

肺石綿症에 關한 實驗的 研究

—肺胞洗滌液 細胞觀察所見과 肺病理組織學的 變化—

〈指導 李 文 鎬 教授〉

仁濟醫大 內科

金 東 洵

緒 論

오늘날 産業의 發達로 여러나라에서 石綿類의 使用이 急増되고 있는 實情이나¹⁾, 先進國에서는 石綿이 慢性肺疾患 및²⁻⁵⁾ 惡性腫瘍을⁶⁻¹¹⁾ 誘發한다는 事實이 알려진 以來, 作業環境을 徹底히 規制하고 있고, 人體에 危害가 적은 fiber glass로 代置하고 있다. 現在 우리나라는 先進國에 발맞추어 産業이 急速度로 發展하고 있고, 그 中에서도 重工業의 發達로 造船, 建築, 自動車産業分野에서 石綿의 利用度도 높다. 國家的으로는 作業環境의 石綿汚染度限界를 規制하고 있으나, 아직도 一般産業人들의 石綿의 危害에 대한 認識이 不足하며, 우리나라에서는 石綿肺에 對한 報告나 實驗的 研究도 전혀 없는 實情이다. 그러나 우리나라의 重工業 發達이 胎動한지, 20餘年에 이르는 오늘날, 조만간에 이들 慢性肺疾患이 보다 많이 發見될 것이 豫見됨으로써 對한 관심과 研究가 時急히 要求된다.

石綿이 肺疾患을 誘發한다는 事實은 오래전부터 알려져 왔으나, 1927年 Cooke¹²⁾가 처음으로 石綿肺라는 명칭 아래 症例를 報告한 以來, Wagner^{12, 13)}, Holt 등^{14, 15)}, Davis 등¹⁶⁾, Hiatt¹⁷⁾, Vorwald 등¹⁸⁾, Suzuki²⁰⁾가 各種動物에 吸入, 氣道內注入, 肋腔腔內 注入, 靜脈注射 등의 方法으로 石綿을 投與하여 觀察하였다. 이들 動物에서도 肺纖維症 및 中皮腫(mesothelioma), 肺癌 등의 惡性腫瘍이 發生하며, 潛伏期가 길고 暴露된 石綿의 量에 따라 病變의 程度가 다른 것이 알려졌다. 또한 石綿種類에 따라 病變의 發生頻도가 다른 것이 報告되었는데, 特히 中皮腫의 경우 crocidolite에서 가장 頻도가 높고^{9, 11)} chrysotile이 가장 낮은 것으로 되어 있다. 그러나 石綿肺의 경우, 一般的으로는 中皮腫과

비슷하게 crocidolite에서 가장 많다고 생각되나^{1, 12, 15)}, 種類에 따른 差異가 없다고 報告한 사람이 있는가 하던¹⁹⁾ Davis 등은 오히려 chrysotile이 가장 높다고主張하여¹⁶⁾ 아직도 밝혀져야 할 課題로 남아 있다.

現在 이러한 肺疾患들의 發生機轉이²²⁻²⁴⁾ 石綿研究의 焦點이 되어, 여러가지 假說들이 거론되었으나, 아직도 明確히 밝혀지지 못하고 있다. 最近 氣管枝肺胞洗滌法이 도입되어²⁵⁻²⁷⁾ 肺疾患의 研究에 많은 寄與를 하고 있고, 石綿症에서도 肺胞洗滌液上 好中球가 增加하였다는 報告들이 있으나²⁷⁻²⁹⁾, 그 程度나 期間, 對照群과의 比較, 石綿種類에 따른 差異나, 肺組織變化와의 比較等 仔細한 研究는 되어 있지 못하다. 그리고 Tetley 등³⁰⁾은 動物實驗上, 肺內 流動細胞의 98%가 肺胞大食細胞라고 記述하여, 異見을 보이고 있다. 또한 現在까지 大部分의 石綿症의 病理組織變化는 모두 單核球浸潤만을 強調한 炎症像과 後期の 纖維化만을 觀察하였고, 好中球浸潤에 關해서는 言及되지 않았다¹³⁻¹⁹⁾.

한편, 肺胞洗滌法이 널리 使用되고 있으나, 아직도 肺胞洗滌液所見과 組織變化의 相關關係를 자세히 比較한 報告는 없다.

이에 著者は 원쥐를 使用하여 UICC(International Union Against Cancer) 標準石綿中, Canada產 chrysotile 4mg, 20 mg과 crocidolite 20 mg을 氣道內 注入하고 肺胞洗滌液細胞變動과 組織變化를 一定期間間隔으로 觀察하여, 石綿 投與量 및 種類에 따른 差異를 調査하는 한편, 肺胞洗滌液所見과 肺組織所見을 比較觀察하였다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

動物은 健康한 純種 Wistar 원쥐로 生後 約 2個月

接 受: 84年 2月 10日

Table 1. Numbers of Animals in Each Groups

Groups	Duration			
	3 Hours	1 week	3 Weeks	6 Weeks
Control	6	7	6	5
Chrysotile, 4 mg	6	10	6	5
Chrysotile, 20 mg	4	4	4	—
Crocidolite, 20 mg	4	6	4	—

되, 體重 120~150 gm의 암컷을 使用하였다. 動物은 實驗群에 따라 4~5마리씩 隔離하여, 固形飼料과 水分을 充分히 주어 飼育하였고 各 實驗群에 使用된 動物의 數는 Table 1과 같다.

2. 實驗材料

本實驗에 使用된 石棉은 英國 塵肺症研究所의 Dr. Timbrell이 寄贈한 UICC 標準石棉中, Canada產 chrysotile과 crocidolite이고 이들의 製造方法, 化學成分, 크기分布 등은 Timbrell 등^{31~33)}이 이미 發表한 바와 같다.

石棉은 生理食鹽水에 混合한 후 ultrasonic disintegrator로 細分시켜 均等한 溶液을 만든 다음, 液體周期(liquid cycle) 高壓蒸氣消毒을 하였다. Ultrasonic disintegrator로 처리된 石棉纖維의 길이는 塗抹標本에서 顯微鏡으로 觀察하였다.

Chrysotile 섬유는 2μ 이하가 약 30%, $2\sim5\mu$ 이 20%, $5\sim7\mu$ 이 20%, $7\sim10\mu$ 이 15%, 10μ 이상이 15%이었다. Crocidolite는 2μ 이하가 66%, $2\sim5\mu$ 이 11%, $5\sim10\mu$ 이 14%, $10\sim15\mu$ 이 5%, $15\sim20\mu$ 이 3%, 20μ 이상이 1%이었다.

3. 實驗方法

1) 石棉投與方法

體重 100 g 당 pentothal 25 mg을 腹腔內 注射해 全身마취를 시키고 無菌의으로 頸部切開를 하여 注射器로 石棉浮遊液을 低濃度 chrysotile 投與群에서는 40 mg/ml 液 0.1 ml, 高濃度 chrysotile 投與群 및 crocidolite 投與群에는 100 mg/ml 液 0.2 ml 씩을 氣道內 注入하였고, 對照群에는 生理食鹽水 0.1 ml을 注入하였다. 다음 空氣를 1.0 ml 씩 넣어 石棉이 肺內로 들어가는 것을 確認하였다. 注入한 다음 kanamycin 10mg 씩을 筋肉內 投與하였다.

2) 氣管枝肺泡洗滌方法

石棉을 注入한 後, 3時間, 1週, 3週, 6週에 다시

pentothal로 全身마취시키고, 먼저 心臟穿刺를 하여, 血液을 전부 除去하고 頸部切開를 한 다음, 氣管에 14번 靜脈導子를 挿入하고 4°C 生理食鹽水로 6cc씩 10번 洗滌을 시행하였다. 回收한 肺泡洗滌液은 먼저 3~4장의 꺼즈를 通過시켜 粘液 등을 걸러낸 후, 容積을 測定하고 500 G에서 10分間 遠心分離하였다. 上層液은 버리고 細胞層은 2 ml 生理食鹽水로 稀釋하여 hemocytometer로 上皮細胞를 除外한 全細胞數를 測定하였다. 細胞鑑別算出은 crystal violet로 生體染色하여 觀察하고, 一部는 細胞遠心分離(cyocentrifuge)를 1,300 RPM에서 8分間 하여 Papanicolaou 染色으로, 300개 以上の細胞를 세어 算出하였다. 작은 肺胞大食細胞와 크기가 큰 淋巴球가 이들만으로 鑑別이 힘들 경우 neutral red 染色을³⁴⁾兼하였다.

3) 病理組織學的 檢査方法

肺泡洗滌後 곧 靜脈導子를 통해 8cc formalin 溶液을 注入하고 導子를 빼었다. 氣道를 縫合하고 開胸하여 兩肺를 함께 摘出해 組織檢索用 10% 中性 formalin 液에 48時間 以上 固定하였다. Paraffin 包埋法으로 $4\sim5\mu$ 으로 薄切한 후, 病變이 甚한 部位를 包含한 肺全葉에서 組織切片을 採取하여 hematoxylin-eosin 染色을 施行하여 光學顯微鏡으로 觀察하였으며, 必要에 따라 reticulin 鍍銀染色 및 Masson-trichrome 膠原染色을 實施하여 觀察하였다. 觀察된 病變을 우선 部位에 따라 氣管에서부터 小氣管枝까지의 全氣管枝變化와, 終末細氣管枝(terminal bronchiole), 呼吸性細氣管枝(respiratory bronchiole), 肺胞管(alveolar duct) 및 肺胞囊(alveolar sac)變化로 區分하였고, 呼吸性細氣管枝부터는, 다시 間質變化와 肺胞內變化로 나누어 觀察하였다. 病變의 程度는 輕度로 局所的인 것은(土), 輕度로 全葉에 걸친 濕漫性의 變化는(+), 中等度는(卅), 高度는(卅)로 表記하였고 各實驗群動物 個個의 病變度의 平均値로서 그 實驗群의 代表로 하였다.

4) 統計處理方法

肺泡洗滌液內 好中球와 淋巴球의 百分率의 時間경과에 따른 差異 및 各 實驗群사이의 差異에 대한 統計學的 有意性은 analysis of variance 方法으로 檢定하였고 그 외에는 Student's t-test를 使用하였다.

實驗成績

1. 肺泡洗滌液 觀察所見

洗滌을 위해 氣道內 注入한 理食鹽水는 注入한 容量의 86%를 回收할 수 있었으며, 各 實驗群사이의 有意

Table 2. Numbers of Total Cells in Bronchoalveolar Lavage Fluid ($\times 10^6$ Cells)

Groups \ Duration	3 Hours	1 week	3 weeks	6 weeks
Control	1.86 $\pm$ 0.79	2.09 $\pm$ 0.82	2.32 $\pm$ 1.01*	6.20 $\pm$ 2.93*
Chrysotile, 4 mg	2.68 $\pm$ 1.81	4.94 $\pm$ 3.47	2.38 $\pm$ 0.91**	7.67 $\pm$ 4.19**
Chrysotile, 20 mg	1.83 $\pm$ 0.94	1.58 $\pm$ 0.70	2.58 $\pm$ 0.80	—
Crocidolite, 20 mg	1.50 $\pm$ 0.68	3.35 $\pm$ 2.33	2.43 $\pm$ 0.76	—

○ Mean $\pm$ S.D.

○ P value: *—* } 0.01 < p < 0.05
 ***—** }

Table 3. Percentage of Neutrophils in Bronchoalveolar Lavage Fluid (Unit: %)

Groups \ Duration	3 Hours	1 Week	3 Weeks	6 Weeks	P value
Control	2.08 $\pm$ 0.90	1.59 $\pm$ 0.89	2.58 $\pm$ 2.13	3.26 $\pm$ 1.46	N.S.
Chrysotile, 4 mg	15.45 $\pm$ 7.89	13.37 $\pm$ 7.71	5.73 $\pm$ 3.86	6.54 $\pm$ 1.46	p<0.05
Chrysotile, 20 mg	15.30 $\pm$ 0.19	11.60 $\pm$ 7.25	14.75 $\pm$ 10.90	—	N.S.
Crocidolite 20 mg	12.20 $\pm$ 8.63	19.33 $\pm$ 12.27	13.58 $\pm$ 9.93	—	N.S.
P value	p<0.01	p<0.01	p<0.01	N.S.	

Mean $\pm$ S.D.

N.S.: Statistically non-significant.

한 差異는 없었다. 肺胞洗滌液內, 上皮細胞를 除外한 全體 細胞數는 1×10^6 개에서 12×10^6 개까지 個個差가 심했으며 各 實驗群의 平均値는 Table 2에 表示된 바와 같이 實驗群과 對照群 모두에서 6週群에서 3週群보다 細胞數가 有意하게 增加된 것 외에는 ($0.01 < p < 0.05$) 各 實驗群사이에 統計學的으로 有意한 差異는 없었다.

生理食鹽水를 注入한 후 施行한 肺胞洗滌液의 Papanicolaou 染色所見은 거의 大部分이 肺胞大食細胞이고 小數의 淋巴球과 極少數의 好中球를 볼 수 있었으나 이에 반해 實驗群의 肺胞洗滌液 Papanicolaou 染色所見은 肺胞大食細胞外에도 好中球가 多數 보이고 있고, 多核巨大細胞도 함께 나타났다.

1) 好中球變化

細胞鑑別算出上 各實驗群의 好中球의 百分率은 Table 3과 같다. 卽 對照群의 好中球는 3時間 觀察群에서 $2.08 \pm 0.90\%$ 이고 chrysotile 4 mg 投與群에서는 $15.45 \pm 7.89\%$, chrysotile 20 mg 投與群에서는 $15.30 \pm 0.19\%$, crocidolite 20 mg 投與群에서는 $12.20 \pm 8.63\%$ 로 各 群間에 統計學的으로 (analysis of variance 方法) 有意한 差異가 있었으나 ($p < 0.01$), 이는 주로 對照群과 實驗群의 差異에 의한 것이고 實驗群 相互間에는 有意한 差異는 없었으며 (Student's t-test), 이러한 各群間의

好中球 百分率의 差異는 3週後까지 계속 觀察되었다.

低濃度 chrysotile 投與群에서는 時間경과에 따라 好中球가 減少되어 ($p < 0.05$), 6週後에는 對照群과 差異가 없었으나, 高濃度 chrysotile 및 高濃度 crocidolite 投與群에서는 時間경과에 따른 好中球의 減少는 對照할 수 없었다.

2) 淋巴球變化

肺胞洗滌液內 淋巴球의 百分率은 Table 4와 같다.

卽 淋巴球는 對照群 및 實驗群 전부에서 注入後 3週까지 時間경과에 따라 增加하는 것을 觀察하였고, 이러한 淋巴球의 增加는 高濃度 chrysotile 投與群을 除外한 全群에서 모두 統計學的으로 有意한 差異가 있었다 ($p < 0.01$).

또한 注入後 3時間에는 各 群間에 統計學的으로 有意한 差異는 없었으나, 1週後에는 對照群에서는 $4.39 \pm 3.35\%$, chrysotile 4 mg 投與群에서는 $8.85 \pm 2.00\%$, chrysotile 20 mg 投與群에서는 $12.63 \pm 6.13\%$, crocidolite 20 mg 投與群에서는 $12.67 \pm 2.16\%$ 로 各 群間에 統計學的으로 有意한 差異가 있었다 ($p < 0.01$). 이러한 投與群 사이의 差異는 3週後에도 계속 觀察되었으나 6週後에 對照群과 chrysotile 4 mg 投與群 사이에서는 觀察할 수 없었다.

Table 4. Percentage of Lymphocyte in Bronchialveolar Lavage Fluid (Unit: %)

Groups	3 Hours	1 week	3 weeks	6 weeks	P value
Control	3.18±2.86	4.39±3.35	8.43±2.37	8.58±1.60	p<0.01
Chrysotile, 4 mg	5.05±2.69	8.85±2.00	16.63±4.97	11.43±4.97	p<0.01
Chrysotile, 20 mg	7.10±0.66	12.63±6.13	16.75±10.31	—	N.S
Crocidolite, 20 mg	5.67±2.03	12.67±2.16	19.0±4.97	—	p<0.01
p value	N.S.	p<0.01	P<0.05	N.S.	

Mean±S.D.

N.S.: Statistically non-significant.

Table 5. Histopathologic Findings of Bronchi, Bronchioles, and Terminal Bronchioles in Control Group

	Duration of Observation			
	3 hours	1 week	3 weeks	6 weeks
Bronchi and bronchioles				
Peribronchial inflammation	—	—	±	+
Intraluminal PMN	—	—	—	—
Peribronchial PMN infiltration	—	—	—	—
Terminal bronchioles				
Peribronchiolar inflammation	—	—	±	±
Peribronchiolar fibrosis	—	—	—	—
Luminal macrophage	—	—	—	—
PMN	—	—	—	—
Peribronchiolar PMN infiltration	—	—	—	—
Nodular lesion	—	—	—	—

(-): Negative, (±): Mild and focal, (+): Mild and diffuse, (>): Moderate

PMN: polymorphonuclear leukocyte

Table 6. Histopathologic Findings of Bronchi and Bronchioles in Chrysotile Group

	Duration of Observation						
	Chrysotile 4 mg				Chrysotile 20 mg		
	3 hrs	1 wk	3 wks	6 wks	3 hrs	1 wk	3 wks
Bronchi and bronchioles							
Peribronchial infl.	±	±	+	+	+	±	+
Intraluminal PMN	±	—	—	—	+	±	—
Peribronchial PMN	±	±	—	±	+	+	±
Terminal bronchioles							
Peribronchiolar infl.	±	+	+	±	+	+	±
Peribronchiolar fibrosis	—	—	—	+	—	—	—
Intraluminal macrophage	±	+	±	+	+	+	—
Intraluminal PMN	±	—	—	±	+	+	—
Peribronchiolar PMN	±	±	—	—	+	±	±
Nodular lesion	—	±	±	±	—	+	+

(-): Negative, (±): Mild but focal, (+): Mild and diffuse, (>): Moderate.

PMN: Polymorphonuclear leukocyte, infl.: inflammation, hrs: hours, wk: week.

2. 肺의組織學的 所見

1) 氣管枝, 細氣管枝 및 終末細氣管枝의 組織學的 所見

對照群에서는 初期에는 局部的인 輕度の 炎症細胞浸

潤外에는 變化가 거의 없었으나, 生理食鹽水注入後 3週觀察群에서는 氣管枝周圍에 여러가지 單核球들의 浸潤이 나타나기 시작하였으며, 6週觀察群에서는 大部分의 群에서 輕度 또는 中等度の 炎症所見이 觀察되었다 (Table 5).

Table 7. Histopathologic Findings of Bronchi, Bronchioles, and Terminal Bronchioles in Crocidolite Group

	Duration of Observation		
	3 hours	1 week	3 weeks
Bronchi and bronchioles			
Peribronchial inflammation	—	±	+
Intraluminal PMN	—	+	±
Peribronchial PMN	—	+	+
Terminal bronchioles			
Peribronchiolar inflammation	±	±	±
Peribronchiolar fibrosis	—	—	—
Intraluminal macrophages	—	+	+
PMN	—	+	—
Peribronchiolar PMN	—	+	—
Nodular lesion	—	±	+

(—): Negative, (±): Mild and focal, (+): Mild and diffuse, (±): Moderate
PMN: Polymorphonuclear leukocyte

Table 8. Histopathologic Findings of Respiratory Bronchioles and Alveolar Ducts in Control Group

	Duration of Observation			
	3 hours	1 week	3 weeks	6 weeks
Respiratory bronchioles				
Interstitial				
Interstitial thickening	—	—	—	±
Round cell infiltration	—	—	—	±
Nodular lesion	—	—	—	—
Increased reticular mesh	—	—	—	±
Bronchial epithelization	—	—	—	—
Alveolar space				
Macrophages	±	±	±	±
Neutrophiles	—	—	—	—
Giant cells	—	—	—	—
Alveolar duct				
Interstitial thickening	—	—	—	±
Round cell infiltration	—	—	—	—
Nodular lesion	—	—	—	—
Intraluminal PMN	—	—	—	—

(—): Negative, (±): Mild and focal, (+): Mild and diffuse, (±): Moderate
PMN: polymorphonuclear leukocyte

低濃度 chrysotile 投與群에서는 注入後 3時間에 벌써, 氣管枝周圍에多數의 好中球를 包含한 炎症細胞浸潤이 나타나기 시작하였고, 이러한 氣管枝周圍性炎症은 一週觀察群에서는 더 進行되었으며, 이때부터는 終末細氣管枝部位에 上皮細胞脫落과 함께, 單核球, 異物型 巨大細胞(foreign body type giant cell)들이 結節形態로 浸潤한 肉芽腫性 病變이 觀察되었다. 3週以後 觀察群들에서도 1週觀察群과 거의 비슷한 變化가 나타났으나 이때에는 好中球浸潤은 觀察하기 힘들었다(Table 6).

高濃度 chrysotile 投與群에서는 低濃度 chrysotile 投與群과 病變 自體는 同一하였으나, 程度가 甚하고 더 넓은 部位가 侵犯된 것이 差異였다. 또 低濃度 chrysotile 投與群에서는 石棉纖維를 組織內에서 確認하기 힘들었으나, 高濃度 chrysotile 投與群에서는 chrysotile 注入後 3時間觀察群에서 여러군데 細氣管枝 分枝部位에 石棉纖維 集團을 볼 수 있었고, 특히 石棉纖維사이로 好中球들이 많이 肺泡大食細胞와 함께 觀察되었다(附圖寫眞 1).

이러한 石棉纖維들은 1週以後 觀察群에서는 보기 힘

들었고, 반면 肉芽腫性(結節型)病變들이 低濃度投與群보다 뚜렷하게 많이 觀察되었다. Crocidolite 投與群에서도(Table 7) 비슷하게 氣管枝周圍性 炎症, 肺泡大食細胞 및 好中球의 浸潤과 함께 肉芽腫性 病變이 나타났다. 이때에는 肉芽腫속에 巨大細胞와 함께 黃褐色 針狀 crocidolite 纖維가 沈着된 것이 쉽게 觀察되었다(附圖寫眞 2).

2) 呼吸性細氣管枝와 肺泡管의 組織學的 所見

對照群에서는 Table 8에 表示된 바와 같이 初期에는 少數의 肺泡大食細胞의 肺泡腔(alveolar sac)內 出現 外에는 別 變化를 보이지 않았으나, 3週와 6週後에는 氣管枝周圍性炎症과 連結되어 局所的으로 呼吸性細氣管枝 周圍 間質의 輕한 肥厚와 肺泡大食細胞를 主로 한 少數의 單核球의 浸潤을 볼 수 있었으나 結節型 病變이나, 好中球, 巨大細胞, 膠原質 沈着等은 없었다.

實驗群에서 呼吸性細氣管枝는 終末細氣管枝와 함께 가장 病變이 심한 部位로 低濃度 chrysotile 投與群에서는 Table 9에 表示된 바와 같이 注入後 3時間에는 局所的으로 肺泡腔內에 好中球와 肺泡大食細胞가 보일

Table 9. Histopathologic findings of Respiratory Bronchiole and Alveolar Ducts in Chrysotile Group

	Duration of Observation						
	Chrysotile 4 mg				Chrysotile 20 mg		
	3 hrs	1 wk	3 wks	6 wks	3 hrs	1 wk	3 wks
Respiratory bronchioles							
Interstitium							
Interstitial thickening	—	+	+	++	—	++	++
Round cell infiltration	±	+	+	++	+	+	++
Nodular lesion	—	±	+	++	—	+	++
Increased reticular mesh	—	+	+	++	—	+	++
Collagen deposition	—	—	—	+	—	—	—
Type II cell proliferation	—	—	±	+	—	—	+
Alveolar space							
Macrophages	+	+	+	++	+	++	++
PMN	±	±	±	±	++	±	±
Giant cell	—	±	+	±	—	++	++
Alveolar duct Interst							
Interstitial thickening	—	+	+	+	—	+	++
Round cell infiltration	±	+	+	++	±	±	±
Nodular lesion	—	±	±	±	—	+	+
Intraluminal PMN	±	±	—	—	+	±	±

(—): Negative, (±): Mild and focal, (+): Mild and diffuse, (++) : Moderate.

PMN: Polymorphonuclear leukocyte, infl.: inflammation, hrs: hours, wk: week.

판이었으나, 1週後에는 間質肥厚와 함께 肉芽腫性 病變이 뚜렷하게 나타났고 網狀纖維染色에서 網狀纖維의 增加가 보이기 始作했다.

3週後에는 1週의 變化가 더 進展을 보였으며, 심한 部位에서는 間質肥厚 및 間質內 細胞浸潤과 함께 內腔이 肺泡大食細胞로 차 있는 肺肺炎(alveolitis)의 所見이 觀察되었다(附圖寫眞 3). 6週後에는 結節型病變은 약간 減少된 듯 하면서 間質性炎症은 더 進行하고 II 型肺泡增殖 및 氣管枝 上皮細胞가 肺泡를 덮고 있는, 肺泡의 氣管枝 上皮細胞化 現象을 觀察할 수 있었고, 처음으로 Masson-trichrome 染色에서 膠原纖維가 病變 部位에 뚜렷하게 沈着된 것을 볼 수 있었다(附圖寫眞 4). 또한 심한 病變에 連結되어 呼吸性細氣管枝壁에 약간의 膠原纖維의 增加도 masson-trichrome 染色上 觀察할 수 있었다.

高濃度 chrysotile 投與群에서는 低濃度投與群과 本質의으로 같은 病變이 程度가 심하게 나타났으며, 注入後 3時間에 終末細氣管枝에서와 같이 곳곳에 石棉纖維

Table 10. Histopathologic Findings of Respiratory Bronchiole and Alveolar Duct in the Crocidolite Group (20 mg)

	Duration of Observation		
	3 hours	1 week	3 weeks
Respiratory bronchiole			
Interstitium			
Interstitial thickening	—	++	++
Round cell infiltration	±	++	++
Nodular lesion	—	++	+
Increased reticular mehs	—	+	+
Type II cell proliferation	—	—	±
Alveolar spac			
Macrophages	±	++	+
PMN	—	+	±
Giant cell	—	++	+
Alveolar duct			
Interstitial thickening	—	±	±
Round cell infiltration	—	+	±
Nodular lesion	—	+	±
Intraluminal PMN	±	+	—

(—): Negative, (±): Mild and focal,
(+): Mild and diffuse, (++) : Moderate.
PMN: Polymorphonuclear leukocyte,
infl.: inflammation.

維 덩어리와 함께 심한 好中球浸潤이 觀察된 것이 差異있고(附圖寫眞 1), 好中球浸潤은 時間이 經過할수록 減少되었다.

Crocidolite 投與群(Table 10)의 變化도 高濃度 chrysotile 投與群과 같은 變化로 程度도 비슷하였으나, 結節型病變內에 긴 石棉纖維가 確實히 보이는 差異를 보였다.

各群에서 肺泡管은 呼吸性細氣管枝와 비슷한 所見들이 局部的으로 보였으나 程度가 훨씬 輕하였다.

3) 肺泡囊(alveolar sac)의 組織學的 所見

對照群에서나 實驗群에서 큰 變化는 觀察할 수 없었다.

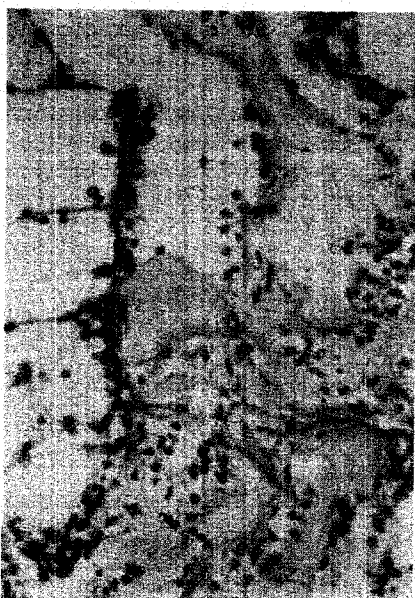
4) 石棉 投與量 및 石棉種類에 따른 組織學的 病變 差異

一定한 時期에 各 實驗群間의 主要病變의 程度를 比較하여 보면, 例로 Table 11, 12에 表示된 바와 같이, 對照群과 實驗群사이의 差異는 分明하고, 實驗群사이에서도 高濃度 chrysotile 投與群이 低濃度 投與群에 비해 심한 變化를 보였으나, 高濃度chrysotile 投與群과 高濃度 crocidolite 投與群사이의 差異는 뚜렷하지 않았다. 단지 crocidolite纖維는 쉽게 觀察된 반면 chrysotile纖維는 高濃度 注入後 덩어리로 發見된 外에는 觀察하기 힘들었고, 또 高濃度 chrysotile 投與群에서는 3時間 後에 심한 好中球浸潤을 볼 수 있었으나 crocidolite 投與群에서는 3時間에는 그리 뚜렷하지 않았다.

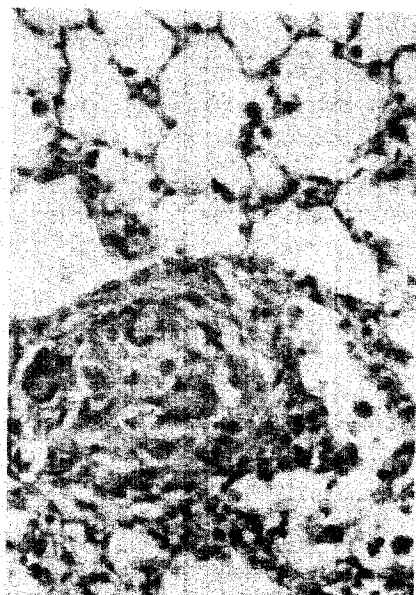
3. 肺泡洗滌液觀察所見과 肺組織學的 變化의 相關 關係

肺泡洗滌液中 好中球의 百分率과 組織內 好中球浸潤의 程度와의 相關關係는 Figure 1과 같다. 好中球의 百分率은 組織學的 陰性群(—)群과 輕度變化群(±)와 (+)群]과는 重複되는 部位가 많으나 統計學的으로는 有意한 差異가 있었고($0.001 < p < 0.005$), 陰性群과 中等度變化群과는 뚜렷이 區分이 되는 것을 볼 수 있었다($p < 0.001$).

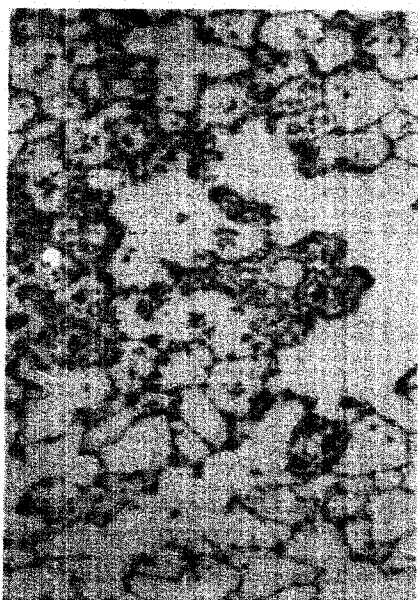
淋巴球의 경우는 各 組織病變群의 肺泡洗滌液內 淋巴球 百分率의 範圍가 넓어 重複이 심했고, 심한 組織浸潤을 일으킨 例가 거의 없었으나, 統計學的으로는 組織學的 陰性群과 輕度變化群間에 淋巴球百分率에서 有意한 差異가 있었다($p < 0.001$). 卽 好中球 및 淋巴球의 肺泡洗滌液內 細胞變動은 組織內 이들 細胞의 浸潤程度를 反映하고 있음을 觀察할 수 있었다.



寫眞 1. The dilated respiratory bronchiole is filled with aggregations of asbestos fibers and neutrophils (in rat, 3 hours after the intratracheal instillation of 20mg of chrysotile) H&E×200.



寫眞 2. Nodular lesion with foreign body type giant cells and crocidolite fibers are noted in the respiratory bronchiole (in rat, one week after the exposure) H&E×200.



寫眞 3. The interstitium is mildly thickened with edema and cellular infiltration. The alveolar spaces are filled with alveolar macrophages, small numbers of neutrophils and giant cells (in rat, 3 weeks after the intratracheal instillation of 4mg of chrysotile) H&E×200.



寫眞 4. The interstitium is thickened with the deposition of collagen (blue color). Alveolar type II cells are markedly proliferated (in rat, 6 weeks after the intratracheal instillation of 4mg of chrysotile). Masson-Trichrome stain.

Table 11. Histopathologic Findings of the Lungs, One Week after Intratracheal Instillation

Findings	Groups	Control	Chrysotile	Chrysotile	Crocidolite
			4 mg	20 mg	20 mg
Terminal bronchioles					
Round cell infiltration		-	+	+	±
Infiltration of PMN		-	±	±	+
Nodular lesion		-	±	+	++
Respiratory bronchioles					
Interstitial thickening		-	+	++	++
Round cell infiltration		-	+	++	++
Nodular lesion		-	±	++	++
Increased reticular mesh		-	-	-	-
Type II cell proliferation		-	-	-	+
Intraluminal Macrophage		±	+	++	++
PMN		-	±	±	+
Giant cell		+	±	+	++

(-): Negative, (±): Mild and focal, (+): Mild and diffuse, (++) : Moderate.
 PMN: polymorphonuclear leukocyte, infl.: inflammation.

Table 12. Histopathologic Findings of the Lungs, 3 Weeks after Intratracheal Instillation

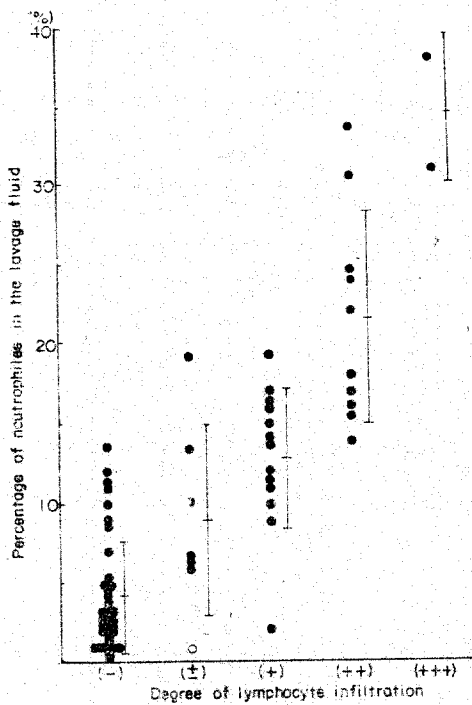
	Control	Chrysotile	Chrysotile	Crocidolite
		4 mg	20 mg	20 mg
Terminal bronchioles				
Round cell infiltration	-	+	±	±
Infiltration of PMN	-	-	±	±
Nodular lesion	-	±	+	+
Respiratory bronchioles				
Interstitial thickening	±	+	++	++
Round cell infiltration	±	+	++	++
Nodular lesion	-	+	++	++
Increased reticular mesh	-	+	++	++
Type II cell proliferation	-	+	+	±
Intraluminal macrophages	±	+	++	++
PMN	-	-	±	±
Giant cell	-	+	++	+

(-): Negative, (±): Mild but focal, (+): Mild and diffuse, (++) : Moderate.
 PMN: polymorphonuclear leukocyte, infl.: inflammation.

考 按

石綿은 纖維狀 silicate 로 纖維모양에 따라 蛇狀型의

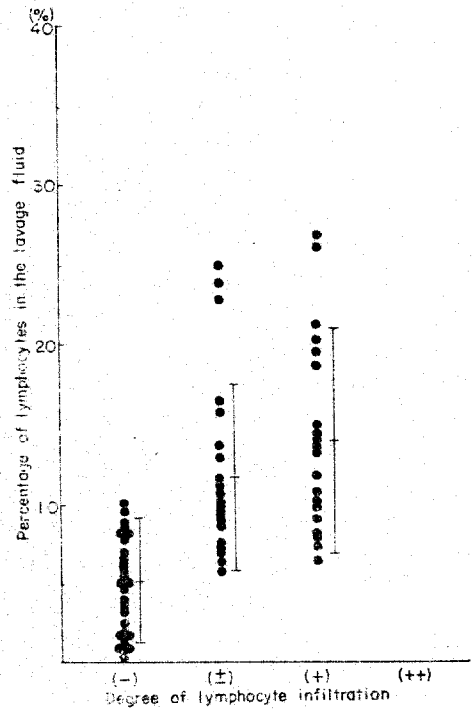
白色 chrysotile($3\text{MgO} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)과 直線型의 amphibole 로 區分되고 amphibole 에는 다시 針狀 青色 crocidolite($\text{Na}_2\text{O} \cdot 3\text{FeO}_3 \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 8\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 褐色 amosite($3\text{MgO} \cdot 11\text{FeO} \cdot 16\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), anthophyllite(7Mg



* (-): Negative, (±): Mild and focal,
(+): Mild and diffuse, (++) : Moderate,
(+++): Severe.
p value: (-) VS (±) : $p < 0.001$,
(-) VS (+) : $p < 0.001$,
(±) VS (+) : Nonsignificant,
(+) VS (++) : $0.001 < p < 0.005$

Fig. 1. Correlation between the percentage of neutrophils in the bronchoalveolar lavage fluid and neutrophilic infiltration in the lung tissue.

$O_8SiO_2 \cdot H_2O$), tremolite($2CaO \cdot 5MgO \cdot 8SiO_2 \cdot H_2O$), actinolite($2CaO \cdot 4MgO \cdot FeO \cdot 8SiO_2 \cdot H_2O$) 등이 屬한다^{14, 22, 24}). 이들 石棉은 重量이 가볍고 耐性久이 强하고, 熱, 酸, 鹽基에 變性되지 않으며, 電氣에 對한 絶緣性이 높아, 斷熱, 防音劑, 石棉 cement, 石棉 pipe, 지붕, 壁面, 바닥 등의 建築材料, 鐵造業, plastic 製造, 電氣等 機械部品, 自動車, 飛行機, 船舶部品等 많은 分野에서 쓰여지고 있으며, 現代産業의 發達과 그 使用이 날로 增加하고 있다^{1, 3, 22}). 그러나 石棉이 처음 慢性間質性肺纖維症을 誘發한다는 것이 알려지고 그의



* (-): Negative, (±): Mild and focal
(+) : Mild and diffuse, (++) : Moderate
p value: (-) VS (±) : $p < 0.001$,
(-) VS (+) : $p < 0.001$
(±) VS (++) : Nonsignificant.

Fig. 2. Correlation between the percentage of lymphocytes in the bronchoalveolar lavage fluid and lymphocytic infiltration in the lung tissue.

에도 滲出性肋膜炎, 초차양肋膜炎, 肋膜石灰化 등의 肋膜疾患 및 肺癌, 中皮腫, 消化器癌 등의 惡性腫瘍의 발생과 關聯이 있다는 事實이 밝혀졌다¹⁻¹¹). 이들 疾患은 거의 大部分이 石棉에 露出된 후 20~30年以上 지난 後 發現하나^{1, 3}), 滲出性肋膜炎은 比較的 빨라 露出後 10年 前後에 나타난다고 報告되어 있다⁵). 石棉에 의한 滲出性肋膜炎은 대부분이 炎症性이며 再發을 잘 하고, 診斷은 다른 原因을 다 除外한 後라야 할 수 있으나, 앞으로 原因不明의 再發性 滲出性肋膜炎時 石棉關係를 고려하여야 한다고 되어 있다. 石棉肺는 臨牀的으로는 다른 間質性肺纖維症과 전혀 구별이 되지 않으며, 단지 病歷上 石棉에 露出된 일이 있거나, 組織

上에 石棉體가 많이 나오거나 電子顯微鏡上 遊離石棉纖維들이 보일 때³⁶⁾ 診斷할 수 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 드물게 적당에 石棉體가 나올 수 있으며, 最近 肺胞洗滌液에서 石棉體檢査를 하여³⁷⁾ 도움을 줄 수 있다고 報告되었다. 일반적으로 이들 石棉疾患들은 露出된 石棉의 量 및 露出期間 등에 比例한다고^{1,13,38)} 알려져 있으나, 中皮腫의 경우는 汚染된 작업복을 洗濯했던 정도나, 石棉工場近處에 居住했던 사람들 같이 短期間의 또는 輕微한 暴露後에도 發生할 수 있다고 報告되었다^{8,39,40)}. 또한 中皮腫은 石棉種類에 따라 發生頻도에 差異가 있는 것으로 알려져 왔는데, Wagner 等⁹⁾ 원주에 여러 種類의 石棉을 직접 肋膜腔內에 注入후 crocidolite에서 中皮腫이 가장 많이 發生하였고 chrysotile이 가장 적고, amosite가 中間에 位置하는 것을 觀察하였고 다른 報告들도 이와 비슷하다. 그러나 石棉種類와 石棉肺의 頻도와 關係는 그리 현저하지 못하여 論難이 많다. Holt 等¹²⁾은 種類에 따른 差異는 없다고 하였고 Davis 等¹⁶⁾과 Hiett 等¹⁷⁾ 오히려 chrysotile이 肺纖維症을 가장 잘 일으킨다고 主張하였다. 이러한 論難의 原因의 하나는 이들 大部分의 實驗이 石棉을 吸入시킨 後에 觀察한 것으로 chrysotile은 纖維질이 더 길고 굵으며, 모양이 蛇狀型으로 되어 있어 吸入時, 細氣管枝나 肺胞內에 도달되는 量이 적고⁴¹⁾, 또 여러가지 肺防禦機轉을 통해 밖으로 排出되는 速度가 빨라 肺內에 殘留하는 量이 적기 때문에¹³⁾ 正確한 比較를 하기가 힘들기 때문일 것으로 생각된다. 여러가지 石棉注入法中 吸入法이 가장 自然的인 方法이고 肺內沈着 및 肺防禦機轉으로 排出되는 速度等, 실제 사람의 作業環境이나 다른 狀況에서 露出時關及하는 條件들이 같이 關聯되므로 좋은 方法으로 생각되나 一定한 用量에 대한 石棉種類의 比較 등에는 어려움이 있다. 또한 特殊한 露出室⁴²⁾ 및 特別 排氣處理裝置 등이 必要하며, 動物의 털에 汚染된 石棉을 통해 다른 動物에 汚染시키는 問題 등¹⁵⁾이 있다. 氣道內 注入法은 自然的인 露出方法은 아니나 大量의 石棉을 한번에 줄 수 있고 注入한 石棉이 確實히 組織과 接觸한다는 確實性이 있고 比較的 短期間에 病變을 일으키는 長點이 있다¹⁸⁾.

動物에 따라 石棉에 對한 反應이 다른 것이 알려졌는데, guinea pig는 사람과 비슷하게 肺纖維症을 잘 誘發하면서 石棉體도 쉽게 發見할 수 있으나, 원주는 肺纖維症은 發生은 하나 guinea pig보다 輕하고 石棉體는 거의 잘 생기지 않는 것으로 報告되었다¹⁸⁾. 생쥐는 石棉體는 잘 만드나, 肺纖維症은 잘 안생기고 토끼

는 두가지 다 안생기는 것으로 알려졌다¹⁸⁾. 本 實驗에서도 注入後 6週에 局所的인 纖維素沈着은 觀察되었으나 石棉體는 볼 수 없었다.

本 實驗에서는 石棉을 氣道內 注入한 後 3時間에 벌써 石棉纖維周圍로 好中球를 中心으로 한 炎症細胞浸潤이 나타나기 시작했고 肺胞洗滌液上 好中球의 현저한 增加를 觀察할 수 있었다. 그 以後의 組織所見은 3가지로 첫째는 대개 終末細氣管枝나 呼吸性細氣管枝의 分枝部位에 上皮細胞의 一部가 탈락되면서 그 下部로 主로 組織球 등의 單核球, 巨大細胞, 纖維樣物質 등이긴 石棉纖維와 함께 結節形態로 나타나는 것이고, 둘째는 呼吸性細氣管枝와 肺胞管에 間質의 肥厚, 여러가지 單核球 및 好中球의 浸潤이 보이면서 肺胞腔內에 主로 肺胞大食細胞와 少數의 好中球가 나타나는 間質性肺炎所見이다. 세번째는 對照群에서도 程度가 弱하나 나타나는 非特異的 變化로 氣管枝와 細氣管枝周圍의 炎症所見이다. 이들 石棉에 依한 變化는 전부 局所的이나 肺全葉에 걸쳐 瀰漫性으로 나타나는데, 注入한 容積이 적기 때문인지 本實驗에서는 모든 肺葉에 다 나타나지 않은 경우도 있었다.

Wagner 等¹³⁾은 일단 石棉露出이 중지된 後라도 病變은 계속 進行한다고 하였는데 本 實驗에서도 注入後 3時間觀察群에서는 細氣管枝周圍에만 變化가 있다가, 1週, 3週에 따라 病變의 範圍가 점차 넓어지는 것을 觀察할 수 있었다. 이같은 變化들은 Holt 等^{14,15)}, Wagner¹²⁾, Hiett¹⁷⁾, Davis 等¹⁶⁾이 動物에 石棉吸入後 觀察한 所見과, Gaensler 等⁴³⁾과 Corrin 等⁴³⁾이 肺石棉症患者의 組織檢査上 觀察한 病變과 一致한다. 그러나 Wagner¹²⁾는 石棉吸入後 網狀纖維增殖은 2個月부터, 膠原纖維素沈着은 8~12個月에야 시작된다고 하였으나^{14,17)}, Vorwald 等¹⁸⁾은 氣道內 注入時에는 纖維化가 2個月後에 觀察되었다고 하였다. 本實驗의 경우도 網狀纖維增殖은 注入後 1週에 벌써 增加되어 있었고, 週後에는 뚜렷한 膠原纖維素沈着을 觀察할 수 있어, 吸入實驗보다 氣道內 注入時 病變이 훨씬 빨리 오는 것을 알 수 있다. 本實驗의 특이한 組織所見은 病變初期에 好中球의 浸潤이 顯著히 눈에 띄었다는 것인데, 注入 3時間 後에 가장 심하고, 1週後에도 間質性 炎症部位 및 細氣管枝周圍에 뚜렷하다가 점차 時間이 경과할수록 減少하였고, 肺胞洗滌液內 好中球의 數도 비슷하게 初期에 增加하였다가 3週부터 減少하는 것을 觀察하였다. 이와같은 所見은 石棉肺症의 發生機轉에 好中球가 重要な 役割을 한다는 것을 暗示한다고 할 수 있다. 특히 病變이 시작하는 때에 增加했다가, 일단 纖維化

가 되면 減少한다는 사실은 特發性間質性肺纖維症 患者의 肺胞洗滌液所見과 一致한다^{44, 45)}. 肺石綿症은 臨床的 및 病理組織學的으로도 特發性間質性肺纖維症과 매우 비슷하여⁴⁶⁾, 이것의 病理機轉은 特發性間質性肺纖維症의 病因 및 肺損傷治癒機轉을 이해하는데 도움을 줄 수 있으므로 많은 관심을 끌고 있으나 아직은 假說段階를 벗어나지 못하고 있다. 初期에는 石綿의 化學成分이 病變을 일으키는 지, 아니면 石綿의 機械的 物理的 作用에 의한 損傷인가가 問題가 되었으나, Wagner 등⁴⁷⁾이 石綿을 benzene 處理 등을 해서 化學的 表面成分을 變化시켜도 病變이 생기나, Vorwald 등⁴⁸⁾이 石綿을 機械로 갈아 纖維의 長이를 短縮시켰을 때 肺纖維症을 일으키는 能力도 消失됨을 觀察함으로써^{48, 47)} 石綿의 化學的成分보다는 物理的, 機械的要素가 重要하다는 것이 밝혀졌다. 또한 Stanton 등^{48, 49)} 이제까지는 害가 없다고 생각되었던 fiber glass를 直徑과 長이를 石綿과 비슷하게 만들었을 경우, 쥐에서 비슷한 頻度로 中皮腫이 發生하였고 直徑이 작을수록 또 長이가 길수록 病變이 심하게 나타나는 것을 觀察함으로써, 纖維의 長이가 문제가 됨이 確實해졌다. 이들은 病變을 일으킬 수 있는 閾値가 8μ 이라고 하였는데 本研究에서는 chrysotile은 약 30%, crocidolite는 약 20%만이 이 閾値이상이었으나, 6週後에는 纖維症을 일으킨 정도로 病變이 심했던 것은 投與量이 많아 閾値 以上の 長이를 가진 石綿纖維의 數가 充分하였거나, 작은 纖維라도 高濃度로 存在時에는 病變을 일으킬 수 있다는 것을 暗示하고 있다. 그러나 長이가 긴 纖維들은 실제 吸入時 肺內에 殘留되는 量이 적은데 氣道內 注入時에는 肺末端部位까지 강제적으로 到達하기 때문에, 吸入實驗보다는 강한 變化가 생겼을 可能性도 있다. 일단 肺內에 到達한 石綿纖維中 長이가 짧은 ($<5\mu$) 纖維는 肺胞大食細胞에 依해 完全히 食作用되어 處理될 수 있으나 長이가 긴 纖維는 肺胞大食細胞 여러이 모여서, 또는 이들이 巨大細胞로 變해서 食作用하거나⁵⁰⁾, 여기서 나오는 鐵蛋白質質로 石綿을 둘러싸서 石綿體를 形成하게 된다. 이러한 긴 石綿纖維의 不完全한 食作用으로 因해 肺胞大食細胞에서 lyso-some 酵素들이 遊離되어 組織病變을 일으킨 것이라는 說과⁵¹⁾, chrysotile 表面의 magnesium 이온이 細胞膜의 成分과 反應해 이것을 破壞함으로써 細胞變化를 招來한다는 說도⁵²⁾ 있으나, 이것만으로는 magnesium 이 없는 crocidolite 의 病變을 說明할 수 없고 電子顯微鏡上 肺胞大食細胞나 다른 細胞들이 破壞된 흔적없이 온전한 形態를 有持하고 있는 것으로 미루어 信憑성이

적다⁵³⁾. 그 외에 石綿이 非典型的인 經路(alternative pathway)로 補體活性을 시킴으로써 炎症을 誘發한다는 說과⁵⁴⁾, 石綿이 직접 纖維芽細胞에서 纖維素形成을 促進한다⁵⁵⁾거나 纖維芽細胞의 增殖을 促進한다는⁵⁶⁾ 假說도 있다. 그러나 最近 Crystal 등이 肺胞洗滌液內 好中球가 增加하는 것으로, 石綿이 肺胞大食細胞를 刺戟하여 肺胞大食細胞에서 好中球에 대한 化學周誘物質(chemotactic factor)을 分泌함으로써 炎症을 일으킨다는 主張을 하고 있다^{28, 35, 57)}. 本研究에서 初期에 好中球 및 肺胞大食細胞의 浸潤이 심한 것은 위의 假說을 뒷받침하는 所見이라고 할 수 있다. 또한 이것은 特發性間質性肺纖維症이나 最近 알려진 adult respiratory distress syndrome(成人型呼吸性困難症候群)⁶⁰⁾의 後遺症으로 發生되는 間質性纖維症 所見과도 一致한다. 따라서 앞으로 解決되어야 할 問題는 이 같은 好中球 增加의 機轉이라고 할 수 있다.

本 實驗에서는 肺胞洗滌液上 淋巴球가 石綿注入 後, 時間이 갈수록 增加하였는데 이것은 對照群에서도 觀察되었으므로 確實한 의의는 賦與하기는 困難하다. 그러나 最近에 石綿이 여러가지 免疫機能의 變化⁶¹⁾ 및 細胞免疫機能의 變化^{62~65)}를 誘發함으로써 癌의 發生에 關여하리라는 報告들이 나오고 있으므로 앞으로 肺胞洗滌液에서 이들 B-淋巴球, T-淋巴球 및 그 subset에 대한 觀察이 必要하리라고 생각된다.

結 論

石綿이 肺에 미치는 影響과 石綿의 投與量과 種類에 따른 肺病變의 程度를 比較觀察하기 위하여 純種 Wistar 흰쥐에, chrysotile 4 mg(27마리), chrysotile 20 mg(12마리), crocidolite 20 mg(14마리)과 生理食鹽水(對照群, 24마리)를 氣道內 注入하고, 3時間, 1週, 3週 및 6週에 肺胞洗滌液의 細胞變動과 肺組織變化를 觀察하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 肺胞洗滌液의 細胞變動

1) 好中球 變化: 實驗群에서 가장 顯著한 肺胞洗滌液變化는 好中球의 增加로, 氣道內 石綿注入後 3時間에, 對照群에서는 $2.08 \pm 0.90\%$, chrysotile 4 mg 投與群에서는 $15.45 \pm 7.89\%$, chrysotile 20 mg 投與群에서는 $15.30 \pm 0.19\%$, crocidolite 20 mg 投與群에서는 $12.20 \pm 8.63\%$ 로, 各 實驗群에서 對照群과 比較하여 有意한 增加가 있었고($p < 0.01$), 이러한 變化는 3週後까지 지속되었다. Chrysotile 4 mg 投與群에서는 時間

경과에 따라 好中球가 減少하였으나($p < 0.05$), 다른
群들에서는 이러한 變化는 觀察할 수 없었다.

2) 淋巴球 變化: 肺胞洗滌液內 淋巴球는 全群에서
時間經過에 따라 增加하는 傾向을 觀察하였고, 이러한
淋巴球의 增加는 chrysotile 20 mg 投與群을 除外한 全
群에서 統計學的으로 有意한 差異가 있었다($p < 0.01$).
氣道內 注入後 3時間에는 各 群間에 差異는 없었으나
1週와 3週에는 各群사이에 有意한 差異를 觀察할 수
있었다($p < 0.01$).

2. 肺組織變化

石綿注入後 3時間에는 注入한 石綿纖維와 終末細氣
管枝 및 呼吸性細氣管枝周圍에 好中球浸潤이 觀察되었
고 1週後부터는 肺胞大食細胞 等の 單核球 및 少數의
好中球浸潤을 主로 한 間質性 炎症所見이 나타났다.
6週後에는 II型肺胞細胞의 增殖, 肺胞上皮의 氣管枝上
皮細胞化現象等과 함께 膠原質의 沈着이 觀察되었고
이들 組織變化는 chrysotile의 投與量이 많을 때 더 심
하고 같은 容量에서는 石綿種類에 따른 差異는 없었다.

3. 肺胞洗滌液 細胞變動과 組織學的 所見과의 相 關關係

·肺胞洗滌液內 好中球의 百分率과 組織內 好中球浸潤
과는 密接한 關係가 있었으며 淋巴球의 경우는 好中球
보다는 弱했으나 역시 相關關係가 있었다.

以上の 觀察所見으로 石綿肺는 石綿의 投與量에 따
라 病變의 程度가 甚했으나 石綿種類에 따른 差異는
없고 肺胞洗滌液의 細胞變化는 肺組織內 細胞浸潤程度
를 比較的 잘 反映하는 것을 觀察하였다. 特히 好中球
浸潤이 初期에 많이 나타나는 現象으로 好中球가 石綿
肺 發生機轉의 한 要因임이 推測되었다

이 論文이 만들어 지도록 指導해 주신 서울醫大 病理
學成毅根教授任과, 도와주신 臨床病理 朴明姬先生, 仁
濟醫大 病理 趙惠濟先生, 서울醫大 動物實驗室 金南洙
氏께 진심으로 감사드립니다.

= Abstract =

Changes of Cell Patterns in the Bronchoalveolar Lavage Fluid and Histopathologic Findings of the Lungs After Intratracheal Instillation of Asbestos in the Rats

Dong Soon Kim, M.D.

Department of Internal Medicine,
Inje Medical College, Seoul, Korea
(Directed by Professor: Munho Lee)

It has been well known that the exposure to
asbestos is related to the development of pleural
diseases, diffuse interstitial fibrosis of the lung,
bronchogenic carcinoma, and mesothelioma. This
study has been done to look for the acute effects
of asbestos exposure on the lung tissue by exami-
ning the cell patterns in bronchoalveolar lavage
fluid and histopathologic changes. The study also
compares the effects of difference in type of fibers
and difference in dosage of asbestos. Furthermore,
the study is designed to investigate the correlations
between the cell patterns in the bronchoalveolar
lavage fluid and the infiltrating cells in the lung
tissue.

Following materials were administered intratra-
cheally to total 77 Wistar rats; 27 rats with 4 mg
of chrysotile, 12 rats with 20 mg of chrysotile, 14
rats with 20mg of crocidolite, and 24 rats as a
control group with normal saline only.

Bronchoalveolar lavage and histologic examina-
tions were done in 3 hours, one week, and 3 weeks
after the exposure in each groups and also in
6 weeks in the groups of 4 mg chrysotile and
control.

The results are as follows:

1) Cell patterns of the bronchoalveolar lavage
fluid:

In contrast to the control group (2.08%), the
percentages of neutrophils were increased in the
bronchoalveolar lavage fluid done 3 hours after
asbestos exposure in the group of 4 mg chrysotile

(15.45%), 20 mg chrysotile (15.3%), and 20 mg crocidolite (12.2%) and the differences were statistically significant. In the group of 4 mg chrysotile, the percentage of neutrophils was significantly reduced as time proceeded ($p < 0.01$), but in other groups, no such changes were observed.

The percentages of lymphocytes were gradually increased in all groups as time proceeded except in the group of 20 mg chrysotile ($p < 0.01$). In 3 hours after the administration, there was no significant difference in the percentages of lymphocytes among each group, but in one week and 3 weeks after the instillation, there were significant increase of lymphocyte percentage ($p < 0.01$).

2) Histopathologic findings of the lung;

In 3 hours after the administration, neutrophilic infiltrations of the respiratory bronchioles were the most prominent features. In one week, characteristic granulomatous lesion with multinucleated giant cells, histiocytes, and condensation of reticulin fibers was observed. Interstitial pneumonitis infiltrated by many mononuclear cells and a few neutrophils with interstitial thickening was another distinctive reaction.

Focal deposition of collagen in the interstitium around the respiratory bronchioles was noted for the first time in 6 weeks after the intratracheal instillation, accompanied by the proliferation of alveolar type II cells and bronchiolar epithelization. These changes were more prominent in the high dose group but there was no significant difference between types of fibers at the same dosage level.

3) Correlation between the bronchoalveolar lavage and histopathologic findings;

The percentage of neutrophils in the bronchoalveolar lavage fluid and the degree of neutrophilic infiltration in the tissue showed relatively good correlation. There were more overlaps in the range of percentages of lymphocytes among each histopathologic groups, and the majority of lung tissues showed only mild degree of lymphocytic infiltration. But there was statistically significant difference between histologically negative group and the group of mild infiltration.

REFERENCES

- 1) Becklake, M.R.: *Asbestos-related diseases of the lung and other organs: Their epidemiology and implications for clinical practice*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 114:187, 1976.
- 2) Cooke, W.E.: *Pulmonary asbestosis*. *Brit. Med. J.*, 2:1024, 1927.
- 3) Parkes W.R.: *Asbestos-related disorders*. *Brit. J. Diseases Chest*, 67:261, 1973.
- 5) Gaensler, E.A. and Kaplan, A.I.: *Asbestos pleural effusion*. *Ann. Int. Med.*, 74:178, 1971.
- 4) Epler, G.R., McLoud, T.C. and Gaensler, E.A.: *Prevalence and incidence of benign asbestos pleural effusion in a working population*. *J. Am. Med. Assoc.*, 247:617, 1982.
- 6) Gloyne, S.R.: *Pneumoconiosis: A histological survey of necropsy materials in 1205 cases*. *Lancet*, 1:810, 1951.
- 7) Doll, R.: *Mortality from lung cancer in asbestos workers*. *Brit. J. Indust. Med.*, 12:81, 1955.
- 8) Wagner, J.C., Sleggs, C.A. and Marchand, P.: *Diffuse mesotheliomas and asbestos exposure in the North Western Cape Province*. *Brit. J. Indust. Med.*, 17:260, 1960.
- 9) Wagner, J.C., Berry, G. and Timbrell V.: *Mesothelioma in rats after inoculation with asbestos and other materials*. *Brit. J. Cancer*, 28:173, 1973.
- 10) Elmer, P.C.: *Mesotheliomas, minerals and man-made mineral fibers*. *Thorax*, 35:561, 1980.
- 11) Liddell, D.: *Asbestos and public health*. *Thorax*, 36:241, 1981.
- 12) Wagner, J.C.: *Asbestos in the experimental animals*. *Brit. J. Indust. Med.*, 20:1, 1963.
- 13) Wagner, J.C., Berry, G., Skidmore, J.W. and Timbrell, V.: *The effects of the inhalation of asbestos in rats*. *Brit. J. Cancer*, 29:252, 1974.
- 14) Holt, P.F., Mills, J. and Young, D.K.: *The early effects of chrysotile asbestos dust on the rat lung*. *J. Path. Bact.*, 87:15, 1964.

- 15) Holt, P.F., Mills, J. and Young, D.K.: *Experimental asbestosis in the guinea pig*. J. Path. Bact., 92:185, 1966.
- 16) Davis, J.M.C., Beckett, S.T., Bolton, R.E., Collins, P. and Middleton, A.P.: *Mass and number of fibers in the pathogenesis of asbestos-related lung diseases in rats*. Brit. J. Cancer, 37:673, 1978.
- 17) Hiett, D.M.: *Experimental asbestosis: An investigation of functional and pathological dust. II. Results for chrysotile and amosite exposures*. Brit. J. Indust. Med., 35:135, 1978.
- 18) Vorwald, A.J., Durkan, T.M. and Pratt, P.C.: *Experimental studies of asbestosis*. Arch. Indust. Hygiene Occup. Med., 3:1, 1951.
- 19) Brody, A.R., Hill, L.M., Adkins, B. JR. and O'Conner, W.: *Chrysotile asbestos inhalation in rats: Deposition pattern and reaction of alveolar epithelium and pulmonary macrophage*. Am. Rev. Resp. Med., 123:670, 1981.
- 20) Suzuki Y.: *Interaction of asbestos with alveolar cells*. Env. Health. Perspect., 6:241, 1974.
- 21) Gross, P., de Treville, R.T.P., Tolker, E., Kaschak, M. and Babyak M.A.: *Experimental asbestosis: The development of lung cancer in rats with pulmonary deposits of chrysotile asbestos dust*. Arch. Env. Health, 15:343, 1967.
- 22) Craighed, J.E. and Mossman, B.T.: *The pathogenesis of asbestos associated diseases*. New Engl. J. Med., 306:1446, 1982.
- 23) de Shazo R.D.: *Current concepts about the pathogenesis of silicosis*. J. Allerg.Clin. Inn., 70:41, 1982.
- 24) Miller, K.: *The effects of asbestos on macrophages*. Crit. Rev. Toxic., 5:319, 1978.
- 25) Hunninghake, G.W., Gadek, J.E., Kawanami, O., Ferrans, V.J. and Crystal R.G.: *Inflammatory and immune processes in the human lung in health and diseases: Evaluation by bronchoalveolar lavage*. Am. J. Path., 97:149, 1979.
- 26) Cole, P., Turton, C., Lanyon, H. and Collins, J.: *Bronchoalveolar lavage for the preparations of free lung cells: Technique and complication*. Brit. J. Dis. Chest, 74:273, 1980.
- 27) Fulmer, J.D.: *Bronchoalveolar lavage* (Editorial). Am. Rev. Resp. Dis., 126:961, 1982.
- 28) Bignon, J., Atassi, K., Jaurand, M.C., Geslin P. and Solle, R.: *Cellular and protein content analysis of bronchoalveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and asbestosis*. Am. Rev. Resp. Dis., 117(Suppl.): 56, 1978.
- 29) Schoenberger, C., Hunninghake, G., Gadek, J. and Crystall, R.: *Inflammation and asbestosis. Characterization and maintenance of alveolitis following acute asbestos exposure*. Chest, 80 (Suppl.):70, 1981.
- 30) Tetley, T.D., Hext, P.M., Richards, R.J. and McDermott, M.: *Chrysotile-induced asbestosis: Changes in the free cell population, pulmonary surfactant and whole lung tissue of rats*. J. Exp. Path., 57:505, 1956.
- 31) Timbrell, V., Gilson, J.C. and Webster, I.: *UICC Standard reference samples of asbestos. Pneumoconiosis Proceeding International Conference in Johannesburg, p.406, 1969. Oxford Univ. Press, Cape Town.*
- 32) Timbrell, V.: *Characteristics of the International Union against Cancer Standard References Samples of Asbestos. Pneumoconiosis Proceeding International Conference in Johannesburg. p.28, 1969.*
- 33) Timbrell, V. and Rendall, R.E.E.: *Preparation of the UICC Standard Reference series of asbestos*. Power Technol., 5:279, 1971.
- 34) Chon, Z.A. and Wiener, E.: *The particulate hydrolase of macrophages. Biochemical and morphological response to particle ingestion*. J. Exp. Med., 118:1009, 1963.
- 35) Merrill, W.W., Naegel, G.P., Mattay, R.A. and Reynolds, H.Y.: *Alveolar macrophage-derived chemotactic factor: Kinetics of vitro production and partial characterization*. J. Clin. Invest., 65:268, 1980.
- 36) Miller, A., Langer, A., Tierstein, A.S. and

- Selikoff, I.: *Nonspecific interstitial pulmonary fibrosis associated with asbestos fibers detected by electron microscopy*. *New Engl. J. Med.*, 292:91, 1975.
- 37) Garcia, J.G., Zavala, D., Bleicher, R., Monick, M., Brady, M., Merchant, J. and Hunninghake, G.W.: *Utility of bronchoalveolar lavage (BAL) in patients with asbestos exposure*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127 (Suppl.):169, 1983.
- 38) Murphy, R.L.H., Ferris, B.G., Burgess, W.A., Worcester, J. and Gaensler E.A.: *Effects of low concentration of asbestos. Clinical, environmental, radiological and epidemiological observation in shipyard pipe coverers and controls*. *New Engl. J. Med.*, 258:1271, 1971.
- 39) Champion, P.: *Two cases of malignant mesothelioma after exposure to asbestos*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 103:821, 1971.
- 40) Newhouse, M.L., Berry, G., Wagner, J.C. and Turok, M.E.: *A study of the mortality of female asbestos workers*. *Brit. J. Indust. Med.*, 29:134, 1972.
- 41) Brain, J.D. and Valberg, P.A.: *Models of lung retention based on ICRP Task Group Report*. *Arch. Env. Health*, 28:1, 1974.
- 42) Timbrell, V., Skidmore, J.W., Hyett, A.W. and Wagner, J.C.: *Exposure chambers for inhalation exposures with standard reference samples of the International Union against Cancer (UICC)*. *Aerosol. Sci.*, 1:215, 1970.
- 43) Corrin, B. and Proce, A.B.: *Electron microscopic studies in desquamative interstitial pneumonia associated with asbestos*. *Thorax*, 27:324, 1972.
- 44) Reynolds, H.Y., Fulmer, J.D., Kazmierowski, J.A., Roberts, W.C., Frank, M.M. and Crystal, R.G.: *Analysis of cellular and protein content of bronchoalveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonia*. *J. Clin. Invest.*, 59:165, 1977.
- 45) Weinberger, S.E., Kelman, J.A., Elson, N.A., Young, R.C. Jr., Reynolds, H.Y., Fulmer, J.D. and Crystal, R.G.: *Bronchoalveolar lavage in interstitial lung diseases*. *Annals Int. Med.*, 89:459, 1978.
- 46) Gadek, J., Hunninghake, G., Schoenberger, C., Fells, G. and Crystal R.: *Pulmonary asbestosis and idiopathic pulmonary fibrosis: Pathogenic parallels*. *Chest*, 80 (Suppl.):63, 1981.
- 47) Brown, R.C., Chamberlain, M., Griffiths, D.M. and Timbrell, V.: *The effect of fiber size on the in vitro biological activity of three types of amphibole asbestos*. *Intern. J. Cancer*, 22:721, 1978.
- 48) Stanton, M.F. and Wrench, C.: *Mechanism of mesothelioma induction with asbestos and fibrous glass*. *J. Natl. Cancer Inst.*, 48:797, 1972.
- 49) Stanton, M.F., Layard, M., Tegeris, A., Miller, E., May, M. and Kent, E.: *Carcinogenicity of fibrous glass: Pleural response in the rat in relation to fiber dimension*. *J. Natl. Cancer Inst.*, 58:587, 1977.
- 50) Leek, K.P., Barras, C.E., Griffith, F.D. and Waritz, R.S.: *Pulmonary response and transmigration of inorganic fibers by inhalation exposure*. *Am. J. Path.*, 102:314, 1981.
- 51) Davies, P., Allison, A.C., Ackerman, J., Butterfield, A. and Williams S.: *Asbestos induces selective release of lysosomal enzymes from mononuclear phagocytes*. *Nature*, 251:423, 1974.
- 52) Craighed, J.E., Bradley, B.J. and Mossman, B.T.: *Comparative studies on the cytotoxicity of amphibole and serpentine asbestos*. *Env. Health Perspect.*, 34:37, 1980.
- 53) Miller, R., Webster, I., Handfield, R.I.M. and Skikne, M.I.: *Ultrastructure of the lung in the rat following exposure to crocidolite asbestos and quartz*. *J. Path.*, 124:39, 1978.
- 54) Wilson, M.R., Gaumer, H.R. and Salvaggio, J.E.: *Activation of the alternative complement pathway and generation of chemotactic factors by asbestos*. *J. Allerg. Clin. Immuno.*, 60:218, 1977.
- 55) Hext, P.M., Richards, R.J.: *Biochemical effects of asbestiform minerals on lung fibroblast cultures*. *Brit. J. Exp. Path.*, 57:281, 1976.

- 56) Bitterman, P., Rennard, S., Schoenberger, C. and Crystal, R.G.: *Asbestos stimulates alveolar macrophages to release a factor causing human lung fibroblast to replicate*. *Chest*, 80(suppl.): 11, 1981.
- 57) Hunninghake, G.W., Gadek, J.E., Fals, H.M. and Crystal, R.G.: *Human alveolar macrophage-induced chemotactic factor for neutrophils: Stimuli and partial characterization*. *J. Clin. Invest.*, 66:473, 1980.
- 58) Snider, G.L., Celli, B.R., Goldstein, R.H., O'Brien, J.J. and Lucey E.C.: *Chronic interstitial pulmonary fibrosis produced in hamsters by endotracheal bleomycin*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 117:289, 1978.
- 59) Corrin, and Vijeyaratnam, G.S.: *Experimental models of interstitial pneumonia: paraquat, iprindole*. *Prog. Resp. Res.*, 8:107, 1975.
- 60) Zapol, W.M., Trelstad, R.L., Coffey, J.W., Tsai, I. and Salvador, R. E.: *Pulmonary fibrosis in severe acute respiratory failure*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 119:547, 1979.
- 61) de Shazo, R.D., Nordberg, J., Baser, Y., Bozelka, B. and Salvaggio J.E.: *Analysis of cell mediated immunity in asbestos workers*. *Clin. Res.*, 30:512 (Abst), 1982.
- 62) Kagan, E., Solomon, A., Cochrane, J.C., Beissner, I., Gluckman, J., J., Rocks, P.M. and Webster, I.: *Immunological studies of patients with asbestosis. Studies of cell mediated immunity*. *Clin. Exp. Immunol.*, 28:261, 1977.
- 63) Wagner, M.M.F., Campbell, M.J. and Edwards, R.E.: *Sequential immunological studies on an asbestos-exposed population. I. Factors affecting peripheral blood leukocytes and T-lymphocytes*. *Clin. Exp. Immunol.*, 38:323, 1979.
- 64) Kagan, E., Solomon, H., Cochrane, J.C., Kuba, P., Rocks, P. and Webster I.: *Immunological studies of patients with asbestosis. II. Studies of circulating lymphoid cell numbers and humoral immunity*. *Clin. Exp. Immunol.*, 28:268, 1977.
- 65) Gaumer, H.R., Kaimal, J., Schuyler, M. and Salvaggio, J.E.: *Suppressor cell function in patients with asbestosis*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 119:216, 1979.