

정상인에서 혈중 연과 zinc protoporphyrin과의 상관관계 및 HPLC와 Hematofluorometer로 측정한 zinc protoporphyrin량간의 비교

가톨릭대학교 산업보건대학원 산업위생학과

김강윤 · 김현욱

— Abstract —

The Relationship between Zinc protoporphyrin and Lead levels in Normal Adults' Blood And Comparison of Zinc protoporphyrin values by High Performance Liquid Chromatograph and Hematofluorometer

Kangyoon Kim and Hyunwook Kim

*Department of Industrial Hygiene, Graduate School of Occupational Health,
Catholic University, Seoul, Korea*

Blood samples obtained from 200 adults who had visited the "S" general hospital were analyzed to compare the zinc protoporphyrin (ZPP) levels quantified by high performance liquid chromatograph (HPLC) and by hematofluorometer (HF) to investigate the methodological difference if any and the relationship between the levels of blood lead and ZPP among no-lead exposed adults. Also investigated were the distribution of ZPP and protoporphyrin IX (PPIX) concentrations, the establishment of normal levels of blood ZPP and blood lead, and the contribution of age and sex factors to these values. These subjects had no previous occupational exposure to lead.

The results obtained were as follows :

1. The mean values of blood lead for male and female subjects were $9.46 \pm 2.44 \mu\text{g/dl}$ and $8.09 \pm 2.17 \mu\text{g/dl}$, respectively. The difference observed in the mean concentrations between male and female subjects was statistically very significant.
2. The mean values of blood ZPP by HPLC for male and female subjects were $15.94 \pm 4.55 \mu\text{g/dl}$ and $22.26 \pm 6.61 \mu\text{g/dl}$, respectively. The difference observed in the mean concentrations between male and female subjects was statistically very significant.

The mean values of blood PPIX by HPLC for male and female subjects were $2.51 \pm 1.78 \mu\text{g/dl}$ and $2.81 \pm 1.56 \mu\text{g/dl}$, respectively. The difference observed in the mean

concentrations between male and female subjects was statistically not significant.

3. The mean values of blood ZPP by HF for male and female subjects were $28.44 \pm 7.11 \mu\text{g/dl}$ and $37.77 \pm 8.04 \mu\text{g/dl}$, respectively. The difference observed in the mean concentrations between male and female subjects was statistically very significant.
4. No statistically significant correlation was found between the levels of blood ZPP and blood lead.
5. The ratio of ZPP and protoporphyrin IX (PPIX) concentration to erythrocyte protoporphyrin (EP, $\text{EP} = \text{ZPP} + \text{PPIX}$) concentration was 87.4% and 12.6%, respectively.
6. A statistically very significant correlation was found between the ZPP concentrations determined by HPLC and the values by HF ($r=0.7565$). The ZPP concentrations quantified by HF were 1.75 times as high as the values obtained by HPLC.
7. The blood ZPP concentrations quantified by HPLC, HF, and spectrofluorometer (SF) from the blood samples obtained from 14 lead-exposed workers and from 16 no-lead exposed adults showed wide variations. The ZPP concentrations by HF were the highest followed by the levels obtained by SF and by HPLC.

In the exposed group, no statistically significant difference was found among three methods of quantifying blood ZPP levels. In the no-lead exposed group, however, statistically significant difference was observed among these methods. The ZPP concentrations by HF were about twice as high as those of by HPLC or by SF.

Among three methods of quantifying blood ZPP (HPLC, SF and HF), the results revealed significant difference. Therefore it is suggested that objective methods of quantifying blood ZPP and a system of correcting different ZPP levels be developed by the ministry of Labor.

Key Words : Zinc protoporphyrin, Protoporphyrin IX, Erythrocyte protoporphyrin, Hema-tofluorometer, High performance liquid chromatography.

서 론

연(鉛)은 heme 합성의 초기단계 중 δ -aminolevulinic acid(이하 δ -ALA로 약함)가 porphobilinogen(PBG)으로 전환되는 과정에서 δ -aminolevulinic acid dehydratase(δ -ALAD)의 활성을 억제하여 혈액내의 δ -ALA농도의 증가와 이로 인한 요중 δ -ALA 및 coproporphyrin 배설을 증가시키며, heme합성의 후기단계인 protoporphyrin IX(이하 PPIX로 약함)과 철의 결합과정에서 heme synthetase의 활성을 억제하여 혈액중의 PPIX량을 증가시킨다. 따라서 연중독에서 혈액중 PPIX의 증가는 연이 골수에 미치는 영향을 나타내는 지표로 이용되기도 하였다(Sassa 등,

1973). 그러므로 연이 체내에 흡수되므로써 초래되는 결과는 혈중 및 요중 δ -ALA, 적혈구내 PPIX, 요중 coproporphyrin, 망상 적혈구수, 호염기성 점 적혈구수, 혈청내 철의 양이 증가되며 δ -ALAD 활성치와 혈색소량이 저하되고 적혈구의 감소 및 수명이 단축된다(조규상, 1991).

zinc protoporphyrin(이하 ZPP로 약함)은 철분 결핍으로 인한 빈혈과 연중독으로 인해 heme 대신 형성되는 대사산물이다. 이는 연이 ferrochelatase의 활성을 억제시켜 철과 PPIX이 결합하는 반응을 방해하고 대신 Zn^{2+} 이 PPIX과 반응하여 ZPP를 형성한다(Grunder와 Moffitt, 1979; Helsey와 Wimbish, 1981). 또한 연이 heme합성을 직접적으로 방해할 뿐 아니라 세포간의 철운반을 저해시키는 역할을 하여 ZPP의 형성을 유도한

다.

혈중 ZPP의 증가는 연으로 인한 건강장애와 관련된 초기영향이므로 혈중 ZPP농도를 측정하므로써 연으로 인한 건강장애를 예방할 수 있기 때문에 연에 폭로된 근로자들의 건강위험도를 평가할 때 충분히 활용할 수 있는 지표이다(조규상, 1991). 연흡수의 지표인 혈중연(PbB)량 및 요중연(PbU)량이 곧 생체의 생화학적 변화 및 건강장애를 표시하는 것은 아니므로 이들의 측정과 함께 생체의 생화학적 변화를 나타내는 다른 검사가 필요하며, 연에 의한 생체내 이상은 조혈기능의 장애로 나타나는 데 연작업자에 있어 혈중연과 가장 높은 상관관계를 보여주는 대사산물이 혈중 ZPP임이 밝혀져 있다(김정만과 이광목, 1984; 이병국 등, 1984; 김정만 등, 1985; 김정만 등, 1986 a, b; 이병국 등, 1989). 이 혈중연량은 급격한 변동에 대응하여 빠른 변동을 보이는 반면 혈중 ZPP량은 만성 연폭로의 좋은 지표라고 한다(Sassa 등, 1973). 그러나 근로자가 고농도 연에 폭로되었을 때 혈중연량과 혈중 ZPP량의 대수치와는 양의 상관관계가 있다고 알려져 있으나(Joselow와 Flores, 1977; Hesley와 Wimbish, 1981) 저농도 연에 폭로되었을 때 및 정상인의 경우는 확실하게 규명되고 있지 않다.

ZPP측정에 관한 연구는 1970년대 분광형광분석법(spectrofluorometry)이 발전되면서 20-50 μ l의 미량혈액을 이용한 유리형의 적혈구 porphyrin (free erythrocyte protoporphyrin, FEP)의 미량정량이 가능해졌다(Piomelli 등, 1973; Sassa 등, 1973; Hanna 등, 1976; Garden 등, 1977; Lamola 등, 1977; Hart와 Piomelli, 1981).

Lamola와 Yamane(1974)이 연중독, 철결핍성 빈혈에서 증가하는 porphyrin은 유리형이 아닌 Zn^{2+} 과 결합된 ZPP라고 주장한 이래 한방울의 혈액으로 간편하고 신속하게 혈중 ZPP의 형광성질을 이용하여 농도를 정량하는 기계인 hemato-fluorometer(이하 HF로 약함)가 개발되어 검사실과 사업장 등에서 널리 사용되고 있다. 이 방법은 cover slip위에 한 방울의 전혈을 떨어뜨리고 얇게 편 다음 기기내에 삽입시키고 ZPP의 형광 스펙트럼인 420nm부근에서 ZPP의 형광과 oxyhemo-

globin에 의한 빛의 흡수비를 측정하는 것이다(Blumberg 등, 1977 a, b).

그러나 HF에 의한 ZPP의 측정방법은 spectro-fluorometer(이하 SF로 약함)에 의한 ZPP측정치보다 20%정도의 음의 편의를 갖고 있다고 보고되고 있으며(Peter 등, 1978; Balamut 등, 1982; Mitchell과 Doran, 1985) bilirubin에 의한 간섭현상으로 bilirubin/ZPP의 비가 증가될 수록 HF에 의한 결과가 증가되는 현상(Buhrmann 등, 1978)과 PPIX첨가에 의한 실험결과 첨가량의 약 6%정도가 더 HF에 의해 발견되는 PPIX에 의한 간섭현상이 단점으로 지적되고 있다(Grandjean과 Lintrup, 1978). 반면에 SF에 의한 ZPP 측정방법은 SF에 의한 ZPP측정방법 중 가장 회수율이 좋다고 알려진 acetone에 의한 추출결과 87%정도의 회수율(Hart와 Piomelli, 1981)을 보였고 PPIX에 의한 간섭으로 ethyl acetate/acetic acid와 HCl에 의한 이중추출방법을 사용할 경우 ZPP에서 Zn^{2+} 가 완전히 제거된 PPIX(FEP)을 정량하게 되며, HCl과 같은 산대신 중성용액인 ethanol 또는 acetone을 사용할 경우 ZPP와 PPIX를 분리하여 측정할 수 있으나 완전분리가 이루어지지 못하여 단점으로 지적되고 있다(Hart와 Piomelli, 1981; Harada와 Miura, 1984).

따라서 본 연구에서는 ZPP를 간단한 전처리만으로 간편하게 측정할 수 있을 뿐만 아니라 porphyrin계의 여러 물질을 동시에 분리하여 측정하므로써 오차를 최소화할 수 있다고 알려진(Smith 등, 1980; Scoble 등, 1981; Bailey와 Needham, 1986; Ho 등, 1987) 고속액체크로마토그래프(high performance liquid chromatograph, 이하 HPLC라 약함)를 이용하여 정상인에 있어서 혈중 ZPP량을 측정된 값과 기존의 HF에 의한 ZPP량과의 차이점과 정상인의 혈중연량과 HF 및 HPLC에 의한 ZPP량과의 상관관계를 알아보고자 하였다. 또한 정상인에 있어서 ZPP량의 성별 및 연령별 차이점 및 PPIX과 ZPP의 분포를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

직업적으로 연에 폭로되지 않은 사무직 근로자와 일반인들 가운데 S병원에 내원하여 건강진단을 받은 203명 중에서 빈혈환자 3명을 제외한 200명을 대상군으로 하였다. 또한 연취급 근로자 14명의 혈액으로 대상군과 동일한 측정을 실시하여 차이가 있는지 알아보았다.

2. 측정방법

측정항목은 HPLC에 의한 혈중 PPIX, ZPP량 및 EP(=ZPP+PPIX)량, HF에 의한 ZPP량, 혈중연량, 혈색소(Hb)량으로 하되 연취급 근로자 14명의 혈액과 정상인 16명의 혈액에 대하여 SF로 ZPP량을 측정하였다.

혈색소는 cyanmethemoglobin법(Sismax C-C-170, Japan)으로 측정하였으며, 혈중연은 GT-A-96 graphite tube atomizer를 갖춘 원자흡수분광광도계(Varian SpectraAA-300, Australia)를 이용, deuterium lamp로 background 보정하여 파장 283.3nm, slit width 0.5nm에서 전혈 0.5ml를 0.5% triton X-100과 1%(NH₄)₂HPO₄ 혼합액 1.2ml에 용혈시킨 후 0.19N HNO₃ 1.8ml에 희석한 다음 20% trichloroacetic acid(TCA) 1.5ml에 단백질을 응고, 침전시켜 5000rpm에서 원심분리한 상층액 10μl를 graphite tube에 주입하였다.

혈중 PPIX과 ZPP는 HPLC(Waters model 400, USA)로 측정하여 EP(=PPIX+ZPP)량을 구하였다. 표준용액은 ZPP(Porphyrin products inc., USA)와 PPIX(Sigma chemical co., USA)를 각각 10mg 평량한 후 N, N-dimethyl formamide 5ml에 녹인 후 mobile phase(methanol/acetic acid/dilution water 78:8:14 v/v, pH 3.4)로 100ml flask를 채워서 stock solution으로 하였으며 ZPP의 농도를 100, 50, 10μg/dl로, PPIX의 농도를 10, 5, 1μg/dl로 하였다. 혈액에 대한 ZPP와 PPIX분석은 전혈 200μl를 증류수 100μl에 넣어 혈액을 용혈시키고 ethyl acetate/acetic acid(4:1, v/v)를 1ml 넣은 후 강하게 흔들어 주어

ZPP와 PPIX을 추출하여(Smith 등, 1980) 5000rpm에서 10분간 원심분리한 후 50μl를 auto-sampler에서 주입하도록 하였다.

본 실험에서 사용한 HPLC의 분석조건은 다음 표와 같다.

구 분	분 석 조 건
Column	μ Bondapak C ₁₈
Pump	model 510
Detector	fluorescence detector(Waters model 470) λ _{ex} *=405nm, λ _{em} **=600nm
Autosampler	WISP712 96 vial
Flow rate	1.0ml/min
Mobile phase	methanol/acetic acid/dilution water (78:8:14 v/v, pH 3.4)

* λ_{ex}: excitation wavelength

** λ_{em}: emission wavelength

HF(Aviv model 206, USA)에 의한 ZPP량의 측정은 λ_{ex}=415nm, λ_{em}=596nm에서 빈 cover slip으로 blank를 맞추고 각각의 농도에 따른 control material로 기기를 검량한 후 전혈 50μl를 25x25mm² cover slip에 얇게 편 후 기기내에 삽입하여 측정하였다(Blumberg 등, 1977 a, b; Peter 등, 1978). SF(Kontron instruments, Swiss)에 의한 ZPP량 측정은 표준용액으로 ZPP(Aldrich chemical company co., USA) 1mg을 평량하여 ethanol/acetic acid(9:1, v/v)로 100ml flask를 채워 stock solution으로 하여 100, 50, 25μg/dl의 농도를 사용하였다. 혈액 30개(정상인의 혈액중 무작위 추출한 16개의 혈액과 연취급근로자의 혈액 14개)를 사용하여 λ_{ex}=415nm, λ_{em}=588nm에서 증류수 0.5ml에 전혈 0.1ml를 넣어 용혈시킨 후 ethanol 5ml를 가하여 ZPP를 추출한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 형광셀에 상층액을 넣어 ZPP량을 측정하였다(Garden 등, 1977).

3. 통계처리

수집된 자료는 SAS 통계프로그램을 이용하여 각 변수의 평균과 표준편차를 구하였고 각 변수 사이의 상관분석 및 회귀분석을 실시하였으며 측정방법간의 차를 알아보기 위하여 paired t-test를

실시하였다.

성 적

대상군 200명중 남자는 131명(65.5%)이고 여자는 69명(34.5%)이었다. 연령 비율을 보면 20-39세가 전체의 66%를 차지하였고 남자 중에는 30-39세가 여자 중에는 30세 미만이 다수를 차지하였다(표 1).

본 실험에서 얻은 일반인의 성별, 연령별 ZPP(HPLC), PPIX, EP, ZPP(HF), PbB, Hb의

Table 1. Distribution of subjects by age and sex

Age (yrs)	Male		Female		Total	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
<30	36	(18.0)	26	(13.0)	62	(31.0)
30-39	52	(26.0)	18	(9.0)	70	(35.0)
40-49	22	(11.0)	11	(5.5)	33	(16.5)
50≤	21	(10.5)	14	(7.0)	35	(17.5)
Total	131	(65.5)	69	(34.5)	200	(100.0)

평균을 표 2에 약하였다. ZPP(HPLC)량은 18.12±6.12 μg/dl로 남자가 15.94±4.55 μg/dl이고 여자가 22.26±6.61 μg/dl로 남녀간에 유의한 차를 보였으며(P<0.001) 남자에 있어 30세 미만과 50세 이상의 연령군에서 유의한 차이가 있었다(P<0.05). PPIX량은 남자가 2.51±1.78 μg/dl이고 여자가 2.61±1.56 μg/dl로 남녀간의 유의한 차는 없었다.

EP량은 20.73±6.94 μg/dl이었고 남자가 18.45±5.64 μg/dl이고 여자는 25.07±7.14 μg/dl로 남녀간에 유의한 차를 나타냈고(P<0.001) 남자에 있어 50세 이상의 연령군은 30세 미만과 30-39세의 연령군에서 각각 유의한 차를 보였다(P<0.01).

전체적으로 ZPP/EP의 비는 87.44%로 나타났으며, PPIX/EP의 분포비는 12.6%로 나타났다. 남자의 경우 ZPP/EP의 비가 86.8%였고, 여자는 ZPP/EP의 비가 88.6%를 나타냈다.

ZPP(HF)량은 31.65±8.65 μg/dl를 나타냈고 남자가 28.44±7.11 μg/dl이고 여자가 37.77±8.

Table 2. Mean values of parameters in normal adults' blood

Age (yrs)	Sex	N	(Mean ±SD)					
			ZPP(HPLC) (μg/dl)	PPIX(HPLC) (μg/dl)	EP(HPLC) (μg/dl)	ZPP(HF) (μg/dl)	PbB (μg/dl)	Hb (g/dl)
<30	M	36	15.00±3.64	2.16±1.02	17.16±3.97	25.31±6.97	8.55±1.92	15.83±0.89
	F	26	21.10±6.21	2.43±1.08	23.54±6.33	36.15±8.41	7.39±2.56	13.55±0.96
30-39	M	52	15.46±4.34	2.47±2.21	17.92±5.74	27.87±6.53	9.40±2.08	15.81±1.07
	F	18	21.79±5.22	2.81±2.15	24.59±6.47	39.12±8.48	7.96±1.80	13.23±0.68
40-49	M	22	16.15±2.98	2.30±1.19	18.45±3.44	30.10±5.58	9.95±2.96	15.82±0.88
	F	11	25.57±7.87	3.00±1.35	28.57±7.34	38.98±7.86	9.30±1.39	13.78±1.16
50≤	M	21	18.56±6.66+	3.41±1.93	21.97±8.14**	33.46±7.36**	10.63±2.97+	15.46±0.60
	F	14	22.41±7.15	3.37±1.54	25.78±8.82	38.09±7.16	8.61±1.94	13.51±0.73
Sub-total	M	131	15.94±4.55*	2.51±1.78	18.45±5.64*	28.44±7.11*	9.46±2.44*	15.73±0.86*
	F	69	22.26±6.61	2.81±1.56	25.07±7.14	37.77±8.04	8.09±2.17	13.52±0.88
Total		200	18.12±6.12	2.61±1.71	20.73±6.94	31.65±8.65	8.98±2.43	14.99±1.40

* significant difference between male and female (P<0.001)

** significant difference from <30 and 30-39 age groups in male (P<0.01)

+ significant difference from <30 age group in male (P<0.05)

ZPP (HPLC) : zinc protoporphyrin by HPLC

PPIX (HPLC) : protoporphyrin IX by HPLC

EP (HPLC) : erythrocyte protoporphyrin (=ZPP+PPIX) by HPLC

ZPP (HF) : zinc protoporphyrin by hematofluorometer

PbB : lead in blood

Hb : hemoglobin

Table 3. Correlation coefficients for six parameters

	ZPP (HPLC)	PPIX (HPLC)	EP (HPLC)	ZPP (HF)	PbB	Hb
ZPP (HPLC)	--					
PPIX (HPLC)	0.3732*	--				
EP (HPLC)	0.9736*	0.5753*	--			
ZPP (HF)	0.7565*	0.3636*	0.7565*	--		
PbB	-0.0221	0.0321	-0.0116	-0.1120	--	
Hb	-0.4424*	-0.1099	-0.4141*	-0.4308*	0.2655*	--

* P<0.001

04 $\mu\text{g/dl}$ 로 남녀간에 유의한 차를 보였고(P<0.001) 남자에 있어 50세 이상의 연령군은 30세 미만과 30-39세 사이의 연령군에서 유의한 차이가 있었다(P<0.01).

혈중연량은 $8.98 \pm 2.43 \mu\text{g/dl}$ 로 남자가 $9.46 \pm 2.44 \mu\text{g/dl}$ 이고 여자가 $8.09 \pm 2.17 \mu\text{g/dl}$ 로 남녀간에 유의한 차를 보였으며(P<0.001) 남자에 있어 30세 미만과 50세 이상의 사이에 유의한 차이가 있었다(P<0.05).

혈색소량은 남녀가 각각 15.73 ± 0.86 , $13.52 \pm 0.88 \mu\text{g/dl}$ 를 나타내어 통계적으로 유의한 차를 보였다(P<0.001).

각 지수들간의 상관관계는 표 3과 같았다. ZPP(HPLC)량은 PPIX량, EP량, ZPP(HF)량, Hb량과의 사이에 유의한 상관관계가 있었으며(P<0.001), EP량은 ZPP(HF)량, Hb량과의 사이에 유의한 상관관계를 보였고(P<0.001) ZPP(HF)량은 Hb량과 PbB량은 Hb량과의 사이에 유의한 상관관계를 보였다(P<0.001). 그러나 HF와 HPLC에 의한 ZPP량과 혈중연량과의 상관관계는 유의하지 않았다.

그림 1은 ZPP(HPLC)와 ZPP(HF)의 상관관계($r=0.7565$, $P<0.001$)를 나타낸 것이다. ZPP(HPLC)량은 ZPP(HF)량은 $31.65 \mu\text{g/dl}$ 인 것에 비하여 ZPP(HPLC)량의 $18.12 \mu\text{g/dl}$ 인 것으로 측정되어 ZPP(HPLC)량은 ZPP(HF)량보다 42% 낮게 나타나 측정방법사이에 매우 유의한 차를 보였다(P<0.001). 또한 그림 2는 혈중연과 ZPP(HPLC) 사이의 상관관계를 나타낸 것으로서 유의한 상관관계가 없었다.

연취급 근로자 14명과 정상인 16명에 대한 각 지수간의 평균농도를 표 4에 대비하였다.

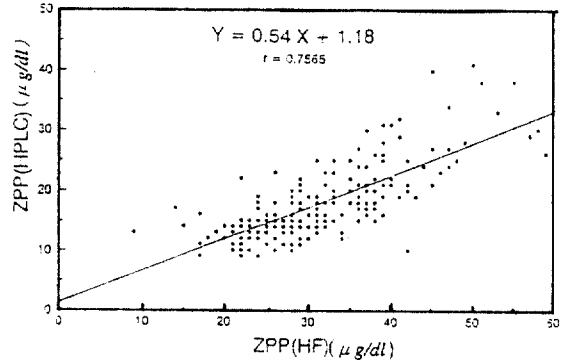


Fig. 1. Relationship between ZPP levels by hematofluorometer and HPLC.

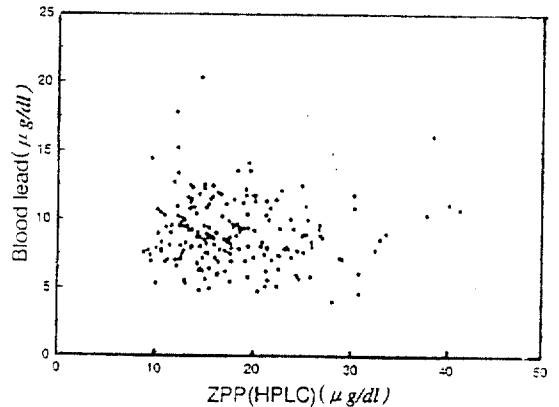


Fig. 2. Relationship between ZPP by HPLC and blood lead levels in normal adults.

연취급 근로자의 ZPP(HPLC)량과 ZPP(HF)량은 각각 57.46 , $47.11 \mu\text{g/dl}$ 로서 대조군보다 2배 이상 높은 것으로 나타났으며, 각 기간의 차이는 대조군에서 ZPP(HF)량은 ZPP(HPLC)량에 비해 2배 높은 것으로 측정되어 유의한 차를 보였으나(P<0.001) 폭로군에 있어서는 ZPP(HF)량과 ZPP(HPLC)량에서 유의한 차는 없는

것으로 나타났다(표 4).

Table 4. Mean values of parameters in workers exposed to lead and normal adults

Parameters	unit: $\mu\text{g}/\text{dl}$	
	Control (N=16)	Exposed (N=14)
ZPP(HPLC)	16.70 \pm 3.92	47.11 \pm 22.56
PPIX(HPLC)	2.75 \pm 1.37	5.98 \pm 4.65
EP(HPLC)	19.46 \pm 4.44	53.09 \pm 24.71
ZPP(HF)	33.28 \pm 6.26	57.46 \pm 30.09
PbB	8.98 \pm 2.38	48.61 \pm 9.60
ZPP(SF)*	20.95 \pm 3.78	49.98 \pm 25.49

*ZPP(SF): zinc protoporphyrin by spectrofluorometer

고 찰

S병원에 내원하여 건강진단을 받은 사무직 근로자와 일반 건강진단의뢰자 200명에 대하여 실시한 본 연구에서 정상인의 평균 혈중연농도는 8.99 \pm 2.43 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이었으며, 남자가 9.46 \pm 2.44 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 여자가 8.09 \pm 2.17 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 로 나타나 정상인의 혈중연농도에 대한 보고들(김정만과 이광목, 1984; 신해림과 김준연, 1986; 김정만 등, 1986 a, b; 황규윤 등, 1991; 김동일 등, 1992; 안규동 등, 1993)의 14.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ —24.28 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 보다 낮았으나, 일본의 도쿄 거주자의 혈중연농도(Watanabe 등, 1985)는 6.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 농촌거주자의 경우 남자 4.86 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 여자 3.21 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 로서 본 연구가 더 높은 값을 나타냈다. 미국의 CDC(Centers for Disease Control)에서는 혈중연농도 30 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 를 집단검진에서 선별기준으로 추천하고 있으나 EPA(Environmental Protection Agency)에서는 혈중연농이 30 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 미만인 경우에도 그들 중의 99.5%의 평균농도는 15 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 라고 보고하고 있어서(U.S. EPA, 1985) 본 연구에서 나타난 값은 EPA의 보고를 뒷받침하고 있는 것으로 나타났다. 또한 대기 중 연농도를 결정한다고 보고된 gasoline내 유기연이 최근에 사용량이 줄어 들고 있어 대기를 통해 체내에 흡수되는 연의 농도가 감소되어 정상인의 혈중연의 농도가 감소되고 있다는 Rom(1992)의 보고와 일치하고 있는 것으로 보인다.

평균 혈색소량에 있어서는 남자가 15.73 \pm 0.86g/dl, 여자가 13.52 \pm 0.88g/dl로 나타나 김동일 등(1992)의 7세 이상군의 남자 15.11g/dl, 여자 12.85g/dl, 신해림과 김준연(1986)의 남자 15.17g/dl, 여자 13.22g/dl와 유사하였으며, 안규동 등(1993)의 16.0 \pm 1.4g/dl보다는 약간 낮은 값을 보였다. 이는 통상 성인의 정상범위인 남자 13—18g/dl, 여자 12—16g/dl(조규상 등, 1992)에 해당되는 수치이다.

우리나라에서 연에 폭로된 근로자의 1차 건강진단시 연의 대사산물인 coproporphyrin 또는 혈중 ZPP를 측정하도록 되어 있어 연중독에 대한 건강진단시 혈중 ZPP측정은 택일가능한 검사항목의 하나이다. 우리나라에서 혈중 ZPP측정은 SF또는 HF를 사용하고 있으며 전국에 HF를 보유하고 측정하고 있는 기관은 8개기관에 8대에 이르며 그중 몇 군데 기관에서는 SF를 사용하고 있는 것으로 보이며 1992년 한해 혈중 ZPP 측정건수는 14,417건이었다(조규상 등, 1992). 종래 우리나라에서 주로 ZPP에 대한 측정방법으로 사용해 온 HF와 HPLC를 이용하여 정상인의 혈중 ZPP량을 측정할 때 본 연구에서 ZPP(HF)농도는 31.65 \pm 8.65 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 를 나타냈고 ZPP(HPLC) 측정량은 18.12 \pm 6.12 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 를 나타내 ZPP(HF)량을 보고한 김정만 등(1984, 1986 a, b)과 황규윤 등(1991)의 20.6 $\mu\text{g}/\text{dl}$ —26.54 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 보다 높은 값을 나타냈으나 신해림과 김준연(1986)의 32.61 \pm 8.78과는 비슷한 값을 나타냈다. 그러나 본 연구의 ZPP(HPLC)측정에서는 황규윤 등(1991)의 20.6 \pm 8.7 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 안규동 등(1993)의 21.5 \pm 7.9 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 와는 비슷한 측정량을 나타냈다. 또한 ZPP(HPLC)측정량의 남녀간의 유의한 차는 혈색소량이 남녀간에 유의한 차를 보이고 있는 결과와 같은 맥락에서 해석된다고 생각되며 ZPP(HPLC)와 Hb사이의 상관계수가 -0.4424의 유의한 역상관 관계를 보임으로써 이를 뒷받침하고 있는 것으로 보인다.

본 연구에서는 정상인에 있어 혈중 ZPP량과 혈중연농도 사이에 유의한 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 신해림과 김준연(1986)은 혈중 ZPP량과 혈중연농도 사이에 유의한 상관관계가 없다고

하여 본 연구와 같은 결과를 보였으나, 김정만과 이광목(1984)은 정상인에 있어서도 혈중 ZPP량과 혈중연량사이에 높은 상관관계가 있다고 한바 본 연구와 다른 결과를 보인 이유는 전체적인 혈중연량의 농도가 신태립과 김준연(1986)의 연구 결과와 본 연구결과보다 높아 20-30 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 의 대상군이 70.9%에 달하고 30-40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 에 속하는 대상군도 6.6%로 혈중연량이 남자의 경우 25-30 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 에서 여자의 경우 20-25 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 에서 ZPP 및 FEP량이 증가하기 시작하여 ZPP 및 FEP의 대수치와 높은 상관관계를 보인다는 Rom(1992)의 보고를 뒷받침하고 있는 것으로 보인다.

각 기기별 상관관계에 대한 결과에서는 ZPP(HPLC)량과 ZPP(HF)량간의 회귀직선식의 기울기가 0.5352, Y절편이 0.18이었고 상관계수는 $r=0.7565$ 를 나타냈다. Smith 등(1980)의 결과에서는 기울기가 1.0, Y절편이 4.1로 나타났으며 상관계수는 $r=0.9327$ 였다고 하여 본 연구와 약간의 차이를 보였다. ZPP(HF)량은 31.66 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 인 것에 비하여 ZPP(HPLC)량은 18.12 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 인 것으로 측정되어 ZPP(HPLC)량은 ZPP(HF)량보다 42% 낮게 나타나 측정방법사이에 매우 유의한 차를 보였다($P<0.001$). 혈액 30개에 대한 각 기기별 비교에 의하면 ZPP(HF) 측정치가 가장 높고, ZPP(SF), 그 다음이 ZPP(HPLC)로 나타나 ZPP(SF)량보다 ZPP(HF)량이 음의 편의를 갖는다는 결과(Peter 등, 1978; Balamut 등, 1982; Michell과 Doran, 1985)와 상이한 측정치를 보였다. 그 이유로는 위의 보고들이 모두 이중추출법을 사용하여 FEP량과 비교한 반면 본 연구에서는 산대신 증성용액인 ethanol을 사용하여 ZPP만의 농도를 얻었기 때문인 것으로 판단된다. 각 기기간의 차이에 있어서 폭로군에서는 유의한 차가 없었고, 정상인에 의한 ZPP량은 HPLC와 HF사이에 유의한 차를 보였다. 그 원인으로는 HF에 있어서의 bilirubin에 의한 영향으로 인해 ZPP량이 정상인에 있어 실제량보다 많은 양을 측정하였을 것으로 예측된다. 그러므로 HF는 정확한 정량을 위해서는 부적절한 기기로 판단된다. 특히 bilirubin의 양이 많을 것으로 판단되는 신생아, 간에 이상이 있는 환자, 빈혈환자의 ZPP량을 측

정함에 있어서는 주의가 필요할 것으로 보인다 (Buhmann 등, 1978). 그러나 폭로군에 있어서는 각 기기간에 유의한 차가 없었던 점으로 보아 HF는 1차 건강진단을 위한 기기로써, 또는 현장에서 간편하게 사용할 목적으로는 사용가능한 편리한 기기인 것으로 보인다. 정상인의 ZPP(HPLC)량과 PPIX량의 측정에서 ZPP/EP의 비는 87.4%로 EP에 대한 ZPP의 정상적인 비가 90%정도로 보고한 Smith 등(1980)의 결과와 80-90%라고 보고한 Sakai 등(1992)의 결과와 비슷한 값을 나타냈다. 그러나 고농도 연취급 근로자의 경우 증가되는 EP(=ZPP+PPIX) 중에서 Zn^{2+} 와 결합된 ZPP량이 EP량에 비해 상대적으로 감소하여 ZPP/EP의 비가 정상인의 90%에서 EP량이 200 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상이 되면 50%까지 떨어진다는 Harada와 Miura(1984)의 보고로 볼 때 HF의 측정치는 고농도 연폭로자의 ZPP치를 낮게 평가할 오류를 발생시킬 수 있다고 보여 주의가 필요하다 고 생각된다.

현재 우리나라에서는 혈중 ZPP측정을 위한 분석가능한 방법으로 HF와 SF를 들고 있으나 이 두 기기간에 통계적인 유의한 차는 없었으나 측정값에 있어 약간의 차이가 나타나 문제점으로 지적되고 있다. ZPP측정량이 기기간의 차를 보여서 근로자들의 건강위해 평가에 영향을 줄 수 있다면 담당기관에서는 혈중 ZPP측정방법에 대한 명시 또는 각 기기간의 측정량을 보정할 수 있는 제도적인 장치가 마련되어야 할 것으로 보인다. 또한 각 측정기관간의 HF 기기자체에 대한 상호 비교연구가 이루어져야 하며, HF에 의한 ZPP측정에 따른 기기 검량(calibration)에도 주의를 기울여야 할 것이다. 또한 혈중 ZPP는 2차 건강진단 항목에서도 요중 δ -ALA, coproporphyrin 또는 혈중 ZPP중 택일항목의 하나임을 고려해 볼 때 혈중 ZPP를 사용할 경우 좀 더 정확한 측정이 필요하리라 생각된다.

정상인 뿐 아니라 연을 취급하는 근로자에 대해서는 더 많은 대상군에 대한 연구가 이루어져야 할 것이며, 이 같은 연구를 통해 연에 폭로되고 있는 근로자를 조기에 발견하고 치료하기 위하여 정확한 측정결과를 얻기 위한 노력이 계속

되어야 할 것이다.

결 론

본 연구는 S병원에 내원하여 건강진단을 받은 사무직 근로자 및 일반 건강진단의뢰자 200명에 대하여 고속액체크로마토그래프(high performance liquid chromatograph, HPLC)를 이용하여 정상인에 있어서 혈중 zinc protoporphyrin(ZPP)량을 측정된 값과 기존의 hematofluorometer(HF)에 의한 혈중 ZPP량과의 차이점과 정상인의 혈중연(PbB)량과 HF 및 HPLC에 의한 혈중 ZPP량과의 상관관계를 알아보려고 하였다. 또한 정상인에 있어서 혈중 ZPP량의 성별 및 연령별 차이점 및 protoporphyrin IX(PPIX)과 ZPP의 분포를 규명하고자 하였다.

결과는 다음과 같다.

1. 혈중연량의 정상인 평균은 $8.99 \pm 2.4 \mu\text{g/dl}$ 로 남자가 $9.46 \pm 2.44 \mu\text{g/dl}$ 이고 여자가 $8.09 \pm 2.17 \mu\text{g/dl}$ 로 남녀간에 매우 유의한 차를 보였다.

2. 정상인의 HPLC에 의한 ZPP량의 평균치는 18.12 ± 6.12 로 남자가 $15.94 \pm 4.55 \mu\text{g/dl}$ 이고 여자가 $22.26 \pm 6.61 \mu\text{g/dl}$ 로 남녀간에 매우 유의한 차이를 보였으며, PPIX량의 평균치는 $2.61 \pm 1.71 \mu\text{g/dl}$ 로 남자 $2.51 \pm 1.78 \mu\text{g/dl}$, 여자가 $2.81 \pm 1.56 \mu\text{g/dl}$ 로 남녀간에 유의한 차는 없었다.

3. 정상인의 HF에 의한 ZPP량의 평균치는 $31.66 \pm 8.65 \mu\text{g/dl}$ 로 남자 $28.44 \pm 7.11 \mu\text{g/dl}$, 여자 $37.77 \pm 8.04 \mu\text{g/dl}$ 로 남녀간에 매우 유의한 차를 보였다.

4. 정상인에 있어 혈중연량과 ZPP량간에 유의한 상관관계는 없는 것으로 나타났다.

5. erythrocyte protoporphyrin(EP)에 대한 ZPP와 PPIX 비는 각각 87.4%, 12.6%였다.

6. HPLC에 의한 ZPP량과 HF에 의한 ZPP량 사이에는 매우 유의한 상관관계를 보였다($r=0.7565$). 또한 HF로 측정된 양이 HPLC로 측정된 양보다 1.75배 높아 매우 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

7. 30개 혈액(연취급 근로자 14명과 정상인 200명 중 무작위 추출한 16명)에 대한 HPLC, HF,

spectrofluorometer(SF)사이의 ZPP량은 HF가 가장 높았고, 다음이 SF, 가장 낮은 수치를 나타낸 것이 HPLC였으며 폭로군에 있어서는 각 기기간에 약간의 차는 있으나 통계적인 유의한 차는 없었고, 정상인에 있어서는 HF에 의한 양이 HPLC와 SF에 의한 양보다 매우 유의하게 높았다.

HPLC, HF, SF 세 기기에 의한 ZPP 측정량 사이에 차를 보여 담당기관에서는 혈중 ZPP 측정 방법에 대한 명시 또는 각 측정기기간의 차를 보정할 수 있는 제도적인 장치가 마련되어야 할 것으로 보인다.

(본 연구를 함에 있어 실험에 도움을 주신 노영만 선생님께 감사드립니다.)

참 고 문 헌

안규동, 이성수, 이병국, 김두희: 연폭로자에 있어서 신기능에 관련된 생물학적 지표 변화. 대한산업의학회지 1993; 5(1): 58-75

Bailey GG, Needham LL: Simultaneous quantification of erythrocyte zinc protoporphyrin and protoporphyrin IX by liquid chromatography. Clin Chem 1986; 32(12): 2137-2142

Balamut R, Doran D, Giridhar G, Mitchell D, Soule S: Systematic error between erythrocyte protoporphyrin in proficiency test samples and patients' samples as measured with two hematofluorometers. Clin Chem 1982; 28(12): 2421-2422

Blumberg WE, Eisinger J, Lamola AA, Zuckerman DM: The hematofluorometer. Clin Chem 1977; 23(2): 270-274

Blumberg WE, Eisinger J, Lamola AA, Zuckerman DM: Zinc protoporphyrin level in blood determined by a portable hematofluorometer: A screening device for lead poisoning. J Lab Clin Chem 1977; 89(4): 712-723

Buhrmann E, Mentzer WC, Lubin BH: The influence of plasma bilirubin on zinc protoporphyrin measurement by a hematofluorometer. J Lab Clin Med 1978; 91(4): 710-716

조규상, 윤임중, 염용태, 박정일, 이세훈, 노재훈, 노영만: 특수건강진단방법 및 직업병관리 기준, 서울, 대한산업보건협회, 1992, 40-44, 340-350, 486-495

- 조규상 : 산업보건학, 서울, 수문사, 1991, 285-298
- Grandjean P, Lintrup J : *Erythrocyte-Zn-protoporphyrin as an indicator of lead exposure. Scand J Clin Invest* 1978 ; 38 : 669-675
- Garden JS, Mitchell DG, Jackson KW, Aldous KM : *Improved ethanol extracion procedure for determining zinc protoporphyrin in whole blood. Clin Chem* 1977 ; 23 (9) : 1585-1589
- Grunder FI, Moffitt JR : *Evaluation of zinc protoporphyrin in an occupational environment. Am Ind Hyg Assoc J* 1979 ; 40 (8) : 686-694
- Hanna TL, Dietzler DN, Smith CH, Gupta S, Zarkowsky HS : *Erythrocyte porphyrin analysis in the detection of lead poisoning in children : Evaluation of four micromethods. Clin Chem* 1976 ; 22 (2) : 161-168
- Harada K, Miura H : *Free erythrocyte protoporphyrin (FEP) and Zinc protoporphyrin (ZnP) as biological parameters for lead poisoning. Int Arch Occup Environ Health* 1984 ; 53 : 365-377
- Hart D, Piomelli S : *Simultaneous quantitation of zinc protoporphyrin and free protoporphrin in erythrocyte by acetone extraction. Clin Chem* 1981 ; 27 (2) : 220-222
- Hesley KL, Wimbish GH : *Blood lead and zinc protoporphyrin in lead industry workers. Am Ind Hyg Assoc J* 1981 ; 42 (1) : 42-46
- Ho J, Guthrie R, Tieckelmann H : *Quantitative determination of porphyrins, their precursors and zinc protoporphyrin in whole blood and dried blood by high performance liquid chromatography with fluorometric detection. J Chromatogr* 1987 ; 417 : 269-276
- 황규윤, 안재익, 안규동, 이병국, 김정순 : 저농도 연폭로에서의 혈중 연농도와 자각 증상과의 관계. 예방의학회지 1991 ; 24(2) : 181-194
- Joselow MM, Flores J : *Application of the zinc protoporphyrin (ZP) test as a monitor of occupational exposure to lead. Am Ind Hyg Assoc J* 1977 ; 38 (2) : 63-66
- Lamola AA, Yamane T : *Zinc protoporphyrin in the erythrocytes of patients with lead intoxication and iron deficiency anemia. Science* 1974 ; 186 : 936-938
- Lamola AA, Eisinger J, Blumberg WE, Kometani T, Burnham BF : *Quantitative determination of erythrocyte zinc protoporphyrin. J Lab Clin Chem* 1977 ; 89 (4) : 881-890
- 이병국, 김정만, 이광목, 조규상, 이은영, 조영선 : 연체련 작업자에서의 연폭로에 관련된 생물학적 지표들의 상호 관계. 한국의 산업의학 1984 ; 23(1) : 1-7
- 이병국, 안규동, 남택승 : 연작업자들의 보건관리시 혈중 ZPP 측정의 의의. 산업보건 연구논문집 1989, 19-25
- Mitchell DG, Doran D : *Effect of bias in hematofluorometer measurements of protoporphyrin in screening programs for lead poisoning. Clin Chem* 1985 ; 30 (1) : 386-390
- 김동일, 김용규, 김정만, 정갑열, 김준연, 장형심, 이영호, 최안홍 : 건강한 일부 도시지역 주민의 혈중 연 및 zinc protoporphyrin 농도. 예방의학회지 1992 ; 25 (3) : 287-302
- 김정만, 이광목 : 연폭로의 생물학적 지표로서 혈중 Zinc protoporphyrin치의 의의. 가톨릭대학 의학부 논문집 1984 ; 37(4) : 939-951
- 김정만, 이세훈, 이은영, 조영선 : 연체련 근로자들의 만성적 연폭로에 관한 연구. 한국의 산업의학 1985 ; 24(1) : 10-19
- 김정만, 김형아, 이광목, 이은영, 강재복 : 연체련 작업자에서의 혈색소, 혈중연 및 혈중 Zinc protoporphyrin에 관한 연구. 한국의 산업의학 1986 ; 25(1) : 1-8
- 김정만, 김형아, 이광목, 한구용, 남택승 : 연폭로여성 근로자에서의 생물학적 연폭로 지표들의 상호관계. 한국의 산업의학 1986 ; 25(3) : 69-75
- Peter F, Growcock G, Strunc G : *Fluorometric determination of erythrocyte protoporphyrin in blood, a comparison between direct (Hematofluorometric) and indirect (Extraction) methods. Clin Chem* 1978 ; 24 (9) : 1515-1517
- Piomelli S, Davidow B, Guinee VF, Young P, Gay G : *The FEP (free erythrocyte porphyrins) test : A screening micromethod for lead poisoning. Pediatrics* 1973 ; 51 (2) : 254-259
- Rom WN : *Environmental and Occupational Medicine, 2nd Ed., Boston, Little, Brown and Company, 1992, 735-758*
- Sakai T, Takeuchi Y, Araki T, Ushio K, Kondo M, Chiba M, Shinohara A, Ujiie C, Kudo Y, Nakamura I, Aminaka M, Kajiwara M, Urata G : *Determination of protoporphyrins in blood using HPLC-Standardization of protoporphyrins and interlaboratory comparison of analysis. Jpn J Ind Health* 1992 ; 34 : 236-242
- Sassa S, Granick JL, Granick S, Kappas A, Levere RD : *Microanalysis of erythrocyte protoporphyrin levels by spectrofluorometry in the detection of chronic lead intoxication in the subclinical range. Biochem Med* 1973 ; 8 : 135-148
- Scoble HA, McKeang M, Brown PR, Kavarnos GJ : *The rapid determination of erythrocyte porphyrins using reversed-phase high performance liquid chromatography. Clin Chin Acta* 1981 ; 113 : 253-265
- 신혜림, 김준연 : 연폭로 지표들의 정상치에 관한 연구. 예방의학회지 1986 ; 19(2) : 167-176

Smith RM, Doran D, Mazur M, Bush B : *High-performance liquid Chromatographic determination of protoporphyrin and zinc protoporphyrin in blood. J Chromatogr 1980 ; 181 : 319-327*

U.S. Environmental Protection Agency : *Preventing lead poisoning in young childrens : A statement by the cen-*

ters for disease control, Atlanta. GA US Dept. of Health and Human Service Publication, 1985, 99-230
Watanabe T, Fujita H, Koiaumi A, Miyasaka M, Ikeda M : *Baseline level of blood lead concentration among Japanese farmers. Arch Environ Health 1985 ; 40 (3) : 170-176*
