

폴리에틸렌 미세플라스틱의 임신 마우스 위내 투여 및 기도 점적에 따른 신생자 간독성 평가

김근우 , 김창열* 

대구가톨릭대학교 의료보건산업대학원 화학물질독성평가학과

Evaluation of Liver Toxicity of Neonates Following Intra-gastric Administration or Intratracheal Instillation of Polyethylene Microplastics to Pregnant Mice

GeunWoo Kim and ChangYul Kim*

Department of Toxicity Assessment, Graduate School of Medical and Health Industry, Daegu Catholic University

ABSTRACT

Background: Current research suggests that humans are exposed to microplastics through consumption of foods and beverages, the airway route, and a variety of other means.

Objectives: We evaluated oxidative stress and inflammation from polyethylene microplastics (PE-MPs) in the neonatal liver through intra-gastric administration or intratracheal instillation in pregnant mice.

Methods: PE-MPs were administered from gestational day 9 to postnatal day 7. The intra-gastric administration group (0.01 mg/mouse/day or 0.1 mg/mouse/day) and intratracheal instillation group (6 µg/mouse/day or 60 µg/mouse/day) of PE-MPs were administered. After sacrifice, the oxidative stress and inflammation of the neonatal livers were measured.

Results: As a result of the oxidative stress caused by PE-MPs in the neonatal livers, glutathione peroxidase decreased in a concentration-dependent manner in the intra-gastric administration group compared to the control group and intratracheal instillation decreased in high concentration PE-MPs. The catalase level increased at high concentrations of intra-gastric administration and intratracheal instillation. To confirm the level of inflammation caused by PE-MPs, monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor- α were increased compared to the control group except for intratracheal instillation-high concentration PE-MPs. The C-reactive protein level was decreased by intra-gastric administration compared to the control group and intratracheal instillation was increased compared to the control group.

Conclusions: Despite the difficulty in comparing the toxic intensity between intra-gastric administration and intratracheal instillation of PE-MPs, our study revealed that oxidative stress and inflammation were induced in the neonatal liver. However, it is necessary to evaluate the toxic effects of microplastics on various organs as well. Overall, the present study indicates that the evaluation of toxic effects of long-term microplastic exposure, potential of microplastic toxicity on next-generation offspring and toxicity mechanism in human should be considered for further investigations.

Key words: Inflammation, liver toxicity, microplastic, oxidative stress, second generation toxicity

Received February 17, 2022

Revised March 7, 2022

Accepted March 21, 2022

Highlights:

- More investigations on early life exposure to polyethylene microplastics (PE-MPs) are needed.
- PE-MPs exposure led to liver toxicity after intra-gastric and intratracheal administration in pregnant mice.
- The toxicity of PE-MPs was caused via oxidative stress.
- Inflammations in the neonate liver were associated with MCP-1, TNF- α and CRP levels.

*Corresponding author:

Department of Toxicity Assessment,
Graduate School of Medical and Health
Industry, Daegu Catholic University,
Hayang-ro 13-13, Gyeongsan 38430,
Republic of Korea
Tel: +82-53-850-3630
Fax: +82-53-359-7480
E-mail: cykim0813@cu.ac.kr

I. 서 론

플라스틱은 제작과 변형이 쉽고 가볍고 내구성이 좋아 전 세계 여러 분야에 다양한 형태로 사용되며 경제성과 실용성 때문에 플라스틱 사용량은 매년 증가해 2050년에는 330억톤으로 예상된다.^{1,2)} 이러한 플라스틱은 화학적으로 안정하며 분해 속도가 느려 인체나 환경에 노출되었을 때 완전히 제거되기에는 오랜 시간이 걸려 2050년에 자연환경에 쌓이는 폐플라스틱 폐기물은 6,780만톤에 이를 것으로 추정된다.³⁾ 특히, 직경 5 mm 이하의 미세플라스틱(microplastics, MPs)은 1차 미세플라스틱(primary MPs)과 2차 미세플라스틱(secondary MPs)으로 구분할 수 있다. 1차 미세플라스틱은 대부분 구형의 형태로 특정 목적에 의해 의도적으로 제조된 플라스틱으로 세안제, 치약, 스크럽제, 연마제 등이 포함되며 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리스타이렌(polystyrene, PS), 또는 폴리에틸렌(polyethylene, PE)으로 만들어진다.^{4,5)} 2차 미세플라스틱은 자외선, 기계적 마모 및 생물학적인 분해로 플라스틱이 사용되는 과정이나 폐기된 이후에 인위적 혹은 자연적 요인으로 인해 미세화된 플라스틱 파편과 물리적·화학적·광학적 프로세스에 의해 발생한다.⁶⁾ 이러한 미세플라스틱은 생활환경에 분포되어 있는 카드뮴, 수은, 내분비계 장애 물질과 같은 다른 오염물질에 흡착 및 탈착하여 생태계에 노출될 수 있으며, 크기가 작은 미세플라스틱은 하수처리시설을 바로 통과해 강이나 바다로 유입되어 자연환경에 축적된다.⁷⁾

해양환경이나 토양환경에 버려지거나 누적된 미세플라스틱은 다양한 생물들에게 먹이로 섭취될 수 있고 먹이사슬을 통해 다른 상위 포식자에게 축적되어 최종적으로 사람에게 노출된다.⁸⁾ 갑각류 및 상업용 어류, 설탕, 소금 및 생수 등의 생활제품을 통해서도 섭취되며, 위장에 노출된 미세플라스틱은 염증 반응, 장 점액 분비 감소, 장내 장벽 기능손상에 의한 장의 투과성 증가 및 장내 미생물의 불균형 유발과 신진대사를 변화시킬 수 있다.⁹⁾ 또한, 폐기물 소각 시 발생하는 미세플라스틱은 대기로 노출되어 호흡기를 통해 체내로 들어올 수 있으며, 플라스틱 제조 및 사용하는 작업자에 대한 직접 노출로 인해 미세플라스틱이 흡입될 수 있다.^{9,10)} 이렇게 호흡기를 통해 들어간 미세플라스틱은 대식세포에 의해 포식되어 순환계 및 림프계로 이동할 수 있으며 폐 조직에서 염증 반응을 유발할 수 있다.^{10,11)} 또한, 미세플라스틱은 다양한 제조공정에 포함되어 있어 잔류성 유기오염물질 및 비스페놀 A, 프탈레이트, 브롬화 난연제 등의 내분비교란물질과 납, 니켈, 카드뮴, 아연과 같은 중금속 등과 함께 발견되어 생활환경뿐만 아니라 작업환경에서도 노출된다.¹²⁾

간은 영양소 및 물질대사와 해독을 담당하는 중요한 장기이며, 외부에서 유입되는 여러 가지 독성물질들을 이물질(xenobiotics)로 인식하고 체외로 배출시키는 중추적인 역할을 하는 기

관이다. 간은 이물질에 대한 대사와 해독과정에서 많은 활성산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)을 생성하고 과도하게 발생된 ROS는 산화적 스트레스와 염증반응을 유발하여 급성 및 만성 질환을 유도한다.¹³⁾

PS-MPs는 해양생물의 간 손상 증가와 제브라피쉬의 간에서 염증 발현 및 지질 축적과 산화적 스트레스 인자인 superoxide dismutases (SOD) 및 catalase (CAT)의 수준을 변화시켰다.^{14,15)} 설치류에서도 흡입과 섭취로 인한 미세플라스틱은 순환계와 림프계를 통해 간 또는 비장에 도달하게 되며 PE-MPs를 28일간 반복투여한 ICR 암컷 생쥐의 간에서 단핵구 침윤(mononuclear cell infiltrate)이 나타났으며 PE-MPs를 5주간 반복 투여한 C57BL/6 생쥐의 간과 장(intestine)에서 염증 반응을 유발하였다.^{16,17)} 또 다른 연구에서 미세플라스틱은 생쥐의 간, 신장, 내장에 축적되며 간에서 에너지 및 지질 대사 방해, 신경독성 반응의 부작용을 보였다.^{18,19)} 사람에게 축적된 미세플라스틱은 간세포에 세포독성을 유발할 수 있고, 크기가 작은 미세플라스틱은 세포막, 혈액-뇌 장벽 통과해 미세플라스틱으로 유도된 독성물질의 대사와 해독작용에 따른 생체이용률 증가로 전신 독성을 유발할 수 있다.¹⁹⁾ 또한, 본 연구진은 임신한 개체에 PE-MPs를 위내 투여 및 기도 점적 후 태어난 신생자의 장기에서 PE-MPs가 발견되어 미세플라스틱은 임신한 모체의 태반이나 모유 수유를 통해 전달된다는 것을 확인하였다.^{18,20)} 이는 생활환경에 노출되지 않은 신생자 몸에 미세플라스틱이 축적되어 태어나거나 수유를 통해 여러 장기에 미세플라스틱이 쌓이게 되며, 그 결과 신생자 몸에 다양한 영향을 나타낼 수 있어 미세플라스틱의 노출에 대한 다음 세대의 독성영향 평가는 수행되어야 한다.

따라서 본 연구는 한국의 강물 및 하천 어류에서 발견되는 가장 흔한 플라스틱 유형 중 하나로 보고된 PE-MPs²¹⁾와 미세플라스틱이 많이 노출되는 경로인 섭취와 흡입이라는 점, 그리고 외부 이물질 해독작용에 중추적인 역할을 하는 장기가 간이라는 것을 활용하여 임신한 ICR 마우스에 위내 투여 및 기도 점적을 하여 임신과 수유기간 노출에 따른 신생자의 간에서 산화적 스트레스 및 염증반응의 지표치 수준을 평가하였다.

II. 연구 방법

1. 실험동물 및 분류

본 실험에 사용된 임신 6일차 암컷 ICR 마우스는 (주)코아텍(평택, 대한민국)에서 구입하였으며, 입수 후 3일간 순화 기간을 가졌다. 투여방법은 위내 투여(oral administration) 및 기도 점적(intratracheal instillation) 방법으로 투여 경로에 따라 위내-용매투여대조군(O-Control), 위내-저농도 PE-MPs (O-Low dose PE-MPs), 위내-고농도 PE-MPs (O-High dose PE-MPs)의 위내 투여 그룹과 기도-용매투여대조군(I-Control), 기도-저

농도 PE-MPs (I-Low dose PE-MPs), 기도-고농도 PE-MPs (I-High dose PE-MPs)의 기도 점적 그룹으로 6개 그룹을 사용하였고, 각 그룹당 임신 개체 3마리를 사용하였다. 군 분리 후에 투여를 진행하는 과정에서 위내-저농도 PE-MPs의 한 개체가 임신이 되지 않았다는 것이 확인되어 연구에서 제외하였다. 사육 환경은 온도 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 20\%$, 조도 150~300 Lux, 환기 횟수 10~20 회/시간, 조명 명암 1 회/12 시간, 암모니아 농도 20 ppm 이하, 소음 60 dB 이하의 조건으로 실험기간 동안 모든 동물의 사료와 음수는 자유 급여시켰다. 본 연구는 실험기간 동안 실험동물 윤리적 측면을 고려하여 개별 사육하였고, 출산용 깔짚을 충분히 깔아주어 개체의 스트레스를 최소화하였다. 동물실험은 대구가톨릭대학교 동물실험윤리위원회의 규정을 준수하였으며, 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 제IACUC-2019-021호, 22호) 후 실시되었다.¹⁸⁾

2. 시험물질 및 투여

시험물질은 Fluorescent Red Polyethylene Microspheres (Cat. No: UVPMS- BR-0.995, Cospheric, Santa Barbara, CA, USA)로 직경은 10~45 μm 이며, 밀도는 0.995 g/cc 소수성 미세플라스틱이다. 해당 시험물질은 입수 후 용기를 aluminum foil로 감싸 차광된 상태로 암실에 보관하여 형광 손실을 방지하였다.

위내 투여농도는 위내 투여실험 선행연구를 참고하여¹⁴⁾ 위내-저농도 PE-MPs (0.01 mg/mouse/day), 위내-고농도 PE-MPs (0.1 mg/mouse/day)를 3차 증류수에 현탁시켜 투여하였고 위내-용매투여대조군은 3차 증류수만 투여하였다. 흡입 노출의 경우 기도내 점적 투여법을 응용하여 실시하였으며, 호흡 노출의 농도 설정은 미세플라스틱을 이용한 기존 논문을 참고하여 대조군, 저농도, 고농도 순서로 0, 6, 60 $\mu\text{g}/\text{mouse}/\text{day}$ 로 설정하였다.²²⁾ 기도-저농도 PE-MPs, 기도-고농도 PE-MPs를 3차 증류수에 현탁시켜 투여하였고 기도-용매투여대조군은 3차 증류수만 투여하였다. 기도 점적 투여는 흡입마취기(RC2-rodent circuit controler, VETEQUIP, Livermore, CA, USA)를 사용해 isoflurane (하나제약, 화성, 대한민국) 용액으로 흡입마취를 시켰으며 mouse video instillator (MOVI, 세종바이오, 대전, 대한민국)를 이용하여 어미 개체의 기도 내로 50 μL 의 고정액량으로 점적하였다. 투여 기간은 임신 기간과 출산 후 기간으로 나누어 진행되었다. 임신기간 중 투여는 임신 9일차부터 13일차까지 5일간 진행하고, 어미 개체의 스트레스에 의한 유산을 방지하기 위해 2일 휴식하였다. 휴식 후 임신 16일차부터 17일차까지 2일간 투여하여 총 7회 투여하였다. 출산 후 투여는 출산 당일 출산 0일차라고 할 때, 출산 1일차부터 5일차까지 총 5회 투여하였다. 시험물질은 당일 조제 하여 투여하였고, PE-MPs를 투여 직전 sonicator를 이용해 30분 동안 상·하 일정하게 균질화 후 다시 한번 더 동등량을 투여할 수 있게 투여 직전에 여러 번 위아래 뒤집어 준 후 채취하였다.

3. 간 균질액 내 산화적 스트레스 분석

위내 투여와 기도 점적의 투여방법에 따른 PE-MPs의 간 균질액 내 산화적 스트레스를 확인하기 위해 Catalase (CAT) level (Catalase Assay Kit, ab83464, abcam, Waltham, MA, USA)과 Glutathione Peroxidase (GSH-Px) level (Glutathione Peroxidase Assay Kit, ab102530, abcam, Waltham, MA, USA)을 kit를 사용해 측정하였다. 부검 시 신생자에서 채취한 간을 0.5 mL homogenization buffer를 이용해 1.5 mL e-tube에서 homogenization하여 원심분리(3,000 rpm, 1 min) 후 얻은 상층액을 냉동(-20°C)에 보관하였다. CAT 및 GSH-Px 수준을 분석하기 위해서 간 균질액을 1/10로 희석하였고, Epoch Microplate Spectrophotometer (Bio-Tek, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 570 nm 및 340 nm 파장에서 흡광도를 측정 후, Gen5 Data Analysis Software (Bio-Tek, Santa Clara, CA, USA)를 통해 정량하였다. 본 실험에서 사용한 homogenization buffer (pH 8.0)는 20 mM Tris(Tris (hydroxymethyl aminomethane), 100 mM NaCl, 2 mM Na_2EDTA (sodium ethylenediaminetetraacetate) 1% Ipepal CA-630을 혼합하여 조제하였으며, 신생자는 모체에 따라 미세플라스틱의 영향이 다르게 나타날 수 있어 각 모체에서 태어난 신생자를 균등하게 사용하여 분석을 실시하였다.

4. 간 균질액 내 염증 수준 분석

위내 투여와 기도 점적의 투여방법에 따른 PE-MPs의 간 균질액의 염증 수준을 확인하기 위해 Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) level (MCP-1 Assay Kit, ab100721, abcam, Waltham, MA, USA), Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) level (TNF- α assay Kit, 558534, BD OptEIA™, Bath, United Kingdom) 및 C-Reactive Protein (CRP) level (CRP assay kit, DY1829, R&D SYSTEMS, Minneapolis, MN, USA)를 측정하였다. MCP-1 및 TNF- α 를 측정하기 위해 신생자 간 균질액을 1/10 희석하였고, CRP를 측정하기 위해 신생자 간 균질액을 1/50로 희석하여 분석하였다. Epoch Microplate Spectrophotometer (Bio-Tek, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 570 nm 및 450 nm 파장에서 흡광도를 측정 후, Gen5 Data Analysis Software (Bio-Tek, Santa Clara, CA, USA)를 통해 정량하였다.

5. 통계분석

통계처리는 SPSS 19.0 K (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 대조군과 시험군의 유의성을 검증하였다. 유의성 검증은 one-way ANOVA test를 실시하였고 군 간의 사후검정은 Scheffe test를 사용하였으며, 정규성을 만족하지 못할 경우 Student's T test를 통하여 대조군과의 유의성을 검증하였다. 모든 결과값은 평균 \pm 표준오차(Standard Error, SE)로 나타

났다. 유의수준은 p -value<0.05에서 검정하였다.

III. 결 과

1. 위내 투여 및 기도 점적에 따른 간 균질액의 산화적 스트레스 수준 변화

어미개체의 태반과 모유수유로 자손에게 전달된 PE-MPs로 유도되는 산화적 스트레스 수준을 확인하기 위해 간 균

질액 내 GSH-Px의 수준을 확인하였다. 위내 투여의 경우 농도 위내-용매투여대조군(373.6 ± 111.9 nmol/mL)에 비해 위내-저농도 PE-MPs (324.0 ± 8.1 nmol/mL), 위내-고농도 PE-MPs (254.7 ± 20.9 nmol/mL)으로 농도 의존적으로 감소하였으나 통계적인 차이는 없었다(Fig. 1A). 기도 점적의 경우 기도-저농도 PE-MPs (411.1 ± 44.6 nmol/mL)에서 기도-용매투여대조군(381.0 ± 55.0 nmol/mL)의 평균에 비해 약 7% 증가하였으나 기도-고농도 PE-MPs (329.5 ± 56.1 nmol/mL)은 기도-용매투

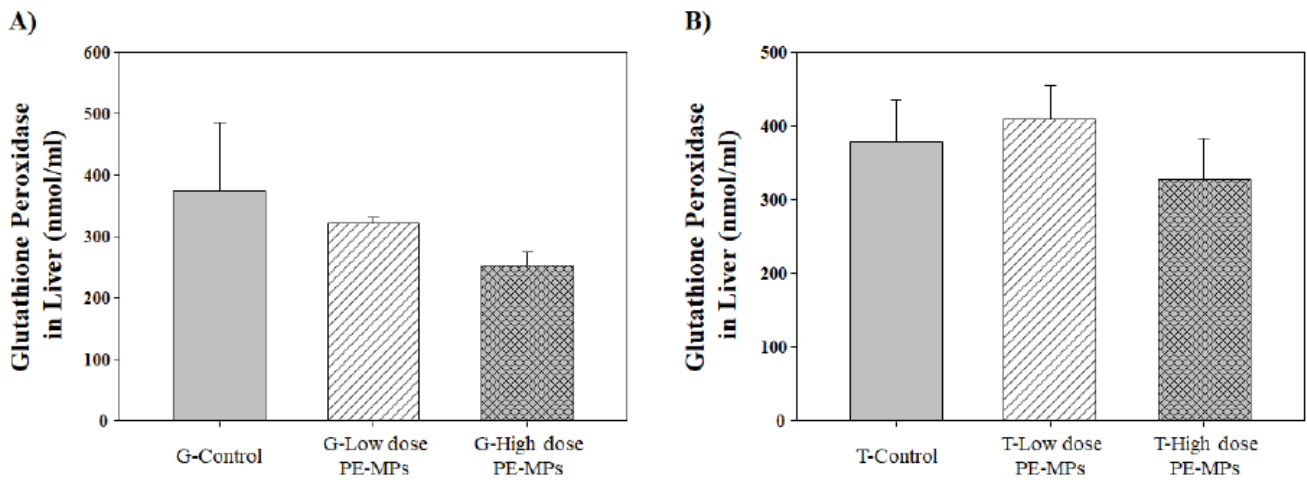


Fig. 1. Glutathione peroxidase levels in liver homogenate of neonates by A) intragastric administration groups (G-control: 0, G-Low dose PE-MPs: 0.01 mg/mouse/day, G-High dose PE-MPs: 0.1 mg/mouse/day) B) intratracheal instillation groups (T-control: 0, T-Low dose PE-MPs: 6 µg/mouse/day, T-High dose PE-MPs: 60 µg/mouse/day). Data are expressed as means±standard error from intragastric administration groups (G-control: 6 neonates, G-Low dose PE-MPs: 4 neonates, G-High dose PE-MPs: 5 neonates) and intratracheal instillation groups (T-control: 8 neonates, 6 neonates of each T-Low dose PE-MPs and T-High dose PE-MPs).

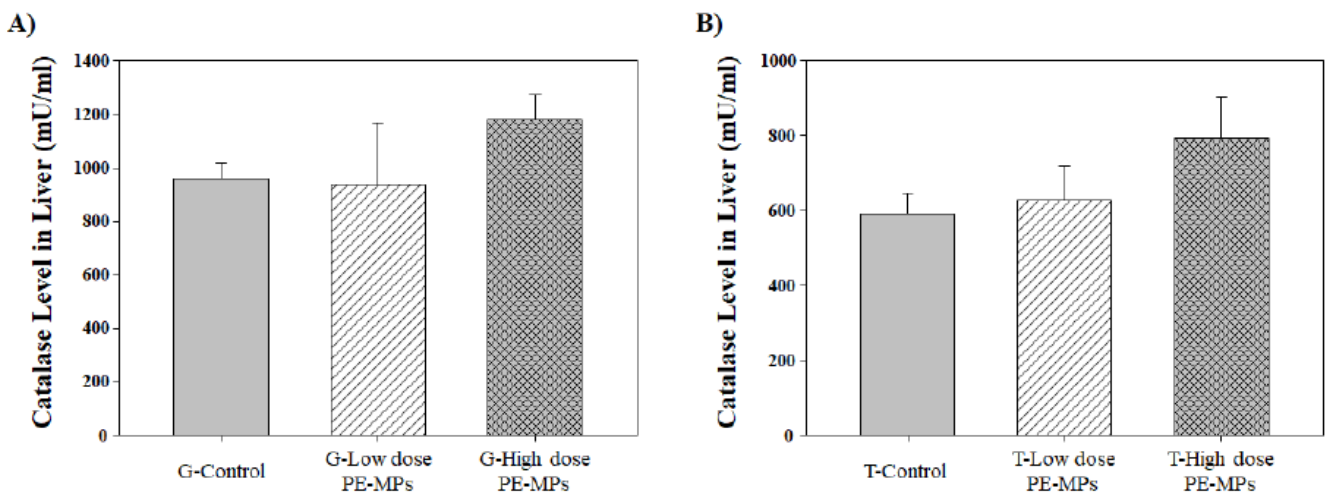


Fig. 2. Catalase levels in liver homogenate of neonates by A) intragastric administration groups (G-control: 0, G-Low dose PE-MPs: 0.01 mg/mouse/day, G-High dose PE-MPs: 0.1 mg/mouse/day) B) intratracheal instillation groups (T-control: 0, T-Low dose PE-MPs: 6 µg/mouse/day, T-High dose PE-MPs: 60 µg/mouse/day). Data are expressed as means±standard error from intragastric administration groups (G-control: 6 neonates, G-Low dose PE-MPs: 4 neonates, G-High dose PE-MPs: 5 neonates) and intratracheal instillation groups (T-control: 8 neonates, 6 neonates of each T-Low dose PE-MPs and T-High dose PE-MPs).

여대조군의 평균에 비해 약 15% 감소하였다(Fig. 1B). 다만, 위내투여 및 기도점적에서 GSH-Px의 수준은 대조군과 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

또 다른 간 균질액의 산화적 스트레스 수준을 확인하기 위해 CAT 수준을 측정하였다. 위내 투여 및 기도 점적 그룹 모두 용매투여 대조군(위내-용매투여대조군: 961 ± 62 mU/mL, 기도-용매투여대조군: 593.5 ± 55.3 mU/mL) 및 저농도 그룹 위내-저농도 PE-MPs (943 ± 228 mU/mL, 기도-저농도 PE-MPs (630.2 ± 91.2 mU/mL)에서는 차이가 없었다. 다만, 통계적으로 유의하진 않지만 고농도 그룹에서 용매투여대조군의 평균에 비해 각각 23% (위내-고농도 PE-MPs, 1183 ± 94 mU/mL) 및 34% (기도-고농도 PE-MPs, 797.2 ± 108.1 mU/mL) 증가하였다(Fig. 2).

2. 위내 투여 및 기도 점적에 따른 간 균질액의 염증 수준 변화

투여 방법에 따른 간 균질액의 염증 수준을 확인하기 위해 희생부검 시 채취한 간을 균질화하여 MCP-1, TNF- α , CRP 수준을 측정하였다. 우선, MCP-1에서 위내-용매투여대조군 (3.509 ± 0.514 ng/mL)에 비해 위내-저농도 PE-MPs (4.199 ± 0.619 ng/mL), 위내-고농도 PE-MPs (4.345 ± 0.429 ng/mL)으로 농도 의존적으로 증가하였다(Fig. 3A). 기도 점적의 경우 기도-용매투여대조군(3.608 ± 0.161 ng/mL)과 기도-저농도 PE-MPs (3.772 ± 0.293 ng/mL)는 그룹간 차이가 없었으나, 기도-고농도 PE-MPs의 경우 3.180 ± 0.517 ng/mL으로 기도-용매투여대조군에 비해 감소하였지만 유의하진 않았다(Fig. 3B).

염증발현시 증가되는 TNF- α 수준을 간 균질액에서 확인하

였다. 위내-용매투여대조군(10.66 ± 1.71 ng/mL)에 비해 위내-저농도 PE-MPs (12.17 ± 1.98 ng/mL) 및 위내-고농도 PE-MPs (12.59 ± 1.70 ng/mL)로 농도의존적으로 증가하였지만, 통계적으로 차이는 없었다(Fig. 4A). 기도-용매투여대조군(7.898 ± 0.334 ng/mL)과 기도-고농도 PE-MPs (7.389 ± 1.076 ng/mL)의 그룹간 차이는 없었지만, 기도-저농도 PE-MPs (9.277 ± 0.538 ng/mL)는 기도-용매투여대조군에 비해 유의하게 증가하였다(Fig. 4B).

미세플라스틱의 급성염증 발현에 따른 독성영향을 평가하기 위해 간 균질액에서 CRP 수준을 측정하였다. CRP 수준은 위내-용매투여대조군(63.86 ± 21.28 ng/mL)에 비해 위내-저농도 PE-MPs (26.59 ± 4.42 ng/mL) 위내-고농도 PE-MPs (35.62 ± 2.70 ng/mL)으로 감소하는 경향을 나타냈으며(Fig. 5A), 기도-용매투여대조군(24.85 ± 1.59 ng/mL)는 기도-저농도 PE-MPs (51.94 ± 12.12 ng/mL), 기도-고농도 PE-MPs (47.68 ± 18.34 ng/mL) 증가하는 경향을 보였으며, 기도-저농도 PE-MPs는 기도-용매투여대조군에 비해 유의하게 증가하였다(Fig. 5B).

IV. 고찰

해양생물군에 의한 미세플라스틱의 흡수는 다양한 유기체에서 관찰되었다. 특히 홍합, 재첩과 같은 조개류와 갑각류 그리고 어류 등의 해양생물은 인간이 섭취할 수 있어 경구를 통한 미세플라스틱의 노출은 인간의 주요노출 경로 중 하나이다.²³⁾ 미세플라스틱은 합성섬유, 자동차 타이어와 같은 재료 마모와 플라스틱 표면의 미세화로 인해 실내·외 공기 중에 떠다

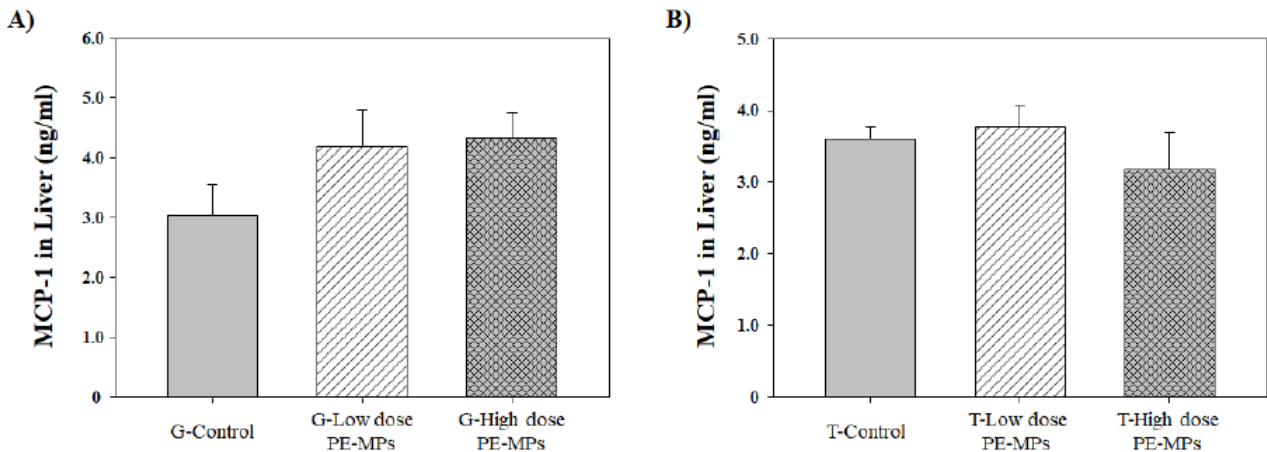


Fig. 3. Monocyte chemoattractant protein-1 levels in liver homogenate of neonates by A) intragastric administration groups (G-control: 0, G-Low dose PE-MPs: 0.01 mg/mouse/day, G-High dose PE-MPs: 0.1 mg/mouse/day) B) intratracheal instillation groups (T-control: 0, T-Low dose PE-MPs: 6 μ g/mouse/day, T-High dose PE-MPs: 60 μ g/mouse/day). Data are expressed as means \pm standard error from intragastric administration groups (G-control: 6 neonates, G-Low dose PE-MPs: 4 neonates, G-High dose PE-MPs: 5 neonates) and intratracheal instillation groups (T-control: 8 neonates, 6 neonates of each T-Low dose PE-MPs and T-High dose PE-MPs).

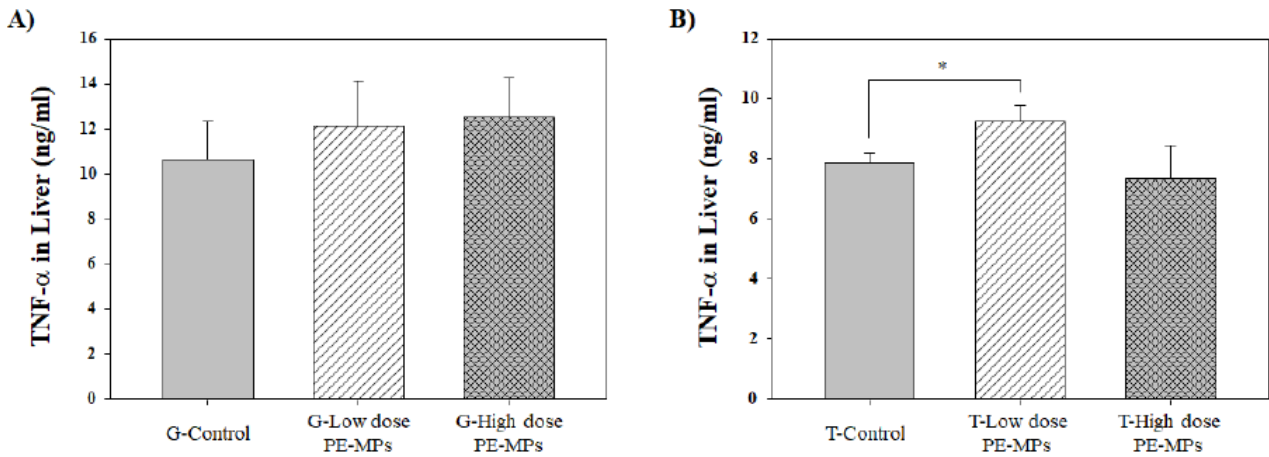


Fig. 4. Tumor necrosis factor-alpha levels in liver homogenate of neonates by A) intragastric administration groups (G-control: 0, G-Low dose PE-MPs : 0.01 mg/mouse/day, G-High dose PE-MPs: 0.1 mg/mouse/day) B) intratracheal instillation groups (T-control: 0, T-Low dose PE-MPs: 6 µg/mouse/day, T-High dose PE-MPs: 60 µg/mouse/day). Data are expressed as means±standard error from intragastric administration groups (G-control: 6 neonates, G-Low dose PE-MPs: 4 neonates, G-High dose PE-MPs: 5 neonates) and intratracheal instillation groups (T-control: 8 neonates, 6 neonates of each T-Low dose PE-MPs and T-High dose PE-MPs). *p<0.05, compared to the T-Control and T-Low Dose PE-MPs.

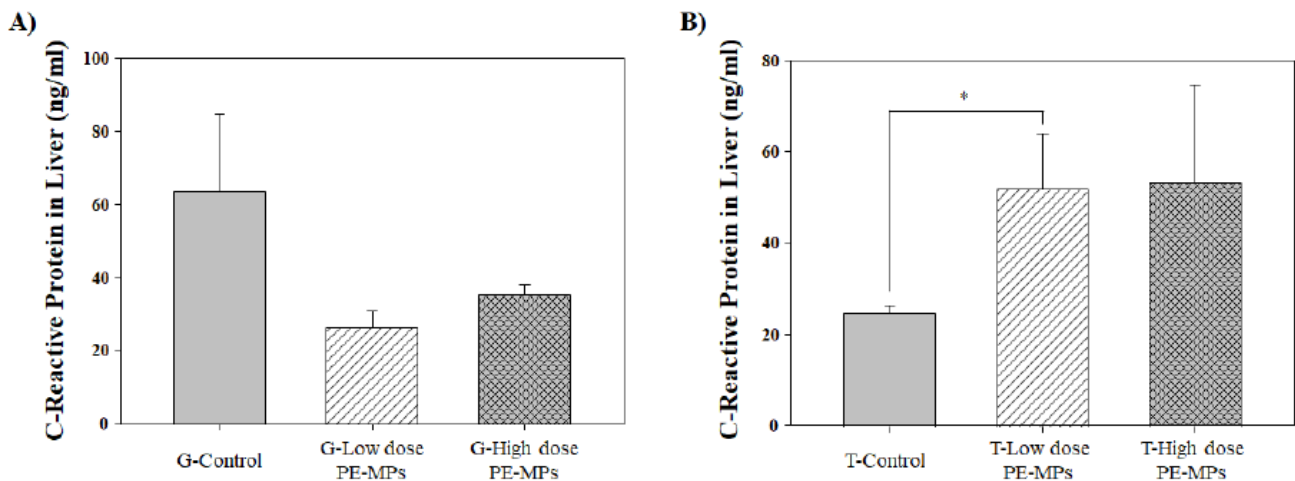


Fig. 5. C-reactive protein levels in liver homogenate of neonates by A) intragastric administration groups (G-control: 0, G-Low dose PE-MPs : 0.01 mg/mouse/day, G-High dose PE-MPs: 0.1 mg/mouse/day) B) intratracheal instillation groups (T-control: 0, T-Low dose PE-MPs: 6 µg/mouse/day, T-High dose PE-MPs: 60 µg/mouse/day). Data are expressed as means±standard error from intragastric administration groups (G-control: 6 neonates, G-Low dose PE-MPs: 4 neonates, G-High dose PE-MPs: 5 neonates) and intratracheal instillation groups (T-control: 8 neonates, 6 neonates of each T-Low dose PE-MPs and T-High dose PE-MPs). *p<0.05, compared to the T-Control and T-Low Dose PE-MPs.

니게 되며, 마네킹을 이용한 공기 샘플링에 따르면 가벼운 활동하는 남성은 하루 272개의 미세플라스틱을 흡입할 것으로 예상된다.^{24,25)} 샘플링 방법뿐만 아니라 활동, 재료 및 계절과 같은 공간 사용에 따라 요인은 다르게 예상되나, 흡입 또한 미세플라스틱의 노출 경로이다. 이렇게 섭취와 흡입을 통해 미세플라스틱에 노출된 임신한 모체의 경우 태반과 모유 수유를 통해 다음 세대로 전달될 수 있으며 자궁 속에 있는 태아 상태일 때 혹은 외부환경에 노출되지 않은 신생자에서 이미 미세플라스

틱의 영향을 받게 된다. 체내에 들어오는 미세플라스틱은 순환계와 림프계를 통한 이동 및 세포막 사이 이동을 통해 미세플라스틱이 간에 축적되며 간은 우리 몸의 이물질에 대해 해독작용을 하는 중추적인 역할을 한다. 따라서 본연구는 미세플라스틱이 태반과 모유 수유가 자손에게 영향을 줄 수 있는 연구들을 참고하여 PE-MPs를 임신 개체에 위내 투여 및 기도내 점적을 통한 자손의 간 독성에 미치는 영향을 확인하였다.

다만, 본 연구는 흡입챔버(inhalation chamber)를 이용한 흡

입법이 아닌 기도내 점적법(instillation)을 이용해 PE-MPs를 노출시켰으며, 임신한 어미 개체의 상태를 고려하여 임신 후기인 14~15일차 2일간 PE-MPs를 투여하지 않아 미세플라스틱의 투과성 및 양에 차이를 가지고 올 수 있다는 점에서 본 실험 설계의 제한점이라 할 수 있다. 실제 생활환경조건으로 보면 흡입챔버 실험이 적합하나 흡입챔버는 국립연구기관에서 제한적으로 사용되고 있고 비용도 많이 들어 흡입법에 대한 보완책으로 목표 부위에 정확한 양을 투여할 수 있고 시험물질의 양을 줄일 수 있는 기도내 점적법을 활용하였다. 그 결과, 태반과 모유 수유 통해 전달된 PE-MPs가 다음 자손의 간독성 영향을 주는 것으로 확인되어 투여 경로에 따른 PE-MPs의 신생자 간독성 영향 평가에 기초자료로 활용할 수 있으며, 본 연구는 태반과 모유 수유를 동시에 노출시켜 실험을 진행하였기 때문에, 미세플라스틱의 태반으로만 노출 혹은 모유 수유로만 노출로 인해 노출 시기와 노출 방법에 따른 영향 차이도 확인할 필요성은 있다.

항산화 시스템은 신체에 들어온 유해 독성물질을 해독하고 제거하는 과정에 관여하며, 항산화 시스템 반응에 대한 이해는 독성물질에 대항하는 종의 해독능력에 대한 중요한 정보를 제공할 수 있다. 미세플라스틱에 대한 항산화 영향은 SOD, GSH-Px, CAT, Glutathione S-transferase (GST), Glutathione reductase (GR)가 일반적으로 확인되며, SOD, CAT, GSH-Px는 활성 산소종을 제거하는 1차 방어 효소로 간주한다.²⁶⁾ SOD는 산소와 과산화수소로 환원하는 촉매작용을 하며, 생성된 과산화수소는 CAT와 GSH-Px의 결합작용에 의해 더 제거되거나 물과 산소로 변환해 ROS를 불활성화 및 제거함으로써 항산화 작용을 하기 때문에 GSH-Px와 CAT의 활성은 ROS의 증가로 인한 산화적 손상을 예측할 수 있는 중요한 지표로 활용할 수 있다.^{27,28)}

본 연구에서 GSH-Px의 활성을 간 균질액에서 확인한 결과, 위내 투여의 경우 위내-용매투여대조군에 비해 농도의존적으로 감소하였으며 기도 점적에서는 기도-고농도 PE-MPs만 감소하였다. 이와는 반대로 CAT에서는 고농도의 PE-MPs에서 각각 위내-용매투여대조군 및 기도-용매투여대조군에 비해 증가하였다. 8일간 0.13 mg/L 미세플라스틱 단독처리, 30 μ g/L 수은 단독처리 및 미세플라스틱과 수은을 혼합 처리해 섭취한 민물조개 3개 그룹에서 대조군에 비해 GSH-Px 수준은 감소하였으며, CAT 수준은 증가하여 본 연구와 같은 양상을 보였다.²⁹⁾ 다만 여러 연구에서 미세플라스틱에 대한 GSH-Px와 CAT의 증감의 수준은 달랐다. 4주 동안 5 μ m 또는 20 μ m의 PS-MPs를 0.01 mg/day, 0.1 mg/day, 0.5 mg/day를 투여한 ICR 생쥐의 간 및 일주일 동안 5 μ m의 PS-MPs를 40 μ g/L 및 400 μ g/L 섭취한 참게(chinese mitten crab)의 간에서 GSH-Px 활성은 증가하였으나 CAT 활성은 감소하였다.^{14,30)}

산화적 스트레스를 확인하기 위한 GSH-Px 및 CAT 활성은

다양한 연구에서 증감의 형태를 보였으며, 투여 방법과 투여 기간 그리고 종에 따른 차이는 있으나 공통적으로 산화적 스트레스를 유발한다는 것이다. 이는 외부 이물질에 대한 우리 몸의 항상성 유지를 위한 단계로 볼 수 있다. 항상성은 다양한 자극에 대해 반응하여 개체 혹은 세포의 상태를 일정하게 유지하려고 하고 어떤 생리적 속성에도 평균값은 있으나 실제 그 평균에 대한 최소 정상과 최대 정상값 사이에 오가며 우리 몸의 정상적인 상태로 유지한다.³¹⁾ PE-MPs에 대한 위내 투여 및 기도 점적은 GSH-Px와 CAT에 대해 대조군의 간과 비교해 영향을 주었으며 이는 체외 이물질에 대한 해독과정을 거치면서 생긴 산화적 스트레스에 대항하여 항상성 유지를 위한 하나의 단계로 볼 수 있을 것이며, 임신 개체를 통한 위내 투여와 기도 점적은 다음 자손에 영향을 미칠 수 있다는 근거자료가 될 수 있다.

미세플라스틱은 산화적 스트레스를 유발할 뿐만 아니라 다른 독성을 유발하는데 그 중 대표적인 반응이 염증 유발이다. 그 중 MCP-1은 손상된 여러 조직에서 분비되는 원형의 염증성 케모카인으로 28일 동안 0.5 μ m, 4 μ m, 10 μ m 크기의 PS-MPs를 100 μ g/mouse 투여한 BALB/c 고환에서 MCP-1의 활성을 증가시켰으며, 환자, 급성 혹은 만성 염증성 질환 및 부상 당한 설치류들의 간에서 MCP-1이 증가되었다.^{32,33)} 또한 MCP-1이 결핍된 마우스는 일반 마우스보다 독성 손상 및 산화적 스트레스가 작게 나타나며 이러한 결과는 MCP-1의 분비로 인해 독성 및 산화적 스트레스를 유발될 수 있다는 것이다.³⁴⁾ 간 상상세포에 의해 주로 생성되는 MCP-1의 분비는 초기 산화적 스트레스에 비롯한 다양한 자극에 대한 반응으로 단핵염증세포활성을 유도하며 추가적인 산화적 스트레스 및 조직 손상을 유발하며, 5 μ m PS-MPs를 20 mg/kg·day 음용수를 이용해 30일간 C57BL/6 생쥐의 간에서 MCP-1 및 TNF- α 의 수준이 증가하였다.³⁵⁾ 본 연구에서도 MCP-1 및 TNF- α 수준은 기도-고농도 PE-MPs를 제외하고 용매투여대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다. TNF- α 도 대표적인 염증 유발인자로 사람 말초혈액단핵세포에 PE-MPs를 처리한 결과 TNF- α 의 수준을 증가시키며, TNF- α 는 체내 염증 상태가 높아지면 같이 높아지며, 높아질수록 혈관 및 미세혈관 순환 장애에 유발하여 생체 내 세포 사멸과 염증을 모두 유도할 수 있는 사이토카인이다.^{36,37)} ROS의 존재는 TNF- α 생성을 증가시키고, TNF- α 는 염증 부위의 산화적 스트레스에 기여하며, 간세포에서 CRP와 같은 급성발현 단백질의 합성과 활성화를 매개한다. CRP는 간에서 생성되는 단백질로 일반적으로 혈중 농도가 낮으며 감염 또는 염증 징후가 있을 시 농도가 높아지기에 염증 지표로 사용된다.^{38,39)} 기도 점적의 경우 기도-용매투여대조군에 비해 농도 의존적으로 증가하였으며 기도-저농도 PE-MPs는 통계적으로 유의하였다. 반면에 위내 투여의 경우 통계적으로 유의하진 않았으나 위내-용매 투여 대조군에 비해 낮은 경향을 보여 투여방법에 따라 다른 경향을 나타냈다. 증가된 CRP 수치는 일반

적으로 질병과 관련이 있지만, 간부전의 상태일 경우 CRP의 발현을 감소시킬 수 있다.⁴⁰⁾ 이는 위내 투여 자손의 경우 기도점적의 자손보다 간 손상이 더 크게 일어났다고 볼 수 있으나, 실험에 사용된 어미개체 마리가 2~3마리로 이들 개체에 대한 차이도 있을 수 있어, 단순 CRP 수준만 보고 단정 지을 수는 없다. 다만, 투여 그룹 간 비교에서, 위내 투여는 산화적 스트레스 및 염증반응 지표에서 비록 통계적으로 유의하진 않지만 농도의존적으로 위내-고농도 PE-MPs에서 독성이 높게 나타나는 것으로 보이며, 기도점적의 경우 염증 반응에서 기도-저농도 PE-MPs가 대조군에 비해 유의하게 항진되었다가 기도-고농도 PE-MPs에서 상쇄되는 경향을 보여준다. 이는 군간 투여된 PE-MPs 직경이 10~45 μm 의 다양한 직경으로 장기에 미치는 영향도 다를 수 있어 농도 간 나타나는 독성의 영향도 차이가 날 수 있다. 또한, 위내 투여의 경우 미세플라스틱이 흡수되는 크기에 상관없이 소화기계를 통과하여 크기에 따라 다음 장기로 이동이 가능하나 기도 점적의 경우 크기에 따라 1차적으로 기관 혹은 기관지에서 걸러지고 기침, 가래, 콧물 등으로 외부로 다시 나올 수 있어 독성영향이 다르게 나타날 수 있다. 그럼에도 불구하고 어미개체에 PE-MPs를 위내 투여와 기도 점적에 따른 자손의 간독성 영향은 CRP는 제외한 다른 산화적 스트레스 및 염증 지표에서 유사한 양상을 보이는 것을 관찰하였다. 현재 받아들여질 수 있는 가설은 활성산소종으로 인해 생성되는 산화적 스트레스와 염증유발 인자의 관계가 직접적으로 상호작용을 하며 동시에 산화적 스트레스가 더 많이 생성될수록 더 많은 염증 유발 인자가 생성된다는 것이다.⁴¹⁾ 또한, 염증과 관련된 많은 만성 질환에서 활성산소종 수준이 높았으며, 염증 유발 인자들에 의해 염증세포의 호흡폭발(respiratory burst)로 다시 활성산소종의 생성 및 축적시켜 산화적 스트레스를 유발한다.⁴²⁾ 본시험을 통해 PE-MPs의 위내 투여와 기도 점적에 대한 독성 세기의 비교는 어려우며, 생후 7일차에 희생부검을 실시하였음에도 임신모체의 위내 투여 및 기도 점적으로 체내에 들어온 PE-MPs는 다시 태반과 모유 수유를 통해 어미개체로부터 PE-MPs를 전달받아 태자 상태일 때부터 지속적으로 영향을 받았을 것이다. 이러한 결과 PE-MPs의 독성영향으로 다양한 활성산소종이 생성되어, 이들을 제거하기 위해 GSH-Px 및 CAT의 효소가 발현되었고 MCP-1, TNF- α 의 염증 수치 변화를 주었을 것이다.

본 연구진은 임신 개체에 PE-MPs를 위내 투여 및 기도 점적 후 모체와 신생자의 영향을 평가한 결과에서 임신기간, 차산자수의 차이, 임신 소실 등의 임신 영향과 각 장기에 대한 병리적인 변화는 확인할 수 없었으나, PE-MPs의 체내 축적으로 위내 투여 및 기도 점적에서 모체와 신생자의 체중 변화, 위내 투여 신생자 혈청에서 신경독성인자인 Acetylcholinesterase (AChE) 수준과 GSH-Px의 수준이 증가하는 것을 발표하였다.^{18,20)} 다만, 다른 연구결과를 보면 90일 동안 PE-MPs (0.5 mg/day, 2.0

mg/day)를 노출시킨 수컷 및 암컷 생쥐를 교배시켜 태어난 신생자가 하루 뒤 4마리 및 1마리가 죽었으며, 성비 구성 및 태어난 21일째 희생부검을 통한 새끼의 면역세포 구성이 대조군과 현저하게 차이나는 결과를 확인하였다.⁴³⁾ 따라서 본 연구결과에서 생후 7일째 산화적 스트레스와 염증에 대한 영향이 있다는 점은 자손에 대한 미세플라스틱의 장기간 노출에 따른 면역력 차이로 나타날 수 있는 질환, 신경독성 유발에 따른 행동학적인 평가 그리고 추후 자손의 다음 세대에 대한 독성영향 평가가 필요할 것으로 보인다. 또한, 본 연구는 간에 국한되어 있고, PE-MPs에 대한 단일물질에 대한 독성영향 평가를 하였기에 다른 장기들의 독성영향평가와 함께 실생활에서처럼 복합물질에 대한 노출평가가 수행되어 미세플라스틱에 대한 인체 독성 발현 메커니즘 연구는 반드시 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

임신 및 출산 후 PE-MPs를 위내 투여 및 기도 점적을 통해 신생자 개체 간균질액에서 산화적 스트레스 및 염증에 대한 영향을 확인하고자 하였다. 신생자 간에서 PE-MPs에 의한 산화적 스트레스를 확인한 결과 위내 투여 그룹은 위내-용매투여대조군에 비해 GSH-Px는 농도 의존적으로 감소하였고, 기도 점적의 경우 기도-고농도 PE-MPs에서 감소하였다. 반대로 CAT 경우, 위내 투여 및 기도 점적의 고농도에서 증가하였다. PE-MPs에 의한 염증 수준을 확인하기 위해 MCP-1 및 TNF- α 는 기도-고농도 PE-MPs를 제외하고 용매투여대조군에 비해 증가하였다. 또한 급성염증 지표로 사용되는 CRP의 수준은 위내 투여는 위내-용매투여대조군에 비해 감소하였으며 기도 점적은 기도-용매투여대조군에 비해 증가하였다. 다만, 본 연구에 사용된 기도 점적을 이용한 투여방법, 사용된 어미 개체의 수, PE-MPs의 직경, 투여 기간 설정, 특정 장기에 국한 등, 여러 제한성은 있지만 본 연구의 결과가 위내 및 기도 점적을 통해 PE-MPs의 노출은 태반과 모유수유를 통해 다음 세대 전달로 인한 독성영향을 검증하는 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 한국화학물질관리협회 화학물질 안전관리 전문 인력 양성 사업의 지원을 받아 수행되었음.

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- Doyle MJ, Watson W, Bowlin NM, Sheavly SB. Plastic particles in coastal pelagic ecosystems of the Northeast Pacific ocean. *Mar Environ Res.* 2011; 71(1): 41-52.
- Rochman CM, Browne MA, Halpern BS, Hentschel BT, Hoh E, Karapanagioti HK, et al. Policy: classify plastic waste as hazardous. *Nature.* 2013; 494(7436): 169-171.
- Ebere EC, Wirnkör VA, Ngozi VE. Uptake of microplastics by plant: a reason to worry or to be happy? *World Sci News.* 2019; 131: 256-267.
- Hirt N, Body-Malapel M. Immunotoxicity and intestinal effects of nano- and microplastics: a review of the literature. *Part Fibre Toxicol.* 2020; 17(1): 57.
- da Costa JP, Santos PSM, Duarte AC, Rocha-Santos T. (Nano)plastics in the environment - sources, fates and effects. *Sci Total Environ.* 2016; 566-567: 15-26.
- Andrady AL. Microplastics in the marine environment. *Mar Pollut Bull.* 2011; 62(8): 1596-1605.
- Enyoh CE, Shafea L, Verla AW, Verla EN, Qingyue W, Chowdhury T, et al. Microplastics exposure routes and toxicity studies to ecosystems: an overview. *Environ Anal Health Toxicol.* 2020; 35(1): e2020004.
- Carbery M, O'Connor W, Palanisami T. Trophic transfer of microplastics and mixed contaminants in the marine food web and implications for human health. *Environ Int.* 2018; 115: 400-409.
- Rahman A, Sarkar A, Yadav OP, Achari G, Slobodnik J. Potential human health risks due to environmental exposure to nano- and microplastics and knowledge gaps: a scoping review. *Sci Total Environ.* 2021; 757: 143872.
- Abbasi S, Soltani N, Keshavarzi B, Moore F, Turner A, Hasanaghaei M. Microplastics in different tissues of fish and prawn from the Musa Estuary, Persian Gulf. *Chemosphere.* 2018; 205: 80-87.
- Prata J. Airborne microplastics: consequences to human health? *Environ Pollut.* 2018; 234: 115-126.
- Yang W, Gao X, Wu Y, Wan L, Tan L, Yuan S, et al. The combined toxicity influence of microplastics and nonylphenol on microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020; 195: 110484.
- Gao H, Zhao F, Chen GD, Chen SD, Yu Y, Yao ZH, et al. Bidesmoside triterpenoid glycosides from *Stauntonia chinensis* and relationship to anti-inflammation. *Phytochemistry.* 2009; 70(6): 795-806.
- Deng Y, Zhang Y, Lemos B, Ren H. Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. *Sci Rep.* 2017; 7: 46687.
- Lu Y, Zhang Y, Deng Y, Jiang W, Zhao Y, Geng J, et al. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. *Environ Sci Technol.* 2016; 50(7): 4054-4060.
- Lee S, Kang KK, Sung SE, Choi JH, Sung M, Seong KY, et al. Toxicity study and quantitative evaluation of polyethylene microplastics in ICR mice. *Polymers (Basel).* 2022; 14(3): 402.
- Li B, Ding Y, Cheng X, Sheng D, Xu Z, Rong Q, et al. Polyethylene microplastics affect the distribution of gut microbiota and inflammation development in mice. *Chemosphere.* 2020; 244: 125492.
- Song YM, Kim CY. Toxicities demonstrated in dams and neonates following intragastric intubation of polyethylene microplastics to pregnant mice. *J Environ Health Sci.* 2021; 47(5): 446-453.
- Wright SL, Kelly FJ. Plastic and human health: a micro issue? *Environ Sci Technol.* 2017; 51(12): 6634-6647.
- Han Y, Song Y, Kim GW, Ha C, Lee J, Kim M, et al. No prominent toxicity of polyethylene microplastics observed in neonatal mice following intratracheal instillation to dams during gestational and neonatal period. *Toxicol Res.* 2021; 37(4): 443-450. Erratum in: *Toxicol Res.* 2021; 38(1): 111.
- Park TJ, Lee SH, Lee MS, Lee JK, Lee SH, Zoh KD. Occurrence of microplastics in the Han River and riverine fish in South Korea. *Sci Total Environ.* 2020; 708: 134535.
- Bendtsen KM, Broström A, Koivisto AJ, Koponen I, Berthing T, Bertram N, et al. Airport emission particles: exposure characterization and toxicity following intratracheal instillation in mice. *Part Fibre Toxicol.* 2019; 16(1): 23.
- Yin K, Wang Y, Zhao H, Wang D, Guo M, Mu M, et al. A comparative review of microplastics and nanoplastics: toxicity hazards on digestive, reproductive and nervous system. *Sci Total Environ.* 2021; 774(20): 145758.
- Dris R, Gasperi J, Mirande C, Mandin C, Guerrouache M, Langlois V, et al. A first overview of textile fibers, including microplastics, in indoor and outdoor environments. *Environ Pollut.* 2017; 221: 453-458.
- Vianello A, Jensen RL, Liu L, Vollertsen J. Simulating human exposure to indoor airborne microplastics using a Breathing Thermal Manikin. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 8670.
- Faggio C, Pagano M, Alampi R, Vazzana I, Felice MR. Cytotoxicity, haemolymphatic parameters, and oxidative stress following exposure to sub-lethal concentrations of quaternium-15 in *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat Toxicol.* 2016; 180: 258-265.
- Prokić MD, Radovanović TB, Gavrić JP, Faggio C. Ecotoxicological effects of microplastics: examination of biomarkers, current state and future perspectives. *Trends Analyt Chem.* 2019; 111: 37-46.
- Kim HB, Yoo BS. Propolis inhibits UVA-induced apoptosis of human keratinocyte HaCaT cells by scavenging ROS. *Toxicol Res.* 2016; 32(4): 345-351.
- Oliveira P, Barboza LGA, Branco V, Figueiredo N, Carvalho C, Guilhermino L. Effects of microplastics and mercury in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774): filtration rate, biochemical biomarkers and mercury bioconcentration. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018; 164: 155-163.
- Yu P, Liu Z, Wu D, Chen M, Lv W, Zhao Y. Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. *Aquat Toxicol.* 2018; 200: 28-36.
- Davies KJ. Adaptive homeostasis. *Mol Aspects Med.* 2016; 49: 1-7.
- Jin H, Ma T, Sha X, Liu Z, Zhou Y, Meng X, et al. Polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity in mice. *J Hazard Mater.* 2021; 401: 123430.
- Marra F. Chemokines in liver inflammation and fibrosis. *Front Biosci.* 2002; 7: d1899-914.
- Zamara E, Galastri S, Aleffi S, Petrai I, Aragno M, Mastrocola R,

- et al. Prevention of severe toxic liver injury and oxidative stress in MCP-1-deficient mice. *J Hepatol.* 2007; 46(2): 230-238.
35. Li S, Shi M, Wang Y, Xiao Y, Cai D, Xiao F. Keap1-Nrf2 pathway up-regulation via hydrogen sulfide mitigates polystyrene microplastics induced-hepatotoxic effects. *J Hazard Mater.* 2021; 402: 123933.
 36. Choi D, Hwang J, Bang J, Han S, Kim T, Oh Y, et al. In vitro toxicity from a physical perspective of polyethylene microplastics based on statistical curvature change analysis. *Sci Total Environ.* 2021; 752: 142242.
 37. Yang G, Shao GF. Elevated serum IL-11, TNF α , and VEGF expressions contribute to the pathophysiology of hypertensive intracerebral hemorrhage (HICH). *Neurol Sci.* 2016; 37(8): 1253-1259.
 38. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol.* 2018; 9: 754.
 39. Salehifar E, Tavakolian Arjmand S, Aliyali M, Abedi S, Sharifpour A, Alipour A, et al. Role of C-reactive protein and tumor necrosis factor-alpha in differentiating between ventilator-associated pneumonia and systemic inflammatory response syndrome without infectious etiology. *Tanaffos.* 2016; 15(4): 205-212.
 40. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003; 111(12): 1805-1812. Erratum in: *J Clin Invest.* 2003; 112(2): 299.
 41. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82(1): 47-95.
 42. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3(4): 276-285.
 43. Park EJ, Han JS, Park EJ, Seong E, Lee GH, Kim DW, et al. Repeated-oral dose toxicity of polyethylene microplastics and the possible implications on reproduction and development of the next generation. *Toxicol Lett.* 2020; 324: 75-85.

〈저자정보〉

김근우(대학원생), 김창열(교수)