

알코올 전처치한 흰쥐에 Cyclohexane 투여가 Cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase 활성에 미치는 영향

김병렬* · 윤종국†

*대구시 보건환경연구원 보건연구부, 계명대학교 공중보건학과

Effect of Cyclohexane Treatment on the Liver Cytochrome P-450 Dependent Aniline Hydroxylase Activity in Alcohol-pretreated Rats

Byung Ryul Kim* · Chong Guk Yoon†

*Health Research Department, Health & Environment Institute of Daegu
Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
(Received March 15, 2003; Accepted May 16, 2003)

ABSTRACT

To evaluate the effect of cyclohexane(CH) treatment on the liver cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase(CYPdAH) activity in alcohol-pretreated animals, CH(1.56 g/kg body weight) was intraperitoneally administered to Sprague-Dawley male rats, which had been drunk 15% alcohol in distilled water for 1, 3 and 6 weeks. CH was injected to rats 4 times every other day and the animals were sacrificed at 24 hours after injection of CH. In the alcohol-pretreated rats, liver injuries were not demonstrated on the basis of the liver weight per body weight, the levels of serum alanine aminotransferase and hepatic microsomal glucose-6-phosphatase activities. By the CH treatment, alcohol-pretreated animals showed the significantly increased activity of hepatic microsomal CYPdAH. Concomitantly V_{max} value in CYPdAH was more increased, whereas K_M value more decreased in alcohol-pretreated animals by the treatment of CH. In conclusion, the increasing cause of microsomal CYPdAH in CH-treated rats pretreated with alcohol may be due to induction of enzyme protein in rat liver.

Keywords: Alcohol, Cyclohexane, Cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase

I. 서 론

최근 산업발전에 수반된 생활수준의 향상과 사회문화적 다양화에 따른 주류의 소비가 증가됨에 따라 음주로 인한 인간의 건강을 위협하고 있다. 특히 산업장 근로자들에 있어서 산업유해화학물질에 폭로시 스트레스 증가로 인한 주류섭취의 변수는 근로자들의 건강에 심각한 문제를 제기할 것으로 생각된다.

산업장 유해화학물질인 xenobiotics와 습관성 알코올 섭취는 알코올에 의해 xenobiotics의 생전환이 달리 나타난다고 한다.^{1,2)}고 하며, 그 대사를 억제시킨다는 보

고^{3,4)}도 있으나 적당한 알코올의 섭취는 오히려 xenobiotics의 대사를 촉진시킨다는 보고⁵⁻⁷⁾도 있어 이에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 이와 같은 산업장 유해 화학물질 중 다른 유기용매에 비하여 비교적 독성이 약한 물질로 알려져 있는 cyclohexane(이하 CH로 약함)⁸⁾은 그 안전성이 인정되어 *n*-hexane과 benzene의 대체 물질^{9,10)}로 널리 이용되고 있는 화학물질로서, 라커와 수지, 페인트의 용매 및 대체세정제로도 널리 사용¹¹⁾되고 있는 화학물질이며 유기합성의 중간생성물질¹²⁾로도 알려져 있다. 그러나 CH 자체의 안전성 평가에 대한 연구는 부족한 실정이며, 혼합용제의 구성성분으로 이용되고 있는 점 때문에 제한적인 연구^{13,14)}만 이루어지고 있다. 최근 연구에 따르면 생체 폭로시 피부,¹⁵⁾ 위장,¹⁶⁾ 신장,¹⁷⁾ 신경계¹⁸⁾ 및 폐¹⁹⁾ 등의 장기손상이 나타나며, NIOSH²⁰⁾의 분류에 의하면 눈, 호흡기계, 피부 및 증추

†Corresponding author : Department of Public Health,
Keimyung University
Tel: 82-53-580-5230, Fax: 82-53-580-5164
E-mail : jky446@kmu.ac.kr

신경계의 손상을 야기시키는 물질로 보고된 바 있다.

일반적으로 흡수된 CH는 생체 내 여러 장기 중 간 조직의 cytochrome P-450 기구에 의하여 cyclohexanol (이하 CH-ol로 약함)로 대사²¹⁾되며, 일부는 UDP-glucuronic acid와 포함된 다음 뇨 중으로 배설²²⁾되고, 나머지는 alcohol dehydrogenase에 의해 독성 중간대사 산물인 cyclohexanone(이하 CH-one로 약함)으로 산화²³⁾되기도 한다. 이와 같은 CH의 대사는 생체내에서 내·외인적인 지용성물질의 다양한 화학반응에 관여²⁴⁾하는 cytochrome P-450의 활성화에 많이 좌우되기 때문에 cytochrome P-450의 isoform이며 해당 기질인 aniline 이외 다른 지용성 xenobiotics의 대사에도 관여하고 있는 것²⁵⁾으로 알려진 aniline hydroxylase에 대한 활성 연구는 그 의의가 있을 것으로 생각된다.

이에 본 연구에서는 alcohol을 전처치한 흰쥐에 CH를 투여한 다음 간조직의 cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase(이하 CYPdAH로 약함)의 활성을 측정함과 동시에 본 효소의 활성을 동력학적인 측면에서 관찰하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물의 사육 및 처치

동물은 생후 6주령된 체중 200 ± 10 g의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 대한실험동물센터로부터 구입 후 사육실(온도: $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도: $50 \pm 5\%$)에서 1주일 동안 적응시켜 실험에 사용하였다. 실험군은 대조군과 alcohol 1, 3, 6주 섭취군 및 CH 단독 투여군, alcohol 1, 3 및 6주 섭취 후 CH 투여군 등 모두 8군으로 나누었으며, 각각 6마리씩 분리 수용하였다. 실험기간 동안 물과 사료(삼양사)의 양은 제한 없이 공급하였다.

Alcohol 섭취군은 증류수로 희석한 15%(V/V) 용액을 음용수로 자연 섭취시켰으며, CH 투여군은 Bernard 등의 방법¹⁷⁾에 따라 체중 kg 당 1.56 g을 1일 1회, 2일간격으로 4회 복강내로 투여하였고, 이때 대조군은 동량의 olive oil을 복강 투여하였으며, 모든 실험군은 마지막 투여 후 24시간 동안 물만 주고 금식시킨 후 처치하였다.

동물의 처치는 효소 활성도의 일 중 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였으며 ether 마취하에 복부를 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사시킨 후 간 문맥을 통해 4°C 생리식염수로 관류하여 간조직 내에 남아 있는 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출한 간은 생리식염수로 씻은 후

여지로 압박하여 장기 내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 측정하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻어 alanine aminotransferase (ALT) 활성도 측정용 시료로 사용하였다.

2. 효소시료의 조제

적출한 간조직은 빙냉 하에서 절편으로 만들었으며 그 중 일정량에 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여 20%(w/v) 마쇄 균질액을 만들었다. 이 균질액을 $600 \times \text{g}$ 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 다음, 상층액을 $10,000 \times \text{g}$ 에서 20분간 원심분리하여 다시 상층액을 얻고 이 상층액을 $105,000 \times \text{g}$ 에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosolic 분획과 microsomal 분획을 얻었다. Microsomal 분획은 일정량의 0.25 M sucrose 용액으로 재 현탁한 뒤 $105,000 \times \text{g}$ 에서 1시간 동안 다시 초원심분리한 후 cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase(CYPdAH), glucose-6-phosphatase (G6Pase) 활성도 측정용 시료로 사용하였다.

3. Alanine aminotransferase(ALT) 활성도 측정

혈청 중 ALT의 활성도는 L-alanine과 α -ketoglutaric acid를 기질로 하여 37°C 에서 30분간 반응시키는 동안 생성되는 pyruvic acid가 alkali성에서 2,4-dinitrophenyl hydrzine과 작용하여 발색되는 색조를 비색 정량하는 Reitman, Frankel의 방법²⁶⁾에 준해 제조된 kit 시약을 사용하였다. 활성도 단위는 혈청 ml 당 Karmen²⁷⁾ unit로 표시하였다.

4. Cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase (CYPdAH) 활성도 측정

간조직 중 CYPdAH의 활성도는 aniline을 기질로 하여 37°C 에서 15분간 반응시켜 유리되는 p-aminophenol을 phenol 시약으로 발색시켜 640 nm에서 흡광도를 측정하는 Bidlack과 Lowery의 방법²⁸⁾에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1시간 동안 반응하여 기질로부터 생성된 p-aminophenol의 양을 nmole로 표시하였다.

5. Glucose-6-phosphatase(G6Pase) 활성도 측정

간조직 중 G6Pase의 활성도는 Hasumura 등의 방법²⁹⁾에 따라 측정하였다. Glucose-6-phosphate를 기질로 하여 30°C 에서 20분간 반응시켜 유리되는 inorganic phosphorus를 Fiske와 Subbarow의 방법³⁰⁾에 따라 발색

시킨 다음 680 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성도 단위는 단백질 1mg이 20분간 반응하여 생성되는 phosphorus의 양을 nmole로 표시하였다.

6. 단백질 함량 측정

간조직 중 단백질 함량은 Lowry 등의 방법³¹⁾에 준하여 bovine albumin을 표준품으로 사용하여 측정하였다.

7. 결과의 통계처리

실험결과와 통계처리는 SPSS(statistical package for social sciences) program을 이용한 one way ANOVA (analysis of variance) 후 Duncan's multiple range test로 하였으며, 각 실험군 평균치간의 유의성은 0.05 수준에서 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중 당 간무게, 간조직 중 단백질 함량, G6Pase 및 혈청 ALT 활성

일반적으로 장기간 alcohol의 섭취는 xenobiotics 대사에 상당한 영향을 미치는 것^{4,6)}으로 알려지고 있으며, 또한 생체내에서 xenobiotics와 alcohol과의 상호관련성에 관하여 오랫동안 많은 연구^{32,34)}가 되어 왔으나 간손상을 초래하지 않을 정도의 alcohol 섭취가 xenobiotics의 대사에 미치는 영향에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 주류의 섭취가 산업유해화학물질의 생체내 독성유발에 어떠한 영향을 미치는지를 검토하는 일환으로 alcohol을 6주간 섭취시킨 실험동물에 CH을 복강 투여하였을 때, 이들의 생체내 대사와 관련된 독성현상을 관찰할 목적으로 간손상 지표인 체중 당 간무게, 간조직 중 단백질 함량, G6Pase 및 혈청 중 ALT의 활성도 변동을 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

체중 당 간무게는 대조군과 비교해 모든군에서 별다른 변동을 나타내지 않았으나, alcohol 1주, 3주 및 6주 섭취 후 CH 투여군이 alcohol만 섭취한 군에 비해 각각 9%, 10% 및 19% 정도 증가하는 경향을 보였다. 간조직 중 단백질 함량은 대조군과 alcohol 섭취군 상호간에는 별다른 감소를 나타내지 않았고, CH 투여군 역시 유의한 감소를 관찰할 수 없었으며, alcohol 1주, 3주 및 6주 섭취 후 CH 투여군의 경우 각각 8%, 13% 및 15% 정도 감소되었고 그 감소율은 alcohol 섭취기간에 따라 높게 나타났으며, alcohol 1주, 3주 및 6주 섭취 후 CH 투여군이 alcohol만 섭취한 군에 비해 각각 7%, 11% 및 11% 정도 감소하였다.

Table 1. Effects of cyclohexane treatment on the liver weight/body weight(LW/BW, %), liver cytosolic protein contents and activities of microsomal G6Pase, serum levels of ALT in alcohol-pretreated rats

Groups	LW/BW(%)	Protein ¹⁾	G6Pase ²⁾	ALT ³⁾
Ctrl	2.80±0.10 ^{cd}	107.61±1.80 ^c	8.73±0.85 ^b	36.00±2.70
1AH	2.53±0.07 ^a	106.88±4.13 ^c	5.34±0.92 ^a	36.50±1.54
3AH	2.55±0.05 ^{ab}	105.96±3.11 ^c	5.23±0.85 ^a	34.33±2.43
6AH	2.52±0.16 ^a	102.62±2.52 ^{bc}	5.57±0.40 ^a	38.17±2.12
CH	3.01±0.05 ^d	99.76±2.02 ^{abc}	4.05±0.70 ^a	22.67±1.76
1ACH	2.76±0.12 ^{bc}	99.37±2.53 ^{abc}	5.23±0.18 ^a	39.67±1.54
3ACH	2.81±0.08 ^{cd}	94.04±3.85 ^{ab}	4.74±0.49 ^a	25.33±1.71
6ACH	3.01±0.03 ^d	91.91±2.18 ^a	3.68±0.46 ^a	29.50±1.98

Each value represents the mean±S.E. of 6 rats and 3 experiments. ^{a-d)}Values with different superscripts in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test. Abbreviations: Ctrl, control; AH, alcohol; CH, cyclohexane; ACH, alcohol + cyclohexane; G6Pase, glucose-6-phosphatase; ALT, alanine aminotransferase. Unit: ¹⁾mg/g of tissue, ²⁾nmoles Pi formed/min/mg protein, ³⁾ Karmen unit/ml of serum.

또한 세포상해의 지표로 이용되는 G6Pase²⁹⁾의 활성도 변동은 alcohol만 1주, 3주 및 6주 섭취한 군이 대조군에 비해 각각 약 38%, 48% 및 36%의 유의한 감소를 나타내었고, alcohol 1주, 3주 및 6주 섭취 후 CH 투여군은 각각 40%, 46% 및 58% 정도의 유의한 감소를 나타냈으나 alcohol 단독 섭취군과 alcohol 섭취 후 CH 투여군 상호간에 유의한 변동은 관찰되지 않았다. 한편 간손상시 그 활성이 현저히 증가된다는 혈청 중 ALT³⁵⁾의 활성도 변동은 대조군과 alcohol 섭취군 및 alcohol 섭취 후 CH 투여군 상호간에 유의한 증가를 관찰할 수 없었다. 따라서 alcohol 섭취시에 CH 투여로 인한 간손상의 정도는 초래되지 않음을 알 수 있었다.

2. 간조직 중 CYPdAH 활성도 변동

Alcohol을 섭취시킨 실험동물에 CH을 복강 투여시 CH 대사 phase I에 관여²¹⁾하며 조직세포의 활면소포체에 존재하는 지용성 약물대사기구인 microsomal cytochrome P-450의 일종인 CYPdAH의 활성도 변동을 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다.

CH의 첫 번째 대사에 관여하며 조직 중 유해산소 생성계 효소인 CYPdAH의 활성도는 alcohol 섭취군과 대조군 간에는 별다른 변동이 관찰되지 않았으나 CH 단독 투여군과 alcohol 1주, 3주 및 6주 섭취 후 CH 투여군에서는 각각 63%, 72%, 74% 및 65% 정도의

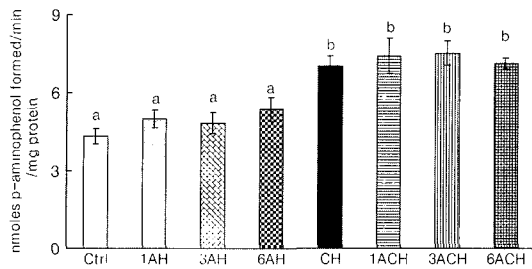


Fig. 1. Effects of cyclohexane treatment on the liver activity of CYPdAH in alcohol-pretreated rats.

Each value represents the mean \pm S.E. of 6 rats and 3 experiments. ^{a-b}Values with different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test. Abbreviations: Ctrl, control; AH, alcohol; CH, cyclohexane; ACH, alcohol + cyclohexane; CYPdAH, cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase.

유의한 증가를 보였으나 alcohol 섭취기간에 따른 변동은 없었다. 또한 alcohol 단독 섭취군에 비해 alcohol 섭취 후 CH 투여군에서 각각 48%, 56% 및 33% 정도의 유의한 증가를 보였다. 이러한 결과는 장기간 alcohol 섭취시 microsomes의 효소활성이 유도된다는 Nakajima 등의 보고³⁶⁾와 xenobiotics를 실험동물에 투여시 각 xenobiotics에 대한 대사효소 활성이 유도된다는 사실³⁷⁾과 CH이 cytochrome P-450의 유도자를 작용

한다는 보고²⁸⁾를 고려해 볼 때 본 실험조건에서 간손상이 초래되지 않은 정도의 alcohol 전처치시 CYPdAH의 활성 증가는 본 효소단백의 활성이 유도된 것임을 암시하며, 또한 CH이 CYPdAH의 유도자(inducer)로 작용함을 뒷받침해 주고 있다.

3. 간 조직 중 CYPdAH 활성변동의 반응속도에 미치는 영향

본 실험조건에서 alcohol 전처치 후 CH 투여시 간조직 중 CYPdAH의 활성이 증가되는 원인을 검토하고자 동력학적인 측면에서 본 효소의 반응속도를 이중역수도시(double reciprocal plot)로 나타낸 결과는 Fig. 2 및 Table 2와 같다.

Alcohol 6주 섭취군의 경우 K_M 치는 대조군과 비교해 별다른 변동이 없었으나 V_{max} 치는 약 19% 증가하였다. 그러나 CH 투여군과 alcohol 6주 섭취 후 CH 투여군은 대조군에 비하여 K_M 치는 각각 약 2.4배와 2.5배 감소되었고 V_{max} 치는 각각 11%와 64% 정도 증가하였다. 또한 alcohol 6주 섭취 후 CH 투여군이 CH만 투여한 군에 비하여 V_{max} 치가 약 48% 정도 증가하였다. 이러한 결과로 보아 alcohol 섭취 후 CH를 투여함으로써 효소의 농도가 증가되었을 뿐만 아니라 효소와 기질과의 친화력을 증가시켰으므로 나타난 결과로 생각된다.

이상의 실험성적들과 문헌 등을 종합해 볼 때 실험

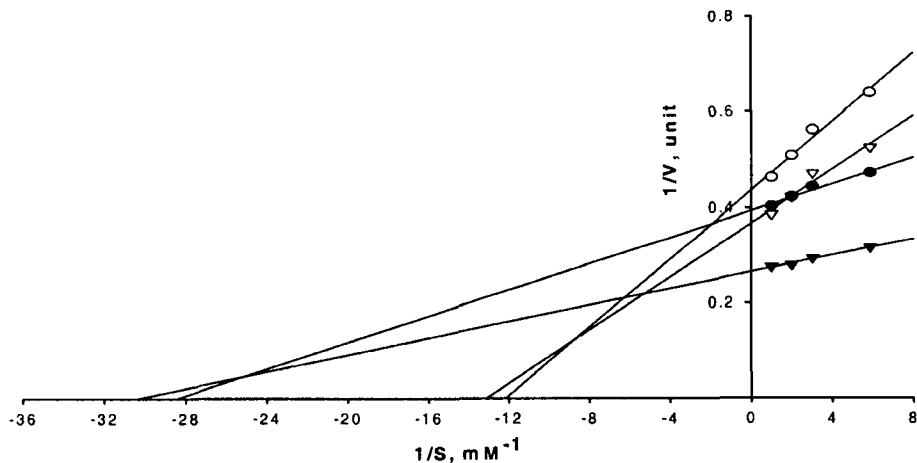


Fig. 2. Double reciprocal plots of the liver microsomal cytochrome P450 dependent aniline hydroxylase (CYPdAH) activity using aniline as substrate in cyclohexane-treated rats after pretreated with alcohol.

Each value represents pooled microsomal fraction of each group and the mean of 3 experiments. Abbreviations: Ctrl, control; AH, alcohol; CH, cyclohexane; ACH, alcohol + cyclohexane. Unit; (nmoles *p*-aminophenol formed/min/mg protein)⁻¹. Keys: Ctrl, \circ -; 6AH, ∇ -; CH, \bullet -; 6ACH, \blacktriangledown -.

Table 2. V_{max} and K_M values of the liver cytochrome P450 dependent aniline hydroxylase (CYPdAH) in cyclohexane-treated rats after pretreated with alcohol

Groups	Ctrl	6AH	CH	6ACH
$V_{max}^{1)}$	2.29	2.72	2.54	3.76
$KM^{2)}$	8.23	7.63	3.50	3.28

Each value represents pooled microsomal fraction of each group and the mean of 3 experiments. Abbreviations: Ctrl, control; AH, alcohol; CH, cyclohexane; ACH, alcohol + cyclohexane. Unit: ¹⁾(nmoles *p*-aminophenol formed/min/mg protein)⁻¹, ²⁾ 1×10^{-5} M.

동물에 CH 투여시 가역적 간손상이 나타나는 정도의 alcohol 전처치시, alcohol에 의해 CH 대사에 관여하는 CYPdAH의 효소 활성이 유도된 것으로 생각된다. 그러나 이를 재확인하기 위해 간조직 중 전자현미경을 통한 endoplasmic reticulum system의 변화와 CH 대사산물들에 대한 대사율 측정은 추후 연구과제로 남아 있다.

IV. 결 론

흰쥐에 alcohol 전처치 후 cyclohexane(CH) 투여가 cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase (CYPdAH) 활성에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 흰쥐에 15% alcohol을 1주, 3주 및 6주간 섭취시킨 후 체중 kg 당 1.56 g의 CH을 2일 간격으로 4회 복강 투여한 다음 24시간 후 처치하여 간조직 중 간손상 정도를 관찰하였을 때 별다른 변화가 나타나지 않았으며, CYPdAH의 활성을 측정된 결과 alcohol 섭취 후 CH 투여군에서 대조군과 alcohol 단독 섭취군에 비해 유의하게 증가하였다. 이때 본 효소의 반응속도론적인 측면에서 관찰한 결과 alcohol 6주 섭취 후 CH 투여군이 alcohol 단독 섭취군에 비해 V_{max} 치는 증가하였으나 K_M 치는 감소하였다.

이상의 실험결과는 흰쥐에 있어서 alcohol 전처치 후 CH 투여시 cytochrome P-450에 상응하는 CYPdAH의 활성이 증가됨은 alcohol을 전처치함으로써 본 효소단백의 합성을 유도시켜 나타난 결과로 생각되며, CH이 CYPdAH의 유도자(inducer)로 작용한 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Corongiu, F. P., Lai, M. and Milia, A. : Carbon tetrachloride, bromotrichloromethane and ethanol acute

intoxication: New chemical evidence for lipid peroxidation in rat tissue microsomes. *Biochemical Journal*, **212**, 625-631, 1983.

2. Pritchard, J. F. and Schneck, D. W. : Effects of ethanol and phenobarbital on the metabolism of propranolol by 9000 g rat liver supernatant. *Biochemical Pharmacology*, **26**(24), 2453-2454, 1977.

3. Stott, W. T., Quast, J. F. and Watanabe, P. G. : The pharmacokinetic and macromolecular interactions of trichloroethylene in mice and rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **62**, 137-152, 1982.

4. Liira, J., Riihimäki, V. and Engstrom, K. : Effects of ethanol on the kinetics of methyl ethyl ketone in man. *British Journal of Industrial Medicine*, **47**(5), 325-330, 1990.

5. Rubin, E. and Lieber, C. S. : Hepatic microsomal enzymes in man and rat: Induction and inhibition by ethanol. *Science*, **162**, 690-691, 1968.

6. Sato, A., Nakajima, T. and Koyama, Y. : Dose related effects of single dose of ethanol on the metabolism in rat liver of some aromatic and chlorinated hydrocarbons. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **60**, 8-15, 1981.

7. Hetu, C., Dumont, A. and Joly, J. G. : Effect of chronic ethanol administration in bromobenzene liver toxicity in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **67**(2), 66-77, 1983.

8. Sandmeyer, E. E. : Alicyclic hydrocarbons. In Patty's industrial hygiene and toxicology, Clayton, G. D. and Clayton, E. E., Ed., Wiley-Interscience, New York, 3227-3228, 1981.

9. Perbellini, L. and Brugnone, F. : Lung uptake and metabolism of cyclohexane in shoe factory workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **45**, 261-269, 1980.

10. Perico, A., Cassinelli, C., Brugnone, F., Bavazzano, P. and Perbellini, L. : Biological monitoring of occupational exposure to cyclohexane by urinary 1,2- and 1,4-cyclohexanediol determination. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **72**, 115-120, 1999.

11. 윤종국, 전태원, 정진갑, 이명희, 이상일, 차상은, 유일재 : 일부 대체에너지 제조업체의 물질안전보건자료의 실태와 그 화학물질의 유해성 평가에 관한 연구. *한국산업위생학회지*, **10**(2), 18-26, 2000.

12. Ellenhorn, M. J. and Barceloux, D. G. : Alicyclic hydrocarbons. In *Medical Toxicology*, Elsevier, New York, 968-969, 1988.

13. Saito, J. and Ikeda, M. : Solvent constituents in paint, glue and thinner for plastic miniature hobby. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **155**(3), 275-283, 1988.

14. Seedorff, L. and Olsen, E. : Exposure to organic solvents-I: A survey on the use of solvents. *Annals of Occupational Hygiene*, **34**(4), 371-378, 1990.

15. Iyadomi, M., Higaki, Y., Ichiba, M., Morimoto, M. and Tomokuni, K. : Evaluation of organic solvent-induced inflammation modulated by neuropeptides in

- the abdominal skin of hairless rats. *Industrial Health*, **36**(1), 40-51, 1998.
16. Longacre, S. L. : Cyclohexane. In Ehtel Browning's toxicity and metabolism of industrial solvents, Snyder, R., Ed., Elsevier, Amsterdam, 225-235, 1987.
 17. Bernard, A. M., de Russis, R., Normand, J. C. and Lauwerys, R. R. : Evaluation of the subacute nephrotoxicity of cyclohexane and other industrial solvents in the female Sprague-Dawley rat. *Toxicology Letters*, **45**, 271-280, 1989.
 18. Naskali, L., Oksanen, H. and Tahti, H. : Astrocytes as targets for CNS effects of organic solvents *in vitro*. *Neurotoxicology*, **15**(3), 609-612, 1994.
 19. Gupta, P. K., Lawrence, W. H., Turner, J. E. and Autian, J. : Toxicological aspects of cyclohexanone. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **49**, 525-533, 1979.
 20. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) : NIOSH pocket guide to chemical hazards. Cincinnati, 1985.
 21. Nordblom, G. and Coon, M. J. : Hydrogen peroxide formation and stoichiometry of hydroxylation reactions catalyzed by highly purified liver microsomal cytochrome P-450. *Archives Biochemistry and Biophysics*, **180**, 343-347, 1977.
 22. Sakata, M., Kikuchi, J. and Haga, M. : Disposition of acetone, methyl ethyl ketone and cyclohexanone in acute poisoning. *Clinical Toxicology*, **27**, 67-77, 1989.
 23. Cronholm, T. : Isotope effects and hydrogen transfer during simultaneous metabolism of ethanol and cyclohexanone in rats. *European Journal of Biochemistry*, **43**, 189-196, 1974.
 24. Coon, M. J. : Oxygen activation in the metabolism of lipids, drugs and carcinogens. *Nutrition Reviews*, **36**, 319-328, 1978.
 25. Haugen, D. A. and Coon, M. J. : Properties of electrophoretically homogeneous phenobarbital-inducible and β -naphthoflavone-inducible forms of liver microsomal cytochrome P-450. *Journal of Biological Chemistry*, **251**, 7929-7939, 1976.
 26. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *American Journal of Clinical Pathology*, **28**, 58-63, 1957.
 27. Karmen, A. : A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *Journal of Clinical Investigation*, **34**, 131-133, 1955.
 28. Bidlack, W. R. and Lowery, G. L. : Multiple drug metabolism: *p*-nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochemical Pharmacology*, **31**(3), 311-317, 1982.
 29. Hasumura, Y., Tescke, R. and Lieber, C. S. : Increased carbon tetrachloride hepatotoxicity and its metabolism after chronic ethanol consumption. *Gastroenterology*, **66**(3), 415-422, 1974.
 30. Fiske, C. H. and Subbarow, Y. : The colorimetric determination of phosphorous. *Journal of Biological Chemistry*, **66**, 375-400, 1925.
 31. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. L. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**, 265-275, 1951.
 32. Klaasen, C. D. and Plaa, G. L. : Reactive effect of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in dogs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **10**, 119-131, 1967.
 33. Strubelt, O. : Interactions between ethanol and other hepatotoxic agents. *Biochemical Pharmacology*, **29**(11), 1445-1449, 1980.
 34. Sato, A., Nakajima, T. and Koyama, Y. : Interaction between ethanol and carbohydrate of the metabolism in rat liver of aromatic and chlorinated hydrocarbons. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **68**(2), 242-249, 1983.
 35. Traiger, G. J. and Plaa, G. L. : Relationship of alcohol metabolism to the potentiation of CCl_4 hepatotoxicity induced by aliphatic alcohols. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **183**(3), 481-488, 1972.
 36. Nakajima, T., Wang, R. S., Elovaara, E., Park, S. S., Gelboin, H. V. and Vainio, H. : Cytochrome P-450 related differences between rats and mice in the metabolism of benzene, toluene and trichloroethylene in liver microsomes. *Biochemical Pharmacology*, **45**(5), 1079-1085, 1993.
 37. 이혜자, 조현국, 윤종국 : 흰쥐에 있어서 사염화탄소에 의한 간손상이 xylene 대사에 미치는 영향. 한국환경위생학회지, **25**(1), 102-108, 1999.