

The Relationship between the Urinary Arsenic and 8-Hydroxydeoxyguanosine Levels in Women of Abandoned Mine Area

Young-Sook Choi, Sang-Yong Eom, Byoung-Sun Choi¹, Jung-Duk Park¹, Yong-Dae Kim* and Heon Kim

Department of Preventive Medicine, Medical Research Institute & College of Medicine, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763,

¹Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungang University, Seoul 156-756, Korea

Received January 9, 2010 / Accepted April 20, 2010

This study examines the relationship between urinary arsenic concentration and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) concentrations, an index of oxidative DNA damage, among women who live near abandoned metal mines. The sample consisted of 165 residents living near two abandoned metal mines located in Chungbuk Province. Demographic characteristics as well as environmental factors relevant to arsenic exposure were collected through interviews, and urinary arsenic concentrations and urinary 8-OHdG concentrations of the research subjects were measured. The collected data were subsequently analyzed using the statistics program SPSS 12.0. The geometric average of urinary arsenic concentrations among the research subjects was 5.65 µg/g creatinine. In a correlation analysis between urinary arsenic and 8-OHdG concentrations, the correlation coefficient was significant ($p < 0.001$) at 0.399. This study suggests that urinary 8-OHdG concentrations may be a DNA damage marker for chronic arsenic exposure in women.

Key words : Arsenics, 8-hydroxydeoxyguanosine, oxidative stress, abandoned mine

서 론

비소는 자연계 또는 인위적인 사용에 의해 발생하는 금속원소로서 환경에 광범위하게 분포되어 있다[11]. 비소의 화학적 성질은 매우 복잡하여 다양한 비소 화합물이 생성되는데 산소, 염소, 황 등과 결합하고 있는 무기비소와 탄소 또는 수소와 결합하고 있는 유기비소로 분류되며, 인체독성은 무기비소가 유기비소에 비해 상대적으로 큰 것으로 알려져 있다[14].

비소는 수많은 철광석 및 비철광석에서 발견되며 공기와 음식, 제련업, 살충제와 지열발전소 등의 산업장에서도 발견된다[6]. 일반적으로 인체가 비소에 노출되는 가장 주요한 경로는 음용수와 식품의 오염을 통한 것이다[5]. 식품을 통한 노출은 수산물 중의 arsenobetaine, arsenocholine, 그리고 arsenosugars의 노출이 주를 이루는데, 이들 유기비소는 무기비소에 비해 독성이 낮고, 소변으로의 배설이 빠르기 때문에 인체에 미치는 영향이 적다고 알려져 있다[2,7]. 반면, 음용수를 통한 만성적인 비소 노출은 최근 전세계적인 문제로 대두되어 큰 주목을 받고 있다[1].

음용수 중의 비소는 대부분 무기비소 형태로 인체에 노출된다. 위장관을 통해 쉽게 체내로 흡수된 무기비소는 혈류를 따라 여러 장기에 분포되며, 주로 간에서 대사되어 소변으로 배설된다[4,9]. 아직까지 비소의 독성 기전은 명확히 밝혀지지 않고 있으나, 최근에 비소에 의한 독성기전, 특히 발암과

정이 체내에서의 산화적스트레스(oxidative stress) 발생과 관련이 있다는 연구결과들이 보고되어 주목 받고 있다[3,12]. 활성산소는 DNA에 직접 결합하여 single 또는 double strand DNA 손상, 결손 등의 돌연변이를 유발한다. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)은 활성산소에 의해 guanine이 산화된 형태로 매우 낮은 농도의 산화적 손상을 반영할 정도로 매우 민감해서 가장 많이 이용되는 산화적스트레스 지표 중 하나이다[13].

본 연구는 비소를 포함한 중금속에 비교적 오랜 기간 동안 노출되었을 것으로 생각되는 일부 폐금속광산 주변 지역의 주민들 중 여자들을 대상으로 이들의 요중 비소농도를 평가하고 비소의 노출정도와 산화적 유전자손상과의 관련성을 평가해 보고자 시행되었다.

재료 및 방법

연구 대상

본 연구는 충청북도에 소재하고 있는 두 군데의 폐금속광산 지역 주민 중 여성 주민 165명을 대상으로 실시하였다. 연구 대상자 중 본 연구에 참여하겠다는 동의를 작성한 사람을 대상으로 직접 면접조사를 실시하여 인구학적 특성과 비소노출과 관련된 인자들을 조사하였으며 대상자들의 일시뇨를 제공받아 -20°C에 보관하면서 실험에 이용하였다.

요중 비소 정량

요중 비소는 Hydride Generation System (FIAS 400)이 장착

*Corresponding author

Tel : +82-43-261-2845, Fax : +82-43-274-2965

E-mail : ydkim@chungbuk.ac.kr

된 원자흡광기분광광도계(Atomic absorption spectrometer, Perkin-Elmer Model 5100, USA)를 이용하여 hydride generation 방법으로 분석하였다. 채취한 소변은 HCl, ascorbic acid 및 KI를 2:2:1:1의 비율로 혼합하여 1시간 반응시킨 후 10% HCl로 희석하여 분석에 이용하였다. 환원제로는 0.2% NaBH₄와 0.5% NaOH를, 이동상은 3% HCl, 운반가스는 argon을 각각 사용하였다. 표준 시료(Lyphocheck[®] Urine Metals Control, Bio-Rad, USA)를 이용하여 요중 비소 분석에 있어서의 정확성을 도모하였다. 희석액에 함유된 비소의 농도는 시료와 동일한 방법으로 희석한 소변에 비소표준용액을 첨가하여 얻은 표준검량곡선으로부터 산출하였다.

요중 8-OHdG 농도 측정

대상자의 요중 8-OHdG 농도는 시판되는 ELISA kit (8-OHdG Check, Japan Institute for the Control of Aging, Japan)를 사용하여 첨부된 매뉴얼에 따라 분석하였다. 최종 농도는 소변의 크레아티닌 농도로 보정한 값을 사용하였다.

요중 크레아티닌 정량

요중 크레아티닌량은 Jaffe 반응을 이용한 방법[10]에 의해 정량하였다. 즉, 채취한 요를 증류수로 100배 희석한 희석노 150 μ l에 picric acid (0.036 mol/l) 50 μ l와 NaOH 25 μ l를 연속하여 넣고 잘 섞은 후, 정확히 15분간 반응시켰다. Microplate Reader (Spectra max 340, Tecan, Switzerland)로 510 nm에서 흡광도를 측정하여, 크레아티닌 표준용액(아산제약, 한국)으로 작성한 크레아티닌 표준검량곡선으로부터 요중 크레아티닌량을 산출하였다. 이때 크레아티닌 0, 5, 10, 15, 20, 25 μ g/ml를 표준용액으로 사용하였다.

통계 분석

시행한 연구 결과는 SPSS 12.0 통계 프로그램을 이용하여 분석하였다. 두 지표간의 관련성은 Pearson correlation coefficient로 제시하였고, $p < 0.05$ 를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

인구학적 특성

전체 대상자의 평균 연령은 64.3 ± 11.2 세였다(Table 1). 대상자 165명 중에서 직장이나 학교에 다니는 사람은 3명이었으나, 이들 모두 직업적인 비소노출은 없는 것으로 확인되었다. 나머지 대상자는 모두 농사에 종사하거나 특정한 직업이 없는 전업주부였다. 대상자들의 평균 거주기간은 45년이었으며 10년 이상 거주자가 전체 대상자의 92.1%(152명)를 차지하였다.

요중 비소 및 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 농도

조사 대상자들의 평균 요중 비소 농도는 기하평균(기하표

Table 1. Average levels of urinary arsenic and 8-hydroxydeoxyguanosine

Variables	AM \pm ASD [*]	GM (GSD) ^{**}
Age (yr)	64.3 \pm 11.2	-
Length of residence (yr)	45.0 \pm 7.8	-
As in urine (μ g/g creatinine)	7.09 \pm 4.92	5.65 (2.02)
8-OHdG (μ g/g creatinine)	3.77 \pm 3.79	2.78 (2.81)

^{*}AM; arithmetic mean, ASD; arithmetic standard deviation.

^{**}GM; geometric mean, GSD; geometric standard deviation.

준편차)이 5.65(2.02) μ g/g creatinine으로 나타났으며 가장 노출이 적었던 사람은 0.67 μ g/g creatinine, 가장 농도가 높았던 사람은 29.48 μ g/g creatinine을 보여 주었다. 대상자들의 산화적 유전자 손상 정도를 평가하기 위하여 소변 중의 8-OHdG 농도를 측정하였다. 그 결과, 대상자들의 평균 요중 8-OHdG 농도는 기하평균(기하표준편차)이 2.78(2.81) μ g/g creatinine으로 나타났으며 0.45 μ g/g creatinine에서 31.31 μ g/g creatinine의 범위를 보여 주었다(Table 1).

요중 비소와 8-OHdG와의 관련성 평가

요중 비소와 산화적 유전자 손상지표인 8-OHdG와의 관련성을 평가한 결과, 전체 165명에 대한 분석에서 상관계수 0.399($p < 0.001$)의 유의한 관련성을 보여주어 비소의 노출은 체내에서 산화적스트레스 발생과 관련이 있는 것으로 나타났다(Fig. 1A). 대상자들의 산술 평균연령인 64세를 기준으로 저연령군과 고연령군으로 나누어 요중 비소 및 8-OHdG의 농도를 비교하였다. 요중 비소의 농도는 고연령군이 7.14로 저연령군 7.08에 비해 다소 높았으나 통계적인 유의성은 없었다. 요중 8-OHdG의 농도도 고연령층이 4.01로 저연령층 3.41에 비해 높았으나 역시 통계적인 유의성은 없었다(data not shown). 연령에 따라 나눈 두 군에서 두 변수 사이의 관련성을 평가한 결과, 양군 모두에서 유의한 관련성을 보여주었으나 저연령군은 상관계수 0.458의 매우 높은 관련성을 보인 반면, 고연령군은 0.359의 상대적으로 낮은 상관계수를 보여주었다(Fig. 1B,C). 대상자들의 요중 비소 산술평균인 7.09 μ g/g creatinine을 기준으로 나누어 요중 8-OHdG의 농도를 비교한 결과, 고농도군의 요중 8-OHdG 농도는 4.78로 저농도군의 2.58에 비해 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났다($p < 0.001$)(data not shown). 비소 농도에 따라 나눈 두 군에서 두 변수 사이의 관련성을 평가한 결과, 양군 모두에서 유의한 관련성을 보여주었으나 저농도 노출군이 고농도 노출군에 비해 상대적으로 높은 관련성을 보여주었다(0.348 vs. 0.272)(Fig. 1D,E).

고 찰

본 연구는 일부 폐금속 광산 지역에서 장기간 거주한 주민들의 만성적인 비소노출 정도를 평가하고 이것이 산화적 유전

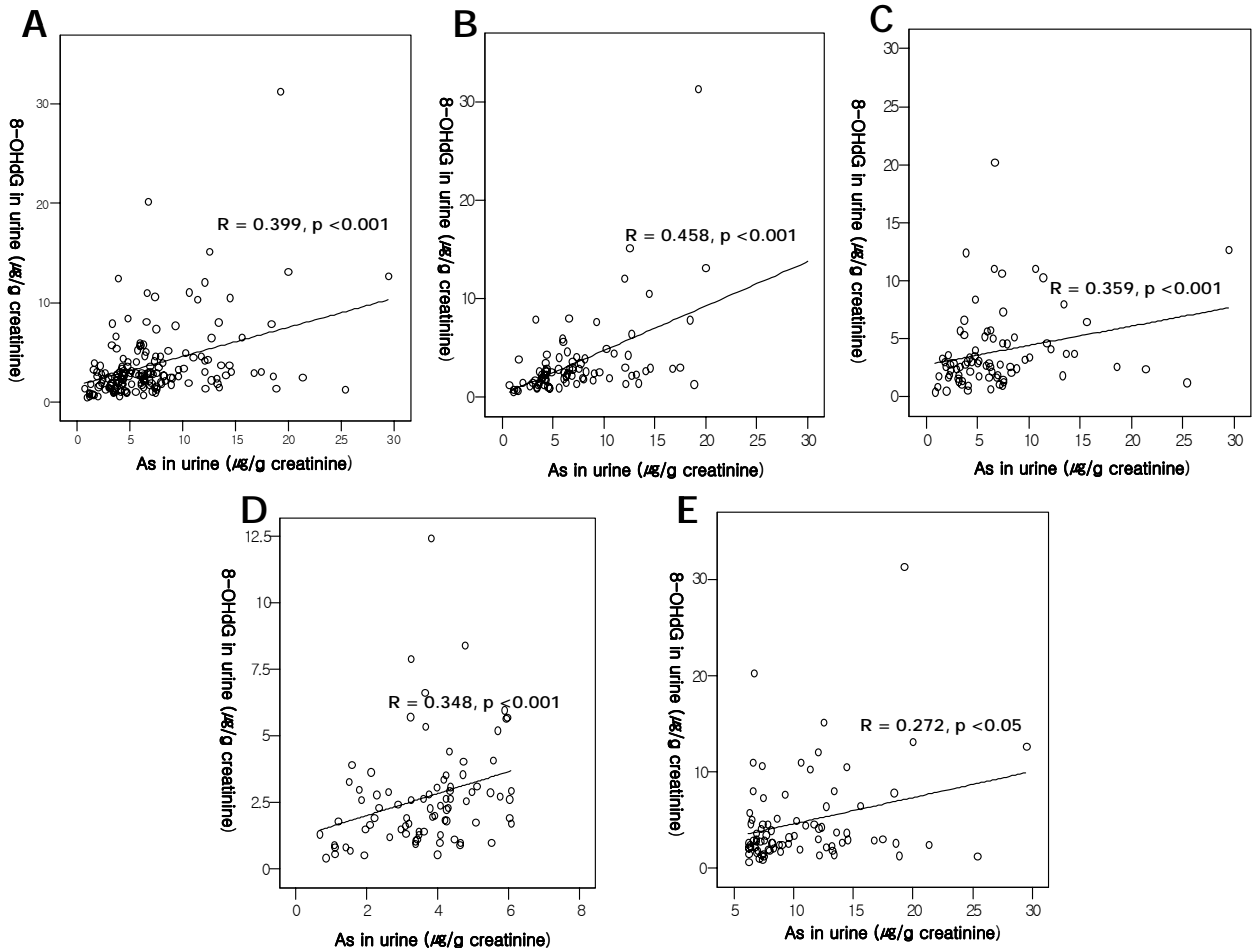


Fig. 1. Relationship between urinary arsenic and 8-OHdG levels. A; in overall subjects, B; in young-aged group (<64 yr), C; in old-aged group (≥64), D; in subjects with low urinary arsenic level (<7.09 μg/g creatinine), and E; in subjects with high urinary arsenic level (≥7.09 μg/g creatinine). R represents correlation coefficient by Pearson' correlation analysis.

자 손상에 미치는 영향을 평가해보고자 시행되었다. 충북지역의 모 폐광산 지역에 거주하는 주민 중 본 연구에 포함된 165명의 여성들의 평균 요중 비소 산술 평균농도는 7.09 μg/g creatinine으로 최고 높은 농도를 보인 사람의 농도가 29.48 μg/g creatinine으로 나타났다. 이는 산출한 단위의 차이로 인해서 직접 비교는 어렵지만 세계보건기구에서 정한 비직업적 노출기준인 30 μg/l를 초과하는 경우가 한 명도 없는 것으로 폐광산으로 인한 비소의 과다 노출은 없는 것으로 판단할 수 있다. 그러나 Huang 등[8]이 우리나라에 거주하는 일반인 290명을 대상으로 보고한 평균 요중 비소농도 3.95 μg/g creatinine에 비해서는 다소 높은 수치를 보여주었다. 이러한 결과는 이들 광산이 폐쇄된 지 모두 40년 이상의 기간이 지났기 때문에 현재 시점에는 그다지 지역주민들에 대한 노출이 높지 않지만 일반 비노출 지역에 비해서는 다소 높은 것으로 판단된다.

비소의 만성적인 노출은 여러 가지 독성기전을 통해서 암을

비롯한 유해작용을 유발하는데 그 중 하나가 산화적 스트레스에 의한 독성기전이다. 지금까지 알려진 바에 의하면, 비소는 체내에서 환원과정 또는 메틸화 과정으로 독성이 감소되면서 체외로 배설되는데, 이 과정에서 글루타치온(glutathion) 환원효소와 nitric oxide synthase 등의 항산화와 관련된 효소 등의 활성이 저하되는 반면, 지질의 과산화 및 활성산소의 생성은 증가된다고 보고되었다[12]. 폐금속광산 주변의 주민들은 폐광으로부터 유출되는 각종 금속에 만성적으로 노출될 가능성이 매우 높기 때문에 비소에 지속적으로 노출될 가능성도 높다고 할 수 있다. 본 연구에서도 고농도의 비소 노출은 없는 것으로 나타났지만 저농도에 의한 만성적 노출을 배제할 수는 없다. 이러한 의미에서 폐광산 주민들을 대상으로 비소농도에 따른 요중 8-OHdG의 관련성을 파악하는 것은 매우 중요하다. 본 연구의 결과에서 요중 비소 농도는 8-OHdG와 유의한 상관관계를 보여, 폐광지역주민들이 비소에 만성적으로 노출되면서 체내에서 산화적스트레스를 유발할 가능성을 제시해 주었

다. Chung 등[3]이 일반인 572명을 대상으로 한 연구에서 총비소 농도와 요중 8-OHdG 농도가 상관계수 0.19의 유의한 상관관계를 보임을 보고하였다. 본 연구에서는 요중 총비소 농도와 요중 8-OHdG 농도 사이에는 상관계수 0.399($p < 0.001$)의 매우 높은 관련성을 보였다. 이는 본 연구의 대상이 되었던 폐광산 지역 주민들이 허용치 이상의 고농도의 비소 노출은 없지만 일정 농도의 비소에 만성적으로 노출되었고 이로 인해 산화적 유전자 손상이 발생했음을 시사하는 것이다. 또한 본 연구의 결과는 만성적인 비소노출에 대한 효과지표(effect marker)로서 요중 8-OHdG의 농도가 매우 유용하게 이용될 수 있음을 의미한다.

본 연구에서 전체 대상자의 연령을 평균치 이하군과 이상군으로 나누어 요중 비소와 8-OHdG의 농도를 비교한 결과, 요중 비소농도와 8-OHdG의 농도가 모두 고연령층에서 상대적으로 높았으나 통계적인 유의성은 없었다. 요중 비소의 농도가 고연령군에서 높은 이유는 저연령군에 비해 폐광산 지역에서의 거주기간이 상대적으로 길고(48.25 ± 14.39 년 vs. 29.63 ± 14.40 년) 이에 따른 노출시간이 길었기 때문에 해석된다. 따라서 두 변수 사이의 관련성이 저연령군에서 더 높았던 것도 저연령군에서의 비소노출이 상대적으로 낮은 것과 관련이 있을 것으로 사료된다.

한편, 비소노출 농도에 따라 두 군으로 나누어 비교한 자료에서 8-OHdG의 농도는 고농도 노출군이 유의하게 높은 것으로 나타났으나 두 변수 사이의 관련성은 오히려 낮은 농도의 노출자들에서 더 높게 나타났다. 전체 대상자들의 노출정도가 모두 기준치 이하의 노출이었기 때문에 평균 농도를 기준으로 나눈 구분 자체가 큰 의미를 갖는다고 보기는 어렵지만 비소 농도가 상대적으로 낮았던 저연령층에서의 관련성이 더 높았던 점을 종합해서 고려해 본다면, 비소노출에 의한 유전자 손상의 평가는 고농도의 비소노출보다는 저농도의 비소노출군에서 보다 정확하게 평가됨을 시사한다. 본 연구에서 이에 대한 정확한 이유를 파악하기는 어렵지만 비소의 노출정도에 따라 체내에서의 독성기전이 달라질 가능성을 배제할 수 없을 것으로 판단된다.

본 연구의 결과는 요중 8-OHdG 농도가 저농도의 비소에 만성적으로 노출된 여성에서 산화적 유전자 손상을 평가하는 좋은 지표가 될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

“이 논문은 2008년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의하여 연구되었음(This work was supported by the research grant of the Chungbuk National University in 2008).”

References

1. Abernathy, C. O., D. J. Thomas, and R. L. Calderon. 2003. Health effects and risk assessment of arsenic. *J. Nutr.* **133**, 1536S-1538S.
2. Buchet, J. P., J. Pauwels, and R. Lauwerys. 1994. Assessment of exposure to inorganic arsenic following ingestion of marine organisms by volunteers. *Environ. Res.* **66**, 44-51.
3. Chung, C. J., C. J. Huang, Y. S. Pu, C. T. Su, Y. K. Huang, Y. T. Chen, and Y. M. Hsueh. 2008. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and urothelial carcinoma risk in low arsenic exposure area. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **226**, 14-21.
4. Cohen, S. M., L. L. Arnold, M. Eldan, A. S. Lewis, and B. D. Beck. 2006. Methylated arsenicals: the implications of metabolism and carcinogenicity studies in rodents to human risk assessment. *Crit. Rev. Toxicol.* **36**, 99-133.
5. Devesa, V., D. Vélez, and R. Montoro. 2008. Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. *Food Chem. Toxicol.* **46**, 1-8.
6. Florea, A. M. and D. Büsnelberg. 2006. Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds. *Biomaterials* **19**, 419-427.
7. Fulladosa, E., J. C. Murat, J. C. Bollinger, and I. Villaescusa. 2007. Adverse effects of organic arsenical compounds towards *Vibrio fischeri* bacteria. *Sci. Total Environ.* **377**, 207-213.
8. Huang, M., S. J. Choi, D. W. Kim, N. Y. Kim, C. H. Park, S. D. Yu, D. S. Kim, K. S. Park, J. S. Song, H. Kim, B. S. Choi, I. J. Yu, and J. D. Park. 2009. Risk assessment of low-level cadmium and arsenic on the kidney. *J. Toxicol. Environ. Health A.* **72**, 1493-1498.
9. Kapaj, S., H. Peterson, K. Liber, and P. Bhattacharya. 2006. Human health effects from chronic arsenic poisoning--a review. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* **41**, 2399-2428.
10. Lindbäck, B. and A. Bergman. 1989. A new commercial method for the enzymatic determination of creatinine in serum and urine evaluated: comparison with a kinetic Jaffé method and isotope dilution-mass spectrometry. *Clin. Chem.* **35**, 835-837.
11. Oremland, R. S. and J. F. Stolz. 2003. The ecology of arsenic. *Science* **300**, 939-944.
12. Pi, J., H. Yamauchi, Y. Kumagai, G. Sun, T. Yoshida, H. Aikawa, C. Hopenhayn-Rich, and N. Shimojo. 2002. Evidence for induction of oxidative stress caused by chronic exposure of Chinese residents to arsenic contained in drinking water. *Environ. Health Perspect.* **110**, 331-336.
13. Pilger, A. and H. W. Rüdiger. 2006. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environmental exposures. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **80**, 1-15.
14. Singh, N., D. Kumar, and A. P. Sahu. 2007. Arsenic in the environment: effects on human health and possible prevention. *J. Environ. Biol.* **28**, 359-365.

초록 : 일부 폐금속광산 지역 거주 여성의 요중 비소와 8-hydroxydeoxyguanosine 농도 사이의 관련성

최영숙·엄상용·최병선¹·박정덕¹·김용대*·김현

(충북대학교 의과대학 예방의학교실, ¹중앙대학교 의과대학 예방의학교실)

본 연구는 비소에 대한 만성노출이 의심되는 일부 폐금속광산 주변 지역 주민 중 여성들을 대상으로 요중 비소 농도와 산화적 유전자 손상지표인 요중 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 농도와의 관련성을 평가하기 위해 시행되었다. 충청북도에 위치한 두 폐금속광산 지역 주민 중 여성 165명을 대상으로 요중 비소농도와 요중 8-OHdG의 농도를 측정하고 SPSS 12.0 통계프로그램을 이용하여 분석하였다. 조사 대상자들의 요중 비소농도는 기하평균이 5.65 µg/g creatinine으로 나타났으며 요중 비소와 8-OHdG 농도와의 관련성 분석에서는 상관계수 0.399 (p<0.001)의 유의한 상관성을 보였다. 이러한 관련성은 비소노출 농도가 낮은 경우가 노출농도가 높은 경우에 비해 상대적으로 높은 것으로 나타났다. 본 연구의 결과는 요중 8-OHdG 농도가 저농도의 비소에 만성적으로 노출된 여성에서 산화적 유전자 손상을 평가하는 좋은 지표가 될 수 있음을 시사한다.