

크실렌 노출로 인한 요증 메틸마노산 배설에 미치는 유전자 다형성 연구

김청식, 고상백¹⁾, 김형수²⁾, 박수경³⁾, 장성훈²⁾

서울대학교 의과대학 예방의학교실, 연세대학교 원주의과대학 예방의학교실 및 직업의학연구소¹⁾, 건국대학교 의과대학 예방의학교실²⁾

A Study on Polymorphism Affecting Excretion of Urinary Methylhippuric Acid due to Xylene Exposure

Cheong-Sik Kim, Sang Baek Koh¹⁾, Hyeongsu Kim²⁾, Sue Kyung Park³⁾, Soung-Hoon Chang²⁾

Department of Preventive Medicine, Seoul National University College of Medicine,
Department of Preventive Medicine and Institute of Occupational Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine¹⁾,
Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Konkuk University²⁾

Objectives : The purpose of this study was to investigate the effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) and aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) on the xylene metabolism.

Methods : Among 247 workers, 116 were occupationally exposed to xylene and 131 were not. Workers exposed to xylene had different work such as spray, touch-up, mix & assist, and pre-treat. Questionnaire variables were age, sex, use of personal protective equipment, smoking, previous night's drinking and work duration. The urinary methylhippuric acid was measured in the urine collected in the afternoon and corrected by urinary creatinine concentration. The genotypes of CYP2E1 and ALDH2 were investigated by using PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) methods with DNA extracted from venous blood.

Results : 1. The urinary concentrations of o-, m-, and p-methylhippuric acid and total methylhippuric acid in the exposed group were significantly higher than those in the

non-exposed group ($p < 0.001$).

2. In multiple regression analysis, the urinary methylhippuric acid concentration was significantly influenced by exposure grade (Job-exposure matrixes), smoking, drug use and kind of protective equipment ($p < 0.1$).

3. Genetic polymorphism of CYP2E1 and ALDH2 did not affect urinary methylhippuric acid level in the exposed group ($p > 0.05$).

Conclusions : Exposure grade, smoking, drug use and kind of protective equipment affected urinary methylhippuric acid level, whereas genetic polymorphism of CYP2E1 and ALDH2 did not. However, further investigation for the effect of genetic polymorphism on the metabolism of xylene with a larger sample size is needed.

J Prev Med Public Health 2004;37(4):321-328

Key Words: Xylene, Methylhippuric acid, CYP2E1, ALDH2

서 론

톨루엔과 크실렌은 사업장 근로자들에게 가장 널리 노출되고 있는 화학물질로서, 각종 도료, 색소, 약제, 비료 등의 제조에 광범위하게 사용되었던 벤젠이 심각한 조혈장애를 일으키는 것으로 알려진 이후, 벤젠의 대체 물질로써 널리 사용되고 있어 사용량이 매년 지속적으로 증가하고 있다.

현재 크실렌은 화학 합성제 및 플라스틱 제품, 합성섬유, 과산화수소, 향료, 구충제, 에폭시수지, 피혁공업에 쓰이는 외에도

페인트, 락카, 니스, 잉크, 염료, 접착제, 세척제 등의 용제로 사용되고 있다. 크실렌으로 인한 건강장애는 호흡기 자극, 피부 자극, 눈 자극, 그리고 중추신경계 억제 등이 있으며 잠재적 건강영향으로 고농도의 증기에 단기간 노출될 때 구역, 구토, 위통, 호흡곤란, 두통, 졸음, 시각장애, 혼수 등을, 장기간 노출될 때 감각이상, 월경장애, 간 장애, 생식계 장애, 경련 등을 유발하는 것으로 알려져 있다 [1].

본 연구의 조선업종에서 도장작업은 옥내, 옥외 및 선체 등에서 이루어지며 선체 안과 블록 안은 밀폐된 공간이기 때문에

고농도의 유기용제에 노출될 가능성이 있다. 특히, 작업공간의 특성에 따라 근로자의 노출수준은 큰 차이가 있으므로 이러한 요인별 노출 농도에 대한 정보는 매우 중요하다. 도장작업에서 취급하는 유기용제 물질의 MSDS 자료를 근거로 하여 이들 제품에 함유되어 있는 성분을 조사한 결과 페인트와 신너, 그리고 경화제에는 방향족 탄화수소, 지방족 탄화수소, 케톤, 알코올이 주로 함유되어 있으며 이외에도 에스테르, 글리콜에테르 등 다양한 종류의 유기용제가 함유되어 있었다. 방향족 탄화수소인 크실렌은 도장작업 중에 가장 많이 사용하는 용제로 244개 페인트(79.5%)와 32개 신너(64.0%), 그리고 14개

서 론

톨루엔과 크실렌은 사업장 근로자들에게 가장 널리 노출되고 있는 화학물질로서, 각종 도료, 색소, 약제, 비료 등의 제조에 광범위하게 사용되었던 벤젠이 심각한 조혈장애를 일으키는 것으로 알려진 이후, 벤젠의 대체 물질로써 널리 사용되고 있어 사용량이 매년 지속적으로 증가하고 있다.

현재 크실렌은 화학 합성제 및 플라스틱 제품, 합성섬유, 과산화수소, 향료, 구충제, 에폭시수지, 피혁공업에 쓰이는 외에도 페인트, 락카, 니스, 잉크, 염료, 접착제, 세척제 등의 용제로 사용되고 있다. 크실렌으로 인한 건강장애는 호흡기도 자극, 피부 자극, 눈 자극, 그리고 중추신경계 억제 등이 있으며 잠재적 건강영향으로 고농도의 중기에 단기간 노출될 때 구역, 구토, 위통, 호흡곤란, 두통, 졸음, 시각장애, 혼수 등을, 장기간 노출될 때 감각이상, 월경장애, 간 장애, 생식계 장애, 경련 등을 유발하는 것으로 알려져 있다 [1].

본 연구의 조선업종에서 도장작업은 옥내, 옥외 및 선체 등에서 이루어지며 선체 안과 블록 안은 밀폐된 공간이기 때문에 고농도의 유기용제에 노출될 가능성이 있다. 특히, 작업공간의 특성에 따라 근로자의 노출수준은 큰 차이가 있으므로 이러한 요인별 노출 농도에 대한 정보는 매우 중요하다. 도장작업에서 취급하는 유기용제 물질의 MSDS 자료를 근거로 하여 이들 제품에 함유되어 있는 성분을 조사한 결과 페인트와 신너, 그리고 경화제에는 방향족 탄화수소, 지방족 탄화수소, 케톤, 알코올이 주로 함유되어 있으며 이외에도 에스테르, 글리콜에테르 등 다양한 종류의 유기용제가 함유되어 있었다. 방향족 탄화수소인 크실렌은 도장작업 중에 가장 많이 사용하는 용제로 244개 페인트(79.5%)와 32개 신너(64.0%), 그리고 14개 경화제(41.2%) 제품에 함유되어 있었으며 페인트, 신너 및 경화제 제품을 합하면 290개 제품(74.2%)에 함유되어 있는 것으로 나타났다 [2]. 반면 다른 업종에서 가장 많이 사용되고 있는 톨루엔은 유기용제 성

분의 10% 내외에 불과하여 유기용제 사용 현실과 상이한 결과였다.

지금까지 국내에서는 유기용제 중 가장 많이 사용되는 톨루엔에 대한 연구가 집중적으로 이루어져 왔으며 크실렌에 관한 연구는 매우 드물게 이루어져 Cho [3]과 Bae 등 [4], 그리고 Chung [5]이 톨루엔과 크실렌을 동시에 연구한 바가 있을 뿐이다. 이는 사업장에서 톨루엔이 가장 많이 사용되는 현실과 그로 인해 많은 근로자가 이것에 노출되는 것을 반영하고 있다고 생각된다.

크실렌은 간장의 마이크로솜 내 산화시스템의 혼합작용으로 메틸벤질알코올, 크실레놀로 변환되는데, 여기에 관여하는 사이토크롬 P450은 CYP1A2, CYP2B6, CYP2E1 등이 보고 되었으며 CYP2E1이 메틸벤질알코올 형성에 중요한 역할을 하며 CYP1A2는 크실레놀 형성에 중요한 역할을 한다고 보고 되었다 [6]. 메틸벤질알코올에서 알코올 탈수소효소와 알데히드 탈수소효소에 의해 메틸벤조산으로 산화되었다가 최종적으로 메틸마노산으로 전환되는데, 이 과정에 관여하는 알데히드 탈수소효소에는 ALDH1, ALDH2, ALDH3, ALDH4 등 4개의 isoenzyme이 존재하며 이 중 ALDH1과 ALDH2가 주 효소로 작용한다 [7]. 특히 ALDH2는 유전자 다형성이 있는 것으로 보고 되었으며 메틸마노산 대사에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 [8].

즉, 크실렌의 대사산물인 요중 메틸마노산은 유전자 다형성에 따라 차이를 보이는 것으로 알려져 있으며 [6] 유전자 다형성은 인종간에 많은 차이가 있기 때문에 [9-10] 각 민족의 유전적 요인을 고려하지 않은 상태에서 생물학적 허용한계의 기준 설정은 비활성 유전자형을 가진 크실렌 취급 근로자의 경우 허용농도 이하의 노출에서도 감수성 때문에 위험에 노출될 수 있을 것이다. 그러나 지금까지 우리나라에서는 크실렌 대사에 관여하는 유전자 다형성을 조사한 바가 없었으며 유전자 다형성이 고농도의 크실렌 대사에 미치는 영향에 관한 연구 또한 없었다. 본 연구는 크실렌을 주로 사용하는 근로자들에서 생물학적 모니터링으로 요중 메틸마노산 배

설을 측정하였으며 이에 영향을 미치는 원인으로서 수행 직무와 보호구 종류, 보호구 착용실태, 흡연, 음주, 최근 질병진단 여부 및 약 복용력, 그리고 크실렌 대사에 관여하는 유전자 다형성을 조사하고자 하였다. 즉, 조선업 크실렌 도장 작업자와 기타 작업자에서 직무와 보호구 착용에 따른 요중 메틸마노산 배출 정도를 파악하고 도장 작업자에서 CYP2E1과 ALDH2 유전자 다형성에 따른 요중 메틸마노산 배출농도의 차이를 조사하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 2000년 11월부터 12월까지 경상남도에 위치한 모 조선업체의 남자 근로자로서 특수건강진단 대상자 253명중 건강진단 당일 혈액과 소변샘플을 얻지 못한 3명과 노출군중 작업을 수행하지 않은 3명을 제외한 247명을 최종 연구대상자로 하였다. 이들 중 유기용제에 노출되는 스프레이, 터치오프, 도장보조, 전처리 등에 종사하는 근로자 116명을 노출군으로, 같은 사업장에서 유기용제에 노출되지 않는 용접, 취부, 의장 등에 종사하는 근로자 131명을 비노출군으로 하였다.

크실렌의 생체내 대사에 주로 관여하고 있는 것으로 알려진 CYP2E1과 ALDH2 유전자 다형성은 유기용제 노출군 전원(N=116)을 대상으로 조사하였다.

2. 연구방법

1) 설문조사 및 크실렌 노출의 평가
특수건강진단 중 근로자 모두에게 연령, 성별, 근무기간, 작업부서, 건강진단 당일 작업여부, 작업내용, 작업장소, 보호구 착용 여부와 종류, 질병력 및 약 복용력, 건강진단 전날 밤의 음주 여부, 흡연습관, 검사 당일 섭취한 음료 등을 자기기입식 설문지를 이용하여 조사하였다. 음주가 요중 대사산물에 미치는 영향을 알아보기 위하여 건강진단 전날의 음주여부, 주로 마신 술의 종류, 마신 술의 양 등을 이용하여 알코올 섭취량을 구하였으며 흡연습관은 현재 흡연여부로 구분하였다.

또한 작업자의 작업량, 노출빈도, 노출형태, 보호구 착용실태 등을 파악하여 이를 바탕으로 작업환경측정 전문가의 도움을 받아 작업자의 업무와 작업공간의 밀폐정도에 따라 상대 직무점수로 평가하였다. 상대 직무점수는 수행하는 직무에서 노출될 수 있는 유해인자의 노출기준(Threshold limit values, TLV)을 근거로 하였으며, 직접 노출되지 않으면 0점, TLV의 10%보다 낮으면 1점, TLV의 10-25% 2점, TLV의 25-100% 3점, TLV의 100-200% 4점으로 그리고 TLV의 200%를 초과하면 5점으로 평가하였다 [11]. 보호구 착용점수는 당일 작업 환경측정에 참여한 측정자의 도움을 받아 근로자가 보호구를 지속적으로 착용하면 1점, 간헐적으로 착용하면 2점, 부적합한 보호구를 착용하였거나 착용하지 않으면 3점으로 평가하였으며, 상대 직무점수에 가중치로 부여하는 직무-노출 매트릭스를 구축하고 이 값을 노출등급(상대 직무점수 × 보호구 착용점수)의 형태로 표현하였다.

2) 시료 채취 및 요증 대사산물 측정
연구대상자에 대한 시료는 ice box에 냉장 보관하여 실험실까지 운반하였다. 소변은 염산으로 산 처리한 후 요증 대사산물을 분석할 때까지 -20℃ 냉동고에 보관하였으며 혈액은 2,500 rpm으로 4℃에서 20분간 원심분리하여 혈장, 백혈구, 적혈구로 나누어 실험직전까지 -70℃ 초저온 냉동고에 보관하였다.

유기용제 노출에 따른 요증 대사산물의 측정은 고속액체 크로마토그래피(HPLC, Shimadzu LC-10AD pump, SPD-10AV UV-VIS detector, SIL-10A auto-injector, GTO-10A column oven)를 이용하여 Moon 등 [12]과 Miller와 Edwards [6]의 방법을 변형시켜 마노산, o-, m-, p-메틸마노산을 동시에 정량분석 하였다. 분석방법은 소변을 증류수로 50배 희석하여 원심분리 후 상등액 5 µl를 HPLC에 주입하였다. 이때 HPLC의 분석조건은 컬럼: Zorbax Eclipse XDB-C18 (ID 4.6 mm x 250 mm (5 µm), Agilent Technologies), 이동상: Acetonitrile/ Water/Acetic acid(glacial)/β-cyclodextrin (80/920/0.4/2.0%), 유량: 0.4 ml/min, 검출기: UV 230 nm, 컬럼 온도: 30℃이었다. 검출된 요증 마노산 o-,

m-, p-메틸마노산과 총 메틸마노산은 크레아티닌농도로 보정하였다.

3) 유전자 다형성 분석

(1) DNA 추출

초저온 냉동고에 보관된 백혈구를 등장액으로 2회 세척하고 DNA 추출용액과 RNase (ribonuclease)를 첨가하여 RNA를 분해시켰으며, proteinase K와 페놀을 사용하여 단백질을 불순물을 제거한 후 에탄올을 사용하여 genomic DNA를 분리·정제하였다. 분리된 genomic DNA는 분광광도계로 260 nm에서 정량하여 최종 농도를 50 ng/µl로 희석하였다.

(2) PCR-RFLP 방법을 이용한 유전자 다형성 분석

CYP2E1 유전자 다형성 분석을 위한 PCR primer는 Rsa I 제한효소부위를 생성하는 sense primer와 anti-sense primer를 사용하였다. PCR은 Bioneer사(Cheongju, Korea)의 PCR Premix에 genomic DNA 1.5 µl, 각각의 primer 1 µl를 넣어 총량이 20 µl가 되도록 하여 denaturation 94℃ 1분, annealing 53℃ 1분, 그리고 extension 74℃ 30초로 Thermocycler(Perkin Elmer 9600, UK)에서 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물 4 µl를 2%

agarose gel에 전기영동 하여 ethidium bromide(EtBr)로 염색한 후 UV-transilluminator에서 410 bp band를 확인하였다. 확인된 PCR 산물 13 µl에 Rsa I 10 unit을 섞어 총 용량을 20 µl로 하여 37℃ 수조에서 6시간이상 반응시켰으며 반응산물 20 µl를 2% agarose gel에서 전기영동하여 EtBr로 염색한 후 최종 유전자형을 확인하였다. 전기영동후 360 bp와 50 bp band가 보이면 c1/c1, 410 bp band만 보이면 c2/c2, 그리고 410 bp, 360 bp와 50 bp band가 보이면 c1/c2 유전자형으로 분류하였다 [13].

ALDH2 유전자 다형성 분석을 위한 PCR primer는 Mbo II 제한효소부위가 생성되도록 anti-sense primer에 18번째 염기서열을 adenine에서 thymine으로 변형시켰다. PCR은 denaturation 94℃ 1분, annealing 60℃ 1분, 그리고 extension 72℃ 30초로 Thermocycler(Perkin Elmer 9600, UK)에서 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물 4 µl를 2% agarose gel에서 전기영동하여 EtBr로 염색한 다음 UV-transilluminator에서 135 bp band를 확인하였다. 확인된 PCR 산물 13 µl에 Mbo II 10 unit을 섞어 총 용량을 20 µl로 하여 37℃ 수조에서 6 시간이상 반응시켰으

Table 1. The characteristics of subjects by exposure status

Characteristics	Exposed (N=116)	Non exposed (N=131)	p-value †
	N (%)	N (%)	
Age (years)			
<40	28 (24.1)	52 (39.7)	0.002
40-49	65 (56.0)	70 (53.4)	
≥50	23 (29.8)	9 (6.9)	
Work duration (years)*			
<median	67 (57.8)	59 (45.0)	0.009
≥median	49 (42.2)	72 (55.0)	
Smoking			
Yes	61 (52.6)	72 (55.0)	0.701
No	55 (47.4)	59 (45.0)	
Previous night drinking			
Yes	29 (25.0)	41 (31.3)	0.273
No	87 (75.0)	90 (68.7)	
Reoant diagnosis of some disease			
Yes	15 (11.5)	17 (14.7)	0.454
No	116 (88.5)	99 (85.3)	
Drug use			
Yes	104 (81.9)	105 (90.5)	0.082
No	23 (18.2)	11 (9.5)	
Protective equipment			
Yes	105 (90.5)	104 (81.9)	0.064
No	11 (9.5)	23 (18.1)	
Kind of protective equipment			
Gas & Vapor respirators	48 (45.3)	8 (7.7)	<0.001
Supplied air respirators	24 (22.6)	0 (0.0)	
Particulate and cotton respirators	34 (32.1)	96 (92.3)	

* Work duration (years), Median value of work duration is 15.58 year

† p-value was estimated by Chi-square test

며 반응산물 20 μl를 12% polyacrylamide gel에서 전기영동하여 EtBr로 염색한 다음 최종 유전자형을 확인하였다. 전기영동 후 126 bp band만 보이면 NN(ALDH2*1/1, homozygous genotype of normal ALDH2), 135 bp band만 보이면 DD(ALDH2*2/2, homozygous genotype of an inactive ALDH2), 그리고 126 bp와 135 bp band가 보이면 ND(ALDH2*1/2, heterozygous genotype of normal and inactive ALDH2) 유전자형으로 분류하였다 [14].

4) 통계분석

모든 자료의 분석은 SPSS (ver 10.0)과 SAS (ver 12.0)통계 프로그램을 사용하여 분석하였다.

노출군과 비노출군의 연령, 근무기간, 흡연여부, 건강진단 전날 밤의 음주여부, 최근 질병진단 여부, 보호구 착용여부 등에 대한 분포를 기술하였고, 각 대상자들의 특성에 따라 각 대사산물의 기하평균값(GM: geometric mean) 차이가 나는지를 비교하였으며 통계적 유의성은 두 군간 비교에는 t-검정을, 세 군 이상 비교에는 분산분석을 실시하였으나 자료의 분포가 정규분포를 하지 않아 상용로그로 변환하여 통계분석을 실시하였다.

연구대상자중 노출군에 대하여 각 유전자형별로 요중 대사산물들의 기하평균값에 차이가 있는지를 분산분석을 통하여 비교하였는데, 메틸마노산(o-, m-, p-, 그리고 총 메틸마노산) 측정값이 음의 값이거나 0인 경우 상용로그치환을 할 수 없기 때문에 측정값을 얻을 수 있었던 값중 0에 가장 가까운 값인 0.1로 치환하여 기하평균을 산출하였다.

요중 메틸마노산의 농도(상용로그치환)에 미치는 CYP2E1, ALDH2 유전자형의 영향을 관찰하기 위하여 각 유전자형(CYP2E1 c1/c1은 1, c1/c2는 2, c2/c2는 3, 그리고 ALDH2*1/1은 1, *1/2는 2, *2/2는 3으로)에 따른 요중 대사산물에 경향성 분석(trend test)을 실시하고 유기용제 노출정도 와 요중 대사산물 농도 사이의 기울기 차이를 조사하였으며, CYP2E1, ALDH2 유전자형, 직무-노출 매트릭스에서 얻은 노출등급, 연령(50세 미만 vs 50세 이상), 근무

기간(중앙값 미만 vs 중앙값 이상), 흡연여부 (비흡연 vs 흡연), 건강진단 전날 밤의 음주여부 (음주하지 않음 vs 음주함) 및 음주량(연속변수), 최근 질병 유무 (있지 않음 vs 있음), 약물 복용(복용하지 않음 vs 복용함), 보호구 종류(방독과 송기마스크 vs 방진과 먼 마스크)를 독립변수로 하여 다중 회귀분석을 실시하였다.

연구결과

1. 연구대상자의 일반적 특성

연구대상자중 노출군(n=116)의 작업부서는 스프레이 작업자 34명(13.8%), 터치업 작업자 22명(8.9%), 도장보조 작업자 46명(18.6%), 그리고 전처리 작업자 14명(5.7%)으로 도장보조 작업자의 수가 가장 많았다. 작업 부서별로 주로 작업이 이루어지는 작업장소의 분포를 살펴보면 스프레이 작업자는 외부블록작업 22명(64.7%), 터치업 작업자는 내부블록작업이 10명(45.5%), 도장보조 작업자는 외부블록작업

23명(50.0%)과 내부블록작업 21명(45.7%), 그리고 전처리 작업자는 내부블록작업 10명(71.4%)이었다 (Table 2).

대상자는 모두 남자였고 노출군에서 50세 이상 대상자가 29.8%인데 비해 비노출군은 6.9%로 낮아 두 군간 연령 차이가 관찰되었다 (p=0.002). 근무기간은 노출군이 14.9+3.0년, 비노출군이 15.8+2.5년이었으며 노출군의 근무기간이 비노출군보다 유의하게 낮았고, 노출군의 근무기간 분포는 중앙값(15.58년) 이상이 49명(42.2%), 비노출군에서는 72명(55.0%)으로 차이가 관찰되었다 (p=0.009). 흡연 여부와 건강진단 전날 밤의 음주 여부, 최근 한 달 동안의 질병력은 차이가 관찰되지 않았지만, 최근 한 달 동안의 약 복용력은 노출군에서 18.2%(23명), 비노출군에서는 9.5%(11명)로 경계역 유의성이 관찰되었다 (p=0.082). 보호구 착용 여부에 대한 설문에서는 노출군에서 90.5%(105명), 비노출군에서 81.9%(104명)가 착용하였다고 응답하여 경계역 유의성이 관찰되었다(p=0.064). 또

Table 2. The level of metabolites in urine by work species and relative job score for xylene

Work species	Relative job score*	No.(%)	GM (GSD) †			
			MHA	o-MHA	m-MHA	p-MHA
Exposed group						
Spray	2	22 (8.9)	93.5 (5.5)	4.6 (30.9)	38.1 (9.2)	25.6 (4.8)
	4	12 (4.9)	130.0 (3.5)	12.5 (11.7)	71.2 (3.4)	30.8 (4.3)
Touch-up	2	5 (2.0)	5.7 (44.5)	1.7 (49.2)	2.4 (18.1)	1.9 (16.1)
	3	17 (6.9)	122.2 (13.2)	74.5 (33.9)	50.6(15.6)	33.6 (9.5)
Mix+Assist	1	46 (18.6)	2.8 (20.1)	0.5 (14.3)	1.1 (19.3)	0.8 (11.6)
Pre-treat	1	14 (5.7)	0.8 (15.0)	0.4 (12.3)	0.1 (3.1)	0.4 (10.1)
Non exposed group						
Welding	0	55 (22.2)	1.4 (16.0)	0.4 (14.4)	0.2 (5.5)	0.4 (7.2)
Assemble and Welding	0	40 (16.2)	1.3 (17.1)	0.6 (17.1)	0.2 (6.4)	0.3 (6.0)
Out-fitting work	0	36 (14.6)	0.9 (16.4)	0.2 (9.2)	0.2 (7.4)	0.5 (8.9)
p-value ‡			<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

* Relative job score was classified by past environment measurements of xylene
 † GM (GSD), Geometric mean ± standard deviation of geometric mean
 ‡ p-value was estimated by ANOVA test

Table 3. The level of metabolites in urine by job-exposure matrixes for xylene

Exposure grade*	No.(%)	GM(GSD) †			
		MHA	o-MHA	m-MHA	p-MHA
0	131 (53.0)	1.2 (16.2)	0.4 (13.7)	0.2 (6.2)	0.4 (7.2)
1	53 (21.5)	1.1 (11.7)	0.2 (6.0)	0.4 (9.7)	0.4 (5.7)
2	21 (8.5)	50.4 (7.6)	2.6 (27.1)	14.7 (13.0)	15.4 (5.9)
3	10 (4.0)	67.4 (5.7)	5.2 (33.3)	24.9 (10.1)	18.6 (4.5)
4-5	17 (6.9)	142.0 (3.5)	17.4 (14.7)	64.7 (3.4)	31.4 (4.0)
6-7	11 (4.5)	252.5 (14.9)	89.0 (10.4)	116.3 (12.3)	63.6 (10.2)
≥8	4 (1.6)	123.0 (117.0)	34.2 (50.2)	72.5 (33.3)	48.3 (33.8)
p-value ‡		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

* Exposure grade was relative job score × protect equipment score
 † GM (GSD), Geometric mean ± standard deviation of geometric mean
 ‡ p-value was estimated by ANOVA test

한 보호구 종류에 있어서는 비노출군의 92.3%(96명)가 방진 마스크나 면 마스크를 주로 사용하고 있는 반면, 노출군은 45.3%(48명)에서 방독마스크를, 22.6%(24명)에서 송기마스크를, 32.1%(34명)는 유기용제 보호구로써 부적합한 방진마스크와 면 마스크를 주로 사용하고 있다고 응답하였다(Table 1).

2. 작업부서와 상대 직무점수 및 직무-노출 매트릭스에 따른 요중 대사산물 농도

작업 중 노출될 수 있는 유해인자의 노출기준(TLV)을 근거로 상대 직무점수를 평가하였으며, 노출군에서 스프레이 작업자 34명 중 2점인 대상자가 22명, 4점인 대상자가 12명으로 관찰되었으며, 터치업 작업자 22명 중 5명은 상대 직무점수가 2점, 17명은 3점으로 평가되었다. 도장보조 작업자 46명과 전처리 작업자 14명은 모두 상대 직무점수가 1점인 것으로 평가되었고, 직접 도장 작업을 하지 않는 비노출군은 상대 직무점수가 모두 0점으로 평가되었다. 전체 대상자에 대한 작업부서 및 상대 직무점수별 요중 메틸마노산 농도는 스프레이 작업자 모두와 터치업 작업자 중 상대 직무점수 3점(전체 안과 블록 내부)을 받은 대상자에서 기하평균값 각각 93.5, 130.0 그리고 122.2 mg/g crea으로 높게 관찰되었고, 터치업 중 상대 직무점수 2점(전체 외부와 블록 외부)을 받은 대상자는 5.7 mg/g crea으로, 노출군에서 도장보조와 전처리 작업자, 그리고 비노출군은 0.8-2.8 mg/g crea으로 낮게 관찰되었다(Table 2).

유해인자의 노출기준(TLV)을 근거로 평가한 상대 직무점수에 보호구 착용실태 점수를 가중치로 부여한 노출등급의 분포는 비노출군의 0점(131명)부터 전체 안과 블록 내부에서 보호구 착용 실태가 불량한 스프레이나 터치업 작업자의 8점(1명) 또는 9점(3명)까지였으며 노출등급이 높아짐에 따라 메틸마노산의 농도도 따라서 증가하는 유의한 상관관계가 관찰되었다($p < 0.001$, $r = 0.542$). 연구대상자중 유기용제 사용량이 많고 보호구 착용실태가 불량하여 4점 이상의 높은 점수(4점, 6점, 8점 이

Table 4. The level of metabolites in urine by each characteristic

Characteristics	No.	GM (GSDE)*			
		MHA	o-MHA	m-MHA	p-MHA
Age (years)					
<40	28	6.1 (1.9)	1.5 (1.9)	1.5 (1.9)	2.1 (1.7)
40-49	65	9.0 (1.5)	1.1 (1.4)	1.1 (1.4)	2.6 (1.4)
≥50	23	75.4 (1.9)	10.6 (2.1)	10.6 (2.1)	19.1 (1.7)
p-value †		.009	.016	.002	.007
Work duration (years)					
<median	67	10.8 (1.5)	1.6 (1.5)	3.8 (1.5)	3.3 (1.4)
≥median	49	15.3 (1.6)	2.4 (1.6)	6.0 (1.6)	4.4 (1.5)
p-value †		.570	.475	.472	.578
Smoking					
Yes	61	8.0 (1.5)	1.2 (1.5)	2.9 (1.5)	2.8 (1.4)
No	55	20.6 (1.5)	3.0 (1.6)	7.6 (1.5)	5.0 (1.5)
p-value †		.115	.146	.118	.290
Previous night drinking					
Yes	29	14.2 (1.9)	2.9 (1.8)	4.8 (1.9)	3.3 (1.7)
No	87	12.0 (1.4)	1.6 (1.4)	4.6 (1.4)	3.9 (1.4)
p-value †		.809	.425	.953	.803
Recent diagnosis of some disease					
Yes	17	41.1 (1.8)	4.0 (2.1)	21.7 (1.7)	11.9 (1.7)
No	99	10.2 (1.4)	1.7 (1.4)	3.5 (1.4)	3.0 (1.3)
p-value †		.053	.300	.008	.029
Drug management					
Yes	31	27.2 (1.7)	2.6 (1.9)	7.0 (1.8)	8.4 (1.6)
No	85	9.4 (1.4)	1.7 (1.4)	4.0 (1.4)	2.8 (1.4)
p-value †		.117	.511	.410	.062
Kind of protective equipment					
Gas & Vapor Respirators	48	29.4 (1.5)	3.4 (1.7)	11.4 (1.6)	8.1 (1.5)
Supplied Air Respirators	24	43.3 (1.4)	2.2 (1.8)	20.1 (1.6)	7.5 (1.5)
Particulate and Cotton Respirators	34	1.1 (1.7)	0.5 (1.6)	0.3 (1.5)	0.5 (1.5)
p-value †		<0.001	.037	<0.001	<0.001

* GM (GSDE), Geometric mean ± standard error of geometric mean

† p-value was estimated by t-test

‡ p-value was estimated by ANOVA test

Table 5. The geometric mean concentration of metabolites in urine by genotype polymorphisms of CYP2E1 and ALDH2

Characteristics	No.	GM (GSDE)*			
		MHA	o-MHA	m-MHA	p-MHA
CYP2E1					
c1/c1	74	14.8 (1.5)	1.9 (1.5)	5.6 (1.5)	4.6 (1.4)
c1/c2	38	10.1 (1.7)	2.0 (1.7)	3.3 (1.7)	2.6 (1.6)
c2/c2	4	4.2 (8.8)	0.6 (6.2)	3.0 (7.2)	2.1 (5.9)
p-value †		0.669	0.785	0.691	0.572
ALDH2					
*1/1(NN)	86	11.4 (1.4)	1.7 (1.4)	4.3 (1.4)	3.4 (1.3)
*1/2(ND)	27	18.8 (1.9)	3.4 (2.0)	7.0 (2.0)	5.3 (1.8)
*2/2(DD)	3	1.6 (6.6)	0.1 (1.0)	0.7 (7.3)	1.1 (4.7)
p-value †		0.443	0.189	0.498	0.607

* GM (GSDE), Geometric mean ± standard error of geometric mean

† p-value was estimated by ANOVA test

상)를 받은 대상자의 메틸마노산 기하평균값은 각각 142.0, 252.5 그리고 123.0 mg/g crea으로 높게 관찰되었고, 유기용제 사용량은 많으나 보호구 착용실태가 양호하여 2점과 3점을 받은 대상자는 50.4와 67.4 mg/g crea, 유기용제의 노출이 적은 도장보조와 전처리 작업자, 그리고 비노출군에서는 1.1과 1.2 mg/g crea으로 낮게 관찰되었다(Table 3).

3. 요중 o-, m-, p- 및 총 메틸마노산 배설에 미치는 기타 요인

연령에 따른 분석에서는 50세 이상 연령에서 40세 미만이나 40-49세 연령군에 비해 높은 농도가 관찰되었고 대사산물 모두에서 동일한 양상이 관찰되었으며 모두 유의하였다 (총 메틸마노산 $p = 0.009$, o-메틸마노산 $p = 0.016$, m-메틸마노산 $p = 0.002$, p-메틸마노산 $p = 0.007$).

Table 6. Factors associated with the level of xylene metabolites in urine (N=116)

Dependent variable*	Independent variables	β (SE)	t-value	p-value ^o	Model R-square
MHA	Intercept	0.186(1.405)	0.13	0.895	0.519
	Age [†]	0.415(0.280)	1.48	0.142	
	Work duration [‡]	0.128(0.218)	0.59	0.558	
	Exposure grade [§]	0.334(0.057)	5.84	<0.01	
	Smoking	-4.00(0.206)	-1.94	0.055	
	Previous night drinking [¶]	0.162(0.322)	0.51	0.615	
	Alcohol amount ^{**}	-0.001(0.004)	-0.30	0.767	
	Recent diagnosis of some disease ^{††}	0.342(0.305)	1.12	0.265	
	Drug management ^{‡‡}	0.400(0.234)	1.71	0.091	
	Kind of protective equipment ^{††}	-1.025(0.227)	-4.52	<0.01	
	CYP2E1 genotype [♣]	0.047(0.214)	0.22	0.828	
	ALDH2 genotype [♣]	0.075(0.627)	0.12	0.905	
	o-MHA	Intercept	-2.877(1.542)	-1.87	
Age [†]		0.414(0.307)	1.35	0.181	
Work duration [‡]		0.195(0.239)	0.82	0.416	
Exposure grade [‡]		0.400(0.063)	6.37	<0.01	
Smoking		-0.351(0.226)	-1.55	0.125	
Previous night drinking [¶]		0.225(0.353)	0.64	0.524	
Alcohol amount ^{**}		0.001(0.004)	0.17	0.868	
Recent diagnosis of some disease ^{††}		0.321(0.335)	0.96	0.341	
Drug management ^{‡‡}		0.166(0.257)	0.65	0.520	
Kind of protective equipment ^{††}		-0.165(0.249)	-0.66	0.510	
CYP2E1 genotype [♣]		-0.146(0.235)	-0.62	0.535	
ALDH2 genotype [♣]		0.741(0.688)	1.08	0.284	
m-MHA		Intercept	0.184(1.321)	0.14	0.890
	Age [†]	0.414(0.263)	1.57	0.119	
	Work duration [‡]	0.152(0.205)	0.74	0.460	
	Exposure grade [‡]	0.355(0.054)	6.60	<0.01	
	Smoking	-0.381(0.194)	-1.96	0.053	
	Previous night drinking [¶]	-0.095(0.302)	-0.31	0.754	
	Alcohol amount ^{**}	0.002(0.004)	0.52	0.605	
	Recent diagnosis of some disease ^{††}	0.585(0.287)	2.04	0.044	
	Drug management ^{‡‡}	0.122(0.220)	0.55	0.581	
	Kind of protective equipment ^{††}	-1.165(0.213)	-5.46	<0.01	
	CYP2E1 genotype [♣]	0.154(0.201)	0.77	0.445	
	ALDH2 genotype [♣]	-0.017(0.590)	-0.03	0.977	
	p-MHA	Intercept	-0.231(1.193)	-0.19	0.847
Age [†]		0.357(0.238)	1.50	0.136	
Work duration [‡]		0.131(0.185)	0.71	0.481	
Exposure grade [‡]		0.338(0.049)	6.96	<0.01	
Smoking		-0.185(0.175)	-1.05	0.295	
Previous night drinking [¶]		-0.193(0.273)	-0.71	0.482	
Alcohol amount ^{**}		0.002(0.003)	0.66	0.514	
Recent diagnosis of some disease ^{††}		0.408(0.259)	1.57	0.119	
Drug management ^{‡‡}		0.413(0.198)	2.08	0.040	
Kind of protective equipment ^{††}		-0.735(0.193)	-3.82	<0.01	
CYP2E1 genotype [♣]		0.108(0.182)	0.59	0.554	
ALDH2 genotype [♣]		-0.211(0.532)	-0.40	0.692	

* Dependent variable was used after common logarithm transformation
 † Age was classified to 2 groups, under 50 year-old (=1) and over and at 50 year-old (=2)
 ‡ Work duration was classified to 2 groups, under median work duration (15.58) year (=1) and over and at 15.58 year (=2)
 § Exposure grade was continuous variable
 || Smoking was classified to 2 groups, nonsmoker (=1), and smoker (=2)
 ¶ Previous night drinking was classified to 2 groups, no (=1), and yes (=2)
 ** Alcohol amount of previous night drinking was a continuous variable
 †† Recent diagnosis of some disease was divided to 2 groups, yes (=2) and no (=1)
 ‡‡ Drug management was divided to 2 groups, yes (=2) and no (=1)
 § § Kind of protective equipment was divided to 2 groups, Gas & Vapor and Supplied Air Respirators (=1) and Particulate and Cotton Respirators (=2)
 ♣ CYP2E1 genotype polymorphism was classified to 2 groups, CYP2E1-c1/c2 or c2/c2 genotype (=1), and CYP2E1-c1/c1 genotype (=2)
 ♣ ALDH2 genotype polymorphism was classified to 2 groups, ALDH2-*/22 (DD genotype) (=1), and ALDH2-*/1/1 (NN genotype) or ALDH2-*/1/2 (ND genotype) (=2)
 o p-value was estimated by multiple regression analysis

작업 기간에 따른 분석에서 작업 기간이 주여부와 요증 대사산물 사이에 각 구간 중앙값보다 긴 경우가 요증 대사산물이 더 많이 배출되는 것으로 관찰되었지만, 작업 기간에 따른 두 구간 차이는 관찰되지 않았다. 그리고 흡연여부, 건강검진 전날 음

주여부와 요증 대사산물 사이에 각 구간 농도 차이는 유의하게 관찰되지 않았다. 최근 한 달 동안의 질병 상태에 따른 분류에서는 질병에 걸렸던 경우 요증 대사산물이 더 높게 관찰되고 있었으나, 총 메

틸마노산 농도와 m-메틸마노산 농도 그리고 p-메틸마노산 농도에서만 경계역 유의성 이상으로 관찰되었다 (총 메틸마노산 p=0.053, m-메틸마노산 p=0.008, p-메틸마노산 p=0.029). 최근 약물 복용에 따른 분류에서는 약물 복용을 한 경우 요증 대사산물이 더 높게 관찰되고 있었으나 p-메틸마노산 농도에서만 경계역 유의성 차이가 있는 것으로 관찰되었다 (p-메틸마노산 p=0.062).

보호구 종류에 따라서도 방진마스크와 면 마스크에서 요증 대사산물이 가장 낮게 관찰되었으며, 방독마스크가 중간 값으로, 송기 마스크가 가장 높게 관찰되었고 세 구간 차이가 유의하였다 (p<0.05) (Table 4).

4. 유전자 다형성과 유전자형에 따른 요증 o-, m-, p- 및 총 메틸마노산

CYP2E1 유전자형 분포는 c1/c1형이 74명 (63.8%), c1/c2형이 38명(32.8%), 그리고 c2/c2형이 4명(3.4%)이었으며 ALDH2 유전자형은 활성형인 *1/1(NN)형이 86명(74.1%), 불활성형인 *1/2 (ND)형 27명(23.3%) 그리고 *2/2(DD)형 3명(2.6%)이었다.

노출등급의 메틸마노산 농도에 따라 나는 세 군사이의 CYP2E1 유전자 c1/c1형과 c1/c2형, 그리고 c2/c2형은 각각 높은 노출군이 68.8%와 28.1%, 그리고 3.1%로 중간 노출군의 67.7%와 29.0%, 그리고 3.2%나 낮은 노출군의 58.5%와 37.7%, 그리고 3.8%와 분포의 유의한 차이가 관찰되지 않았으며 ($\chi^2=0.877$), ALDH2 유전자 활성형인 *1/1(NN)형, 불활성형인 *1/2(ND)형과 *2/2(DD)형은 각각 높은 노출군의 65.6%와 31.3%, 그리고 3.1%와 중간 노출군의 74.2%와 25.8%, 그리고 DD형이 없었으나 낮은 노출군의 79.2%와 17.0%, 그리고 3.8%로 분포의 유의한 차이가 관찰되지 않았다 ($\chi^2=0.480$). 또한 50세 미만과 50세 이상으로 나는 연령군 사이에도 유전자형의 분포 사이에 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (CYP2E1 $\chi^2=0.454$, ALDH2 $\chi^2=0.462$).

CYP2E1 유전자 다형성에 따른 요증 메틸마노산 농도는 c1/c1형이 가장 높고 c2/c2형이 가장 낮았으나 각 유전자형에

따른 대사산물들의 농도 차이는 관찰되지 않았다 (Table 5). 유전자형에 따른 경향성 분석에서 감소하는 경향을 보이지만 유의한 차이가 아니었으며 (p trend=0.389), 유기용제 노출정도와 요중 메틸마노산 농도 사이에 기울기의 차이는 있지만 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (CYP2E1 c1/c1 0.437, c1/c2 0.382, c2/c2 1.182, $p=0.680$).

ALDH2 유전자 다형성에 따른 요중 메틸마노산 농도는 o-메틸마노산 농도는 *1/2(ND)형이 가장 높았고 *2/2(DD)형에서는 0.1의 값이 산출되었다. 본 연구에서 메틸마노산 측정값이 음의 값이거나 0인 경우 상용로그로 치환을 할 수 없기 때문에 0에 가장 가까운 값인 0.1로 모두 변환하였는데, 따라서 기하평균값이 0.1인 *2/2(DD) 유전자형의 경우는 검출되지 않았음을 의미한다. 총 메틸마노산과 m- 및 p-메틸마노산 농도는 *1/2(ND)형이 가장 높았고 *1/1(NN)형이 중간이었으며, *2/2(DD)형이 가장 낮게 관찰되었다. 그러나 각 구간 차이는 모두 관찰되지 않았다 (Table 5). 유전자형에 따른 경향성 분석에서 증가나 감소되는 경향을 보이지 않았으며 (p trend=0.940), 유기용제 노출정도와 요중 메틸마노산 농도 사이에 기울기의 차이는 있지만 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (ALDH2*1/1 0.438, *1/2 0.405, *2/2 0.779, $p=0.478$).

5. CYP2E1 및 ALDH2 유전자 다형성에 대한 다중회귀분석

요중 총 메틸마노산 배설에 영향을 미치는 변수는 노출등급, 흡연, 약 복용력, 보호구 종류 이었고, 요중 o-메틸마노산 배설에 영향을 미치는 변수는 노출등급 한 가지 이었으며, 요중 m-메틸마노산 배설에 영향을 미치는 변수는 노출등급, 흡연, 최근 질병력, 보호구 종류이며, p-메틸마노산 배설에 영향을 미치는 변수는 노출등급, 약 복용력, 보호구 종류였다. CYP2E1과 ALDH2 유전자 다형성은 어떠한 종류의 요중 메틸마노산 배설에도 유의한 관련성이 관찰되지 않았다 (Table 6).

고 찰

크실렌은 o-, m-, p-의 세 가지 이성체가 있으며 주로 호흡기를 통해 흡입되지만 일부는 피부와 접촉하여 흡수되기도 한다. 인체에 흡수되는 크실렌의 60% 정도는 호흡을 통해 폐로 흡수되어 혈액을 따라 지방조직에 축적되고, 체내로 흡수된 크실렌의 95%는 간장의 마이크로솜 내에서 두 개의 메틸기 중 하나가 산화되어 메틸벤질알코올이 되었다가, 알코올 탈수소효소와 알데히드 탈수소효소에 의해 메틸벤조산을 형성한 뒤 글리신과 결합하여 크실렌의 o-, m-, p- 세가지 이성체에 각각 대응하는 메틸마노산이 되어 요로 배설되며, 폐에 흡수된 크실렌의 2%는 크실레놀을 형성하여 요로 배설된다 [5-6,15-16].

조선업의 도장 작업은 노출변이의 크기와 노출량에 영향을 미치는 변수가 매우 다양하기 때문에 어느 한 시점에서 작업환경 농도뿐만 아니라 작업장 조건, 작업시간, 노출확률 등의 다른 중요한 요인들을 고려해야하며 그 해결책으로 직무-노출 매트릭스가 개발되어 노출평가에 대한 한계가 보완되고 진일보하였다. Bouyer [17] 등은 직무-노출 매트릭스 셀에 입력되는 내용은 노출강도 또는 노출빈도와 노출확률을 반영해야 한다고 하였다. 이와 같은 조건을 만족시키기 위해 동일 노출군으로 선정된 직무군에 대한 노출량 추정치를 작업자의 업무와 작업공간의 밀폐 정도에 따라 상대 직무점수로 정하였고 보호구 착용실태에 대한 점수를 상대 직무점수에 가중치로 부여하는 반정량적 평가(semiquantitative assessments)를 이용하였다 [11,18]. 그러나 반정량적 평가는 범주 사이의 양적 연관성을 충분히 표현하지 못한다는 제한점이 있으며 작업자의 업무와 작업공간의 밀폐도 등을 바탕으로 분류하기 때문에 분류상의 오류를 범할 위험성을 가지고 있다.

유기용제 노출군을 작업 부서별로 나누어 비교하여보면 크실렌 노출의 생물학적 지표인 메틸마노산은 유기용제의 사용량이 많은 스프레이 작업자가 다른 작업자들보다 높았다. 보호구 착용실태의 경우, 스프레이 작업자는 거의 대부분이 방독마

스크와 송기마스크를 작업중 지속적으로 착용하는 반면 터치업 작업자는 일부가 블록외부 작업시 유기용제 보호구로써는 부적당한 방진마스크를 착용하거나 작업중 보호구를 착용하더라도 간헐적으로 착용하는 예가 있는 것으로 조사되었으나 유기용제 사용량이 적기 때문에 요중 대사산물 또한 적은 것으로 관찰되었다.

유전자 다형성이 크실렌 대사에 영향을 주는 경우, 특정 유전자형에서 대사가 지연됨으로 인하여 생체 내에 머무르는 시간이 증가하게 되어 크실렌 독성이 더 지속될 수 있을 것으로 예상하였으나 보호구를 철저히 착용하고 있어서 예상했던 것보다 소량의 크실렌에 노출되고 다른 대사산물인 크실레놀 등의 형태로 대사되어 배출되기도 한다.

본 연구대상자의 CYP2E1 유전자형은 c1/c1형이 74명(63.8%), c1/c2형이 38명(32.8%), 그리고 c2/c2형이 4명(3.4%)으로 Yim 등 [19]의 c1/c1형이 60.6%, c1/c2형이 33.1%, c2/c2형이 6.3%와 Nam 등 [20]의 c1/c1형이 66.3%, c1/c2형이 30.6%, c2/c2형이 3.1%라는 연구 결과와 구성비가 유사하였다. 또한 ALDH2 유전자형은 활성형인 *1/1(NN)형이 74.1%, 불활성형인 *1/2(ND)형과 *2/2(DD)형이 각각 23.3%와 2.6%이었다. 이러한 결과를 ALDH2 다형성에 관한 국내 연구 결과와 비교하면 유기용제에 노출되는 근로자들의 ALDH2 불활성 표현형의 구성비는 Chang 등 [21]의 24.6%와 유사하였으나 Lee 등 [22]의 35%, Kwon [23]의 41.5%, Yim 등 [19]의 42.5% 보다는 낮게 나타났다. ALDH2 불활성형은 유럽 및 미국인을 비롯한 백인은 거의 없는 것으로 보고 되지만 동양인의 경우에는 중국인은 50% 정도, 일본인은 41-44%로 알려져 있다 [9,10]. 또한 CYP2E1과 ALDH2의 유전자 다형성을 노출등급 군과 연령군 별로 나누어 비교하였을 때 유전자형의 분포에 유의한 차이를 관찰하지 못했다.

유전자 다형성에 따른 요중 대사산물을 비교하여 보면, CYP2E1에서는 유의한 차이가 관찰되지 않지만, o-를 제외한 m-, p- 그리고 총 메틸마노산의 경우는 c1/c1형이

서 론

철(Iron, Fe)은 생체의 물질대사에 필수적인 금속이온으로서 체내에서 항상성(homeostasis)을 유지하려고 한다. 일반적으로 Fe의 체내 항상성은 체내에서 Fe가 부족하거나 또는 Fe의 요구량이 증가되는 경우 소장에서의 Fe 흡수가 증가됨으로서 조절된다. Fe는 필수금속이온이지만 체내에서 과다하게 노출되는 경우 여러 가지 건강장애를 유발한다 [1,2].

디젤 자동차로부터 배출되는 배기물은 대기오염의 주요 오염물질이며, 비교적 높은 농도의 Fe를 함유하고 있다. 이와 같은 대기오염 물질에 장기간 노출되면 폐에서의 Fe농도 증가와 만성호흡기계 질환의 유병률 증가 및 다양한 폐 손상을 초래할 수 있다 [3]. Ghio 등 [4]은 DEP(diesel exhaust particulate)를 랫트의 기관지내로 노출한 경우 폐조직내 Fe 농도가 증가되고 이로 인한 oxidative stress로 인해 폐의 손상이 초래된다고 보고하였다. 즉, 대기오염이 심한 공업지역이나 대도시에 거주하는 사람들은 증금속에 오염된 미세분진을 흡입함으로써 폐조직의 Fe에 대한 노출이 증가 될 수 있을 것으로 추정된다. 호흡기계를 통한 과잉의 Fe에 대한 노출과 이로 인한 흡수 및 건강장애는 공중보건학적인 측면에서 매우 중요할 것으로 생각되며, 호흡기계에서의 Fe 흡수와 독성기전에 대한 연구가 요구되나 아직까지 이에 대한 연구가 많지 않은 실정이다.

소화기계에서의 Fe의 흡수와 조절기전에 대해서는 최근까지 비교적 많은 연구가 진행되고 있는 편이다. 즉, 장관내로 들어온 Fe^{2+} 가 ferredoxinase에 의해 Fe^{3+} 로 환원되어 Fe^{3+} 상태로 장관상피세포내로 유입된다 [5]. 장관세포로 흡수된 Fe는 인체의 요구량에 따라 혈액으로 이동되거나 장관상피세포에 남게 된다. 혈액으로 들어온 Fe는 운반 단백질인 transferrin과 결합하여 필요한 곳으로 이동되고, 장관세포에서는 Fe가 apoferritin과 결합하여 ferritin의 형태로 저장된다 [6]. 체내 철분의 양이 부족할 경우, 혈액내 포화되지 않은 transferrin의 양이 많아져 소장에서 흡수된

철분은 대부분 혈액으로 이동되며 철분 흡수율도 증가하게 된다. 최근 Fe 이동에 관련하는 단백질 즉, DMT1(Divalent Metal Transporter-1, DCT1, NRAMP2)과 MTP1(Metal Transporter Protein-1, ferroportin1, Ireg1)이 소장에서 Fe의 이동과 조절에 관여하는 것으로 보고 된 바 있다 [7-9]. 즉, DMT1은 소장 특히 십이지장의 apical portion에 위치하여 체내에서 Fe가 부족하거나 Fe의 요구량이 증가되는 환경에서 발현이 증가되어 장관으로부터 소장상피세포로 Fe의 흡수를 증가시키며 [7,10-14], MTP1은 소장상피세포의 기저부에 존재하며 소장상피세포로부터 순환혈관내로 Fe를 이동시킴으로서 [13] 체내 Fe의 항상성을 유지한다. DMT1과 MTP1은 체내 대부분의 장기에서 발현되어 각 조직에서의 Fe 이동에 관여할 것으로 추정되고 있으나 폐에서의 발현정도와 Fe의 이동에 대한 연구는 아직까지 매우 부족한 편이다.

지금까지의 역학적 연구와 동물실험 자료를 근거로 볼 때 부적절한 Fe의 공급으로 인하여 체내 Fe가 부족한 경우 생활환경을 통해 동일 량의 Fe에 노출되더라도 소장에서 그 흡수량이 증가될 것으로 생각된다. 만약 체내 Fe 수준에 따라 폐조직에서 Fe 이동에 관련하는 단백질(DMT1과 MTP1)의 발현정도에 변화가 초래되고 호흡기계를 통해 노출되는 Fe의 흡수와 이동에 관여한다면 체내 Fe가 부족한 환경에 있는 사람들의 경우 DEP와 같이 비교적 많은 량의 Fe를 함유하고 있는 대기오염물질에 동일 량 노출되더라도 폐를 통해 상대적으로 많은 량의 Fe에 노출될 가능성이 있다. 더욱이 우리나라는 아직까지 성장기 젊은 여성, 임산부, 갱년기 여성 등 Fe 부족이 초래될 수 있는 다수의 대상이 있다. 그러므로 체내 Fe의 정상수준에서 뿐만 아니라 낮은 수준에서 호흡기계를 통한 폐에서의 Fe 이동에 관여하는 DMT1과 MTP1 등과 같은 단백질들의 역할에 대한 연구가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 체내 Fe 수준이 정상인 실험동물과 Fe가 결핍된 실험동물을 이용하여 체내 Fe 수준에 따른 금속 이동 단백질의 발현정도를 비교하고, 실험동물

의 기관지내로 Fe를 노출시킨 후 폐조직에서 DMT1과 MTP1의 발현정도 및 폐와 간장에서의 Fe 농도를 비교함으로써 폐에서 금속 이동 단백질의 역할을 알아보려고 하였다.

연구재료 및 방법

1. 실험동물

본 연구에 사용된 실험동물은 21일령의 수컷 Sprague-Dawley rat를 Samtaco사로부터 구입하여 이용하였다. 구입한 실험동물은 온도 약 22℃, 습도 55%, 채광 12시간인 동물사육실에서 사육하여 특별한 이상이 없음을 확인한 다음 실험에 사용하였다.

2. 실험모델

Fe 결핍 실험동물 모델은 Fe 결핍식이 이용되어 만들었다. 즉, 생후 25일된 실험동물을 실험군과 대조군으로 구분하였고, 실험군에는 Fe 결핍식이(FeD diet)를 공급하였고 대조군에는 Fe 정상식이(FeS diet)를 공급하였다. 실험동물의 식이는 American Institute of Nutrition의 권장량을 근거로 하여 Fe 결핍식은 2-6 mg Fe/kg, Fe 정상식은 120 mg Fe/kg이 되도록 조성을 조절하였다 (Table 1). Fe 결핍 식이는 Fe 농도 이외에는 Fe 정상 식이와 동일한 구성 성분으로 조성하였다. 각 군의 실험동물에 Fe 결핍식이 또는 Fe 정상식을 4주 동안 공급하였다. 이때 물은 증류수를 공급함으로써 Fe가 추가로 공급되는 것을 방지하였다. 실험기간 동안 주당 2-3회 체중을 측정하여 실험동물의 체중변화를 관찰하였다. 4주 동안 Fe 결핍식이 또는 Fe 정상식으로 사육한 실험동물을 마취제를 이용하여 마취시킨 후 Fe를 1회 실험동물의 기관지내로 intratracheal instillation 방법으로 투여하였다. 이때 Fe 결핍군 또는 Fe 정상군을 각각 3군으로 구분하여 생리적 식염수, 실험동물 체중 kg당 10 또는 20 mg의 ferrous sulfate($FeSO_4$, Sigma)를 투여하였다. 투여량은 실험동물 체중 100 g당 0.1 ml가 되도록 조절하였다.

3. 시료채취