

제 목	국 문	Cytochrome P-450 의존성 radical 전달에 의한 Benzene, Toluene, Xylene의 대사기전 연구		
	영 문	A study on the metabolism mechanism of Benzene, Toluene and Xylene by Cytochrome P-450 dependent radical mediated		
저 자 및 소 속	국 문	김기웅, 김양호, 문영한, 장성근* 한국산업안전공단 산업보건연구원 순천향대학교 자연과학대학 화학과*		
	영 문	Ki-Woong Kim, Yangho Kim, Young Hahn Moon, Sung-Keun Chang* <i>Industrial Health Research Institute, KISCO Dep. Chemistry, Soonchunhyang University*</i>		
분 야	산업독성	발 표 자	김 기 웅	
발표 형식	구 연	발표 시간	15 분	
진행 상황	연구완료 (O), 연구중 () → 완료 예정 시기 : 년 월			

1. 연구 목적

산업체에서 사용되는 대부분의 유기용제는 세정제, 희석제, 페인트 및 고무제조 등의 제조시 원료로 산업체의 여러 분야에서 널리 사용되고 있다. 이들 유기용제는 구성하고 있는 구성분자들의 화학식, 작용기의 형태 및 결합구조 등이 달라서 물질이 가지는 고유의 물리·화학적 성질의 차이를 보이게 되며, 그러한 이유에 의해서 체내 흡수시 분포, 대사, 배설 등의 기전차이를 보이게 되고 표적기관 및 작용 특이성, 독성발현 등이 다르게 나타난다(Sabourin 등, 1989; Okino 등, 1991). 특히 하나의 고리를 가지는 방향족 탄화수소(monocyclic aromatic hydrocarbon:MAH)계 유기용제인 benzene, toluene 및 xylene은 페인트, 접착제, 인쇄용 유기용제 등의 여러가지 물질에 포함되어 있어서 작업자의 폭로가 크다고 볼 수 있다. 그러나 같은 MAH계 유기용제라도 benzene ring에 붙어있는 곁사슬의 차이에 의해서 효소의 작용과 대사기전 등이 서로 다를 것으로 예상된다. 그러므로 본 연구는 MAH계 유기용제인 benzene, toluene 및 xylene 등의 대사에 중요한 역할을 하는 효소인 cytochrome P-450과 관련하여 대사기전을 파악하고자 시도하였다

2. 연구 방법

본 연구는 실험동물로 Sprague Dawley계 6주령된 웅성 흰쥐를 사용하였으며, 실험군은 대조군, benzene(B), toluene(T), xylene(X) 단독투여군(3개군)과 B+T, B+X, T+X의 병합투여군(3개군), B+T+X의 혼합투여군(1개군)으로 하여 총 8개군으로 분류하여 corn oil에 용해시켜 1 mol/kg으로 1일 1회씩 2일간 연속하여 복강 주사 하였으며, 각 실험군은 5마리로 하였다. 간장의 microsomes 분획의 분리 차등 원심분리방법(Park과 Kim, 1984)으로 하였고, 단백질과 cytochrome P-450의 함량은 Lowry 등(1951)과 Omura와 Sato등(1964)의 방법에 따라서 함량을 측정하였다. Aryl hydrocarbon hydroxylase의 활성도는 Nebert와 Gelboin(1968)의 방법으로 측정하였으며 전자전달체인 NADPH-P-450과 NADH-b₅ reductase의 활성도는 Master 등(1967), Hultquist 등(1978)의 방법으로 각각 측정하였다. Hydroxyl radical과 과산화지질의 생성량은 최 등(1993)의 방법과 Yagi 방법(1987)으로 측정하였다. Superoxide dismutase(SOD) 활성도는 Oyanagui(1984)의 방법으로 측정하였다.

3. 연구결과

Cytochrome P-450의 함량과 aryl hydrocarbonyl hydroxylase(AHHase)의 활성도는 benzene 단독투여군을 제외한 기타의 투여군에 있어서 통계학적으로 유의한 증가를 보였다($p < 0.01$). 전자전달체인 NADPH-P-450 reductase 활성도는 대조군과 비교시 투여군 모두에 있어서 증가된 측정치를 보였으나 B+X 군과 혼합투여군(M)을 제외한 기타의 투여군에서만 통계학적인 유의한 증가를 보였다($p < 0.01$). 활성도의 증가는 $B > T > X > TX > BT > BX > M$ 군 순으로 나타났다. NADH-b₅ reductase의 활성도는 대조군보다 투여군에서 모두 통계학적인 유의한 증가를 보였으며($p < 0.01$) NADPH-P-450 reductase의 활성도 성적과는 상반되는 결과를 보였다. 강력한 활성산소종으로 알려져 있는 hydroxyl radical의 생성량은 대조군에서 보다 투여군에 있어서 모두 증가된 성적을 보였으나 혼합투여군(M)을 제외한 기타의 투여군에서만 통계학적인 유의한 증가를 보였으며($p < 0.01$), 생성된 hydroxyl radical은 $B > T, X$ 및 병합투여군 $>$ 혼합투여군 순으로 측정되었다. 또한 free radical의 연쇄반응으로 생성되는 과산화지질의 함량은 대조군보다 투여군에 있어서 모두 증가된 성적을 보였으며($p < 0.01$), 투여군간의 생성량은 hydroxyl radical의 생성량과 비슷한 경향을 보였다. 활성산소종을 제거하는 효소중의 하나인 superoxide dismutase(SOD)의 활성도는 투여군 모두에 있어서 대조군보다 통계학적으로 유의한 증가를 보였으며($p < 0.01$), B군은 12.47 nmol/mg, T군과 X군은 9.16, 9.48 nmol/mg으로 측정되었고 기타의 병합 및 혼합투여군에서도 9.07과 9.79 nmol/mg 사이의 측정성적을 보였으나, B군을 제외한 기타의 투여군에서는 군간의 차이를 보이지 않았다($p > 0.01$).

4. 고찰

Benzene, toluene 및 xylene의 대사기전이 밝혀지면서(Parke와 Williams,1953; Cohr와 Stockholm,1979; Ogata 등,1970), 이들 유기용제의 대사시 cytochrome P-450이 관여하며, 전반적인 대사속도는 cytochrome P-450 monooxygenase의 작용으로 benzene은 benzene epoxide, toluene과 xylene은 benzene ring에 붙어있는 methyl기의 수산화(hydroxylation)되는 단계라고 알려졌다. 그러나 AHHase의 활성도와 cytochrome P-450 reductase의 활성도 측정성적과 활성산소종인 hydroxyl radical의 생성량을 비교하여 보면, benzene의 경우 benzene 고리와 benzene 고리에 붙어있는 결사슬의 수산화를 시키는 AHHase의 활성도가 toluene과 xylene 투여군의 성적보다 감소된 측정치를 보였다. 또한 cytochrome P-450에 전자를 전달하여 iron-catalyzed Haber-Weiss 반응을 통하여 radical을 생성시키는데 관여하는 flavoenzyme인 cytochrome P-450 reductase 활성도 결과와 hydroxyl radical, 과산화지질의 생성량등을 비교하여 보면, benzene은 cytochrome P-450 의존성 radical 반응에 의한 대사가, toluene과 xylene은 cytochrome P-450 dependent AHHase에 의한 수산화작용에 의해서 1차 변형 후 대사가 이루어 지는 것으로 생각된다.