

한국인의 스티렌 대사와 관련된 Cytochrome P450 II E1의 유전적 다형성

인제대학교 의과대학 예방의학교실 및 산업의학교실

이창희 · 전진호 · 박준한 · 강동묵 · 김대환 · 문덕환 · 이채언

— Abstract —

CYP2E1 Genetic Polymorphism relating to Styrene Metabolism of Korean Workers

Chang Hee Lee, Jin Ho Chun, Jun Han Park, Dong Mug Kang,
Dae Hwan Kim, Deog Hwan Moon, Chae Un Lee

Department of Preventive and Occupational Medicine, College of Medicine, Inje University

The goal of this study is to observe the associations between the metabolic phenotype by personal exposure and urinary metabolites and genetic polymorphism of CYP2E1 which is known to be related with styrene metabolism. To complete this study, the author executed a battery of tests on 46 workers who were working at laminating department of fiberglass-reinforced plastics (FRP) industry located in Pusan and Kyungnam area during April to June 1998. Those were - (1) personal exposure assessment with organic vapour monitor and gas chromatography, (2) measurement of urinary metabolites - mandelic acid (MA) and phenylglyoxylic acid (PGA) - with high performance liquid chromatography (HPLC), (3) CYP2E1 genotyping with PCR and restriction fragment length polymorphism (RFLP) using Dra I and Rsa I, and (4) questionnaire survey for some individual characteristics.

Study subjects were composed of 32 men and 14 women, and whose average age was 39.4 years, average tenure was 7.7 years.

Each concentration expressed by geometric mean(range) was as follows: air styrene 15.6(3.1-81.0) ppm, urinary MA 187.8(36.8-1007.2) mg/g creatinine, PGA 232.8(46.8-1075.7) mg/g creatinine. Correlation coefficients between air styrene were MA 0.54, PGA 0.37, MA+PGA 0.54 ($p<0.05$). The relative frequency of CYP2E1 mutant allele was 45.7%(Dra I 43.5%, Rsa I 37.0%), and homozygous mutant type (M/M) was not observed.

The value of (geometric mean of (air styrene/urinary metabolites)) \times 1000 according to genotype was significantly higher in mutant type than wild type ($p<0.05$), as in case of MA, mutant type 106.4 and wild type 84.4, and in case of MA+PGA, mutant type 84.4 and wild type 55.6.

The value of air styrene_{TLV-TWA}/urinary metabolites_{BEI} was used as a cut-off value of classifying phenotype. That is, the value of air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA_{BEI} ≥ 0.063 and air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA+PGA_{BEI} ≥ 0.048 was classified as poor metabolizer, and, the value of air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA_{BEI} < 0.063 and air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA+PGA_{BEI} < 0.048 was classified as extensive metabolizer. As the result, the frequency of poor metabolizer was higher in mutant type than wild type with no statistical significance (p>0.05), as in case of MA, mutant type 66.7% and wild type 48.0%, and in case of MA+PGA, mutant type 81.0% and wild type 56.0%. These results suggests that CYP2E1 mutant allele has a tendency toward the poor metabolizer.

This study has several limitations as small sample size, and no considerations on work intensity, alcohol habit, obesity, etc which can affect styrene metabolism. However, this study is of value because this is first study to propose the fundamental data about associations between exposure level, biological monitoring, and CYP2E1 genetic polymorphism in Korean workers dealing with pure styrene. To improve accuracy of the study, that means, to applicate the result of this study on the personal risk assessment of styrene workers, larger sample size and consideration for confounders are needed.

Key Words : Styrene, Metabolic phenotype, CYP2E1, Genetic polymorphism

서 론

스티렌은 산업현장에서 널리 사용되며 주로 신경계 영향을 비롯하여 염색체 이상, 생식기능 장애, 발암효과 등의 위해작용을 지녀 산업의학 분야에서 관심의 대상이 되는 물질이다. 초기에는 주로 합성 고무 등의 원료로 많이 사용되었으나 최근에는 플라스틱, 폴리스티렌, 폴리에스테르와, 유리섬유 강화수지(fiberglass-reinforced plastics, FRP)의 제조 등, 산업전반에 걸쳐 이용되고 있다(WHO, 1983; 조규상, 1991; 노동부, 1994).

산업의학적으로 현재 스티렌의 폭로는 FRP 제조 과정에서 가장 빈번히 이루어지며, 체내 흡수는 주로 호흡기를 통하여 이루어진다(Ikeda 등, 1982; Galassi 등, 1993; Ong 등, 1994). 체내로 흡수된 스티렌은 1차적으로 styrene 7,8-oxide로 전환되고, epoxide hydrxoylase에 의하여 가수분해되어 styrene glycol로 변형된 다음, 대부분(85%) mandelic acid(MA)의 형태로, 나머지는 phenylglyoxylic acid(PGA)와 hippuric acid(HA)의 형태로 뇨를 통하여 배설된다(WHO, 1983; 이창희 등, 1996; 김기웅 등, 1997). 따라서 최근까지의 스티렌 폭로에 대한 생물학적감시는 이들 뇨중 대사산물을 측정하는 방법으로 이루어져 왔으며, 뇨중

배설량의 분율에 의거하여 그 중 MA가 가장 많이 이용되어 왔다.

음식물이나 약물 섭취의 개체차와, 기존의 많은 연구에서 지적된 것처럼 외인성물질을 대사하는 개인의 대사 능력 차이로 인하여(Jotshy 등, 1977; Breimer, 1983; Harris, 1989) 뇨중 MA의 측정만으로는 스티렌 폭로에 대한 생물학적 감시가 충분하지 못한 것으로 평가되고 있기도 하다.

외인성물질에 대한 개체의 대사능(metabolic capacity) 차이에 대하여는 예를 들어, 어떤 물질의 대사산물의 독성이 원래 물질보다 크다고 할 때 대사가 빠르게 이루어지면 유해작용이 커지게 될 것이며, 반대로 대사가 느리게 이루어지면 유해작용이 오히려 더 적어질 것이란 설명이 가능하다(Barbeau 등, 1985; Poirier 등, 1987; Nebert, 1991; 이명학 등, 1994). 이러한 설명은 스티렌의 경우에도 해당할 수 있으며, 따라서 절대 폭로량 뿐만 아니라 개체의 대사능에 따라서 신경계 등에 미치는 영향이 좌우될 것으로 여겨진다.

현재 시행되고 있는 폭로량과 뇨중 대사산물의 측정에 의한 생물학적감시만으로는 개개인에 미치는 영향을 정확히 평가하는데 다소 미흡한 점이 있는 듯하며, 이를 보완하기 위하여 몇몇 연구자는 스티렌 대사와 관련한 cytochrome P450(CYP450)의 작용기전과 동위효소(isozymes)의 유도 등에 대한

연구를 수행한 바 있다(Nakajima 등, 1994; Nedelcheva, 1996; Kim 등, 1997). 즉 최근 분자생물학적, 유전약물학적 연구에 의하여 많은 외인성물질이 CYP450 효소계에 의하여 대사됨이 밝혀지고(Pelkonen과 Raunio, 1995; Nakajima, 1997), 스티렌 대사에는 CYP450 2E1(CYP2E1)이 주로 관여하는 것으로 알려지게 되었다.

스티렌에 관한 연구는 노중 MA의 측정 등, 스티렌 대사능의 표현형에 대한 것이 대부분이었으며(Galassi 등, 1993; 강성규 등, 1993; 이창희 등, 1996) 대사능의 유전형에 관한 연구는 거의 동물실험의 단계에 머무르고 있을 뿐 본 연구에서처럼 직접 스티렌 취급 근로자를 대상으로 하여 CYP2E1의 유전적다형성을 구명하고자 한 연구는 없다.

최근 중합효소연쇄반응법(PCR)과 제한효소를 이용한 유전적다형성(genetic polymorphism) 구명이 비교적 용이하게 이루어지게 되었으며 이에 힘입어 특정물질을 대사하는 효소계의 유전적다형성과 대사표현형(metabolic phenotype) 간의 관련성 연구가 가능하게 되었다. 이에 연구자는 한국인 스티렌 취급 근로자를 대상으로 개인폭로량, 생물학적 감시 중 노중 대사산물 측정을 통한 대사표현형, 그리고 스티렌 대사에 관여하는 것으로 알려진 CYP2E1의 유전적다형성을 관찰하여 그 관련성을 파악해 보고자 하며, 이와 관련한 기초자료를 산생하며 이를 근거로 스티렌 폭로에 대한 총체적 관리를 제안하여 궁극적으로는 동 물질을 취급하는 근로자의 건강관리에 일조하고자 한다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 조사에서는 부산·경남지역에 위치한 5개 FRP 제조업체의 적층부서 근로자 55명을 대상으로 하였으며 이들로부터 조사를 시행한 결과 모두에서 완전한 답을 얻을 수 있었던 46명을 최종 연구대상자로 하였다. FRP 제조사업장은 그 제조공정이 거의 순수한 스티렌 폭로로 간주될 수 있고 대부분 규모가 작고 환경이 열악하며 사업주와 근로자의 인식 부족으로 대상자 확보에 많은 어려움이 있었다.

연구결과를 교란시킬 가능성이 있는 개인적인 특성들(교란요인)에 대한 통제를 목적으로 연구자가

직접 1:1 설문조사를 병행하여 개인정보를 추가로 얻었다. 설문내 내용은 성, 연령, 키와 몸무게, 교육정도 등의 기본적인 사항, 직업력과 과거 질병력, 작업시 보호구에 관한 사항, 흡연과 음주 상태 등이었다.

2. 연구방법

1) 개인폭로량 평가

Passive air sampler(Organic Vapour Monitor #3500, 3M, St Paul, Minnesota, USA)를 가능한 한 근로자의 호흡기와 가까운 위치에 착용시켰다. 근무가 시작된 후 1시간 정도 지난 시점인 오전 9시 경에 착용하였으며, 작업이 종료될 즈음인 오후 5시경에 탈착하였다. 포집된 스티렌은 NIOSH method에 의거 이황화탄소(CS_2) 1 ml에 30분간 방치한 후 정량분석하였다(NIOSH, 1984). 정량분석에는 가스크로마토그래피(Hitachi G-3000 Model)를 이용하였으며 이때 사용하였던 검출기는 flame ionization detector(FID)으로 하였고, 분석조건으로 Column온도는 100℃, 주입구와 검출기 온도는 250℃, 유량은 2.5 kgf/cm², column은 OV-1 capillary(GL Science)를 사용하였다.

2) 노중 대사산물 평가

노시료를 오후 5시경 passive air sampler의 탈착과 함께 채취하였고 Chua 등(1993)의 방법을 이용하여 노중 대사산물 MA, PGA를 측정하였다. 전처리과정으로 요 200 μ 를 20 μ 의 o-methyl hippuric acid(2 mg/l)와 60 mg의 NaCl로 포화시키고 6 N HCl 20 μ 로 산성화시킨 후, 잘 섞어 800 μ 의 ethyl acetate를 첨가하고, 2분간 혼합하여 12000 rpm에서 2분간 원심분리 시켰다. 상층을 0.5 ml를 알루미늄 호일로 둘러싼 튜브로 취하고 70℃에서 천천히 건조시켰다. 잔여물을 0.5 ml의 이동상으로 녹인 후 20 μ 를 채취하여 고속액체크로마토그래피(HPLC)에 주입하였다.

분석기기는 dual pump(Toso Co. CCPM)와 UV-Vis detector(Toso Co. UV-8010)가 부착된 HPLC, data system(Toso Co. SC-8010), spectrophotometer(Beckman)를 사용하였다. 분석조건은 칼럼은 Lichrosorb RP-18(10 μ m), 충전제는 octadecylsilan(10 μ m), 용리액의 유속은 0.8

ml/min, 시료부피는 20 μ 로 하였으며 검출과장은 257 nm을 사용하였다. 이동상은 water, methanol, acetic acid의 비는 90:10:0.5%(V/V)용액으로 하였다. 뇨중 대사산물의 보정을 위한 뇨중 creatinine은 자동생화학 분석기(AU5200, Olympus, Japan)를 사용하여 측정하였다.

3) 대사표현형 평가

측정된 기중 스티렌농도를 뇨중 MA 및 MA+PGA 농도로 나눈 값(대사비)을 대사표현형 평가의 기준으로 삼았으며, 정규성 검정결과 치우친 분포(skewed distribution)를 나타내어, 대수변환하여 이용하였다. 또한 기중 스티렌의 ACGIH의 시간가중허용농도(Threshold Limit Value-Time Weighted Average, TLV-TWA)인 50 ppm과 스티렌 대사산물 MA에 대한 ACGIH의 생물학적 폭로지표(biological exposure index, BEI)인 800 mg/g creatinine, 스티렌 대사산물 MA+PGA에 대한 BEI의 합인 1040 mg/g creatinine을 대사비의 선별기준으로 사용하였으며, 이를 근거로 $\text{air styrene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA}_{\text{BEI}} \geq 0.063$ 과 $\text{air styrene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA+PGA}_{\text{BEI}} \geq 0.048$ 을 지연대사형(poor metabolizer, PM)으로, $\text{air styrene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA}_{\text{BEI}} < 0.063$ 과 $\text{air styrene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA+PGA}_{\text{BEI}} < 0.048$ 을 신속대사형(extensive metabolizer, EM)으로 각각 구분하였다.

4) 유전적다형성 평가

최근까지 CYP2E1의 유전적다형성에 관하여는 2가지의 제한효소분석(restriction fragment length polymorphism, RFLP) 결과가 보고되어 있다. 하나는 CYP2E1의 5'-전사조절 영역에 위치한 *Rsa I* (GT↓AC) 또는 *Pst I* (CTGCA↓G) 제한효소 인식소에 대한 유전적 다형성(Umeno 등, 1988)이며, 다른 하나는 CYP2E1의 intron 6에 위치한 *Dra I* (TTT↓AAA) 제한효소 인식소에 대한 유전적다형성이다(Uematsu 등, 1991a). 본 연구에서는 동일한 대상자의 DNA에 대하여 2가지의 RFLP를 모두 적용하여 실험을 진행하였다.

(1) DNA 추출

약 5ml의 전혈로부터 DNA를 추출하였다. 적량

의 lysis buffer와 증류수를 이용하여 백혈구를 용해시킨 후, RNase와 proteinase K를 가한 다음, phenol/chloroform/water 용액과 sodium chloride, ethanol을 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA를 다시 증류수에 녹여 260 nm의 흡광도를 이용하여 UV spectrophotometry로 정량한 다음, 실험에 임할 때까지 -20℃에 보관하여 사용하였다.

(2) PCR for CYP2E1 genotyping

Dra I RFLP를 위한 PCR은 CYP2E1의 Intron 6에 위치한 제한효소 인식소를 이용하기 위하여 Primer 701과 Primer 703을 이용하였고(Umeno 등, 1988; Uematsu 등, 1991a), *Rsa I* RFLP를 위한 PCR은 5'-전사조절 영역에 위치한 제한효소 인식소를 이용하기 위하여 Primer 615와 Primer 616을 이용하였다(Umeno 등, 1988; Uematsu 등, 1991a; Hayashi 등, 1991). PCR의 조건은 다음과 같다. 0.5 ml eppendorf tube에 buffer (Tris HCl 10 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 2 mM, pH 8.3) 5.0 μ , 1.875 mM dNTP(Pharmacia, Piscataway, NJ, USA) 8.0 μ , 8.0 pmol/ μ 의 primer 701, primer 703 각 5.0 μ , Taq polymerase(Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) 2.5 units, genomic DNA 0.1 μ (0.1 μ g)과 증류수 30.5 μ 를 가하여 총 50 μ 를 만든 다음, 증발을 막기 위해 mineral oil 50 μ 를 중층하고 Thermal cycler(Ericomp, USA)에서 94℃ 4분 동안 1 cycle 폭로시킨 다음, denaturation 94℃ 1분, annealing 63℃ 1분, extension 72℃ 1분의 과정을 35 cycle 반복한 후, 72℃ 4분 1 cycle을 거쳐 PCR을 완성하였다. 완성된 PCR 산물은 2.2% agarose gel에 전기영동한 다음, ethidium bromide 염색을 하여 UV light box에서 관찰하였으며 관찰된 밴드의 크기는 995 bp(*Dra I*)와 412 bp(*Rsa I*)이었다. PCR의 개략도는 Fig. 1, Fig. 2와 같다.

(3) *Dra I* and *Rsa I* RFLP for CYP2E1 Genotyping

Genotyping을 위한 RFLP는 *Dra I*과 *Rsa I* (New England Biolab, Beverly, MA, USA) 5.0 units와 buffer(90 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol)를 이용하여 37℃ 에서 18시간 시행

하였으며 결과는 Gel marker(New England 100 bp)와 함께 2.2% agarose gel에 전기영동한 Biolab, USA; 1000, 800, 500, 400, 300, 200, 다음, ethidium bromide 염색을 하여 UV light

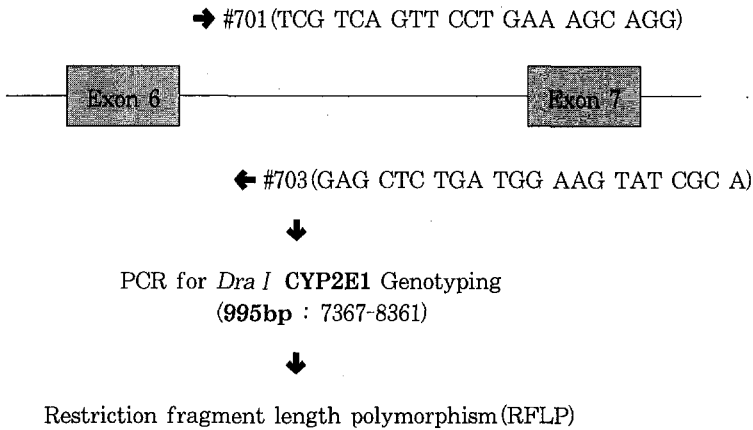


Fig. 1. Strategy of PCR and *Dra* I RFLP for CYP2E1(T→A7668) genotyping.

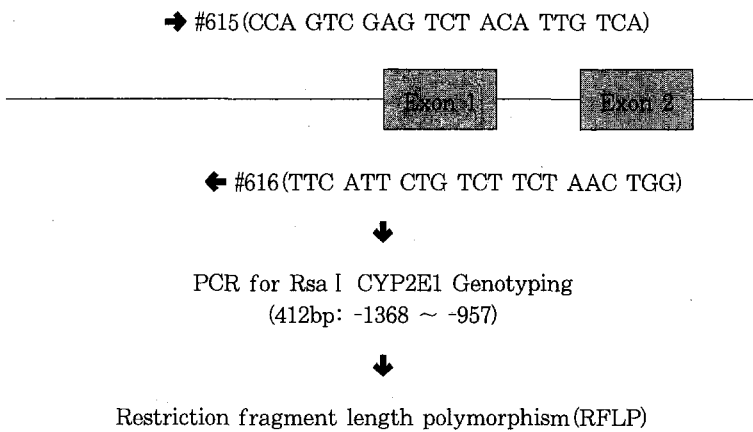


Fig. 2. Strategy of PCR and *Rsa* I RFLP for CYP2E1 genotyping.

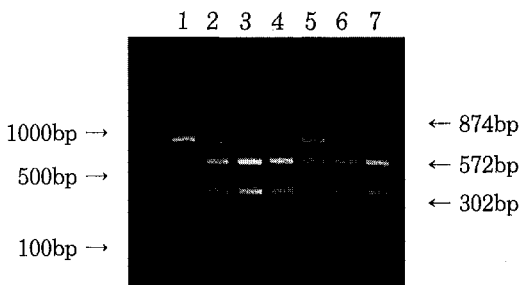


Fig. 3. Result of *Dra* I RFLP for CYP2E1 genotyping.
 1 : Homozygous mutant type(MM) = 874, 121 bp
 2, 3, 4, 6, 7 : Homozygous wild type(WW) = 572, 302, 121 bp
 5 : Heterozygous mutant type(WM) = 874, 572, 302, 121 bp

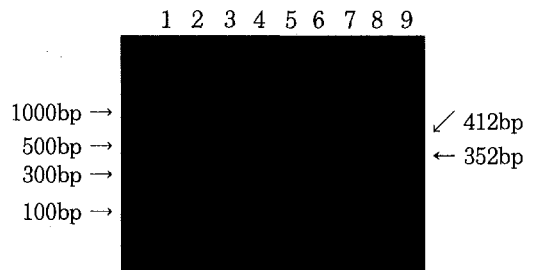


Fig. 4. Result of *Rsa* I RFLP for CYP2E1 genotyping.
 1, 3, 4, 5, 6, 7 : Homozygous wild type(WW) = 352, 60 bp
 2, 8, 9 : Heterozygous mutant type(WM) = 412, 352, 60 bp

box에서 관찰했다. 관찰되는 밴드의 크기는 Fig. 3, Fig. 4과 같다.

3. 통계분석

실험 결과와 설문지에 의하여 얻어진 자료는 Microsoft Excel 97을 이용하여 전산입력하였다. 자료는 의학적 근거 또는 분포에 따라 연속변수 상태로, 혹은 그 특성에 맞게 범주화하여 빈도를 산출하였으며, 각 농도(기중 스티렌, 뇨중 MA, PGA, MA+PGA)는 대수변환 후 기하평균을 구하였다.

Table 1. General characteristics of subjects (n=46)

Characteristics	Frequency (%)	
Gender	Male	32 (69.9)
	Female	14 (30.4)
Age (Years)	under 30	10 (21.7)
	30 - 39	13 (28.3)
	40 - 49	17 (37.0)
	over 49	6 (13.0)
	(Mean±SD)	39.4 ± 10.0
Tenure (Years)	under 1	7 (15.2)
	1 - 5	18 (39.1)
	6 - 10	10 (21.7)
	over 10	11 (23.9)
	(Mean±SD)	7.7 ± 7.2
Education (Years)	under 6	9 (19.6)
	7 - 9	13 (28.3)
	10 - 12	22 (47.8)
	over 12	2 (4.3)
	(Mean±SD)	10.2 ± 2.6
Smoking	No	21 (45.7)
	Yes	25 (54.3)
Drinking	No	18 (39.1)
	Yes	28 (60.9)

Table 3. Correlations between air styrene and urinary metabolites

Parameters	MA	PGA	MA+PGA
Styrene in breathing zone (ppm)	0.54**	0.37*	0.54**
Urinary MA (mg/g cr)		0.67**	0.99**
Urinary PGA (mg/g cr)			0.74**

*; p<0.05, **; p<0.01 (Statistical significance was tested by correlation analysis.)
cr; creatinine

각 농도간의 상관분석을 시행하였으며 유전대사형에 따른 대사비의 차이를 비교하였다. 모든 분석은 SAS(ver 6.12)를 이용하여 시행하였다.

연구결과

1. 연구 대상자의 일반적 특성

대상자는 46명으로 전원 FRP 제조업체의 적층부서에 종사하는 근로자이며, 구체적으로는 소형선박 제조공정 32명, 자동차 환기통 제조공정 5명, 냉각탑 제조공정 4명, 사료 저장탑 제조공정 3명, 아파트 건축자재 제조공정 2명이었다. 남녀 구성비는 남자 32명, 여자 14명이었고, 평균연령은 39.4세였으며, 평균근무년수는 7.7년, 흡연률과 음주율은 각각 54.3%, 60.9%였다(Table 1).

2. 공기중 스티렌 농도와 뇨중 대사산물 농도

각 농도의 기하평균과 범위는 공기중 스티렌은 15.64ppm(3.14~80.97), 뇨중 MA는 187.79mg/g creatinine(36.83~1007.19), PGA는 42.52mg/g creatinine(6.32~101.29), 그리고 MA+PGA는 232.76mg/g creatinine(46.76~1075.65)이었다(Table 2).

Table 2. Level of styrene exposures and urinary metabolites

Parameters	GM (Range)
Styrene in Air (ppm)	15.6 (3.1 - 81.0)
Urinary MA (mg/g cr)	187.8 (36.8 - 1007.2)
Urinary PGA (mg/g cr)	42.5 (6.3 - 101.3)
Urinary MA+PGA (mg/g cr)	232.8 (46.8 - 1075.7)

GM: Geometric Mean, cr: creatinine

Table 4. CYP2E1 genotypes and air styrene/urinary metabolites

Restriction enzymes	Frequency (%)	GM of air styrene/urinary metabolites (range) [†]	
		MA	MA+PGA
<i>Dra I</i>			
W/W	26 (56.5)	69.9 (25.9-272.5)	56.7 (21.5-177.3)
W/M	20 (43.5)	106.2 (32.2-334.5)*	84.2 (27.5-250.9)*
<i>Rsa I</i>			
W/W	29 (63.0)	71.4 (25.9-272.5)	57.8 (21.5-208.0)
W/M	17 (37.0)	110.8 (43.7-334.5)*	88.0 (32.7-250.9)*
Mutation			
No	25 (54.3)	68.6 (25.9-272.5)	55.6 (21.5-177.3)
Yes	21 (45.7)	106.4 (32.2-334.5)*	84.4 (27.5-250.9)*

*: P<0.05 (Statistical significance was tested by student t test.)

[†]: geometric mean (range) × 1000

Table 5. CYP2E1 genotypes and air styrene_{TLV-TWA}/urinary metabolites_{BEI}

Restriction enzymes	Air styrene _{TLV-TWA} /urinary MA _{BEI}		Air styrene _{TLV-TWA} /urinary MA+PGA _{BEI}	
	PM _{MA} (%)	EM _{MA} (%)	PM _{MA+PGA} (%)	EM _{MA+PGA} (%)
<i>Dra I</i>				
W/W	13 (50.0)	13 (50.0)	15 (57.7)	11 (42.3)
W/M	13 (65.0)	7 (35.0)	16 (80.0)	4 (20.0)
<i>Rsa I</i>				
W/W	15 (51.7)	14 (48.3)	17 (58.6)	12 (41.4)
W/M	11 (64.7)	6 (35.3)	14 (82.4)	3 (17.6)
Mutation				
No	12 (48.0)	13 (52.0)	14 (56.0)	11 (44.0)
Yes	14 (66.7)	7 (33.3)	17 (81.0)	4 (19.0)

TLV-TWA: threshold limit value-time weighted average, BEI: biological exposure index

PM: poor metabolizer, EM: extensive metabolizer

PM_{MA}: air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA_{BEI} ≥ 0.063, EM_{MA}: air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA_{BEI} < 0.063

PM_{MA+PGA}: air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA+PGA_{BEI} ≥ 0.048

EM_{MA+PGA}: air styrene_{TLV-TWA}/urinary MA+PGA_{BEI} < 0.048

No statistical significance by chi-square test.

3. 공기중 스티렌 농도, 뇨중 대사산물간의 상관관계

공기중 스티렌 농도와 뇨중 대사산물 간의 상관관계는 공히 통계적으로 유의한 상관관계를 보였으며, 공기중 스티렌 농도와 MA, MA+PGA 농도간의 상관관계수가 0.54로, PGA 농도와의 상관관계수 0.37보다는 다소 높은 상관성을 보였다(Table 3)(p< 0.01).

4. CYP2E1 유전형에 따른 공기중 스티렌/요중 대사산물의 값 비교

CYP2E1의 유전적다형성에서 변이형의 발현률은 *Dra I* RFLP의 경우 43.5%, *Rsa I* RFLP의 경우 37%였고, 전체적으로는 45.7%에서 변이형을 나타냈으며, homozygous mutant type(M/M)은 관찰되지 않았다. CYP2E1의 유전형에 따른 공

기중 스티렌/요중 대사산물의 값은 기하평균을 구하고 이해를 용이하게 하기 위하여 1000을 곱하여 표시하였다.

변이형에서 각각의 기하평균은 공기중 스티렌/요중 MA = 106.4, 공기중 스티렌/요중 MA+PGA = 84.4, 야생형에서 공기중 스티렌/요중 MA = 68.6, 공기중 스티렌/요중 MA+PGA = 55.6로 변이형에서 야생형보다 통계적으로 유의하게 높았다(Table 4)($p < 0.05$).

5. 허용농도/생물학적 폭로지표 비에 따른 표현형과 유전형과의 관계

Air styrene_{TLV-TWA}/urinary metabolites_{BEI} 선별기준에 의한 표현형과 유전형과의 관계는 통계적으로 유의하지는 않았으나 변이형에서의 PM 분율이 MA의 경우 66.7% MA+PGA의 경우 81.0%로 야생형에서의 PM분율 MA 48.0%, MA+PGA 56.0%보다 각각 많았다(Table 5).

고 찰

스티렌을 취급하는 근로자 수는 유럽공동체국가에 서만 10만명이 넘으며(Murer 등, 1994), 우리나라도 정확한 통계는 없으나 상당수가 폭로될 것으로 추정되는 바(이세훈, 1985; 강성규 등, 1993), 건강에 미치는 영향은 산업의학 분야에서 관심의 대상이 되고 있다.

스티렌은 대부분 폐를 통하여 체내로 흡입되며(Astrand, 1975) 흡입된 양의 5% 정도는 호기를 통해 다시 배출되고(Dutkiewicz와 Tyras, 1968; Bardodej와 Bardodejova, 1970; Fernandez와 Caperos, 1977) 2% 정도는 변형되지 않은 형태로 소변으로 배설된다. 장기간 반복해서 폭로될 경우 생체내 축적이 어느 정도 이루어지며, 반감기는 4시간 정도이다(특수건강진단기술협의회, 1995). 체내로 들어온 스티렌은 CYP450 효소계에 의하여 1차적으로 styrene 7,8-oxide로 전환되고 90% 정도가 주된 대사산물인 MA와 PGA로 대사되어 소변으로 배출된다(WHO, 1983; Ong 등, 1994; 특수건강진단기술협의회, 1995; 이창희 등, 1996; 김기웅 등, 1997). 스티렌의 대사에서 전반적인 대사속도는 styrene 7,8-epoxide로 변형되는 초기단계에서 결

정되는 듯하며(김기웅 등, 1997), 건강에 미치는 영향은 주로 1차 대사산물인 styrene 7,8-epoxide에 의한 것으로 생각된다.

스티렌과 같은 외인성 직업적 폭로물질의 건강에 미치는 영향은 절대 폭로량 뿐만 아니라 개체의 대사능에 따라 차이를 보일 것으로 생각된다. 따라서 이러한 물질이 건강에 미치는 영향에 대한 개인별 위험도 평가에 관심이 고조되고 있으며, 스티렌 대사와 관련하여서는 노중 MA의 측정 등 주로 대사 표현형에 관하여 주로 연구되어 왔다(Galassi 등, 1993; 강성규 등, 1993; Ong 등, 1994; 이창희 등, 1996).

최근에 이르러 중합효소연쇄반응법(PCR)과 제한 효소분석 등 분자역학적인 방법의 발달로 특정물질의 대사와 관련한 효소계의 유전적다형성 연구가 용이하게 되었다. 그 중 CYP450 효소계 연구는 가장 대표적인 것으로 이는 동 효소계가 대부분의 외인성 물질 대사에 관여하며(Nebert와 Gonzalez, 1987; Schuster, 1989; Guengerich와 Shimada, 1991) 개인에 따라 활성도에 차이가 있다는 점 때문으로 여겨진다(Harris, 1989; Vesell과 Penno, 1983).

CYP2E1은 N-nitrosamines, aniline, vinyl chloride, urethane 등의 저분자량 발암물질의 대사(Guengerich와 Shimada, 1991; Yang 등, 1990)와 스티렌 대사(Nakajima 등, 1994; Nedelcheva, 1996; Kim 등, 1997)에 직접 관여하는 것으로 알려져 있다. 즉 Nakajima 등(1994)은 환쥐의 간장 microsomes을 이용하여 styrene을 styrene glycol로 대사시키는데는 적어도 4개(CYP2C11/6, CYP2E1, CYP2B1/2 및 CYP1A1/2)의 동위효소가 관여하며 그 중 CYP2E1이 styrene 유도의 주 효소라 하였고, Kim 등(1997)의 연구에서도 저농도의 스티렌 대사에는 주로 CYP2E1이 관여하는 것으로 보고하고 있다. 국내에서는 환쥐의 간장 microsome을 이용한 스티렌 유도 실험에서 주로 CYP2B1/2와, CYP1A1/2 및 CYP2E1이 관여하는 것으로 보고하고 있기도 하다(김기웅 등, 1997).

현재 시행되고 있는 개인 폭로량과 노중 대사산물의 측정에 의한 생물학적감시를 보완하는 수단으로 스티렌 대사에 관련한 CYP2E1의 유전적다형성을 관찰하고자 하는 시도는 흥미로운 과제 중 하나이다. 더구나 현재까지의 스티렌 대사능의 유전형에 관한

연구는 거의 동물실험에 의한 것이므로 직접 스티렌 취급 근로자를 대상으로 한 본 연구는 산업의학적 측면에서 의의가 크다.

또한 선진국 뿐만 아니라 일본, 중국에서는 cytochrome P450 효소계 활성도의 개인간 차이와 암 등의 질병발생 감수성에 대한 연구가 다수 이루어져 있으나(Nakamura 등, 1985; Schellens 등, 1988; Guengerich와 Shimada, 1991; Bertilsson 등, 1992; Wang 등, 1993; Yokota 등, 1993; Kiiivet 등, 1993), 국내에서는 거의 이루어져 있지 않으므로, 본 연구는 이에 대한 기초적인 자료를 제공하는 부수적인 목적도 지닌다.

본 연구에서는 실제 산업장에서 스티렌을 취급하는 근로자를 대상으로 하여 스티렌 폭로와 관련한 CYP2E1의 유전적 다형성을 보고자 하였으며 이를 위하여 첫째, 개인폭로량, 둘째, 생물학적감시 중 뇨중 대사산물 측정을 통한 대사표현형, 그리고 셋째, 스티렌 대사에 관여하는 것으로 알려진 CYP2E1의 유전적다형성을 관찰하였다.

관찰된 스티렌 폭로농도는 허용농도 50 ppm에 못 미치는 저농도 폭로였고, MA 기하평균농도는 강성규 등(1993)의 519 mg/g creatinine(폭로농도 8 ppm), Galassi 등(1993)의 450 mg/g creatinine(폭로농도 165 mg/m³), 이창희 등(1996)의 404 mg/g creatinine(폭로농도 17.4 ppm)보다 낮았으며 Ong 등(1994)의 109.84 mg/g creatinine(폭로농도 10.36 ppm)과 유사한 값을 보였다. 근로자의 MA+PGA 기하평균농도는 이창희 등(1996)의 467 mg/g creatinine(폭로농도 17.4 ppm), Triebig 등(1989)의 410 mg/g creatinine(폭로농도 18 ppm)보다는 낮았으나 Ong 등(1994)의 187.3 mg/g creatinine(폭로농도 10.36 ppm), Fallas 등(1992)의 284.4 mg/g creatinine(폭로농도 25 ppm)과 유사하였다. 기중 스티렌 농도와 뇨중 MA, PGA, MA+PGA 농도와 의 상관관계수는 각각 0.54, 0.37, 0.54로 정상관계를 나타내었으며 이창희 등(1996)의 0.80, 0.74, 0.81, Ikeda 등(1982)의 0.86, 0.82, 0.88보다 낮은 값을 보였지만 통계적으로 유의하였다. 이러한 차이는 조사대상자의 기중 폭로 농도, 인종, 정량방법, 환기장치 등에 기인한 것으로 사료된다.

CYP2E1 효소계 유전적 다형성에 관한 연구는 최

근까지 2가지의 RFLP 연구 결과가 보고되어 있다. 하나는 5'-전사조절 영역에 위치한 *Rsa I* (GT↓AC) 또는 *Pst I* (CTGCA↓G) 제한효소 인식소에 대한 유전적 다형성이며, 다른 하나는 intron 6에 위치한 *Dra I* (TTT↓AAA) 제한효소 인식소에 대한 유전적 다형성이다. 본 연구에서는 2가지 형태를 모두 관찰하였다. 그 결과 변이형의 발현률은 45.7% (*Dra I* 43.5%, *Rsa I* 37.0%)이었으며, homozygous mutant type(M/M)은 관찰되지 않았다. 기존의 연구에서 CYP2E1 유전자 변이형의 발현률은 백인 2~10%(Kato 등, 1992; Persson 등, 1993), 핀란드인 10%(Hirvonen 등, 1992), 스웨덴인 9%(Persson 등, 1993), 흑인 2%(Kato 등, 1992) 그리고 동양인의 경우 26~43%(Uematsu 등, 1991a; Uematsu 등, 1991b), 일본인 27%(Kato 등, 1992) 등으로 보고하고 있으며, 본 연구의 결과는 동양인에서의 성적과 유사하나 다소 높은 편에 속하였다.

유전형에 따른 (폭로량/뇨중 대사산물)의 기하평균값은 해석을 용이하게 하기 위하여 그 값에 1000을 곱하여 해석하였다. 그 결과 MA의 경우 변이형 106.4, 야생형 68.6, MA+PGA의 경우 변이형 84.4, 야생형 55.6으로 변이형에서 야생형보다 유의하게 높았다(p<0.05). 즉, 이 대사비가 높으면 뇨중 대사산물이 적게 배출됨을 나타내며 이는 변이형에서 야생형에 비해 대사가 지연되는 것을 시사한다. 또한, 기중농도와 뇨중 대사산물을 이용한 대사형 구분에 대한 특정 기준점이 마련되어 있지 않으므로 저자는 현재 산업의학분야에서 사용되고 있는 TLV와 BEI를 대입하여 그 기준점을 선정하는 방법을 이용하였다. 즉, 스티렌의 ACGIH의 시간 가중 허용농도인 50 ppm과 스티렌 대사산물 MA에 대한 ACGIH의 생물학적 폭로지표인 800 mg/g creatinine, 스티렌 대사산물 MA+PGA에 대한 생물학적 폭로지표의 합인 1040 mg/g creatinine을 대입하였으며 산정된 값을 대수변환하여 이용하였다. 따라서 MA의 대사비 ≥0.063, MA+PGA의 대사비 ≥0.048인 경우를 지연대사형, MA의 대사비 <0.063, MA+PGA의 대사비 <0.048인 경우를 신속대사형으로 규정하였다. 그 결과 지연대사형은 MA의 경우 변이형에서 66.7%, 야생형에서 48.0%, MA+PGA의 경우 변이형에서 81.0%, 야생형에서 56.0%에 해당하여 통계적인 유의성은 없지만 변이

형에서 지연대사형을 나타내는 율이 높았다($p > 0.05$). 즉, CYP2E1의 유전형에 따른 폭로량/노중 대사산물의 값을 연속변수로 비교하였을 때는 통계적으로 유의하였지만, 기준 값에 따른 대사형의 분포로 비교하였을 때 경향은 관찰되었지만 통계적으로 유의하지는 않았다. 이는 저자가 시도한 대사형 구분에 대한 기준점이 임의적인 것이기 때문에 풀이 할 수 있겠으며, 따라서 추가적인 연구를 통하여 대사형 구분을 위한 적절한 기준점을 설정하는 것이 필요하리라 생각된다.

변이형에서 대사가 지연되는 기전에 대하여는 다음과 같은 추정이 가능할 것이다. 스티렌은 중간 대사산물인 styrene 7,8-oxide로의 변환 후 최종 대사산물로의 변환이 이루어지는 것으로 알려져 있고, 스티렌대사의 전반적인 속도결정단계가 cytochrome P450 효소에 의해 styrene 7,8-oxide로 변형되는 단계라 할 수 있기 때문에 신속대사형의 사람이 스티렌의 유해한 중간 대사산물인 styrene 7,8-oxide를 많이 생성한다고 할 수 있다. 그러므로, 신속대사형의 사람이 외인성 물질 즉, 스티렌을 처리하는 대사능이 빠른 경우 그 독성이 증가한다고 할 수 있다. 스티렌의 대사에는 CYP2E1 이외에 다른 효소도 관여하며, styrene 7,8-oxide에 의한 독성 외에도 다른 독성이 존재한다. 하지만, 이러한 설명을 근거로 본 연구의 결과를 스티렌에 대한 개인별 위험도 평가와 스티렌에 의한 직업병의 예방 및 대책에 활용할 수도 있을 것이다.

본 연구의 제한점으로는 인식부족, 연구과정 자체의 어려움 등으로 충분한 대상을 관찰하지 못한 점을 들 수 있다. 하지만 본 연구의 조건을 만족하는 중·고농도의 스티렌 폭로근로자는 그리 흔하지 않으며 특히 최근에는 톨루엔 등이 대표적인 용제로 널리 사용되어 순수 스티렌 폭로 근로자를 구하기란 그리 용이하지 않기 때문이다. 또한 스티렌/대사산물의 분율에 영향을 미칠 수 있는 작업자의 노동강도 등에 따른 개인 스티렌 흡수량의 차이, 호흡기 착용유무, 질병력, 비만도, 알콜습관, 흡연유무 등에 대한 고려가 이루어지지 않은 점도 제한점으로 지적된다. 보다 정확한 규명을 위하여는 표본의 수를 늘리고 교란요인 등에 대한 고려가 함께 관찰되어야 할 것이다.

본 연구는 한국인 순수 스티렌 취급 근로자를 대

상으로 폭로량과, 생물학적 모니터링, CYP2E1 유전자형의 관련성을 보고자 한 최초로 시도된 연구라는 점과 우리나라에서 산업장 물질대사와 관련한 분자역학적 기초자료의 제시, 그리고 동 물질을 취급하는 근로자의 건강관리와 스티렌 폭로 예방대책에 도움을 줄 수 있는 기초 정보를 제공했다는 점에서 의의를 둘 수 있다.

결 론

한국인 스티렌 취급 근로자를 대상으로 개인폭로량, 생물학적감시 중 노중 대사산물 측정을 통한 대사표현형, 그리고 스티렌 대사에 관여하는 것으로 알려진 CYP2E1의 유전적다형성 간의 관련성을 관찰함으로써 이와 관련한 기초자료를 마련하는 동시에 동 물질을 취급하는 근로자의 건강관리에 일조하고자 1998년 4월부터 6월까지 부산·경남지역에 위치한 5개 FRP 제조업체의 적층부서에서 근무하는 근로자 46명을 대상으로 연구하여 얻은 결과는 다음과 같다.

1. 기하평균(범위)로 산정한 개인폭로량은 15.6 ppm(3.1-81.0)이었고, 노중 대사산물 중 MA는 187.8 mg/g creatinine(36.8-1007.2), PGA는 42.5 mg/g creatinine(6.3-101.3), 그리고 MA+PGA는 232.8 mg/g creatinine(46.8-1075.7)이었다. 개인폭로량과 노중 대사산물 농도 간의 상관계수는 MA 0.54, PGA 0.37, MA+PGA 0.54였다($p < 0.05$).

2. CYP2E1의 유전적다형성에서 변이형의 발현률은 45.7%(*Dra I* 43.5%, *Rsa I* 37.0%)이었으며, homozygous mutant type(M/M)은 관찰되지 않았다. 유전형에 따른 [(폭로량/노중 대사산물)의 기하평균]×1000의 값은 MA의 경우 변이형 106.4, 야생형 68.6, MA+PGA의 경우 변이형 84.4, 야생형 55.6으로 변이형에서 야생형보다 유의하게 높았다($p < 0.05$).

3. 허용농도/생물학적 폭로지표의 값을 대사표현형의 선별기준으로 삼았으며 그 값이 $\text{air styene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA}_{\text{BEI}} \geq 0.063$, $\text{air styene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA+PGA}_{\text{BEI}} \geq 0.048$ 인 경우를 지연대사형, $\text{air styene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA}_{\text{BEI}} < 0.063$, $\text{air styene}_{\text{TLV-TWA}}/\text{urinary MA+PGA}_{\text{BEI}}$

<0.048인 경우를 신속대사형으로 규정하였다. 이 결과 지연대사형은 MA의 경우 변이형에서 66.7%, 야생형에서 48.0%, MA+PGA의 경우 변이형에서 81.0%, 야생형에서 56.0%에 해당하여 통계적인 유의성은 없지만 변이형에서 지연대사형을 나타내는율이 높았다($p>0.05$).

이상의 결과는 변이형 CYP2E1 유전자를 갖고 있는 경우 스티렌의 대사가 지연되는 것을 시사한다. 본 연구는 대상자의 수가 적고 노동강도, 알콜섭취, 비만도 등의 스티렌 흡수에 영향을 미칠 수 있는 요인에 대한 충분한 고려가 이루어지지 않은 제한점이 있다. 하지만 한국인을 대상으로 스티렌 대사와 관련된 CYP2E1 유전적다형성에 관한 기초자료를 제공하였다는 점에 의의를 둘 수 있으며, 연구 결과를 근로자의 건강관리에 적용하기 위하여는 보다 많은 대상자에 대한 보완적인 연구가 필요할 것이다.

인용문헌

강성규, 양정선, 김기용, 이종성, 조영숙, 정호근. 스티렌 폭로 근로자들의 기증 및 혈중 스티렌 과 노중 만델릭산의 관계 분석. 인천 : 한국산업안전공단 산업보건연구원, 1993.

강성규, 정호근, 조영숙, 유기용제 취급 근로자의 건강장해에 관한 연구. 인천 : 한국산업안전공단 산업보건연구원, 1993.

김기용, 장성근, 정효석, 이주연, 문영환, 박상신. 흰쥐에 있어서 Styrene에 의한 간장의 Microsome Cytochrome P450의 유도. 대한산업의학회지 1997;9(4):604-613.

노동부. 특수건강진단방법 및 건강관리기준. 서울 : 건강문화인쇄, 1994.

이명학, 문화영, 손명호, 손석준, 최진수. 일부 한국인 Debrisoquine 대사분포에 관한 연구. 예방의학회지 1994;27(3):569-579.

이세훈. 스티렌의 생체장해. Korean J Occup Health 1985;24(3):73-77.

이창희, 문덕환, 이 현, 박준환, 김대환, 이종태, 전진호, 김휘동, 이재연. 일부 스티렌 폭로 근로자의 노중 대사산물과 신경행동학적 검사. 예방의학회지 1996;29(4):863-875.

조규상. 산업보건학. 서울 : 수문사, 1991.

특수건강진단기술협의회, 작업환경측정기술협의회, 유기용제 건강진단의 길잡이. 서울 : 특수건강진단기술협의회, 작업환경측정기술협의회, 1995.

Astrand I. Uptake of solvents in blood and tissues to styrene. Scand J Work Environ Health 1975; 1:199-218.

Barbeau A, Cloutier T, Doirier J. Ecogenetics of parkison's disease: 4-hydroxylation of debrisoquine. Lancet 1985;1213-1216.

Bardodej Z, Bardodejova E. Biotransformation of ethylbenzene, styrene and alphas-methylstyrene in man. Am Ind Hyg Assoc J 1970;31:206-209.

Bertilsson L, Lou Y, Du Y, Liu Y. Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquine and S-mephenytion. Clin Pharmacol Ther 1992;51:388-397.

Breimer DD. Interindividual variations in drug disposition-clinical implications and methods of investigation. Clin Pharmacogent 1983;8:371-377.

Chua SC, Lee BL, Liao LS, Ong-CN. Determination of mandelic acid and phenylglyoxylic acid in the urine and its use in monitoring of styrene exposure. J-Anal-Toxicol 1993;17(3):129-132.

Dutkiewicz T, Tyras H. Skin absorption of toluene, styrene and xylene by man. Br J Ind Med 1968;25:243.

Fallas C, Fallas J, Maslard P, Dally S. Subclinical impairment of colour vision among workers exposed to styrene. Br-J-Ind-Med 1992;49(10):679-680.

Fernandez J, Caperos J. Exposition au styrene. I. Etude experimentale de l'absorption et de l'excretion pulmonaires sur des sujets humains. Int Arch Occup Environ Health 1977;40:1.

Galassi C, Kogevinas M, Ferro G, Biocca M. Biological monitoring of styrene in the reinforced plastics industry in Emilia Romagna, Italy. Int Arch Occup Environ Health 1993;65(2):89-95.

Guengerich FP and Shimada T. Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by hunabs cytochrome P-450 enzymes. Chem Res Toxicol 1991;4:391-407.

Harris CC. Interindividual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair. Carcinogenesis 1989;10:1563-1566.

Hayashi S, Watanabe J and Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change

- transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. *J Biochem(Tokyo)* 1991;110:559-565.
- Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S. The human CYP2E1 gene and lung cancer: *Dra I* and *Rsa I* restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. *Carcinogenesis* 1992;14:85-88.
- Ikeda M, Koizumi A, Miyasaka M, Watanabe T. Styrene exposure and biologic monitoring in FRP boat production plants. *Int Arch Occup Environ Health* 1982;49(3-4):325-339.
- Jotshy SK, Cooper RA, Rowley PT. Alveolar cell carcinoma in identical twins. *Ann Int Med* 1977;87:447-450.
- Kato S, Shields PG, Caporaso NE, Hoover RN, Trump BF, Sugimura H, Weston A, Harris CC. Cytochrome P450 IIE1 Genetic Polymorphisms, Racial Variation, and Lung Cancer Risk. *Cancer Reserach* 1992;52:6712-6715.
- Kiivet RA, Svensson JO, Bertilsson L, Sjoqvist F. Polymorphism of debrisoquine and mephenytoin hydroxylation among Estonians. *Pharmacol Toxicol* 1993;72(2):113-115.
- Kim H, Wang RS, Elovaara E, Raunio H, Pelkonen O, Aoyama T, Vainio H, Nakajima T. Cytochrome P450 isozymes responsible for the metabolism of toluene and styrene in human liver microsomes. *Xenobiotica* 1997;27(7):657-665.
- Murer AJL, Christensen JM, Midtgaard T. Determination of the urinary metabolites of styrene: estimation of the method evaluation function and evaluation of reference values in Danish subjects. *Int Arch Occup Environ Health* 1994;65:313-318.
- NIOSH. NIOSH manual of analytical method. 3rd ed. Cincinnati ohio : DHHS(NIOSH) Publication, 1984.
- Nakajima T, Wang RS, Elovaara E, Gonzalez FJ, Gelboin HV, Vainio H, Aoyama T. CYP2C11 and CYP2B1 are major cytochrome P450 forms involved in styrene oxidation in liver and lung microsomes from untreated rats, respectively. *Biochem Pharmacol* 1994;48(4):637-642.
- Nakajima T. Cytochrome P450 Isoforms and the Metabolism of Volatile Hydrocarbons of Low Relative Molecular Mass. *J Occup Health* 1997;39:83-91.
- Nakamura K, Goto F, Ray WA. Interethnic differences in genetic polymorphism of debrisoquine hydroxylation between Japanese and Caucasian populations. *Clin Pharmacol Ther* 1985;38:402-408.
- Nebert DW, Gonzalez FJ. P450 genes: structure, evolution and regulation. *Annu Rev Biochem* 1987;56:945-993.
- Nebert DW. Role of genetics and drug metabolism in human cancer risk. *Mutation Research* 1991;247:267-281.
- Nedelcheva V. Interaction of styrene and ethylmethylketone in the induction of cytochrome P450 enzymes in rat lung, kidney and liver after separate and combined inhalation exposures. *Cent Eur J Public Health* 1996;4(2):115-118.
- Ong CN, Shi CY, Chia SE, Chua SC, Ong HY, Lee BL, Ng TP, Teramoto K. Biological monitoring of exposure to low concentrations of styrene. *Am J Ind Med* 1994;25(5):719-730.
- Pelkonen O, Raunio H. Individual Expression of Carcinogen-Metabolizing Enzymes: Cytochrome P4502A. *JOEM* 1995;37(1):19-24.
- Persson I, Johansson I, Bergling H. Genetic polymorphism of CYP2E1 in a Swedish population. Relationship to the occurrence of lung cancer. *FEBS Lett* 1993;319:207-211.
- Poirier J, Roy M, Campanella G. Debrisoquine metabolism in parkinsonian patients treated with antihistamine drug. *Lancet* 1987;386-390.
- Schellens JH, Soons PA and Breimer DD. Lack of bimodality in nifedipine plasma kinetics in a large population of healthy subjects. *Biochem Pharmacol* 1988;37:2507-2510.
- Schuster I. Cytochrome P450: Biochemistry and biophysics. London : Taylor and Francis, 1989.
- Triebig G, Lehl S, Weltle D, Schaller K H, Valentin H. Clinical and neurobehavioral study of the acute and chronic neurotoxicity of styrene. *Br-J-Ind-Med* 1989;46(11):799-804.
- Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, Abe T, Sagami I, Ohmachi T, Wakui A, Kanamaru R and Watanabe M. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P450IIE1 gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn J Cancer Res* 1991a;82:254-256.
- Uematsu F, Kikuchi H, Ohmachi T, Sagami I, Motomiya M, Kamataki T, Komori M, Watanabe

- M. Two common RFLPs of the human CYP2E gene. *Nucleic Acids Res* 1991b;19:2808.
- Umeno M, McBride OW, Yang CS, Gelboin HV and Gonzalez FJ. Human ethanol-inducible P450IIE1: Complete gene sequence, promoter characterization, chromosome mapping, and cDNA-directed expression. *J Biochem* 1988;27:9006-9013.
- Vesell ES, Penno MB. Assessment of methods to identify sources of interindividual pharmacokinetic variations. *Clin Pharmacokin* 1983;8:378-409.
- Wang S, Husang J, Lai M, Liu B, Lai M. Molecular basis of genetic variation in debrisoquin hydroxylation in Chinese subjects: Polymorphism in RFLP and DNA sequence of C(Y)P2D6. *Clin Pharmacol Ther* 1993;53:410-418.
- World Health Organization. Environmental health criteria 26, Styrene. Geneva : World Health Organization, 1983.
- Yang CS, Yoo JS, Ishizaki H and Hong JY. Cytochrome P450IIE1: roles in nitrosamine metabolism and mechanisms of regulation. *Drug Metab Rev* 1990;22:147-159.
- Yokota H, Tamura S, Furuya H, Kimura S, Watanabe M, Kanazawa I, Kondo I, Gonzalez FJ. Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism. *Pharmacogenetics* 1993;3:256-263.