

연구자료
독성96-3-15

2-Bromopropane

독성시험 결과 보고서

Reproductive Toxicity of 2-Bromopropane

1996



한국산업안전공단
산업보건연구원

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 보고서를 1996년도 실시하였던 “2-Bromopropane 독성시험”에
대한 결과보고서로 제출합니다.

1996년 12월 31일

제출자: 산업보건연구원장 문 영한

연구책임자: 책임연구원 유 일 재

공동연구자: 책임연구원 김 현 영

선임연구원 맹 승 희

기술직 3급 임 철 홍

기술직 4급 이 준 연

기술직 4급 정 용 현

목 차

Abstract	1
I. 서론	2
II. 재료 및 방법	3
1. 시험물질	3
2. 실험동물	3
3. 임상병리	4
4. 해부병리와 조직병리	4
5. 골수 도말표본 작성	4
6. 통계처리	4
III. 결과	5
1. 동물관찰	5
2. 사료소비량	5
3. 체중변화	8
4. 장기중량	11
5. 혈액생화학과 혈액학적 검사	16
6. 골수에서의 다염성적혈구의 비율	19
7. 해부병리	25
8. 조직병리	21
IV. 고찰	25
V. 결론 및 요약	29
VI. 참고문헌	30

Reproductive toxicity of 2-Bromopropane

Il Je Yu, Yong Hyun Chung, Cheol Hong Lim, Seung Hee Maeng, Jun Yeon Lee, Hyeon Yeong Kim, Soo Jin Lee, Chung Hyun Kim, Tae Gyun Kim, Chang Hyeong Lim, Jung Sun Park, and Young Hahn Moon

Department of Toxicology, Industrial Health Research Institute, Korea Industrial Safety Corporation, 34-6 Kusan-dong, Bupyeong-gu, Incheon, 403-120, Korea

-Abstract-

To clarify the mass intoxication of workers at an electronic company at Yangsan in Korea, the possible causative chemical for reproductive toxicity, 2-bromopropane (2BP), has been investigated. 2BP was tested through a 28 days of repeated dose experiment in male and female Sprague Dawley rats. 10 rats were assigned to each treatment group. Vehicle control olive oil, 125 mg, 250 mg, and 500 mg/kg of 2BP were injected into intraperitoneum for 28 days. Male and female rats showed significant decreases in body weight depending on the doses of 2BP. In male rats, right and left testes showed typical weight losses depending on the dose of 2BP. The number of RBC, hemoglobin, and hematocrit showed some degree of decline in the high dose in both male and female rats. Red cell distribution width increased significantly in male rats in the high dose ($p < 0.01$). The mean platelet volume decreased in male rats and significantly in female rats in the high dose ($p < 0.05$). The number of white blood cell significantly ($p < 0.05$) decreased in the high dose for male rats. The number of lymphocytes and monocytes had a tendency to decrease depending on the dose of 2BP. Histopathology of the testes treated with the middle and the high dose of 2BP showed a typical patch appearance with severely depleted atrophic tubules, exhibiting germ cell necrosis of spermatogonia and spermatocytes in the seminiferous tubules, and thickening of the basement membrane of seminiferous tubules. Leydig cell hyperplasia or hypertrophy in the interstitial tissue was also noticeable. The epididymis showed some degree of atrophy with vacuolization of the epididymal epithelium. The testes are the main target organs tested for 2BP toxicity. 2BP also affected the hematopoietic system, thus inducing leukopenia, anisocytosis, and normocytic anemia. In addition, 2-bromopropane inhibited the hematopoiesis in bone marrow. Besides the reproductive organs and the hematopoietic system, no significant toxicity was found in other organs.

2-Bromopropane의 생식독성연구

유 일재, 정 용현, 임 철홍, 맹 승희, 이 준연, 김 현영, 이 수진, 김 정현, 김 태균, 임 창형, 박 정선, 문 영한

한국산업안전공단 산업보건연구원 산업독성연구실
인천시 부평구 구산동 34-6

I. 서론

최근 경남 양산에 소재하고 있는 한 전자 부품회사에서 발생한 유기용제의 집단중독사태의 역학조사 결과는 2-Bromopropane (2-BP)이 여성근로자의 악성빈혈을 동반한 무월경증, 남성근로자의 정자감소증, 무정자증 등의 생식독성의 원인물질일 것이라는 가능성을 제시하였다 (Park et al., 1997; Kim YH et al., 1996). 이들 근로자는 tact 스위치 공정에서 종래 사용되어왔던 freon을 대체하기 위해 일본의 천주금속에서 solvent 5200이라는 물질을 수입하여 침지액으로 사용하였는데, 이 물질은 99.01% 가 2-bromopropane으로 조성되었다. 역학보고서에서는 tact 스위치 제조공정 근로자 33명중 25명의 여성근로자중 17명이 난소기능저하를 보였으며 8명중 6명의 남성근로자가 장자생성기능저하를 보였고, 또 이중 7명 (여자 6명, 남자 1명)은 골수기능저하 소견을 함께 보여 남자근로자는 75%, 여자근로자는 63%의 발병률을 보였다. 이들 근로자들의 폭로기간은 짧게는 4개월 에서 길게는 16개월의 폭로력을 보이고 있었으며, 평균 폭로기간은 10개월 정도라고 보고하고 있다. 미국에서는 2-bromopropane을 교통부의 분류기준 Hazard 3으로 인화성이 있는 물질로 분류하고 있으며, 미국의 1983년의 National Occupational Edxposure Survey (NOES)에 따르면 17개의 2-BP 관련 시설에서 1582명의 근로자가 종사하고 있다고 추정하고 있다 (NIOSH RTECS, 1995). 일본의 경우에는 기존화학물질로 분류하고 있으며, 소방법에 의한 제2조위험물 제4류 제1석유류비수용성 액체, 노동안전위생법에서는 시행령 별표1 위험물로서 인화성물질로 분류하고 있으며 항공법, 항공법등에서도 인화성물질로 분류하고 있다 (일본화학공업일보사, 1992). 1995년 연간 100 t이 생산으로 추정하고 있으나 1995년에는 1000 t 정도가 생산되고 있다고 한다 (화학공업일보사, 1992). 일본에서는 아스팔트의 성분분석을 위한 용매제로 2-bromopropane을 trichloroethylene (TCE)의 대체물로 사용중에 있다 (일본도로협회, 1988).

2-Bromopropane의 생식독성은 지금까지 전혀 알려지지 않았고, 생식독성을 제외한 다른 독성도 거의 알려지지 않은 상태이다. 2-bromopropane의 물질안전보건정보지 (MSDS)에서는 이 물질을 다소 급성독성이 약한 물질로서 복강투여시 4837 mg/kg의 LD50 과 36 g/m³ (약 7200 ppm)의 LC50을 가지고 있으며(NIOSH RTECS, 1995), 2-bromopropane의 변이원성시험 결과는 미생물을 이용한 복귀돌연변이 시험 (에임즈 시험)에서는 양성의 결과를 보였지만 (맹승희 & 유일재, 1995; 한국화학연구소 안정성센터, 1995), 포유류의 배양세포를 이용한 염색체이상시험과 실험동물을 이용한 소핵시험은 음성의 결과를 보여 포유류에서는 변이원성이 음성이라고 보고되었다 (Maeng & Yu, 1997; 한국화학연구소안정성연구센터, 1995). 그리고 우리연구원에서 수행한 ICR mouse를 이용한 급성흡입독성시험 결과 종래에 알려진 LC50 7200

ppm보다 훨씬 높은 31,171 ppm의 LC 50라는 결과를 얻었다 (Kim HY et al., 1996). 국내의 연구소에서 2-bromopropane의 급성경구독성시험을 시행하였지만 경구독성시험결과 체중증가 억제와 함께 활동력저하 (decreased locomotor activity), 호흡수 감소 (decreased respiratory rate), 보행실조 (ataxic gait) 및 졸음 (somnia) 등의 증세를 보였지만 각 생식기나 다른 장기에 대한 급성독성이 거의 없는 것으로 보고되었다. (한국화학연구소 안전성연구센터, 1995; 일본 Hita연구소, 1995). 본 연구원에서도 14일 반복투여독성시험 (복강)을 시행하여 체중, 장기중량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사와 생식기에 대한 조직병리학적 검사를 행하였지만 뚜렷한 생식기나 다른 장기에 대한 병리학적 소견을 발견하지 못했고, 다만 골수에서의 적혈구 생성억제에 대한 결과만 얻을 수 있었다.

본 연구에서는 생식독성 시험을 위해서는 최단기의 폭로로 생식독성을 결과를 도출하기 위해 28일 반복투여시험을 시행하여 2-bromopropane의 생식독성과 다른 독성의 유무를 판단하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

2-bromopropane은 동경화학산업주식회사에서 구입하였다. 2-BP의 순도는 GC-mass를 이용하여 확인하였는데 순도가 99% 였다. 가스크로마토크로피로 검사한 결과 저장보관에 의한 분해물은 발견되지 않았다. 그리고 2BP는 올리브기름에 섞어 랫트에 주사하였다.

2. 실험동물

10주령의 특이병원균(SPF; specific pathogen free)이 없는 환경에서 사육된 암 수 Sparague Dawley 랫트를 대한실험동물센터에서 구입하였다. 실험동물은 실험전에 2주간의 순화기간을 거쳐 사육환경에 적응하도록 하였다. 동물사육실의 온도는 20-26° C 정도였고 상대습도는 40-60% 였다. 동물은 퓨리나 설치류 음식을 구입하여 증류수와 같이 부족함이 없이 공급하였다. 랫트는 폴리카보네이트로 만들어진 케이지당 3-4마리 정도를 사육하였다. 실험개시전 체중을 측정하여 시험군을 나누고성별에 따라 10 마리씩 4군으로 나누었다. 실험동물처리 첫날의 동물의 체중은 수컷은 평균 300g 이었고, 암컷은 평균 202g 이었다. 2-BP는 올리브 기름에 녹여 1일 1회 복강투여로 일주일에 6번 투여하여 4주동안 투여하였다. 시험디자인은 아래의 표와 같다.

Group	Number of animals	Treatment
Control	10 male, 10 female	olive oil
Low	10 male, 10 female	125 mg 2BP/kg in olive oil
Middle	10 male, 10 female	250 mg 2BP/kg in olive oil
High	10 male, 10 female	500 mg 2BP/kg in olive oil

매일 시험물질투여에 의한 실험동물의 피부질환, 호흡기질환, 생식기질환등의 발생의 유무와 행동의 변화를 조사하였다. 사료의 소비량은 3일마다 측정하였고, 체중은 구입시, 군 분류시, 그리고 시험물질 투여후 1주일에 2번 측정하였고 해부전에 측정하였다.

3. 임상병리

해부시 실험동물은 16주령에 도달하였고 해부 하루전에 실험동물을 단식하게 하였다. 실험동물들은 에테르로 마취하여 복대동맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액으로 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), glucose, urea nitrogen, 총단백, 콜레스테롤, 크레아티닌, 총빌리루빈 등을 혈액생화학 분석기로 측정하였고, 적혈구, 헤모글로빈 농도, 헤마토크리트, 평균적혈구용적, 혈소판수, 임파구수, 단핵구수, 과립구수등을 자동혈구계수기로 측정하였다.

4. 해부병리와 조직병리

혈액채취후 실험동물은 희생되어 부신, 난소, 정소, 심장, 폐, 신장, 비장, 간, 뇌등의 장기를 떼내어 장기무게를 측정한 후, 10% 포르말린을 함유한 인산완충생리식염수에 고정하였고, 중요한 체중변화를 보여주는 장기들은 파라핀에 포매하고, 조직박절기로 박절하여 헤마톡실린과 이오신으로 염색하여 현미경으로 병리조직변화를 관찰하였고, 현미경에 장착된 사진기로 사진을 찍어 기록하였다.

5. 골수 도말표본 작성

해부시 대퇴골을 절취한 후, fetal bovine serum (FBS, Gibco)을 사용하여 대퇴골에서 골수세포를 추출하여 15 ml 원심분리관에 보은후 1000 rpm에서 5분간 원심분리 시킨후 상등액을 버리고 소량의 FBS로 세포를 현탁시켰다. 세포현탁액을 도말하여 실온에서 건조시킨 후 methyl alcohol로 5분간 고정시켰다. 고정된 표본은 Giemsa 용액으로 염색하여 광학현미경으로 400배 이상에서 표본을 관찰하였다. 전체적혈구 (다염성 적혈구 (PCE) + 정염성적혈구 (NCE)) 500개를 관찰하여 그중 다염성 적혈구의 비율을 아래와 같이 계산하였다.

Percent of PCE= $100 \times (PCE / (PCE + NCE))$

PCE: polychromatic erythrocyte

NCE: normochromatic erythrocyte

관찰시 핵이 없이 푸른빛을 보이는 것을 다염성 적혈구로 구분하였고 (Figure not shown) 붉은 빛의 것을 다염성적혈구의 크기로 형광빛을 전하거나내지 않고 음영으로만 구분이 되는 것을 정염성 적혈구로 구별하였다 (Figure not shown).

6. 통계처리

Student t-test를 이용하여 대조군과 비교하여 95%와 99%의 유의성을 검증하였다.

III. 결과

1. 동물관찰

4주간의 실험중 1마리의 랫트가 투여중 주사바늘의 관통에 의해 내출혈로 사망하였다. 중농도와 고농도의 2BP에 투여된 동물은 투여후 곧 혼미상태에 빠져 2마리의 동물이 서로 거울을 보듯이 무기력하게 서로 마주 보고있는 형태를 보여주었다.

2. 사료소비량

Figure 1 & 2 에서 보이듯이 농도에 따른 사료소비량이 수컷과 암컷에서 볼 수 있었다. 2BP의 투여 농도가 높을수록 사료섭취량이 적었다. 암컷에 있어서는 약간 다른 양상을 보여주었는데 저농도처리군의 동물이 중농도 처리된 동물보다 사료 섭취량이 적었던 것을 볼 수 있었다.

Figure 1. Food consumption for male rats during 28 days of treatment.

Male rats in 12 weeks were treated with 0, 125, 250, and 500 mg/kg of 2-bromopropane for 28 days. 10 rats were assigned to each treatment group. Amount of food consumed was measured twice per week.

Closed circles, Vehicle control; open triangles, 125 mg/kg of 2-BP; closed triangles, 250 mg/kg of 2-BP; and open squares, 500 mg/kg of 2-BP.

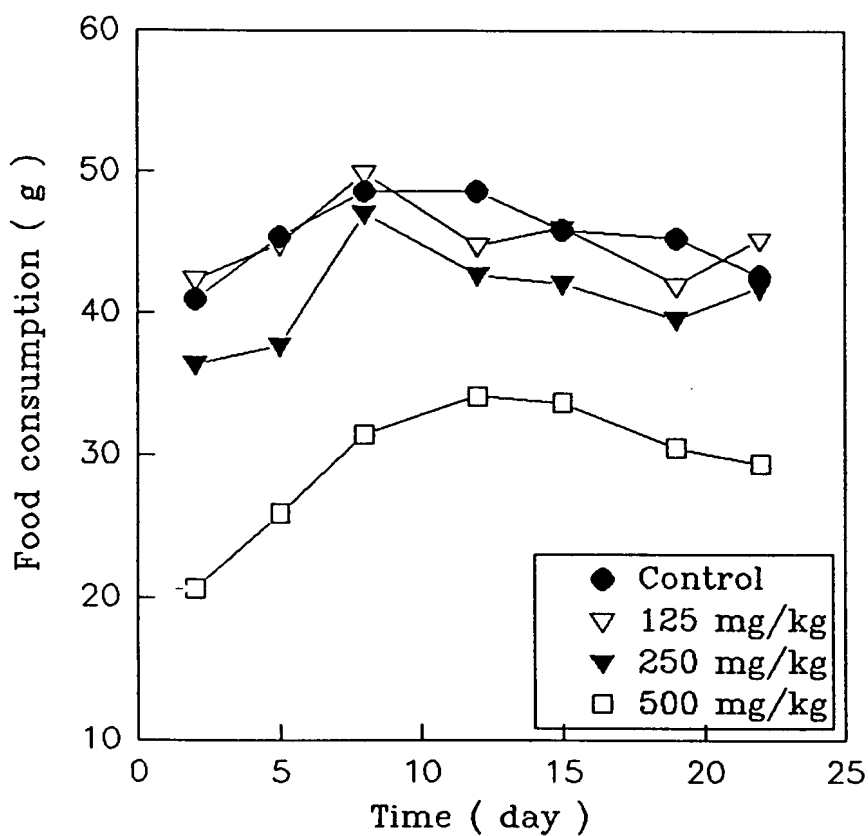
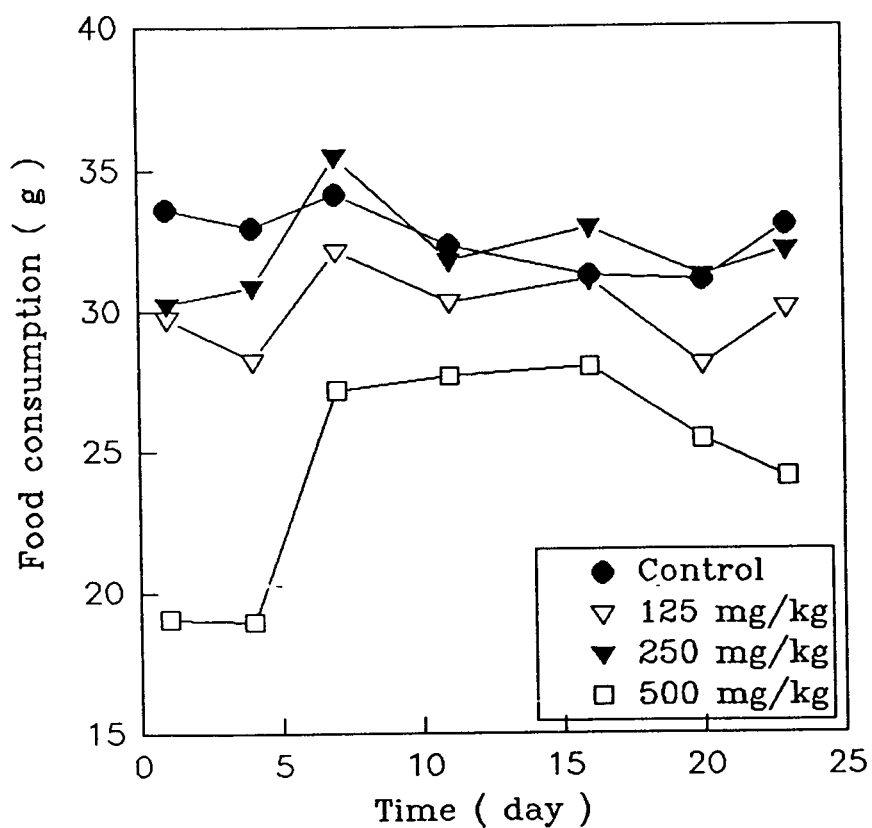


Figure 2. Food consumption for female rats during 28 days of treatment.

Female rats in 12 weeks were treated with 0, 125, 250, and 500 mg/kg of 2-bromopropane for 28 days. 10 rats were assigned to each treatment group. Amount of food consumed was measured twice per week.

Closed circles, Vehicle control; open triangles, 125 mg/kg of 2-BP; closed triangles, 250 mg/kg of 2-BP; and open squares, 500 mg/kg of 2-BP.



3. 체중변화

그림 Figure 3 & 4에서 보이듯이 28일간의 투여기간동안 2BP 투여양에 따른 통계적으로 유의한 ($p<0.05$) 체중의 감소가 관찰되었다. 암컷은 저농도와 고농도에서는 유의한 체중감소를 보여주었지만, 사료소비량에서 본바와 같이 저농도처리군이 중농도 처리군보다 체중의 감소가 많은 것을 볼 수 있었다. 그리고 수컷은 모든 투여농도에서 지속적인 체중감소를 보여주었지만, 암컷에서는 저농도와 중농도 군의 동물에서는 지속적인 체중증가를 볼 수 있었다.

Figure 3. Body weight changes of male rats treated with 2-bromopropane.

Male rats in 12 weeks were treated with 0, 125, 250, and 500 mg/kg of 2-bromopropane for 28 days. 10 rats were assigned to each treatment group. Body weight was measured at the grouping and 2 times per week after initiation of experiment. Open circles, Vehicle control; closed squares, 125 mg/kg of 2-BP; closed triangles, 250 mg/kg of 2-BP; and closed circles, 500 mg/kg of 2-BP.

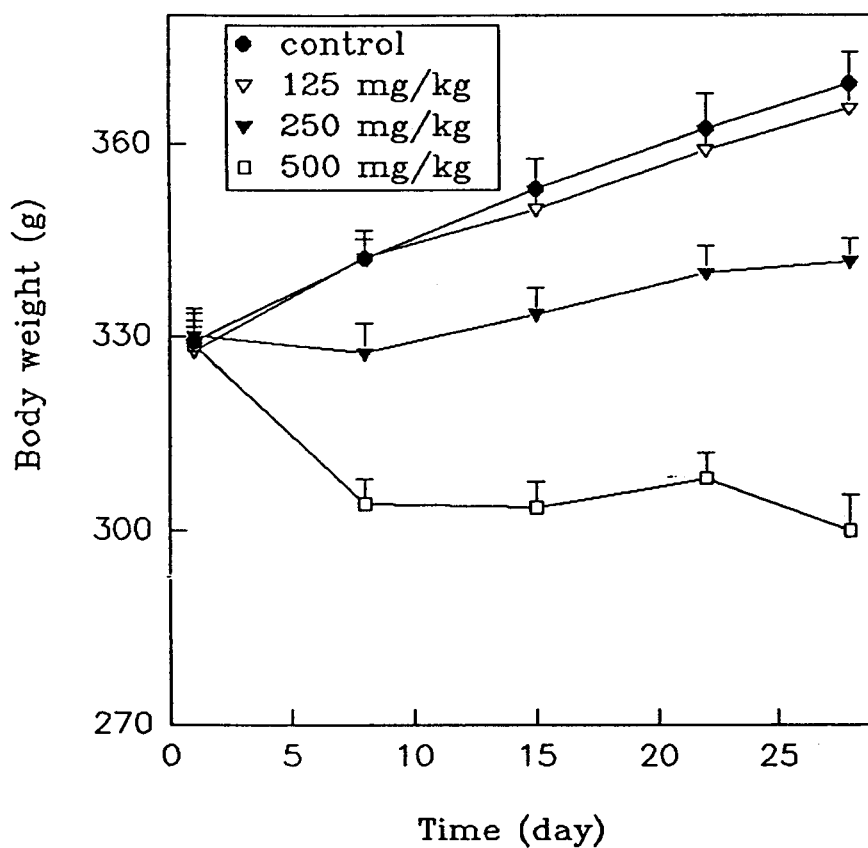
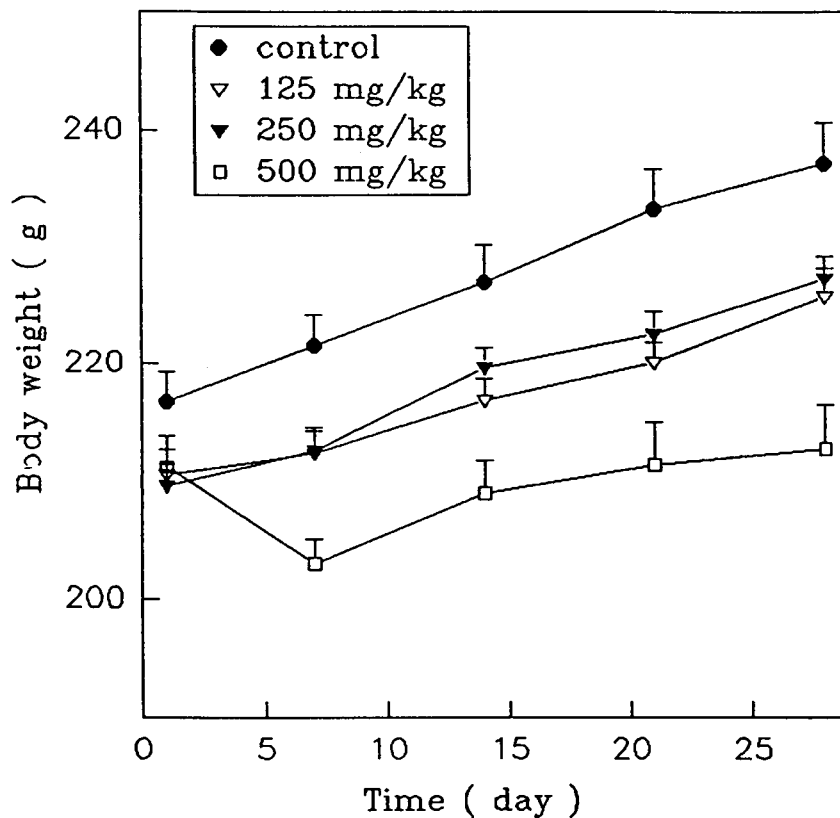


Figure 4. Body weight changes of female rats treated with 2-bromopropane.

Male rats in 12 weeks were treated with 0, 125, 250, and 500 mg/kg of 2-bromopropane for 28 days. 10 rats were assigned to each treatment group. Body weight was measured at the grouping and 2 times per week after initiation of experiment. Open circles, Vehicle control; closed squares, 125 mg/kg of 2-BP; closed triangles, 250 mg/kg of 2-BP; and closed circles, 500 mg/kg of 2-BP.



4. 장기중량

장기중량은 Table I에 나타나있다. 몇몇 장기에서 통계적으로 유의한 ($p < 0.05$) 장기무게의 변화를 볼 수 있었다. 수컷에서는 좌우의 정소에서 전형적인 투여농도에 따른 장기감소를 볼 수 있었다. 정소의 무게감소 범위는 저농도에서는 2.7% (우), 4.5% (좌), 중농도에서는 21.4% (우), 23% (좌)의 감소와 고농도에서는 36% (우), 43% (좌)의 중량감소를 볼 수 있었다. 이 장기무게를 체중 100 g에 대한 상대무게로 표준화하더라도 정소의 중량감소는 유의하게 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) 다른 장기보다 뚜렷하여 중농도에서는 14-15%의 감소와 고농도에서는 19-30%의 장기무게 감소를 볼 수 있었다 (Table III). 다른 장기에서는 이러한 중량감소를 전혀 볼 수가 없었다. 이는 정소가 가장 중요한 표적장기임을 시사하는 것을 알 수 있었다. 투여농도에 따른 정소의 atrophy는 Figure 에서도 뚜렷하게 나타났다.

고농도로 처리한 수컷의 심장과 좌우 콩팥에서도 통계적으로 유의한 체중의 감소를 볼 수 있었다 ($p < 0.05$) (Table I). 콩팥의 무게는 저농도처리군에서는 증가한 것을 볼 수 있었고, 중농도와 고농도 처리군에서는 감소한 것을 볼 수 있었다. 간의 무게도 중농도와 고농도 처리군에서는 감소된 것을 볼 수 있었다 ($p < 0.05$). 부신, 폐, 비장 그리고 뇌에서는 유의한 유의성 있는 중량감소가 관찰되지 않았다 (Table I).

암컷에 있어서는 부신, 난소, 폐, 비장에서 유의한 장기무게 변화가 발견되지 않았다. 장기무게 변화도 사료소비량과 체중의 변화에서 보았듯이 저농도군과 고농도군에서는 유의한 변화가 관찰되었지만, 중농도군에서는 유의한 장기무게 변화가 관찰되지 않았다 (Table II). 심장과 콩팥의 무게에서도 유의한 감소 ($p < 0.05$)가 저농도군과 고농도 군에서 관찰되었는데 이는 체중의 감소가 저농도군이 중농도 보다 심한 이유 때문이라고 사료된다. 간의 무게는 대조군과 비교하여 저농도 처리군에서는 유의한 감소경향 ($p < 0.05$)을 보여주었지만 고농도처리군에서는 증가한 것을 볼 수 있었다 ($p < 0.05$). 뇌의 무게는 고농도처리군에서 통계적으로 유의한 감소를 보여주었다 ($p < 0.05$) (Table II).

체중 100g 에 대한 상대무게로 장기무게를 표준화 했을때는, 정소를 제외한 장기 즉 부신, 심장, 폐, 지라, 간, 뇌등의 장기에서는 대체적으로 중량의 증가의 경향을 볼 수 있었다. 이는 대체로 체중 감소시에는 지질세포나 근육세포들이 주로 체중감소에 영향을 많이 받고, 중요장기들의 세포들은 생체 에너지 공급에 관계하는 세포들이 아니기 때문에 그렇게 많은 영향을 많이 받지 않았다고 생각된다 (Table III & IV).

Table I. Organ weight of male rats treated with 2-bromopropane for 28 days.

	Control (10)	125 mg/kg (10)	250 mg/kg (10)	500 mg/kg (10)
	g	g	g	g
Initial				
body wt.	300.5 ± 14.3	300.7 ± 12.7	300.3 ± 12.7	301.4 ± 13.2
Terminal				
wt.	356.7 ± 16.1	352.5 ± 11.8	330.4 ± 10.7	289.8 ± 16.0
Adrenal R	0.053 ± 0.014	0.045 ± 0.005	0.053 ± 0.005	0.054 ± 0.011
Adrenal L	0.043 ± 0.010	0.046 ± 0.011	0.052 ± 0.065	0.047 ± 0.010
Testis R	1.716 ± 0.115	1.639 ± 0.113	1.325 ± 0.152**	1.096 ± 0.219**
Testis L	1.693 ± 0.054	1.647 ± 0.110	1.330 ± 0.151**	0.960 ± 0.275**
Heart	1.182 ± 0.113	1.258 ± 0.402	1.176 ± 0.066	0.997 ± 0.093**
Lung R	0.942 ± 0.062	1.002 ± 0.105	0.930 ± 0.066	0.948 ± 0.109
Lung L	0.506 ± 0.039	0.516 ± 0.046	0.506 ± 0.016	0.528 ± 0.090
Kidney R	1.250 ± 0.105	1.305 ± 0.074	1.210 ± 0.084	1.013 ± 0.106**
Kidney L	1.234 ± 0.092	1.294 ± 0.074	1.185 ± 0.064	1.013 ± 0.114**
Spleen	0.729 ± 0.061	0.728 ± 0.017	0.672 ± 0.081	0.734 ± 0.143
Liver	10.04 ± 0.534	10.19 ± 0.550	9.513 ± 0.658*	9.516 ± 0.615**
Brain	1.975 ± 0.088	1.974 ± 0.113	1.906 ± 0.089	1.921 ± 0.103

* indicates $p < 0.05$ versus control.

** indicates $p < 0.01$ versus control.

() indicates number of males on study.

Table II. Organ weight of female rats treated with 2-bromopropane for 28 days.

	Control (10)	125 mg/kg (10)	250 mg/kg (10)	500 mg/kg (9)
	g	g	g	g
Initial				
body wt.	200.5 ± 7.2	202.8 ± 6.4	202.0 ± 6.3	202.5 ± 6.5
Terminal				
wt.	226.3 ± 12.2	214.1 ± 6.6	217.2 ± 4.6	202.1 ± 9.8
Adrenal R	0.055 ± 0.012	0.056 ± 0.009	0.056 ± 0.008	0.061 ± 0.008
Adrenal L	0.054 ± 0.013	0.051 ± 0.006	0.057 ± 0.006	0.059 ± 0.006
Ovary R	0.079 ± 0.014	0.071 ± 0.008	0.070 ± 0.008	0.070 ± 0.013
Ovary L	0.075 ± 0.020	0.069 ± 0.013	0.077 ± 0.013	0.071 ± 0.022
Heart	0.891 ± 0.066	0.831 ± 0.752*	0.878 ± 0.085	0.767 ± 0.064**
Lung R	0.773 ± 0.066	0.749 ± 0.061	0.829 ± 0.065	0.831 ± 0.101
Lung L	0.459 ± 0.058	0.392 ± 0.021	0.428 ± 0.031	0.434 ± 0.049
Kidney R	0.808 ± 0.056	0.737 ± 0.021**	0.801 ± 0.041	0.735 ± 0.044*
Kidney L	0.783 ± 0.030	0.721 ± 0.033**	0.812 ± 0.067	0.736 ± 0.053**
Spleen	0.611 ± 0.056	0.521 ± 0.024**	0.569 ± 0.051	0.640 ± 0.063
Liver	7.108 ± 0.358	6.767 ± 0.344*	7.451 ± 0.484	7.282 ± 0.289*
Brain	1.863 ± 0.095	1.808 ± 0.041	1.767 ± 0.095	1.744 ± 0.053*

* indicates $p < 0.05$ versus control.

** indicates $p < 0.05$ versus control.

() indicates number of males on study.

Table III. Relative organ weight of male rats

	Control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg
	mg	mg	mg	mg
Adrenal R	14.8 ± 4.0	12.8 ± 1.6	16.1 ± 1.7	18.4 ± 3.6
Adrenal L	12.1 ± 2.8	13.0 ± 3.3	15.5 ± 1.8*	16.3 ± 3.5*
Testis L	465.6 ± 65.0	465.6 ± 38.4	401.3 ± 49.0	378.6 ± 74.0*
Testis R	475.5 ± 30.7	467.9 ± 36.7	402.9 ± 49.3**	329.8 ± 88.8**
Heart	334.5 ± 29.8	357.0 ± 13.8*	355.8 ± 18.3	344.2 ± 27.6
Lung L	264.0 ± 15.7	284.6 ± 34.3	281.3 ± 16.6*	327.6 ± 38.7**
Lung R	141.9 ± 10.9	146.4 ± 12.1	153.2 ± 5.7*	181.2 ± 27.8**
Kidney L	350.4 ± 24.3	371.1 ± 21.2*	389.9 ± 75.0	349.0 ± 24.0
Kidney R	345.8 ± 19.8	367.1 ± 19.0*	359.0 ± 23.0	349.0 ± 26.1
Spleen	204.5 ± 14.1	206.8 ± 8.3	203.3 ± 23.4	253.2 ± 51.0*
Liver	2815.3 ± 101.2	2899.8 ± 100.1	2877.3 ± 137.9**	3159.7 ± 127.6**
Brain	554.1 ± 25.5	560.3 ± 34.2	576.7 ± 42.1	664.1 ± 42.1**

* indicates $p < 0.05$ versus control.

** indicates $p < 0.01$ versus control.

Table IV. Relative organ weight of female rats

	Control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg
	mg	mg	mg	mg
Adrenal R	23.9 ± 6.3	23.8 ± 3.0	26.4 ± 2.6	30.4 ± 3.7
Adrenal L	24.6 ± 5.9	25.9 ± 3.9	26.0 ± 3.6	30.4 ± 3.7
Ovary L	32.9 ± 9.4	32.1 ± 6.2	35.4 ± 6.0	34.8 ± 10.7
Ovary R	34.8 ± 7.0	32.8 ± 3.8	32.3 ± 3.4	34.4 ± 6.2
Heart	392.9 ± 23.2	386.6 ± 37.5	405.7 ± 39.4	410.8 ± 44.7
Lung L	187.7 ± 66.5	181.8 ± 8.0	197.9 ± 14.6	214.9 ± 24.8
Lung R	341.0 ± 25.7	347.6 ± 24.5	383.3 ± 31.1	410.8 ± 44.7
Kidney L	345.8 ± 18.3	334.8 ± 12.8	375.6 ± 33.5	364.2 ± 18.1
Kidney R	357.2 ± 32.3	342.4 ± 13.2	368.2 ± 21.5	363.5 ± 16.2
Spleen	269.6 ± 21.0	241.9 ± 11.6	266.2 ± 24.7	316.3 ± 20.7**
Liver	3134.9 ± 62.9	3144.9 ± 149.5	3455.1 ± 236.8**	3609.5 ± 217.3**
Brain	822.5 ± 45.8	814.4 ± 35.4	817.2 ± 50.4	864.2 ± 42.6

* indicates $p < 0.05$ versus control.

** indicates $p < 0.01$ versus control.

5. 혈액생화학과 혈액학적 검사

고농도처리군의 암 수에서 통계적으로 유의하지 않지만 적혈구수와 헤모글로빈농도, 헤마토크릿 값들의 감소를 볼 수 있었고, MCV의 증가의 경향을 암수에서 발견할 수 있었으며, RDW의 값은 수컷에서는 유의하게 증가 되어 있었고, 암컷에서는 증가를 보여주지 않았다 (Table V & VI). 유의한 평균혈소판 용적의 감소를 암컷에서 볼 수 있었고, 수컷에서도 유의하지는 않지만 감소경향을 볼 수 있었다 (Table V & VI). 유의한 백혈구 수의 감소($p<0.05$)가 고농도처리군에서 관찰되었고, 유의한 감소를 과립구에서 볼 수 있었으며, 임파구와 단핵구에서도 감소된 것을 볼 수 있었다 (Table V). 암컷에서도 역시 통계적으로 유의하지 않지만 2BP의 처리에 의한 백혈구수의 감소를 볼 수 있었다 (Table VI).

혈액생화학검사에서는 2BP처리된 암 수 동물에서 농도에 따른 AST와 ALT의 유의한 ($p<0.05$) 변화를 볼 수 있었고, ALP의 유의한 감소 ($p<0.05$)도 고농도처리 암수 랫트에서 관찰되었다 (Table VII & VIII). 유의성 있는 혈당의 증가 ($p<0.05$)를 모든 농도처리 동물에서 볼 수 있었다 (Table VII & VIII). BUN이나 Creatinine의 감소가 관찰되었고, 콜레스테롤의 농도는 암컷에서는 감소되었지만 수컷에서는 증가된것을 볼 수 있었다 (Table VII & VIII).

V. Hematological data for male rats.

	Control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg
WBC	9.73 ± 2.14	8.57 ± 1.51	7.79 ± 2.02	5.39 ± 1.92*
LYMP	8.43 ± 1.27	7.38 ± 1.11	6.62 ± 1.04	4.88 ± 1.70
MONO	0.83 ± 0.68	0.67 ± 0.39	0.65 ± 0.65	0.27 ± 0.18
GRAN	0.48 ± 0.22	0.52 ± 0.13	0.52 ± 0.64	0.24 ± 0.12*
RBC	7.83 ± 2.45	10.00 ± 3.80	8.32 ± 1.84	6.04 ± 2.03
HGB	17.43 ± 6.58	19.11 ± 4.66	17.36 ± 3.36	12.11 ± 3.20
HCT	42.89 ± 12.97	54.15 ± 20.20	45.31 ± 10.46	34.06 ± 9.46
MCV	54.91 ± 1.00	54.29 ± 0.95*	54.42 ± 1.20	58.21 ± 7.88
MCH	21.20 ± 1.41	19.24 ± 2.59	20.00 ± 1.67	21.34 ± 2.62
MCHC	38.49 ± 2.18	35.42 ± 4.46	36.73 ± 3.87	36.97 ± 3.92
RDW	17.40 ± 3.11	18.89 ± 3.74	18.11 ± 3.76	20.94 ± 4.37**
PLT	995.6 ± 311.4	1087.4 ± 499.6	941.1 ± 321.0	861.2 ± 205.4
MPV	6.63 ± 0.26	6.72 ± 0.34	6.50 ± 0.29	5.88 ± 0.27
%LYM	87.88 ± 6.05	86.51 ± 3.34	86.84 ± 9.31	91.06 ± 2.68
%MONO	7.63 ± 4.42	7.42 ± 3.06	7.17 ± 4.82	4.82 ± 1.74
%GRAN	4.50 ± 1.71	6.06 ± 1.02	5.59 ± 4.58	4.12 ± 1.77

* indicates $p<0.05$.

VI. Hematology data for female rats.

	Control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg
WBC	7.62 ± 5.95	7.62 ± 4.02	8.77 ± 2.87	5.38 ± 0.99
RBC	7.14 ± 2.24	7.15 ± 2.19	8.17 ± 2.39	6.60 ± 1.72
HGB	16.88 ± 5.29	19.68 ± 6.23	21.29 ± 6.07	15.42 ± 3.41
HCT	42.27 ± 13.75	42.53 ± 13.16	49.10 ± 15.68	39.60 ± 9.82
MCV	59.08 ± 1.80	59.43 ± 1.47	59.22 ± 1.38	60.18 ± 2.06
MCH	23.19 ± 0.94	23.50 ± 0.73	23.26 ± 0.74*	23.56 ± 0.60
MCHC	39.18 ± 0.72	39.68 ± 0.11	39.20 ± 0.70	39.20 ± 0.57
RDW	21.78 ± 1.58	19.52 ± 3.70	19.35 ± 3.14	21.60 ± 1.90
PLT	996.5 ± 322.8	778.20 ± 310.5	1071.0 ± 390.4	1144.4 ± 237.2
MPV	6.43 ± 0.23	6.53 ± 0.25	6.27 ± 0.31	5.86 ± 0.21*
LYM	83.93 ± 8.20	81.20 ± 7.46	83.35 ± 4.78	86.66 ± 3.97
MONO	7.89 ± 4.84	9.32 ± 3.58	8.28 ± 2.92	7.04 ± 1.99
GRAN	8.17 ± 4.05	9.48 ± 3.96	8.35 ± 3.02	6.30 ± 2.50
LYMP	6.07 ± 4.05	5.98 ± 2.66	7.23 ± 2.11	4.66 ± 0.78
MONO	0.74 ± 0.87	0.82 ± 0.69	0.79 ± 0.50	0.38 ± 0.15
GRAN	0.81 ± 1.14	0.82 ± 0.69	0.76 ± 0.46	0.34 ± 0.15

* indicates $p < 0.05$.

WBC, white blood cell count ($10^3/\text{mm}^3$); LYMP, lymphocyte count ($10^3/\text{mm}^3$);

MONO, monocyte count ($10^3/\text{mm}^3$); GRAN, granulocyte count ($10^3/\text{mm}^3$);

RBC, red blood cell count ($10^6/\text{mm}^3$); HGB, hemoglobin (g/dl);

HCT, hematocrit (%); MCV mean corpuscular volume (μ^3);

MCH, mean corpuscular hemoglobin (pg); MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration (%); RDW, red cell volume distribution width (%);

PLT, platelet count ($10^3/\mu^3$); MPV, mean platelet volume (μ^3);

%LYM, % of lymphocyte; %MONO, % of monocyte; %GRAN, % of granulocyte.

VII. Blood chemistry data for male rats

	Control		125 mg/kg		250 mg/kg		500 mg/kg	
AST	130.2 ±	21.2	104.5 ±	9.9**	101.9 ±	10.7**	106.5 ±	18.7*
ALT	36.0 ±	3.1	35.2 ±	5.8	33.3 ±	4.4*	33.0 ±	17.7
ALP	90.6 ±	19.5	85.7 ±	12.2	77.5 ±	16.0	48.0 ±	11.1**
Prot	5.1 ±	0.2	5.1 ±	0.2	5.1 ±	0.5	4.9 ±	0.3*
Gluc	101.1 ±	10.0	114.9 ±	11.1*	116.9 ±	18.3*	104.2 ±	9.7
BUN	14.5 ±	2.6	12.4 ±	0.5*	11.4 ±	0.9**	11.8 ±	1.2**
CREA	0.41 ±	0.05	0.33 ±	0.02*	0.37 ±	0.04	0.39 ±	0.05
CHOL	22.0 ±	3.9	21.8 ±	3.0	21.2 ±	3.6	29.3 ±	4.1**
TBIL	0.05 ±	0.01	0.05 ±	0.01	0.07 ±	0.02	0.05 ±	0.01

AST, aspartate aminotransferase (u/l); ALT, alanine aminotransferase (u/l);
 ALP, alkaline phosphatase (u/l); Prot, protein (mg/dl); Gluc, glucose (mg/dl);
 BUN, urea nitrogen in blood (mg/dl); CREA, creatinine (mg/dl);
 CHOL, cholesterol (mmol/l); TBIL, total bilirubin (mg/dl).

VIII. Blood chemistry data for female rats.

	Control		125 mg/kg		250 mg/kg		500 mg/kg	
AST	104.8 ±	18.0	106.5 ±	31.4	85.9 ±	16.7*	99.3 ±	19.9
ALT	36.5 ±	11.2	35.6 ±	22.1	26.9 ±	9.8**	21.9 ±	3.2**
ALP	40.1 ±	13.6	45.6 ±	12.5	42.1 ±	15.5	26.6 ±	12.6*
Prot	6.0 ±	0.3	5.9 ±	0.2	6.0 ±	0.4	5.5 ±	0.2**
Gluc	99.8 ±	10.0	116.3 ±	18.8*	122.6 ±	6.9**	118.0 ±	15.5**
BUN	15.6 ±	2.2	15.7 ±	1.4	12.8 ±	1.0*	13.3 ±	1.9
CREA	0.45 ±	0.05	0.43 ±	0.05	0.40 ±	0.02*	0.38 ±	0.02**
CHOL	36.3 ±	3.2	36.4 ±	6.2	36.8 ±	8.4	27.3 ±	6.9**
TBIL	0.05 ±	0.02	0.04 ±	0.01	0.05 ±	0.03	0.05 ±	0.01

6. 골수에서의 다염성적혈구의 비율

2-BP에 투여에 따른 적혈구의 생성에 대한 영향을 조사하기 위해 골수세포를 도말하여 검경하였다. 2-BP처리에 의한 골수세포의 영향은 총 적혈구수 중의 polychromatic erythrocyte (PCE)를 계수하여 number of PCE/number of RBC로 나타내었다. Table IX에서 보이는 바와 같이 2-BP의 투여는 전체 적혈구당 다염성 적혈구 (PCE: polychromatic erythrocyte)의 비율이 투여 농도에 따른 유의성 있는 감소 ($p < 0.05$)를 암, 수 동물에서 보여 주고 있다. 이는 2-BP의 투여가 골수에서의 적혈구 생성과정에 영향이 있음을 알려주는 것이라고 생각된다.

Table IX. Effect of 2-bromopropane on formation of polychromatic erythrocytes in bone marrow.

Treatment	control	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg
	%	%	%	%
Male	39.4 ± 8.5	30.6 ± 5.7**	25.1 ± 3.2**	22.4 ± 3.2**
Female	36.0 ± 6.0	27.6 ± 5.5*	24.5 ± 3.1**	22.3 ± 5.5**

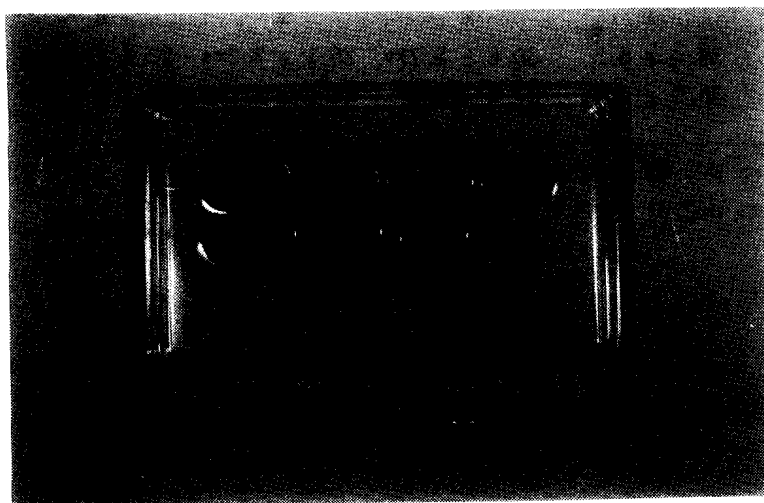
* indicates $p < 0.05$ versus control.

** indicates $p < 0.01$ versus control.

7. 해부병리

Figure 5 에서 보이는 바와 같이 농도에 따른 뚜렷한 정소의 atrophy가 관찰되었다. 특이한 해부병리학적인 소견은 발견되지 않았다.

Figure 5. Atrophy of testes.



8. 조직병리

중농도와 고농도처리군의 정소에서는 patch type로 severely depleted seminiferous tubule로 spermatogonia와 spermatocytes의 necrosis를 볼 수 있었고 (Figure 6 A, B, C & D), seminiferous tubule에서는 sertoli 세포가 주로 남아있었으며 이 sertoli세포는 extensive한 cytoplasmic vacuolization을 보여주고 있었다 (Figure 7 B arrows). 그리고 interstitial tissue에서는 Leydig세포의 hyperplasia를 볼 수 있었다 (Figure 7 A & B, arrow heads). Epididymis에서는 caput부분에서는 epididymal epithelium의 vacuolization이 관찰되었고 (Figure B, arrows) 대조군과 비교하여 많은 sloughed epithelial cells과 sperm aggregates와 occasional inflammatory cell을 볼 수 있었다 (Figure 8 B, arrow heads).

간과 콩팥의 pituitary 등의 조직도 병리조직학적인 검사를 하였으나 뚜렷한 /병리학 적 소견을 발견하지 못하였다.

Figure 6. Histopathology of Testes treated with 2-bromopropane.

Male rats in 12 weeks were treated with 125, 250, and 500 mg/kg of 2-BP for 28 days. The animals were sacrificed, and testes were removed and processed for histopathology.

A. Vehicle control, B. 125 mg/kg of 2-BP. Showing normal looking seminiferous tubules. C. 250 mg/kg of 2BP. Tubular atrophy with depletion of germs. D. 500 mg/kg of 2-BP for 28 days. Typical patch appearance of severely depleted atrophic tubules. Note atrophic seminiferous tubules in C & D compared to A. Apparent increases in interstitial Leydig cells can be seen. 100x objective.

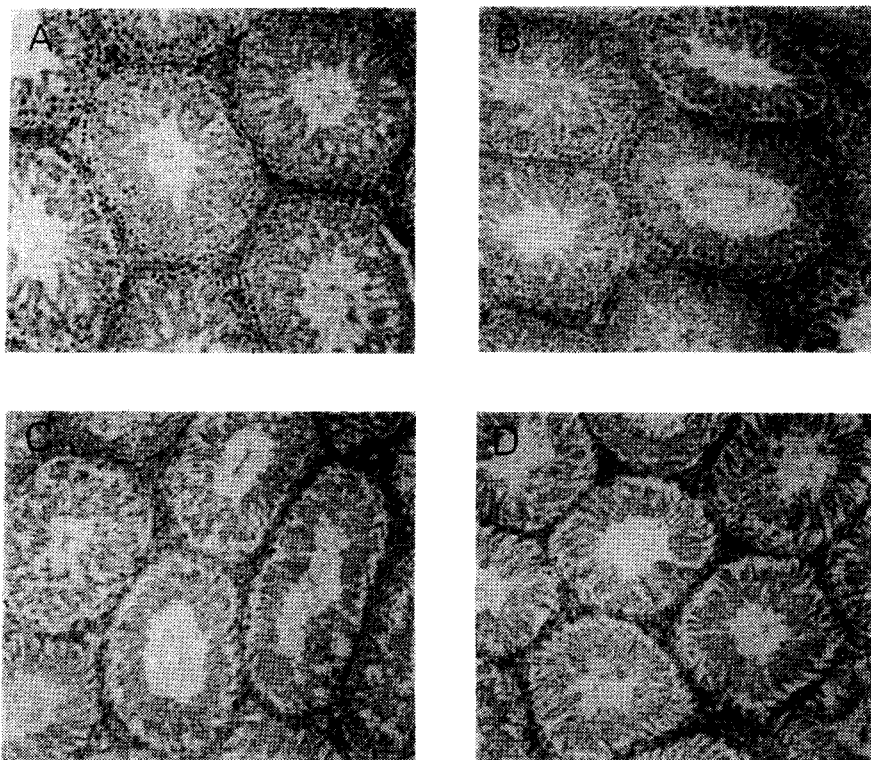


Figure 7. Depleted seminiferous tubules with interstitial Leydig cell hyperplasia.

A. Vehicle control. Normal tubules with healthy looking germ cells, B. 500 mg/kg of 2-BP. Severely depleted tubules with only Sertoli cells (arrows). Note extensive vacuolization of Sertoli cells. Interstitial Leydig cell hyperplasia also can be seen (arrow heads). 400x objective.

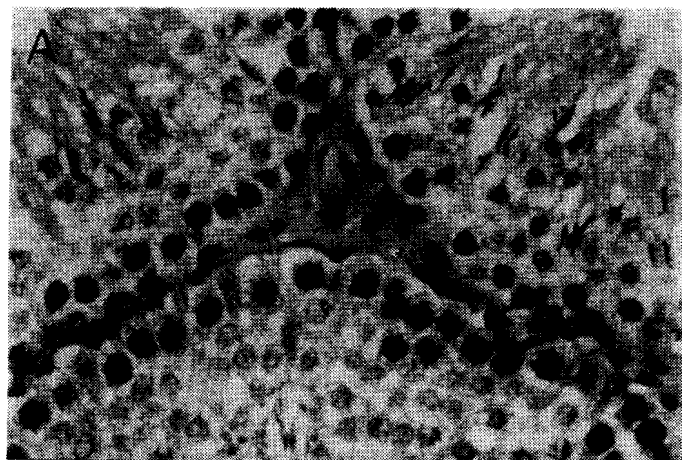
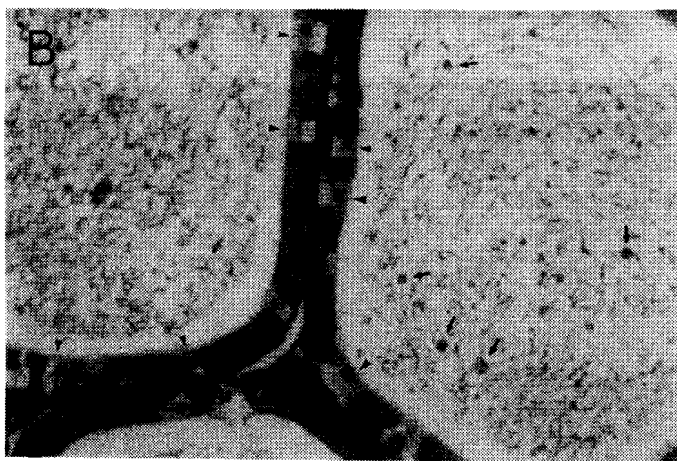


Figure 8. Histopathology of Epididymis.

A. Vehicle control. Normal Cauda Epididymis with normal looking spermatids.

B. 500 mg/kg of 2-BP. Vacuolization of epididymal epithelial cells (arrows) with many cells of spermatids aggregates (arrow heads). 200x objective.



IV. 고찰

본 연구에서는 28일간의 투여에 의해 2-bromopropane이 생식독성과 조혈기 장애를 유발한다는 것을 보여주고 있다. 2-bromopropane의 영향은 다른 장기보다는 생식기와 조혈기에 가장 많은 영향을 주는 것으로 생각된다. 이는 장기무게와 병리학적소견으로 알 수 있는데, 장기무게의 증감을 100g의 체중으로 표준화 하였을때, 생식기의 장기 무게가 다른 장기보다 가장 많이 감소된 것으로 하였고, 또 병리학적 소견에 있어서도 2-bromopropane에 영향을 받은 장기 중에서도 생식기가 가장 심한 병리학적소견으로 정자생성에 관여하는 정원세포의 전멸을 보여주고 있었다. 그리고 2-BP의 독성은 다른 장기 즉 간, 콩팥등의 장기에는 심한 영향을 주지 않는다고 생각 된다. 그리고 위성시험군 (satellite group)에서 2-bromopropane을 4주 투여한 후, 투여를 중지하여 약 1달 간의 회복기간을 두었지만 정소는 계속적인 장기무게의 감소를 보여주고 있었다. 2-bromopropane의 독성은 양 반응 관계를 보여주어 고농도가 저농도 보다 훨씬 심한 독성의 정도를 보여주고 있었다. 그리고 2-bromopropane에 의한 정소의 병리학적 소견은 2-bromopropane이 폭로된 남성 근로자의 정소 biopsy의 조직병리학적인 소견과 거의 유사한 소견을 보여주고 있다. 남성근로자의 조직병리학적소견은 atrophic seminiferous tubules with aspermatogenesis, thickened basement membrane, Leydig cell hyperplasia 등의 소견을 보여주고 있는데, 실험동물에서도 이와 유사한 병리학적 소견을 보여주고 있다 (Personal communication).

생식독성을 위한 실험으로 몇가지 지침이 제시되고 있는데, 그중 슛컷의 불임시험에 독성시험은 설치류에 있어서는 정자의 생성이 90% 이상 감소하더라도 임신에 미치는 영향없다고 하며, 정자의 운동성 역시 전문가에 의한 정확한 시료의 정도관리가 된 시험을 시행하지 않으면 결과의 해석에 있으며 많은 문제점이 야기 된다고 보고하였다 (Amman, 1981; Meishtrich, 1982, 1989; Robaire et al., 1984). 그래서 남성의 생식독성의 가장 신뢰성 있는 독성시험으로는 적절한 조직시료의 고정, 포매 등의 일관성이 이루어 지며, 전문가에 의한 진단이 가능하다면 조직병리학적인 방법이 가장 믿을만한 독성시험으로 추천되고 있다 (Chapin, 1995; Russell et al., 1990; Takahashi & Matsui, 1993; Zenick & Clegg, 1989). 최근의 남성생식장애에 대한 가장 적절한 시험처리기간의 연구에서 태자의 출산빈도 따른 생식력에 대한 시험은 민감도가 떨어지며, 슛컷의 불임에 대한 영향이 나타나기 위하여서는 mating 하기전 적어도 4주간의 처리를 필요로 한다는 보고를 하였다 (Takayama et al., 1995). 이런 연구결과와 우리의 2주 반복독성시험의 경험에 의하여 4주간의 반복투여독성시험을 행하였다.

사람의 여성근로자에게서 볼 수 있었던 무월경증이나 혈중 FSH나 LH의 농도증가 현상은 이번 연구에서 관찰되지 않았다. 이는 암컷의 생식기능 독성시험으로는 이번의 연구모델이 적합하지 않았는데 이는 실험동물로 사용한 SD rat의 생식주기가 4일로서 (Cooper et al., 1993) 모든 동물의 생식주기를 동시화 하기 힘들고, 이들 동물의 각각의 주기에 따라 호르몬 (FSH, LH, prolactin)의 혈중농도가 다르고 또 rat의 경우에 있어서는 같은 날에도 시간별에 따라 호르몬의 농도가 달라질 수 있기 때문에 이번의 연구디자인에게서는 호르몬변화의 관찰은 시행하지 못하였다. 그리고 실험동물의 난소는 장기무게가 가벼워 장기무게변화에 따른 atrophy를 관찰할 수 없었다. 다만 난소의 조직병리학적 검사를 행하였지만, 난소의 조

직병리검사의 유의할점 첫째 즉 follicle의 성장은 내재하고 있는 기능 (intrinsic)이어서 호르몬의 자극을 필요로하지 않기 때문에 성장하고 있는 follicles은 정상적인 follicular로 생식기능으로 해석을 해서는 안되며, 둘째 corpus leutea의 존재를 정상적인 생식기능 때문이라고 해석하여서도 아니 되는데, 이는 동물이 생식주기를 멈추더라도, 마지막 주기에 형성된 corpus leutea는 그렇게 빨리 퇴화하지 않고 한동안 정상적인 형태를 갖추기 때문인 이유와 또 corpus leutea의 크기와 숫자의 감소는 조직절편 작성시 조직절편의 방향에 따른 조직절편간의 비교의 어려움 등의 이유로 조직병리학적 변별이 어렵고, 다만 ovarian interstitial glands의 형태가 병리학적진단에 도움을 준다고 한다 (Yuan, 1991). 즉 정상에서는 원형의 핵을 가진 다각형의 세포와 친산성으로 염색이 되는 세포질의 vacuolation을 보여주지만, atrophic 난소에서는 진하고 확장된 핵을 가지면서 원추형의 모양을 가진 세포가 약산성에서 친알칼리성으로 염색되는 세포질의 형태를 보여주고 있다고 한다 (Yuan, 1991). 그러나 본연구의 조직병리학적인 관찰에서는 이런 현상이 발견되지 않았다. 다만 secondary follicle과 Graafian follicle의 zona granulosa와 theca interna의 불명확한 경계와 follicular antrum의 lining의 주글주글한 형태를 발견할 수 있었다 (Figure not shown). 이런 현상의 병리학적인 중요성은 아직 잘 알려져 있지 않으나 이들 현상은 좀더 시간을 두고 연구가 되어야 할 것이다.

2-bromopropane의 또 다른 독성으로서는 골수기능 저하를 들 수 있다. 2-bromopropane의 영향을 받은 근로자들에게서 골수기능저하를 볼 수 있었는데, 본 연구결과에서도 2-bromopropane에 의한 anemia를 동반한 leukopenia을 볼 수 있었다. 이런 anemia는 적혈구의 용적이 대조군 보다 증가한 normocytic에서 macrocytic으로 변화하는 경향을 보이고 있었는데, 이는 세포독성이 있는 약물치료를 받고 있는 환자에게서나, 재생불량성 빈혈 (aplastic anemia) 환자에게서 발견되는 macrocytic anemia와 유사한 현상이며, 적혈구 용적분포도 다양하여 anisocytic 한 경향을 보이고 있었다. 실제로 2-bromopropane에 폭로되어 aplastic anemia라고 의심되는 근로자에게서도 이와 비슷한 빈혈의 정상을 보이고 있다. 이들 근로자에게서도 pancytopenia와 함께 높은 정상보다 높은 MCV 값과 RDW 값을 보여주고 있었다. 또 다염적혈구율 (% of PCE)의 경우에 있어서도, 농도에 따른 뚜렷한 % of PCE의 감소를 볼 수 있었다. 이는 다염적혈구율이 적혈구생성장해와 골수세포의 증식상태 측정의 수단이 될 수 있다는 연구결과 (Schmid, 1975; Jellema & Schardein, 1975, 노재훈 1986) 들에 따르면 2-Bromopropane에 의한 골수에서의 적혈구 생성과정에 있어서의 골수기능 저하를 나타내는 또 다른 지표라고 볼 수 있겠다. 그리고 % of PCE는 14일 반복시험결과에서도 나타났는데 혈액학적 검사에서는 골수기능저하를 볼 수 없었으나, % of PCE는 농도에 따른 유의성 있는 ($p < 0.05$) 변화를 볼 수 있었다.

2-bromopropane 중독의 경우 생식독성의 양태는 DBCP에서 보여주었던 양상과 거의 비슷한 형태를 보여준다고 생각된다. DBCP의 경우 조직병리학적 소견은 본연구의 조직병리학적 소견과 거의 비슷한 양상을 보여주고 있으며 (Saegusa, et al., 1982; Saegusa, 1989), DBCP 폭로 근로자의 follow up study에 따르면, DBCP 폭로근로자중 일부는 폭로후 17년이 지난 이후에도 높은 FSH와 LH의 농도를 보여주고 있으며, 일부는 회복을 하여 자녀를 생산하였고 이들의 자녀에게서는 아무런 최기형성이 발견되지 않았다 (Potashnik and Porath, 1995). 이는 2-bromopropane의 경우에도 폭로된 근로자에게서 높은 LH 수준을 볼 수 있었고 폭로를

중단한후에도 많은 근로자에게서 생식기능 회복불능을 볼 수 있다는 점이다. DBCP의 동물실험의 경우에 있어서는 소량의 물질투여 만으로도 단기간에 (시험물질 처리후 3-7일) 생식독성이 일어났거나 (Saegusa, 1982; 1986), 2-BP의 경우는 좀더 많은 양의 물질을 4주 투여 후 생식독성을 볼 수가 있었다. 이는 근로자들이 작업환경에서 상당히 높은 농도의 2BP에 장기간 폭로되었으리라는 점을 암시하고 있다. 일본의 관리가 잘된 작업장의 경우에는 아직 뚜렷한 생식독성을 발견하지 못하였다는 점 역시 이런 이런 가설을 지지하고 있다. 그리고 소량으로 폭로된 근로자는 생식기능 회복이 가능할 것이고, 2-BP가 포유류에서는 유전독성이 음성이므로 자녀의 생산시 기형아의 출산의 빈도가 아주 낮으리라고 예상된다.

본 연구에서의 폭로경로는 실제 폭로 상황인 흡입이 아니라 복강투여로 실험을 행하였다. 폭로경로에 차이에 따른 독성결과의 차이는 있으리라고 예상되나, 본실험의 경우에는 실제 근로자에게서 나타난 여러가지 독성발현을 재현하는 것으로 복강투여경로로 충분히 재현성 있는 결과를 산출하였다. 만약 복강투여경로에 의한 독성시험에서 음성인 경우는 흡입 독성시험이 필요하다고 생각되나, 충분히 복강투여로 인간에게 나타나는 상황을 재현하였으므로 2BP에 의한 생식독성과 골수기능 저하는 논의의 여지가 없다고 사료된다. 더우기 최근의 연구원 독성실에서 행한 마우스를 이용한 6주 흡입독성 시험의 결과에서도 이를 뒷받침해주는 결과로 폭로군의 동물에서 현저한 고환의 atrophy가 관찰되었다.

50,000-60,000종류의 화학물질이 통상적으로 사용되고 있으며, 600개 정도의 새로운 화학물질이 해마다 상품화 되고 있다. 생산량도 1920년도의 10억 파운드에서 1945년 200억 파운드, 1960년에는 750억 파운드, 1980년말에는 2000억 파운드에 달한다고 한다 (Lave and Ennever, 1990). 이들 물질중에 얼마나 많은 물질이 생식독성을 유발하는 물질인지는 잘 알려지지 않고 있다. Table X 에서 보이는 바와 같이 작업환경에 흔하게 사용되는 많은 물질들이 생식독성과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 그외에 작업환경에 사용되고 있는 많은 물질들의 생식독성은 충분한 독성시험의 수행 부족으로 잘 알려져 있지 않은 현실이다. 그러나 생식기관이 우리몸에서 가장 여러가지 자극에 민감한 기관이므로 많은 물질이 생식독성을 유발하리라고 생각된다. OECD에서도 화학물질 평가에 최소사전시장데이터 설정 (MPD: Minimum Premarketing Set of Data)의 결정사항 (C(82)196)에도 신규화학물질이 유통되기 전에 인간과 환경에 대한 위험평가가 수행될 수 있도록 그들의 성질에 대한 충분한 정보를 위해 독성자료로, 돌연변이 데이터, 생태독성 데이터, 급성독성데이터와, 14-28 일간의 반복독성시험을 행하도록하고 있다. 특히 여기의 반복독성시험의 의의는 작업장의 근로자에게 영향을 미치는 영향을 알기위한 최소한의 데이터 요구사항이라고 사료된다. OECD에서는 기존화학물질의 체계적인 조사를 위해서는 우선순위 설정과정의 선택요소로 노출과 관련된 선택요소로는 작업장에서의 노출과 일반인구집단에 대한 노출 환경에 대한 노출과, 영향에 관련된 선택요소로 인체에 대한 영향과 환경에 대한 영향을 고려하도록하고 있다. 산업안전보건법에는 신규화학물질의 유해성조사 (제 40조)가 명시되어 있지만, 기존화학물질의 유해성조사가 명시되어 있지 않다. 신규화학물질은 유해성심사과정을 거쳐서 사용이 되어 직업병의 발생에 대한 위험이 기존화학물질보다는 적을 수 있다고 생각된다. 2-bromopropane인 기존화학물질임을 고려할 때, 산업안전보건법에도 앞으로 기존화학물질의 폭로에 의한 근로자 건강을 예방하기 위하여는 이에 대한 적절한 대책이 필요하다고 본다.

X. Environmental chemical exposure associated with reproductive function

Males	Females
Carbon disulfide	Anesthetic gases (operating room personnel)
Chlordecone (Kepone)	Aniline
Chloroprene	Benzene
Dibromochloropropane	Carbon disulfide
Ethylene dibromide	Chloroprene
Ethylene oxide	Ethanol consumption
Ethanol consumption	Ethylene oxide
Glycol ethers	Glycol ethers
Hexane	Formaldehyde
Inorganic lead (smelter emissions)	Inorganic lead (smelter emissions)
Organic lead	Organic lead
Pesticides (occupational exposure)	Methyl mercury
Vinyl chloride	Pesticides (occupational exposure)
	Phthalic acid esters (PAEs)
	Polychlorinated biphenyls (PCBs)
	Styrene
	Tobacco smoking
	Toluene
	Vinyl chloride

C. D. Klassen, Cassarett & Doull's Toxicology, 1996.

VI. 결론 및 요약

LG 전자부품 (주)에서 발생된 근로자의 생식독성과 조혈기 장애를 규명하기 위해 역학조사 결과 생식독성 유발 의심물질로 판명된 Solvent 5200의 주성분인 2-bromopropane의 독성시험을 Sprague Dawley rat를 이용하여 28일동안 복강을 통한 반복투여독성 시험을 수행하였다. 2-bromopropane의 28일간의 투여는 스킷의 정소의 atrophy와 세정관의 atrophy와 정자생성에 장애를 끼치는 것을 발견할 수 있었다. 그리고 2-bromopropane은 조혈기에도 영향을 끼쳐 leukopenia와 적혈구의 anisocytosis, normocytic에서 macrocytic 범위에서의 anemia, 그리고 골수의 적혈구 생성에 대한 장애를 유발하였다. 이런 2-bromopropane에 의한 조혈기 장애는 aplastic anemia와 유사한 증세를 보여주었다. 그러나 2-bromopropane에 의하여서는 생식기와 조혈기를 제외한 다른 장기에서는 뚜렷한 독성을 보여주지 않았다.

VII. 참고문헌

노재훈, 1986. 벤젠 및 톨루엔이 흰쥐 골수세포에 미치는 영향, 보건학 박사학위 논문, 연세대학교.

Solvent #5200 혼합용매의 랫트에 있어서 급성경구독성시험, 1995. 한국화학연구소 안전성연구센터.

Solvent #5200 혼합용매의 살모넬라균을 이용한 복귀돌연변이시험, 1995. 한국화학연구소 안전성연구센터.

Solvent #5200 혼합용매의 CHO-K1 세포를 이용한 염색체 이상시험, 1995. 한국화학연구소 안전성연구센터.

Solvent #5200의 랫트에 있어서의 급성경구독성시험, 1995. 시험번호 A16-0236, 일본화학품검사협회, 화학품안전센터, 히타연구소.

SPG6-AR의 랫트에 있어서의 급성경구독성시험, 1995. 시험번호 A16-0237, 일본화학품검사협회, 화학품안전센터, 히타연구소.

11892의 화학상품, 1995. 일본화학공업일보사.

포장시험법편람, 1988. 일본도로협회.

Amann, R., 1981. A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. J. Androl., 2: 37-58.

Chapin, R. 1988. Morphologic evaluation of seminiferous epithelium of the testis, In physiology and Toxicology and Male reproduction (Lamb, Y and Foster, P., ed), pp. 155-177, Academic press, New York.

Cooper, R. Goldman, J., and Vandenbergh, J. 1993. Monitoring of the estrous cycle in the laboratory rodent by vaginal lavage, Method in Toxicology vol 3B: Female Reproductive Toxicology (J. Heindel and R. Chapin, eds), pp 45-56, Academic press, USA.

Jellema, M. M., and Scharidein, J. L., 1975. Comparison of two methods for determining the cytogenetic effects induced by triethylene melamine. Toxicol. Appl. Pharmacol. 31: 107-113.

Kim HY, Chung YH, Yi KH, Kim JG, Yu IJ. LC50 of 2-bromopropane. Industrial Health 1996; 34: 403-407

Kim Y, Jung K, Hwang Y, Jung G, Kim H, Park J et al. Hematopoietic and reproductive hazards of Korean electronic workers exposed to solvents containing 2-bromopropane. *Scnad J Work Environ Health* 1996; 22: 394-8.

Lave L. B., and Ennever, F. K., Toxic substances control in the 1990s: Are we poisoning ourselves with low-level exposures?, *Ann. Rev. Pub. Hlth.* 11: 69-87, 1990.

Maeng SH, Yu IJ. Mutagenicity of 2-Bromopropane. *Ind Health* 1997; 35: 87-95.

Meistrich, M. 1982. Quantitative correlation between testicular stem cell survival, sperm production and fertility in the mouse after treatment with different cytotoxic agents. *J. Androl.*, 3: 58-68.

Meistrich, M. 1989. Evaluation of reproductive toxicity by testicular sperm head counts. *J. Amer. Coll. Toxicol.* 8: 551-567.

NIOSH RTECS, 1995, 95-4, RTEC number TX 4111000, National Institute for Occupational Safety and Health.

Potashnik, G., and Porath, A., 1995. Dibromochloropropane (DBCP): A 17 year reassessment of testicular function and reproductive performance, *J of Occupational and Environmental Medicine*, 37 (11): 1287-1292.

Robaire, B., Smith, S., and Hales, B. 1984. Suppression of spermatogenesis by testisterone in adult male rats: effect on fertility, pregnancy outcome and progeny. *Biol. Reprod.*, 31: 221-230.

Russell, L., Ettlin, R., Hikim, A., and Clegg, E. 1990. Histopathologic evaluation of the testis in toxicologic testing and risk assessment. In *histological and histopathological evaluation of the testis* (Russell, L., Ettlin, R., Hikim, A. and Clegg, E., ed.) pp. 267-275, Cache River Press, USA.

Saegusa, J., Hiromichi, H., and Kawai, K., 1982. Toxicity of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP): I. Histopathological examination of male rats exposed to DBCP vapour, *Industrial Health*, 20: 315-323.

Saegusa, J., 1986. Radiomimetic toxicity of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP), *Industrial Health*, 34: 1-14.

Saegusa, J. 1989. Cumulative effects of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) on kidney and testis, *Industrial Health* 27: 49-58.

Schmid W. 1975. The micronucleus test. Mutation Research, 142: 37-39.

Takahashi, M. and Matsui, H. 1993. Mechanisms of testicular toxicity, J. Toxicol. Pathol., 6: 161-174.

Takayama, S., Akaike, M., Kawashima, K., Takahashi, M., and Kurokawa, Y., 1995. Studies on the optimal treatment period and parameters for the detection of male fertility disorder in rats. Journal of Toxicological Sciences, 20: 173-182.

Yuan, Yang-Dar, 1991. Female Reproductive System, Handbook of Toxicologic Pathology, pp. 914-915. W. M. Haschek & C. G. Rousseaux, eds. Academic Press, USA.

Zenick, H. and Clegg, E., 1989. Assessment of male reproductive toxicity: a risk assessment approach. In principles and methods of toxicology (Wallace Hayes, A., ed.), Second edition, pp. 275-309, Raven Press, Ltd., New York.

Reproductive Toxicity of 2-Bromopropane in
Sprague Dawley Rats

1996. 12.

**Industrial Health Research Institute
Korea Industrial Safety Corporation**

Yu IJ, Chung YH, Lim CH, Maeng SH, Lee JY, Kim HY, Lee SJ, Kim CH, Kim TG, Lim CH, Park JS, Moon YH. Reproductive Toxicity of 2-Bromopropane in Sprague Dawley Rats. Scand J Work Environ Health 1997;

Objectives To clarify the mass intoxication of workers at an electronic company in Korea, the possible causative chemical for reproductive toxicity, 2-bromopropane (2BP), has been investigated.

Methods 2BP was tested through 28 days of repeated dose experiments in male Sprague Dawley rats. 10 rats were assigned to each treatment group. Vehicle control olive oil, 125 mg, 250 mg, and 500 mg/kg body weight of 2BP were injected into intraperitoneum for 28 days.

Results Male rats showed significant decreases in body weight depending on the doses of 2BP. Right and left testes showed typical weight losses depending on the dose of 2BP. The number of red blood cells, hemoglobin, and hematocrit showed some degree of decline in the high dose. The amount of hemoglobin decreased significantly in the high dose ($p < 0.05$). The mean platelet volume decreased significantly in the high dose ($p < 0.05$). The number of white blood cells significantly ($p < 0.05$) decreased in the high dose treated rats. The number of lymphocytes decreased significantly ($p < 0.05$) in the high dose, while the number of granulocytes and monocytes had a tendency to decrease depending on the dose of 2BP. Histopathology of the testes treated with the middle and the high dose of 2BP showed a typical patch appearance with severely depleted atrophic tubules, exhibiting germ cell necrosis of spermatogonia and spermatocytes in the seminiferous tubules. Leydig cell hyperplasia or hypertrophy in the interstitial tissue was also noticeable. The epididymis showed some degree of atrophy with vacuolization of the epididymal epithelium.

Conclusions The testes are the main target organs tested for 2BP toxicity. 2BP also affected the hematopoietic system, thus inducing leukopenia, and normocytic anemia. Besides the reproductive organs and the hematopoietic system, no significant toxicity was found in other organs.

I. Introduction

A recent case series study on the mass intoxication of workers at an electronic factory in Korea indicated that 2-bromopropane (2BP; isopropyl bromide) was the possible causative chemical for reproductive and hematopoietic toxicity (1-3). The case report indicated that 17 of 25 female workers showed ovarian dysfunction accompanied by amenorrhea and severe anemia, and 6 of 8 male workers had oligospermia or azoospermia (1). One worker with azoospermia also had pancytopenia (1). The duration of 2BP exposure in the workers varied from 4 months to 16 months with an average duration of 10 months of exposure (1-2). The reproductive and general toxicity of 2BP has never been documented well.

2BP has been used in operating tact switch manufacturing in the electronic company as a substitute for Freon 113 (trichlorotrifluoroethane). These workers were known to be exposed to a cleaning solution which was a mixture (1:180) of a commercial product SPG-6AR and Solvent 5200. SPG-6AR was composed of mainly 2BP (60.7%), heptane (33%), and 1,1,1-trichloroethane (1.55%), and other chemicals such as 1,2-dibromopropane, nitromethane were detected at a level less than 1%. The main component of Solvent 5200 was 2BP (99.1%), and it also contained 1,2-dibromopropane (0.2%) (2). In addition, this chemical has been used as a substitution for trichloroethylene to extract content from asphalt mixture, described in the pavement test method (4). MSDS on 2BP describes 2BP as a rather safe chemical with 4837 mg/kg of LD50 and 36 g/m³ of LC50 (5). In our recent study, LC50 of 2BP was 31,171 ppm in ICR mice (2). Mutagenesis of 2BP has been investigated by using the Ames test, a chromosomal aberration test and a micronucleus test. Although 2BP was tested positive in the Ames test, the results proved negative for both the micronucleus test using experimental animals and the chromosomal aberration test using in vitro cultured Chinese hamster lung cells (3). Two laboratories conducted acute oral toxicity tests and found the lethal dose of 2BP to be lower than 2000 mg/kg, but no reproductive toxicity was found (6-8).

In this report, we describe our recent findings on the reproductive toxicity as well as other toxicities of 2BP in a 28-day repeated dose experiment in rats.

II. Materials and methods

Test chemicals: 2BP was purchased from Tokyo Kasei Co. Ltd. (Japan). The chemical purity tested by mass spectrophotometrical analysis was essentially 99%. The gas chromatographical (GC/FID) analysis did not detect any extraneous peaks. No decomposition of the compound was noted during storage. 2BP was mixed with vehicle olive oil (Sigma, USA) and injected into intraperitonea of rats. Animals: 10-week old male specific pathogen-free Sprague Dawley rats were purchased from the Daehan Animal Center (Korea). The animals were acclimatized for two weeks before initiation of the experiment. Animal chamber temperature and relative humidity were regulated within limits of 23 ± 2 °C and $55 \pm 7\%$, respectively in a safety clean rack (MJ-721 CS(P), Myung-Jin, Korea). The rats were maintained in a 12 hour light/dark cycle. Purina rodent chow (Korea) and filtered water were offered ad libitum. Sets of 3-4 rats divided into polycarbonate cages. 10 rats of each set were blocked by body weight and randomly assigned to 1 of 4 groups (10/sex/group) 7 days prior to the initiation of the experiment. The dose levels were 0 (control), 125 (low dose), 250 (middle dose), and 500 mg/kg body weight (high dose). 2BP dissolved in vehicle olive oil was injected into intraperitoneum 6 times per week for 4 weeks. On the day of grouping, mean body weight was approximately 300 g for each male group. Animals were examined daily during weekdays for evidence of any treatment related effects including respiratory, dermal, behavioral, nasal, or genitourinary changes suggestive of irritancy. Food consumption was measured every 3 day during the 28 days of treatment. Body weights were evaluated at the time of purchase, grouping, and twice a week after initiation of the experiment, and before necropsy.

Biochemistry and Hematology: Animals were nearly 16 weeks old when necropsies were processed. The animals were fasted one day before necropsy. On the last study day, the animals were briefly anesthetized with ether, and blood was collected from the abdominal aorta. The blood was then analyzed for aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), glucose, urea nitrogen in blood (BUN), total protein, cholesterol creatinine, and total bilirubin concentration. The blood was further analyzed for red blood cell counts (RBC), white blood cell counts (WBC), hemoglobin concentration (HGB), hematocrit (HCT), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), differential smear evaluation, and platelet counts.

Pathology and organ weight: After the collection of blood, the rats were sacrificed by cervical dislocation. The adrenals, ovaries, testes, heart, lungs, kidneys, spleen, liver and brain were removed and weighed, and fixed in a 10% formalin solution containing neutral phosphate buffered saline. Aside from liver, kidney and reproductive organs, the other organs showing significant weight changes were embedded in paraffin, stained with hematoxylin and eosin, and examined by light microscopy.

Statistical analysis: Two-way ANOVA and Duncan's multiple range test were used to compare the body weight, the organ weight, and blood biochemistry and hematology values of the control with the other three groups.

III. Results

Animal observation

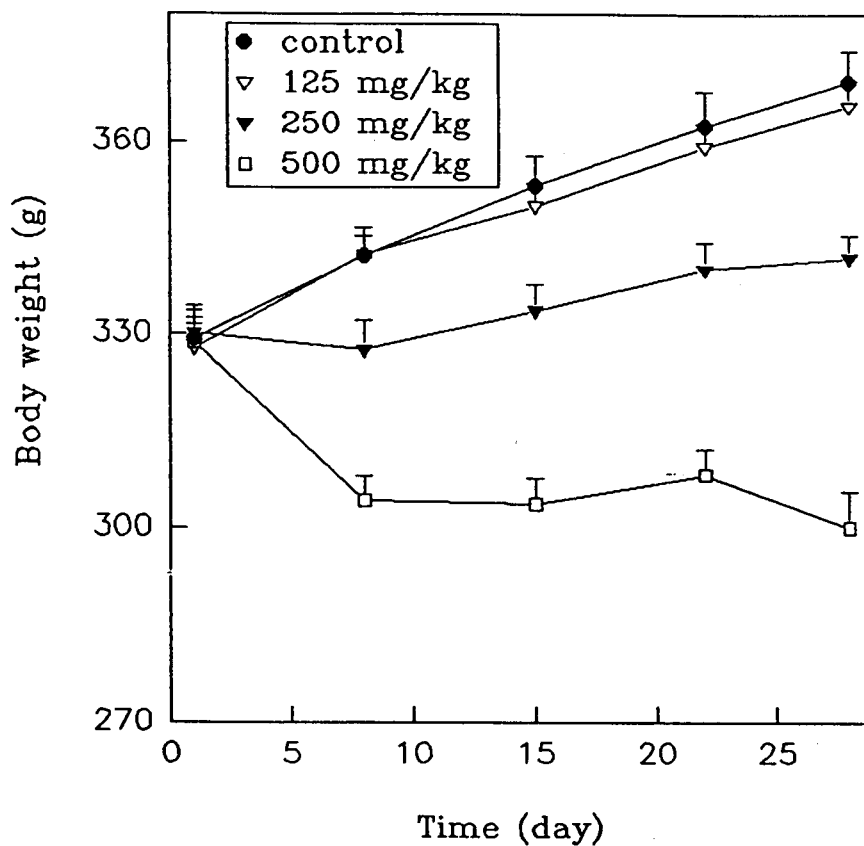
2BP treated animals fell into a dizzy state showing that two rats were looking at each other and became lethargic after 15 minutes of the treatment.

Body weight development

The rats treated with 2BP showed significant decreases ($p < 0.05$) in body weight depending on the dose of 2BP during the 28 days of the experiment (Figure 1). The low dose treatment showed similar body weight development as seen in the control, while the middle and high doses of 2BP treatment resulted in a significant decline in body weight significantly ($p < 0.05$).

Figure 1. Body weight changes of male rats during 28 days of 2BP treatment.

Male rats were treated with 0, 125, 250, and 500 mg/kg of 2BP for 28 days. 10 male rats were assigned to each treatment group. Body weight was measured at the time of grouping and twice per week after the initiation of the experiment. * indicates $p < 0.05$ versus control.



Terminal organ weight

The terminal organ weights are summarized in Table 1. Several organs showed a statistically significant ($p < 0.05$) weight loss. In male rats, right and left testes showed typical weight losses depending on the dose of 2BP. The dose dependent weight loss in testes is evident when the testes weight is normalized by 100 g of body weight (Table 1). The relative weight losses in testes were 14-15% for the middle dose and 19-30% for the high dose ($p < 0.05$). Besides the testes, no other organs showed any significant organ weight loss.

Table 1. Relative organ weights of male rats treated with 2-bromopropane for 28 days.

	Control (10)	125mg (10)	250 mg (10)	500 mg (10)
	g	g	g	g
Initial				
body wt.	300.5 ± 14.3	300.7 ± 12.7	300.3 ± 12.7	301.4 ± 13.2
Terminal				
body wt.	356.7 ± 16.1	352.5 ± 11.8	330.4 ± 10.7*	289.8 ± 16.0*
	mg	mg	mg	mg
Adrenal R	14.8 ± 4.0	12.8 ± 1.6	16.1 ± 1.7*	18.4 ± 3.6*
Adrenal L	12.1 ± 2.8	13.0 ± 3.3	15.5 ± 1.8*	16.3 ± 3.5*
Testis R	465.6 ± 65.0	465.6 ± 38.4	401.3 ± 49.0*	378.6 ± 74.0*
Testis L	475.5 ± 30.7	467.9 ± 36.7	402.9 ± 49.3*	329.8 ± 88.8*
Heart	334.5 ± 29.8	357.0 ± 13.8*	355.8 ± 18.3*	344.2 ± 27.6
Lung R	264.0 ± 15.7	284.6 ± 34.3	281.3 ± 16.6	327.6 ± 38.7*
Lung L	141.9 ± 10.9	146.4 ± 12.1	153.2 ± 5.7	181.2 ± 27.8*
Kidney R	350.4 ± 24.3	371.1 ± 21.2*	389.9 ± 75.0	349.0 ± 24.0
Kidney L	345.8 ± 19.8	367.1 ± 19.0	359.0 ± 23.0	349.0 ± 26.1
Spleen	204.5 ± 14.1	206.8 ± 8.3	203.3 ± 23.4	253.2 ± 51.0*
Liver	2815.3 ± 101.2	2899.8 ± 100.1	2877.3 ± 137.9	3159.7 ± 127.6*
Brain	554.1 ± 25.5	560.3 ± 34.2	576.7 ± 42.1	664.1 ± 42.1*

* indicates $p < 0.05$ versus control.

() indicates number of male rats on study.

Organ weight was normalized to 100 g of body weight.

Blood chemistry and hematological examination

The number of RBC, and hematocrit (HCT) showed some degree of decline in the high dose treated rats, though not a significant level (Table 2). RDW increased in male rats in the high dose, though not a significant level (Table 2). The hemoglobin (HGB)

and mean platelet volume (MPV) significantly decreased in the high dose group ($p < 0.05$) (Table 2). The number of white blood cells (WBC) significantly decreased in the high dose group ($p < 0.05$) (Table 2). The number of granulocytes and monocytes had a tendency to decrease depending on the dose of 2BP. This tendency was more apparent in the analysis of lymphocyte numbers ($p < 0.05$) (Table 2).

Table 2. Hematology data for male rats

	Control	125 mg	250 mg	500 mg
WBC	9.73 \pm 2.14	8.57 \pm 1.51	7.79 \pm 2.02	5.39 \pm 1.92*
Lymph	8.43 \pm 1.27	7.38 \pm 1.11	6.62 \pm 1.04	4.88 \pm 1.70*
Mono	0.83 \pm 0.68	0.67 \pm 0.39	0.65 \pm 0.65	0.27 \pm 0.18
Gran	0.48 \pm 0.22	0.52 \pm 0.13	0.52 \pm 0.64	0.24 \pm 0.12
RBC	7.83 \pm 2.45	10.00 \pm 3.80	8.32 \pm 1.84	6.04 \pm 2.03
HGB	17.43 \pm 6.58	19.11 \pm 4.66	17.36 \pm 3.36	12.11 \pm 3.20*
HCT	42.89 \pm 12.97	54.15 \pm 20.20	45.31 \pm 10.46	34.06 \pm 9.46
MCV	54.91 \pm 1.00	54.29 \pm 0.95	54.42 \pm 1.20	58.21 \pm 7.88
MCH	21.20 \pm 1.41	19.24 \pm 2.59	20.00 \pm 1.67	21.34 \pm 2.62
MCHC	38.49 \pm 2.18	35.42 \pm 4.46	36.73 \pm 3.87	36.97 \pm 3.92
RDW	17.40 \pm 3.11	18.89 \pm 3.74	18.11 \pm 3.76	20.94 \pm 4.37
PLT	995.6 \pm 311.4	1087.4 \pm 499.6	941.1 \pm 321.0	861.2 \pm 205.4
MPV	6.63 \pm 0.26	6.72 \pm 0.34	6.50 \pm 0.29	5.88 \pm 0.27*
%LYM	87.88 \pm 6.05	86.51 \pm 3.34	86.84 \pm 9.31	91.06 \pm 2.68
%MONO	7.63 \pm 4.42	7.42 \pm 3.06	7.17 \pm 4.82	4.82 \pm 1.74
%GRAN	4.50 \pm 1.71	6.06 \pm 1.02	5.99 \pm 4.58	4.12 \pm 1.77

* indicates $p < 0.05$ versus control.

WBC, white blood cell count (103/mm³); Lymph, lymphocyte count (103/mm³); Mono, monocyte count (103/mm³); Gran, granulocyte count (103/mm³); RBC, red blood cell count (106/mm³), hemoglobin (g/dl); HCT, hematocrit (%); MCV, mean corpuscular volume (μ 3); MCH, mean corpuscular hemoglobin (pg); MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration (%); RDW, red cell volume distribution width (μ 3); %LYM, % of lymphocyte; %MONO, % of monocyte; %GRAN, % of granulocyte.

The blood chemical analysis of 2BP treated experimental animals did not show any significant increase in AST, ALT, and ALP values in a dose dependent manner (Table 3). In addition, any significant increases in urea nitrogen in blood (BUN) and creatinine (CREA) were not detected (Table 3). Increases in blood glucose (GLUC) was noticed in low and middle dose treated rats ($p < 0.05$) (Table 3). Interestingly, the level of cholesterol (CHOL) increased in the high dose group (Table 3).

Table 3. Blood chemistry data of male rats

	Control	125 mg	250 mg	500 mg
AST	130.2 ± 21.2	104.5 ± 9.9*	101.9 ± 10.7*	106.5 ± 18.7*
ALT	36.0 ± 3.1	35.2 ± 5.8	33.3 ± 4.4	33.0 ± 17.7
ALP	90.6 ± 19.5	85.7 ± 12.2	77.5 ± 16.0	48.0 ± 11.1*
PROT	5.1 ± 0.2	5.1 ± 0.2	5.1 ± 0.5	4.9 ± 0.3
GLUC	101.1 ± 10.0	114.9 ± 11.1*	116.9 ± 18.3*	104.2 ± 9.7
BUN	14.5 ± 2.6	12.4 ± 0.5*	11.4 ± 0.9*	11.8 ± 1.2*
CREA	0.41 ± 0.05	0.33 ± 0.02	0.37 ± 0.04	0.39 ± 0.05
CHOL	22.0 ± 3.9	21.8 ± 3.0	21.2 ± 3.6	29.3 ± 4.1*
TBIL	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.02*	0.05 ± 0.01

* indicates $p < 0.05$ versus control.

AST, aspartate aminotransferase (u/l); ALT, alanine aminotransferase (u/l); ALP, alkaline phosphatase (u/l); PROT, protein (mg/dl); GLUC, glucose (mg/dl); BUN, urea nitrogen in blood (mg/dl); CREA, creatinine (mg/dl); CHOL, cholesterol (mmol/l); TBIL, total bilirubin (mg/dl). Gross pathological examination

An apparent atrophy of the testes was observed in the low dose group to the high dose group, in comparison to the control. Besides the testes, no other distinct features in gross pathology were observed.

Histopathological examination

One of organs which displayed a distinctive decrease in body weight gain, absolute or relative, is the testis. Histopathological examination of the testes treated with the middle and the high dose of 2BP showed a typical patch appearance with severely depleted atrophic tubules (Figure 2 C and D), exhibiting germ cell necrosis of spermatogonia and spermatocytes in the seminiferous tubules (Figure 3 B). The seminiferous tubules were left with only Sertoli cells which showed extensive cytoplasmic vacuolization (Figure 3 B, arrows). Leydig cell hyperplasia or hypertrophy in the interstitial tissue was also noticeable (Figure 3B, arrow heads). In the epididymis, the caput epithelium showed some degree of atrophy with vacuolization of the epididymal epithelium (Figure 4 B, arrows). The epididymal duct contained sloughed epithelial cells with sperm cell aggregates (Figure 4 B, arrow heads). Occasionally, inflammatory cells were found in the lumen. Although other organs, such as the kidneys, the liver, and the pituitary, were examined histopathologically, no distinct histopathological findings were detected.

Figure 2. Histopathology of testes treated with 2BP.

Male rats were treated with 0, 125, 250, and 500 mg/kg of 2BP for 28 days. The animals were sacrificed, and the testes were removed and processed for histopathology. A. Vehicle control, B. 125 mg/kg of 2BP. Shows normal appearance of tubules. C. 250 mg/kg of 2BP. Tubular atrophy with a depletion of germ cell. D. 500 mg/kg of 2BP for 28 days. Typical patch appearance of severely depleted atrophic tubules. Note the atrophic seminiferous tubules in C & D compared with these of A. An apparent increase in interstitial Leydig cells can be seen. 100x objective.

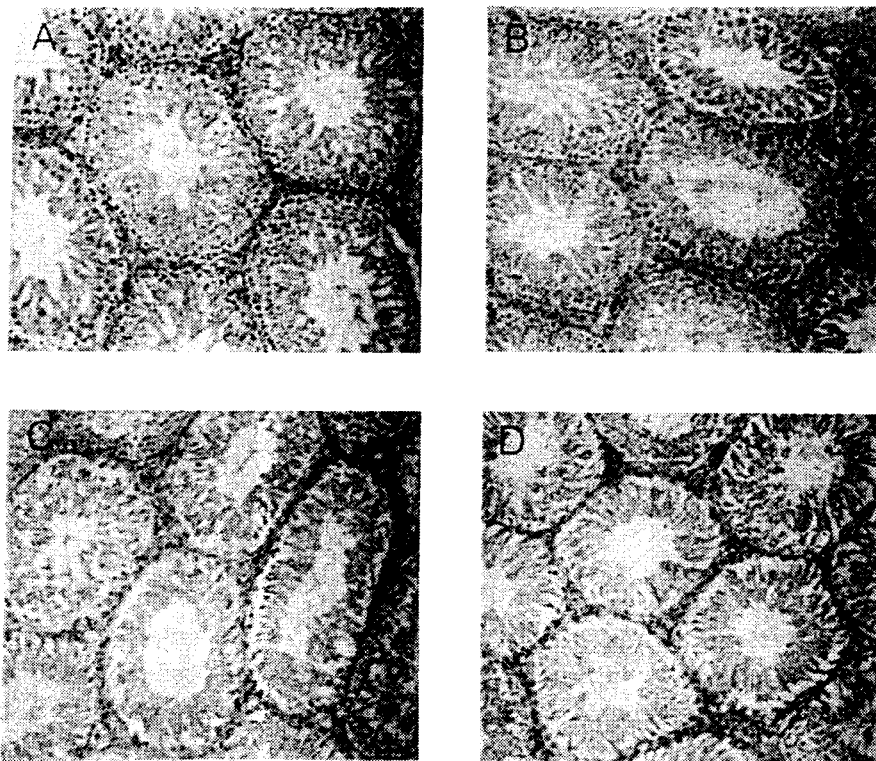


Figure 3. Depleted seminiferous tubules with interstitial
Leydig cell hyperplasia.

A. Vehicle control. Normal tubules with healthy looking germ cells. B. 500 mg/kg of 2BP. Severely depleted tubules were left with only Sertoli cells (arrows). Note extensive vacuolization of Sertoli cells. Interstitial Leydig cell hyperplasia can also be seen (arrow heads). 400x objective.

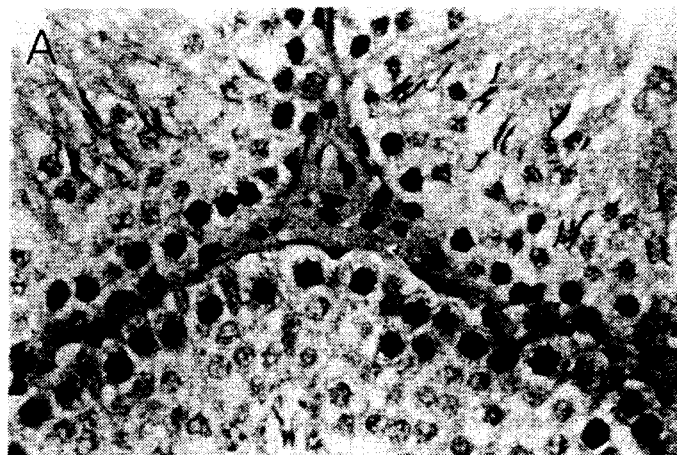
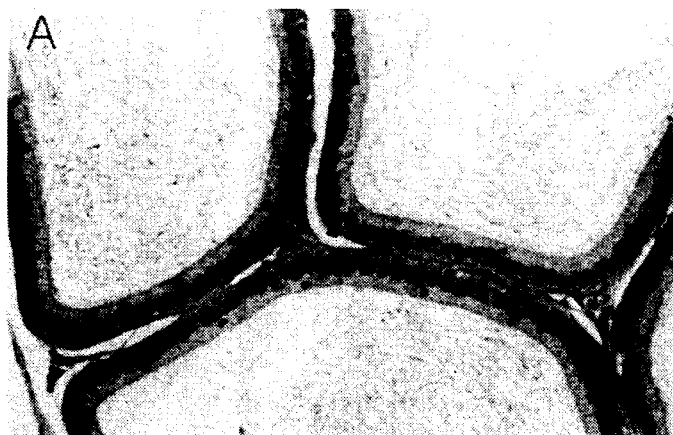


Figure 4. Histopathology of the Epididymis.

A. Vehicle control. Normal cauda epididymis with normal appearance of spermatid in the lumen. B. 500 mg/kg of 2BP. Vacuolization of epididymal epithelial cells (arrow heads) with many cells of spermatid aggregates (arrows) in the lumen. 200x objective.



IV. Discussion

Our study indicated that reproductive and hematopoietic toxicity were induced through 28 days of 2BP treatment. The weight loss of testes was most noticeable among organs when the organ weight was normalized to 100 g of body weight. In addition, histopathology also showed severe pathological lesions compared with other organs, including necrosis of spermatogonia and spermatocytes in seminiferous tubules. It was also suggested that 2BP did not affect other organs such as the liver and the kidney. The toxicity of 2BP presented a dose dependent manner, showing that higher doses exhibited more severe toxicity than lower doses in our 28-day repeated dose experiments. Recent our experiment further indicated that 2BP treatment induced a delay of the estrous cycle in female Sprague Dawley rats (9). 2BP treatment decreased ovarian weight and fertility, and tended to decrease in the number of pups born, depending on the dose (9). Therefore, together with our recent experiment in female rats, our data strongly supports the conclusion that the causal agent for the bone marrow and reproductive toxicity among the electronic company workers might be 2BP.

The other main toxicity caused by 2BP is an aberration of the hematopoietic system. In our study, leukopenia accompanied anemia, which is similar to the workers who were exposed to 2BP and diagnosed as pancytopenia (1). The anemia noticed in the workers was macrocytic anemia which increased the MCV and anisocytosis, which in turn exhibited on increase in RDW (personal communication). These symptoms were usually noticed in aplastic anemia patients or patients treated with cytotoxic drugs (10). It has been known that the anemia caused by toxic chemicals showed an increase of reticulocytes or erythrocyte progenitor cells in the circulating blood of subject animals and humans (11-12). A micronucleus test carried out simultaneously with the 28 day repeated dose toxicity test for 2BP indicated that there was a significant decrease in the percentage of polychromatic erythrocytes in the total number of erythrocytes without increasing in the micronucleus frequencies (3). Together with this result, our results suggest that there may be bone marrow depression in hematopoiesis due to 2BP treatment.

It has been shown that exposure to dibromochloropropane (DBCP) caused severe reproductive functional damage in several workers. According to the follow-up study of DBCP, some workers exposed to DBCP showed that there were high levels of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) even after 17 years of the exposure (13). In the case of 2BP intoxication, the type of reproductive toxicity is very similar to that seen in DBCP. Many workers showed high levels of FSH and demonstrated difficulty in recovering reproductive functions even after the termination of 2BP exposure (1). Histopathological findings observed in DBCP treated animals showed severe injuries in the testicles, kidneys, and lungs (14-17). The findings showed that the testicles completely atrophied along with irreversible aspermatogenesis. The renal injury was characterized by proximal tubular necrosis in the outer medulla (14, 16). 2BP treatment also showed a similar histopathology as that of DBCP treatment, displaying testicular atrophy with extensive loss of germ cells in

the atrophic seminiferous tubules. In an animal experiment using DBCP, the reproductive toxicity was induced by 300 mg/kg body weight of DBCP in short durations (3-7 days) by intraperitoneal injection or 10 ppm of DBCP exposure within air for 14 days (14, 18). In contrast, the reproductive toxicity induced by 2BP required higher concentration and a longer duration of time than DBCP. In fact, the results of our satellite experiment, which started at the same time with a 28 day repeated dose experiment, showed that the atrophy of testes was irreversible, even though the treated animals (500 mg/kg) were given a recovery period of 6 weeks after the experiment (data not shown). Our histopathological findings and the case report data suggested that 2BP also may cause severe irreversible damage to the reproductive organs of heavily exposed workers, similar to that of DBCP.

Since we do not know the actual ambient concentration of 2BP in workplaces, it is difficult to determine the level of exposure causing reproductive toxicity. Our epidemiological investigation team measured ambient concentrations of 2BP in simulated working conditions after the incident. The team found that 2BP concentration from 14 area samples in the tactile switch assembling room was 9.2-19.6 ppm under the simulated setting (19). Occasionally, the workers might experience a very high short term exposure level of several thousand ppm during the manipulation of the cleaning solution baths, and some workers actually touched 2BP with bare hands during the changing of the solvent (1). An epidemiological study revealed that the ambient concentration of 2BP was maintained constantly since the workplace was not equipped with proper ventilation system and operated 24 hours a day for 7 days a week (19). It is suggested that the workers showing the symptoms of reproductive and hematopoietic toxicities might have been exposed to high levels of 2BP for a long duration (4-16 months) of time, as described in the case study.

The route of exposure, intraperitoneal, used in this experiment is not an actual route of exposure in workplaces. It might be disadvantageous from the risk assessment aspect when the route of administration is intraperitoneal, because of toxicological reasons; first-pass effect through liver do not take place in inhalation routes, and other comparability reasons. Although the toxicology outcome could be changed due to different routes of exposure, our experiment showed satisfiable reproducible results shown in actual exposed workers. Inhalation toxicity tests are required if the result of the intraperitoneal experiment is negative for toxicity. Since many toxicities seen in workers are reproducible using intraperitoneal exposure, the route of exposure may not be critical in this case.

V. References

1. Kim Y, Jung K, Hwang T, Jung G, Kim H, Park J, et al. Hematopoietic and reproductive hazards of Korean electronic workers exposed to solvents containing 2-bromopropane. *Scand J Work Environ Health* 1996; 22:394-8.
2. Kim HY, Chung YH, Yi KH, Kim JG, Yu IJ. LC50 of 2-Bromopropane. *Ind Health* 1996; 403-407
3. Maeng SH, Yu IJ. Mutagenicity of 2-Bromopropane. *Ind Health* 1997; 35: 87-95.
4. Handbook of pavement test method: Method of test for extraction of asphalt from asphalt mixture. Tokyo:Japanese Association of Pathway, 1988.
5. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS), RTEC number TX 4111000, Cincinnati: National Institute for Occupational Safety and Health, 1995.
6. Acute oral toxicity test of solvent #5200 in rat. Taejon (Korea): Korea Research Institute of Chemical Technology, 1995.
7. Acute oral toxicity test of solvent #5200 in rat. Test number A16-0236, Hita (Japan): Chemical Inspection and Testing Institute, Hita Research Laboratories, 1995.
8. Acute oral toxicity test of SPG6-AR in rat. Test number A16-0237, Hita (Japan): Chemical Inspection and Testing Institute, Hita Research Laboratories, 1995.
9. Lim CH, Maeng SH, Lee JY, Chung YH, Kim TG, Park JH et al. Effects of 2-bromopropane on the female reproductive function in Sprague-Dawley rats, *Ind Health* 1997; 35: in press.
10. Irons RD. Blood and bone marrow. In: Haschek WG & Rousseaux CG, eds. *Handbook of toxicologic pathology*. San Diego: Academic Press 1991:389-419.
11. Rosin J, Bartosz G, Wronska-Nofer T, Studies on the effect of ethanol and/or toluene on rat erythrocytes, *J Appl Toxicol* 1988; 8:369-72.
12. Hee SQ, *Biological monitoring an introduction*, NY: Van Nostrand Reinhold 1993: 230-299.
13. Potashnik G, Porath A, Dibromochloropropane (DBCP): A 17 year reassessment of testicular function and reproductive performance, *J Occup Environ Med*, 1995; 37(11): 1287-1292.

14. Saegusa J, Hiromichi H, Kawai K. Toxicity of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP): I. Histopathological examination of male rats exposed to DBCP vapor, Ind Health, 1982; 20: 315-323.
15. Saegusa J. Cumulative effects of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) on kidney and testis, Ind Health 1989; 27: 49-58.
16. Kluwe WM, Acute toxicity of 1,2-dibromo-3-chloropropane in the F344 male rat. I. Dose response relationships and differences in routes or exposure. Toxicol Appl Pharmacol 1981; 59: 71-83.
17. Kluwe WM. II. Development and repair of the renal epididymal, testicular and hepatic lesions. Toxicol Appl Pharmacol 1981; 59: 84.
18. Saegusa J, Radiomimetic toxicity of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP), Ind Health, 1986; 34: 1-14.
19. Park JS, Kim Y, Park DW, Choi KS, Park SH, Moon YH. An outbreak of hematopoietic and reproductive disorders due to solvents containing 2-bromopropane in an electronic factory, South Korea: Epidemiological survey. J. Occup Health 1997; 38: in press.

Acknowledgement

This study was supported by a fund from the Korea Industrial Safety Corporation and the Ministry of Labor. We acknowledge the assistance of Dr. Jin Soo Han at Samsung Biomedical Research Institute for analyzing blood samples. Authors also give sincere appreciation to Japanese scientists involved in the 4 years of Korean-Japanese Cooperative project on Prevention of Occupational Diseases for Korean Workers. Without guidance and assistance given by scientists of Japan Bioassay Research Center, this work could not be achieved.