

광물성 분진 노출 이직노동자에서 만성폐쇄성폐질환과 호기응축액 중의 malondialdehyde 및 혈청 염증지표 간의 관련성

이종성* · 신재훈 · 백진이 · 최병순

근로복지공단 직업환경연구원

The Relationship between Malondialdehyde in Exhaled Breath Condensate and Inflammatory Markers in Serum and COPD in Retired Workers Exposed to Mineral Dust

Jong Seong Lee* · Jae Hoon Shin · Jin Ee Baek · Byung-Soon Choi

Institute of Occupation and Environment, Korea Workers' Compensation & Welfare Service

ABSTRACT

Objectives: Chronic obstructive pulmonary disease(COPD) is an important cause of mortality in workers exposed to hazardous dust, such as crystalline silica or coal, and COPD is related to inflammation and oxidative stress in the lung. The aim of this study was to evaluate the association of oxidative stress and inflammation to COPD in retired workers exposed to mineral dust.

Methods: The levels of malondialdehyde(MDA) in EBC as biomarkers for oxidative stress and C-reactive protein(CRP) and lactate dehydrogenase(LD) as biomarkers for inflammation were measured in 107 male subjects(63 pneumoconiosis and 42 COPD subjects).

Results: Mean levels of EBC MDA(2.03 nmol/L vs. 4.65 nmol/L, $p=0.010$) and serum LD(170.3 U/L vs. 185.9 U/L, $p=0.022$) were significantly higher in subjects with COPD, but mean levels of serum CRP($p=0.469$) did not show a statistical difference between the study groups. Level of EBC MDA was negatively correlated with %FEV₁ predicted($r=-0.279$, $p=0.004$) and %FEV₁/FVC ratio($r=-0.397$, $p<0.001$).

Conclusions: These results suggest that EBC is a useful biological matrix for investigation of respiratory oxidative stress. High levels of EBC MDA and serum LD are related to COPD in retired workers exposed to mineral dust.

Key words: Chronic obstructive pulmonary disease, C-reactive protein, exhaled breath condensate, lactate dehydrogenase, malondialdehyde

I. 서 론

석탄 분진 및 결정형 유리규산 등의 광물성 분진에 노출될 경우 염증기전으로 인한 폐 세포의 손상과 섬유화로 인해 진폐증 또는 만성폐쇄성폐질환(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 등의 폐질환


이 유발될 수 있다(Schins & Borm, 1999; Castranova, 2000; Cohen et al., 2008). 흡연이 COPD의 가장 주요한 원인으로 알려져 있지만(Strassmann et al., 2009; Lin & Thomas, 2010), 광물성 분진은 흡연과 무관하게 COPD의 위험요인이고, 석탄광부는 COPD의 위험직종이라고 하였다(Meijers et al., 1997; Coggon


*Corresponding author: Jong Seong Lee, Tel: 010-2366-5075, E-mail: ljs5075@kcomwel.or.kr


2F Incheon Labor & Welfare Complex, 478, Munemi-ro, Bupyeong-gu, Incheon

Received: July 29, 2019, Revised: August 30, 2019, Accepted: September 13, 2019

 Jong Seong Lee <http://orcid.org/0000-0002-1672-0171>

 Jae Hoon Shin <http://orcid.org/0000-0001-9436-6860>

 Jin Ee Baek <https://orcid.org/0000-0002-4932-8520>

 Byung-Soon Choi <https://orcid.org/0000-0003-3551-0804>

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

& Anthony, 1998; Bergdahl et al., 2004).

COPD는 전세계적으로 사망원인의 3번째일 정도로 중요한 질병 중의 하나이다(Lozano et al., 2012). COPD의 발병원인에 대한 염증 매개인자의 역할이 명확하게 규명되지는 않았지만, COPD의 염증과정은 활성산소(reactive oxygen species, ROS), 활성질소(reactive nitrogen species), cytokines 및 growth factors 등의 많은 요인들과 관련이 있다고 알려져 있다(Barnes, 2004). ROS에 의한 산화스트레스는 호흡기 염증과 상호 연관성이 있고 중증의 COPD 또는 악화기간에 증가한다고 하였다(Kostikas et al., 2003; Kirkham & Barnes, 2013). ROS는 광산 및 석재취급 노동자들의 주요한 유해인자인 석탄 및 결정형 유리규산과 같은 광물성 분진으로부터 직접 생성될 뿐 아니라, 유해분진에 의해 활성화된 폐포 대식세포와 중성구 등의 염증세포로부터 생성되기도 한다. 특히 철과 같은 전이금속이 포함된 분진은 ROS 생성을 가속시킬 수 있다(Castranova et al., 1997; Schins & Borm, 1999).

폐질환에서의 생체지표는 폐 영역에서 일어나는 질병의 진행과정을 반영함으로써 질병의 진단 및 치료효과의 평가 등에 활용할 수 있다(Grob et al., 2008). 전통적으로 폐질환 연구에 혈액, 기관지폐포세척액 및 객담 등의 침습적 방법으로 채취한 생체시료가 주로 이용되었으나, 이러한 시료채취방법은 수검자의 부담이 크고 채취과정에서 염증 등을 유발할 수 있다. 최근 폐질환과 생체지표 간의 관련성 연구에 호기를 냉각응축시킨 호기응축액(exhaled breath condensate, EBC)이 유용하다고 하였다(Horvath et al., 2005; Montuschi, 2005; Corhay et al., 2014).

일반적으로 ROS의 극히 짧은 반감기로 인해 산화스트레스 연구에는 항산화제 또는 손상지표와 같은 영향물질 등이 이용되고 있다(Gulumian et al., 2006). Malondialdehyde(MDA)는 ROS 중의 하나인 hydroxy radical에 의해 불포화지방산이 산화되면서 생성되는 알데히드(aldehydes)이며, ROS에 의한 지질과산화지표로 많이 이용되는 생체지표 중의 하나이다(Gutteridge, 1995; Montuschi, 2005). 다수의 선행연구들은 COPD 환자에서 MDA 농도가 증가한다고 하는 등 산화스트레스가 증가한다고 보고하고 있다(Corradi et al., 2003; Bartoli et al., 2011; Cui et al., 2018). 최근 COPD를 동반한 이직광부에서 혈중의 산화스트레스 지표농도가 증가한다고 하였는데(Lee et al., 2019), 혈중의 생

체지표는 호흡기를 포함한 전신의 산화스트레스 반응에 영향을 받을 수 있다. 따라서 EBC MDA와 같은 생체지표를 이용하여 호흡기 영역에서의 산화스트레스를 평가할 필요가 있다.

COPD는 만성적인 염증반응의 증가와 관련된 지속적인 기류제한을 특징으로 한다(Rabe et al., 2007). COPD로 인한 폐의 염증은 전신순환계에 영향을 미칠 수 있을 뿐 아니라(Agusti, 2006), Fabbri & Rabe (2007)는 COPD가 일종의 전신 염증증후군의 일부이기 때문에 전신 염증에 의한 다발성 장기 손상의 일부라고도 하였다. 따라서 EBC 중의 산화스트레스 지표와 함께 혈중의 전신염증 지표를 동시에 연구할 필요가 있다. 혈중 C-reactive protein(CRP)은 interleukin-6와 연관되어 간에서 합성되는 물질이며, 염증 또는 조직의 손상지표로 알려져 있다(Pepys & Hirschfield, 2003). COPD와 전신염증지표에 관한 메타분석연구에서 COPD군의 혈중 CRP 농도는 대조군보다 일관성 있게 증가한다고 하였고(Gan et al., 2004; Chen et al., 2016; Su et al., 2016), 산화스트레스와 관련이 있다고 하였다(Tkacova et al., 2007). Lactate dehydrogenase (LD)는 폐, 간 및 신장 등 다양한 장기의 세포에 저장되어 있는 효소이다(Anderson & Cockayne, 2003). Drent et al.(1996)는 진폐증 및 COPD와 같이 폐조직의 염증성 손상을 유발하는 폐질환은 LD 등의 세포 내 효소가 유출될 수 있기 때문에 세포의 손상지표로 유용하다고 하였다. Cobben et al.(1997)은 석탄광부에서 혈청중 LD 농도가 증가하고 노출이 중단되더라도 그 농도가 오랫동안 유지된다고 하였으며, Gulumian et al.(2006)은 혈중 LD 농도는 질병의 진행상태와 관련이 있다고 하였다.

혈중 염증지표인 CRP와 LD는 간 및 신장과 같은 장기에서 합성되거나 세포에 저장되어 있기 때문에(Anderson & Cockayne, 2003; Pepys & Hirschfield, 2003), 염증지표 연구를 위해서는 간 또는 신장기능 상태가 영향을 미칠 수 있다. 또한 우리나라 고용노동부는 광물성 분진 노출 이직노동자에 대해 “진폐의 예방과 진폐근로자의 보호 등에 관한 법률”(MOEL, 2017)에 따라 폐질환의 예방과 치료를 받을 수 있도록 하고 있다. 따라서 이러한 특정집단에 대한 COPD와 생체지표 간의 관련성 연구에서 호흡기약 복용여부를 고려할 필요가 있다. EBC를 이용한 COPD 연구의 대부분은 직업적 요인을 고려하지 않은 일반인을 대상으로 수행되었거나(Corradi et

al., 2004; Bartoli et al., 2011; Inonu et al., 2012), 이직광부 대상으로 수행된 일부 선행연구(Lee et al., 2014; Lee et al., 2019)에서는 이러한 영향변수들을 고려하지 않았다.

따라서 이 연구는 광물성 분진에 노출경험이 있는 이직노동자를 대상으로 EBC MDA 및 혈청 중의 CRP와 LD 농도 분석하고 일반적 특성, 진폐증 카테고리 및 호흡기약 복용 등의 영향변수를 고려하여 COPD와 EBC 중의 산화스트레스 및 혈중의 염증지표 간의 관련성을 보고자 하였다.

II. 대상 및 방법

1. 연구 대상

연구대상자는 과거 석탄광산, 금속광산 및 비금속 광물제품 제조업 등에서 근무경험이 있는 노동자로서 이직자 건강진단을 위해 ○○병원에 내원한 남자 수진자 111명중 속효성 β_2 -기관지 확장제에 대한 기도과민 양성반응을 나타낸 4명을 제외한 107명이었다. 이 연구는 ○○연구원 기관생명윤리위원회의 연구계획 승인 및 연구대상자의 자발적 서면동의를 획득한 후 수행하였다.

2. 연구 방법

1) 연구대상자의 일반적 특성

연구대상자의 나이, 체질량지수(body mass index, BMI), 분진 노출기간, 산업체 종류, 흡연, 진폐증, 당뇨병 및 고혈압 여부 등의 일반적 특성은 면접조사를 통해 조사하였다. 면접조사 결과 과거흡연자로 분류된 대상자 중 소변 중 코티닌 진단키트(Quick test, Clongene Biotech, China)를 이용한 검사에서 양성반응(cut-off 200 ng/mL)을 나타낸 6명은 현재흡연자로 분류하였고, 치료채취 당시 의사의 처방에 따라 진폐증 또는 COPD 등의 치료를 위해 기관지 확장제(흡입제 포함), 거담제 또는 진해제 등을 복용하고 있는 경우 호흡기약 복용군으로 분류하였다.

폐기능은 미국흉부학회/유럽호흡기학회에서 권장하는 방법(Miller et al., 2005)에 따라 폐기능 검사기(Vmax22, SensorMedics, USA)로 검사하였다. 노력성 폐활량(forced vital capacity, FVC) 및 노력성 일초간 호기량(forced expiratory volume in one second, FEV₁)을 측정 후, 한국인 예측식(Choi et al., 2005)으로 각각의 예측치를 계산하였다. COPD의

진단은 대한결핵 및 호흡기학회에서 정하고 있는 기준(KATRD, 2005)에 따라 속효성 β_2 -기관지 확장제를 흡입한 후에 검사한 FEV₁이 200 mL 및 12% 미만으로 증가하고 FEV₁/FVC가 70% 미만인 경우로 하였다.

진폐증의 진단은 국제노동기구(International Labor Office)에서 정하고 있는 가이드라인(ILO, 2000)을 준용하여 근로복지공단 진폐심사위원회의 영상의학 전문의 2인에 의한 합의판정의 결과로 하였다.

2) EBC 채취 및 생체시료 분석

EBC는 전용 채취기구(EcoScreen II, FILT GmbH, Germany)를 이용하여 미국흉부학회 및 유럽호흡기학회에서 권장하는 방법(Horvath et al., 2005)에 따라 채취하였는데, -20℃의 냉각 챔버에 채취용기를 장착한 후 약 10분간 평상시 호흡으로 채취하였다. 구강오염 및 비강내 공기의 혼입을 방지하기 위해 EBC를 채취하기 전에 생리식염수로 입을 행구고 nose clip을 착용시킨 후 채취하였다. EBC는 채취 즉시 냉동보관용 vial에 옮겨 담은 후 사용할 때까지 -80℃의 초저온 냉동고에 보관하였다.

EBC MDA는 Andreoli et al.(2003)의 방법을 준용하여 EBC 50 μ L에 2%의 formic acid가 포함된 아세트니트릴 용액에 녹인 12 mM 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) 50 μ L를 넣고 실온에서 60분간 반응시켜 MDA-DNPH 유도체화 시키고, 필터(0.2 μ m pore size)로 여과한 후 20 μ L를 액체크로마토그래프 질량분석기(liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry, LC/APCI-MSMS, 3200QTRAP, AB SCIEX, USA)에 주입하였다. 분석조건은 C18컬럼(Triart-C18; 2.0 mm \times 100 mm, 3 μ m, YMC co. Ltd, Japan)에 20 mM 초산과 메탄올 이동상을 200 uL/min의 유속으로 용매구배 방법(메탄올 45% \rightarrow 98%, 4분 gradient)으로 피크를 분리하였으며, MDA-DNPH 유도체의 표적이온(target ion)의 mass는 235 \rightarrow 159 m/z(positive mode)로 하였다. MDA의 분석검출한계는 0.24 nmol/L이었다.

혈청 중의 CRP, LD, 간기능 및 신장기능과 관련한 임상화학적 검사항목의 농도는 상품화된 시약을 이용하여 자동생화학분석기(7080 Automatic analyzer, Hitachi High-Technologies Co., Japan)의 매뉴얼에 따라 분석하였다. 간기능은 혈청 중의 aspartate aminotransferase ($>$ 38 IU/L), alanine aminotransferase($>$ 44 IU/L) 또

는 gamma-glutamyl transpeptidase(>73 IU/L), 신장기능은 blood urea nitrogen(>20 mg/dL) 또는 creatinine(>1.2 mg/dL)의 정상 참고치를 하나 이상 초과하는 경우 각각 비정상적으로 분류하였다.

3) 통계분석

통계분석은 SPSS 17.0 프로그램(IBM SPSS statistics, USA)으로 수행하였다. BMI는 정규분포하였고, 그 밖의 변수들은 적절한 변환식을 적용하였는데, 나이와 %FEV₁/FVC는 제곱, %FEV₁ 및 %FVC는 상용로그, EBC MDA는 제곱근, 혈청 CRP는 제곱근의 역수 그리고 LD는 역수 변환후 정규분포하였다. COPD 여부에 따른 연구집단 간의 일반적 특성 비교는 교차분석 또는 분산분석으로 검정하였고, 일반적 특성별 생체지표의 농도비교는 순위검정 또는 분산분석으로 검정하였다. COPD 여부에 따른 생체지표 농도의 비교는 t-test와 로지스틱 회귀분석으로 검정하였다. 각 분석의 통계적 유의수준은 $p<0.05$ 로 하였다.

III. 연구결과

1. 일반적 특성

연구대상자의 일반적 특성은 Table 1과 같다. COPD 여부에 따른 연구집단간 %FEV₁, %FEV₁/FVC, 진폐증 카테고리 및 호흡기약 복용 여부 등이 통계적으로 차이가 있었다. 그러나 분진 노출기간 및 산업체 종류 등 직업력에 따른 차이는 없었다.

2. 생체지표 농도

일반적 특성별 생체지표 농도는 Table 2와 같다. EBC MDA는 분진 노출기간별 통계적 유의성이 있었으나($P=0.006$), 근무기간의 증가에 따른 일관성은 없었다. 혈청 CRP 농도에 대해 통계적 차이가 있었던 항목은 없었다. 혈청 LD의 농도는 진폐증 카테고리별 통계적 유의성이 있었으나($P=0.030$), 질병의 중증도에 따른 일관성은 없었다.

COPD군의 EBC MDA(2.08 nmol/L vs 4.55 nmol/L, $p<0.001$)와 혈청 LD(170.3 U/L vs 185.9 U/L, $p=0.030$)의 평균농도가 non-COPD군보다 높았고, 진폐증과 호흡기약 복용 여부 등 영향변수를 포함시킨 로지스틱 회귀분석에서도 EBC MDA($p=0.010$)와 혈청 LD($p=0.022$)는 유의한 차이가 있었다. 그러나 혈

청 CRP 농도는 t-test에서 COPD군에서 유의하게 높았으나(0.11 mg/dL vs 0.17 mg/dL, $p=0.025$), 로지스틱 회귀분석에서는 통계적 유의성이 없었다(Table 3). EBC MDA 농도는 %FEV₁($r=-0.279$, $p=0.004$) 및 %FEV₁/FVC($r=-0.397$, $p<0.001$)와 음의 상관성이 있었다(Figure 1, 2).

IV. 고 찰

EBC는정상 호흡으로 10분간 채취하였을 때 1~3 mL 정도로써 생체지표를 분석하기에 충분한 용량이었고, LC/APCI-MSMS를 이용한 EBC MDA 농도는 모든 시료에서 검출 가능하였다. 이번 연구에서 석탄광산을 포함한 광물성 분진 노출 이직노동자의 EBC MDA 평균농도는 진폐증과 호흡기약 복용 여부를 통제하였을 경우에도 COPD군에서 유의하게 증가하였고(2.03 nmol/L vs. 4.65 nmol/L, $p=0.010$), %FEV₁($r=-0.279$, $p=0.004$) 및 %FEV₁/FVC($r=-0.397$, $p<0.001$)와 음의 상관성을 나타냈다. 이러한 결과는, COPD 환자에서 지질과산화 지표인 EBC MDA가 증가한다는 선행연구(Corradi et al., 2003; Bartoli et al., 2011; Lee et al., 2014) 결과와 일치하였고, EBC MDA와 FEV₁ 간에 음의 상관성이 나타난다는 Bartoli et al.(2011)의 결과와도 일치하였다. 선행연구에서 고려하지 않은 진폐증 및 호흡기약 복용 여부를 통제하였을 경우에도 COPD 환자에서 EBC MDA의 농도가 증가하였다. 이번 연구에서 EBC MDA 농도는 흡연 여부와는 통계적 유의성이 없었는데, 이러한 결과는 선행연구(Inonu et al., 2012; Lee et al., 2014)와 같았다. 이러한 결과로 볼때, 광물성 분진 노출 이직노동자의 EBC MDA 농도는 COPD가 있을 경우 증가하며, 폐기능(%FEV₁ 및 %FEV₁/FVC)의 감소와 관련성이 있는 것으로 판단된다.

혈청 CRP 농도는 COPD가 악화하거나(Karadag et al., 2008; Chen et al., 2016), COPD 기류제한 중증도가 심할수록(Tkacova et al., 2007) 증가한다고 하였다. Fernandez Rego et al.(1991)는 진행성 진폐증자에서 혈청 CRP 농도가 증가하기 때문에 질병의 정도에 대한 생체지표로 유용하다고 하였다. 이번 연구에서 혈청 CRP의 평균농도는 COPD 환자에서 유의하게 증가하였으나(0.11 mg/dL vs. 0.17 mg/dL, $p=0.025$), 진폐증과 호흡기약 복용 여부를 통제하였을 경우 유의한 차이가 없었다($p=0.496$). 선행연구들과 다른 결과를

나타낸 이유로는 혈청 CRP농도는 전신염증 및 조직손상에 대한 급성기 반응물질이므로 COPD에 의한 염증 반응 뿐만 아니라 진폐증 또는 호흡기약 복용 의한 치

료효과 등 다양한 요인에 의해 영향을 받는 것으로 판단된다. 혈청 중의 LD 농도는 세포 손상 및 사멸의 특징이 있는 COPD나 염증, 세포손상 및 섬유화의 특징을

Table 1. General characteristics of the study subjects(N=107)

Characteristics	Non-COPD (N=65)	COPD (N=42)	p-values
Age(years); GM(GSD)*	62.3(30.9)	65.2 (30.1)	0.051 ^a
BMI(kg/m ²) ; AM ± SD	23.8 ± 3.1	23.3 ± 2.6	0.406 ^a
Exposure period(years); median(IQR)	15.6 (10.3 - 20.9)	15.0 (10.8 - 20.0)	0.957 ^b
%FVC predicted; GM(GSD) [†]	93.1 (1.2)	95.5 (1.1)	0.369 ^a
%FEV ₁ predicted; GM(GSD) [†]	102.1 (1.2)	83.4 (1.2)	<0.001 ^a
%FEV ₁ /FVC ratio; GM(GSD)*	78.2 (27.8)	62.1 (30.3)	<0.001 ^a
Industry; N(%)			
Coal mining	47 (72.3)	32 (76.2)	0.273 ^c
Metal mining	7 (10.8)	7 (16.7)	
Mineral product manufacturing(non-metal)	11 (16.9)	3 (7.1)	
Smoking status; N(%)			
Never	10 (15.4)	3 (7.1)	0.393 ^c
Past	31 (47.7)	20 (47.6)	
Current [§]	24 (36.9)	19 (45.2)	
Cumulative smoking(pack-years); GM(GSD) [‡]	15.9 (3.0)	18.2 (2.3)	0.425 ^a
Category of pneumoconiosis; N(%)			
No pneumoconiosis	35 (53.8)	9 (21.4)	0.005 ^c
Category 1	17 (26.2)	15 (35.7)	
Category 2≤	10 (15.4)	11 (26.2)	
Large opacity	3 (4.6)	7 (16.7)	
Respiratory medication; N(%) [¶]	19 (29.2)	25 (59.5)	0.002 ^c
Diabetes; N(%)	11 (16.9)	6 (14.3)	0.716 ^c
Hypertension; N(%)	21 (32.3)	9 (21.4)	0.221 ^c
Abnormal LFT or KFT; N(%) ^{**}	5 (7.7)	4 (9.5)	0.739 ^c

COPD, subjects with FEV₁/FVC ratio < 70% and without FEV₁ increasing higher than 200 mL and 12% after β_2 -bronchodilator inhalation.

* Square transformed data

† Log transformed data

‡ Square root transformed data

§ Six(6) cases among self-reported past smokers had positive in urine by the cotinine test(cut-off level: 200 ng/mL), and they were biochemically classified as current smokers

|| No pneumoconiosis(46 subjects), 0/0(36), 0/1(8); Category 1(32 subjects), 1/0(15), 1/1(10), 1/2(7); Category 2≤(21 subjects), 2/1(12), 2/2(6), 2/3(2), 3/3(1); Large opacity(10 patients), 4A(7), 4B(2), 4C(1)

¶ Including bronchodilator inhalant, sputum expectorant, and antitussive

** Aspartate aminotransferase > 38 IU/L, alanine aminotransferase > 44 IU/L, γ -glutamyl transferase > 73 IU/L, blood urea nitrogen > 20 mg/dL, or creatinine > 1.2 mg/dL in serum

^a Calculated by t-test

^b Calculated by Mann-Whitney U test

^c Calculated by χ^2 -test

Abbreviation: AM, arithmetic mean; BMI, body mass index; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; FVC, forced vital capacity; FEV₁, forced expiratory volume in one second; GM, geometric mean; GSD, geometric standard deviation; IQR, inter quartile range; SD, standard deviation

Table 2. Levels of biomarkers according to general characteristics

Characteristics		No	EBC MDA (nmol/L)*	Serum CRP (mg/dL)†	Serum LD (U/L)‡
Age(years) ^a	-59	36	2.07 (46.5)	0.12 (53.4)	170 (50.3)
	60-69	52	3.34 (58.1)	0.13 (52.5)	181 (51.2)
	70-	19	2.89 (57.1)	0.13 (59.1)	197 (68.7)
			(p = 0.202)	(p = 0.722)	(p = 0.073)
BMI(kg/m ²) ^b	≥ 25	74	2.79 (0.90)	0.14 (0.62)	177.3 (841.3)
	< 25	33	3.27 (0.67)	0.10 (0.35)	173.5 (919.7)
			(p = 0.477)	(p = 0.126)	(p = 0.612)
Exposure period(years) ^b	-9	20	1.39 (0.92)	0.17 (0.78)	162.1 (935.1)
	10-19	52	3.73 (0.67)	0.12 (0.37)	183.4 (805.0)
	20-	35	2.88 (0.82)	0.12 (0.72)	174.3 (1009.8)
			(p = 0.006)	(p = 0.380)	(p = 0.058)
%FVC predicted ^a	≥ 80	96	2.92 (55.5)	0.13 (53.9)	175 (53.1)
	< 80	11	1.84 (41.2)	0.12 (55.2)	191 (62.1)
			(p = 0.148)	(p = 0.894)	(p = 0.361)
%FEV1 predicted ^a	≥ 80	93	2.70 (52.4)	0.12 (52.8)	174 (52.3)
	< 80	14	5.11 (65.0)	0.26 (62.3)	193 (65.4)
			(p = 0.156)	(p = 0.285)	(p = 0.141)
Industry ^a	Coal mining	79	3.19 (54.9)	0.12 (51.4)	172 (50.3)
	Metal mining	14	3.53 (59.4)	0.13 (58.5)	194 (67.6)
	MPM	14	1.93 (43.3)	0.22 (63.9)	186 (61.4)
			(p = 0.341)	(p = 0.320)	(p = 0.099)
Smoking status ^a	Never	13	3.57 (59.5)	0.10 (48.5)	180 (58.4)
	Past	51	2.40 (51.6)	0.11 (50.8)	185 (58.4)
	Current	43	3.19 (55.2)	0.22 (59.4)	170 (47.5)
			(p = 0.675)	(p = 0.323)	(p = 0.208)
Cumulative smoking (pack-years) ^a	Never	13	3.57 (59.5)	0.10 (48.5)	180 (58.4)
	-19	51	2.40 (48.8)	0.16 (57.6)	172 (51.6)
	20-39	32	3.59 (58.1)	0.12 (50.3)	177 (53.3)
	40-	11	2.87 (59.4)	0.15 (54.7)	189 (62.1)
			(p = 0.435)	(p = 0.673)	(p = 0.722)
Pneumoconiosis ^a	No	44	2.11 (47.9)	0.09 (45.3)	170 (48.0)
	Category 1	32	2.88 (56.3)	0.19 (60.0)	190 (66.3)
	Category 2≤	21	2.46 (54.1)	0.30 (64.8)	168 (44.9)
	Large opacity	10	5.56 (73.4)	0.12 (50.2)	192 (60.2)
			(p = 0.121)	(p = 0.060)	(p = 0.030)
Diabetes ^a	No	90	2.80 (52.6)	0.13 (53.3)	178 (54.2)
	Yes	17	3.57 (61.6)	0.13 (57.6)	174 (53.1)
			(p = 0.273)	(p = 0.603)	(p = 0.895)
Hypertension ^b	No	77	3.05 (0.86)	0.12 (0.45)	175.5 (906.8)
	Yes	33	2.66 (0.77)	0.14 (0.65)	177.7 (771.0)
			(p = 0.556)	(p = 0.418)	(p = 0.780)
Abnormal LFT or KFT ^a	No	98	2.92 (54.4)	0.12 (53.3)	175 (53.8)
	Yes	9	2.47 (49.3)	0.30 (61.2)	189 (55.8)
			(p = 0.637)	(p = 0.465)	(p = 0.857)

* Square root transformed data

† Reversed square root transformed data

‡ Reverse transformed data

^a Calculated by Mann-Whitney U test or Kruskal-Wallis H test, median(mean rank)

^b Calculated by t-test or ANOVA test, geometric mean(geometric standard deviation)

Abbreviation: BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; EBC, exhaled breath condensate; FVC, forced vital capacity; FEV₁, forced expiratory volume in one second; LD, lactate dehydrogenase; MDA, malondialdehyde; MPM, mineral product manufacturing(non-metal)

Table 3. Mean levels of biomarkers as related to COPD

	Non-COPD (N = 65)	COPD (N = 42)	p-values	
			Univariate*	Multivariate†
EBC MDA(nmol/L) ^a	2.03(0.83)	4.65(0.51)	<0.001	0.010
Serum CRP(mg/dL) ^b	0.11(0.45)	0.17(0.66)	0.025	0.496
Serum LD(U/L) ^c	170.3(997.5)	185.9(761.1)	0.030	0.022

* Calculated by t-test, geometric mean(geometric standard deviation)

† Calculated using a logistic regression model to adjust for category of pneumoconiosis, respiratory medication(no/yes), and each biomarkers

^a Square root transformed data

^b Reversed square root transformed data

^c Reverse transformed data

Abbreviation: COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CRP, C-reactive protein; EBC, exhaled breath condensate; LD, lactate dehydrogenase; MDA, malondialdehyde

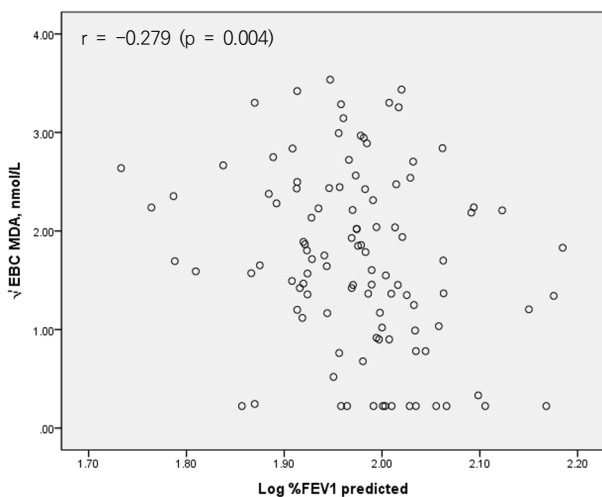


Figure 1. Scatter plot showing relationship between EBC MDA and %FEV₁ predicted in the study subjects

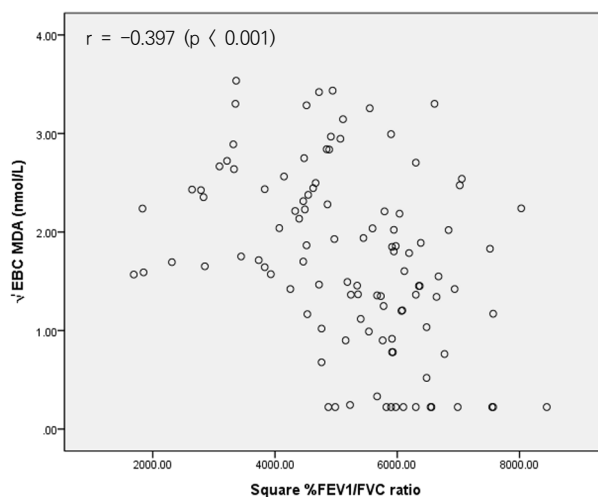


Figure 2. Scatter plot showing relationship between EBC MDA and %FEV₁/FVC ratio in the study subjects

가지는 진폐증과 같은 폐질환이 있는 경우에 증가한다고 하였다(Drent et al., 1996). Lee et al.(2017)은 COPD를 동반한 이직광부에서 혈중 CRP와 LD 농도가 증가한다고 하였는데, 혈중 염증지표 농도에 영향을 미칠 수 있는 간기능 또는 신장기능의 정상여부를 고려하지 않았다는 제한점이 있었다. 이번 연구에서 혈중 LD 농도는 COPD군에서 유의하게 높았고(170.3 vs. 185.9, p=0.030), 진폐증과 호흡기약 복용 여부를 통제하였을 경우에도 통계적 유의성이 있었다(p=0.022). Cobben et al.(1997)은 석탄분진 노출자에서 FEV₁이 감소하고 혈청 중 LD 농도가 증가하며 특히 LD3 이성체의 활성증가와 관련성이 있다고 하였는데, 향후 COPD 등과 같은 폐질환자에 대한 LD 이성체 연구의

필요성이 있었다.

이번 연구는 연구대상자가 107명으로 적었고(non-COPD 65명, COPD 42명), 모두 남자라는 제한점이 있다. 따라서 향후 연구대상자를 확대하고 COPD 및 진폐증자에 대한 추적 연구를 통한 진행성 여부까지 연구범위를 확대하여 연구할 필요가 있었다.

이번 연구결과, EBC는 진폐증 및 COPD 등의 폐질환에 대한 산화스트레스 지표 연구를 위한 비침습적 생체시료로 유용하였고, 광물성 분진에 노출 경험이 있는 이직노동자에서 산화스트레스 지표인 EBC MDA 및 염증지표인 혈청 LD의 증가는 COPD와 관련이 있었지만, 분진 노출기간 및 산업체 종류 등 직업력에 따른 차이는 없었다.

V. 결 론

COPD는 결정형 유리규산 또는 석탄 분진 등의 광물성 분진에 노출된 광부에서 많이 발병하는 중요한 폐질환으로써, 폐의 염증과 산화스트레스와 관련이 있다. COPD와 호기 중의 산화스트레스 및 혈청 중의 염증지표 간의 관련성을 연구하기 위해 광물성 분진 노출경험이 있는 남자 107명을 대상으로 EBC MDA와 혈청 중의 CRP 및 LD를 분석하였다. 진폐증과 호흡기약 복용 여부를 고려한 로지스틱 회귀분석 결과, COPD가 있는 경우 EBC MDA(2.03 nmol/L vs. 4.65 nmol/L, $p=0.010$)와 혈청 LD(170.3 U/L vs. 185.9 U/L, $p=0.022$)의 평균농도가 유의하게 증가하였으며, EBC MDA 농도는 %FEV₁($r=-0.279$, $p=0.004$) 및 %FEV₁/FVC($r=-0.397$, $p<0.001$)와 음의 상관성이 있었다($r=-0.397$, $p<0.001$). 이번 연구결과, EBC는 폐질환의 산화스트레스 연구를 위한 유용한 생체시료였고 광물성 분진 노출 이직노동자에서 산화스트레스 지표인 EBC MDA와 염증지표인 혈청 LD 농도의 증가는 COPD와 관련이 있었다. 또한 이 연구에서 적용한 EBC는 폐질환 또는 유해물질노출에 의한 호흡기 산화스트레스 연구에 유용할 것으로 판단된다.

References

- Anderson SC & Cockayne S. Clinical chemistry: concepts and application. New York: McGraw-Hill Co.; 2003. P. 273-273
- Andreoli R, Manini P, Corradi M, Mutti A, Niessen WM. Determination of patterns of biologically relevant aldehydes in exhaled breath condensate of healthy subjects by liquid chromatography/atmospheric chemical ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2003;17(7):637-645 <https://doi.org/10.1002/rcm.960>
- Agusti A, Thomas a. Neff lecture. Chronic obstructive pulmonary disease - a systemic disease. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3(6):478-481 <https://doi.org/10.1513/pats.200603-058MS>
- Barnes PJ. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 2004;56(4):515-548 <https://doi.org/10.1124/pr.56.4.2>
- Bartoli ML, Novelli F, Costa F, Malagrino L, Melosini L et al. Malondialdehyde in exhaled breath condensate as a marker of oxidative stress in different pulmonary diseases. *Mediators Inflamm* 2011;2011:891752 <https://doi.org/10.1155/2011/891752>
- Bergdahl IA, Tore'n K, Eriksson K, Hedlund U, Nilsson T et al. Increased mortality in COPD among construction workers exposed to inorganic dust. *Eur Respir J* 2004;23:402-406 <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00034304>
- Castranova V. From coal mine dust to quartz: Mechanism of pulmonary pathology. *Inhal Toxicol* 2000;12(Suppl 3):7-14 <https://doi.org/10.1080/08958378.2000.11463226>
- Castranova V, Vallyathan V, Ramsey DM, McLaurin JL, Pack D et al. Augmentation of pulmonary reactions to quartz inhalation by trace amounts of iron-containing particles. *Environ Health Perspect* 1997; 105(suppl 5):1319-1324 <https://doi.org/10.1289/ehp.97105s51319>
- Chen YW, Leung JM, Sin DD. A systematic review of diagnostic biomarkers of COPD exacerbation. *PLoS One* 2016;11(7):e0158843 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158843>
- Choi JK, Paek DM, Lee JO. Normal predictive values of spirometry in Korean population. *Tuberc Respir Dis* 2005;58(3):230-242 <http://dx.doi.org/10.4046/trd.2005.58.3.230>
- Cobben NA, Drent M, Schols AM, Lamers RJ, Wouster EF et al. Serum lactate dehydrogenase and its isoenzyme pattern in ex-coalminers. *Respir Med* 1997;91(10):616-623 PMID:9488895
- Coggon D & Anthony Newman TA. Coal mining and chronic obstructive pulmonary disease: a review of the evidence. *Thorax* 1998;53(5):398-407 <https://doi.org/10.1136/thx.53.5.398>
- Cohen RA, Patel A, Green FHY. Lung disease caused by exposure to coal mine and silica dust. *Semin Respir Crit Care Med* 2008;29(6):651-661 <https://doi.org/10.1055/s-0028-1101275>
- Corhay JL, Moermans C, Henket M, Nguyen Dang D, Duysinx B et al. Increased of exhaled breath condensate neutrophil chemotaxis in acute exacerbation of COPD. *Respir Res* 2014;15:115 <https://doi.org/10.1186/s12931-014-0115-0>
- Corradi M, Folesani G, Andreoli R, Manini P, Bodini A et al. Aldehydes and glutathione in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167(3):395-399 <https://doi.org/10.1164/rccm.200206-507OC>
- Corradi M, Pignatti P, Manini P, Andreoli R, Goldoni M et al. Comparison between exhaled and sputum oxidative stress biomarkers in chronic airway inflammation. *Eur Respir J* 2004;24(6):1011-1017

- <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00002404>
Cui X, Gong J, Han H, He L, Teng Y et al. Relationship between free and total malondialdehyde, a well-established marker of oxidative stress, in various types of human biospecimens. *J Thorac Dis*. 2018 ;10(5):3088–3097 <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.05.92>
- Drent M, Cobben NA, Henderson RF, Wouters EF, van Dieijen-Visser M. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur Respir J* 1996;9(8):1736–1742 PMID:8866602
- Fabbri LM & Rabe KF. From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? *Lancet* 2007;370(9589):797–799 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61383-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61383-X)
- Fernandez Rego G, Ocio Achaerandio G, Gonzalez Cuervo V, Rodriguez Menendez C, Martinez Gonezalez C et al. Presence of acute phase response in coal workers' pneumoconiosis. *Br J Ind Med* 1991; 48(3):193–195 <https://doi.org/10.1136/oem.48.3.193>
- Gan WQ, Man SFP, Senthilselvan A, Sin DD. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax* 2004;59(7):574–580 <https://doi.org/10.1136/thx.2003.019588>
- Grob NM, Aytakin M, Dweik RA. Biomarkers in exhaled breath condensate: a review of collection, processing and analysis. *J Breath Res* 2008;2(3):037004 <https://doi.org/10.1088/1752-7155/2/3/037004>
- Gulumian M, Borm PJA, Vallyathan, Castranova V, Donaldson K et al. Mechanistically identified suitable biomarkers of exposure, effect, and susceptibility for silicosis and coal-worker's pneumoconiosis: a comprehensive review. *J Toxicol Environ Health, Part B* 2006;9(5):357–395 <https://doi.org/10.1080/15287390500196537>
- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41(12 Pt 2):1819–1828 PMID:7497639
- Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A et al (ATS/ERS Task Force on exhaled breath condensate). Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005;26(3):523–548 <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00029705>
- Inonu H, Doruk S, Sahin S, Erkorkmaz U, Celik D et al. Oxidativestress levels in exhaled breath condensate associated with COPD and smoking. *Respir Care* 2012 Mar;57(3):413–419 <https://doi.org/10.4187/respcare.01302>
- International Labour Office (ILO). Guidelines for the use of the ILO international classification of radiographs of pneumoconiosis. Revised Edition 2000. 2002 (Occupational Safety and Health Series, No. 22.) Geneva, International Labor Organization
- Karadag F, Kirdar S, Karul AB, Ceylan E. The value of C-reactive protein as a marker of systemic inflammation in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Intern Med* 2008;19(2):104–108 <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2007.04.026>
- Kirkham PA & Barnes PJ. Oxidative stress in COPD. *Chest* 2013;144(1):266–273 <https://doi.org/10.1378/chest.12-2664>
- Korean academy of tuberculosis and respiratory diseases (KATRD). Guideline for COPD and asthma. Seoul: Seoul Medcus; 2005. p26–27
- Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, Panagou P, Loukides S. Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD. *Chest* 2003; 124(4):1373–1380 <https://doi.org/10.1378/chest.124.4.1373>
- Lee JS, Shin JH, Baek JE, Jeong JY, Choi BS. Inflammation and Oxidative Stress as related to Airflow Limitation Severity in Retired Miners with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J Korean Soc Occup Environ Hyg* 2019;29(2):251–258 <http://dx.doi.org/10.15269/JKSOEH.2019.29.2.251>
- Lee JS, Shin JH, Lee YU, Baek JE, Choi BS. The serum levels of LD and CRP in patients of coal workers' pneumoconiosis with chronic obstructive pulmonary disease. *Korean J Clin Lab Sci* 2017; 49(3):214–219 <https://doi.org/10.15324/kjcls.2017.49.3.214>
- Lee JS, Shin JH, Hwang JH, Baek JE, Choi BS. Malondialdehyde and 3-nitrotyrosine in exhaled breath condensate in retired elderly coal miners with chronic obstructive pulmonary disease. *Saf Health Work* 2014;5(2):91–96 <https://doi.org/10.1016/j.shaw.2014.03.001>
- Lin JL & Thomas PS. Current perspectives of oxidative stress and its measurement in chronic obstructive pulmonary disease. *COPD* 2010;7(4):291–306 <https://doi.org/10.3109/15412555.2010.496818>
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380(9859):2095–2128 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
- Meijers JM, Swaen GM, Slangen JJ. Mortality of Dutch coal miners in relation to pneumoconiosis, chronic

- obstructive pulmonary disease, and lung function. *Occup Environ Med* 1997;54(10):708-713 <https://doi.org/10.1136/oem.54.10.708>
- Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26(2):319-338 <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00034805>
- MOEL, Ministry of Employment and Labor. Act on the prevention of pneumoconiosis and protection, etc of workers suffering from pneumoconiosis. 2017.7.26. Available from: URL: <http://law.go.kr/LSW/eng/engLsAstSc.do?enuId=1&dataCls=lsAstSc&cptOfiCd=1492000#cptOfi1492000>
- Montuschi P. Exhaled breath condensate analysis in patients with COPD. *Clinica Chimica Acta* 2005;356(1-2):22-34 <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.01.012>
- Pepys MB & Hirschfield GM. "C-reactive protein: a critical update". *J Clin Invest* 2003;111(12):1805-1812 <https://doi.org/10.1172/JCI18921>
- Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176(6):532-555 <https://doi.org/10.1164/rccm.200703-456SO>
- Schins RPF & Borm PJA. Mechanisms and mediators in coal dust induced toxicity: A review. *Am Occup Hyg* 1999;43(1):7-33 [https://doi.org/10.1016/s0003-4878\(98\)00069-6](https://doi.org/10.1016/s0003-4878(98)00069-6)
- Strassmann R, Bausch B, Spaar A, Kleijnen J, Braendli O et al. Smoking cessation interventions in COPD: a network meta-analysis of randomised trials. *Eur Respir J* 2009;34(3):634-640 <https://doi.org/10.1183/09031936.00167708>
- Su B, Liu T, Fan H, Chen F, Ding H et al. Inflammatory markers and the risk of chronic obstructive pulmonary disease: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2016;11(4):e0150586 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150586>
- Tkacova R, Kluchova Z, Joppa P, Petrasova D, Molcanyiova A. Systemic inflammation and systemic oxidative stress in patients with acute exacerbations of COPD. *Respir Med* 2007;101(8):1670-1676 <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2007.03.005>

<저자정보>

이종성(직업환경연구원 연구위원), 신재훈(직업환경연구원 책임연구원), 백진이(직업환경연구원 전임연구원), 최병순(직업환경연구원 원장)