

염색체이상시험을 이용한 적응반응연구

1994

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 연구 결과를 1994년도 산업보건연구원의 연구사업 중
“염색체이상시험을 이용한 적응반응연구”에 대한 최종 결과
보고서로 제출합니다.

1994년 12월 31일

제출자 : 산업보건연구원장 문 영 한

연구책임자 : 연 구 원 맹 승 희

공동연구자 : 책임연구원 유 일 재

책임연구원 최 병 순

선임연구원 변 상 훈

목 차

1. Benzidine dihydrochloride에 의한 CHL 세포의 적응반응

Abstract.....	1
I. 서론.....	2
II. 재료 및 방법.....	5
1 연구대상.....	5
2.연구방법.....	5
III. 결과.....	7
1. 세포증식률산출 및 농도의 결정.....	7
2. 배양세포에서의 염색체이상	9
3. 염색체이상에서의 적응반응.....	9
IV. 고찰.....	15
V. 결론 및 요약.....	18
Vi. 참고문헌.....	19

2. 용접흙 폭로근로자의 염색체이상연구

Abstract.....	22
I. 서론.....	24
II. 재료 및 방법.....	27
1 연구대상.....	27
2.연구방법.....	27
III. 결과.....	29
1. 대상근로자의 일반적 특성.....	29
2. 용접흙의 환경평가.....	29
3. 용접흙 폭로근로자의 염색체이상분석.....	30
IV. 고찰.....	33
V. 결론 및 요약.....	36
VI. 참고문헌.....	38

Adaptive Responses using Chromosome Aberration Analysis

1. Adaptive Response in CHL cells by Benzidine Dihydrochloride

Seung Hee Maeng and Il Je Yu

Department of Industrial Toxicology, Industrial Health Research Institute,

Korea Industrial Safety Corporation

34-4 Kusan dong, Buk gu, Inchon, 403-120, Korea

-Abstract-

We studied adaptive response in CHL cells by benzidine dihydrochloride, a derivative of benzidine, which was a major mutagenic agent in dye industry. Chromosome aberration analysis was used for the identification of adaptive response to this mutagen.

Adaptive and reactive doses were confirmed by cell proliferation rate curve. Cell proliferation rate curve was obtained from the mitotic indices of cells treated with various concentrations of benzidine dihydrochloride for 24 hours.

Marked adaptive responses to benzidine dihydrochloride in the induction of chromosome aberration were observed in CHL cells by pretreatment with low concentrations of benzidine dihydrochloride (0.0047 mg/ml or 0.0094 mg/ml) for 24 hours following posttreatment with high concentrations (0, 0.0187, 0.0375, 0.075, 0.15 mg/ml) for 24 hours. These adaptive responses were found mostly in the type of chromatid breakages and chromatid exchanges. There is no difference in these results between two adaptive doses, 0.0047 mg/ml and 0.0094 mg/ml. The amount of adaptive response, however, was dependent on posttreatment doses.

염색체이상시험을 이용한 적응반응연구

1. Benzidine dihydrochloride에 의한 CHL 세포의 적응반응

맹 승희, 유 일재

한국산업안전공단 산업보건연구원 산업독성연구실
인천직할시 북구 구산동 34-4. 430-120

I. 서론

산업적으로 사용되는 화학물질의 수가 해마다 늘어가는 동안 이들 많은 화학물질중 발암성물질 (carcinogen)과 발암의 초기적 변화인 DNA의 손상 즉 돌연변이를 유발하는 성질을 가진 변이원성물질 (mutagen)을 선별하고, DNA손상의 유발, DNA손상의 회복, DNA손상의 저해 및 이들 물질에 대한 적응등의 일련의 세포내 메카니즘을 밝혀가는 것은 산업보건학적으로 볼 때 필수적이라 할 수 있다.

지금까지 확립된 변이원성시험법은 크게 나누면 유전자 수준의 변화 (gene mutation), 염색체수준의 변화 (chromosome aberration) 및 DNA수준의 변화 (DNA damage)에 대한 방법으로 현재 경제협력개발기구 (OECD)의 전문가들에 의하면 총 15종류의 유전독성시험의 가이드라인이 작성되어 있고 앞으로도 계속 새로운 시험법이 개발될 것으로 보인다 (石館 基, 1991).

이중 염색체이상시험법은 사람을 포함한 고등동물의 세포를 배양하는 기법이 개발된 이래 방사선 및 화학물질의 유전독성을 연구하는데 유용하게 이용되어 왔다. 또한 미생물을 이용한 Ames시험법과 함께 화학물질의 유해성을 초기에 탐색하는 대표적인 단기의 시험관내 시험방법으로 널리 쓰이고 있어 미국의 환경처, 일본의 노동성, 통산성, 후생성 및 우리나라

라의 환경부, 보건복지부의 지침서 및 산업안전보건법(제 40조)에 따른 노동부고시에서도 채택된 신규화학물질의 유해성 시험방법의 하나이다.

벤지딘은 염료의 제조시 사용되는 산업화학물질로서 실험실에서의 혈액검출과 우유에서의 hydrogen peroxide의 검출시도 사용되는 물질이다. 또한 hydrogen cyanide와 sulfate의 검출에 이용되기도 하며 니코틴의 양적인 검출에 이용되기도 한다. Haley (1975)와 IARC (1982)의 보고에 의하면 벤지딘은 마우스, 햄스터, 개등의 동물실험결과 방광암을 유발하는 발암물질이며 이는 산업장에서 벤지딘에 폭로된 근로자를 대상으로 한 역학조사등의 결과로도 확인될 수 있었다 (Ferber, et al., 1976; Tsuchlya, et al., 1975; Zvon, et al, 1973).

벤지딘은 대사활성화를 시켰을때 Salmonella typhimurium strain TA1538에 변이원성을 나타내었으며, E. coli pol A 시험과 Prophage induction 시험에서는 음성의 결과를 나타내었다. 또한 시험관내 실험 및 생체의 실험에서 DNA손상을 유발함이 보고되었다(IARC, 1982). NTP의 보고에서는 벤지딘은 Salmonella 시험에서 양성의 결과를 보였고, CHO세포를 이용한 실험에서는 염색체이상과 자매염색체교환의 증가양상이 보고되기도 하였다.

우리나라에서 벤지딘의 사용을 살펴보면 1945년이후 벤지딘 제조공장이 하나 생겨났고, 1960년대에 이후 많은 공장들이 생겨났다가 없어지곤 해서 현재는 두곳의 제조공장과 21곳의 벤지딘을 중간체로서 이용하여 직접염료를 생산하는 공장들이 있다. 산업안전보건법 시행규칙 제 29조에 의하면 제조 또는 사용이 금지되는 유해물질로 벤지딘과 그염을 정하고 있으나 벤지딘염산염은 금지규정에서 제외됨으로써 사실상 벤지딘의 제조 및 사용이 법적으로 허용되고 있는 상황이다.

적응반응(adaptive response)이란 낮은 농도의 방사선 또는 변이원성 화학물질에 노출된 후 높은 농도의 동일한 돌연변이원 또는 작용기전이 비슷한 돌연변이원에 노출된 경우 나타나는 보호효과로서, 이에 관한 연구는 1977년 E. coli에서 그 현상이 보고(Samson & Cairons, 1977)된 이래 동물세포 및 식물세포에서도 확인된 바 있고 (Heindorff et al., 1987; Samson & Schwartz, 1980), 그 기전은 특히 알킬라제 (alkylating agent)에 대해서 많이 밝혀져 있어 DNA methyltransferase와 같은 적응에 관계되는 단백질이 생성됨이 보고된

바 있다 (Yarosh et al., 1984).

Ikushima(1987,1989)의 보고에 의하면 방사성의 thymidine에 적응된 Chinese hamster V79세포는 그후의 높은 선량의 X선에 대해 방어효과를 나타내었으며, 감마선에 적응된 세포는 Mitomycin C 및 자외선에 대해 내성을 나타내어 자매염색체교환빈도 및 소핵빈도의 감소를 나타내었다. 또한 Laval 들(1984)은 methylmethanesulfonate (MMS)와 N-methyl-N-nito-N-nitrosoguanidine(MNNG)등에 적응된 세포에서, Samson 들(1977)은 MNNG에 적응된 세포에서 돌연변이유발과 자매염색체교환의 빈도가 감소하는 것을 관찰하였다. 또한 김들 (1992)은 bleomycin 및 cadmium에 의한 CHO세포에서의 적응반응을 관찰하였으나 mitomycin C에서는 관찰하지 못하였다.

위의 보고들과는 상이하게 적응반응현상관찰을 목적으로 배양세포를 대상으로 하여 MNNG등을 이용한 자매염색체교환등의 돌연변이실험결과 의도했던 적응반응현상을 관찰하지 못한 예도 소수 있다(Anderson et al.,1980; Chung & Kim, 1992). 따라서 적응반응현상은 연구대상 세포의 종류, 사용한 물질에 따라 또 이용하는 실험방법에 따라 그 결과가 상이하였다.

이에 본 연구에서는 변이원성 시험방법의 하나인 염색체이상시험법으로써 CHL세포에 우리나라에서는 아직 작업환경내에서 폭로될 수 있는 발암물질이며 돌연변이원인 benzidine dihydrochloride를 처리하였을때 적응반응현상이 존재하는지의 여부를 확인함으로써 작업환경내의 발암원 및 돌연변이원에 대한 적응반응에 관한 자료를 축적하고자 하였다. 또한 염색체이상시험법이 벤지딘에 대한 적응반응연구에 적합한 실험방법인지를 확인하며 더 나아가 이들 물질의 적응반응기전의 규명 및 DNA 손상의 저해방법의 개발등을 위한 기초적 정보를 제공하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상

본 연구에서 in vitro의 염색체이상시험을 실시하는데 있어 사용한 배양세포는 Chinese hamster lung cell (CHL 세포)이었다.

2. 연구방법

가. 세포배양

본 연구에서 사용한 CHL세포는 CO₂ 배양기에서 10% Fetal bovine serum (GIBCO)과 10 µg/ml의 penicillin과 10 µg/ml의 streptomycin이 포함된 MEM 배지 (minimum essential medium, GIBCO)에 단층배양하여 사용하였다.

나. 세포증식억제시험

CHL세포를 이용하여 염색체이상시험을 실시하기 위한 benzidine dihydrochloride의 농도 결정과 적응반응실험시 적응농도 및 적응후 처리농도 즉 반응농도를 결정하기 위하여는 0.3 mg/ml부터 공비 2로써 8단계 농도의 benzidine dihydrochloride를 처리하였다. 이때 작성한 염색체표본에서 세포분열지수 (mitotic index)를 측정함으로써 세포증식곡선을 산출하였다. 이때 실험방법으로는 CHL세포 20,000개를 60 mm의 세포배양용 petri dish에 심은후 3일간 배양하여 각 농도단계의 benzidine dihydrochloride를 처리, 24시간 배양한 후 표본을 작성하고 Giemsa염색하여 관찰하였다. 이때 세포분열지수는 1000개의 세포중 세포분열중인 세포의 수를 센 다음 백분율로 계산하여 구하였다.

다. 농도별 염색체이상시험

본 시험에서 이용한 염색체이상시험방법은 石館 基(1991)의 방법에 의하여 실시하였다. 이때 세포증식억제시험에서 결정한 투여농도 0.15, 0.075, 0.0375, 0.0187, 0.0094, 0.0047

mg/ml의 benzidine dihydrochloride 용액을 3일간의 전배양시킨 CHL 세포에 처리, 24 시간 배양한후 염색체표본을 작성, Giemsa 염색하여 구조적 염색체이상을 관찰분석하였다. 이때 관찰한 세포는 중기세포 (metaphase cell)로서 각 농도당 2개의 표본에서 100개씩 관찰하였다.

라. 염색체이상에서의 적응반응

세포증식억제시험에서 결정한 적응농도인 아주 낮은 용량의 benzidine dihydrochloride 를 3일간 전배양시킨 CHL세포에 먼저 처리하여 24시간 배양시킴으로써 세포들을 적응시켰다. 적응된 이들 세포를 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)로 2회 세척한 다음 신선한 MEM 배지를 넣고 반응농도로 결정된 보다 높은 농도의 동물질을 농도별로 각각 투여한 후 다시 24시간 추가배양하여 염색체표본을 작성, 염색체이상을 관찰분석하였다. 이 관찰치와 농도 별로 단회 투여하여 분석한 염색체이상빈도로 부터 이론적으로 추정할 수 있는 염색체이상빈 도수를 비교함으로써 benzidine dihydrochloride의 세포적응성을 관찰하였다. 이때 적응농도 는 세포증식억제시험결과 음성대조군에서 관찰된 세포증식율과 거의 같은 세포증식율을 보였 을 때의 benzidine dihydrochloride의 농도로 두 단계를 취하였는데 이는 각각 0.0094 mg/ml 및 0.0047 mg/ml이었다. 또 적응후 처리한 반응농도는 세포증식억제시험에서 세포치사가 일 어나기 전의 최고농도로 부터 4단계농도인 0.15, 0.075, 0.0375, 0.0187 mg/ml 이었다.

마. 염색체표본의 작성

투여시간이 완료되었을때 배양세포에 colcemid (0.2 µg/ml, GIBCO)을 가한 후 2시간 배 양하여 세포수집을 하였으며 이들 세포는 저장액(0.075 M KCl)으로 처리하고 Carnoy 고정액 (methanol : acetic acid= 3:1)에 3회 고정하여 염색체 표본을 작성하였다. 염색체이상의 관 찰은 하나의 실험군에서 두개씩 작성한 표본에서 각각 100개씩의 중기세포내 염색체의 구조 적 이상을 관찰하여 염색체이상빈도수를 산출하였다. 각 실험군의 염색체이상빈도수의 비교 는 짝비교의 t-검정으로 실시하였다.

III. 결과

1. 세포증식율곡선 및 농도의 결정

0.3 mg/ml부터 공비 2로 8단계의 농도순으로 benzidine dihydrochloride를 처리하였을 때의 세포분열지수와 이로부터 산출한 세포증식율은 Table 1과 Fig. 1과 같다. 0.3 mg/ml의 농도로 대상물질을 투여하였을 때에는 세포치사효과로 분열중인 세포가 거의 없었으며 50%의 세포증식억제현상은 benzidine dihydrochloride의 농도 약 0.05 mg/ml에서 관찰되었다. 또한 0.15 mg/ml의 농도에서는 약 3.6%의 세포증식율을 보여 증식억제효과가 매우 컸으나 염색체이상빈도가 상당히 높은 것(약 30%)으로 나타나 본 연구에서는 0.15 mg/ml의 농도를 최고 농도로 하는 염색체이상시험을 실시하였다.

또한 적응반응실험에 있어서 낮은 농도의 적응용량은 세포증식율이 90%이상으로 나타났던 0.0094 mg/ml(세포증식율 90.4%) 및 0.0047 mg/ml(세포증식율 96.0%)로 하였다. 반응시킬 농도는 그 이상의 3단계 농도를 모두 택하였다.

Table 1. Mitotic Indices & Cell Proliferation Rates of CHL cells treated various concentrations of benzidine dihydrochloride.

Conc. (mg/ml)	M. I. (%)	C. P. R(%)
0.3	0.0	0.0
0.15	0.5	3.6
0.075	4.5	35.7
0.0375	8.5	67.5
0.0187	10.1	80.2
0.0094	11.4	90.4
0.0047	12.1	96.0
0.0	12.6	100.0

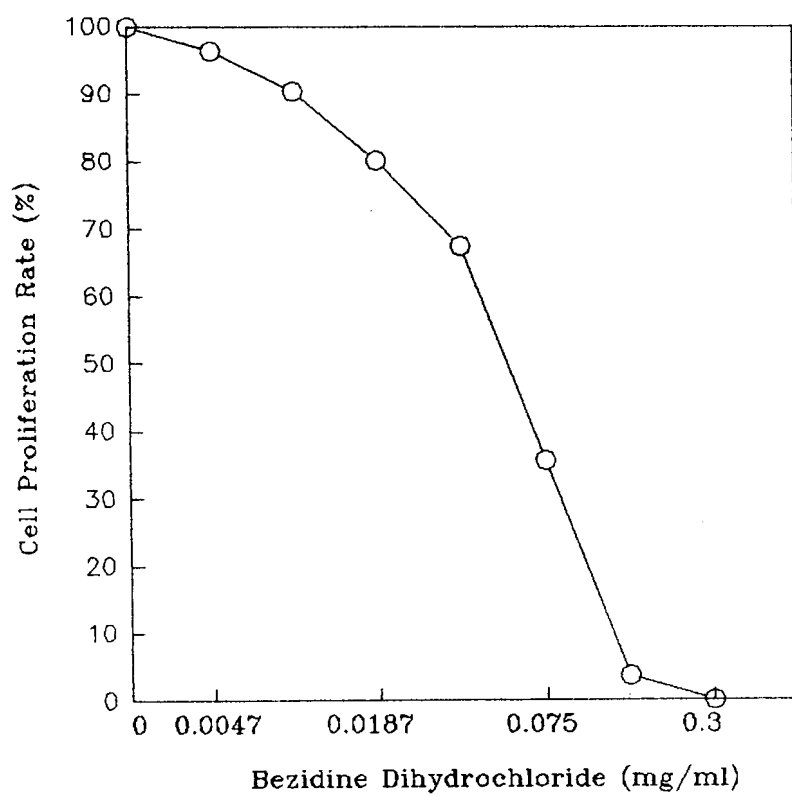


Fig.1. Cell proliferation rate curve of CHL cells treated with benzidine dihydrochloride

2. 배양세포에서의 염색체이상

Benzidine dihydrochloride를 농도별로 투여하였을때 염색체이상의 빈도는 Table 2 및 Fig. 2와 같았다. 0.15 mg/ml의 농도에서 33.5%(+gap), 0.075 mg/ml에서 19.0%(+gap), 0.00375 mg/ml에서 8.0%(+gap)로 강한 양성의 염색체이상을 보였으며 투여농도구배에 따라 염색체이상빈도가 증가하는 양상 즉 양반응성 (dose-reponse)을 보였다 (Fig. 2). 0.0094 및 0.0047 mg/ml의 농도에서는 음성대조군의 결과에 비해 전혀 염색체이상빈도가 증가되지 않았다. 관찰된 염색체이상의 형태는 거의 모두 염색분체형으로 절단형 (chromatid break:ctb) 이 교환형(chromatid exchange: cte)보다 조금 많았다.

Table 2. The frequencies of chromosomosome aberrations in CHL cells treated with benzidine dihydrochloride.

Conc. (mg/ml)	pol	gap	ctb	cte	csb	cse	Total (-g)	Total (+g)
0.15	1.5	6.0	15.0	13.5	0	0	28.5	33.5
0.075	0	3.0	9.5	6.5	0	0	16.0	19.0
0.0375	0	2.0	3.5	2.5	0	0	6.0	8.0
0.0187	0	1.5	1.5	1.0	0	0	2.5	4.0
0.0094	0	0	1	0.5	0	0	1.5	1.5
0.0047	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	1.0	1.5
0.0	0	0.5	1.5	0.5	0	0	2.0	2.5

pol, polyploid; ctb, chromatid break; cte, chromatid exchange; csb, chromosomal break; cse, chromosomal exchange

3. 염색체이상에서의 적응반응

24시간동안 낮은 농도(적응용량)의 benzidine dihydrochloride에 적응시킨 세포에 보다 고농도(반응농도)의 같은 물질을 처리한 후 24시간 후에 염색체이상빈도를 조사한 결과 뚜렷한 적응반응을 관찰할 수 있었다(Table 3, Fig. 3, 4). 관찰된 염색체이상의 형태는 소수의

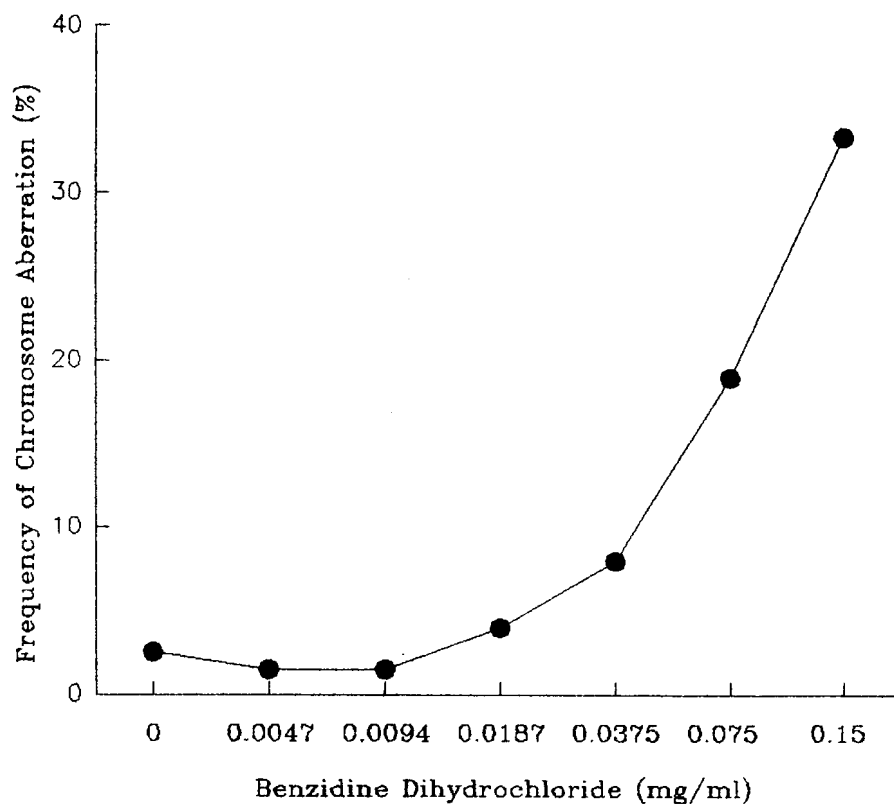


Fig.2. The frequency of chromosome aberration(+g) in CHL cells treated with benzidine dihydrochloride

염색체형 이상이 관찰되기도 하지만 거의 대부분이 염색분체형의 교환과 절단에 의한 이상이 었다. 적응후의 염색체이상빈도 또한 적응후의 반응농도의 구배에 비례하여 증가하는 것을 알 수 있었다. 적응농도가 0.094 mg/ml이었던 실험군(Table 3 및 Fig. 3)에서 보면 적응후

Table 3. The frequencies of chromosome aberrations in CHL cells pre-exposed the low doses of benzidine dihydrochloride followed by high doses.

Pre-treatment (mg/ml)	Post-treatment (mg/ml)	Percent of aberrant cells (+ gap)	Structural aberrations/100 cells				Gap
			Chromatid type		Chromosomal type		
			exchange (cte)	breaks (ctb)	exchange (cse)	breaks (csb)	
0	0	1.5	0.5	1.0	0	0	0.5
0	0.0187	3.0	1.0	1.0	0	0	1.0
0	0.0375	5.5	2.5	3.0	0	0	2.0
0	0.075	18.0	6.0	8.5	0	0	3.5
0	0.15	38.0	16.5	12.5	0	0	9.0
0.0094	0	1.0	0	0.5	0	0	0.5
0.0094	0.0187	1.0(2.5)*	0.5	0.5	0	0	0
0.0094	0.0375	2.5(5.0)*	1.5	1.0	0	0	0
0.0094	0.075	11.5(17.5)*	5.0	5.5	0	0.5	0.5
0.0094	0.15	16.5(37.5)*	3.0	9.0	0	0.5	4.0
0.0047	0	2.5	0.5	0.5	0.5	0	1.0
0.0047	0.0187	1.5(4.0)*	0.5	0	0	0	1.0
0.0047	0.0375	2.5(6.5)*	0.5	1.0	0	0	1.0
0.0047	0.075	11.0(19.0)*	7.0	3.5	0	0	0.5
0.0047	0.15	17.5(39.0)*	7.0	7.5	0	0.5	2.5

cte, chromatid exchange; ctb, chromatid break; cse, chromosomal exchange; csb, chromosomal break

The number of parentheses indicate the expected frequency.

* The value is significantly lower than the expected ($p < 0.05$).

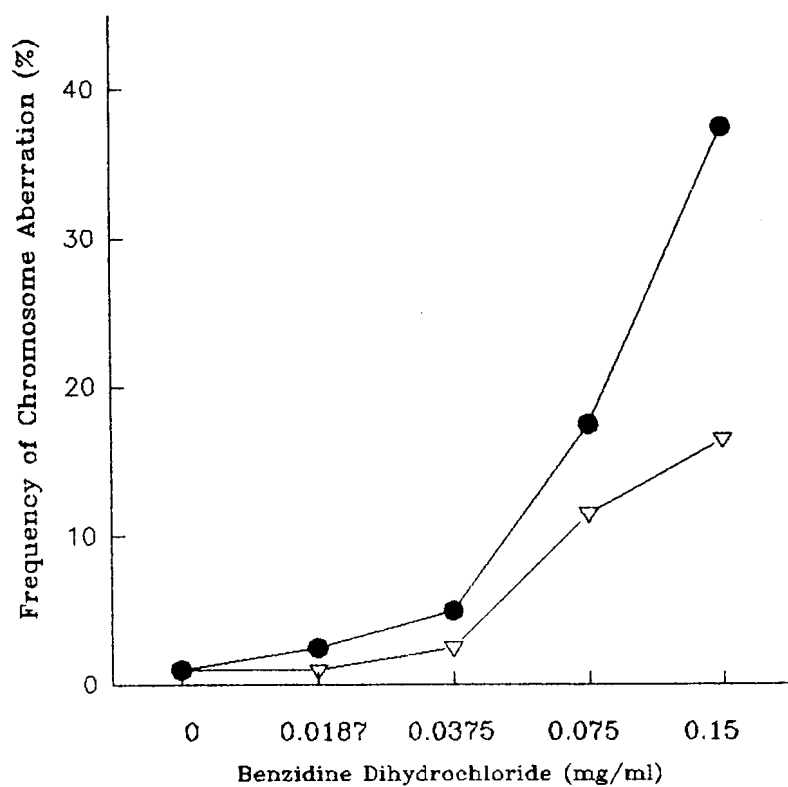


Fig. 3. Adaptive response to benzidine dihydrochloride with the concentration of 0.0094 mg/ml.

- Expected-sum of chromosome aberration frequency
- ▽ Observed frequency of chromosome aberration in CHL cells pretreated with 0.0094 mg/ml benzidine dihydrochloride.

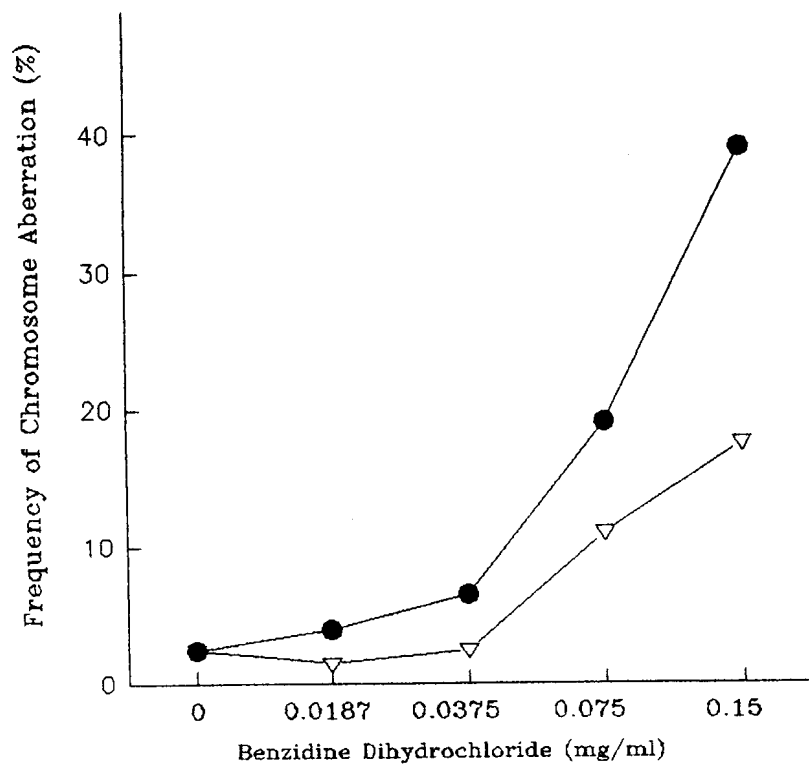


Fig. 4. Adaptive response to benzidine dihydrochloride with the concentration of 0.0047 mg/ml

- Expected-sum of chromosome aberration frequency
- ▽ Observed frequency of chromosome aberration in CHL cells pretreated with 0.0047 mg/ml benzidine dihydrochloride

반응시킨 농도가 0.15 mg/ml인 경우 이론상의 기대치 (적응농도에서 단회 처리한 때의 린도수와 반응농도로 단회처리한 때의 린도수의 합)인 37.5%보다 훨씬 낮은 16.5%를 나타내어, 낮은 농도로 처리하였을때 이미 염색체이상에 대한 수복기구가 생성되어 적응반응이 일어났음을 보여 주었다. 반응농도 0.075 mg/ml에서는 기대치 17.5%에 비해 11.5%, 0.00375 mg/ml에서는 기대치 5.0%에서 2.5%, 0.0187 mg/ml에서는 기대치 2.5%에서 1.0%로 각각 염색체이상에서의 적응반응이 일어났음을 보여 주었다. 적응농도 0.0047 mg/ml(Table 3 및 Fig. 4)에서도 같은 현상을 나타내어 결과적으로 두개의 적응농도 모두에서 또한 적응후 반응시킨 모든 농도 단계에서 뚜렷한 적응반응현상을 관찰할 수 있었고 그 양상은 두개의 적응농도에 따라서 별차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 적응반응정도는 적응후 처리했던 반응농도의 농도구배에 따라 보다 높은 농도일수록 더 뚜렷하였음을 관찰할 수 있었다 (그림 3, 4).

IV. 고찰

벤지딘은 염료제조시 사용되는 화학물질로서 1980년 NIOSH에서 벤지딘을 이용하여 제조한 염료들에 대한 동물실험과 이들 염료를 사용하는 근로자들에 대한 역학조사를 통해 밝혀진 발암성 자료들을 보고한 바 있다. 벤지딘 자체도 사람에 있어 요로방광암을 일으키며 다양한 종류의 동물에서 종양을 유발하는 물질로 오래전부터 알려져 왔다(Haley, 1975). 벤지딘과 이들 염료를 실험동물에 투여했을때 이들 동물의 뇨속에 발암성의 방향족 아민류가 분비됨이 알려져 이 뇨에서의 대사산물에 대한 변이원성도 밝혀져 있고(Bos, et al., 1984; Tanaka, et al., 1981), 벤지딘자체도 시험관내 시험에서 대사활성화시 미생물을 이용한 변이원성실험을 비롯하여 CHO세포에서의 염색체이상시험, 자매염색체교환 및 DNA 손상시험등에 양성으로 반응함이 보고되었다.. 본 연구실험결과 benzidine dihydrochloride를 CHL세포에 농도별로 처리했을때 양반응성과 함께 강한 염색체이상을 나타낸바 기존의 free benzidine에 대한 결과와 같은 양상이었다. 현재까지 알려진 결과로는 벤지딘의 발암과정에 기여하는 주요 대사산물은 N-acetylbenzidine으로 이 물질은 흰쥐의 간내에서 DNA adduct를 형성하며 이 DNA adduct는 N-acetylbenzidine의 acetyl group을 포함하고 있다 (Green, et al., 1987; Kennelly, et al., 1984). 본 시험에서 benzidine dihydrochloride의 강한 염색체이상은 대사활성화시키지 않은 상태에서 유발되었으므로 benzidine dihydrochloride 자체가 직접 변이원으로 작용함을 알 수 있었다.

이와같이 벤지딘에 대한 발암성 및 변이원성과 그 발암기전까지 다양하고 많은 연구결과가 있어 벤지딘의 사용이 점차 금지되고 보호대책아래 제한된 범위내에서 사용이 이루어져 가고 있지만 지금까지 벤지딘에 직업적으로 폭로된 근로자들에 있어 방광암등이 발생할 수 있다는 위험성이 더욱 높아져 가고 있다. 직업적으로 이 물질에 폭로되어 방광암에 대해 높은 위험성을 갖는 사람의 수는 미국에서는 6000명이상이고 일본의 경우는 3000명에 달하며, 중국의 경우는 2500명에 이른다(Tanigawa, et al., 1990). 우리나라의 경우 벤지딘에 직업적으로 폭로된 근로자에 대한 자료는 매우 불충분하고 또 우리나라에서는 산업안전보건법에

의해 벤지딘은 제조 또는 사용이 금지된 물질로 정해져 있으나 벤지딘염산염은 금지규정에서 제외되어 있으므로 사실상 그 사용이 법적으로 허용되어 있어 이들에 대한 위험성은 다른 나라에 비해 더욱 크게 안고 있다.

적응반응(adaptive response)에 관한 연구로는 Samson & Cairns(1977)이 E. coli에서 DNA수복과 관련하여 연구하기 시작하여 CHO세포와 피부섬유모세포에서의 적응반응(Samson & Schwartz, 1980)에 대한 연구가 있었다. 이어서 저농도의 방사성의 thymidine을 비롯한 X선에 대한 사람의 임파구에서의 적응반응(Oliveri et al., 1984; Wolff, 1988)이 연구되었고 그 후로는 이온화방사선에 대한 적응반응연구가 사람의 임파구 및 배양세포를 대상으로 계속되어져 왔다(Burkart et al., 1989, 1990; Ikushima, 1987, 1989, Wang, et al., 1991; Wolff et al., 1988). 이외의 적응반응연구는 알킬라제(alkylating agent)와 bleomycin, mitomycin C등에 대한 것으로 연구대상이 되었던 화학물질의 수는 극히 적은 편이며 특히 벤지딘에 대한 적응반응현상에 관한 연구보고는 아직 찾아 볼 수 없었다..

한편 Kim 등(1992)은 mitomycin C와 bleomycin등을 이용한 세포적응반응연구에서 적응반응현상은 특정세포에서 특정한 물질에 대해 특정한 시기에만 관찰되기 때문에 세포의 특성 및 사용한 물질의 종류와 투여농도 및 세포주기에 따라 그 결과가 상이하게 나타난다고 하였다.

본 연구에서 낮은 농도의 benzidine dihydrochloride에 적응된 CHL세포를 높은 농도에 반응시켰을때 염색체이상에서의 뚜렷한 적응현상을 관찰할 수 있었다. 특히 교환과 절단을 포함한 염색분체형의 염색체이상빈도가 적응반응에 의해 감소한 것으로 나타났는데 반응농도의 투여를 세포주기중 G₁기에 처리했을 경우의, bleomycin과 mitomycin C에 의한 적응반응과 전리방사선에 의한 적응반응현상이 주로 염색체형의 염색체이상에서 보고된 것(Kim et al., 1992; Wang et al., 1991)과는 상이하였다. 또한 G₂기에 전리방사선이나 bleomycin을 처리한 경우 그리고 알킬라제나 화학물질을 이용한 연구에서 염색분체형의 염색체이상빈도에서 적응반응현상을 보였던 적응반응현상과는 일치하는 것이었다. bleomycin과 전리방사선은 염색체 이상의 유발형태 즉 DNA상에 유발되는 손상은 DNA의 양가닥절단(Double Strand Break)에 의해 염색체이상을 일으키고, Mitomycin C의 경우는 DNA-crosslink가 형성되어 염색체이상을

일으키며 이들 물질들에서의 적응반응현상은 이러한 염색체이상유발과정에서의 특정한 DNA 수복기전으로써 발생한다는 기존의 결과들과 결부할 때 benzidine dihydrochloride는 bleomycin과 전리방사선 및 mitomycin C와는 다른 DNA수복기전에 의해 적응반응을 나타낸다고 할 수 있다.

본 연구결과 CHL 세포를 대상으로 하였을때 benzidine dihydrochloride는 대사활성화시키지 않은 상태에서 강한 염색체이상을 유발하였으며 낮은 농도에 적응시킨후 보다 높은 농도에 노출 시켰을때에는 염색체이상빈도에 있어서 뚜렷한 적응반응현상을 나타내었다.

우리나라의 경우 벤지딘의 제조 사용이 일부 허용되고 있어 이물질에 폭로된 근로자들에 대한 보건학적 평가의 필요성이 대두되고 있는 과정에서 특히 벤지딘은 방광암등을 유발하는 발암물질로서 이 물질을 취급하는 근로자들에 대한 유전적 지표를 활용한 생물학적 모니터링이 요구된다. 이때 적응반응현상을 나타내는 모니터링시험방법을 이용하여 생물학적 모니터링을 실시할 경우 결과를 해석하는데 있어 세포내의 적응반응을 고려하여야 하며 결과에 대해 과소평가되지 않도록 하여야 할 것이다.

V. 결론 및 요약

본 연구에서는 염색체이상시험을 이용한 benzidine dihydrochloride에 의한 CHL 세포의 적응반응현상을 관찰하기 위하여 농도별 세포증식율을 산출하고 염색체이상시험을 실시함으로써 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Benzidine dihydrochloride에 의한 세포증식율의 산출결과 50%의 세포증식억제현상은 농도 약 0.05 mg/ml에서 관찰되었으며 0.15 mg/ml의 농도에서는 3.6%의 세포증식율을 보여 증식억제효과가 매우 크게 나타났다.

2. Benzidine dihydrochloride를 농도별로 투여했을때 염색체이상의 빈도는 gap을 포함하여 0.15 mg/ml의 농도에서 33.5%, 0.075 mg/ml에서 19.0%, 0.00375 mg/ml에서 8.0%, 0.0094 mg/ml 및 0.0047 mg/ml에서는 1.5%로 양성의 염색체이상을 보였으며 농도구배에 따라 점차 증가하는 양반응성을 보였다. 관찰된 염색체이상의 형태는 거의 모두 염색분체형으로 절단형이 교환형보다 조금 많았다.

3. Benzidine dihydrochloride를 적응농도 0.0047 mg/ml과 0.0094 mg/ml로 CHL 세포에 24시간 적응시킨후 다시 반응농도 0.0187, 0.0375, 0.075 및 0.15 mg/ml로 24시간 반응시킨 다음 염색체이상빈도를 조사한 결과 뚜렷한 적응반응현상을 관찰할 수 있었다.

4. Benzidine dihydrochloride에 대한 적응반응은 거의 모두 염색분체형의 염색체이상에 서 관찰되었으며 적응반응정도는 두개의 적응농도에 따라 별차이는 없었다. 그러나 적응반응의 정도는 적응후 처리했던 반응농도의 농도구배에 있어 보다 높은 농도일수록 더 뚜렷하였음을 관찰할 수 있었다.

VI. 참고문헌

1. Anderson, D., Fisher, P., Jenkinson, P.C. and Philips, B.J.(1980). Studies of the adaptive repair response in human lymphocytes and V79 cells after treatment with MNNG and HNU. *Human Toxicol.* 7, 337-341.
2. Bos, R.P., Groenen, M.A.M., Theuvs, J.L.G., Llleijdekkers, C.M. and Henderson, P.T.(1984). Metabolism of benzidine-based dyes and the appearance of mutagenic metabolites in urine of rats after oral or intraperitoneal administration. *Toxicology* 31, 271-282.
3. Burkart, W. and Vijayalaxmi.(1989). Micro-dosimetric constraints on specific adaptation mechanisms to reduce DNA damage caused by ionizing radiation. *Radiation Protection Dosimetry* 31, 269-274.
4. Chung, H.W. and Kim, Y.J.(1992). Adaptive response in human lymphocytes by bleomycin and mitomycin C. *Korean J. Genetics* 14, 161-172.
5. Ferber, K.H., Hill, W.J., Cobb, D.A.(1976). An assessment of the effect of improved working conditions on bladder tumor incidence in a benzidine manufacturing facility. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 37, 61-68.
6. Green, C.E., Hanco, V.P., Gordon, G.R., Peters, J.H. and Tyson, C.A. Acetylation/deacetylation(AC/DC) of aryl amines in human and rat liver. *Toxicology* 7, 220.
7. Haley, T.J.(1975) Benzidine revisited: a review of the literature and problem associated with the use of benzidine and its congeners. *Clin. Toxicol.* 8, 13-42.
8. Heindorff, K., Rieger, R., Schubert, I., Michaelis, A. and Aurich, O.(1987). Clastogenic adaptation of plant cells-reduction of the yield of clastogen-induced chromatid aberrations by various pretreatment procedure.

Mutation Res, 181, 157-171.

9. Ikushima, T.(1987). Chromosomal response to ionizing radiation reminiscent of an adaptive response in cultured Chinese hamster cells. Mutation Res, 180, 215-221.
10. Ikushima, T.(1989). Characterization of a cytogenetic repair induced by low-level ionizing radiation in cultured Chinese hamster cells. Mutation Res, 227, 241-246.
11. International Agency for Research on Cancer(1982): IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol 29, Some Industrial Chemicals and Dyestuffs, pp. 149-183/ IARC, Lyon, France.
12. 石館 基(1991). 變異原性. 遺傳毒性, 毒性試驗講座 12, 地人書館.
13. Kennelly, J.C., Beland, F.A., Kadlubar, F.F. and Martin, C.N. Binding of N-acetylbenzidine and N, N'-diacetylbenzidine to hepatic DNA of rat and hamster in vivo and in vitro. Carcinogenesis 5, 407-412, 1984.
14. Kim, Y.J., Han, J.H. and Chung, H.W.(1992). Adaptive response in CHO cells by bleomycin, mitomycin C and cadmium. Kor. J. Env. Hlth. Soc. 18, 117-124.
15. Laval, F. and Laval, J.(1984). Adaptive response in mammalian cells: Cross reactivity of different pretreatments on cytotoxicity as contrasted to mutagenicity. Proc. Natl. Acad. Sci.(USA) 81, 1062-1066.
16. National Institute for Occupational Safety and Health(1980). Special occupational hazard review for benzidine-based dyes. Publication 80-109. National Institute for Occupational Safety and Health, Rockville, Md.
17. Oliveri, G., Bodycote, J. and Wolff, S.(1984). Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine. Science 223, 594-597.
18. Samson, L. and Cairns, J.(1977). A new pathway for DNA repair in Escherichia coli.

- Nature (London), 267, 281-283.
19. Samson, L. and Schwartz, J.L.(1980). Evidence for an adaptive DNA repair pathway in CHO and human skin fibroblast cell lines. Nature (London) 287, 861-863.
 20. Tanaka,K., Mii, T., Marui, S., Matsubara, I. and Igaka, H.(1981). Mutagenicity of urinary metabolites of benzidine and benzidine-based azo dyes. Int. Arch. Occup. Environ. Health 49, 177-185.
 21. Tanigawa, T., Araki, S., Ishiza, S., Morita, T., Okazaki, H. and Minato, N.(1990). Natural killer cell activity in workers exposed to benzidine and naphthylamine. Br. J Ind. Med. 47, 338-341.
 22. Tsuchiya, K., Okubo, T., Ishizu S.(1975). An epidemiological study of occupational bladder tumors in the dye industry of Japan. Br. J. Ind. Med. 32, 203-209.
 23. Wang, Z.Q., Saigusa, S. and Sasaki, M.S.(1991). Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocyte primed with low doses of X-ray. Mutation Res. 246, 179-186.
 24. Wolff, S., Afzal, V., Wiencke, J.K., Oliveri, G. and Michealis, A.(1988). Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiation become refractory to high doses of radiation as well as chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA. Int. J. Radiat. Biol. 53, 39-48.
 25. Yarosh, D.B., Rice, M., Day III, R.S., Foote, R.S. and Mitra, S.(1984). O⁶-methylguanine DNA methyltransferase in human cells. Mutation Res. 131, 27-36.
 26. Zavan, M.R., Hoegg, U., Bingham, E.(1973). Benzidine exposure as a cause of bladder tumors. Arch. Environ. Health 27, 1-7.

2. Chromosomal Aberrations of Welding Fume Exposed Workers.

Seung Hee Maeng, Byung Soon Choi, Sang Hoon Byun and Il-Je Yu
Department of Toxicology, Industrial Health Research Institute,
Korea Industrial Safety Corporation,
34-4 Kusan dong, Buk gu, Inchon, 403-120, Korea

-Abstract-

Currently we studied the composition of welding fume and its clastogenic effects on Korean welders. Individual air samples from the welding fume exposed workers were monitored in two shipbuilding plants and one container manufacturing plant. Chromosome aberrations (CA) were studied in the peripheral blood lymphocytes of 99 fume exposed workers.

Total fume was weighed after processing sampled filter papers in microwave oven. Composition of metals was analyzed with an ICP (Inductive Coupling Plasma) analyzer, and other chemicals were evaluated by spectrophotometry.

The mean durations of exposure were 12.6, 10.7 and 7.1 years in 3 plants, respectively. The average fume concentration of plant B (5.89 mg/m^3) was the highest among them and its value was a little higher than the permissible exposure level (PEL, 5 mg/m^3). However, the fume levels of other two plants (1.86 mg/m^3 and 1.62 mg/m^3 , respectively) were below the PEL. ICP analysis showed that the mean levels of Fe, Cu, Mn, Pb, and Zn were not higher than the PEL. Cd, Ni and Cr were not detected. The concentrations of NO_2 and O_3 were also negligible.

CA analysis of 99 welders showed negative incidence of CA (less than 5%) and only one worker had inconclusive incidence of CA (from 5% to less than 10%). Most types of observed CA were chromatid breakages and exchanges. None of chromosomal typed

aberration was observed. CA of the welding fume exposed workers showed no increase in the frequencies of aberrant cells as compared with control groups. Smoking status and duration of exposure had no effects on the increase of CA frequencies.

용접흙 폭로근로자의 염색체이상연구

맹 승희, 유 일재, 최 병순, 변 상훈

한국산업안전공단 산업보건연구원 산업독성연구실
인천직할시 북구 구산동 34-4, 430-120

I. 서론

세계적으로 지난 수십년동안 야금술과 제작술에 있어 기술적인 발전이 진행됨에 따라 다양한 선박제조업을 비롯하여 운송업 및 건축업등의 산업분야에서 용접기술이 이용되어 왔다. 현재 대부분의 산업국가에 있어 용접에 관련한 근로자수는 전인력의 약 0.5%에서 2%에 이르고 있으며 이들 용접근로자들은 비교적 안정된 코호트를 이루고 있으며 직업적으로 폭로된 년수도 평균 17년에 이르고 있다(Stern, 1983). 사용된 용접기법, 용접물질, 작업의 형태, 개인적인 작업상 위치에 따라 범위가 매우 다양하기는 하지만 이들 용접근로자들은 8시간의 작업시간동안 약 2-10 mg/m³의 용접흙농도에 폭로되고 있다 (Stern, 1981; Ulfvarson, 1982).

용접흙내에 포함된 화학적 성분은 용접의 종류와 작업방식에 따라 다르겠으나 종합하여 보면 대체적으로 그 구성성분은 광산화적 가스인 산화질소(NO), 이산화질소(NO₂), 오존, 알루미늄, 소듐, 마그네슘, 불소, 실리콘, 칼륨, 티타늄, 망간, 크롬, 철, 니켈 및 흙에 따라서는 미량의 카드뮴, 아연, 비소, 몰리부덴과 납으로 되어 있으며, 용접흙에 폭로되는 근로자들은 이들 물질과 용접과정에서 발생하는 금속산화물, 그리고 전기장과 자기장 및 UV선 등에 노출됨이 알려져 있다 (Biggart & Rinchart, 1987; Koshi, 1979; Okuno, 1987; Stern, 1982; Stunchly & Lecuyer, 1989; Ulfvarson, 1981).

용접흙에 대한 건강장해 및 유해성에 대해서는 다양한 연구들이 진행되어오고 있는데 오존, 산화질소, 망간, 카드뮴 및 6가 크롬을 포함한 용접흙의 흡입에 의한 급성독성에 관하여는 다수 보고되고 정리되었으나 (Newhaus & Murray, 1981; Stern, 1981), 만성적 폭로에 대

한 평가는 관심도 적었으며 대상자들의 흡연과 같은 혼란변수등으로 인한 어려움으로 소수 이루어져 있을 뿐이다 (Oxhoj et al., 1979).

용접흡에 의한 유전적 영향평가는 크게 두 방향으로 이루어지고 있다. 첫째는 시험관내 혹은 실험적인 방법을 이용한 세포유전적 측면과 발암측면에서의 연구로 최근 주로 스테인레스 스틸 용접흡에 관한 동물실험 및 변이원성 실험이고, 두번째는 용접흡에 폭로된 근로자들에 대한 역학조사 및 세포유전적 모니터링에 관한 결과로 현재까지 근로자의 혈액과 뇨로써 염색체이상, 자매염색체교환과 미생물의 변이원성시험(Ames 시험)을 이용한 소수의 보고가 있었다(De Meo et al., 1984; IARC, 1990; Knudsen, et al., 1992; Koshi, et al., 1984).

용접에서 발생하는 유해물질은 용접의 종류 및 방식에 따라 다를수 있다. 용접의 방식은 일반적으로 수작업의 금속아크용접 (MMA, manual metal arc), 수작업으로 불활성가스를 이용하는 용접 (MIG, metal inert gas)으로 크게 나눌수 있으며, 사용하는 금속, 이온등의 물질에 따라 그 종류를 다시 분류할 수 있는데 스테인레스 스틸, 텅스텐, 연강, 주철등의 사용에 따라 구분할 수 있다. 이에 대한 예로써 MMA-SS(manual meta arc-stainless steel), MIG-SS(manual inert gas-stainless steel), MMA-MS(manual metal arc-mild steel), MIG-MS(manual inert gas-mild steel), MMA-CI(manual metal arc-casting iron)등으로 분류할 수 있다.

대체로 MMA-SS에서 발생하는 흡에 대한 연구가 많이 이루어져 있는데 MMA-SS의 흡은 동물실험에서 강한 독성을 갖고 박테리아와 동물세포에서 변이원성을 갖는 것으로 보고되어 있다. Etienne 들 (1986)은 CHO세포를 이용한 시험관내 시험에서 MMA-SS 흡이 자매염색체교환을 일으키나 흰쥐에 흡입시킨후 관찰한 임파구에서는 자매염색체교환과 염색체이상의 증가를 관찰하지 못했다고 보고하였다. 한편 용접흡 폭로근로자들에 대한 연구는 그 결과가 다양하였는데 이들 근로자들에서 염색체이상빈도의 증가 (Bigaliev, et al., 1977; Elias et al., 1989; Knudsen et al., 1992; Koshi et al., 1984; Sarto et al., 1982)와 자매염색체교환빈도의 증가 (Koshi, et al., 1984; Sarto et al., 1982; Stella et al., 1982)에 대한 보고가 있는 반면 이들 시험에서 어떤 증가도 관찰하지 못한 보고 (Elias et al., 1991; Husgafvel-Pursianinen, et al., 1982; Littorin et al., 1983)도 있었다.

게놈(genome)의 외인성 물질에의 폭로여부가 발암에의 위험성증가와 상관되어 있다하여 (ICPEMC, 1988) 염색체의 분석을 포함하는 세포유전학적 모니터링은 대상물질의 폭로여부를 탐지하는 수단으로 제공되어 왔다. 세포유전학적 모니터링에 사용되는 생물학적 지표는 초기 adduct의 형성, DNA의 수복, 염색체 혹은 유전자의 변화등을 채택하여 사용하고 있다. 이러한 지표들의 사용은 몇몇 국제위원회에 의해 타당화되어 왔으며 (Aitio, et al., 1988; Berlin et al., 1984; ICPEMC, 1988; Leonard et al., 1987). 이들중 가장 흔히 사용되는 것이 염색체변화에 대한 시험방법이다.

이와같이 용접흙에 대한 영향평가는 세계적으로 꾸준히 이루어져 오고 있으나 우리나라의 경우 용접을 하는 사업장을 대상으로 한 평가는 거의 이루어져 있지 않은 형편이다.

이에 본 연구에서는 우리나라에서 직업적으로 폭로될 수 있는 용접흙과 용접흙 폭로근로자들에 대한 유전적 영향평가를 시도하기 위하여 선박제조업 2개소와 컨테이너 제작공장 1개소의 용접흙 폭로근로자를 대상으로 우선 환경모니터링을 통해 용접흙내의 중금속 및 유해가스등의 성분을 분석하고 세포유전시험방법중 염색체이상시험을 통해 이들 근로자에 있어서 유전독성물질의 부담여부를 조사해 보고자 하였다. 더불어 대상의 용접흙이 변이원성을 갖는다면 변이원성과 관련된 물질들이 어떠한 것인지를 추정해 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 선박을 제조하는 사업장 2개소와 컨테이너 제작 사업장 1개소에서 용접작업을 함으로써 용접흠에 폭로되는 근로자로서 주기적으로 약을 복용하거나, 방사선조사를 하는 자 또는 바이러스감염자들을 제외한 111명을 대상으로 하였다. 대조군은 직업적으로 용접흠에 폭로된 적이 없는 사무직 근로자 20명을 선정하되 용접흠 폭로군에 대해 나이와 성별을 고려하였다. 시료의 채취는 1994년 7월중에 실시하였는데 환경모니터링을 위한 시료채취와 염색 체이상분석을 위한 혈액채취는 같은 대상군에 대해 같은 날짜에 실시하였다.

흡연습관, 약물복용, 방사선검사, 바이러스 감염여부 및 근무경력에 대한 정보는 설문지와 면접을 통하여 조사하였다.

2. 연구방법

가. 시료의 채취

용접사업장에 대한 환경모니터링을 위하여는 개인공기시료채취기(personal air sampler, MSA Flow-Lite™)를 사용하였는데 용접흠의 전체증량(total fume)과 중금속을 분석등을 위해서는 cellulose ester membrane filter에 약 1.5-2.0 L/min의 유량으로 용접흠을 채취하였다. 유해가스는 액체포집법의 방법으로 0.4-1.0 L/min의 유량으로 소형 임핀저를 사용하여 포집하였다.

용접흠 폭로근로자들에 대한 염색체이상시험을 위하여는 근로자들의 말초혈액임파구를 이용하였는데 이를 위하여는 대상근로자의 전완정맥의 말초혈액을 heparin을 넣은 vacutainer(Becton-Dickinson)에 채취한 다음 저온의 밀폐용기에 보관하여 당일내로 실험실로 운반하여 전혈배양을 시작하도록 하였다.

나. 시료의 분석

용접흙은 시료의 전후무게를 재어 측정하였으며 용접흙내의 중금속은 시료의 전처리시간을 비교적 짧게 하기 위하여 microwave oven (CEM MDS-81D)을 이용하여 전처리하고 유도결합 플라즈마 (ICP, Inductive Coupling Plasma, IRIS) 분석기를 이용하여 측정하였으며 이때 분석된 중금속은 Fe, Cu, Mn, Cd, Ni, Cr 및 Zn이었다. 또한 소형임핀저로 포집한 유해가스는 UV-spectrophotometer (Beckman, DU 650)를 이용하여 측정하였다.

다. 용접흙 폭로근로자에 대한 염색체이상분석

근로자들과 대조군에서 채혈한 혈액임파구는 Verma와 Babu (1992)의 방법에 따라 전혈배양하였다. L-glutamine과 10% fetal bovine serum (GIBCO), 2% phytohemagglutinin (PHA-M, GIBCO), penicillin (100 unit/ml), streptomycin (100 µg/ml)을 넣은 RPMI 1640 (GIBCO)에 배양하되 배양시간은 72시간으로 하여 5%의 농도로 CO₂가스가 공급되는 37℃ 배양기 (NUAIRE)에서 배양하였다. 세포수집 3시간전에 colcemid(0.1 µg/ml, GIBCO)를 첨가하였고, 수집한 혈액임파구는 0.075M의 KCl 저장용액에 30분간 처리하였다. 염색체표본은 신선하게 준비한 Carnoy 고정액 (methanol:acetic acid=3:1)에 3회 고정후 슬라이드 글라스에 점적하여 공기건조시킨 다음 Giemsa액에 염색하여 작성하였다. 염색체이상은 표본마다 100개의 중기세포(metaphase cell)를 광학현미경으로 관찰하여 분석하였다.

III. 결과

1. 대상근로자의 일반특성

본 연구의 대상이 된 선박제조 사업장 2개소 및 컨테이너 제작사업장 1개소 (A,B,C)에서 용접흡에 폭로되는 대상근로자의 수는 각각 15명, 49명, 47명으로 그 중 70% 이상이 흡연자였다 (Table 1). 이들의 평균연령은 사업장마다 각각 45.4세, 36.3세, 35.5세였으며 전체평균은 39.1세이었다. 용접흡에 대한 평균폭로기간은 A사업장의 근로자에서 12.6년으로 가장 길었고 B 및 C 사업장의 근로자들은 각각 10.7년, 7.1년이었다. 또한 본 연구의 대상이 된 세곳의 사업장은 CO₂ 가스를 사용하고 연강(mild steel)을 이용하는 수작업의 금속 아크 (manual metal arc, MMA-MS)용접을 실시하고 있는 곳이었다.

Table 1. Data pertinent to the individuals of 3 plants studied

Plant	N	No. of* smokers (%)	Age (years)	Duration of exposure (years)	Species of fumes
A	15	12(80)	45.4±5.1	12.6±3.5	mild steel
B	49	36(73)	36.3±4.6	10.7±3.5	mild steel
C	47	35(74)	35.5±5.2	7.1±3.2	mild steel

Values are presented as means ± SD

* Number of smokers includes daily smokers and persons having stopped smoking less than 1 year prior to sampling

2. 용접흡의 환경평가

본 연구의 대상사업장의 용접흡의 평균농도(total fume)는 A사업장이 18.6 mg/m³, B사업장이 5.89 mg/m³, C 사업장이 1.62 mg/m³로 B사업장이 가장 높았으며 허용치(PEL) 5 mg/m³보다 약간 높은 것으로 나타났다 (Table 2). 분석된 가스인 NO₂와 O₃의 평균농도는 각각 0.02

ppm, 0.01 ppm 및 0.01 ppm 수준으로 기준치보다 훨씬 밑도는 정도였으며, ICP를 이용한 용접흄내의 중금속은 Fe, Cu, Mn, Ni, Zn과 Cr이 분석되었으나 A사업장의 조립장부서의 일부 근로자에서 Fe와 Mn의 농도(Fe, 5.17 mg/m³, Mn, 2.28 mg/m³)가, C사업장의 용접부서 일부 근로자에서 Fe와 Cu의 농도(Fe, 5.61mg/m³, Cu, 0.12mg/m³)가 허용치보다 다소 높았을뿐 그 평균농도는 기준치보다 낮은 것이었다. 또한 Cd, Ni, Cr은 본 실험에서는 검출되지 않았다.

Table 2. Data of environmental monitoring for welding fume

Plant	Total fume (mg/m ³)	gases(ppm)		metal4s(mg/m ³)						
		NO ₂	O ₃	Fe	Cu	Mn	Cd	Ni	Cr	Zn
A	1.86	0.02	0.01	2.50	0.01	0.89	ND	ND	ND	0.68
B	5.89	0.01	0.01	0.65	0.01	0.11	ND	ND	ND	0.08
C	1.62	0.01	0.01	3.26	0.05	0.53	ND	ND	ND	0.53

Values are presented as geometric means.

ND, Not detected

3. 용접흄 폭로근로자의 염색체이상분석

본 연구에서 연구대상자가 된 근로자중 염색체이상표본작성이 가능하였던 99명에 대한 말초혈액임파구의 염색체이상빈도분석 결과는 Table 3과 같았다. 각 사업장별 염색체이상의 평균빈도는 각각 0.71%, 0.91%, 1.02%로 상호간에 유의한 차이가 없었고, 대조군 (0.95%)과 비교하였을때에도 평균빈도에 있어 유의한 차이가 없었다. 관찰된 염색체이상의 형태는 염색체형의 절단도 극히 소수 관찰되었으나 염색분체형의 절단 및 교환이 대부분이었다.

Table 3. The frequency (%) chromosome aberrations in peripheral lymphocytes of welding fume exposed workers and control group

plant	N	pol	gap	ctb	cte	csb	cse	total	
								-g	+g
A	14	0	0.07	0.29	0.36	0	0	0.64	0.71
B	44	0.05	0.21	0.43	0.30	0.02	0	0.68	0.91
C	41	0	0.32	0.44	0.22	0	0	0.68	1.02
Control	20	0.1	0.35	0.55	0.10	0	0	0.65	0.95

pol: polyploid, ctb, chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, g: gap

흡연에 의한 염색체이상빈도의 차이는 흡연여부를 현재의 흡연자와 흡연을 삼가한지 1년이하인자를 흡연자로 하여 구분하여 요약하면 Table 4와 같다. 전체적으로 비흡연자와 비교하여 흡연자에서 염색체이상빈도수가 약간 높게 보이나 통계적으로 유의하지 않았으며, 대조군에 비해서도 전혀 차이가 없었다.

Table 4. The frequency (%) of chromosome aberrations in smoking and non-smoking welders and control group

	All		Smokers		Non-smokers	
	N	CA	N	CA	N	CA
Control	20	0.68	10	0.70	10	0.66
Total welders	99	0.71	75	0.74	24	0.63
plant A	14	0.64	11	0.82	3	0.00
plant B	44	0.75	32	0.78	12	0.67
plant C	41	0.68	32	0.66	9	0.78

N, Number of individuals

CA: % of chromosomal aberrations, gaps excluded

근무기간에 의한 염색체이상빈도의 차이는 근무년수 10년을 기준으로 하여 Table 5와 같았다. 근로자의 약 46%가 10년이상 용접함에 폭로된 근로자였는데 근무년수 10년이상인 근로자의 염색체이상평균빈도가 10년이하의 근로자의 빈도보다 조금 높은듯 했으나 통계적으로 유의하지 않았다.

Table 5. The effect of exposure duration on the chromosome aberration frequency

Duration (years)		Plant A	Plant B	Plant C	All
10≥	N	11	27	8	46
	CA(%)	0.73	0.78	0.63	0.73
10<	N	3	17	33	53
	CA(%)	0.33	0.71	0.70	0.69

N: number of welders, CA: chromosome aberration frequency

IV. 고찰

선박제조업등의 산업분야에서 자주 행하는 용접에 관련하여 발산되는 용접흠뿔에 대한 독성연구는 다양하게 이루어져 왔다. 특히 용접근로자에게서 폐암사망율이 높다는 역학조사(Peto, 1986; Sjogren, 1980, 1985; Stern, 1983)와 함께 제한적이긴 하지만 동물실험에 있어 용접흠뿔은 발암성을 갖는다는 보고가 있어 최근 IARC (International Agency for Research on Cancer, 1990)는 용접시 발생하는 흠과 가스를 group 2B의 발암가능성의 물질로 분류하였다. 그러나 이 분류는 용접의 종류를 구분하지 않은 것이었다.

용접흠뿔의 유전독성에 관한 연구 또한 다양하게 이루어져 왔다. 용접흠뿔을 시험관내 시험방법으로 평가한 것에 대해서 살펴보면 박테리아에서 변이원성을 갖는다는 보고 (Hedenstedt et al., 1977; Maxild et al., 1978)를 비롯하여 배양세포에서 자매염색체교환 및 염색체이상 관찰되었으며 (Baker et al., 1986; Koshi, 1979; Reuzel et al., 1986), Chinese hamster 세포에서 HGPRT 점돌연변이 또한 관찰된 바 있다 (Reuzel, et al., 1986). 그러나 이러한 양성의 결과를 보인 결과들은 모두가 스텐레스 스틸을 사용하는 용접에서 발생하는 흠에 관한 것이었다.

또한 용접근로자들을 대상으로 한 유전독성평가도 다각적으로 이루어져 왔다. Knudsen 들 (1992)은 스텐레스 스틸 용접흠에 직업적으로 폭로되는 근로자를 대상으로 환경폭로를 측정하고 근로자들을 세포유전학적으로 모니터링한 연구에서 스텐레스 스틸 용접에 폭로되었을 때 염색체이상빈도가 증가하고, 자매염색체교환빈도와 비주기적 DNA합성(UDS)은 감소함을 보였다. 한편 Littorin 들 (1983)은 용접시 발생하는 강한 흠에의 장기적인 폭로가 혈액임파구에서 세포유전적인 영향을 주지 못했음을 보고 한 바 있다. 이들은 이 결과에 대해 용접흠이 인간에서 변이원성이 없다고 할 수 있다는 가능성과 함께 흠물질이 폐에서 오래 머물러 변이원물질이 충분히 확산되지 않았을 가능성과, 변이원 물질이 대사활성화 되지 않았을 가능성 및 적혈구에 의해 크롬과 같은 물질이 제거되었을 가능성을 제시하였다. 이와같이 결과가 서로 상이한 보고들은 대부분 용접흠의 종류상의 차이 즉 용접방식과 용접시 사용하는 물질의 차이에 의한다고 볼 수 있다.

Stern 들 (1988)은 용접흡과 그 구성성분에 대한 시험관내 독성시험에서 흡의 종류에 따라 독성을 구분하여 설명하였다. 이들의 보고에 의하면 MMA/SS흡은 일반독성과 함께 유전독성을 갖고, MIG/SS흡은 충분히 농도가 높을 경우에 유전독성을 갖는다고 하였다. 또한 MIG/MS 및 MMA/MS흡은 아주 높은 농도에서 거식작용에 대한 시험방법(예: BHK, SHE CHO)에서 독성을 보이고 흡내에 가용성의 Mn이 존재할때 E. coli를 이용한 시험등에서 유전독성을 나타낸다고 보고하였다.

또한 De Raat와 Baker (1988)은 용접흡의 종류가 다양한 용접과정에서 발생하는 용접흡에 대한 연구보고에서 MMA-SS와 MIG-SS의 용접흡은 유전독성을 가지며, 이때 MMA-SS의 흡이 MIG-SS의 흡보다 훨씬 강한 유전독성을 갖는다고 하였다. 더 나아가 MMA-CI와 MMA-MS 또한 유전독성물질을 함유하고 있고 유전독성의 정도는 MMA-MS, MIG-SS 및 MMA-CI가 같았다고 하였다. 결론적으로 자매염색체교환을 일으키는 것은 MMA/SS용접흡이 가장 강하였으며, MIG/MS용접흡은 자매염색체교환을 유발시키지 않는다고 하였다.

Stern 들 (1982)은 그들의 보고에서 용접흡에 의한 박테리아에서의 변이원성은 흡내의 가용성의 크롬의 존재때문으로 설명하였으며 De Raat와 Baker들 (1988)도 MMA-SS의 흡이 자매염색체교환의 강한 변이원성을 나타내는 것도 가용성의 크롬에 의한 것임을 설명하였다. 이들은 또한 MMA-CI의 유전적 영향은 흡내의 니켈에 의한다고 하였으며 이는 비가용성의 니켈화합물이 유전독성을 띠고 거식작용에서의 세포변형의 원인이 된다는 기존의 결과(Venitt, 1986; Sen & Costa, 1986)와 부합되는 것이었다. Reutzi 들(1986)도 역시 스텐레스 스틸 용접흡에서 유발되는 변이원성과 암원성은 주로 Cr과 Ni에 의한다고 하였다.

본 연구결과에 의하면 연구대상이 되었던 우리나라 용접흡 폭로근로자들에 있어서 용접흡에 의한 유전적 영향의 부담은 관찰하지 못하였다. 본 연구의 대상용접흡은 CO₂가스를 이용한 연강용접(MIG-MS)이었다. 이 연강용접에서 발생하는 흡을 ICP분석기로 분석한 결과 Cr이나 Ni등의 중금속은 관찰되지 않았다. 또 Mn은 미량으로 검출되어졌다. 이 결과는 De Raat와 Baker(1988)의 보고에서와 같이 연강용접흡(MIG-MS)에의 폭로는 세포유전학적인 영향이 없다고 할 수 있겠고 용접흡의 변이원성은 역시 포함된 크롬이나 니켈의 성분에 의한다는 기존의 결과를 확고히 해 주고 있다.

근로자에 대해 세포유전학적 시험방법을 이용하여 모니터링하는 것은 폭로되는 외인성물질이 발암에의 위험성을 가질때 주요한 측정도구가 될 수 있다. 이 모니터링 방법이 유전독성물질 및 발암물질까지 탐지해 낼 수 있을때 흔히 유전적 모니터링이라고도 한다(Knudsen과 Sorsa, 1993). 이 유전적 모니터링방법에 쓰이는 유전적 지표는 분자생물학의 발달과 함께 세포, 염색체수준에서 DNA 및 유전자 더 나아가 더 작은 수준에서 접근이 가능하여 발암과정에서의 생물학적 반응을 조기에 탐지해 낼 수 있게 함으로써 생물학적 모니터링지표로서 민감도를 더욱 높여 주고 있다.

본 연구에서 사용한 염색체이상시험법은 전통적인 세포유전학적 지표의 하나라고 할 수 있어 국제위원회에 의해서도 타당화되어 왔고 사람에게 대한 모니터링시 흔히 사용되어 왔다. 그러나 최근 DNA손상시 세포내에 일련의 DNA수복과정을 통해 일단 일정농도에 폭로되어도 형성된 DNA수복기구에 의해 적응반응이 일어난다는 보고들 (Anderson, et al., 1980; Ikushima, 1989)이 있으며 특히 보고된 적응반응은 염색체이상에서 주로 설명되어지고 있다. 따라서 근로자를 대상으로 염색체이상시험이나 자매염색체교환시험의 결과해석시 적응반응등으로 과소평가될 수 있는 부분들을 고려하여야 한다. 따라서 본 연구의 대상이 되었던 용접함에 대해서도 단순히 음성의 결과로 결론지을 것이 아니라 이들 시험이외에 adduct형성과 UDS등과 같은 DNA의 초기변화를 관찰할 수 있는 여타의 세포유전시험방법으로 다시 재검토되어야 할 것으로 사료된다. 아울러 추가적으로 본 연구의 대상사업장 이외에서 여타의 용접방식과 물질을 사용하여 용접을 행하고 있는 근로자에 대한 평가가 계속되어져야 할 것이다.

VI. 결론 및 요약

본 연구에서는 우리나라에서 직업적으로 용접함에 폭로된 근로자들에 대해 평가하기 위하여 선박 제조 사업장 2개소와 컨테이너 제작 사업장 1개소의 용접근로자 111명을 대상으로 하여 우선 환경모니터링을 통해 용접시 발생하는 중금속 및 유해가스등을 분석하고 염색체이상시험을 통해 이들 근로자들에 대한 세포유전학적 모니터링을 실시한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 본 연구대상이 된 우리나라 용접근로자 111명이 폭로된 용접함은 CO₂ 가스를 사용하는 연강의 아크용접(MIG-MS, Manual Inert Gas- Mild Steel)시 발생하는 용접함이었다.
2. 연구대상자들의 평균연령은 59세이었고, 평균폭로기간은 사업장 세곳에서 각각 12.6년, 10.7년, 7.1년이었다.
3. 용접함(Total fume)의 평균농도는 B 사업장이 5.89 mg/m³으로 가장 높았는데 이는 허용치(PEL)보다 약간 높았다. A 사업장 및 C 사업장의 용접함의 농도는 각각 1.86 mg/m³ 및 1.62 mg/m³이었다.
4. 유도결합플라즈마(ICP, Inductive Coupling Plasma, ICP)분석기로 분석된 용접함의 중금속은 Fe, Cu, Mn, Pb, Cd, Ni 및 Cr으로 A사업장의 극히 일부 근로자에게서 Fe와 Mn의 농도가 기준치보다 높았으나 그외의 모든 근로자에서는 기준치이하이었으며 Cd, Ni 및 Cr은 검출되지 않았다. 또한 UV-spectrophotometer로 측정한 NO₂ 및 O₃의 농도는 아주 낮았다.
5. 대상근로자 111명중 염색체이상분석이 가능하였던 99명의 말초혈액 임파구의 염색체이상시험결과, 대조군과 비교하였을때 대상용접함에서의 폭로에 따른 염색체이상빈도에 있

어서의 차이를 나타내지 못하였다. 흡연여부 및 근무년수(폭로기간) 또한 염색체이상 빈도에 영향을 주지 못했다. 관찰된 염색체이상은 그 형태에 있어 거의 염색분체형의 절단 및 교환이었다.

6. 본 연구결과, 대상이 되었던 우리나라 용접흡 폭로 근로자들에 있어서 용접흡에 의한 세포 유전적 영향은 관찰되지 않았다.

VI. 참고문헌

1. Anderson, D., Fisher, P., Jenkinson, P.C. and Philips, B.J.(1980). Studies of the adaptive repair response in human lymphocytes and V79 cells after treatment with MNNG and HNU. Human Toxicol. 7, 337-341.
2. Aitio, A., Becking, G., Berlin, A., Bernard, A., Foa, V., Kello, D., Krug, E., Leonard, A. and Nordberg, G.(1988). Indicators for assessing exposure and biological effects of genotoxic chemicals. Consensus and technical reports, Commission of the European Communities, International Program on Chemical Safety(UNEP-ILO-WHO), World Health Organization Regional Office for Europe, Institute of Occupational Health, Finland, pp. 1-25.
3. Baker, R.S.U., Arlauskas, A., Tandon, R.K., Crisp, P.T. and Ellis, J.(1986). Toxic and genotoxic actions of electric-arc welding fumes on cultured mammalian cells. J. appl. Toxicol. 6, 357-362.
4. Berlin, A., Draper, M., Hemminki, K. and Vainio, H.(1984). Monitoring human exposure to carcinogenic and mutagenic agents. IARC Sci. Publ. 59, International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp.1-457.
5. Bigaliev, A.B., Turebaev, M.N., Bigalieva, R.K. and Elemesova, M.Sh.(1977). Cytogenetic examination of workers engaged in chrome production, Genetika 13, 545-547.
6. Biggart, N.W. and Rinehart, R.R.(1987). Comparison between aqueous-phase and gas-phase exposure protocols for determining the mutagenic potential of nitrogen dioxide and the gas fraction of welding fumes. Mutation Res., 188, 175-184.
7. De Meo, M.P., Dumenil, G., Botta, A.H., Laget, M., Zabaloueff, V. and Mathias, A.(1987). Urine mutagenicity of steel workers exposed to coke oven

- emissions. *Carcinogenesis* 8, 363-367.
8. De Raat, W.K. and Bakker, G.L.(1988). Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells by fume particles from various welding processes. *Ann. Occup. Hyg.* 32, 191-202.
 9. Etienne, C.F., Hooftman, R.N., de Raat, W.K., Reuzel, P.G.J., van der Sluis, H.H. and Wilmer, J.W.G.M.(1986). The assessment of the carcinogenicity of chromium and nickel containing welding fumes. Phase I: In vitro and in vivo genotoxicity and cytotoxicity studies, Final report(ECSCTN0 Contract 7248/22/020) Commission of the European Communities, Luxembourg, pp. 1-30.
 10. Hedenstedt, A., Jenssen, D., Lidesten, B.M., Ramel, C., Rammug, U. and Stern, R.M.(1977). Mutagenicity of fume particles from stainless steel welding. *Scand. J. Work Environ. Hlth.* 3, 203-211.
 11. Husgafvel-Pursianinen, K., Kalliomaki, P.L. and Sorsa, M.A.(1982). Chromosome study among stainless steel welder. *J. Occup. Med.* 24, 762-766.
 12. IARC(1990). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Chromium, nickel and welding, Vol. 49, International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp. 447-525.
 13. ICPEMC(1988). Publication No. 14, Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutation Res.* 204, 379-406.
 14. Ikushima, T.(1989). Characterization of a cytogenetic repair induced by low-level ionizing radiation in cultured Chinese hamster cells. *Mutation Res.* 227, 241-246.
 15. Knudsen, L.E., Boisen, T., Christensen, J.M., Jernes, J.E., Jensen, G.E., Jensen, J.C., Lundergrenn, K. Lundsteen, C., Pedersen, B., Wassermann, K., Wilhardt, P., Wulf, H.C. and Zeitz, U.(1992). Biomonitoring of genotoxic exposure among stainless steel welders. *Mutation Res.* 279, 129-143.

16. Knudsen, L.E. and Sorsa, M.(1993). Human biological monitoring of occupational genotoxic exposures. *Pharmacol. Toxicol.* 72, Suppl. 1, 86-92.
17. Koshi, K.(1979). Effects of fume particles from stainless steel welding on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured Chinese hamster cells. *Ind. Health* 17, 39-49.
18. Koshi, K., Yagami, T. and Nakanishi, Y.(1984). Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes from stainless steel welders. *Ind. Health* 22, 305-318.
19. Leonard, A., Bernard, A., Lauwerys, R., Duvverger-van Bogaert, M. and Lambotte-Vandepaer, M.(1987). Biological methods for monitoring exposure to mutagenic or carcinogenic chemicals, Commission of the European Communities, Luxembourg, pp. 1-144.
20. Littorin, M., Hogstedt, B., Stromback, B., Karlsson, A., Welinder, H., Mitelman, F. and Skerfving, S.(1983). No cytogenetic effects in lymphocytes of stainless steel welders. *Scand. J. Work Environ. Health* 9, 259-264.
21. Maxild, J., Andersen, M. and Kiel, P.(1978). Mutagenicity of fume particles from metal arc welding on stainless steel in the Salmonella/microsome test. *Mutation Res.* 56, 235-243.
22. Neuwhaus, M.L. and Murray, R.(1981). The Present Position concerning the biological Effects of Exposure to Fume in Welders. Welding Institute Report Publication: Abomgtpm. Cambrige CB16AL, U.K.
23. Okuno, T.(1987). Measurement of ultraviolet radiation from welding arcs. *Ind. Health* 25, 147-156.
24. Oxhøj, H., Bake, B., Wedel, H. and Wilhemsen, L.(1979). Effects of electric arc welding on ventilatory lung function. *Arch. Environ. Health* 4, 211-217.
25. Peto, J.(1986). Cancer morbidity and mortality studies of welders. In: *Health*

Hazards and Biological Effects of Welding Fumes and Gases. Excerpta Medica
International Congress Series 676, 423-425.

- 26 Reuzel, P.G.J., Beems, R.B., de Raat, W.K. and Lohman, P.H.M.(1986).
Carcinogenicity and in vitro genotoxicity of the particulate fraction of
two stainless steel welding fumes. In: Health Hazards and Biological
Effects of Welding Fumes and Gases. Excerpta Medica International Congress
Series 676, 329-332.
- 27 Sarto, F., Cominato, I., Bianchi, V. and Levis, A.G.(1982). Increased incidence of
chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in workers exposed
to chromic acid(CrO_3) in electroplating factories, Carcinogenesis 3,
1011-1016.
- 28 Sen, P. and Costa, M.(1986). Incidence and localization of sister chromatid
exchanges induced by nickel and chromium compounds. Carcinogenesis 7,
1527-1533.
- 29 Sjogren, B.(1985). A cohort study of welders exposed to stainless steel welding
fumes. In: Respiratory disorders and biological monitoring among
electric-arc welders and brazers. Thesis of B. Sjogren. Arbete och Halsa,
Vetenskaplig Skriftserie 1985:9.
- 30 Sjogren, B.(1980). A retrospective cohort study of mortality among stainless
steel welders. Scand. J. Work Environ. Health. 6, 197-200.
- 31 Stella, M., Montadi, A., Rossi, R., Rossi, G. and Levis, A.G.(1982). Clastogenic
effects of chromium on human lymphocytes in vitro and in vivo. Mutation
Res. 101, 151-164.
- 32 Stern, R.M.(1981). Occupational Health Risk Assessment. A Preparatory Study of
the Exposure of Welders to Toxic Substances and the Resulting Health
Effects. Report No. 81.31, Danish Welding Institute, Park Alle 345, 2600

Glostrup.

- 33 Stern, R.M.(1981). Process dependent risk of delayed health effects for welders. Environ. Health Perspect 41, 235-253.
- 34 Stern, R.M.(1982). Chromium compounds: production and occupational exposure, in: S. Langard(Ed), Biological and Environmental Aspects of Chromium, Elsevier, Amsterdam, pp. 5-47.
- 35 Stern, R.M., Thomsen, E., Anderson, M., Kiel, P. and Larsen, H.(1982). Origin of mutagenicity of welding fumes in *S. typhimurium*. J. appl. Toxicol. 2, 122-138.
- 36 Stern, R.M.(1983). Assessment of risk of lung cancer. Archiv. Environ. Health 38, 148-155.
- 37 Stern, R.M., Hansen, K., Madsen, A.F. and Olsen, K.M.(1988). In Vitro Toxicity of Welding Fumes and Their Constituents. Environ Res. 46, 168-180.
- 38 Stunchly, M.A. and Lecuyer, D.W.(1989). Exposure to electro-magnetic fields in arc welding. Health Phys. 56, 297-302.
- 39 Ulfvarson, U.(1981). Survey of air contaminants from welding. Scand. J. Work Environ. Health 7, 1-28.
- 40 Ulfvarson, U.(1982). Survey of air contaminants from welding. Scand. J. Work Environ. Health 7, Suppl. 2, 1-28.
- 41 Venitt, S.(1986). Genetic toxicology of chromium and nickel compounds. In: Health Hazards and Biological Effects of Welding Fumes and Gases. Excerpta Medica International Congress Series 677, 249-266.
- 42 Verma, R.S. and Babu, A.(1992). Human Chromosome: Manual of basic techniques, Pergamon Press.

염색체이상시험을 이용한 적응반응연구
(94-4-12)

발 행 일 : 1994. 12
발 행 인 : 문 영 한
발 행 처 : 한국산업안전공단 산업보건연구원
 인천직할시 북구 구산동 34 - 3
 전 화 : (032) 518 - 0861
인 쇄 인 : 김 재 극
인 쇄 처 : 문 원 사

〈비 매 품〉