

일반인구에서 유전자 다형성이 요중 1-hydroxypyrene 및 2-naphthol의 배설량에 미치는 영향

황 문 영* · 조 병 만 · 문 성 배*
*부산대학교 화학과, 부산대학교 예방의학 및 산업의학 교실
(2005년 4월 6일 접수; 2005년 5월 25일 채택)

Effects of the Genetic Polymorphisms on Urinary Excretion of 1-Hydroxypyrene and 2-Naphthol

Moon-Young Hwang*, Byung-Mann Cho and Seong-Bae Moon*

*Department of Chemistry, Pusan National University, Busan 609-735, Korea
Department of Preventive and Occupational Medicine, Pusan National University, Busan 602-739, Korea
(Manuscript received 6 April, 2005; accepted 25 May, 2005)

This study was performed to determine the effects of genetic polymorphisms, such as glutathione S-transferase μ 1 (GSTM1), glutathione S-transferase Θ 1 (GSTT1), glutathione S-transferase π 1 (GSTP1), aryl hydrocarbon N-acetyltransferase 2 (NAT2), cytochrome P450 2E1 (CYP2E1), cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) on the concentrations of urinary 1-hydroxypyrene (1-OHP) and 2-naphthol in general population with no occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Study subjects were 257 men who visited a health promotion center in Busan. A questionnaire was used to obtain detailed data about age, smoking, drinking, body fat mass, intake of fat etc. Urinary 1-OHP and 2-naphthol concentration were analyzed by HPLC system with a fluorescence detector. A multiplex PCR method was used to identify the genotypes for GSTM1 and GSTT1. The polymorphisms of GSTP1, NAT2, CYP1A1 and CYP2E1 were determined by the polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method. Urinary 1-OHP concentration was higher in deleted genotype of GSTM1, increased as smoking and alcohol drinking increased. Urinary 2-naphthol concentration was also rely on the age and smoking. Neither genetic polymorphism nor drinking-related factors were significantly related to urinary 2-naphthol concentration. No significant relation was found between physical characteristics and concentrations of urinary PAHs metabolites in the subjects, but the geometric mean of urinary 1-OHP and 2-naphthol was higher in the group with higher value compared to median value.

These data suggest that in general population occupationally not exposed to PAHs, urinary concentration of PAHs metabolites is influenced by smoking, alcohol drinking and deleted genotype of GSTM1 in 1-OHP and smoking in 2-naphthol.

Key Words : PAHs, Genetic polymorphisms, 1-OHP, 2-Naphthol, HPLC, PCR, Smoking

1. 서 론

환경오염물질 중에 잔류시간이 길며 그 독성 또한 강하여 특히 문제가 되고 있는 잔류성 유기오염

물질(Persistent Organic Pollutants, POPs)인 다환방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 이하 PAHs)는 두 개 이상의 방향족 고리가 접합된 여러 개의 고리형태로 이루어진 탄화수소를 말하며 일반적인 특성은 비점과 용점이 높고, 증기압은 낮으며, 극성이 없고 지방에 용해되는 성질을 가진 물질로서 벤젠고리가 2-4개인 물질은 기체나 고체에 흡착된 형태로 대기 조건에서 주로 가스상으로 존

Corresponding Author : Byung-Mann Cho, Department of Preventive and Occupational Medicine, Pusan National University, Busan 602-739, Korea
Phone: +82-51-240-7741
E-mail: bmcho@hanmail.net

제하며 5개 이상인 물질은 주로 고체에 흡착된 형태로 환경 중에 존재하게 된다¹⁾. 현재까지 공기 중에는 대부분의 parent PAHs를 포함하여 thia-, aza-, oxa-, arenes, alkyl- 및 nitro-PAHs 등 구성성분에 따라 200여 종류의 물질이 있다. 이 중 USEPA, NIOSH 등에서 제안하는 환경보건학적으로 중요성이 큰 PAHs 대상물질로는 17종, 또는 여기에 Benzo(e)pyrene을 제외한 16종(EPA method 610)을 선정하고 있다^{2,3)}. PAHs는 주로 탄소와 수소를 포함하고 있는 유기물질의 불완전 연소과정 중에 흔히 발생하며, 산불, 화산분출과 같은 자연적인 연소에 의해서도 발생하거나 혹은 유기물질의 열분해 과정에서도 발생한다. 대부분의 PAHs들은 대기 중에 널리 퍼져 있으므로 호흡기와 소화기, 그리고 피부를 통하여 인체에 흡수되는데, 보건학적으로 중요한 의미를 갖는 것은 이들에 포함되어 있는 많은 성분들이 발암성 물질과 변이성 원인물질로 인식되고 있기 때문이다^{4,5)}. 또한 PAHs는 다양한 발생원에서 배출되기 때문에 여러 경로를 거쳐 인체에 노출되며, 일반인구에서는 직업적 노출이나 흡연에 비해 그 절대량이 적기 때문에 그 노출량을 측정하는데 많은 어려움이 따른다. 이러한 이유 때문에 환경오염물질의 노출로부터 그 영향인 건강영향에 이르는 과정에 대한 정보를 제공할 수 있는 방법론으로 생물학적 지표가 개발되었고, 그 대안으로 적용이 가능하게 되었다.

PAHs를 구성하는 한 화학물질인 pyrene은 인체에 발암성이 없는 것으로 알려져 있지만, 비교적 PAHs 오염환경의 많은 부분을 차지하며 총 PAHs 농도와 상관성($r=0.94$)이 매우 높고 하루 중 총 PAHs 흡수량 중에서 가장 많은 양(23%)이 흡수된다. 따라서 pyrene을 PAHs 환경오염의 대표항목으로 하고 있으며 인체노출을 알려주는 생체지표로 사용하고 있다. 체내에 들어온 pyrene은 간세포에서 분비되는 cytochrome P-450계통의 효소에 의하여 대부분이 1-hydroxypyrene glucuronide (1-OHPG)나 1-hydroxypyrene (1-OHP)의 형태로 소변을 통해 배설된다. 그러나 pyrene은 호흡기 뿐만 아니라 피부 및 소화기를 통해서도 잘 흡수되므로 요중 1-OHPG나 1-OHP는 노출경로에 따른 PAHs 노출정도를 정확하게 반영하지 못한다는 단점이 있다. 이에 비해 naphthalene은 dicyclic hydrocarbon으로 매우 휘발성이 강하며, 흡입하면 매우 빠르게 흡수되지만, 경구나 피부를 통해서도 흡수가 느리다⁴⁾. 흡수된 naphthalene은 hydroxylation되어 1-, 또는 2-naphthol이 되고, 그 후 glucuronide나 sulfate가 결합되면 수용성을 갖게 되어 소변을 통해 배설된다⁵⁾.

이러한 환경성 오염물질에 대한 개인적인 감수성의 차이는 1차적으로는 환경성 오염물질의 대사에 관련되는 효소의 활성 차이에서 비롯되며 2차적으로는 인체내에서 생성된 대사체가 생체고분자의 구조나 기능에 영향을 미치는 정도와 체외로 배출되는 정도에 따라 나타난다. PAHs와 같은 발암물질의 대사 및 배설에 관여하는 체내 효소계는 크게 phase I 효소계와 phase II 효소계로 분류되는데, phase I 효소계는 외부 또는 내부의 발암물질을 활성화시키는 작용을 하는 cytochrome P450 family (CYPs)가 대표적이며, phase I 효소계에 의하여 활성화된 발암물질은 DNA와 결합하여 DNA adduct를 형성하고, 이는 염기의 변화를 초래하게 되어 암을 발생하게 한다. Phase II 효소계는 활성화된 다양한 전자친화성 발암 물질에 환원된 glutathione (GSH)을 결합시켜서 비활성화시키는 작용을 하는 것으로 glutathione S-transferases (GSTs)와 aryl hydrocarbon N-acetyltransferase (NAT)가 대표적이다⁶⁾. 따라서 phase I 및 phase II 효소계의 활성도에 따라 발암물질을 활성형으로 대사시키거나 생성된 대사체를 효과적으로 체외로 배출시킬 수 있다⁷⁾. 기존의 연구결과들에 따르면 이들 효소계에는 유전적 다형성(Genetic polymorphism)이 존재하고 있으며, 이에 의해서 효소계의 표현형(phenotype)이 결정된다고 한다^{8,9)}. 즉 개개인의 암발생과 유전적 차이는 주로 발암물질의 대사 및 배설에 관여하는 phase I 및 phase II 효소의 유전적 다형성과 관련이 있을 수 있다. 요중 PAHs 대사산물의 배설량과 유전자다형성간에는 이 효소들 중 어느 하나만으로 PAHs 대사산물의 농도변화를 설명하기 어렵고, 같은 물질의 대사과정에도 여러 가지 효소가 복합적으로 작용하므로, 이러한 효소의 활성에 따라 소변으로 배설되는 PAHs 대사산물의 농도가 변할 것으로 추정된다.

본 연구는 다양한 직업적 노출을 평가할 기초자료를 제공하기 위한 목적으로 PAHs의 대사에 관여하는 유전자다형성의 중요성을 간접적으로 파악하고 비교적 소량의 PAHs 노출선상에 있는 일반인구를 대상으로 요중 1-OHP와 2-naphthol의 배설량을 측정하여 독성물질의 대사에 관여하는 phase I, phase II 효소인 GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT2, CYP2E1, 그리고 CYP1A1의 유전적 다형성이 이러한 요중 대사산물의 배설량에 미치는 영향을 조사하고자 수행되었다. 또한 직업적, 비직업적 노출인구에 영향을 미칠 수 있는 흡연, 음주, 식이 등의 생활습관과의 상호관련성도 평가하였다.

2. 연구대상 및 방법

2.1. 연구대상 및 자료

2002년 6월부터 10월까지 건강검진을 목적으로 부산의 한 3차병원을 방문한 남자 257명을 대상으로 수집된 소변 시료와 자기기입식으로 작성된 건강문진표, 영양섭취상태 설문지의 응답을 이용하였다. 건강문진표에는 흡연유무, 하루담배소비량, 흡연기간 등과 알콜섭취 유무, 1회 평균음주량, 주당 평균음주횟수, 음주기간 등이 포함되어 있다. 체질량지수는 전자식 자동측정기(Fanics FA-94H)로 측정하여 체질량지수 산출공식(체질량지수[kg/m²]=체중[kg]/{신장[m]}²)으로 구하였으며 체지방량은 체성분검사결과지를 이용하였다. 그리고 식이를 통한 지방섭취량은 영양섭취상태의 응답을 토대로 하여 산출하였다.

2.2. 시료의 채취 및 분석방법

2.2.1. 소변 채취 및 요중 creatinine 측정

polypropylene tube에 소변 25 ml를 채취한 후 자외선에 노출되지 않도록 aluminum foil에 싸서 실험실로 운반하여 즉시 영하 20°C에 냉동시킨 후 일주일 이내에 분석하는 것을 원칙으로 하였다. 분석하기 전에 낮은 온도에서 서서히 해동시켜 시료로 사용하였다. 그리고 creatinine 농도는 부산대학병원 임상검사실에 의뢰하여 측정하였다.

2.2.2. 요중 1-OHP 측정

2.2.2.1. 시료전처리

Jongeneelen 등¹⁰⁾의 분석방법을 일부 변화하여 요중 1-OHP 농도를 측정하였다. 대상자로부터 채취한 소변을 0.3 ml씩 준비한 후 2 M sodium acetate buffer, pH 5.0을 첨가하였다. β-glucuronidase/aryl sulfatase (10,000 Fishman U/ml, Sigma, St. Louis, MO, USA)를 처리한 후 water bath(37°C)에서 16시간동안 가수분해하였다. 가수분해 후 3,000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 상등액을 취해서 역상 C18 sep-park cartridge에 여과하였다. 최종적으로 HPLC-fluorescence detector로서 분리된 1-hydroxypyrene 물질을 확인 정량하였다. 표준용액은 blank urine에 일정량의 표준시약을 농도별로 첨가하여 표준시료를 만든 후, 시료와 동일한 방법으로 분석하여 기저의 농도와 검출결과를 이용하여 검량선을 작성하였다.

2.2.2.2. 측정

전처리가 끝난 시료를 펌프(Dionex P580 LPG)와 형광 검출기(Shimadzu RF2000), 그리고 자동시료주입기(Dionex ASI-100) 및 자료처리장치(Dionex Chromeleon)로 구성된 HPLC system (Dionex, Germany)을 사용하여 분석하였다. HPLC용 컬럼은 150 mm×4.6

mm의 Tosoh TSK gel ODS-80TM reverse phase (Japan)를 사용하였다. 이동상은 60% acetonitrile (HPLC grade, Fisher Scientific, USA)을 사용하였으며, 분당 1ml의 속도로 흘려주었다. 형광검출기의 파장은 excitation(λ_{ex}) 242 nm 그리고 emission(λ_{em}) 388 nm를 사용하였다.

2.2.3. 요중 2-naphthol 측정

2.2.3.1. 시료 전처리

Kim 등¹¹⁾의 분석방법을 일부 변화하여 1-OHP 측정시 사용한 방법과 동일하게 처리하였다.

2.2.3.2. 측정

1-OHP 측정시 사용한 HPLC system을 사용하여 분석하였다. 컬럼은 250 mm×4.5 mm의 YMC J'sphere ODS-H80를 사용하였고, 이동상은 38% acetonitrile을 사용하였으며, 분당 1 ml의 속도로 흘려주었다. 형광검출기의 파장은 excitation(λ_{ex}) 227 nm, 그리고 emission(λ_{em}) 355 nm를 사용하였다.

2.2.4. 유전자 다형성 분석

2.2.4.1. DNA 추출

-70°C에 보관되어 있던 환자군과 대조군의 혈액으로부터 Omega Bio-tek(USA)사의 E.N.Z.A blood DNA kit를 사용하여 DNA를 추출하였다.

2.2.4.2. GSTM1과 GSTT1의 유전자 다형성 분석

GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성 분석은 Chen 등¹²⁾의 방법을 변형하여 실시하였다. PCR용 primers는 GSTM1에 대해서는 5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3'과 5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3'를, GSTT1에 대해서는 5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3'과 5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'를 사용하였다. PCR은 TaKaRa Taq DNA polymerase를 첨가하여 총 반응액이 20 μ l가 되게 하고, 94°C 30초, 58°C 30초, 72°C 30초로 30회를 실시하였다. 그리고 GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성 분석의 내부대조군으로 β-globin을 사용하여 PCR을 실시하였다. β-globin에 대한 primer로는 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'과 5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3'를 사용하였다. 증폭된 PCR 산물은 2% agarose gel에서 전기영동하여 band를 확인하였다. GSTM1은 219 bp, GSTT1은 410 bp의 band 존재여부를 분석하였다.

2.2.4.3. CYP1A1 유전자 다형성 분석

CYP1A1 유전자 다형성 분석에 사용된 primer는 5'-CCA CCT CAG CTG TCT CCC TC-3'과 5'-GAA AGA CCT CCC AGC GGT CA-3'였다.

PCR은 94℃ 30초, 58℃ 30초, 72℃ 30초로 30회를 실시하였고, 180bp 정도의 PCR 산물은 2% agarose gel에서 확인하였다. 확인된 PCR 산물 5 µl에 *HincII*(Promega, USA)를 첨가하여 37℃에서 2시간 반응시킨 후 2.5% agarose gel에서 전기영동하여 유전자형을 분석하였다. 전기영동 결과, 139bp와 48bp의 band만 보이는 것을 Ile/Ile 유전자형, 139 bp와 120 bp, 48 bp의 band를 보이는 것을 Ile/Val 유전자형, 그리고 120 bp, 48 bp의 band를 보이는 것을 Val/Val 유전자형으로 분류하였다.

2.2.4.4. CYP2E1 유전자 다형성 분석

CYP2E1 유전자 다형성 분석을 위한 primer는 5'-CCA GTC GAG TCT ACA TTG TCA-3'과 5'-TTC ATT CTG TCT TCT AAC TGG CA-3'를 사용하였다. PCR은 94℃ 30초, 58℃ 30초, 72℃ 30초로 30회를 실시하였고, 증폭산물은 2% agarose gel에서 확인하였다. 확인된 PCR 산물 5 µl에 *RsaI*(Promega, USA)을 첨가하여 37℃에서 2시간 반응시켰고, 1.8% agarose gel에서 전기영동하여 유전자형을 분석하였다. 360 bp, 50 bp의 band를 보이는 것을 homozygous wild type (c1/c1), 410 bp와 360 bp, 50 bp의 band를 모두 보이는 것을 heterozygous mutant type (c1/c2), 그리고 410 bp의 band만 보이는 것을 homozygous mutant type (c2/c2)으로 분류하였다.

2.2.4.5. GSTP1 유전자 다형성 분석

GSTP1 유전자 다형성 분석은 Kristensen 등¹³⁾의 방법을 변형하여 실시하였다. primer로는 5'-TCC TTC CAC GCA CAT CCT CT-3'과 5'-AGC CCC TTT CTT TGT TCA GC-3'을 사용하였고, 94℃ 1분, 63℃ 1분, 72℃ 1분으로 하여 30회 증폭하였다. 증폭된 산물은 2% agarose gel에서 확인하였고, PCR 산물 3 µl에 *Alw26I*(Promega, USA)을 첨가하여 37℃에서 하룻밤동안 digestion 시킨 후, Ile 105→Val 105(A→G) 치환을 2.5% agarose gel에서 전기영동하여 분석하였다. 두 대립유전자가 모두 치환되지 않아 제한 인식부위가 없어서 294 bp band만 보이는 것을 AA type, 한 대립유전자에만 인식부위가 있어서 294 bp와 234 bp, 60 bp의 band를 모두 보이는 것을 AG type, 그리고 두 대립유전자 모두 인식 부위가 있어서 234 bp와 60 bp의 band를 보이는 것을 GG type 유전자형으로 분류하였다.

2.2.4.6. NAT2 유전자 다형성 분석

1990년 이전까지는 NAT 활성도를 측정하기 위하여 HPLC를 이용하여 분석하는 방법을 사용하였는데 Deguchi 등¹⁴⁾이 NAT 유전자에 대한 PCR-

RFLP 방법을 개발하여 그 결과가 NAT의 표현형과 90% 이상 일치함을 확인하였다. 본 연구에서도 이 방법으로 NAT의 유전자형을 조사하였다. primer는 5'-TGA CGG CAG GAA TTA CAT TGT C-3'과 5'-ACA CAA GGG TTT ATT TTG TTC C-3'을 사용하였고, 94℃ 30초, 63℃ 30초, 72℃ 30초로 하여 35회 증폭시켰다. 증폭된 산물 2 µl에 *BamHI*(Promega, USA)과 *KpnI*(Promega, USA)을 함께 넣어 37℃에서 하룻밤 반응시켰다. 그리고 동일한 PCR 산물에 *TaqI*(Promega, USA)을 첨가하여 65℃에서 하룻밤 반응시킨 후, 2% agarose gel에서 전기영동하여 분석하였다. 두 번의 제한효소 처리결과를 바탕으로 대립유전자 유형을 구분하고 이 대립유전자의 유형을 근거로 NAT2 acetylation 활성도를 slow, intermediate 그리고 rapid로 판정하였다.

2.3. 통계분석

연구대상자들의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도가 한쪽으로 치우치는 분포를 하였으므로 대수변환한 값을 이용하여 분석하였다. 먼저 요중 크레아티닌으로 보정한 1-OHP와 2-naphthol 농도의 기하평균과 범위를 제시하였다. GSTM1, GSTT1, GSTP1의 유전자 다형성과 설문지를 통해 조사된 하루흡연량, 흡연기간, 알콜섭취량, 주당 음주회수 및 음주기간 그리고 체질량지수(body mass index, kg/m², 이하 BMI), 체지방량, 지방섭취량과 1-OHP 및 2-naphthol 농도사이의 관련성을 알아보기 위해 Student's t-test를 시행하였으며, BMI, 체지방량, 지방섭취량은 중앙값을 기준으로 두 군으로 구분하였다. CYP2E1, CYP1A1, NAT2 유전자의 다형성, 연령, 흡연 및 음주행태와 1-OHP 및 2-naphthol의 농도사이의 관련성 평가를 위해서 일원분산분석법(one-way ANOVA)을 시행하였다. 또한 각 인자들의 영향을 보정한 상태에서 관련성을 평가하기 위해 다중회귀분석(multiple linear regression)을 실시하였다. 통계분석에는 SPSS 11.0을 사용하였으며 통계학적 유의수준은 0.05로 하였다.

3. 결 과

3.1. 연구 대상자들의 일반적 특성

연령별 분포는 50대가 62.3%(160명)으로 가장 많았고, 60대, 70대 이상의 순으로 분포하였으며, 대상자 중 비흡연자는 29.6%(76명) 그리고 흡연자가 39.3%(101명)이었다. 흡연자 중 하루 담배 소비량이 20개피 미만인 군이 42.6%(43명), 20개피 이상 피운다는 군이 57.4%(58명)였으며 흡연기간이 30년 이하인 군이 45.2%(47명), 30년 초과인 군이 53.5%(54

명)로 나타났다. 비음주군이 19.5%(50명), 음주군이 69.6%(179명)으로 음주군이 비음주군에 비해 3.6배 정도 많았다. 음주군 중 하루 음주량이 소주 1병 미만인 군이 30.7%(55명), 1병 이상을 마신다는 군이 35.2%(63명)였으며, 음주회수는 주 2회 이하로 마신다는 군이 33%(59명), 주 3회 이상 마신다는 군이 33.5%(60명)로 나타났다. 음주기간이 30년 이하인 군이 50.8%(91명), 30년을 넘는다는 군이 49.2%(88명)로 비슷한 분포를 이루고 있었으며, 지방과 관련된 조사대상자들의 신체적 특징은 평균 체지방지수(BMI)가 24.12±2.89 kg/m², 평균 체지방량과 평균 지방섭취량이 각각 21.40±2.89 kg, 43.68±14.87 g이었다(Table 1 참조).

3.2. 연구대상자들의 요중 1-OHP와 2-naphthol의 배설량

대상자에서 크레아티닌을 보정한 요중 1-OHP 농도는 산술평균은 0.0178±0.0332 μmol/mol creatinine, 기하평균은 0.0053 μmol/mol creatinine이었다. 2-naphthol의 농도는 산술평균이 0.4161±0.6661 μmol/mol creatinine, 기하평균이 0.1108 μmol/mol creatinine로 그 범위는 각각 0~0.3908 μmol/mol creatinine, 0~5.0762 μmol/mol creatinine이었다. 절대량으로 볼 때 2-naphthol이 2배정도 높게 나타났다(Table 2 참조).

3.3. 연구대상자들의 유전자다형성에 따른 요중 1-OHP와 2-naphthol 배설량

요중 1-OHP 농도는 GSTM1이 결손된 경우에 다

른 유전자형에 비해 유의하게 높았다(p=0.034). GSTT1, GSTP1, NAT2, CYP1A1 그리고 CYP2E1 유전자형과 요중 1-OHP 농도사이에는 모두 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Table 3 참조).

요중 2-naphthol의 농도와 각각의 유전자 다형성과의 관련성에서는 GSTM1 유전자가 존재하는 경우 평균 요중 2-naphthol 농도가 결손된 경우에 비해 다소 높았으나 통계적으로 유의하지 않았다. GSTT1, GSTP1, NAT2, CYP1A1 유전자형과 요중 2-naphthol의 농도사이에도 유의적인 차이는 없었다. 또한 CYP2E1 유전자형이 c1/c2형인 경우에는 다른 유전자형에 비해 요중 2-naphthol 농도가 가장 높았으나 통계학적 유의한 상관성은 나타나지 않았다(Table 4 참조).

3.4. 연구대상자들의 일반적 특성에 따른 요중 1-OHP와 2-naphthol 배설량

연령과 요중 1-OHP 배설량과의 관련성은 50대 이하 연령군의 기하평균이 다소 높고, 연령이 증가할수록 감소하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 흡연행태와 요중 1-OHP 배설량과의 관련성에서는 비흡연군에 비하여 흡연군이 약 3.5배 높게 나타났으며 통계학적으로도 유의한 상관관계를 보였다(p=0.001). 하루담배 소비량이 20개피 이상인 군이 20개피 미만인 군에 비하여 1-OHP의 배설량이 2배 정도 높았으나 유의한 상관성은 나타나지 않았다. 그리고 흡연기간에 따른 요중 1-OHP 배설량에도 거의 차이가 없었다.

Table 1. General characteristics of the study subjects

Variables	Mean (SD)	Range
Age (years)	58.3 (6.07)	50 ~ 80
Amount of smoking (cigarettes/day)	16.6 (7.00)	1 ~ 50
Duration of smoking (years)	32.4 (8.23)	3 ~ 60
Amount of alcohol intake at one time (bottle)	0.9 (0.52)	0.13 ~ 3.0
Frequency of alcohol drinking (/week)	2.6 (1.51)	0.25 ~ 7.0
Duration of alcohol drinking (years)	32.5 (9.52)	2 ~ 55
Body mass index (kg/m ²)	24.1 (2.89)	16.8 ~ 31.1
Body fat mass (kg)	21.4 (4.67)	8.7 ~ 33.0
Intake of fat (g/day)	43.7 (14.87)	9.4 ~ 85.4

Table 2. The mean concentrations of urinary 1-hydroxypyrene (1-OHP) and 2-naphthol

(unit: μmol/mol creatinine)

Metabolites	No.	AM	SD	GM	Range
1-OHP	257	0.0178	0.0332	0.0053	0~0.3908
2-naphthol	257	0.4161	0.6661	0.1108	0~5.0762

AM: arithmetic mean SD: standard deviation GM: geometric mean

Table 3. The mean concentrations of urinary 1-hydroxypyrene by genetic polymorphisms
(unit: $\mu\text{mol/mol}$ creatinine)

Genotypes	No.(%)	Geometric mean	Range	Ratio of geometric mean	p-value*
GSTM1					
Undeleted	105 (40.9)	0.0031	0 ~ 0.1503	1.0	0.034
Deleted	152 (59.1)	0.0064	0 ~ 0.3908	2.065	
GSTT1					
Undeleted	115 (44.7)	0.0056	0 ~ 0.1332	1.0	0.330
Deleted	142 (55.3)	0.0041	0 ~ 0.3908	0.732	
GSTP1					
AA	167 (65.0)	0.0049	0 ~ 0.3908	1.0	0.838
AG, GG	90 (35.0)	0.0046	0 ~ 0.1284	0.939	
NAT2					
Rapid	138 (53.6)	0.0045	0 ~ 0.1332	1.0	0.813
Intermediate	96 (37.4)	0.0054	0 ~ 0.1503	1.200	
Slow	23 (9.0)	0.0042	0 ~ 0.3908	0.933	
CYP1A1					
Ile/Ile	136 (53.0)	0.0045	0 ~ 0.3908	1.0	0.770
Ile/Val	103 (40.0)	0.0046	0 ~ 0.1503	1.022	
Val/Val	18 (7.0)	0.0049	0 ~ 0.0938	1.089	
CYP2E1					
c1/c1	161 (62.7)	0.0045	0 ~ 0.3908	1.0	0.920
c1/c2	84 (32.7)	0.0056	0 ~ 0.1284	1.244	
c2/c2	12 (4.6)	0.0030	0 ~ 0.3616	0.667	

*p-value was calculated by t-test or test for linear trend.

Table 4. The mean concentrations of urinary 2-naphthol by genetic polymorphisms
(unit: $\mu\text{mol/mol}$ creatinine)

Genotypes	No.(%)	Geometric mean	Range	Ratio of geometric mean	p-value*
GSTM1					
Undeleted	105 (40.9)	0.0945	0 ~ 3.0862	1.0	0.676
Deleted	152 (59.1)	0.1130	0 ~ 5.0762	1.196	
GSTT1					
Undeleted	115 (44.7)	0.1062	0 ~ 3.0862	1.0	0.964
Deleted	142 (55.3)	0.1042	0 ~ 5.0762	0.981	
GSTP1					
AA	167 (65.0)	0.1219	0 ~ 3.0862	1.0	0.379
AG, GG	90 (35.0)	0.0798	0 ~ 5.0762	0.655	
NAT2					
Rapid	138 (53.6)	0.1146	0 ~ 3.5214	1.0	0.560
Intermediate	96 (37.4)	0.1016	0 ~ 5.0762	0.887	
Slow	23 (9.0)	0.0719	0 ~ 1.1360	0.627	
CYP1A1					
Ile/Ile	136 (53.0)	0.1274	0 ~ 5.0762	1.0	0.224
Ile/Val	103 (40.0)	0.0942	0 ~ 3.5214	0.739	
Val/Val	18 (7.0)	0.0457	0 ~ 2.5509	0.359	
CYP2E1					
c1/c1	161 (62.7)	0.0891	0 ~ 5.0762	1.0	0.438
c1/c2	84 (32.7)	0.1479	0 ~ 3.5214	1.660	
c2/c2	12 (4.6)	0.0879	0 ~ 1.0389	0.987	

*p-value was calculated by t-test or test for linear trend.

일반인구에서 유전자 다형성이 요중 1-hydroxypyrene 및 2-naphthol의 배설량에 미치는 영향

알콜섭취 유무와 요중 1-OHP의 배설량과의 관련성은 비음주군이 오히려 높게 나타났고 통계적으로도 유의적인 차이를 나타내었다(p=0.034). 1회 평균 음주량이 소주 1병 이상인 군과 주 음주회수가 3회 이상인 군이 1-OHP의 농도는 높게 나타났으나 유의한 상관관계는 관찰되지 않았다. 또한 음주기간에 따른 요중 1-OHP 배설량의 차이도 통계학적으로 유의하지 않았다(Table 5 참조).

요중 2-naphthol의 배설량과 연령과의 관련성은 50대 연령군의 기하평균이 가장 낮았고, 70대 이상 연령군의 기하평균이 0.2899 $\mu\text{mol/mol creatinine}$ 으로 3배정도 높게 나타났다. 이러한 결과는 1-OHP의 배설량과는 대조적인 경향으로, 통계학적으로 유의한 상관관계는 나타나지 않았다. 흡연행태와 2-naphthol의 배설량과의 관련성에서는 비흡연군에 비하여 흡연군이 5배정도 높게 나타났으며 통계학

적으로도 유의한 차이를 보였다(p=0.001).

그러나 하루담배 소비량이 20개피 이상인 군, 흡연기간이 30년 이상인 군이 2-naphthol의 농도는 다소 높게 나타났으나 유의한 상관성은 없었다. 또한 음주행태, 일평균음주량, 주음주회수, 그리고 음주기간과 2-naphthol 농도와의 관련성에서도 모두 유의한 상관관계가 나타나지 않았다(Table 6 참조).

3.5. 연구대상자들의 신체적 특성에 따른 요중 1-OHP와 2-naphthol의 배설량

지방과의 관련인자로서 체질량지수, 체지방량 그리고 지방섭취량과 요중 1-OHP 및 2-naphthol의 배설량과의 관련성은 각 변수의 중앙값을 기준으로 상관성을 비교했을 때 중앙값보다 높은 군에서 다소 농도가 높게 나타났으나 모두 유의한 상관관계는 관찰되지 않았다(Table 7 참조).

Table 5. The mean concentrations of urinary 1-hydroxypyrene by general characteristics

(unit: $\mu\text{mol/mol creatinine}$)					
Variables	No.	Geometric mean	Range	Ratio of geometric mean	p-value*
Age (years)					
50-59	160	0.0052	0~0.3908	1.0	0.568
60-69	79	0.0045	0~0.1332	0.865	
≥70	18	0.0041	0~0.1250	0.788	
Smoking status					
Non smoker	76	0.0027	0~0.1503	1.0	0.001
Ex smoker	80	0.0034	0~0.1284	1.259	
Current smoker	101	0.0094	0~0.3908	3.481	
Amount of smoking (cigarettes/day)					
<20	43	0.0062	0~0.0828	1.0	0.079
≥20	58	0.0128	0~0.3908	2.065	
Duration of smoking (years)					
≤30	47	0.0095	0~0.3908	1.0	0.980
>30	54	0.0094	0~0.1332	0.989	
Alcohol Drinking					
Non drinker	50	0.0099	0~0.1284	1.0	0.034
Ex drinker	28	0.0039	0~0.1332	0.394	
Current drinker	179	0.0039	0~0.3908	0.394	
Amount of alcohol intake at one time					
Less than one bottle of Soju	55	0.0026	0~0.1332	1.0	0.279
One bottle of Soju or more	63	0.0045	0~0.1284	1.731	
Frequency of alcohol drinking (/week)					
Two times or less	59	0.0019	0~0.1332	1.0	0.047
Three times or more	60	0.0052	0~0.1503	2.737	
Duration of alcohol drinking (years)					
≤30	91	0.0062	0~0.3908	1.0	0.029
>30	88	0.0025	0~0.1332	0.403	

*p-value was calculated by t-test or test for linear trend.

Table 6. The mean concentrations of urinary 2-naphthol by general characteristics (unit: $\mu\text{mol/mol}$ creatinine)

Variables	No.	Geometric mean	Range	Ratio of geometric mean	p-value*
Age (years)					
50-59	160	0.0861	0~5.0762	1.0	0.138
60-69	79	0.1247	0~3.5214	1.448	
≥ 70	18	0.2399	0~2.5509	3.367	
Smoking status					
Non smoker	76	0.0498	0~2.5509	1.0	0.001
Ex smoker	80	0.0677	0~3.0157	1.360	
Current smoker	101	0.2607	0~5.0762	5.235	
Amount of smoking (cigarettes/day)					
<20	43	0.2251	0~3.5214	1.0	0.582
≥ 20	58	0.2941	0~3.5214	1.307	
Duration of smoking (years)					
≤ 30	47	0.1823	0~5.0762	1.0	0.188
>30	54	0.3559	0~3.0862	1.952	
Alcohol drinking					
Non drinker	50	0.0879	0~2.8809	1.0	0.727
Ex drinker	28	0.1155	0~3.5214	1.314	
Current drinker	179	0.1088	0~5.0762	1.238	
Amount of alcohol intake at one time					
Less than one bottle of Soju	55	0.0759	0~3.0862	1.0	0.892
One bottle of Soju or more	63	0.0689	0~5.0762	0.908	
Frequency of alcohol drinking (/week)					
Two times or less	59	0.0509	0~5.0762	1.0	0.332
Three times or more	60	0.1011	0~3.0862	1.986	
Duration of alcohol drinking (years)					
≤ 30	91	0.1065	0~5.0762	1.0	0.930
>30	88	0.1112	0~3.0862	1.044	

*p-value was calculated by t-test or test for linear trend.

Table 7. The mean concentrations of urinary 1-hydroxypyrene (1-OHP) and 2-naphthol according to physical characteristics and fat intake (unit: $\mu\text{mol/mol}$ creatinine)

Metabolites	Variables*	No.	Geometric mean	Range	Ratio of geometric mean	p-value**
1-OHP	Body mass index (kg/m^2)					
	<24.16	128	0.0047	0~0.1284	1.0	0.890
	≥ 24.16	129	0.0049	0~0.3908	1.043	
	Body fat mass (kg)					
	<21.70	127	0.0045	0~0.3908	1.0	0.817
	≥ 21.70	129	0.0049	0~0.1332	1.089	
Intake of fat (g/day)						
<43	129	0.0040	0~0.3908	1.0	0.299	
≥ 43	128	0.0056	0~0.1503	1.400		
2-naphthol	Body mass index (kg/m^2)					
	<24.16	128	0.0988	0~3.5214	1.0	0.772
	≥ 24.16	129	0.1116	0~5.0762	1.130	
	Body fat mass (kg)					
	<21.70	127	0.0933	0~3.5214	1.0	0.580
	≥ 21.70	129	0.1181	0~5.0762	1.266	
Intake of fat (g/day)						
<43	129	0.0987	0~2.8818	1.0	0.768	
≥ 43	128	0.1118	0~5.0762	1.133		

*Categorized by median value

**p-value was calculated by t-test.

3.6. 요중 1-OHP와 2-naphthol의 배설량에 영향을 미치는 인자

이상의 결과에서 유의성을 나타낸 변수들은 각 인자의 영향이 복합적으로 작용해서 요중 대사산물의 농도에 영향을 미칠 가능성이 있다. 따라서 그러한 영향을 배제하기 위하여 1-OHP와 2-naphthol의 배설량을 종속변수로 하고 GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT2, CYP2E1, CYP1A1, 연령, 체지방량, 지방섭취량, 흡연여부, 그리고 음주여부의 변수를 모형에 넣어 다중회귀분석을 시행한 후 회귀계수와 표준오차를 이용하여 median ratio와 95% 신뢰구간을 구하였다.

1-OHP의 배설량에 영향을 미치는 인자로는 흡연(p=0.04), 음주(p=0.02) 그리고 GSTM1의 유전자다형성(p=0.061)이었으며, 2-naphthol의 배설량에 영향을 미치는 인자는 흡연(p=0.03)으로 나타났다. 흡연자의 1-OHP 배설량의 중위수는 비흡연자의 약 2.1배(95% 신뢰구간: 1.04~4.06)였으며, 음주자의 1-OHP의 배설량의 중위수는 비음주자의 약 0.4배(95% 신뢰구간: 0.18~0.86)로 나타났다. 흡연자의 2-naphthol의 배설량의 중위수는 2.8배(95% 신뢰구간: 1.11

~7.27)이었다(Table 8 참조).

4. 고찰

PAHs와 같은 환경오염물질의 노출을 평가하고자 하는 연구에서는 절대적 노출량이 다른 노출원에 비해 적은 경우가 많아 평가에 어려움이 따른다. 또한 오염물질의 발생원으로부터 인체에 노출, 흡수, 대사, 배출되는 과정에는 각 단계별로 많은 변이(variation)가 있음이 알려져 있다. 그러므로 이러한 다양한 변이에도 불구하고 어떤 오염물질과 오염지표 간에 관련성이 나타날 경우, 이들 간에는 실제로 나타난 관련성보다 더 강한 관련성이 있음을 시사하는 결과로 해석할 수 있다. GSTM1은 benzo[a]pyrene(Bap)과 같은 PAHs, mycotoxin과 aflatoxin을 해독하는데 관여하므로, 이 효소의 결핍형이 흡연과 관련된 각종 암에 걸릴 위험이 큰 것으로 알려져 있다¹⁵⁾.

그리고 GSTM1이 결핍되어 있는 경우에는 반응성이 강한 대사산물들이 GSH와 결합하지 않은 상태로 소변을 통해 배설되면서 요로계를 포함한 전신에 암발생 작용을 나타낼 것으로 추측하였다. GSTT1은 분자량이 작은 탄화수소류, ethylene oxide,

Table 8. Median ratio in urinary 1-hydroxypyrene (1-OHP) and 2-naphthol concentrations according to selected variables*

Metabolites	Variables	Median ratio	95% CI	p-value
1-OHP	GSTM1 (deleted/undeleted)	1.832	0.974 ~ 3.447	0.061
	GSTT1 (deleted/undeleted)	0.700	0.377 ~ 1.299	0.260
	GSTP1 (mutant/wild)	0.933	0.492 ~ 1.771	0.834
	NAT2 (mutant/wild)	1.097	0.583 ~ 2.063	0.777
	CYP2E1 (mutant/wild)	1.151	0.615 ~ 2.155	0.663
	CYP1A1 (mutant/wild)	1.140	0.617 ~ 2.110	0.673
	Age (10 years)	0.778	0.465 ~ 1.301	0.337
	Smoking (ever/never)	2.056	1.040 ~ 4.064	0.040
	Drinking alcohol (ever/never)	0.396	0.182 ~ 0.861	0.020
	Body fat mass (high/low)**	1.114	0.592 ~ 2.096	0.735
	Intake of fat (high/low)**	0.834	0.447 ~ 1.554	0.508
2-naphthol	GSTM1 (deleted/undeleted)	1.050	0.441 ~ 2.496	0.915
	GSTT1 (deleted/undeleted)	1.059	0.453 ~ 2.475	0.894
	GSTP1 (mutant/wild)	0.752	0.312 ~ 1.812	0.525
	NAT2 (mutant/wild)	0.906	0.381 ~ 2.154	0.822
	CYP2E1 (mutant/wild)	1.445	0.610 ~ 3.423	0.403
	CYP1A1 (mutant/wild)	0.695	0.300 ~ 1.609	0.397
	Age (10 years)	1.734	0.857 ~ 3.506	0.127
	Smoking (ever/never)	2.845	1.113 ~ 7.273	0.030
	Drinking alcohol (ever/never)	1.172	0.404 ~ 3.401	0.770
	Body fat mass (high/low)**	1.057	0.444 ~ 2.514	0.901
	Intake of fat (high/low)**	1.265	0.532 ~ 3.008	0.596

*Based on a multiple linear regression model including all the listed variables as independent variables

**Categorized by median value

diepoxybutane과 유기용제를 해독하는데 관여하며 한국인의 경우 GSTT1유전자 결손율은 60.2%로 GSTT1역시 결손유전자가 있는 경우 흡연과 연관되어 염색체 손상을 일으킬 수 있다고 알려져 있다^{16,17}. Pyrene의 대사과정에서 이 유전형을 가지고 있는 undeleted type에서는 대사체의 양이 적게 나타나고, 이 유전형을 가지고 있지 않은 null type에서는 대사체의 양이 많이 나타나는 경향이 있다고 알려져 있는데¹⁸ 본 연구결과에서도 이와 같은 경향을 보였으나 1-OHP의 배설량만이 다소 유의미한 수준으로 나타났다. 대사효소의 유전자 다형성과 생체노출지표와의 관련성에 대한 기존의 연구들에 의하면, GSTM1/GSTT1과 pyrene의 대사산물인 1-OHP와의 연관성은 직접적 노출이 없는 군에서 GSTM1이 PAHs 대사산물의 배설량에 영향을 미친다는 보고도 있으며, 직업적으로 유해인자에 폭로된 후 PAH-DNA adduct의 농도에 GSTM1 null genotype이 관계한다는 보고도 있다^{16,19-21}. GSTP1 유전자도 phase II의 효소이므로 유해물질을 무독화시키는 역할을 한다¹⁸. 따라서 wild type (AA)에서는 대사체 양이 적게 나타나고 mutant type (AG, GG)에서는 대사체 양이 많이 나타나는 경향이 있는데 본 연구에서는 이와 반대의 경향을 보였으며, 통계적으로도 유의한 차이는 없었다.

N-아세틸화의 다형성은 arylamine계 약물들에 의한 치료반응과 독성발생에 영향을 주기 때문에 임상적으로나 독성학적으로 매우 중요한 의미를 지닌다. 그리고 NAT2 유전자는 발암물질의 대사에도 중요한 역할을 하므로 NAT 활성도의 다양성은 직업과 흡연에 관련된 질병의 개인적 감수성과도 관련성이 있다고 보고되고 있다^{22,23}. 본 연구에서 NAT2의 acetylation phenotype과 PAHs 대사산물의 배설량과의 관련성을 살펴 본 결과 slow acetylator는 rapid acetylator에 비하여 PAHs 대사산물의 배설량이 다소 적게 나타났고 유의성은 없었다. 한편 NAT2의 유전자다형성에서는 대립유전자의 점유율에 따라 상반된 결과가 보고되고 있다. Scales 등²⁴은 slow acetylator phenotype은 rapid acetylator에 비하여 독성물질의 protective acetylation 과정이 천천히 일어나서 독성대사산물이 많이 증가하는 것으로 보고하였다. 특히 대립유전자(allele) 4를 갖는 경우에는 대부분 아세틸화 속도가 가장 낮은 범위에 속하는데 동양인의 경우 이 유전자형의 점유율이 아주 낮다. 본 연구결과에서도 NAT2의 유전자다형성 분포에서 slow acetylator의 분포는 약 8.9%로 아주 낮은 점유율을 보였는데 Scales 등의 연구대상자들의 93%가 이에 해당하는 유전자형을 가진 것과 비교해 보면 인종적 차이나 시료수의 부족에서 나타난 결

과라고 추측할 수 있다^{21,23,24}.

본 연구에서 GSTT1, GSTP1, 그리고 NAT2의 유전자다형성은 요중 1-OHP 및 2-naphthol의 배설량에 유의한 영향을 미치지 않았다. 그 이유를 노출 경로 면에서 유추해 보면 pyrene은 호흡기와 소화기 뿐만 아니라 피부를 통해서도 잘 흡수되는데 비해 naphthalene은 거의 대부분 호흡기를 통하여 흡수되는 PAHs이다. 따라서 비직업적으로 저농도에 노출되는 일반인구에서는 상대적으로 다양한 경로를 통해 흡수될 수 있는 pyrene의 양이 더 높을 수 있다. 그러므로 다른 GSTs에 의해 PAHs의 접합이 더 많이 이루어졌을 가능성이 있고, 또는 uridine diphosphate glucuronyl transferase (UDGT)나 sulfotransferase (STs)가 가장 중요한 역할을 하는 2상 효소이므로 이들에 비하여 상대적으로 적은 부분만이 본 연구에서 살펴본 GSTs에 의해서 접합이 이루어졌기 때문으로 생각된다. Phase I 약물대사효소로서 CYP1A1효소는 한국성인 남성에서는 Ile/Ile 유전자형이 가장 많아서 전체의 54.58%를 차지하고 Ile/Val 유전자형이 41.25%, 그리고 Val/Val 유전자형은 매우 적어서 전체의 4.17%만이 이 유전자형에 해당한다¹⁶. 이 유전자는 흡연시 발생하는 중요한 발암원으로 여겨지고 있는 benzo(a)pyrene의 활성화에 관여하고 있으며, 변형된 *MspI* 부위가 존재시 이 부위에 위치한다고 생각되는 CYP1A1 유전자의 전사조절부위에 장애가 생겨 비정상적으로 많이 유도됨으로서 흡연으로 인한 위험이 높아진다고 알려져 있다^{25,26}.

CYP2E1은 인간이 일생을 통하여 지속적으로 노출되는 강력한 발암물질인 N-nitrosodimethylamine (NDMA)을 대사시킬 수 있는 유일한 효소로서 alcohol, aldehyde와 ketone, 방향족탄화수소 및 할로젠화 물질 등에 의해서 유도되고 특히, 작은 분자량을 가진 물질의 대사에 관여한다. 만성적인 알코올의 섭취로 인해 그 활성도가 증가된다고 알려져 있으며, 5'-flanking 부위에 존재하는 *PstI* 또는 *RsaI* 다형성과 intron 6에 위치하는 *DraI* 다형성이 알려져 있다²¹. 본 연구에서 요중 1-OHP 및 2-naphthol의 배설량과 CYP1A1, CYP2E1의 유전자다형성간에는 통계적으로 유의한 관련성이 나타나지 않았다. 그러나 유전자다형성에 따른 요중 대사산물의 농도는 야생형보다 변이형에서 다소 높게 나타났다. 즉 요중 1-OHP의 배설량은 CYP1A1의 경우 변이가 일어난 유전자형 (Ile/Val, Val/Val)에서 대사산물의 농도가 다소 높게 나타났고, CYP2E1의 경우에는 오히려 배설량이 감소하는 경향을 나타내었다. 요중 2-naphthol의 배설량과 이 유전자들의 다형성과의 관련성에서는 반대의 결과로 나타났다. 김 등¹⁶은

낮은 노출 수준의 인구집단에서 1-OHP의 배설량은 CYP1A1 유전자의 다형성에 의해 영향을 받으며, 2-naphthol의 배설량은 CYP2E1 유전자의 다형성이 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 또한 Yang 등²⁶⁾의 연구에 의하면 요중 2-naphthol의 배설량은 CYP1A1의 유전자다형성과는 관련이 없다고 하였다. 이러한 사실들을 종합해보면, 먼저 PAHs에 의해 유전자가 비정상적으로 많이 유도되어 발암성 중간대사산물의 대사가 증가했기 때문이라고 유추할 수 있으며 이 과정에서 CYP1A1은 분자량이 큰 PAHs의 대사에 관여하지만, 분자량이 작은 PAHs의 대사에는 CYP2E1 등의 효소가 더 중요한 역할을 한다고 볼 수 있다. 그러나 본 연구에서의 대상자수가 작아서 실제로 나타날 수 있는 관련성이 유의하게 나타나지 않았을 가능성도 배제할 수 없다.

직업적 노출이 없거나 극히 적은 PAHs 노출을 갖는 집단에 대한 연구는 이 등²⁷⁾이나 강 등²⁸⁾ 그리고 Kim 등²⁹⁾ 연구가 있으나 아직까지는 희박한 실정이다. 본 연구결과에서 1-OHP의 배설량은 연령이 증가할수록 감소하였으며 2-naphthol의 배설량은 이와 반대의 경향을 나타내었다. 연령에 따른 PAHs 대사산물 배설량의 유의한 차이는 연령에 따른 약물 대사과정의 차이가 PAHs 대사산물의 배설량 차이로 나타난 것으로 추정할 수도 있다. 그러므로 직업적 노출이 없거나 극히 적은 PAHs에 노출된 집단을 대상으로 한 연구들에서 요중 1-OHP와 2-naphthol의 배설량을 비교하기 위해서는 연구대상자들의 연령에 대한 고려가 필요할 것으로 생각되나 현재까지 방향족 탄화수소의 소화기나 호흡기를 통한 대사 및 약물 역동학적 특성이 명확히 규명된 것이 없으므로, 정확한 PAHs의 대사특성을 규명하여 배설량 차이를 설명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것이다.

일반인구집단에서 PAHs의 중요한 노출원은 흡연이다²⁷⁻²⁹⁾. 본 연구결과에서 흡연유무에 따른 요중 1-OHP 배설량의 기하평균은 흡연자가 비흡연자에 비해 3.5배, 2-naphthol 배설량의 평균은 5.2배 정도 높게 나타났다. 두 지표 모두 하루에 1갑 이상을 피우는 군에서 배설량의 증가경향을 보였으며, 하루 한 갑 미만의 흡연자에 비해 하루 1갑 이상을 피우는 사람에서는 1-OHP의 배설량이 2배, 2-naphthol의 배설량은 1.3배 정도 증가하였다. 그러나 흡연기간에 따른 PAHs 배설량의 관련성에서는 2-naphthol의 경우 약 2배 정도 높게 나타났으나 유의한 차이는 나타나지 않았다. 이는 흡연자의 흡연습관(깊이 들이마시는 정도, 버리는 풍초의 길이, 흡연간격 등), 전날의 음주 여부 등 여러 가지 변수가 작용하는 것으로 판단된다. 음주가 1-OHP의 배설량에 미

치는 영향에 대해서 Jongeneelen 등⁴⁰⁾은 pyrene 대사와 관계가 없다고 보고한 반면에 Wu 등³⁰⁾은 과음을 하는 코크스로 근로자들에서 그렇지 않은 근로자보다 요중 1-OHP의 배설량이 낮게 나타나 음주가 벤젠가용물의 독성역동경로를 변화시킬 것이라고 하였다. 2-naphthol의 배설량과 음주행태는 음주유무, 1회 평균 음주량, 음주기간, 주당 음주회수 등 음주관련의 모든 인자에서 통계적 유의성이 관찰되지 않았다. 이러한 상반된 결과에 대해 pyrene은 날 음식이나 요리가 된 음식에 포함되어 있고, naphthol의 전구물질인 naphthalene은 약간의 예외를 제외하면 음식에는 아주 소량이 들어 있는 것으로 알려져 있으므로 음주시 동반되는 안주 등의 식이 때문에 음주와 요중 1-OHP와 2-naphthol의 배설량간의 관련성에 있어서 상반된 결과가 나타날 수도 있지만, 알콜이 naphthalene의 체내 흡수에 영향을 미치는지에 대해서는 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다. Pyrene과 naphthalene의 체내 흡수경로는 호흡기에 의한 흡입뿐 만 아니라 피부를 통해서도 이루어지며 소변내 1-OHP와 2-naphthol의 배설량은 이를 모두 반영하는 것으로 알려져 있다^{23,28)}. 일반적으로 음식물을 통한 노출이 전체의 약 99%를 차지하나 음식물 섭취에 의한 노출정도는 개개인의 식습관과 요리방식, 음식물의 원료에 따라 달라지게 되므로 여러 경로 중에서 가장 불확실성이 큰 것으로 평가되고 있다. 따라서 본 연구에서 체질량지수와 1-OHP, 2-naphthol의 배설량과의 관련성을 살펴본 결과, 체질량지수가 큰 군에서 두 농도 모두 높게 나타났으나 통계적으로 유의한 관련성은 관찰할 수가 없었다. 이러한 결과 역시 직업적으로 노출되는 집단에 비하여 노출량이 너무 작아 노출량의 범위가 좁다고 하는 제한점과 함께 실내 공기오염과의 관련성에 대한 분석도 필요할 것으로 생각된다.

한편, PAHs는 물에는 불용성이나 지방이나 기름에는 가용성이기 때문에 체내에서 특히 지방농도가 높은 조직에 축적되는 특성이 있다고 알려져 있다^{31,32)}. 이 등³²⁾은 식품 중 PAHs의 위해성을 평가한 연구에서 식용유지의 경우, PAHs의 오염도가 다른 육류 식품보다 높은 농도를 나타내었고, 1일 평균 섭취량은 매우 적으나 오염수준이 높아 체내 흡수량이 높게 나타났다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서는 체지방량 및 지방섭취량과 요중 1-OHP 및 2-naphthol 배설량과의 상관성을 살펴보았다. 그 결과 체지방량과 지방섭취량이 중앙값보다 높은 군에서 1-OHP, 2-naphthol 배설량이 다소 높게 나타났으나 통계학적인 유의성은 없었다. 이러한 결과는 설문조사를 통해 정확한 식이를 측정하기 어렵다는 제한점과 함께, 지방섭취량을 정량화 및 범주화한다는

것이 매우 어렵기 때문에 실제 노출량 측정에서의 오차로 인해 나타난 결과인지, 아니면 육식보다는 채식 위주의 식이습관의 변화로 PAHs의 노출에 영향을 받지 않기 때문인지에 대해서는 더 연구할 필요가 있을 것이다.

5. 결 론

이상의 결과에서 PAHs는 매우 다양한 화학물질로 이루어진 물질군이기 때문에 각각의 PAH가 서로 다른 대사효소의 영향을 받을 가능성이 높고 또한 본 연구에서 건강검진 수진자들을 대상으로 하였으므로 그 결과를 일반인구집단에 그대로 적용하기에는 제한점이 따를 수 있으나, 직업적으로 PAHs에 노출되지 않은 일반인구에서 비직업적 노출량에 대한 참고치를 제시할 수 있을 것으로 생각된다. 결론적으로 비교적 소량의 PAHs에 노출되는 일반인구에서 요중 1-OHP 및 2-naphthol의 배설량에 가장 큰 영향을 미치는 인자는 흡연이었으며 요중 1-OHP의 배설량은 음주여부, GSTM1 유전자의 다형성에 의해서도 영향을 받을 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

- 1) Menzie, C. A., 1992, Ambient concentrations and exposure to carcinogenic PAHs in the environment, *Environmental Science and Technology*, 26(7), 1278-1284.
- 2) Hemminki, K., 1990, Environmental carcinogens. In: Cooper CS, Crover RL(eds) chemical carcinogenesis and mutagenesis, Raven Press, New York, U.S.A., (1), 33-62pp.
- 3) Wise, S. A., B. A. Benner, H. C. Liu, G. D. Byrd and A. Colmsjo, 1988, Separation and identification of polycyclic aromatic hydrocarbon isomers of molecular weight 302 in complex mixtures, *Anal. Chem.*, 60(7), 630-637.
- 4) Singh, R., M. Tucek, K. Maxa, J. Tenglerova and E. H. Weyand, 1995, A rapid and simple method for the analysis of 1-hydroxypyrene glucuronide: a potential biomarker for polycyclic aromatic hydrocarbon exposure, *Carcinogenesis*, 16(12), 2909-2915.
- 5) Tingle, M. D., M. Primohemed, E. Templeton, A. S. Wilson and S. Madden, 1993, An investigation of the formation of cytotoxic, geno-
toxic, protein-reactive and stable metabolites from naphthalene by human liver microsomes, *Biochem. Pharmacol.*, 46, 1529-1538.
- 6) Nerbert, D. W. and F. J. Gonzalez, 1987, P450 gene: structure, evaluation and regulation, *Ann. Rev. Biochem.*, 56, 945-993.
- 7) Ayesh, R., J. R. Idle, J. C. Ritchie, M. R. Crothers and M. J. Hetzel, 1984, Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer, *Nature*, 312, 169-170.
- 8) Perera, F. P., 1997, Environment and cancer: who are susceptible?, *Science*, 278, 1068-1073.
- 9) Raunio, H., K. Husgafvel-Pursiainen, S. Snttila, S. Anittila, E. Hietanen and A. Hirvonen, 1995, Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility-a review, *Gene*, 159, 113-121.
- 10) Jongeneelen, F. J., R. B. M. Anzion and P. T. Henderson, 1987, Detection of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine, *J. Chromatogr.*, 413, 227-232.
- 11) Kim, H., Y. D. Kim, C. H. Lee, T. Kawamoto, M. Yang and T. Katoh, 1999, Assay of 2-naphthol in human urine by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. B.*, 734(2), 211-217.
- 12) Chen, H., D. P. Sandler, J. A. Taylor, D. L. Shore, E. Liu, C. D. Bloomfield and D. A. Bell, 1996, Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1(GSTT1) gene defect, *Lancet*, 347, 295-297.
- 13) Kristensen, V. N., T. I. Andersen, B. Erikstein, G. Feitvik, E. Skovlund, J. M. Nesland and A. L. Brorrensen-Dale, 1998, Single tube multiplex polymerase chain reaction genotype analysis of GSTM1, GSTT1 and GSTP1, *Pharmacogenetics*, 8, 441-447.
- 14) Deguchi, T., 1992, Sequence and expression of alleles of polymorphic arylamine N-acetyltransferase of human liver, *J. Biol. Chem.*, 267, 8-40.
- 15) Ketterer, B., 1988, Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis, *Mutat. Res.*, 202, 343-361.
- 16) 김현, 김승택, 오태근, 1998, 한국인의 ACE, TNF-β, APOE, VDR, EDH17B2, CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NAT2 그리고 ALDH2 유전자 유형 분

- 포에 대한 조사연구, 보건복지부 최종보고서.
- 17) Pemble, S., K. R. Schroeder, S. R. Spencer, D. J. Meyer, E. Hallier and H. M. Bolt, 1994, Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism, *Biochem. J.*, 399, 271-276.
 - 18) 김대선, 김정현, 박재성, 강택신, 유승도, 차정훈, 안승철, 나진균, 황승률, 2003, 유해화학물질의 노출 및 영양지표분석기술에 관한 연구(II): PAHs를 중심으로, *국립환경연구원보*, 25, 47-60.
 - 19) Warholm, M., A. Alexandrie, J. Hgberg, K. Sigvardsson and A. Rannug, 1994, Polymorphic distribution of glutathione transferase activity with methylchloride in human blood, *Pharmacogenetics*, 40, 307-311.
 - 20) Ichiba, M., L. Hagmar and A. Rannug, 1994, Aromatic DNA adducts, micronuclei and genetic polymorphism for CYP1A1 and GSTM1 in chimney sweeps, *Carcinogenesis*, 15, 1347-1352.
 - 21) Gabbani, G., S. M. Hou, B. Nardini, M. Marchioro, B. Lambert and E. Clonfero, 1996, GSTM1 and NAT2 genotypes and urinary metabolites in coke oven workers, *Carcinogenesis*, 17, 1677-1681.
 - 22) Hein, D. W., M. A. Doll, T. D. Rustan and R. J. Ferguson, 1995, Metabolic activation of N-hydroxyarylamines and N-hydroxyarylamides by 16 recombinant human NAT2 allozymes: effects of 7 specific NAT2 nucleic acid substitutions, *Cancer Res.*, 55, 3531-3536.
 - 23) 김 현, 김원재, 이형래, 이무송, 김철환, 김로사, 남홍매, 1998, N-acetyltransferase2와 glutathione S-transferase mu 및 theta 다형성이 방광암 발생에 미치는 영향에 대한 환자-대조군 연구, *예방의학회지*, 31(2), 275-284.
 - 24) Scales, M. D. and J. A. Timbrell, 1982, Studies on hydrazine hepatotoxicity: 1. Pathological findings, *J. Toxicol. Environ. Health*, 10, 941-953.
 - 25) Nakaki, K., K. Imai, S. I. Hayashi and K. Kawajiri, 1993, Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population, *Cancer Res.*, 53, 2994-2999.
 - 26) Yang, M., M. Koga, T. Katoh and T. Kawamoto, 1999, A study for the proper application of urinary naphthols, new biomarker for airborne polycyclic aromatic hydrocarbons, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 36(1), 99-108.
 - 27) 이지나, 임종환, 박신구, 신주연, 이관희, 홍윤철, 김 현, 이철호, 2004, 흡연과 주거환경이 요증 2-naphthol 농도에 미치는 영향, *대한산업의학회지*, 16(1), 82-91.
 - 28) 강종원, 조수현, 김현, 강대회, 이철호, 2000, 일반 인구집단에 대한 대기중 총먼지의 생물학적 노출지표로서 요증 1-hydroxypyrene 및 2-naphthol의 유용성, *예방의학회지*, 33(3), 306-312.
 - 29) Kim, H., J. W. Kang, S. H. Cho, Y. D. Kim, H. M. Nam, C. H. Lee and T. Kawamoto, 2001, Urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations in male Korea, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 74, 59-62.
 - 30) Wu, M. T., K. T. Kelsey, I. F. Mao, D. Wypij and H. W. Liu, 1997, Elevated serum liver enzymes in coke oven and by-product workers, *J. Occup. Environ. Med.*, 39(6), 527-533.
 - 31) 이송권, 남철현, 노병의, 이영세, 조기현, 1997, 요증 1-OH-pyrene을 이용한 PAH환경근로자들의 노출평가 및 위생조치에 의한 총 노출량 감소효과, *한국산업위생학회지*, 7(2), 264-278.
 - 32) 이효민, 윤은경, 박경아, 김윤희, 정소영, 전기성, 김명철, 송인상, 이철호, 양지선, 양기화, 2003, 식품 중 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons의 위해성 평가, *한국식품위생안전성학회지*, 19(1), 1-8.