

Dimethylformamide가 사람 혈청의 과산화지질 농도와 Superoxide dismutase 활성도 변화에 미치는 영향

김기웅 · 최정근 · 김태균 · 송문기 · 고경선 · 손남석 · 조영숙 · 김소연 · 김희곤 · 문영한
한국산업안전공단 산업보건연구원

Effects of Dimethylformamide on Lipid Peroxide Level and Activity of Superoxide Dismutase in Human Serum

Ki-Woong Kim, Jung-Keun Choi, Tae-Kyun Kim, Moon-Gi Song, Kyeong-Sun Go,
Nam-Seok Sohn, Young-Sook Cho, So-Yeon Kim, Hee-Gon Kim, Young-Hahn Moon

Industrial Health Research Institute, 34-6 Kusan-dong, Pupyong-ku, Incheon 403-120, Korea

(Received April 12, 1996)

(Accepted April 30, 1996)

ABSTRACT : The variation in the enzyme activities of human liver usually represents the particular physiological conditions of each individuals. Thus, we investigated the variation in the activities of SOD, HR and LPO of (1) non-exposed workers (56 subjects), and (2) exposed workers to DMF (43 subjects) in synthetic leather process. Serum levels of enzyme activities of exposed workers (AST:30.26±20.041 U/L, ALT:32.72±23.393 U/L, GGT:28.47±18.635 U/L, ALP:81.77±34.879 U/L) were slightly higher than those in nonexposed workers (AST:24.00±9.441 U/L, ALT:23.89±18.305 U/L, GGT:21.95±17.970 U/L, ALP:70.84±24.678 U/L), but only the level of ALT was statistically significant ($p < 0.05$). Serum levels of LDH, TRF and CHOL in non-exposed workers were slightly higher than those of exposed workers. However, they were not statistically significant ($p > 0.05$). Serum levels of HR and LPO of the exposed workers appeared to be reduced, but not those of the non-exposed workers. The SOD activities of exposed workers were also slightly higher than those of non-exposed workers, but the results were not statistically significant ($p > 0.05$). The level of HR was increased with age, but the SOD level was not. These results suggest that the intermittent exposure to DMF at time-weighted average (TWA) level (10 ppm/m³) has affected on the activities of enzymes such as AST, ALT, TRF, but not on the generation of HR, activity of SOD. However, if high dose of DMF was used, there would be severe effects for the generation of HR and LPO.

Key Words : Dimethylformamide, Hydroxyl radical, Lipid peroxide, Superoxide dismutase

I. 서 론

화학물질, 환경오염물질 및 약물과 같은 이물질(xenobiotic)이 체내로 흡수되면 체내의 이물질 대사 효소의 작용에 의하여 생물학적 변화를 거쳐 해독대사(detoxify) 되는 반면, 일부는 대사변형 과정시 활성화되어 독성을 유발하는 작용을 한다(Gelboin, 1969; Al-lemmand 등, 1978).

흡수된 이물질에 대한 대사는 주로 간장에서 이루어지며(Lu와 West, 1980), 이들 물질은 Phase I 효소에 의해서 산화-환원 되고 이 과정에서 생성된 중간체들은 Phase II 효소에 의해서 conjugation되어 복합물(complex)

을 형성하여 배설된다. 이때 일어나는 산화-환원에 의한 작용에서는 전자-전달계에 의한 전자의 전달이 이루어지며, 한편으로는 생체내에 존재하는 산소분자에 의한 상호작용이 함께 수반된다. 그러나 산소분자의 작용시 산소의 부분적인 환원으로 superoxide ion (O_2^-), hydroxyl radical($\cdot OH$)과 같은 free radical이 생성되어 지방질 성분과 지질과산화반응(lipid peroxidation)을 통한 지질의 자동산화를 촉진시킬 수 있어서 이상대사를 초래할 수 있다.

Free radical은 방사선의 조사, 약물, 화학물질 및 중금속 등의 폭로로 인하여 생성되며(Kraut와 Sagone, 1981; Kasprzak, 1991; Nelson, 1995), 분자상의 산소가 환원되

어 superoxide radical이 생성되고 다시 전자와 수소를 받아 과산화수소(hydrogen peroxide)가 생성된다.

생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)인 superoxide ion과 hydroxyl radical들은 세포막, 단백질 및 핵산 등을 손상시켜 세포의 기능을 억제시키며 더 나아가서는 체내의 항상성이 불균형화되는 현상을 초래한다(Jakoby, 1980; Sunderman, 1986; Nelson, 1995). 즉 활성이 큰 ROS가 DNA에 작용하여 돌연변이 및 발암을 유발하게 되며(Hamilton-Koch 등, 1986; Oleinick 등, 1987) 성인병, 폐기종, 암 등의 신생질환을 발생시키기도 한다(White 등, 1973; Yamamoto와 Jonston, 1984; Viguier 등, 1990; Kasprzak, 1991). 그러나 정상적인 생체 내에는 체내의 항상성을 유지하기 위한 많은 효소들이 존재하여 반응성이 큰 ROS를 제거시키는데, 간과 혈액에 존재하는 superoxide dismutase(SOD)는 생성된 O_2 를 H_2O_2 로 전환되는 것을 촉매하고(McCord와 Fridovich, 1969) 이렇게 생성된 H_2O_2 는 glutathion(GSH)-peroxidase, catalase 등에 의해서 분해되어 free radical과 과산화지질(lipid peroxide, LPO)의 축적에 의한 세포손상을 억제한다. Ito 등(1985)에 의하면 직업적으로 납(lead)에 폭로된 사람들의 혈액에 있어서 혈중 납 농도가 증가함에 따라 혈중 SOD의 활성도가 감소하며 연령 증가와 더불어 혈청의 과산화지질 함량이 증가한다고 보고하였다. 흰쥐를 이용한 동물실험에서 철(iron), 구리, 아연(Aust와 Svingen, 1976) 및 수은(Stacey와 Kappus, 1982) 등과 같은 중금속에 폭로될 때 간 microsomes에 있어서 과산화지질의 농도가 증가된다고 하였다. Shi 등(1993)은 electron spin resonance(ESR)를 이용한 연구에서 크롬에 의해서 free radical과 과산화수소 등의 생성으로 인한 크롬의 발암 가능성을 보고하였으며, 강력한 간장 독성물질인 사염화탄소(CCl_4)는 체내 흡수시 cytochrome P-450에 의하여 1차 대사변형 과정에서 free radical이 생성되고 이들 생성된 radical은 간장에 독성을 유발한다고 하였다(Sauer 등, 1995). 또한 김 등(1995)은 하나의 고리를 가진 방향족탄화수소(monocyclic aromatic hydrocarbon)계 유기용제를 2일간 연속하여 흰쥐에 복강투여한 후 간장의 microsomes에서 hydroxyl radical과 과산화지질의 함량 및 SOD의 활성도를 측정된 결과, 대조군 보다 투여군에 있어서 함량 및 활성도가 증가하였다고 보고하였다. 이와같이 유기용제나 중금속 등이 체내로 흡입되면 흡입된 물질에 의해서 직·간접적인 영향으로 인하여 free radical이 생성이 되는데 생성된 free radical은 세포막(cell membranes)을 구성하고 있는 불포화 지질성분의 이중결합과 작용하여 연쇄적인 반응을 통

하여 과산화지질을 형성하고, 이들 물질은 체내의 여러 기관(organ)에 독성작용을 유발한다.

또한 산업체에서 용제 및 원료로 널리 사용되고 있는 dimethylformamide(DMF)도 강력한 간장독성 유기용제로서 고농도의 DMF에 폭로시 간괴사가 일어난다고 알려져 있어 금번 연구에서 DMF에 폭로된 근로자들의 혈청중 hydroxyl radical, 과산화지질의 농도 변화 및 free radical 제거효소인 SOD의 활성도 변화를 관찰하여 이 결과를 토대로하여 DMF에 의한 독성발현 기전을 파악하고자 시도하였다.

II. 재료 및 방법

연구에 사용된 superoxide dismutase(SOD), deoxyribose, xanthine oxidase, KCl, NADH, ethanol, NaOH, dimethylformamide(DMF) 등의 실험시약은 Sigma 사(St. Louise, MO, USA)로 부터 구입하였으며, 혈액의 임상검사 시약은 Roche 사(Roche Co. USA), 기타의 일반적인 생화학 시약은 Sigma 사, Aldrich 사(Milwaukee, WI, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

1. 연구대상

폭로군은 DMF을 취급하는 근로자를 대상으로 하여 작업시 폭로되는 DMF의 농도를 측정하고 사전에 준비된 설문지를 이용하여 혈청의 free radical과 과산화지질의 생성과 SOD의 활성도 변화에 영향을 미칠 수 있는 인자인 연령, 음주 및 흡연상태, 병력 등을 조사하였다. 또한 비폭로군으로는 DMF나 기타의 유기용제에 폭로되지 않은 사무직 근로자를 대상으로 하여 간기능 이상자와 습관성 약물복용자를 제외한 99명(폭로군; 43명, 비폭로군; 56명)을 연구 대상자로 하였다.

2. 연구방법

DMF 폭로군은 작업시 작업 내용별로 임의 선정하여 작업자의 호흡구 위치에 개인시료 채취기(MSA 사, USA)를 부착하여 silicagel 흡착제로 DMF를 포집하였다. 개인시료 채취기의 포집 유량은 0.2 L/min으로 하였으며, DMF를 포집한 흡착제를 메탄올 1 ml로 용출하여 가스크로마토그래프(HP-5890 series II)로 분석하여 DMF의 폭로농도를 측정하였다(NIOSH, 1984).

채혈한 연구대상자의 혈액을 원심분리하여 혈청 300 μ l을 취하여 Roche사의 COBAS MIRA 생화학자

동분석기를 이용하여 간장기능의 지표로 사용되는 albumin, total bilirubin, triglyceride, protein, lactic dehydrogenase(LDH), transferrin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase(AST), gamma-glutamyl transferase(GGT), alkaline phosphatase(ALP) 등을 분석하였다.

혈청중의 Hydroxyl radical 생성량 측정은 최 등(1993)의 방법을 다소 변형하여 반응 혼합물을 A와 B로 나누어서 0.54 M NaCl, 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4), 10 mM NaN₃, 7mM deoxyribose, 5 mM ferrous ammonium sulfate를 각각 혼합하고 혈청을 첨가하여 A 용액은 37°C에서 15분간 반응시키고, B 용액은 실온에서 방치시킨 후 A, B 용액에 8.1% sodium dodecyl sulfate(SDS)와 20% acetic acid 및 증류수를 넣어 혼합하였다. 그리고 1.2% thiobarbituric acid (TBA)를 가하고 100°C 항온수조에서 30분간 가열한 후 실온에서 냉각한 다음, 700×g에서 원심분리하여 상층액을 취하여 흡광도계(Beckman, DU 650)를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청의 과산화지질 생성량 측정은 Yagi 방법(1987)을 변형하여 TBA법으로 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정은 혈청에 시약 A(3 mM hydroxylamine/3 mM hypoxanthine)와 시약 B(7.5 mU/ml xanthine oxidase/0.1 mM EDTA-2Na)를 각각 200 µl씩 넣고, 증류수를 첨가하여 반응 혼합물의 최종부피를 1 ml로 한 후 37°C 항온수조에서 40분간 반응시킨 후 시약 C(16.7% acetic acid 300 mg 과 N-1-naphthylethylenediamin 5 mg을 녹임)를 넣고 실온에서 20분 동안 방치시킨 후 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 SOD의 활성도를 측정하였다(Oyanagui, 1984). 조사대상자에 대한 분석 결과자료는 개인용 컴퓨터를 이용하여 입력한 후 SAS 통계 프로그램을 이용하여 t-test, ANOVA 등의 방법으로 자료분석 하였다.

III. 결 과

1. 일반적 특성 및 DMF의 폭로농도

비폭로군의 경우 평균 연령은 35.5세였고 근무기간은 34.9개월이었다.

폭로군의 연령은 평균 29.9세였고 DMF에 폭로된 기간은 29.2월 이었으며 1일중 폭로되는 DMF의 평균 폭로농도는 11.8±7.88 ppm/m³으로 ACGIH(1995)의 8시간 작업 시간가중평균치(time-weighted average, TWA)

인 10 ppm/m³을 다소 초과하는 것으로 측정되었다.

또한 기타의 흡연 및 음주상태는 조사결과 두 군이 비슷한 상태였다.

2. 혈액의 생화학적 분석

비폭로군과 폭로군에 있어서 혈청 중 AST, ALT, GGT, ALP를 분석한 결과, 측정군 모두의 평균치가 참고치의 정상범위에 분포하고 있는데, 비폭로군의 측정 성적보다 폭로군에 있어서 다소 높은 측정치를 보였으나 ALT의 측정치만 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(p < 0.05).

Cholesterol(CHOL)과 lactic dehydrogenase(LDH)의 측정치는 비폭로군에서 보다 폭로군에서 낮은 측정 성적을 보였으나 군간에 통계학적인 유의한 차이는 없었다(p > 0.05).

또한 transferrin(TRF)의 경우도 폭로군에서의 측정치가 비폭로군 보다 낮은 성적을 나타냈다(p > 0.05).

3. Hydroxyl radical 및 과산화지질 생성량

비폭로군과 폭로군에 있어서 hydroxyl radical을 측정한 결과, 비폭로군은 2.78 nmol/mg protein, 폭로군은 1.89 nmol/mg protein으로 측정되었다. 또한 혈청중

Table 1. General characteristics of subjects

	Non-exposed group	Exposed group
No. of subjects	56	43
Age (yr)	35.5	29.9
Exposure (month)	-	29.2
Exposure levels (ppm/m ³)	-	11.8* ± 7.88

*Value represents mean ± S.D.

Table 2. Serum analyses in non-exposed and exposed subjects

Item	Normal values	Non-exposed (n=56)	Exposed (n=43)
AST	10-34 U/L	24.00 ± 9.441	30.26 ± 20.041
ALT	9-43 U/L	23.89 ± 18.305	32.74* ± 23.393
GGT	11-50(male) U/L 7-32 (female) U/L	21.95 ± 17.970	28.47 ± 18.635
ALP	35-110 U/L	70.84 ± 24.678	81.77 ± 34.879
CHOL	110-220 mg/dl	195.67 ± 46.717	170.14 ± 45.782
TBIL	> 1.5 mg/dl	0.63 ± 0.256	0.63 ± 0.233
LDH	211-423 U/L	460.56 ± 116.868	415.37 ± 85.460
TRF	220-400 mg/dl	251.00 ± 45.500	231.20 ± 23.231

Values represent mean ± S.D.

*: p < 0.05 (difference of serum component values between non-exposed and exposed groups, Student's t-test).

LPO의 생성량은 비폭로군의 경우 6.38 nmol/ml serum, 폭로군은 3.87 nmol/ml serum으로 측정되었으나 혈청 중 hydroxyl radical과 LPO의 생성량은 비폭로군과 폭로군 사이에 통계학적인 유의성은 없었다(Table 3) ($p > 0.05$).

비폭로군에 있어서 연령 변화에 따른 혈청 중 hydroxyl radical과 LPO의 함량을 측정한 결과, hydroxyl radical의 함량은 20-29세가 3.20, 30-39세는 2.50 nmol/mg protein, 40-49세 및 50세 이상에서는 2.65, 2.61 nmol/mg protein으로 각각 측정되었으나 연령증가에 따라 HR의 함량 변화는 보이지 않았다($p > 0.05$). 그러나 혈청 중 LPO의 함량은 20-29세의 경우 5.82 nmol/ml serum로 30-39세, 40-49세 및 50세 이상에서는 6.14, 7.30, 7.57 nmol/ml serum로 각각 측정되어 통계학적인 유의성은 없으나 연령 증가에 따라 LPO의 함량이 증가되는 경향을 보였다(Table 4)($p > 0.05$).

그러나 본 연구결과에는 나타내지 않았지만 성별에 따른 hydroxyl radical과 LPO의 함량을 비교해 보면 통계학적인 유의성은 없었으나 여성 보다 남성에게 있어서 다소 높은 측정치를 보였다.

Hydroxyl radical과 LPO의 생성량을 혈청 중의 간기능 지표, 지질함량 및 철 운반 단백질 등 간의 회귀방정식과 상관성을 본 결과, 혈청의 철 운반 단백질인 transferrin을 제외한 기타의 변수와는 상관성이 없는

Table 3. Comparisons of average serum hydroxyl radical (HR) and lipid peroxide (LPO) levels in non-exposed and exposed groups

Groups	No. of subjects	HR and LPO levels in Serum	
		HR (nmol/mg protein)	LPO (nmol/ml serum)
Non-exposed	56	2.78 ± 2.596	6.38 ± 2.867
Exposed	43	1.89 ± 0.614	3.87 ± 0.503
T-value		-2.37	-6.45
p-value		< 0.05	< 0.05

Values represent mean ± S.D.

Table 4. Hydroxyl radical concentration and lipid peroxide in serum of non-exposed group by age

Age (yr)	No	HR (nmol/mg protein)	LPO (nmol/ml serum)
20-29	20	3.20 ± 0.428	5.82 ± 2.432
30-39	20	2.50 ± 0.694	6.14 ± 3.267
40-49	10	2.65 ± 0.621	7.30 ± 2.782
50-	6	2.61 ± 0.756	7.57 ± 3.281
F-value		0.26	0.99

Values represent mean ± S.D.

*Comparisons no significant at the 0.05 level by Ducan's test.

것으로 나타났다.

그래서 hydroxyl radical과 LPO를 종속변수로 하고 transferrin(TRF)의 측정치를 독립변수로 하였을 때의 회귀식에서 hydroxyl radical의 기울기는 22.967, LPO의 기울기는 111.15로 나타났으며 회귀식에 대한 설명력(R^2)은 약 20% 정도로 나타났다(Table 5).

4. Superoxid dismutase 활성도

체내에서 생성된 Free radical을 제거하는 효소(scavenger enzyme)인 SOD를 측정한 결과, 폭로군 보다 비폭로군에서 다소 낮은 활성도를 나타냈다. 군간의 측정 성적을 보면, 비폭로군에서는 77.34 unit/ml serum으로 측정되었으며 폭로군에서는 80.46 unit/ml serum으로 각각 측정되었다.

Table 5. Multiple regression equation

Dependent	Regression Equation	R^2	F-value	P-value
HR	22.967+0.068 TRF	0.199	15.14	0.001
LPO	111.15 -0.367 TRF	0.217	17.22	0.002

Table 6. Activity of serum SOD between non-exposed and exposed groups

Groups	N	Mean ± S.D. (unit/ml serum)
Non-exposed	56	77.34 ± 39.769
Exposed	43	80.46 ± 45.617
T-value		0.35
p-value		> 0.05

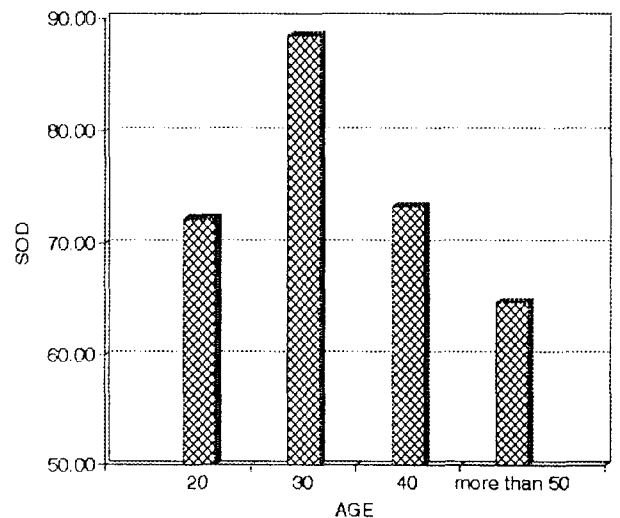


Fig. 1. The increasing ratio of serum SOD level depending on the aging in non-exposed group. The bar represents mean concentration.

그러나 실험군간의 SOD의 활성도 차이는 보이지 않았다($p > 0.05$). 또한 비폭로군에 있어서 연령에 따른 SOD의 활성도를 비교한 결과, 20-29세는 72.11 unit/ml serum, 30-39세는 88.43 unit/ml serum, 40-49, 50세 이상에서는 각각 73.26, 64.73 unit/ml serum으로 측정되었으며 연령 증가에 따라 SOD의 활성도가 감소되는 경향을 보였다(Fig. 1).

IV. 고 찰

본 연구는 물에 쉽게 흡수되고 다량체 수지를 잘 녹이는 성질을 가지고 있어 필름, 플라스틱 제조, 보호코팅, 프린트용 잉크 및 합성피혁제조 등의 산업체에서 널리 사용되고 있는 유기용제인 DMF를 대상으로 하였다. 산업체에서 사용되는 대부분의 유기용제와 마찬가지로 DMF도 체내로 흡입되는 경로는 호흡기 및 피부 접촉에 의한 흡수가 대부분이며(Lauwerys 등, 1980), DMF가 체내에 흡입되면 생체내 자기방어 기전에 의해서 간장의 microsomes에 존재하는 이물질 대사효소에 의하여 대사가 이루어지게 된다(Scailteur 등, 1984). DMF의 대사에 있어서 대사속도를 조절하는 단계는 amide에 결합된 methyl기가 수산화(hydroxylation)되어 N-hydroxy-methyl-N-methylformamide(DMF-OH)를 형성하는 데서 시작되며 이때 관여하는 효소가 microsome에 존재하는 mixed function oxidase(MFO)이다.

DMF에 대한 연구로는 흡수 및 배설속도(Krivanek 등, 1978; 김 등, 1994), 대사기전(Scailteur와 Lauwerys, 1984) 및 대사산물의 배설량(Krivanek 등, 1978; Lauwerys 등, 1980; Dixon 등, 1983; Kestell 등, 1986) 등에 관한 pharmacokinetic 연구와 동물 및 사람을 대상으로 한 임상, 병리 조직학적인 연구가 되어 있으며 DMF의 주요 표적기관은 간장이다. DMF는 주로 간장장애(Clayton 등, 1963; Scailteur와 Lauwerys, 1987) 및 기타의 기관(organ) 장애(Shottek, 1970; Potter, 1973; Kennedy와 Sherman, 1986)를 초래한다고 보고되어 있다.

Lauwerys 등(1980)에 의하면 0.3-15.5 ppm의 농도에 5년간 폭로된 작업자 28명의 혈청에서 alkaline phosphatase(AP), γ -glutamyl transferase(γ -GT), ornithine carbonyl transferase(OCT)와 bilirubin 등을 측정한 결과, 대조군에서의 측정치와 차이를 보이지 않았으나 술에 대한 불내성(intolerance)은 보였다고 보고하였다. Lundberg 등(1983)은 흰쥐에 565 ppm의 DMF를 16시간동안 폭로 하였더니 plasma에 있는 sorbitol dehydrogenase(SDH)의 활성도가 증가하였다고 보고하였으며 Scailteur 등(1981)은 실험동물에 DMF를 1회 투여

한 후 microsomes의 aniline hydroxylase의 활성도가 증가하였다고 보고하였다. Mathew 등(1980)은 흰쥐에 체중 kg당 0.9-1.2 ml의 DMF를 1회 복강주사한 후 간 조직을 조사하였더니 괴사와 염증이 발생하였다고 보고하였다.

금번 실험에 있어서 간장장애의 지표로 활용되는 AST, ALT, ALP 등을 측정한 결과, 폭로군에 있어서의 측정치가 비폭로군에서 보다 높은 성적을 나타냈으며, LDH의 측정치는 비폭로군에서 다소 높은 경향의 성적을 나타냈다($p > 0.05$).

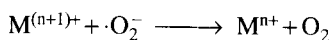
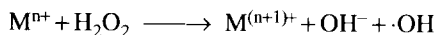
이러한 결과는 Fleming 등(1990)이 보고한 연구결과와 일치하는 것으로 DMF에 의해서 간장기능이 저하된 현상으로 생각된다. 또한 cholesterol을 측정한 결과 폭로군에서 측정치가 비폭로군에서 보다 감소된 성적을 나타냈는데 이러한 결과는 DMF 폭로에 의한 영향보다는 식생활 습관과 연령에 의한 영향으로 인하여 나타난 결과라 보여진다.

Free radical이나 LPO 등은 외부의 영향을 받아서 생성되기도 하지만(Kasprzak, 1991; Nelson, 1995) 탐식세포가 여러가지의 자극에 의해서 생성되기도 한다(Decamps-Latscha, 1986). 또한 ascorbic acid나 catecholamines과 같은 내부 생성물들이 자기산화에 의해서도 과산화수소가 생성되며, 이물질 대사효소들이 외부로부터 흡입된 물질을 대사시키기 위해서는 전자가 요구되는데 이때 전자전달계의 작용에 의해서도 생성된다(Ingelman-Sundberg와 Hagbjork, 1982).

이렇게 생성된 ROS는 신경세포의 신호전달체계에 영향을 미치며(Cohen, 1978) 생성된 ROS의 양이 많아지면 조직손상을 초래한다.

금번 연구를 통하여 이물질인 DMF가 체내에 흡입될 경우 DMF에 의한 hydroxyl radical과 LPO 등의 생성량을 DMF와 연관하여 관찰한 결과, 폭로군에 있어서 이들 물질의 생성량이 비폭로군 보다 낮은 성적을 나타내는 것을 발견하였고, 이러한 현상은 혈청학적인 간기능 검사 결과에서도 보여 주었듯이 비폭로군과 폭로군에 있어서 다소의 성적 차이는 보이지만 간장기능이 거의 정상인 상태로서 DMF가 hydroxyl radical과 LPO 등의 생성량에 큰 영향을 미치지 않고 있는 것을 간접적으로 보여주고 있다.

또한 free radical과 hydrogen peroxide(H_2O_2)의 생성은 Fenton/Haber-Weiss 형태의 반응에서 Cu(II), Fe(II), Co(II) 등의 d-궤도함수의 nonpaired electron들의 작용에 의해서 H_2O_2 와 반응하여 free radical을 생성하게 되는데(Walling, 1975; Gertteridge, 1985) 그 기전은 다음과 같다.



(M : Metals)

위와 같은 기전에 있어서 Fe의 산화-환원에 의한 기전을 살펴보면, Fe(II)가 Fe(III)로 되는 과정에 $\cdot O_2$ 를 O_2 로 전환시키며 Fe(II)가 Fe(III)로 산화되며 H_2O_2 에서 OH를 생성시킨다. 그러므로 free radical과 LPO의 생성량은 Fe에 의한 영향이 크다고 볼수 있어 금번 연구에 있어서 철을 운반하는 혈청 단백질인 transferrin을 측정할 결과, 통계학적인 차이는 보이지 않았으나($p > 0.05$) 비폭로군에서의 측정치가 폭로군 보다 증가된 경향을 보였다($p > 0.05$). 이러한 결과는 DMF의 폭로로 인하여 hydroxyl radical과 LPO의 생성량에는 직접적인 영향을 초래하지는 않았으나 혈청의 철 운반 단백질인 transferrin에는 영향을 보여 Fenton/Haber-Weiss 반응에 의한 free radical이나 LPO의 생성에 영향을 미칠 가능성을 시사하고 있다. 따라서 금번 연구에 있어서 DMF 폭로가 hydroxyl radical과 LPO의 생성량에는 직접적인 연관성은 없지만 transferrin과 같은 효소들에 간접적인 영향을 보이게 되어, 지속적이며 고농도의 DMF에 폭로되면 free radical과 LPO의 생성에 영향을 주고 이에 따른 간조직의 손상이 초래될 수 있다는 것을 시사하고 있다.

산소에 의하여 생명을 유지하는 많은 생물체들은 산소에 의한 산화작용으로 반응성 산소를 생성하게 되고 이들은 큰 반응성을 가지고 있어 세포막이나 기타의 생체내 물질에 작용하여 손상을 초래하게 된다. 그러나 생체는 자기방어 기전에 의해서 이들 물질을 제거하는 기능을 가지고 있는데, 항산화작용을 하는 효소가 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase와 같은 제거효소(scavenger)이다. 제거효소 중에 SOD는 superoxide를 hydrogen peroxide와 산소로 전환시키는 효소로서 세포내에서 superoxide와 같은 ROS를 제거하는데 있어서 생리적으로 매우 중요한 효소이다(Fridovich, 1975).

금번 연구에 있어서 superoxide dismutase의 활성도를 측정할 결과, 비폭로군과 폭로군에 있어서 통계학적인 활성도 변화는 보이지 않았다($p > 0.05$). Kennedy와 Symons(1987)의 연구에서도 DMF에 의한 SOD 활성도 변화는 나타나지 않은 것으로 보고한 바 있는데 금번 연구에서도 같은 결과를 보였다. 이러한 현상은 폭로농도와 폭로기간, 건강상태, hydroxyl radical과 LPO 생성량 등과 관련하여 생각할 수 있는데, 금번 연구 대상자의 간기능은 거의 정상인 상태였으

며, hydroxyl radical과 LPO의 생성량도 비폭로군과 폭로군간에 차이를 보이지 않은 등의 이유로 SOD의 활성도 변화가 나타나지 않은 것으로 보인다. 또한 비폭로군에 대한 연령 변화에 따른 SOD의 활성도 변화를 본 결과, 연령 증가에 따라서 SOD의 활성도가 감소되는 현상을 보였다. 이러한 현상은 연령증가에 따른 생체내의 항상성을 유지하는 효소의 기능저하에 의한 결과로 생각된다.

이상의 실험 결과를 보면, DMF의 1일 8시간 작업 시간간중평균치인 10 ppm/m³의 폭로 농도에서는 hydroxyl radical과 LPO 생성과 SOD 활성도에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나, 고농도의 DMF에 지속적인 폭로시에는 free radical에 의한 영향으로 간장을 손상시킬 수 있을 것으로 보여 DMF 뿐만 아니라 간장독성이 큰 유기용제에 대한 추후 지속적인 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- 김기웅, 장성근, 김양호, 문영한 (1995): Cytochrome P-450 의존성 radical 전달에 의한 benzene, toluene, xylene의 대사기전 연구. 한국독성학회지, **11**(2), 205-213.
- 김기웅, 최병순, 송분기, 김태균, 김소연, 문영한 (1994): Dimethylformamide의 흡수 및 배설속도에 관한 연구. 대한예방의학회 추계학술대회 46차 연세집, 131-132.
- 최진호, 김재일, 김동우, 오두환 (1993): 알킨산 첨가 요구르트가 흰쥐의 비만억제와 생리작용에 미치는 영향. 한국노화학회지, **3**, 123-128.
- Allemand, H., Pessayre, D., Descatoire, V., Degott, C., Fieldmann, G. and Benhamou, J.P. (1978): Metabolic activation of trichloroethylene into a chemically reactive metabolite toxic to the liver. *J. Pharmacol. Ther.*, **204**, 714-723.
- Aust, S.D., Svingen, B.A. (1976): The role of iron in enzymatic lipid peroxidation. In: Pryor WA(ed) *Free radicals in biology*, vol V. New York, Academic Press, 1-18
- Clayton, J.W., Barnes, J.R., Hood, D.B. and Schepers, G.W.: The inhalation toxicity of dimethylformamide(DMF). *Am. Ind. Hyg. Assoc.*, **24**, 144-154.
- Cohen, G. (1978): The generation of hydroxyl radicals in biologic systems: toxicological aspects. *Photochem. Photobiol.*, **28**, 669-676.
- Decamps-Latscha, B. (1986): New insights into allograft immunity and immunopathology afforded by chemiluminescence evaluation of phagocyte oxidative metabolism. In. Proc. 4th. Int. Sym. Bioluminescence and Chemiluminescence, 23-33.

- Dixon, S.W., Graepel, G.J. and Looney, W.C. (1983): Seasonal effects on concentrations of monomethylformamide in urine samples. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **44**, 273-275.
- Fleming, L.E., Shalat, S.L., Redlich, C.A. (1990): Liver injury in workers exposed to dimethylformamide. *Scand. J. Work. Environ. Health.*, **16**, 289-292.
- Fridovich, I. (1975): Superoxide dismutase. *Annu. Res. Biochem.*, **44**, 147-159.
- Gelboin, H.V. (1969): A microsome-dependent binding of benzo(a)pyrene to DNA. *Cancer. Res.*, **29**, 1272-1276.
- Hajdu, P., Nemes, I., Sumergy, L., Vidoczy, T. and Gal, D. (1981): On the kinetics of the transition metal catalyzed decomposition of secondary hydroperoxides. *Int. J. Chem. Kinetics.*, **13**, 1191-1201.
- Hamilton-Koch, W., Snyder, R.D. and Lavelle, J.M. (1986): Metal-induced DNA damage and repair in human diploid fibroblasts and Chinese hamster ovary cells. *Chem. Biol. Interact.*, **59**, 17-28.
- Ingelman-Sundberg, M., Hagbjork, A.L. (1982): On the significance of the cytochrome P-450 dependent hydroxy radical-mediated oxygenation mechanism. *Xenobiotica*, **12**, 673-686.
- Ito, Y., Niya, Y., Kurita, H., Shima, S. and Sarai, S. (1985): Serum lipid peroxide level and blood superoxide dismutase activity in workers with occupational exposure to lead. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, **56**, 119-127.
- Jakoby, W.B. (1980): "Glutathione Peroxidase" enzymatic basis of detoxication, I. New York, Academic press, 333-353.
- Kasprzak, K.S. (1991): The role of oxidative damage in metal carcinogenicity. *Chem. Res. Toxicol.*, **4**(6), 604-615.
- Kennedy, A.R., Symons, M.C. (1987): 'Water structure' versus 'radical scavenger' theories as explanations for the suppressive effects of DMSO and related compounds on radiation-induced transformation *in vitro*. *Carcinogenesis*, **8**(5), 683-688.
- Kennedy, G.L. and Sherman, H. (1986): Acute and subchronic toxicity of dimethylformamide and dimethylacetamide following various routes of administration. *Drug. Chem. Toxicol.*, **9**, 147-170.
- Kestell, P., Gill, M.H., Threadgill, M.D., Gescher, A., Howarth, O.W. and Curzon, E.H. (1986): Identification by proton NMR of N-(hydroxymethyl)-N-methylformamide as the major urinary metabolite of N,N-dimethylformamide in mice. *Life. Sci.*, **38**, 719-724.
- Kraut, E.H. and Sagone, A.L. (1981): The effect of oxidant injury on the lymphocyte membrane and function. *J. Lab. Clin. Med.*, **98**, 697-703.
- Krivanek, N.D., McLaughlin, M. and Fayerweather, W.E. (1978): Monomethylformamide levels in human urine after repetitive exposure to dimethylformamide vapor. *J. Occup. Med.*, **20**, 179-182.
- Lauwerys, R.R., Kivits, A., Lhoir, M., Rigolet, P., Houbeau, D., Buchet, J.P. and Roels, H.A. (1980): Biological surveillance of workers exposed to dimethylformamide and the influence of skin protection on its percutaneous absorption. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, **45**, 189-203.
- Lu, A.Y.H. and West, S.B. (1980): Multiplicity of mammalian microsomal cytochromes P-450. *Pharmacol. Rew.*, **31**, 277-295.
- Lundberg, I., Pehrsson, A., Lundberg, S., Kronevi, T. and Lidums, V. (1983): Delayed dimethylformamide biotransformation after high exposures to rat. *Toxicol. Lett.*, **17**, 29-34.
- Mathew, T., Karunanithy, R., Yee, M.H., Pharm, B.S. and Natarajan, P.N. (1980): Hepatotoxicity of dimethylformamide and dimethylsulfoxide at end above the levels used in some aflatoxin studies. *Lab. Invest.*, **42**, 257-262.
- McCord, J.M. and Fridovich, I. (1969): Superoxide dismutase; Enzymatic function erythrocyte (hematocuprein). *J. Bio. Chem.*, **244**, 6049-6055.
- Nelson, S.D. (1995): Mechanisms of the formation and disposition of reactive metabolites that can cause acute liver injury. *Drug. Meta. Rew.*, **27**, 147-177.
- NIOSH. (1984): NIOSH manual of manual of analytical methods, 3rd ed, DHHS(NIOSH) publication No.84-100, Cincinnati, Ohio, NIOSH.
- Oleinick, N.L., Chiu, S., Ramarkrishnan, N. and Xue, L. (1987): The formation, identification, and significance of DNA-protein cross-links in mammalian cells. *Br. J. Cancer*, **55**, 135-140.
- Oyanagui, Y. (1984): Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.*, **42**, 290-296.
- Potter, H.P. (1973): Dimethylformamide induced abdominal pain and liver injury. *Arch. Environ. Health.*, **27**, 340-341.
- Sauer, J.M., Hooser, S.B., Badger, D.A., Baines, A. and Sipes, I.G. (1995): Alterations in chemically induced tissue injury related to all-trans-retinol treatment in rodents. *Drug. Meta. Rew.*, **27**, 299-323.
- Scailteur, V., Buchet, J.P. and Lauwerys, R.R. (1981): The relationship between dimethylformamide and toxicity, organic directed toxicity, chemical indices and mechanisms. Oxford and New York, Pergamon Press, 169.

- Scailteur, V., Hoffmann, E., Buchet, J.P. and Lauwerys, R.R. (1984): Study on in vivo and in vitro metabolism of dimethylformamide in male and female rats. *Toxicology*, **29**, 222-234.
- Scailteur, V. and Lauwerys, R.R. (1984): In vivo and in vitro oxidative biotransformation of dimethylformamide in rats. *Chem. Biol. Interact.* **50**, 327-337.
- Scailteur, V. and Lauwerys, R.R. (1987): Dimethylformamide hepatotoxicity. *Toxicology*, **43**, 231-238.
- Schottek, W. (1970): Experimental dimethylformamide toxicity studies on experimental animals after repeated treatment. *Acta. Biol. Med. Germ.*, **25**, 359-361.
- Shi, X., Dalal, N.S. and Kasprzak, K.S. (1993): Generation of Free Radicals from Hydrogen Peroxide and Lipid Hydroperoxidase in the Presence of Cr (III). *Arch. Biochem. Biophys.*, **302**, 294-299.
- Stacey, N.H., Kappus, H. (1982): Cellular toxicity and lipid peroxidation in response to mercury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **63**, 29-35.
- Sunderman, F.W.Jr. (1986): Carcinogenicity and mutagenicity of some metals and their compounds. Lyon, IARC. scientific publications, **71**, 17-43.
- Viguier, M., Tranney, E.S., Emam, M. and Debre, P. (1990): Induction of mouse syngeneic MLR by *in vivo* renogeneic immunization with HLA-DR antigens. *Hum. Immunol.*, **28**, 354-364.
- White, A., Handler, P. and Smith, E. (1973): Principles of Bioenergetics: In principles of biochemistry. New York, McGraw-Hill Book Co.
- Yagi, K. (1987): Lipid peroxide and human diseases. *Chem. Physics. Lipids.*, **45**, 337-351.
- Yamamoto, K. and Jonston, R.B.Jr. (1984): Dissociation of phagocytosis from stimulation of oxidative metabolic burst in macrophages. *J. Exp. Med.*, **159**, 405-411.