

## 혈액의 전처리 방법에 따른 적혈구 pyrimidine 5'-nucleotidase 활성도의 비교

고려대학교 의과대학 예방의학교실 및 환경의학연구소

김병헌 · 김해준 · 최재욱 · 이은일 · 엄용태

— Abstract —

### Comparison of Blood Pre-treatment Methods for Determining Erythrocyte Pyrimidine 5'-Nucleotidase Activity

Byung-Hean Kim, Hae-Joon Kim, Jae-Wook Choi,  
Eunil Lee, Yong-Tae Yum

*Department of Preventive Medicine & Institute for Environmental Health,  
College of Medicine, Korea University*

Sakai's method(1986) has been known as the simplest one for determination of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase(P5N) activity using high performance liquid chromatography(HPLC). However the drawback of the method is that it is difficult to wash the erythrocyte for isolation. To search for the simpler method, we compared Sakai's method with other methods using whole blood treated with heparin and concanavalin A or whole blood treated with EDTA-2K instead of washing the erythrocyte.

The mean concentrations of lead in blood samples collected from 44 male and 16 female workers who are healthy without any exposure to lead in their workplace were  $4.30 \pm 1.31 \mu\text{g}/\text{dl}$  (mean  $\pm$  standard deviation), which were measured by frameless atomic absorption spectrophotometer. Erythrocyte P5N activities were measured by 3 methods; Sakai's method(Method I), using whole blood treated with heparin and concanavalin A(Method II), and using whole blood treated with EDTA-2K(Method III).

The results were obtained as follows:

1. The mean of erythrocyte P5N activity by Sakai's method(Method I) were  $12.7 \pm 2.47 \mu\text{mole uridine}/\text{hr}/\text{gm}$  of Hb.

2. The mean of erythrocyte P5N activity by the method using heparinized whole blood treated with concanavalin A (Method II) were  $13.1 \pm 2.41$   $\mu$ mole uridine/hr/gm of Hb.
3. The difference of mean erythrocyte P5N activity between Method I and Method II was not significant.
4. The erythrocyte P5N activity by the method using whole blood treated with EDTA-2K (Method III) was significantly different from Method I. We thought that omission of incubation period which was required on Method III using EDTA-2K caused the difference between Method I and Method III.
5. Simple linear regression equation for erythrocyte P5N activity between Method I (Y) and Method II (X) was significant:  $Y = -0.012 + 0.9724 X$ .

These results suggest that the method using whole blood treated with heparin and concanavalin A is simpler to examine the erythrocyte P5N activity as a biological indicator of lead intoxication than Sakai's method.

**Key Words :** Erythrocyte pyrimidine 5' -nucleotidase activity (P5N)

## I. 서 론

얼마 정도의 혈중 연량에서 건강장애가 시작되는지는 명확히 알려져 있지 않지만 혈중 연량 25  $\mu$ g/dl 이상에서부터 건강이상시 시작한다는 보고가 다수 있으며 (Haenninen 등, 1978; Hogstedt 등, 1983; LaDou, 1990; Schwartz 등, 1987), 세계보건기구 (1977)에서는 20  $\mu$ g/dl 전후의 저농도 혈중 연량에서도 혈액소 생성과정에 영향을 줄 수 있다는 권고와 있다. 다행히 작업환경관리가 이루어지고 있는 현재는 직업적 연 폭로가 감소함에 따라 종래 대량 노출로 인한 연 중독은 감소하는 추세이나 그 반면 환경오염으로 인한 미량 노출의 중요성이 대두되고 있다. 따라서 직업성 연중독의 조기 발견을 목적으로 실시되어 왔던 종래의 건강진단과 함께 생활환경으로부터의 미량 노출로 인한 생물학적 영향을 평가하기 위하여 관리의 방향이 전환되고 있으며 이를 위하여 혈중 연량의 농도에 따라 광범위하게 적용할 수 있는 생물학적 지표 개발의 필요성이 증대하고 있다.

일반적으로 연 중독의 진단은 혈중 연량과 자타각 증상을 종합하여 평가하고 있으나 미량 중독시에는 증상이 동반되지 않는 경우가 많으며, 또한 혈중 연량은 연 폭로 혹은 연의 체내 축적의 정도 및 연 중

독 증상의 출현과 정도를 옹게 반영하지 못한다고 하며 (Clayton과 Clayton, 1981), 환경 농도 변화에 민감하고, 장 기간의 연 폭로 상태가 아닌 최근 2-3주간 정도의 단 기간의 연 폭로 상태를 나타내 준다는 점 (David 등, 1982; Lamola 등, 1975; Levy와 Wegmam, 1988; Raffle 등, 1987; Schroeder와 Tipton, 1968)이 단점으로 지적되고 있다. 따라서 올바른 진단과 건강위해도를 평가하기 위하여는 혈중 연량의 측정과 더불어 생체내 생화학적 변화를 나타내는 생물학적 지표에 대한 검사가 요구된다고 생각된다.

흔히 이용되는 생물학적 지표들에는 혈액중 zinc protoporphyrin 측정, 요중 coproporphyrin 측정 또는 delta-aminolevulinic acid 측정, 적혈구내 delta-aminolevulinic acid dehydratase (이하 ALAD) 측정 등이 있으나 위양성의 출현, 적용 가능한 혈중 연량의 범위 제한, 시료 채취 또는 보관의 문제 등이 서로 복합적으로 얽혀 있어, 어떤 지표가 직업적 연 중독은 물론 환경오염으로 인한 미량 연 노출에도 광범위하게 적용 가능한 지표인지 단정적으로 결정하기 어렵다.

현재까지 이용되고 있는 다양한 생물학적 지표들은 각각의 장단점과 혈중 연량에 따른 적용범위가 제한되어 있어 보다 넓은 혈중 연량의 범위에서 적

용될 수 있는 방법의 개발이 요구되어 왔고 이에 대한 방법으로 적혈구내 pyrimidine 5'-nucleotidase (이하 P5N) 활성도 측정법에 관심을 갖게 되었다.

적혈구 P5N 활성도 측정의 장점은 첫째, 현재까지는 유전성 비구상 용혈성 빈혈과 연중독시에만 특이적으로 활성도가 감소하는 것으로 알려져 있고, 둘째, 섭씨 4도에서 냉장보관시 2주까지 활성도가 안정되어 집단검진시 시료의 보관이 용이하며(장성훈과 염용태, 1994; Ichiba와 Tomokuni, 1990; Sakai와 Ushio, 1986; Torrance 등, 1977), 셋째, 적혈구의 수명과 관계가 있으므로 3-4개월간의 연에 의한 영향을 반영하고 있으며, 넷째, 혈중 연량 40-50  $\mu\text{g}/\text{dl}$ 에서 활성도의 50%가 감소하여 비교적도로서의 가치가 높으며(Ichiba와 Tomokuni, 1990), 다섯째, 무엇 보다도 미량 노출에 해당하는 혈중 연량 10  $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상부터 중고도 직업적 노출에 해당하는 혈중 연량 100  $\mu\text{g}/\text{dl}$  범위까지 직선적 감소 현상을 나타내고 있다는 점(Ichiba와 Tomokuni, 1988) 등이 강조되고 있다.

그럼에도 불구하고 P5N 활성도를 이용한 방법이 연중독에 대한 생물학적 감시지표로서 넓게 활용되지 못한 이유는 측정 방법이 복잡하기 때문이었다. 다행히 1986년 Sakai가 기존의 방법 보다 훨씬 간편한 HPLC를 이용한 정량분석방법을 개발한 후부터 활용도가 증가하고 있다. 그러나 이 방법 역시 적혈구를 세척하는 절차가 까다롭고 장시간이 소요되어 집단검진의 방법으로는 제한점을 갖고 있다. 이러한 문제점을 해결할 수 있을 것으로 기대되는 보다 간편한 방법에는 2가지가 있는 바, 하나는 헤파린으로 처리된 혈액에 concanavalin A (이하 Con A)를 투여하면 적혈구의 세척과정없이 전혈에서 P5N활성도를 측정할 수 있을 것이라는 것과, 둘째는 항응고제로서 헤파린 대신 EDTA-2K를 사용함으로써 적혈구의 세척과정 없이 전혈에서 P5N활성도를 측정할 수 있을 것이라는 제시이다.

이에 본 연구는, 첫째, 항혈액응고제로서 헤파린을 사용하여 적혈구 세척을 기본 전처리로 하는 기존의 방법과, 둘째, 헤파린 처리된 혈액에 Con A를 투여한 후 적혈구의 세척과정 없이 전혈에서 P5N활성도를 측정하는 방법과, 셋째, 항응고제로서 헤파린 대신 EDTA-2K를 사용한 후 적혈구의 세척과정

없이 전혈에서 P5N활성도를 측정하는 3가지 시료 전처리 방법을 비교하여 검사법 상호간의 관련성을 검증하여 가장 간편한 집단검사방법을 선택하고 각 검사법상의 제한점을 규명하기 위하여 실시하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상 및 기간

경기도 시흥시 시화공단에 소재하는 제조업체중, 취급하는 원자재와 생산품이 연과 무관한 2개사를 선정하여, 전체 제직 근로자 60명(남자 44명, 여자 16명) 모두를 대상으로 정맥혈을 채취하여 혈액학적 검사치와 혈중 연량, 그리고 3가지 서로 다른 시료 전 처리 방법에 따라 적혈구 P5N 활성도를 측정하였다. 시료채취는 1996년 8월중에 시행하였다.

### 2. 측정항목

#### 가. 혈액검사

피검자들의 정맥혈을 헤파린 처리된 진공 채혈병과 EDTA-2K를 항응고제로 사용하는 용기에 각각 채혈하여 4℃의 냉장고에 보관하였다.

헤파린 처리된 혈액으로부터 혈색소(Hb), 적혈구 용적율(Hct), 적혈구수(RBC), 혈중 연량을 각각 측정하였고, 또한 헤파린 처리된 혈액과 EDTA-2K로 처리된 혈액으로부터 적혈구 P5N 활성도를 각각 측정하였다.

본 연구에서 혈색소와 적혈구수는 자동혈구 계산기(Coulter counter CBC 5)로, 적혈구용적율은 capillary tube를 이용하여 측정하였다. 측정된 혈색소치, 적혈구용적율, 적혈구수를 이용하여 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH) 과 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)를 산출하였다.

#### 나. 혈액중 연농도 측정

혈중 연량의 측정은 볼텍스믹서를 이용하여 혈액 시료를 충분히 교반한 후, 인산암모늄 10 g과 TX-100 5 ml를 증류수에 녹여 1리터로 만든 희석용액 45 ml에 혈액 0.5 ml를 넣어 이 시료중 10-20  $\mu\text{l}$ 를 원자흡광도계(Spectr AA 400, Varian)의 흑연로에 주입하여 파장 283.3 nm에서 측정하였다.

다. 적혈구내 pyrimidine 5'-nucleotidase  
활성도 측정

적혈구 P5N 활성도는 서로 다른 3가지 시료 전처리 과정을 거쳐 동일 조건의 high performance liquid chromatography(이하 HPLC)조건에서 측정하였다. 첫째 방법은, Sakai가 개발하여 현재 가장 보편적으로 이용되고 있는 방법인 적혈구 세척법(이하 Method I)과, 둘째, 헤파린 처리된 정맥혈에 Con A를 투여하여 적혈구의 세척없이 전혈에서 활성도를 분석하는 방법(이하 Method II), 그리고 셋째 방법은 항응고제로서 EDTA-2K를 투여하여 적혈구의 세척과정 없이 전혈에서 활성도를 측정하는 방법(이하 Method III) 등 3가지로 측정하였다. 각 방법상의 공통점과 차이점은 Table 1에 요약하였다.

1) 적혈구 세척법(Method I)

본 연구에서 이용된 3가지 시료 전처리 방법중 적혈구 세척법(Method I)에 의한 적혈구 P5N 활성도 측정법은 가장 기준이 되는 분석방법으로서 Sakai 등(1986)의 방법을 수정하여 다음과 같이 시행하였다.

혈액을 헤파린 처리된 진공채혈병에 채취하여 섭씨 4도에서 냉장 보관하였으며 적혈구 P5N 활성도 측정은 채혈후 1주일 이내에 시행하였다. 정맥혈액 0.5 ml를 생리식염수 4.5 ml와 섞어 1500 rpm에서 3분간 원심 분리하여, 백혈구층을 포함한 상층부를 제거하고 얻은 적혈구를 다시 생리식염수 0.5

ml에 혼합하여 원심분리하여 세척하기를 2회 거듭한 후, 생리식염수를 가하여 50% 적혈구 부유액을 만들고, 증류수로 10배 희석하여 이를 효소용액으로 사용하였다. 반응용액은 적혈구 효소 용액 600  $\mu$ l, 75 mM  $MgCl_2$ 가 함유된 0.2M Tris-HCl buffer(pH 7.7) 100  $\mu$ l 및 기질로 50 mM UMP-Na 50  $\mu$ l를 혼합한 용액이었으며, 37 $^{\circ}C$ 에서 1시간 동안 반응시킨 후 3분간 끓는 물에 넣어 반응을 중지시킨 다음, internal standard(200 P mole nicotinamide)와 증류수를 첨가하여 전량을 3 ml로 하였으며 원심분리시켜 얻은 상층액을 mini nylon filter(0.45  $\mu$ m, Cole-Parmer No. 2915-26)에 통과시킨 후 HPLC(Gilson 301 model, UV detector 116, France)로 측정하였다.

HPLC는 Water 사의 Model 501 HPLC pump, U6K injector, column oven, Model 745B integrator이었고, 역상 ODS silica column(150 $\times$ 4 mm)을 사용하였다. 유속은 1.0 ml/min, oven 온도는 40 $^{\circ}C$ , detector 파장은 254 nm로 맞추었으며, 이동상으로는 5 mM  $KH_2PO_4$ 와 0.2 mM 1-decanesulphonic acid를 함유한 5% methanol을 사용하였다. 효소용액의 혈색소치는 자동혈구 계산기(Coulter counter CBC 5)로 측정하였으며 적혈구 P5N 활성도의 단위는  $\mu$ mole uridine/hr/gm of Hb으로 표시하였다. 실험에 사용한 시약중 UMP-Na, uridine, Tris-HCl buffer, 1-decanesulphonic acid,  $KH_2PO_4$ ,

Table 1. Comparison of three different blood pre-treatment procedures for determining erythrocyte P5N activity

	Method I	Method II	Method III
Anticoagulant	heparin	heparin	EDTA-2K
Characteristics	washed RBC	concanavalin A	EDTA-2K
Specimen	RBC	whole blood	whole blood
Substrate	uridine monophosphate Na(UMP-Na)		
HPLC Condition	- flow rate; 1.0 ml/min. - oven temperature; 40 $^{\circ}C$ - wavelength; 254 nm - column(150 $\times$ 4 mm), packed with reversed phase silica - mobile phase; 5% methanol containing 5 mM $KH_2PO_4$ and 0.2 mM 1-decanesulphonic acid		

MgCl<sub>2</sub>는 미국의 Sigma사, nicotinamide, methanol은 독일의 Merck사 제품을 사용하였다.

### 2) Con A 투여법(Method II)

적혈구 세척법과 비교하였을 때, Con A투여법의 차이점은 적혈구를 세척함이 없이 전혈을 사용하여 효소용액을 제조한다는 점으로써, 헤파린으로 항응고 처리된 정맥혈 50  $\mu$ 에 증류수 500  $\mu$ 을 가하여 총 550  $\mu$ 의 효소원액을 만들었다. 반응용액상의 차이점은, 적혈구 세척법과 달리, 효소원액 550  $\mu$ 에 Con A 50  $\mu$ 를 가하여 총 600  $\mu$ 로 하였고 여기에 75 mM MgCl<sub>2</sub>가 함유된 0.2M Tris-HCl buffer(pH 7.7) 100  $\mu$  및 기질로 50 mM UMP-Na 50  $\mu$ 를 혼합하였다. HPLC의 분석조건은 적혈구 세척법과 동일 하였으며 P5N 활성도의 단위 역시  $\mu$  mole uridine/hr/gm of Hb로 하였다. 이 실험에 사용된 Con A는 Sigma사 제품이었다.

### 3) EDTA-2K 투여법(Method III)

항응고제로 EDTA-2K를 사용하는 전처리 방법은 40°C 온도조건에서 20시간의 배양이 필요한 Ichiba와 Tomokuni(1990)의 방법에서 배양을 생략한 변형된 방법으로 사용하였다. 즉, 본 연구의 목적이 집단검진법으로 유용한 보다 간편한 방법을 선택하기 위한 것이므로 20여시간의 배양이 요구되는 방법은 부적당한 것으로 평가하였기 때문이다. 따라서 본 연구에서 사용된 Method III 방법에서는 장시간의 배양절차 없이 단지 EDTA-2K로 항응고 처리된 정맥혈 50  $\mu$ 에 550  $\mu$ 의 증류수를 가하여 총 600  $\mu$ 의 효소원액을 만들고, 여기에 75 mM MgCl<sub>2</sub>가 함유된 0.2M Tris-HCl buffer(pH 7.7) 100  $\mu$  및 기질로 50 mM UMP-Na 50  $\mu$ 를 혼합하여 반응용액을 제조하였다. 그러나 HPLC의 분석조건은 전술한 두 가지 방법과 차이가 없었으며 P5N 활성도의 단위 역시  $\mu$ mole uridine/hr/gm of Hb로 하였다.

### 3. 결과의 분석절차

본 조사의 표본추출 방법은 무작위추출이 아닌 소규모 사업장의 근로자 전체에 대한 전수조사이었으므로, 여기서 측정된 제 값들이 인구 모집단을 대표할 수 있는지를 우선 파악하기 위하여 여러 가지 혈액학적 측정치에 대하여 분포성 검토를 하였고, 특

히 본 조사에서 가장 기본이 되는 적혈구세척법에 의한 P5N활성도의 값을 우리나라에서 동일 측정법으로 보고된 자료의 결과와 비교하여 인구집단을 대표할 수 있는지를 확인하였다.

### 4. 통계 검정

결과의 처리 및 통계적 검정은 PC/SAS 6.11 통계 프로그램을 이용하였다.

각 혈액학적 검사치, 혈중 연량, 그리고 3가지 시료 전처리 과정에 따른 P5N 활성도에 대한 표본자료의 분포성 검정을 시행하였고, 3 방법간의 차이를 비교하기 위하여 분산분석을 시행하였으며 post-hoc 검정을 위해서는 Tukey test를 사용하였다. 또한 서로 다른 2가지 방법들 간에는 단순회귀분석을 시행하였다.

## III. 연구결과

### 1. 연구 대상자의 인적특성

피검사자의 성별 분포는 남자 44명, 여자 16명으로 총 60명이었다.

남자의 평균 연령은 36 $\pm$ 9세로서 범위는 20세에서 54세까지였고, 여자의 평균 연령은 42 $\pm$ 12세로 범위는 23세에서 60세까지였다.

### 2. 혈액 검사치의 분포

Table 2에서와 같이 혈색소치, 적혈구수 및 적혈구 용적률의 Shapiro-Wilk 값에 대한 p값은 최소 0.2003(여성;적혈구수), 최대 0.6662(남성;혈색소치)로서 정도의 차이는 있지만 남녀 공히 정규분포성을 보였다. 한편 이들로부터 산출된 평균혈구혈색소량(MCH)과 평균혈구혈색소농도(MCHC)에 대한 분포성에 대한 p값은 최소 0.2651(여성;MCH), 최대 0.5775(남성;MCHC)로서 역시 남녀 공히 정규분포성을 나타내고 있었다. 또한 남녀를 합친 총 대상자에서 제 변수들의 분포성에 대한 p값 역시 최소 0.1037(적혈구용적률), 최대 0.9916(MCH)으로서 정도의 차이는 있지만 모두 정규분포성을 보이고 있었다. 따라서 혈액학적 제 변수들에 대한 중심경향성 대표값으로 산술평균을 이용할 수 있음을 확인하였으며, 이 값들은 모두 정상인의 참고치 범위에 수용되었다.

### 3. 혈중 연량 및 그 값의 대수변환치에 대한 분포

Table 3에서와 같이 혈중연량과 혈중연량의 대수 변환치는 Shapiro-Wilk 분포성 검정결과 p값이 최소 0.1311(혈중연량;여성), 최대 0.9745(대수변환 혈중연량;남성)로서 성별 및 전체 대상자에서 모두 정규분포성을 나타내었다. 그러나 혈중연량의 대수 변환치의 정규분포성이 실측값에서 보다 높아 산술 평균보다는 기하평균치가 중심경향성 척도로서 보다 적합할 것임을 시사하였다.

### 4. 시료 전처리 방법별 적혈구 P5N 활성도의 분포

Table 4에서와 같이 적혈구를 세척하여 활성도를 측정하는 Method I, Con A를 투여하는 Method II, 그리고 항응고제로서 EDTA-2K를 사용하는 Method III에서의 분포성은 성별 및 총계에서 모두 정규분포성을 나타내었다.

반면 Table 5에서와 같이 P5N활성도치를 대수변환한 값의 분포중 Method III에서는 정규분포성이 관찰(p값; 0.7279)되었지만 Method I과 Method

Table 2. Mean and distribution characteristics of hematological variables by sex

		No	Mean	SD*	CV**	Range	Skewness	Kurtosis	W***	p value
Hb (mg/dl)	Male	44	15.0	1.01	6.8	12.6-17.0	0.16	-0.28	0.9772	0.6662
	Female	16	12.7	0.57	4.5	11.7-13.5	0.00	-0.99	0.9452	0.4092
	Total	60	14.3	1.37	9.5	11.7-17.0	-0.02	-0.75	0.9657	0.1962
RBC (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	Male	44	489	33.8	6.9	426-571	0.59	0.25	0.9618	0.2311
	Female	16	422	28.0	6.64	388-480	0.62	-0.70	0.9244	0.2003
	Total	60	471	44.0	9.3	388-571	0.07	-0.21	0.9703	0.3120
Hct (%)	Male	44	45	2.9	6.4	39-52	0.13	-0.03	0.9677	0.3662
	Female	16	40	2.0	5.0	36-44	0.69	0.72	0.9288	0.2339
	Total	60	44	3.9	8.8	36-52	-0.04	-0.67	0.9599	0.1037
MCH <sup>†</sup> (pg)	Male	44	30.6	1.17	3.8	28.6-33.7	0.32	-0.05	0.9671	0.3489
	Female	16	30.1	1.31	4.4	27.0-31.7	-0.77	0.40	0.9324	0.2651
	Total	60	30.5	1.22	4.0	27.0-33.7	-0.06	0.39	0.9921	0.9916
MCHC <sup>‡</sup> (gm/dl)	Male	44	32.7	0.51	1.5	31.7-34.0	0.22	0.30	0.9747	0.5775
	Female	16	32.1	0.60	1.9	30.7-33.3	-0.34	1.74	0.9503	0.4821
	Total	60	32.5	0.58	1.8	30.7-34.0	-0.22	-0.94	0.9892	0.9627

SD\* standard deviation CV\*\* coefficient of variation(%) W\*\*\* Shapiro-Wilk's value

MCH<sup>†</sup> : Hb/RBC MCHC<sup>‡</sup> : Hb/Hct

Table 3. Mean and distribution characteristics of blood lead concentration and Log(blood lead concentration) by sex

		No	Mean	SD*	CV**	Range	Skewness	Kurtosis	W***	p value
Blood Lead (μg/dl)	Male	44	4.53	1.24	27.4	2.24-7.69	0.52	-0.05	0.9723	0.5037
	Female	16	3.65	1.32	36.2	1.99-6.06	0.61	-0.88	0.9129	0.1311
	Total	60	4.30	1.31	230.5	1.99-7.69	0.40	-0.32	0.9699	0.3015
Log(Lead) (μg/dl)	Male	44	0.64	0.12	18.7	0.35-0.89	-0.14	-0.27	0.9891	0.9745
	Female	16	0.54	0.16	28.9	0.30-0.78	0.16	-1.05	0.9472	0.4370
	Total	60	0.61	0.14	22.3	0.30-0.89	-0.27	0.02	0.9743	0.4464

SD\* standard deviation CV\*\* coefficient of variation(%) W\*\*\* Shapiro-Wilk's value

II에서는 각각 p값이 0.0008과 0.0086으로 정규분포성이 관찰되지 않았다. 따라서 적혈구 P5N활성도의 중심경향성 대표값으로는 산술평균이 적합함을 나타내었다.

### 5. 동일 방법에 의한 기존 연구 결과와의 비교

본 연구에서 이용된 3가지 서로 다른 시료 전처리법중 가장 기준이 되는 검사법은 적혈구 세척법(Method I)에 의한 적혈구 P5N 활성도이다. 따

**Table 4.** Mean and distribution characteristics of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase activity by sex and type of assay

P5N Activity ( $\mu$ mole uridine /hr/gm of Hb)		No	Mean	SD*	CV**	Range	Skewness	Kurtosis	W***	p value
Method I <sup>†</sup>	Male	44	12.9	2.38	18.5	6.0-17.4	-0.60	0.41	0.9725	0.5061
	Female	16	12.2	2.72	22.3	7.4-17.0	-0.28	-0.12	0.9538	0.5366
	Total	60	12.7	2.47	19.4	6.0-17.4	-0.51	0.09	0.9687	0.2695
Method II <sup>‡</sup>	Male	44	13.3	2.36	17.8	7.8-17.9	-0.27	-0.53	0.9776	0.6800
	Female	16	12.5	2.53	20.3	8.0-16.7	-0.38	-0.28	0.9338	0.2785
	Total	60	13.1	2.41	18.5	7.8-17.9	-0.30	-0.46	0.9676	0.2412
Method III <sup>‡‡‡</sup>	Male	44	16.8	3.20	19.0	9.78-25.5	0.18	0.19	0.9899	0.9828
	Female	16	19.2	4.15	21.7	11.5-26.0	0.09	-0.55	0.9752	0.8848
	Total	60	17.4	3.40	20.7	9.8-26.0	0.34	0.05	0.9741	0.4404

SD\* standard deviation CV\*\* coefficient of variation(%) W\*\*\* Shapiro-Wilk's value

<sup>†</sup> washed RBC, heparinized, without Con A

<sup>‡</sup> whole blood, heparinized, with Con A

<sup>‡‡‡</sup> whole blood, EDTA-2K, without Con A

**Table 5.** Mean and distribution characteristics of Log(erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase activity) by sex and type of assay

Log(P5N) Activity ( $\mu$ mole uridine /hr/gm of Hb)		No	Mean	SD*	CV**	Range	Skewness	Kurtosis	W***	p value
Method I <sup>†</sup>	Male	44	1.10	0.09	8.1	0.78-1.24	-1.31	2.63	0.9172	0.0040
	Female	16	1.08	0.10	9.7	0.87-1.23	-0.80	0.17	0.9176	0.1561
	Total	60	1.09	0.09	8.5	0.77-1.24	-1.13	1.49	0.9225	0.0008
Method II <sup>‡</sup>	Male	44	1.12	0.08	7.3	0.89-1.25	-0.67	0.09	0.9568	0.1529
	Female	16	1.09	0.09	8.7	0.90-1.22	-0.79	-0.09	0.8991	0.0791
	Total	60	1.11	0.09	7.7	0.89-1.25	-0.73	0.07	0.9400	0.0086
Method III <sup>‡‡‡</sup>	Male	44	1.22	0.09	7.0	0.99-1.41	-0.39	0.21	0.9837	0.8749
	Female	16	1.27	0.10	7.7	1.06-1.41	-0.40	-0.07	0.9715	0.8320
	Total	60	1.23	0.09	7.4	0.99-1.41	-0.24	0.02	0.9813	0.7279

SD\* standard deviation CV\*\* coefficient of variation(%) W\*\*\* Shapiro-Wilk's value

<sup>†</sup> washed RBC, heparinized, without Con A

<sup>‡</sup> whole blood, heparinized, with Con A

<sup>‡‡‡</sup> whole blood, EDTA-2K, without Con A

라서 국내에서 동일한 적혈구 세척법으로 연구 보고된 결과와 비교하여 본 연구에서 조사된 혈중 연량과 적혈구 P5N의 활성도 결과가 국내에서 연에 노출되지 않은 인구집단에 대한 대표성을 갖고 있는지를 평가하였다.

Table 6에서와 같이, 본 연구에서의 적혈구 P5N 활성도의 산술평균과 표준편차는 동일한 방법으로 조사 보고된 김종연 등(1995)의 활성도와 거의 같았고, 두 결과간의 평균치의 차이에 대한 유의성 검정에서 p값이 0.1515로서 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

#### 6. 적혈구 P5N활성도의 성별 비교

Table 7에서와 같이 적혈구 세척법에 의한 Method I과 Con A를 투여한 Method II에 의하여 측정된 적혈구 P5N 활성도의 남녀간의 평균치는 p값이 각각 0.3499 및 0.2536으로 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 그러나 EDTA-2K를 항응고제로 사용하여 Method III으로 측정된 적혈

구 P5N활성도는 남녀간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

#### 7. 시료의 전처리 방법별 적혈구 P5N 활성도의 비교

3가지 서로 다른 전처리 분석방법별 적혈구 P5N 활성도의 차이를 비교하기 위하여 분산분석을 시행하였으며 post-hoc 검정을 위해서는 Tukey's test를 사용하였다. 그 결과 Table 8에서와 같이 3개군간에는 p값이 0.0001로서 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 그러나 짝을 이룬 전처리 방법중 적혈구 세척법에 의한 Method I과 Con A를 투여한 Method II간에는 Tukey's group이 각각 A로 분류되어 통계학적으로 유의한 차이가 없음을 나타내고 있는 반면 EDTA-2K를 투여한 Method III과의 비교에서는 모두 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되었다.

#### 8. 시료 전처리 방법간의 단순회귀분석

적혈구 세척법(Method I)에 의한 P5N의 활성

Table 6. Comparison of blood lead concentration and erythrocyte P5N activity between this study and reference data, using same analytical method

Sample No.	Blood Lead ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )			P5N Activity by Method I ( $\mu\text{mole uridine}/\text{hr}/\text{gm of Hb}$ )		p value <sup>#</sup>	
	Mean	(SD)	(Range)	Mean	SD		
This Study*	60	4.53	(1.24)	(2.24-7.69)	12.70	2.47	0.1515
Reference Data**	225	4.52	(2.23)	(1.1-16.1)	12.34	2.21	

\* By Method I

\*\* Cited from 'A study on the reference value of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase activity' studied by Kim JY, Kim HJ, Jang SH, Kim KJ (The Kor. J. Occup. Med., 1995;7-1:63-81)

# p value by t-test

Table 7. Sexual difference of erythrocyte P5N activities by type of assay

Type of Analysis	Mean (SD)		p value <sup>#</sup>
	Male (n=44)	Female (n=16)	
Method I*	12.9 (2.38)	12.2 (2.72)	0.3499
Method II**	13.3 (2.36)	12.5 (2.53)	0.2536
Method III***	16.8 (3.20)	19.2 (3.40)	0.0227

\* washed RBC, heparinized, without Con A

\*\* whole blood, heparinized, with Con A

\*\*\* whole blood, EDTA-2K, without Con A

# p value by t-test



Table 8. Difference of erythrocyte P5N activities between type of assay

Type of Assay	Sample No.	P5N Activity ( $\mu$ mole/hr/gm of Hb)		Level of Significance <sup>f</sup> Tukey's Group ( $\alpha= 0.05$ )	
		Mean	SD		
Method I *	60	12.7	2.47	A <sup>#</sup>	p=0.0001
Method II **	60	13.1	2.41	A <sup>#</sup>	
Method III ***	60	17.4	3.40	B <sup>#</sup>	

\* washed RBC, heparinized, without Con A (Reference value)

\*\* whole blood, heparinized, with Con A

\*\*\* whole blood, EDTA-2K, without Con A

# p-value by ANOVA with multiple comparison / Tukey's method

## Means with the same letter are not significantly different.

Table 9. Simple regression equations for erythrocyte P5N activities between type of assay

Dependant (Y)	P5N Activity		Equation	r	R <sup>2</sup>	p-value
	Independent (X)					
Method I	Method II		Y = -0.012 + 0.9724 X	0.95	0.904	0.0001
Method I	Method III		Y = 10.263 + 0.1399 X	0.20	0.042	0.1180
Method II	Method III		Y = 11.217 + 0.1066 X	0.16	0.025	0.2253

도를 종속변수로 하고 Con A 투여 방법(Method II)에 의한 활성도를 독립변수로 하였을 때, 두 변수간에는 상관계수 0.95이며, 설명력이 90.4%인 예측식을 산출할 수 있었다(Table 9).

그러나 EDTA-2K 투여 방법(Method III)에 의한 P5N 활성도는 나머지 두 가지 방법에 의한 활성도와 통계적으로 유의한 단순회귀식을 산출할 수 없었다.

#### IV. 고 찰

작업환경을 monitoring하고 근로자의 건강위해성을 조기에 평가하기 위하여 여러가지 생물학적 지표들이 개발되어 이용되고 있다(Zenz, 1988). 특히 연중독의 생물학적 지표로서 조혈기능의 변화에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 그 이유는 연에 의한 조혈기능의 장애는 용량-반응관계가 비교적 잘 설명되고, 그 결과 임상적 증상 발현전에 연 폭로의 정도를 알아내는데 도움이 되기 때문이다(WHO, 1977).

연이 인체의 조혈기능에 미치는 영향을 크게 세 가지로 구분하여 보면 첫째, heme의 생합성에 관여

하는 ALAD와 ferrochelatase등의 효소작용을 억제하는 기전(Drasel과 Falk, 1956; Lichtman과 Feldman, 1963)과, 둘째, 적혈구 세포막의 안정성에 영향을 주는 것으로서 여기에는 적혈구 P5N의 활성도를 억제하여 적혈구내에 nucleotide가 축적(Angle 등, 1982; Sakai 등, 1990)되는 것, 셋째, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 활성도와 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> cotransport system(Hajem 등, 1990)등에 관여하여 적혈구의 수명을 단축시키고 용혈을 일으키는 것으로 추정되고 있다(Rom, 1992).

혈중 연량은 연 노출에 의한 체내 축적의 정도를 평가하는 생물학적 지표로서 가장 중요한 방법중 하나이다(Fischbein 등, 1980). 혈중의 연량을 측정하는 분석법에는 혈액시료를 산 분해하여 회화액으로부터 유기용매에 킬레이트를 추출시켜 불꽃 원자 흡광분석법으로 측정하는 종래의 복잡한 방법과 혈액시료를 적당한 용액으로 희석만하여 비불꽃 혹은 원자흡광분석법으로 측정하는 보다 간편한 방법이 있다. 후자의 방법이 보편화되면서 혈중 연량을 측정하기는 훨씬 용이해 졌으나, 혈중 연량은 골수의

연 형태가 안정상태이고 연폭로의 정도가 일정할 때는 혈중 연량만으로 인체의 연 흡수 정도를 비교적 잘 나타낸다고 하지만, 일반적으로 연 폭로 혹은 연의 체내 축적의 정도 및 연 중독 증상의 출현과 정도를 옳게 반영하지 못한다고 하며 (Clayton과 Clayton, 1981), 환경 농도 변화에 민감하고 장기간의 연 폭로 상태가 아닌 최근 2-3주간 정도의 단기간의 연 폭로 상태를 나타내 준다는 점 (David 등, 1982; Lamola 등, 1975; Levy와 Wegman, 1988; Raffle 등, 1987; Schroeder와 Tipton, 1968)이 단점으로 지적되고 있다. 즉, 연흡수의 지표인 혈중 연량은 생화학적 변화 및 기타 건강장애를 표시하는 것은 아니므로 (Haeger-Aronsen, 1971) 혈중 연량의 측정과 함께 생체의 생화학적 변화를 나타내는 다른 생물학적 지표에 대한 검사가 요구된다.

적혈구 P5N은 적혈구내 pyrimidine 5'-ribose monophosphate(uridine 5'-monophosphate와 cytidine 5'-monophosphate)를 pyrimidine nucleoside와 무기인산으로 가수분해하는 효소로서, 1976년 Valentine 등이 이 효소가 인체 적혈구의 세포질내에 존재하며 이 효소의 결핍이 유전성 비구상 적혈구성 용혈성 빈혈 (hereditary nonspherocytic hemolytic anemia)과 관계가 있음을 보고함으로써 알려졌다. 이후 이 용혈성 빈혈시 말초혈액에서 호염기성 점적혈구 (erythrocyte basophilic stippling)가 출현하는 것이 연중독 때의 소견과 일치하는 것에 착안하여 연중독 환자에서 적혈구 P5N 활성도를 조사하였고 그 결과 연중독시에도 P5N의 활성도가 감소함을 보고하였다 (Paglia 등, 1975; Paglia와 Valentine, 1975; Valentine 등, 1976). 그후 많은 연구자에 의하여 적혈구 P5N 활성도가 연중독 및 비구상 적혈구성 빈혈 등에 진단법으로서의 가치가 있다고 보고되었다 (김종연 등, 1995; 장성훈과 염용태, 1994; BenBasat 등, 1976; Buc와 Kaplan, 1978; Cook 등, 1986; Ichiba와 Tomokuni, 1990; Sakai와 Ushio, 1986; Sakai 등, 1988).

P5N 활성도 측정법은 적혈구의 수명과 관계가 있으므로 최근 3-4개월 정도의 연폭로 상황을 판단할 수 있을 것으로 기대되며, 혈액을 냉장보관하면 채혈 후 2주까지 효소의 활성도가 안정되어 다수인의 집단 검진 방법으로 유용하다고 하였다 (장성훈과 염용태,

1994; Ichiba와 Tomokuni, 1990; Sakai와 Ushio, 1986; Torrance, 1977). Sakai와 Ushio(1986)은 섭씨 4도에서 1주간이 경과했을 때의 P5N 활성도는 변화가 없으며 2주간이 경과한 경우에도 활성도의 2.5%만이 감소한다고 하였으며, Torrance 등(1977)의 연구에서도 섭씨 4도에서 1주간 저장했을 때의 활성도 감소는 1.4%에 불과하였다.

이와 같이 적혈구 P5N 활성도 측정법이 집단검사법으로서 갖추어야 할 장점이 있는데도 불구하고 연구와 이용이 활발하지 못하였던 이유는 정량분석의 과정이 어려웠기 때문이라고 생각된다. 그간 개발된 방법들을 살펴보면 적혈구 P5N 활성도를 측정하는 방법은 크게 3가지로 구분할 수 있는 바, 최초에 사용되었던 Paglia와 Valentine(1975)의 방법은 P5N의 작용으로 생성된 적혈구내의 무기인 (inorganic phosphate)만을 측정하기 위하여 혈장내의 내인성 인을 제거하기 위한 조치로 용혈액을 12시간 이상 투석하여야 하는 단점이 있었고, 1977년 Torrance 등이 개발한 <sup>14</sup>C-CMP (cytidine 5'-monophosphate)를 기질로 사용한 방사선 분석방법은 전자의 방법과 같은 장시간의 투석이 필요한 것은 아니지만 방사선 분석이라는 특성으로 쉽게 활용할 수 없었다. 최근에 가장 많이 사용되는 HPLC를 이용한 방법은 Sakai 등(1982, 1985, 1986, 1988), Cook 등(1986), Tomokuni와 Ichiba(1986) 등이 개발 개량한 것이다. 이 방법은 기질인 UMP에서 적혈구내 효소의 작용으로 생성된 uridine을 분리 정량하는 것으로 투석이 필요없는, 비방사성 측정법으로서 전술한 두 방법보다 간편하다는 장점이 있다. 그러나 HPLC를 이용한 위의 방법도 적혈구를 세척하여 효소용액을 제조하는 과정, 즉, 정백혈액 0.5 ml를 생리식염수 4.5 ml와 섞어 1500 rpm에서 3분간 원심 분리하여, 백혈구층을 포함한 상층부를 제거하고 얻은 적혈구 침전물을 다시 생리식염수 0.5 ml에 혼합하여 원심분리하여 세척하기를 2회 거듭한 후, 생리식염수를 가하여 50% 적혈구 suspension (RBC/saline) 용액을 만들고, 증류수로 10배 희석하여 효소용액을 제조하는 과정에 시간이 많이 소요되기 때문에 간단치 않은 것이 사실이며 이를 해결하기 위한 노력이 계속되어 왔다.

본 연구에서 보다 간편한 분석법으로 활용하고자 사용된 시약 Con A는 동인도산 빵나무의 콩으로부

터 추출된 유당(jack bean lactine)으로서 alkaline phosphatase 활성도에는 영향을 주지 않으면서 혈장내 5'-nucleotidase만 선택적으로 차단하는 특징이 있다(Zygowicz 등, 1977)는 보고와 또한 적혈구내 P5N의 활성도에는 영향을 주지 않는다는 Sakai 등(1988)의 보고에 근거하고 있다.

혈장내 5'-nucleotidase는 간 및 담낭계의 질환시 증가하는 효소이며, 이 효소는 적혈구내 P5N 처럼 UMP로부터 uridine을 생성한다. 그러므로 적당량의 Con A를 전혈에 투여하면, Con A는 적혈구내 P5N의 활성도에는 영향을 주지 않고 혈장내의 5'-nucleotidase의 활성만 차단하므로 기질인 UMP로부터 생성된 uridine은 혈장내의 5'-nucleotidase의 영향없이 적혈구내 P5N에 의해서만 생성된 것으로 볼 수 있을 것이라는 점이다. 한편 Ichiba와 Tomokuni(1990)는 항혈핵응고제인 EDTA-2K도 혈장내 5'-nucleotidase 활성도에 대한 억제 효과가 있다고 보고하였다.

본 조사에서 기준검사법으로 사용된 적혈구세척법으로 측정된 P5N 활성도는 성별에 관계없이 모두 정규분포성이 관찰되었다. 활성도의 산술평균은 남녀 각각 12.9와 12.2 $\mu$ mole uridine/hr/g Hb으로 남자가 약간 높은 경향이었으나 양군 간에 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다. Ichiba와 Tomokuni(1990)의 연구에서도 성별에 따른 차이는 없다고 하였다. 또한 김종연 등(1995)이 연에 직업적으로 노출되고 있지 않은 남성근로자를 대상으로 동일한 시료 전처리방법으로 측정된 적혈구 P5N의 평균 활성도값 12.34 $\pm$ 2.21 $\mu$ mole uridine/hr/g Hb(표본수:225)과도 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 이와 같은 이유는 혈중 연량이 전자는 4.30 $\mu$ g/dl(범위; 1.99-7.69 g/dl), 후자는 4.52 $\mu$ g/dl(범위; 1.1-16.1 g/dl)으로 낮았기 때문이라고 사료되는바 이 현상은 적혈구 P5N 활성도는 혈중 연량이 10 $\mu$ g/dl이하일 때는 변화가 없다는 보고(김종연 등, 1995; Ichiba와 Tomokuni, 1988)와 일치하고 있다.

본 조사에서 혈중 연량은 실측치와 대수변화치 모두에서 정규분포성이 관찰되었다. 혈중 연량의 분포성에 대하여 대수정규분포를 한다는 보고(박정덕 등, 1985; 신헌림 등, 1986; Hunter, 1986; Sartor와 Rondia, 1980)와 정규분포를 한다는 보고

(유정식, 1968), 비정규분포를 한다는 보고(윤배중, 1981) 등이 있으나 본 조사에서 혈중 연량의 분포는 대수변화치의 정규분포성이 보다 높았다. 그간 우리나라에서 보고된 바에 의하면 직업적으로 연에 노출되지 않는 사람의 혈중연량은 1993년 경부터 매우 낮아지고 있음이 관찰되고 있으며 김종연 등(1995)은 그 이유로서 1993년 1월부터 우리나라에서 교통기관에서 사용되는 휘발유는 모두 무연휘발유로 규제되었기 때문으로 설명하였고, 외국의 보고를 살펴보아도 무연휘발유가 무연휘발유로 교체되면서 일반주민의 혈중 연량이 급속히 낮아짐을 보고하고 있다(Annest 등, 1983; Elwood 등, 1983; Friberg 와 Vahter, 1983; Hunter, 1986).

한편 본 조사에서 서로 다른 시료 전처리 과정을 거쳐 측정된 적혈구 P5N 활성도값을 적혈구세척법에 의한 값을 기준값으로 하여 비교해 보면, Con A 투여법에 의한 활성도는 기준값과 매우 근사하여 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았으며, 단순회귀분석에서도 상관계수는 0.95, 설명력은 90.4%로서 매우 강한 상관성을 보여주었다. 그러나 EDTA-2K를 항응고제로 투여한 방법에서는 적혈구 세척법과 Con A 투여법 모두와 통계적으로 유의한 차이가 관찰되었다. 또한 이 방법으로 측정된 활성도에서는 남녀간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 따라서 EDTA-2K 투여에 의한 P5N활성도의 측정법은 적혈구 세척법과 Con A 투여법과 상이한 검사법이라고 평가되었다.

본 조사의 제한점으로는 첫째, 직업적으로 연에 노출되고 있지 않은 일반인에 한정하여 연구하였기 때문에 직업적으로 연에 노출되어 혈중연량이 높은 근로자에게도 공히 적용할 수 있을지에 대한 추가연구가 요구된다는 점과, 둘째, 집단검진을 위하여는 검사방법이 간단하여야 한다는 면에만 중점을 두어 EDTA-2K 투여 방법에서 고려되어야 하는 40 $^{\circ}$ C에서의 20시간의 배양을 생략하였다는 점이다. 그 결과 적혈구 P5N의 활성도가 기준 검사법과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 발생하였는데, 이는 EDTA-2K 역시 Con A 처럼 혈장내 5'-nucleotidase의 활성도를 억제하지만 이를 위하여는 적정 조건에서의 배양이 요구됨을 확인해 하는 것이며, 이는 Con A의 혈장내 5'-nucleotidase 활성도의 억제효과가 EDTA-2K보다 월등함을 시사하는 것이라고 생각된다.

## V. 결 론

직업적으로 연에 노출되고 있지 않는 남녀 근로자 각각 44명과 16명을 대상으로 혈중연량, 혈액학적 검사치, 및 3가지 서로 다른 시료 전처리 방법에 따라 적혈구 P5N활성도를 측정하여 현재 가장 보편적으로 이용되고 있지만, 적혈구 세척이란 복잡한 과정을 거쳐야 하는 방법(Method I)으로 측정된 결과를 기준값으로 하여, 보다 간편한 방법으로 알려지고 있는 Con A 투여법(Method II) 또는 EDTA-2K 투여법(Method III)으로 측정된 결과를 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 적혈구를 세척하는 Method I에 의한 적혈구 P5N의 활성도의 평균은  $12.7\mu\text{mole uridine/hr/gm Hb}$ , 표준편차는  $2.47\mu\text{mole uridine/hr/gm Hb}$ 이었다.

2) 적혈구 세척과정없이 혈액시료에 Con A를 투여하는 보다 간편한 Method II 방법으로 측정된 적혈구 P5N 활성도의 평균은  $13.1\mu\text{mole uridine/hr/gm Hb}$ , 표준편차는  $2.41\mu\text{mole uridine/hr/gm Hb}$ 이었다.

3) 적혈구 세척법에 의한 방법(Method I)과 Con A를 투여하는 방법(Method II)으로 측정된 적혈구 P5N 활성도의 평균값은 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

4) 혈액시료에 항응고제로 EDTA-2K를 투여하는 방법(Method III)에 의한 적혈구 P5N 활성도는 적혈구 세척법(Method I)에 의한 측정값과 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 그러나 이 차이는 EDTA-2K 투여방법에서 흔히 사용되는 배양기간을 Method III에서는 생략하였기 때문으로 사료된다.

5) 적혈구 세척법에 의하여 측정된 P5N 활성도를 종속변수로 하고 Con A를 투여하는 방법으로 측정된 P5N 활성도를 독립변수로 하였을 때, 통계학적으로 유의한 단순회귀방정식( $Y = -0.012 + 0.9724X$ )을 얻을 수 있었다.

이상의 결과로 보아 집단검진시 적혈구 P5N의 활성도를 측정할 때, 복잡한 절차의 적혈구 세척법 대신 전혈에 Con A를 투여하는 보다 간편한 방법이 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

## REFERENCES

- 김종연, 김해준, 장성훈, 김광중. 적혈구 pyrimidine 5'-nucleotidase 활성도의 참고치에 관한 연구. 대한산업의학회지 1995;7(1):63-81.
- 박정덕, 정규철. 한국인 젊은이의 혈중 연농도. 중앙의대지 1985;10(4):353-361.
- 신해림, 김준연. 연폭로지표들의 정상치에 관한 연구. 예방의학회지 1986;19(2):167-176.
- 유정식. 연중독에 관한 연구-한국 성인남자의 혈액중 연량에 대하여-. 공중보건잡지 1968;5(2):129-134.
- 윤배중. 자동차공장 근로자 중 납땀공의 혈중 카드미움과 연 함량에 관한 연구. 예방의학회지 1981;14(1):111-116.
- 장성훈, 염용태. 연폭로자의 적혈구 Pyrimidine 5-Nucleotidase(P5N) 활성도에 관한 연구. 대한산업의학회지 1994; 6(1):85-97.
- Angle CR, McIntire MS, Swanson MS, Stohs SJ. Erythrocyte nucleotides in children increased blood and cytidine triphosphate. Pediatrics 1982; 16:331-334.
- Annest JL, Pirkle JL, Makuc D, Heese JW, Bayse DD, Kavar MG. Chronological trend in blood lead levels between 1976 and 1980. N Engl J Med 1983;308:1373-1377.
- Ben-Bassat I, Brok-Simoni F, Kende G, Holtzman F, Ramot B. A family with red cell pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Blood 1976;47:919-922.
- Buc HA, Kaplan JC. Red-cell pyrimidine 5'-nucleotidase and lead poisoning. Clin Chem Acta 1978;87:48-50.
- Clayton GD, Clayton FE. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 3rd ed. Vol. 2A. New York, John Wiley & Sons, 1981, 1687-1728.
- Cook LR, Angle CR, Stohs SJ. Erythrocyte arginase, pyrimidine 5'-nucleotidase(P5N), and deoxyypyrimidine 5'-nucleotidase(cP5N) as indices of lead exposure. Brit J Ind Med 1986;43:387-390.
- David OJ, Wintrob HL, Arcoleo CG. Blood lead stability. Aech Environ Health 1982;37:147-150.
- Drasel EIB, Falk JE. Studies of the biosynthesis of blood pigments. 3. Haem and prophyrin fo-

rmation from  $\delta$ -aminolaevulinic acid and from porphobilinogen in haemolysed chicken erythrocytes. *Biochem J* 1956;63:80-84.

Elwood PC. For debate: changes in blood lead concentrations in women in Wales 1972-1982. *Br Med J* 1983;286:1553-1555.

Fischbein A, Thornton J, Blumberg W, Bernstein J, Valciukas A, Moses M, Davidow B, Kaul B, Sirota M, Selikoff I. Health status of cable splicers with low-level exposure to lead: Results of a clinical survey. *Am J Public Hlth* 1980; 70(7): 697-700.

Friberg L, Vahter M. Assessment of exposure to lead and cadmium through biological monitoring: Results of a UNEP/WHO Global study. *Environ Res* 1983;30:95-128.

Haeger-Aronsen B. An assessment of the laboratory tests used to monitor the exposure of lead workers. *Brit J Int Med* 1971;28:52-58.

Haenninen H, Hernberg S, Mantere P. Psychological performance of subjects with low exposure to lead. *J Occup Med* 1978;20:683-689.

Hajem S, Moreau T, Hannaert P. Influence of environmental lead of membrane transport in a French urban male population. *Environ Res* 1990; 53:105-118.

Hogstedt C, Hane M, Agrell S. Neuropsychological test results and symptoms among workers with well-defined long-term exposure to lead. *Brit J Ind Med* 1983;40:99-105.

Hunter J. The distribution of lead. In Landsdown R. and Yule W. eds. *Lead toxicity*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1986.

Ichiba M, Tomokuni K. Response of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase(P5N) test and its evaluation in workers occupationally exposed to lead. *Brit J Ind Med* 1988;45:718-719.

Ichiba M, Tomokuni K. Studies on erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase(P5N) activity test and its evaluation in workers occupationally exposed to lead. *Occup Environ Hlth* 1990;62:304-310.

LaDou J. *Occupational Medicine*, International edition, Prentice-Hall International, Inc., 1990, 306-310

Lamola AA, Piomelli S, Poh-Fitzpatrick MB. Erythropoietic protoporphyria and lead intoxication, the molecular basis for difference in cutaneous photosensitivity. *J Clin Invest* 1975; 56:1528-1535.

Levy BS, Wegman DH. *Occupational Health*. Boston, Little Brown Co, 1988. 448-451.

Lichtman HC, Feldman F. In vitro pyrrole and porphyrin synthesis in lead poisoning and iron deficiency. *J Clin Invest* 1963;42:830-834.

Paglia DE, Valentine WN. Characteristics of a pyrimidine specific 5'-nucleotidase in human erythrocytes. *J Biol Chem* 1975;250:7973-7979.

Paglia DE, Valentine WN, Dahlgren JG. Effects of low-level lead exposure of pyrimidine 5'-nucleotidase and other erythrocyte enzymes. *J Clin Invest* 1975;56:1164-1169.

Raffle PAB, Lee WR, McCallum RI, Murray R. *Hunter's disease of occupations*, Boston. Little Brown & Co, 1987, 240-250.

Rom WN. *Environmental and Occupational Medicine*. Boston, Little Brown & Co. 1992, 735-758.

Sakai T, Ushio K. A simplified method for determining erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase(P5N) activity by HPLC and its value in monitoring lead exposure. *Brit J Ind Med* 1986;43:839-844.

Sakai T, Araki T, Ushio K. Determination of pyrimidine 5'-nucleotidase(P5N) activity in whole blood as an index of lead exposure. *Brit J Ind Med* 1988;45:420-425.

Sakai T, Araki T, Ushio K. Accumulation of erythrocyte nucleotides and their pattern in lead workers. *Arch Environ Health* 1990;45:273-277.

Sartor F, Rondia D. Blood lead levels and age: A study on two male urban populations not occupationally exposed. *Arch Environ Health* 1980;35:110-116.

Schroeder HA, Tipton IH. The human body burden of lead. *Arch Environ Health* 1968;17:965-969.

Schwartz J, Otto D. Blood lead, hearing thresholds, and neurobehavioral development in children and youth. *Arch Environ Health* 1987;42: 153-160.

Tomokuni K, Ichiba M. Simple determination of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase activity in human blood by high performance liquid chromatography. *Ind Health* 1986;24:227-233.

Torrance J, West C, Beutler E. A simple rapid radiometric assay for pyrimidine 5'-nucleotidase. *J Lab Clin Med* 1977;90:563-568.

Valentine WN, Paglia DE, Fink K, Madokoro

G. Lead poisoning association with hemolytic anemia, basophilic stippling, erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency, and intraerythrocytic accumulation of pyrimidines. *J Clin Invest* 1976;58:926-932.

WHO. Environmental health criteria: 3. Lead. WHO. 1977, 25.

Zenz C. Occupational Medicine. Principles and Practical Applications, Chicago, Year book, 1988, 547-582.

Zygowicz ER, Sunderman W, Horak E, Dooley JF. Inhibition by Concanavalin A as the basis for a specific assay of serum 5'-nucleotidase activity. *Clin Chem* 1977;23:2311-2323.