

# 알데히드탈수소효소 2(ALDH2) 및 CYP2E1 유전자 다형성에 따른 요중 뮤콘산 농도와 요중 8-hydroxydeoxyguanosine과의 관련성

충북대학교 의과대학 예방의학교실 및 의학연구소, 전남대학교 산업의학과<sup>1)</sup>

김용대 · 강종원 · 엄상용 · 장연위 · 김성훈 · 김은영 · 이철호 · 문재동<sup>1)</sup> · 김 현

— Abstract —

## Effect of Genetic Polymorphisms of CYP2E1 and ALDH2 on the Relationship between the Levels of Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine and t,t-Muconic Acid

Yong-Dae Kim, Jong-Won Kang, Sang-Yong Eom, Yan-Wei Zhang, Sung-Hoon Kim, Eun-Young Kim, Chul-Ho Lee, Jai-Dong Moon<sup>1)</sup>, Heon Kim

Department of Preventive Medicine, College of Medicine and Medical Research Institute, Chungbuk National University, Department of Occupational and Environmental Medicine, Chonnam National University Medical School<sup>1)</sup>

**Objectives:** This study was performed to investigate the effect of genetic polymorphisms on the oxidative genetic damage caused by benzene exposure in workers.

**Methods:** We measured urinary t,t-muconic acid levels as a biomarker for benzene exposure and measured the level of urinary 8-OHdG to assess oxidative DNA damage in benzene-exposed healthy male workers. Genetic polymorphisms of ALDH2 and CYP2E1 were determined by TaqMan assay. We estimated Pearson correlation coefficients between urinary t,t-muconic acid and 8-OHdG according to the genetic polymorphisms of CYP2E1 and ALDH2.

**Results:** There was a significant relationship between urinary t,t-muconic acid and 8-OHdG concentrations in overall subjects ( $R=0.532$ ,  $p<0.001$ ). Smokers showed a higher correlation coefficient between the markers than nonsmokers did ( $R=0.520$  vs.  $0.010$ ). Individuals with CYP2E1 c1/c1 genotype also showed a higher correlation coefficient between them than those with CYP2E1 c1/c2 or c2/c2 genotypes ( $R=0.670$  vs.  $-0.145$ ). In multiple linear regression analysis including smoking status, sorbic acid intake, age and genetic polymorphisms of CYP2E1 and ALDH2 as the independent variables, urinary t,t-muconic acid showed a significant association with urinary 8-OHdG.

**Conclusions:** There was a significant correlation between urinary 8-OHdG and urinary t,t-muconic acid in benzene-exposed workers. This relationship was affected by genetic polymorphisms of CYP2E1 and ALDH2.

**Key Words:** t,t-Muconic acid, 8-Hydroxydeoxyguanosine, Genetic polymorphism, CYP2E1, ALDH2

〈접수일: 2007년 5월 10일, 채택일: 2007년 6월 13일〉

교신저자: 김 용 대 (Tel: 043-261-2845) E-mail: ydkim@chungbuk.ac.kr

\* 이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음. (KRF-2004-002-E00063)

## 서 론

휘발성 유기화합물의 일종인 벤젠은 자동차 배기가스나 흡연, 식물체를 통해 노출되거나 정유공장, 인쇄업, 합성수지 제조 과정 등에서 직업적으로 노출된다(WHO, 1987). 체내에 흡수된 벤젠은 일차적으로 간에서 CYP2E1 등의 제1상 효소들에 의해 hydroperoxide를 형성한 후 뮤콘알데히드(trans, trans-muconaldehyde)로 대사되었다가 최종적으로 뮤콘산(trans,trans-muconic acid)의 형태로 소변으로 배설된다(Rana & Verma, 2005). 한편, 제2상 효소에 의한 접합반응은 폐놀을 거쳐 glucuronide나 sulfate, 또는 glutathione 등과 접합되어 소변으로 배설되는 과정과 phenyl mercapturic acid의 형태로 대사되는 과정 등이 알려져 있다(Li et al, 2006). 이 중 벤젠의 뮤콘산 농도는 직업적인 벤젠 노출 뿐만 아니라 낮은 농도의 비직업적 벤젠 노출과도 좋은 상관관계를 보이는 지표로 알려져 있으며, 요중 폐놀 농도보다 벤젠노출에 대해 특이적인 것으로 보고되었다(Wiwanitkit et al, 2001; Kang et al, 2005; Hu et al, 2006).

Benzene epoxide를 비롯한 몇몇 벤젠 대사산물은 세포 내에서 활성산소를 생성하는 것으로 알려져 있는데 생성된 활성산소는 반응성이 매우 높아서 세포 내의 DNA에 반응하여 single-strand break나 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)을 형성한다(Pilger & Rudiger, 2006). Lagorio 등(1994)은 벤젠에 노출된 근로자들을 대상으로 시행한 연구에서 벤젠의 노출량이 요중 8-OHdG의 농도와 유의한 관련성이 있음을 보고한 바 있어, 요중 8-OHdG의 농도가 벤젠에 의한 산화적 유전자 손상 평가의 좋은 지표임을 제시하였다. 그러나 벤젠 대사에 관여하는 효소의 활성이 다르다면 같은 농도의 벤젠에 노출되었다 하더라도 그것으로부터 대사되는 대사산물의 종류와 양이 달라질 가능성이 있고, 유발되는 산화적스트레스의 정도도 달라질 가능성이 높다. 알데히드탈수소효소는 에탄올의 대사산물인 아세트알데히드를 비롯하여 각종 알데히드의 산화과정에 관여하는 효소이다. 특히, 에탄올 대사에서 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 ALDH2는 동양인의 50% 정도가 결손된 유전자형을 지니고 있는데, ALDH2 유전자형에 따라 음주 습관이 달라지는 것으로 알려져 있다. 또한, ALDH2 효소는 틴루엔을 비롯한 몇몇 유기용제의 대사과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있어서(Ginsberg et al, 2002) 이것의 유전자다형성에 따라 유기용제에 대한 감수성도 달라질 가능성이 크다. 한편, 벤젠의 대사과정에서는 뮤콘알데히드가 뮤콘산으로 대사되는 과정에 알데히드 탈수소효소가 관여하는 것으로 알려져 있어서

ALDH2의 유전자다형성이 벤젠 대사에 영향을 줄 가능성이 높다.

본 연구는 벤젠 취급 근로자들에서 벤젠의 internal biomarker로서 요중 뮤콘산 농도를 측정하고 이에 대한 early effect marker로서 요중 8-OHdG의 농도를 측정하며 이들 사이의 관련성 정도를 파악하고 이러한 관련성이 일부 벤젠 대사효소의 유전자다형성에 따라서 어떻게 달라지는지를 알아보려고 시행되었다.

## 대상 및 방법

### 1) 연구 대상

벤젠을 취급하는 정유회사 및 합성수지 제조회사, 그리고 인쇄소, 식품회사, 제약회사 등 10개 회사의 건강한 남자 근로자 92명을 연구 대상으로 하였다. 벤젠을 취급하는 공정은 주로 방향족물질의 생산공정이나, 시클로헥산 생산, 그리고 인쇄소의 인쇄기 세척작업, 의약품의 합성공정 등이었다. 모든 대상자들에게 연구내용에 관한 충분한 설명을 하였으며 이에 대해 동의를 한 대상자만 연구대상에 포함시켰다. 소변시료는 모든 작업이 완료된 직후에 채취하여 냉장상태에서 실험실로 운반한 다음 분석하였다. 설문조사를 실시하여 대상자들의 흡연여부, 24시간 이내에 sorbic acid가 함유된 음료의 복용여부를 종류별로 조사하여 분석 시에 마신 음료의 총 갯수로 보정하였다. 대상자들의 평균 나이는  $41.13 \pm 9.09$  세였으며 흡연자는 78명, 비흡연자는 14명이었다.

### 2) ALDH2 및 CYP2E1 유전자 다형성 분석

ALDH2 유전자의 결손 여부 및 CYP2E1 유전자의 5' -franking region 부위에 대한 다형성 분석을 위하여 대상자로부터 정맥혈을 채취하였고, 채취한 전혈 250  $\mu$ l에서 DNA Extractor WB Kit(Wako, Osaka, 일본)를 이용하여 genomic DNA를 추출하여  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하며 실험에 사용하였다. 추출한 DNA는 실시간 중합효소연쇄반응(real-time polymerase chain reaction; PCR)에 이용하였다. DNA 20 ng과 정해진 시발체(primer), 그리고 형광 표지된 탐침자(probe) 10 pmol, dNTP 혼합체 800  $\mu\text{M}$ ,  $\text{MgCl}_2$  1.5 mM, KCl 40 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, Taq polymerase 2.0 unit를 섞어 총 용량이 10  $\mu$ l가 되도록 PCR 반응액을 만들었다. 이것을  $92^{\circ}\text{C}$  15초,  $60^{\circ}\text{C}$  1분간 iCycler iQ<sup>™</sup> multicolor Real-Time PCR (Bio-RAD, USA)을 이용하여 40회 증폭 시키면서 형광 표지된 탐침자에 해당하는 형광 값을 관찰하여 유전자형을 정하였다. ALDH2의 시발체는 forward: 5'-cgggagttgggagtagtac-3', reverse: 5'-aggtcccacactcacagttttc-3'을 사용하였으

며, VIC-caggcatacactgaagt-NFQ와 FAM-caggcatacactaaagt-NFQ의 탐침자를 사용하여 N형과 D형을 각각 결정하였다. 한편, CYP2E1의 경우는 forward: 5'-cttcatttctcatcatattttctattatacataaagattcattgtt-3', reverse: 5'-gtttttcattctgtcttctaactgg caat-3'의 시발체와 VIC-ataggttgcaattttgtactt-NFQ, FAM-taggttgcaattttatactt-NFQ의 탐침자를 이용하여 c1 및 c2 유전자형을 각각 구분하였다.

3) 요중 8-OH-dG 농도의 측정

대상자의 요중 8-OHdG 농도는 시판되는 ELISA kit (8-OHdG CHECK, Japan Institute for the Control of Aging, Fukuroi, 일본)를 사용하여 제조사의 측정방법에 따라서 분석하였다. 대상자들의 요중 크레아티닌 농도로 보정한 값을 최종 8-OHdG의 농도로 정하였다. 제품의 사용설명서에 따르면 검출한도는 0.5 ng/mL이었다.

4) 요중 뮤콘산의 측정

벤젠 대사산물인 뮤콘산의 요중 농도는 Lee 등(2005)의 방법을 다소 보완하여 측정하였다. 소변 1.5 ml를 준비하여 4°C에서 10000 rpm으로 5 분간 원심분리 하였다. 상층액 1 ml를 취하여 2 ml 바이알에 담아 고압액체크로마토그래피 분석에 사용하였다. 표준용액과 소변시료를 Shodex사(일본)의 ODSpak 250×4.6 mm 역상 컬럼과 자외선검출기(ultraviolet detector, UVD)가 부착된 고압액체크로마토그래피에 주입하여 뮤콘산 농도를 정량하였다. 고압액체크로마토그래피는 Model SP930D 펌프(영린 기기, 한국)와 Model SIL-10ADvp 자동시료주입기(Shimadzu, 일본), 그리고 Model SPD-10Avp 자외선 검출기(Shimadzu), Autochro-

3000 Data system(영린 기기) 등으로 구성된 것을 사용하였다. 이동상 용액으로는 7% acetonitrile, 0.5% phosphoric acid 용액을 사용하였으며, 분당 0.8 ml의 속도로 흘려주었다. 자외선 검출기 파장은 259 nm를 사용하였다. 뮤콘산의 요중 농도는 요중 creatinine의 농도로 보정하였다. Lee 등(2005)에 의하면 본 측정방법의 검출한계는 5 µg/L 이었으며 within-day와 between-day 변이계수는 모두 10% 이하였다.

5) 통계분석

SPSS for Windows(Ver. 10.0) 통계 패키지를 이용하여 통계분석을 시행하였다. 흡연여부 및 유전자 다형성에 따른 요중 8-OHdG 농도와 뮤콘산 농도의 평균치 검정을 실시하였다. 또한, 요중 8-OHdG 농도와 뮤콘산 농도 사이의 관련성은 흡연량(pack-year)과 시료 채취 전 24시간 동안 섭취한 sorbic acid 함유 음료의 개수를 보정한 상태에서 편상관분석을 시행하여 검정하였다. 마지막으로 중회귀분석을 이용하여 흡연여부 및 연령, sorbic acid가 함유된 음료수의 섭취 정도, 요중 hippuric acid의 농도, 유전자 다형성 정도를 보정한 상태에서 두 변수 사이의 관련성을 검정하였다.

결 과

연구 대상자들의 흡연여부에 따른 평균 연령 및 요중 뮤콘산의 농도 그리고 요중 8-OHdG의 농도를 Table 1에 제시하였다. 요중 뮤콘산의 기하평균 농도는 흡연자와 비흡연자에서 각각 0.97과 1.05 mmol/mol creatinine으로 유의한 차이가 없었으며, 요중 8-OHdG 농도의 경우도 흡연자가 3.83으로 비흡연자의 3.56 µmol/mol creatinine보다는 다소 높았으나 통계적인 유의성은 관

**Table 1.** Means of age and geometric means and geometric standard deviations of urinary t,t-muconic acid concentrations and urinary 8-OHdG levels according to smoking status and sorbic acid intake

	N (%)	Age (years)	t,t-Muconic acid (mmol/mol creatinine)	8-OHdG (µmol/mol creatinine)
Total subjects	92 (100)	41.13±9.09	0.99 (2.10)	3.79 (1.59)
Smokers	78 (84.8)	41.45±9.24	0.97 (2.05)	3.83 (1.60)
Non-smokers	14 (15.2)	39.36±8.27	1.05 (2.49)	3.56 (1.58)
p-value*		0.431	0.406	0.621
Sorbic acid intake <sup>†</sup>	39 (42.4)	39.32±10.93	0.85 (2.01)	3.71 (1.58)
No sorbic acid intake	53 (57.6)	43.59±4.87	1.19 (2.16)	3.89 (1.61)
p-value <sup>‡</sup>		0.014	0.034	0.622

\*: Comparisons between smokers and non-smokers by Student's t-test.

†: Individuals who intake soft drink containing sorbic acid within 24 h before sampling.

‡: Comparisons between individuals who intake of sorbic acid and one who not intake of sorbic acid by Student's t-test.

찰되지 않았다. 또한, 시료 채취 24시간 이내의 sorbic acid가 함유된 음료수를 한 병 이상 섭취한 군과 섭취하지 않은 군의 요중 뮤콘산 농도는 각각 0.85와 1.19 mmol/mol creatinine으로 오히려 섭취하지 않은 군의 요중 뮤콘산 농도가 섭취한 군보다 유의하게 높은 것으로 나타났다. 그러나 이것을 흡연여부에 따라 층화시킨 후 분석한 결과에서는 양군의 차이가 없는 것으로 나타났다(자료 제시 안함). Table 2는 CYP2E1 효소와 ALDH2 효소의 유전자 다형성에 따른 요중 뮤콘산 및 8-OHdG 농도를 비교한 결과이다. CYP2E1의 c1/c1 유전자형은 c1/c2 및 c2/c2 유전자형에 비하여 요중 뮤콘산 및 요중 8-OHdG의 기하평균 농도가 다소 높게 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다. 또한, ALDH2의 활성이 없거나 적은 사람들의 경우도 활성이 높은 사람에 비해 요중 뮤콘산 및 8-OHdG 농도가 상대적으로 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 한편, 요중 뮤콘산의 농도와 요중 8-OHdG 농도는 전체 대상자들에 대해서 상관계수 0.532(p<0.001)로 유의한 관련성이 있는 것으로 나타났다(Table 3). 그러나 이들 사이의 상관관계는 흡연 여부 및 대사효소의 유전자 다형성에 따라서 달라지는 것으로 조사되었다. 흡연자들에서는 요중 뮤콘산과 8-OHdG의 농도가 상관계수 0.520(p<0.001)으로 높은 관련성을 보였던 반면, 비흡연자들에서는 유의한 관련성이 관찰되지 않았다. 또한, CYP2E1 효소의 유전자다형성의 경우에도 c1/c1 유전자형을 가진 사람의 경우에는 상관계수 0.670(p<0.001)으로 유의한 관련성을 보였으나 c1/c2 및 c2/c2 유전자형을 가진 사람은 두 인자 사이의 유의한 관련성이 나타나지 않았다. ALDH2 효소의 유전자다형성에 따라서는 NN형의 경우가 상관계수 0.570(p<0.001)으로 나타나 ND 또는 DD형을 지닌 사

람(R=0.383)에 비해 다소 높은 것으로 나타났다(Table 3). 요중 8-OHdG 농도를 종속변수로 하고 흡연여부와 나이 그리고 CYP2E1 및 ALDH2 유전자형, sorbic acid가 함유된 음료의 섭취 정도, 요중 hippuric acid의 농도, 요중 뮤콘산 농도를 독립변수로 한 다중 회귀 분석에서도 요중 뮤콘산 농도가 요중 8-OHdG 농도에 유의한 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 4).

고 찰

직업적인 벤젠 노출 근로자들의 만성건강장해로는 재생 불량성 빈혈 뿐 아니라 백혈병, 다발성 골수종 등이 포함되어 있어서 벤젠은 우리나라의 노동부 및 미국의 환경청에서 강력한 발암물질로 규정하고 있다(IARC, 1982; Vigliani & Forni, 1976; Yardley-Jones et al,

**Table 3.** Correlation coefficients between urinary t,t-muconic acid concentrations and urinary 8-OHdG levels according to smoking status and genetic polymorphisms

	N	R	p-value
Total subjects	92	0.532	< 0.001
Smoking status			
Smokers	78	0.520	< 0.001
Non-smokers	14	0.010	n.s*
CYP2E1			
c1/c1	64	0.670	< 0.001
c1/c2+c2/c2	28	-0.145	n.s.
ALDH2			
NN	67	0.570	< 0.001
ND+DD	25	0.383	n.s

\*: Not significant

**Table 2.** Geometric means and geometric standard deviations of the urinary 8-OHdG levels according to genetic polymorphisms of CYP2E1 and ALDH2 enzymes

Genes	N	Geometric mean (geometric standard deviation)	
		t,t-Muconic acid (mmol/mol creatinine)	8-OHdG (μmol/mol creatinine)
CYP2E1			
c1/c1	64	0.96 (1.99)	3.79 (1.65)
c1/c2+c2/c2	28	1.08 (2.17)	3.86 (1.46)
p-value*		0.428	0.627
ALDH2			
NN	67	0.99 (2.11)	3.63 (1.55)
ND+DD	25	1.08 (2.00)	4.19 (1.70)
p-value*		0.992	0.355

\*: Comparisons between genotypes by Student's t-test.

1991). 또한, 백혈병을 포함한 많은 암종의 발생이 산화적스트레스와 관련이 있어서 만성 벤젠 노출이 산화적스트레스를 유발하고 이것이 유전자의 손상을 유발하게 되어, 암이 발생할 가능성을 배제할 수 없다(Golding & Watson, 1999; Honda et al, 2000). 본 연구에서는 산화적 스트레스에 의한 유전자 손상의 대표적 지표인 요 중 8-OHdG의 농도를 측정하였다. 비록 유의한 차이는 아니었으나 흡연자의 경우는 비흡연자에 비해 상대적으로 높은 것으로 나타나 흡연이 산화적 스트레스를 유발한다는 다른 연구자들의 결과와 일치하였다(Kim et al, 2003; Mizoue et al, 2006).

한편, 요 중 뮤콘산의 농도는 벤젠의 대사산물 중 하나로 벤젠의 직업적인 노출에 대한 지표로 이용되어 왔다(Wiwanitkit et al, 2001; Hu et al, 2006). 그 이유 중 하나는 요 중 뮤콘산이 음료 식품의 보존제로 널리 사용되는 소르빈산 이외에는 벤젠 노출을 통해서만 배출되는 것으로 알려져 있기 때문에 다른 대사산물인 페놀보다 특이적이라는 사실 때문이다(Wiwanitkit et al, 2001; Kang et al, 2005). 본 연구에서 sorbic acid가 함유된 음료수의 섭취 여부에 따른 요 중 뮤콘산의 농도는 오히려 섭취하지 않은 사람이 섭취한 사람보다 유의하게 높은 것으로 나타났다. 그러나 대상자를 흡연여부에 따라 층화시켜 분석한 결과는 흡연자와 비흡연자 모두에서 sorbic acid 섭취 여부에 따른 요 중 뮤콘산 농도의 차이를 보이지 않아 흡연이 교란변수로 작용했을 가능성이 크다. 한편, 벤젠 노출 정도와 요 중 뮤콘산의 농도 사이에는 유의한 관련성이 없다는 연구 결과도 상당수 있어서 이들 사이의 관련성에는 다른 요인이 관여할 가능성이 높다

(Fustinoni et al, 2005; Manini, 2006). 그러한 요인 중 하나로 벤젠 대사에 관여하는 효소를 고려할 수 있다. 왜냐 하면 동일한 농도의 벤젠에 노출되었다고 하더라도 대사효소의 활성에 따라 대사경로가 달라지고 배출되는 대사산물의 종류가 달라질 것이기 때문이다. 또한, 특정 대사경로는 산화적 스트레스의 발생과 밀접한 관련이 있어서 대사효소의 활성은 벤젠노출로 인한 노출지표와 산화적 유전자 손상지표 모두에 영향을 줄 가능성이 높다.

산화적 스트레스에 의하여 생성된 8-OHdG는 GC-to-TA 유전자 돌연변이를 유발하여 각종 암발생과 관련있는 것으로 알려져 있고 산화적 스트레스에 의한 유전자 손상지표로 널리 이용된다(Kim et al, 2003; Kim et al, 2005a; Hwang & Kim, 2007). 체내에서 생성된 8-OHdG는 각종 복구효소에 의해 제거되는 것으로 알려져 있어서 소변 중의 8-OHdG의 농도는 산화적 유전자 손상정도 뿐 아니라 8-OHdG 수복효소에 의한 복구정도를 총체적으로 파악할 수 있다는 장점이 있다(Kondo et al, 2000; Kim et al, 2005a; Park et al, 2006).

벤젠을 포함한 몇몇 휘발성 유기용제의 노출은 체내에서 산화적 스트레스를 유발하는 것으로 알려져 있다(Lagorio et al, 1994; Pilger & Rudiger, 2006). 본 연구에서도 대상자들의 요 중 뮤콘산의 농도와 요 중 8-OHdG의 농도는 통계적으로 유의한 관련성을 보였다(R=0.532, p<0.001). 그러나 이러한 관련성은 흡연 여부나 벤젠 대사 효소의 유전자 다형성에 따라 달라지는 것으로 나타났다. 흡연자의 경우는 두 변수 사이의 관련성이 상관계수 0.520(p<0.001)로 전체 대상자에서보다 높은 관련성을 나타냈으나 비흡연자의 경우는 두 변수 사이의 관련성이

**Table 4.** A general linear model of urinary 8-OHdG level including two genetic polymorphisms, smoking status, sorbic acid intake, age, urinary hippuric acid and urinary t,t-muconic acid concentration as independent variables

Variables	$\beta^*$	S.E. ( $\beta$ ) <sup>†</sup>	T <sup>‡</sup>	p-value
Intercept	3.025	2.392	1.265	0.210
CYP2E1	-0.914	0.711	1.285	0.203
ALDH2	0.579	0.710	0.815	0.418
Smoking	0.254	0.908	0.280	0.780
Intake of sorbic acid	-0.241	0.317	-0.083	0.450
Age	-0.004	0.037	-0.119	0.906
Urinary hippuric acid concentration (mmol/mol creatinine)	-0.001	0.002	-0.791	0.432
Urinary t,t-muconic acid concentration (mmol/mol creatinine)	1.554	0.302	5.147	0.000

\*: Regression coefficient, †: Standard error of regression coefficient, ‡:  $\beta$ / S.E.( $\beta$ )

CYP2E1: dichotomous (c1/c1 and c1/c2 +c2/c2)

ALDH2: dichotomous (NN and ND+DD)

Smoking: dichotomous (Smoker and ex-smoker+non-smoker)

Sorbic acid intake: continuous (number of intake of soft drink containing sorbic acid within 24 h before the sampling time)

Age: continuous (year)

유의하지 않은 것으로 나타났다(Table 2). 이러한 결과는 흡연자의 경우가 비흡연자에 비해 벤젠 노출에 의한 산화적 유전자 손상에 보다 민감하다는 것을 의미한다.

CYP2E1은 벤젠 대사과정에 관여하는 효소로서 벤젠을 산화시켜 benzene oxide를 형성하기도 하지만, 벤젠과 hydroxyl radical을 반응시켜 diethyl radical을 형성하기도 하므로 hydroxyl radical의 scavenger 역할도 하는 것으로 보고되었다(Gonzalez-Jasso et al, 2003). Kim 등(2003)에 의하면, CYP2E1 c2 allele은 c1 allele에 비하여 효소활성이 높다. 본 연구의 결과에서도 CYP2E1 c1/c1 유전자형을 가진 사람에서만 요중 뮤콘산과 8-OHdG 사이에 유의한 관련성이 관찰되었다. 그러나, CYP2E1 효소의 기질로서 벤젠 이외에도 다양한 물질이 알려져 있고 그 대부분이 산화적 스트레스와 관련이 되어 있기 때문에, 본 연구의 결과만으로 그 이유를 설명하기는 매우 어렵다. 그럼에도 불구하고, 본 연구의 결과는 CYP2E1 c1/c1 유전자형을 가진 사람이 벤젠 노출에 의한 산화적 유전자 손상에 보다 민감하게 영향 받을 가능성이 있음을 시사하는 것이다.

ALDH2 효소는 알데히드를 산으로 대사하는 효소로 벤젠의 대사과정 중에 생성되는 뮤콘 알데히드를 뮤콘산으로 변화시키는 과정에 관여할 가능성이 높으나, 아직까지 명확한 증거는 알려지지 않은 상태이다. ALDH2 이외에도 여러 가지 다른 종류의 알데히드 탈수소효소 아형이 존재하기 때문이다(Vasiliou & Pappa, 2000). 본 연구에서 요중 뮤콘산 및 8-OHdG 농도는 ALDH2 효소의 유전자다형성에 따라 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 한편, 두 변수 사이의 상관성 분석에서는 ALDH2 NN type인 경우의 상관계수가 0.570( $p < 0.001$ )으로 그렇지 않은 사람( $R=0.383$ , n.s)보다 상대적으로 높았다.

본 연구의 제한점으로는 벤젠 노출과 요중 뮤콘산 농도와의 관련성에 영향을 주는 인자들의 규명이 어려웠다는 점이다. 예상했던 것과는 다르게 본 연구에서 측정된 개인별 벤젠의 노출량은 요중 뮤콘산 농도와 유의한 관련성을 보이지 않았다( $R=0.0173$ ,  $p=0.0891$ , 자료 제시 안함). 다만, 본 연구에서는 벤젠 대사산물의 일종인 요중 뮤콘산과 산화적유전자 손상과의 관련성이 특정 유전자의 다형성에 따라 달라짐을 보고하고자 한 것이며, 향후 벤젠과 요중 뮤콘산과의 관련성에 영향을 주는 인자에 대해서는 추가연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

요중 8-OHdG의 농도를 종속변수로 하고 전체 대상자들의 나이와 흡연여부, 그리고 CYP2E1 및 ALDH2 유전자 다형성, sorbic acid 함유 음료의 섭취정도, 요중 hippuric acid의 농도, 요중 뮤콘산의 농도를 독립변수로 하여 중회귀분석을 실시한 결과에서도 요중 뮤콘산의 농도는 요중 8-OHdG의 농도와 유의한 관련성이 있는

것으로 나타났다. 본 연구의 결과는 요중 뮤콘산의 농도가 벤젠 노출 이외에 다양한 인자들의 영향을 받을 가능성을 시사해주지만, 요중 뮤콘산의 농도를 증가시키는 다양한 요인에 의한 노출은 유전자에 산화적 손상을 증가시키고 이로 인한 각종 질병발생의 위험이 커질 가능성을 시사해준다. 또한 이들 사이의 관련성은 흡연 여부 및 CYP2E1 효소의 유전자 다형성에 따라서 달라지는 것으로 확인되어, 향후 벤젠 노출로 인한 산화적 스트레스의 평가에서 흡연 여부 및 ALDH2, CYP2E1 효소의 유전자 다형성이 반드시 고려되어야 할 것으로 판단된다.

## 요 약

**목적:** 벤젠 취급 근로자들에서 요중 뮤콘산 농도와 요중 8-OHdG의 농도 사이의 관련성 정도를 파악하며 이러한 관련성이 일부 벤젠 대사효소의 유전자다형성에 따라서 어떻게 달라지는지를 알아보려고 본 연구를 시행하였다.

**방법:** 벤젠을 취급하는 정유회사와 합성수지 제조회사, 그리고 인쇄소, 식품회사, 제약회사 등 10개 회사의 건강한 남자 근로자 92명을 연구 대상으로 하였고 이들의 요중 뮤콘산의 농도를 HPLC의 방법으로 측정하였으며, 요중 8-OHdG를 측정하여 산화적 유전자 손상 정도를 평가하였다. 또한 ALDH2 및 CYP2E1 유전자다형성을 TaqMan assay의 방법으로 조사하였다. 상관분석을 실시하여 두 변수사이의 관련성을 평가하였으며, 중회귀분석을 실시하여 연령, 흡연여부, 유전자다형성을 보정한 상태에서의 두변수 사이의 관련성을 파악하였다.

**결과:** 요중 뮤콘산의 농도와 요중 8-OHdG 농도사이의 상관계수가 0.532( $p < 0.001$ )으로 유의한 관련성이 있는 것으로 나타났다. 특히, 흡연자이거나 CYP2E1 c1/c1 유전자형인 사람들의 경우는 이 상관계수가 각각 0.520( $p < 0.001$ )과 0.670( $p < 0.001$ )으로 높은 관련성을 보였다. 한편, 요중 8-OHdG의 농도를 종속변수로 하고 흡연여부와 나이 그리고 CYP2E1 및 ALDH2 유전자형, sorbic acid 함유 음료의 섭취 정도, 요중 뮤콘산의 농도 등을 독립변수로 한 다중 회귀 분석에서도 요중 뮤콘산의 농도는 유의하게 요중 8-OHdG의 농도와 관련성이 있는 것으로 나타났다.

**결론:** 벤젠 노출량이 증가하면 산화적 스트레스도 따라서 증가함을 확인하였다. 또한 이들 사이의 관련성은 흡연 여부 및 CYP2E1, ALDH2 유전자 다형성에 따라서 달라지는 것으로 확인되었다. 따라서, 벤젠 노출로 인한 산화적 스트레스의 평가시에는 흡연 여부 및 CYP2E1, ALDH2 효소의 유전자 다형성이 반드시 고려되어야 할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음. (KRF-2004-002-E00063)

## 참고문헌

- Fustinoni S, Buratti M, Campo L, Colombi A, Consonni D, Pesatori AC, Bonzini M, Farmer P, Garte S, Valerio F, Merlo DF, Bertazzi PA. Urinary t,t-muconic acid, S-phenylmercapturic acid and benzene as biomarkers of low benzene exposure. *Chem Biol Interact* 2005;153-154:253-6.
- Ginsberg G, Smolenski S, Hattis D, Sonawane B. Population distribution of aldehyde dehydrogenase-2 genetic polymorphism: implications for risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol* 2002;36(3):297-309.
- Golding BT, Watson WP. Possible mechanisms of carcinogenesis after exposure to benzene. *IARC Sci Publ* 1999;(150):75-88.
- Gonzalez-Jasso E, Lopez T, Lucas D, Berthou F, Manno M, Ortega A, Albores A. CYP2E1 regulation by benzene and other small organic chemicals in rat liver and peripheral lymphocytes. *Toxicol Lett* 2003;144(1):55-67.
- Honda M, Yamada Y, Tomonaga M, Ichinose H, Kamihira S. Correlation of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), a biomarker of oxidative DNA damage, and clinical features of hematological disorders: a pilot study. *Leuk Res* 2000;24:461-8.
- Hu XM, Song SZ, Ye FL, Liu LW. High-performance liquid chromatographic determination of urinary trans, trans-muconic acid excreted by workers occupationally exposed to benzene. *Biomed Environ Sci* 2006;19(4):292-6.
- Hwang ES, Kim GH. Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research. *Toxicology* 2007;229:1-10.
- Kang SK, Lee MY, Kim TK, Lee JO, Ahn YS. Occupational exposure to benzene in South Korea. *Chem Biol Interact* 2005;153-154:65-74.
- Kim YD, Lee CH, Nan HM, Kang JW, Kim H. Effects of genetic polymorphisms in metabolic enzymes on the relationships between 8-hydroxydeoxyguanosine levels in human leukocytes and urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations. *J Occup Health* 2003;45:160-7.
- Kim YD, Ko YJ, Kawamoto T, Kim H. The effects of 1-nitropyrene on oxidative DNA damage and expression of DNA repair enzymes. *J Occup Health* 2005a;47:261-6.
- Kim YD, Oyama T, Isse T, Kim H, Kawamoto T. Expression levels of hepatic cytochrome P450 enzymes in Aldh2-deficient mice following ethanol exposure: a pilot study. *Arch Toxicol* 2005b;79:192-5.
- Kondo S, Toyokuni S, Tanaka T, Hiai H, Onodera H, Kasai H, Imamura M. Overexpression of the hOGG1 gene and high 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) lyase activity in human colorectal carcinoma: regulation mechanism of the 8-OHdG level in DNA. *Clin Cancer Res* 2000;6:1394-400.
- Lagorio S, Tagesson C, Forastiere F, Iavarone I, Axelson O, Carere A. Exposure to benzene and urinary concentrations of 8-hydroxydeoxyguanosine, a biological marker of oxidative damage to DNA. *Occup Environ Med* 1994;51:739-43.
- Lee BL, Ong HY, Ong YB, Ong CN. A sensitive liquid chromatographic method for the spectrophotometric determination of urinary trans,trans-muconic acid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005;818:277-83.
- Li Y, Li AC, Shi H, Junga H, Jiang X, Naidong W, Lauterbach JH. Determination of S-phenylmercapturic acid in human urine using an automated sample extraction and fast liquid chromatography-tandem mass spectrometric method. *Biomed Chromatogr* 2006;20:597-604.
- Manini P, De Palma G, Andreoli R, Poli D, Mozzoni P, Folesani G, Mutti A, Apostoli P. Environmental and biological monitoring of benzene exposure in a cohort of Italian taxi drivers. *Toxicol Lett* 2006;167:142-51.
- Mizoue T, Kasai H, Kubo T, Tokunaga S. Leanness, smoking, and enhanced oxidative DNA damage. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:582-5.
- Park SY, Lee KH, Kang D, Lee KH, Ha EH, Hong YC. Effect of genetic polymorphisms of MnSOD and MPO on the relationship between PAH exposure and oxidative DNA damage. *Mutat Res* 2006;593:108-15.
- Pilger A, Rudiger HW. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environmental exposures. *Int Arch Occup Environ Health* 2006;80:1-15.
- Rana SV, Verma Y. Biochemical toxicity of benzene. *J Environ Biol* 2005;26(2):157-68.
- Vasiliou V, Pappa A. Polymorphisms of human aldehyde dehydrogenases. Consequences for drug metabolism and disease. *Pharmacology* 2000;61:192-8.
- Vigliani EC, Forni A. Benzene and leukemia. *Environ Res* 1976;11:122-7.
- Wiwanitkit V, Suwansaksri J, Nasuan P. Urine trans,trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure in gas station attendants in Bangkok, Thailand. *Ann Clin Lab Sci* 2001;31(4):399-401.
- WHO. Air Quality Guidelines for Europe. European Series No. 23: WHO Regional Publications. Copenhagen. 1987.
- Yardley-Jones A, Anderson D, Parke DV. The toxicity of benzene and its metabolism and molecular pathology in human risk assessment. *Br J Ind Med* 1991;48:437-44.