnol* 2013;24(1): 015106
- McCarthy J, Inkielewicz-Stepniak I, Corbalan JJ, Radomski MW. Mechanism of toxicity of amorphous silica nanoparticles on human lung submucosal cells in vitro: protective effects of fisetin. *Chem Res Toxicol* 2012;25: 2227-2235
- Mu Q, Hondow NS, Krzeminski L, Brown AP, Jeuken LJC et al. Mechanism of cellular uptake of genotoxic silica nanoparticles. *Particle Fibre Toxicol* 2012;9(1):29
- Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K, Nakazato Y, Katsuo K et al. Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application. *Biomaterials* 2011a;32:2713- 2724
- Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K, Nakazato Y, Tochigi S et al. Amorphous nanosilica induce endocytosis-dependent ROS generation and DNA damage in human keratinocytes. *Particle Fibre Toxicol* 2011b;8(1):1-10
- Napierska D, Thomassen LCJ, Rabolli V, Lison D, Gonzalez L et al. Size-dependent cytotoxicity of monodisperse silica nanoparticles in human endothelial cells. *Small* 2009;5(7):846-853
- Napierska D, Thomassen LCJ, Lison D, Martens JA, Hoet PH. The nanosilica hazard: another variable entity. *Part Fibre Toxicol* 2010;7(1):39
- Nemmar A, Hoet PH, Nemery B. Translocation of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2006;114(4):A211
- Nishimori H, Kondoh M, Isoda K, Tsunoda S, Tsutsumi Y, Yagi K. Silica nanoparticles as hepatotoxicant. *European J Pharmaceutics Biopharmaceutics* 2009;72: 496-501
- Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg LT. (third ed.). *Handbook on the toxicology of metals*. Academic Press. 2011
- Oberdörster G, Ferin J, Lehnert BE. Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect* 1994;102:173-179
- Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R et al. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. *J Toxicol Environ Health A* 2002;65:1531-1543
- Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J et al. Principles for characterizing the potential human effects from exposure to nanomaterials:

- elements of a screening strategy. Part Fibre Toxicol 2005;2(1):8
- OECD. 2001. Guideline for the Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Procedure. Guideline 420. Organization for Economic Cooperation and Development: Paris
- Oesterling E, Chopra N, Gavalas V, Arzuaga X, Lim EJ, Sultana R, Butterfield DA, Bachas L, Hennig B. Alumina nanoparticles induce expression of endothelial cell adhesion molecules. Toxicol Lett 2008; 178:160-166
- Parks CG, Conrad K, Cooper GS. Occupational exposure to crystalline silica and autoimmune disease. Environ Health Perspect 1999;107 (Suppl.5):793-802
- Prabhakar PV, Reddy UA, Singh SP, Balasubramanyam A, Rahman MF et al. Oxidative stress induced by aluminum oxide nanomaterials after acute oral treatment in Wistar rats. J Appl Toxicol 2012;32: 436-445
- Rabolli V, Thomassen LCJ, Uwambayinema F, Martens JA, Lison D. The cytotoxicity activity of amorphous silica nanoparticles is mainly influenced by surface area and not by aggregation. Toxicol Lett 2011;206:197-203
- Radzium E, Dudkiewicz-Wilczynska J, Nowak K, Anuszevska E, Kunicki A. et al. Assessment of the cytotoxicity of aluminum oxide nanoparticles on selected mammalian cells. Toxicol In Vitro 2011; 25:1694-1700
- Rajiv S, Jerobin J, Saranya V, Nainawat M. Sharma A et al. Comparative cytotoxicity and genotoxicity of cobalt(II, III) oxide, iron (III) oxide, silicon dioxide, and aluminum oxide nanoparticles on human lymphocytes in vitro. Hum Exp Toxicol 2015; 0960327105579208
- Saqib Q, Al-Khedhairi AA, Siddiqui MA, Abou-Tarboush FM, Azam A, Musarrat J. Titanium dioxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in human amnion epithelial (WISH) cells. Toxicol In Vitro 2012;26:351-361
- Sayes CM, Wahi R, Kurian PA, Liu Y, West JL et al. Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblsts and human lung epithelial cells. Toxicol Sci 2006;92(1): 174-185
- Shi H, Magaye R, Castranova V, Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. Part Fibre Toxicol 2013;10(1): 15
- Simon-Deckers A, Gouget B, Mayne-Lhermite M, Herlin-Boime N, Reynaud C, Carrière M. In vitro investigation of oxide nanoparticles and carbon nanotube toxicity and intracellular accumulation in A549 human pneumocytes. Toxicology, 2008;253: 137-146
- Singh S, Shi T, Duffin R, Albrecht C, van Berlo D et al. Endocytosis, oxidative stress and IL-8 expression in human lung epithelial cells upon treatment with fine and ultrafine TiO₂: role of the specific surface area and of surface methylation of the particles. Toxicol Appl Pharmacol 2007;222:141-151
- Shukla RK, Kumar A, Gurbani D, Pandey AK, Singh S, Dhawan A. TiO₂ nano particles induce oxidative DNA damage and apoptosis in human liver cells. Nanotoxicology 2013;7(1):48-60
- Skuland T, Øvrevik J, Låg M, Refsnes M. Role of size and surface area for pro-inflammatory response to silica nanoparticles in epithelial lung cells: importance of exposure conditions. Toxicol in Vitro 2014;28:146-155
- Sun L, Li Y, Liu X, Jin M, Zhang L et al. Cytotoxicity and mitochondrial damage caused by silica nanoparticles. Toxicol in Vitro 2011;25:1619-1629
- Sycheva LP, Zhurkov VS, Iurchenko VV, Daugel-Dauge NO, Kovalenko MA et al. Investigation of genotoxic and cytotoxic effects of micro- and nanosized titanium dioxide in six organs of mice in vivo. Mutat Res 2011;726:8-14
- Uboldi C, Giudetti G, Broggi F, Gilliland D, Ponti J, Rossi F. Amorphous silica nanoparticles do not induce cytotoxicity, cell transformation or genotoxicity in Balb/3T3 mouse fibroblasts. Mutation Research 2012;745:11-20
- US Environmental Protection Agency (EPA), 2010. Nanomaterial Case Studies: Nanoscale Titanium Dioxide in Water Treatment and in Topical Sunscreen. US EPA, Triangle Park, NC
- Wang F, Gao F, Lan M, Yuan H, Huang Y et al. Oxidative stress contributes to silica nanoparticle-induced cytotoxicity in human embryonic kidney cells. Toxicol in Vitro 2009;23:808-815
- Wang FS, Liu LF, Chen NM, Li YR. A study on cellular reactions and fibrogenic effects of mineral dusts. Biomed Environ Sci 1994;7(2):116-121
- Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T et al. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. Toxicol Lett 2007;168(1):176-185
- Warheit DB, Webb TR, Sayes CM, Colvin VL, Reed KL. Pulmonary instillation studies with nanoscale TiO₂ rods and dots in rats: toxicity is not dependent upon particle size and surface area. Toxicol Sci 2006;91(1):227-236

- Warheit DB, Webb TR, Reed KL, Frerichs S, Sayes CM. Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO₂ particles: different responses related to surface properties. *Toxicology* 2007;230(1):90-104
- Xue C, Wu J, Lan F, Liu W, Yang X et al. Nano titanium dioxide induces the generation of ROS and potential damage in HaCaT cells under UVA irradiation. *J Nanosci Nanotechnol* 2010; 10(12):8500-8507
- Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, Mimura K, Morishita Y et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nature nanotechnol* 2011;6(5):321-328
- Yang H, Liu C, Yang D, Zhang H, Xi Zhuge. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *J Appl Toxicol* 2009;29(1):69-78
- Ye Y, Liu J, Chen M, Sun L, Lan M. In vitro toxicity of silica nanoparticles in myocardial cells. *Environ Toxicol Pharmacol* 2010a;29:131-137
- Ye Y, Liu J, Xu J, Sun L, Chen M et al. Nano-SiO₂ induces apoptosis via activation of p53 and Bax mediated by oxidative stress in human hepati ccell line. *Toxicol in Vitro* 2010b;24:751-758
- Yu KO, Grabinski CM, Schrand AM, Murdock RC, Wang W, Gu B et al. Toxicity of amorphous silica nanoparticles in mouse keratinocytes. *J Nanoparticle Research* 2009;11(1):15-24
- Zhang Y, Hu L, Yu D, Gao C. Influence of silica particle internalization on adhesion and migration of human dermal fibroblasts. *Biomaterials* 2010;31:8465-8474
- Zhang XQ, Yin LH, Tang M, Pu YP. ZnO, TiO₂, SiO₂, and Al₂O₃ nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts. *Biomed Environ Sci* 2011;24(6): 661-669