

크롬 노출이 요중 8-Hydroxydeoxyguanosine 농도에 미치는 영향

인제대학교 의과대학 예방의학교실, 상계백병원 비뇨기과¹⁾, 상계백병원 내과²⁾, 일산백병원 임상병리과³⁾

김성준 · 유병철 · 엄상화 · 정귀원 · 성락희¹⁾ · 신원창²⁾ · 조종래³⁾ · 전진호

— Abstract —

Effects of Chromium Exposure on the Level of Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine

Seong Joon Kim, Byung Chul Yu, Sang Hwa Ohm, Ki Won Jeong, Luck Hee Sung¹⁾, Won Chang Shin²⁾, Jong Rae Cho³⁾, Jin Ho Chun

*Department of Preventive Medicine, Inje University,
Department of Urology, Sanggye Paik Hospital¹⁾
Department of Internal Medicine, Sanggye Paik Hospital²⁾
Department of Clinical Pathology, Ilsan Paik Hospital³⁾*

Objectives : To investigate the possibility of utilizing DNA adduct as a carcinogenic biological marker for workers exposed to chromium, and the effect of chromium exposure on the formation of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OH-dG) was also evaluated.

Methods : The chromium concentrations of venous blood and urine were measured in 20 chromium exposed workers(exposure group) and in 11 chromium workers(control group) who were not exposed. The concentration of 8-OH-dG in their urine was determined using high performance liquid chromatography with electrochemical detection.

Results : The blood chromium concentration was significantly higher in the exposure group($0.46 \pm 0.18 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) than in control group($0.27 \pm 0.15 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$), but the urinary chromium concentration was not significantly higher in the exposure group. The urinary 8-OH-dG was higher in the exposure group($1.71 \pm 1.82 \mu\text{mol}/\text{mol creatinine}$) than that in the control group($0.45 \pm 0.46 \mu\text{mol}/\text{mol creatinine}$) and was significantly correlated with the blood chromium concentration($r=0.49$). Results of multiple regression analysis revealed that the level of urinary 8-OH-dG depended upon the level of the blood chromium concentration($r^2=0.21$).

Conclusions : Urinary 8-OH-dG was significantly related to chromium exposure and this finding suggests the possibility that urinary 8-OH-dG could be used as a biological index of chromium induced DNA damage.

Key Words : Chromium, Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine

〈접수일 : 2001년 5월 14일, 채택일 : 2001년 7월 9일〉

교신저자 : 김 성 준(Tel : 02-950-1157) E-mail : pmksj@sanggyepaik.or.kr

* 본 연구는 1999년도 인제연구장학재단의 연구비 보조에 의한 것임.

서 론

최근 산업화에 따른 유해물질의 노출에 의한 건강장해가 해마다 증가하고 있으며, 사업장에서 생산활동에 참여하는 근로자들은 중금속, 유기용제, 방사선, 소음 등 다양한 유해물질에 노출되는 기회가 점차 증가되어 가고 있다. 따라서 직업적 반복 노출에 의한 건강장해를 조기발견, 평가하기 위해서는 임상증상이 나타나지 않은 불현성 증상기에 건강장해를 평가할 수 있는 효과적인 지표의 선정이 중요하다.

크롬은 강력한 부식작용이나 산화환원 작용에 의해 여러 가지 건강장해를 유발할 뿐만 아니라 발암성이나 돌연변이원성은 많은 연구에서 확인되고 있지만, 크롬에 의한 발암과정이나 돌연변이원성의 기전은 명확하게 규명되어 있지 않으며, 앞으로 많은 연구가 필요한 실정이다. 6가 크롬은 anion transport system을 통해 세포내로 흡수되어 염색체 이상이나 변이 등을 유발하지만, DNA에 직접적으로 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다(Connette와 Wetterhahn, 1983; De Flora와 Wetterhahn: 1989). 오히려 체내에 흡수된 6가 크롬이 체내 환원물질과 작용하여 5가, 4가, 3가 크롬 중간대사산물을 형성하고, 중간대사산물이 직접 DNA손상을 유발한다는 연구(Barr-David 등, 1992)와 6가 크롬이 세포 내에서 산화-환원 반응을 통해 5가, 4가, 3가의 중간대사산물로 변하는 동안 발생한 반응성 산소기(reactive oxygen species)가 DNA 손상을 유발하여(Ye 등, 1995) 발암이나 돌연변이를 유발한다고 알려져 있다.

지금까지 크롬 노출에 의한 DNA 손상을 평가하기 위한 연구가 지속적으로 이루어져 왔으며, 특히 DNA 손상을 평가하기 위해 DNA 부가체의 일종인 8-hydroxydeoxyguanosine(이하 8-OH-dG)을 이용하여 DNA 손상을 조기에 평가하고자 하는 연구가 있었다. 하지만 한상환 등(1995)의 연구와 김현 등(1999)의 연구는 크롬 노출시 DNA 손상을 평가할 때 음주나 흡연 등의 근로자 생활요인과의 연관성을 살펴보기에는 미흡하였다.

따라서, 본 연구는 크롬 도금 작업 근로자를 대상으로 크롬 노출에 의한 인체 영향 중 DNA 손상을 DNA 부가체 형성 정도를 통해 살펴보고자 하였으

며, DNA 부가체 형성 정도는 최근에 개발되어 시행이 간편한 요중 8-OH-dG 농도 변화를 통해 크롬 노출과 상관성을 평가하고 그 유용성을 평가하고자 하였다. 또한 근로자의 연령, 작업경력, 흡연, 음주 등의 요인과 요중 8-OH-dG 농도 변화의 상관성을 알아보고, 크롬 노출에 의한 DNA 손상을 평가하는데 이들 요인이 나타내는 영향을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1999년 8월부터 10월 사이에 부산 소재 크롬 취급사업장중 일부 사업장을 대상으로 크롬 도금작업에 종사하는 남성근로자 20명을 노출군으로 선정하였으며, 대조군은 같은 직장에 근무하는 근무자들중 직접 크롬에 노출되지 않는 사무실 남성근로자 11명을 대조군으로 선정하였다.

1. 일반적 특성

조사대상자들의 성, 연령, 직업력, 흡연습관, 음주습관을 개별면담을 통해서 파악하였으며, 이들 중 면접 설문조사에 의해서 간장질환, 당뇨, 고혈압 등의 병력이 있거나 기타 질환자는 조사대상에서 제외하였다. 또한 치료약이나 비타민제, 건강식품을 복용하는 경우에도 조사대상에서 제외하였다. 특히 과거병력에서는 크롬 노출에 의하여 발생이 가능한 증상이나 질병의 이환 유무를 확인하였다.

2. 혈중 및 요중 크롬 농도 측정

조사 당일 작업중인 근로자에게서 정맥혈 10 ml를 헤파린이 들어 있는 vacutainer tube(Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA)에 넣어 시료로 사용하였다. 소변은 무균 소독된 용기를 사용하여 10 ml를 채취하였다. 멸균 처리된 시험관에 1 ml의 시료를 담고 Triton X-100(Wakopure chemical Ind, Tokyo, Japan)을 첨가하였다. 크롬표준용액(1000 ppm)을 희석하여 sample에 첨가하는 표준물 첨가법으로 분석하였다(Price, 1979). Matrix modifier 용액에 addition standard, blank, sample을 첨가한 후 전기로(graphite furnace)가 부착된 원자흡광광도계(Perkin-Elmer model 4100ZL, USA)에 자동 주입시킨다. 전기로의 온도 프로그램은 주입된 혈액의 손실이 없도록

Table 1. The condition of instrumental setting of atomic absorption spectrophotometry with a graphited furnace for chromium determination

Parameters		Parameters	
Lamp current(mA)	6	Purge gas	Nitrogen
Wave length(nm)	357.9	Temperature program	
Slit width(nm)	0.7	Dry	120℃ for 60 sec
Signal type	Zeeman AA	Pretreatment	1550℃ for 30 sec
Read time(sec)	8.0	Atomization	2300℃ for 5 sec
BOC time(sec)	2	Cleaning	2600℃ for 2 sec

하고, 검출성분의 기화를 막고, 타 방해성분은 완전 기화되도록 단계별 적정회화온도에서 가열하도록 맞추었다. 회화기 조건은 120℃에서 60초, 1550℃에서 30초, 2300℃에서 5초, 그리고 2600℃에서 2초간이었다. 혈중 크롬의 농도는 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ 로 표시하였으며, 요중 크롬농도는 creatinine으로 보정하여 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinine으로 표시하였다. 분석기기의 조건은 Table 1과 같다.

3. 요중 8-OH-dG 농도의 측정

실험에 사용된 용매는 HPLC grade의 물, acetonitrile, methanol(Tedia Co, USA) 등을 사용하였고, 검체의 전처리에 이용된 solid-phase extraction column으로는 C₁₈ Sep-Pak cartridge(Waters Co, USA)를 이용하였다. 8-OH-dG(Sigma, USA)를 100 ml의 증류수에 5 mg을 녹인 후 1/10 희석하여 stock solution으로 만든 후 -20℃에 보관하였고, 70, 140, 280, 560 nmol의 working standard를 제조하여 4℃에 보관하여 사용하였다.

8-OH-dG 측정시 표준용액 70, 140, 280, 560 nmol을 이용하여 electrochemical detector(ECD; Model 1340c)가 부착된 HPLC(Model 1350 soft start pump, Model AS-100 autosampler, Bio-Rad, USA)에 주입하여 retention time 및 직선성을 확인하였다. Electrochemical cell은 +0.6 V glossary carbon working electrode 및 Ag/AgCl reference electrode를 이용하였고 10 nA/V로 system operation을 하였으며 Bio-Rad CDM system 1.1 software로 결과를 얻었다. 분석에 이용된 column(dimension 250×4.6 mm, particle size 5 μm)은 HAsil C18(Higgins Analytical Inc, USA)를 이용하였다. Solid-phase extrac-

tion시 preconditioning buffer pH를 3.5, 5.5, 7.5, 8.5로 하여 column에의 흡착 정도를 평가하였다. 검체를 reverse phase C18 cartridge에 통과시킨 후 140 nmol 표준용액으로 spiking시킨 것과 spiking시키지 않은 두 가지를 각각 분석하여 peak를 확인하였고, 140 nmol 표준용액을 검체 분석시 마지막 단계에 재추정하여 system의 안정성을 확인하였다(Tagesson 등, 1995).

소변 검체는 HCl로 pH 4-5로 맞추었고 분석시까지 -20℃에서 보관하였다. 분석전 1500 g에서 10분간 원심분리후 상층액 2 ml을 취하여 0.5 ml 140 nmol 8-OHdG를 혼합한 후 reverse phase C18 cartridge에 통과시켜 용출된 검체 50 μl 를 주입하였다. Mobile phase로는 50 mmol의 KH₂PO₄(pH 3.5), 2.5 % acetonitrile, 1 % methanol(Tedia Co, USA)을 이용하였고, solution filter로는 0.45 μm FP vertical membrane filter(Gelman Science, USA)와 0.2 μm Ministart RC 4-membrane filter(Sartorius AG, Germany)를 이용하였다. Flow rate는 1.0 $\mu\text{l}/\text{min}$ 으로 하였고 40℃에서 분석하였다. 요중 Creatinine 측정시 소변을 증류수로 50배 희석한 후 HPLC-UVD(Bio-Rad, UV-1806 UV/Vis detection)를 이용하여 분석하였다. Mobile phase로는 50 mmol sodium acetate(pH 6.0), acetonitrile을 98/2(V/V)으로 제조하여 이용하였고, flow rate는 1 ml/min으로 하여 254 nm에서 측정하였다(Achari 등, 1983).

4. 자료분석

연구대상자의 인적 특성, 흡연, 음주 여부 비교에는 t-test와 χ^2 -test를 이용하였다. 노출군과 대조군 간의 요중 8-OH-dG 농도 단순비교를 위해서

Mann-Whitney test를 적용하였고 중회귀분석을 이용하여 혈중 크롬농도, 요중 크롬농도, 연령, 근무연수 등의 변수가 요중 8-OH-dG 농도에 미치는 영향을 분석하였다.

결 과

1. 조사대상자의 일반적 특성

조사대상자는 모두 남성으로서, 크롬 노출군 20명 및 사무직 종사자인 대조군 11명의 일반적인 특성을

Table 2. Comparison of characteristics of study subjects

	Exposure group(n=20)	Control group(n=11)
Age(years)	26.3±7.1	24.7±6.1
Work duration(years)	2.7±3.1	4.3±3.7
Smoking status(persons)		
smoker	17	10
non-smoker	3	1
Drinking status(persons)		
non drinker	1	1
drinker	19	10

Table 3. The mean concentration of chromium in blood and urine for subjects

	Exposure group	Control group
	Mean±SD	Mean±SD
Cr in blood($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)**	0.46±0.18	0.27±0.15
Cr in urine($\mu\text{g}/\text{g creatinine}$)	6.73±4.26	3.60±2.17

** : P<0.01

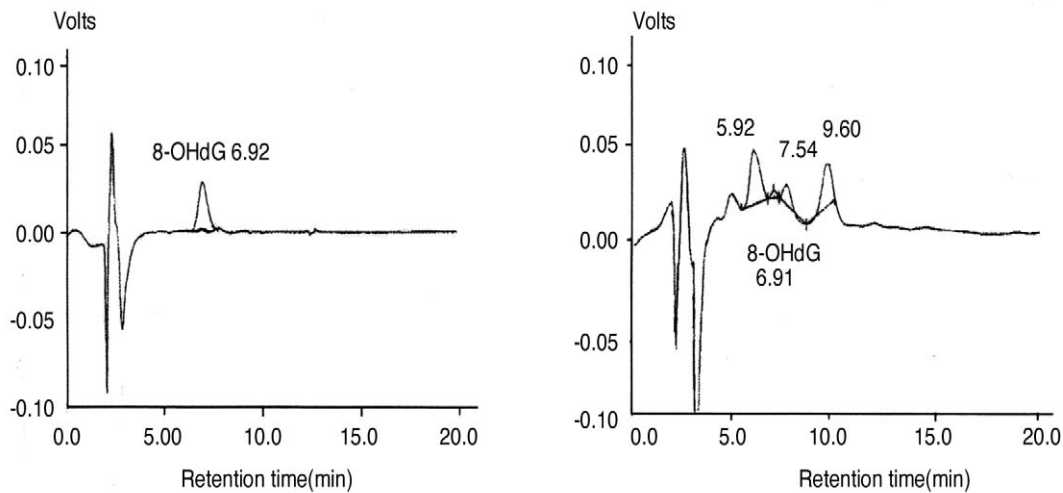


Fig. 1. HPLC chromatograms of 8-hydroxydeoxyguanosine in urine(above: chromatogram of standard 8-OH-dG(140.8 nmol, 6.92 min), below: chromatogram of a urine sample(6.91 min)).

Table 4. Mean concentration of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OH-dG) according to chromium concentration in blood (unit: $\mu\text{mol/mol}$ creatinine)

Chromium concentration in blood($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	Exposure group		Control group	
	n	Mean \pm SD	n	Mean \pm SD
0.00~0.19	2	0.35 \pm 1.35	4	0.37 \pm 0.87
0.20~0.39	8	1.07 \pm 0.99	7	0.72 \pm 0.82
0.40~0.59	7	1.37 \pm 1.13		
0.60~0.79	2	1.56 \pm 1.88		
0.80~1.00	1	3.63		
Total	20	1.71 \pm 1.82*	11	0.45 \pm 0.46

*P<0.05

Table 5. Correlation coefficients among age, duration, blood chromium concentration, urine chromium concentration, alcohol, smoking and exercise

Variables	Age	Dur	BCr	UCr	8-OH-dG	Alcohol	Smoking	Exercise
Age	1.00	0.66**	-0.41	-0.19	0.94	0.32	0.33	-0.19
Dur		1.00	-0.51	0.61	0.18	-0.19	-0.05	-0.12
BCr			1.00	0.63**	0.49**	0.13	0.14	0.05
UCr				1.00	0.38	-0.32	0.16	0.31
8-OH-dG					1.00	-0.08	0.06	-0.19
Alcohol						1.00	0.09	-0.52*
Smoking							1.00	-0.21
Exercise								1.00

* : P<0.05, ** : P<0.01

Dur: work duration, BCr: chromium concentration in blood, UCr: chromium concentration in urine, 8-OH-dG: 8-hydroxydeoxyguanosine

비교하였다. 조사대상자중 비중격 천공이나 피부염을 나타낸 근로자는 없었으며, 평균 연령은 각각 26.3세, 24.7세로서 두 집단 간에 유의한 차이는 없었다. 근무연수는 크롬 노출군과 대조군의 평균은 각각 2.7년, 4.3년이었으며, 대조군의 근무연수가 높았지만 유의한 차이는 없었다. 흡연을 하는 사람은 크롬 노출군 85 %, 대조군 90.9 %이었으며, 음주여부는 각각 95 %, 90.9 %였으나 유의한 차이는 아니었다(Table 2).

2. 혈중 및 요중 크롬 농도

조사대상자의 혈중 크롬 농도는 크롬 노출군에서 0.46 \pm 0.18 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 로 대조군의 0.27 \pm 0.15 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 보다 유의하게 높았다(p<0.01). 요중 크롬 농도는 크롬 노출군에서 6.73 \pm 4.26 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinine, 대조군 3.60 \pm 2.17 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinine로서 유

의한 차이는 없었다(Table 3).

3. 요중 8-OH-dG 농도

HPLC-ECD로 측정된 요중 8-OH-dG의 크로마토그래피는 Fig. 1과 같다. 조사대상자의 요중 8-OH-dG의 농도는 크롬 노출군이 1.71 \pm 1.82 $\mu\text{mol/mol}$ creatinine으로 대조군의 0.45 \pm 0.46 $\mu\text{mol/mol}$ creatinine보다 유의하게 높았으며(p<0.05), 혈중 크롬 농도가 증가함에 따라 요중 8-OH-dG 농도 역시 증가하였다(Table 4).

4. 제 변수간의 상관관계

조사대상자의 각 변수간 상관관계를 살펴보았다. 요중 8-OH-dG는 혈중 크롬 농도와 상관관계가 유의하였고(r=0.49), 혈중 크롬 농도는 요중 크롬 농도와 상관관계가 유의하였다(r=0.63). 요중 8-OH-

Table 6. Regression of 8-Hydroxydeoxyguanosine with blood chromium concentration

Variable	Independent variables	Regression coefficient	Standard error	P-value	R square
8-OH-dG	Intercept	0.169	0.656	0.799	0.213
	Blood Cr	3.852	1.512	0.018	
	Urin Cr	0.201	0.184	0.098	
	Duration	0.181	0.133	0.223	
	Age	0.122	0.176	0.759	

dG는 근로자의 생활요인인 음주, 흡연, 운동과 상관관계가 유의하지 않았다(Table 5).

5. 요증 8-OH-dG 농도에 대한 회귀분석

요증 8-OH-dG 농도에 영향을 미치는 변수의 설명력을 보기 위해 변수들에 대해 중회귀분석을 시행하였다(Table 6).

고 찰

Dabney(1981)는 변이원성 물질이나 발암물질을 장기간 취급하는 근로자나 일반 인구 집단에서 임상적 증상이나 증후가 나타나기 전에 그 위험을 미리 파악하기 위한 유전감시(genetic monitoring)를 제시하였다. 많은 유해 물질중 크롬 노출에 의해 발암작용을 나타낸다는 보고는 많이 있지만, 크롬 노출에 의한 발암작용 기전이나 DNA 손상을 평가할 수 있는 방법을 선택하기에는 아직 연구 자료가 부족하다.

크롬에 의한 발암성은 비갑개선암 발생 보고(Newman, 1890) 이후, Ames test나 생체외(in vitro)검사에서 6가 크롬의 돌연변이원성이 확인되었으며(Stella 등, 1982), 역학적 연구 결과 6가 크롬 화합물에 직업적으로 노출된 근로자에서 폐암의 발생이 높다고 보고하고 있다(Franchini 등, 1983). 따라서 IARC(1993)에서는 크롬화합물에 대하여 인간에 대한 발암물질(group 1)로 분류하였으며, 우리나라 노동부에서 발암성 물질로 관리하는 물질 중에는 크롬광 가공물, 비수용성 6가 크롬 화합물, 크롬화아연 3종이 포함되어 있다(노동부, 1994).

본 연구에서 크롬 노출군의 평균 혈중 크롬 농도는 $0.46 \pm 0.18 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 로 신동훈 등(1990)의 크롬노출 근로자의 평균 혈중농도 $0.114 \pm 0.03 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, 양승림(1994)이 보고한 크롬노출 근로자

의 평균 혈중농도 $0.39 \pm 0.25 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 에 비해 높은 편이었고, 한상환 등(1995)의 크롬 저노출군 및 고노출군 각각 $0.55 \pm 0.36 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 와 $0.67 \pm 0.33 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 에 비해서는 낮은 편이었다. 또한 요증 평균 크롬 농도는 $6.73 \pm 4.26 \mu\text{g/g creatinine}$ 으로서 한상환 등(1995)의 크롬 저노출군 및 고노출군 각각 $23.52 \pm 14.81 \mu\text{g/g creatinine}$ 과 $25.39 \pm 14.42 \mu\text{g/g creatinine}$ 에 비해 낮은 수준이었으며, 양승림(1994)이 보고한 $5 \pm 4.94 \mu\text{g/g creatinine}$ 과 유사한 수준이었다. 이는 크롬의 농도가 작업형태, 작업량 및 작업 시작후 검사시간에 따라 다르게 측정되기 때문으로 해석된다.

체내에 흡수된 크롬은 세포내 redox-active enzymes(glutathione, cystein, cytochrome P450 등)에 의해 환원되는 과정에서 만들어진 5가, 4가, 3가 크롬 중간대사물질이 직접 DNA strand break를 유발하고, DNA 손상을 유발하여 발암기전으로 작용(Rodney, 1989)하는 과정과 Fenton-like reaction이나 Haber-Weiss type reaction을 통해 발생한 반응성 산소기가 DNA strand break(Shi와 Dalal, 1992), 지질과산화 작용, nuclear transcription factor(NF)- κ B를 활성화시켜 발암작용을 유발하는 것으로 해석되고 있다(Chen 등, 1997; Shi 등, 1999).

이중 반응성 산소기는 반감기가 매우 짧고 검사물을 분석하는 데 경제적 어려움이 있으므로, 반응성 산소기를 직접 측정하기보다는 생물학적 지표(biological markers)를 분석하여 평가하며, 이 중에는 지질과산화물을 측정하는 방법(Ito 등, 1985; Stohs 와 Bagchi, 1995; Zhitkovich 등, 1995)과 증가된 carbonyl기를 측정함으로써 혈장 단백질 손상을 평가하는 방법(Jamall와 Smith, 1985)이 알려져 있다.

또한 반응성 산소기에 의한 변이원성이나 발암성은 세포유전학적 방법으로 유전자 손상을 평가하며, 현재까지 효과적으로 이용되고 있는 세포유전학적 변이원성 검사법은 자매염색분체교환(sister chromatid exchange), 소핵(micronucleus)의 발현정도를 관찰하는 방법과 8-OH-dG, 8-hydroxyadenine, thymine glycol 같은 DNA 부가체를 측정하고 있다(Leandon와 Hanawalt, 1983; Dizdaroglu와 Bergtold, 1986). 특히 Kasai와 Nishimura(1984)는 일종의 DNA 부가체인 8-OH-dG를 검출하는 방법을 제안하였고, Floyd 등(1986)은 electrochemical detector(ECD)가 부착된 HPLC를 이용하여 DNA내 8-OH-dG를 검출할 수 있는 방법을 고안하여 요중 8-OH-dG 측정하는 검사법을 개발하였다.

기존 연구에서 8-OH-dG를 이용하여 크롬에 의한 DNA 손상을 평가한 한상환 등(1995)은 말초혈액 림프구의 8-OH-dG/dG 농도비가 크레아티닌 보정 요중 크롬 농도와 유의한 상관성을 나타내었다고 하였으며, Tagesson 등(1991)은 정상인과 암환자를 대상으로 요중 8-OH-dG 농도를 평가한 연구에서 정상인의 요중 8-OH-dG 농도에 비해 암환자의 요중 8-OH-dG 농도가 높게 나타났으며, 정상인의 요중 8-OH-dG 농도는 $1.11 \pm 0.62 \mu\text{mol/mol creatinine}$ 으로 측정되었다. 본 연구에서 혈중 크롬농도 별 요중 8-OH-dG 농도는 노출군과 대조군에서 혈중 크롬농도가 증가되면서 요중 8-OH-dG 농도가 상승하였으며($r=0.49$), 대조군의 요중 8-OH-dG 평균농도는 $0.45 \pm 0.46 \mu\text{mol/mol creatinine}$ 에 비하여 노출군의 요중 8-OH-dG 평균농도는 $1.71 \pm 1.83 \mu\text{mol/mol creatinine}$ 으로서 유의하게 높게 측정되어 크롬에 의한 DNA 손상을 평가하기 위한 생물학적 지표로서의 가능성을 나타내었다. 하지만 비노출군의 평균농도와 비교하기에는 자료가 부족하여 이에 대한 연구는 더 필요하다. 또한 요중 크롬농도와 요중 8-OH-dG 농도와의 상관성이 낮게 나타난 결과에 대해서는 본 연구에서 작업시작 후 검사 실시 시간에 따른 문제점이 있을 수 있으며 향후 이에 대한 연구가 필요하다.

생활습관에 의한 DNA 손상을 평가한 연구에서 Asami 등(1997)은 흡연자의 폐 조직세포에서 흡연자의 8-OH-dG는 비흡연자보다 높았으며 유의한 상관관계($r=0.53$)를 보고했고, Liu 등(1999)은 6가

크롬과 흡연은 서로 상승작용을 일으켜 DNA single strand breaks을 증가시키며 8-OH-dG의 증가와 흡연의 상관관계는 유의하다고 하였다($r=0.525$). Loft 등(1992)은 요중 8-OH-dG를 이용하여 흡연과의 관계를 살펴본 연구에서도 흡연자의 8-OH-dG 농도가 비흡연자에 비해 50% 높게 나타났으나, 개인간 차이가 있음을 지적하였다. 본 연구에서 흡연자군의 요중 8-OH-dG 농도는 $1.49 \pm 1.29 \mu\text{mol/mol creatinine}$ 로 비흡연자군의 $0.44 \pm 0.29 \mu\text{mol/mol creatinine}$ 보다 높게 나타났으나 두 군간 차이는 유의하지 않았다. 이는 본 연구의 조사 대상자수가 작았으며 또한 비흡연자군이 흡연자군에 비해 충분히 많지 않은 점에 기인할 가능성과 이와는 달리 8-OH-dG 수복효소인 8-hydroxyguanine endonuclease의 활성이 증가되었기 때문일 가능성 등을 고려할 수 있다. 본 연구의 제한점으로는 첫째, 단면조사연구로 인한 연구방법의 한계점을 지적할 수 있다. 즉, 크롬 노출이 많았던 장기 근무자에 대한 추적 검사가 이루어지지 않아서 이들이 연구 집단에서 탈락되어 전체적으로 위험요인의 효과가 저평가될 가능성에 대한 통제나 고려가 없었으며, 또한 크롬 노출과 요중 8-OH-dG 변화를 원인 결과로 연결하여 볼 수 없다는 점이다. 둘째, 조사대상자의 수가 적어 일반 근로자 집단에 확대 적용하기 어렵다는 문제가 있다. 셋째, 1회 채취한 요중 크롬검사나 혈중 크롬검사로 크롬 노출량이나 체내 부하량을 정확하게 평가하기 어려운 점이다. 하지만 크롬 노출에 의한 DNA 손상을 평가하기 위한 연구의 일환으로 요중 8-OH-dG 측정의 유용성을 제시하였음에 나름대로 의의를 가진다고 할 수 있다.

요 약

목적 : 본 연구는 크롬 도금 사업장 근로자를 대상으로 크롬 노출에 의한 DNA 손상을 평가하기 위한 생물학적 영향 지표로 요중 8-hydroxydeoxyguanosine의 유용성을 평가하고자 하였다. 크롬 노출과 근로자 생활 요인 중 흡연, 음주 등의 요인과 8-hydroxydeoxyguanosine의 상관성을 알아보려고 하였다.

방법 : 크롬 도금 사업장에 종사하는 남성근로자 20명을 크롬 노출군으로 하고 사무직 근무자 11명을

대조군으로 하여 혈중 크롬 농도, 요중 크롬농도, 요중 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OH-dG), 생활 습관 등을 조사하여 비교하였다.

결과 : 혈중 크롬 농도는 노출군이 $0.46 \pm 0.18 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 로 대조군보다 유의하게 높았다. 그러나 요중 크롬농도는 노출군이 $6.73 \pm 4.26 \mu\text{g/g creatinine}$ 으로 대조군의 $3.60 \pm 2.17 \mu\text{g/g creatinine}$ 보다 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

요중 8-OH-dG 농도는 혈중 크롬 농도와 유의한 상관이 있었으며($r=0.49$), 또한 혈중 크롬 농도는 요중 크롬 농도와 유의한 상관이 있었다($r=0.63$). 요중 8-hydroxydeoxyguanosine 농도는 크롬 노출군에서 높게 나타났으며, 흡연이나 음주에 의한 차이는 없었다. 요중 8-hydroxydeoxy-guanosine 농도에 영향을 미치는 변수들을 단계별 변수선택법을 사용하여 중회귀분석 하였을 때, 혈중 크롬농도가 유의한 변수로 선택되었다($r^2=0.21$).

결론 : 본 연구는 크롬의 발암작용을 나타내는 기전으로 설명되고 있는, 크롬의 산화환원작용에 의한 DNA 손상을 평가하기 위해 DNA 부가체의 일종인 8-hydroxydeoxyguanosine을 측정하여 생물학적 지표로서의 활용 가능성을 평가하였다. 요중 8-hydroxydeoxyguanosine는 혈중 크롬농도와 유의한 상관성을 나타내었으며, 크롬에 의한 DNA 손상을 평가할 수 있는 생물학적 모니터링 지표로서 활용될 수 있을 것이다.

참고문헌

김현, 김현식, 김로사, 김현영, 정재황. 6가 크롬 폭로가 흰쥐 폐조직의 8-Hydroxydeoxyguanosine 농도 및 Superoxide Dismutase와 8-Hydroxyguanine Endonuclease 의 활성에 미치는 영향. 예방의학회지 1999;32:101-107.

노동부. 특수건강진단방법 및 건강관리기준. 노동부고시 제 94-38호. 서울: 노동부, 1994.

신동훈, 윤능기, 서석권, 예민혜. 일부 6가 크롬 폭로 작업자의 임파구 자매염색분체교환. 예방의학회지 1990;23:358-368.

양승림. 크롬취급종사자들의 말초 임파구 자매염색분체 교환 발현빈도에 관한 조사. 대한산업의학회지 1994;6: 332-341.

한상환, 조수현, 김현, 하미나, 주영수, 박수민, 권호장, 김용대, 정명희. 크롬 폭로가 자매염색분체교환 빈도 및

8-hydroxydeoxyguanosine 농도에 미치는 영향. 예방 의학회지 1995;28:511-525.

Achari R, Mayersohn M, Kenneth A. Conrad. HPLC analysis of creatinine in Human Plasma and Urine. Journal of Chromatographic Science 1983;21:4.

Asami S, Manabe H, Miyake J. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxy deoxyguanosine, in a central site of the human lung. Carcinogenesis 1997;18.

Barr-David G, Hambley TW, Irwin JA, Judd RJ, Lay PA, Martin BD. Suppression by vanadium(V) of chromium(V)-mediated DNA cleavage and chromium(VI)-induced mutagenesis. Synthesis and crystal structure of the vanadium(IV) complex $(\text{NH}_4)^+[\text{V}(\text{O})\{\text{HOC}(\text{Et})_2\text{COO}\}]_2[\text{OC}(\text{Et})_2\text{COO}]_2$. Inorg Chem 1992;31:4906-4908.

Chen F, Ye J, Zhang X, Rojanasakul Y, Shi X. One-electron reduction of chromium(VI) by alpha-lipoic acid and related hydroxyl radical generation, dG hydroxylation and nuclear transcription factor- κ B activation. Arch Biochem Biophys 1997;338:165-172.

Connette PH, Wetterhahn KE. Metabolism of carcinogenic chromate by cellular constituents. Struct Bond 1983;54:93-124.

Dabney BJ. The role of human genetic monitoring in the workplace. J Occup med 1981;23:621-631.

De Flora S, Wetterhahn KE. Mechanisms of chromium metabolism and genotoxicity. Life Chem Rep 1989;7:169-244.

Dizdaroglu M, Bergtold DS. Characterization of free radical-induced base damage in DNA at biologically relevant levels. Anal Biochem 1986;156:182-188.

Floyd RA, Watson JJ, Wong PK, Altmiller DH, Rickard RC. Hydroxyl free radical adduct of deoxyguanosine: sensitive detection and mechanism of formation. Free Rad Res Commun 1986;1:163-172.

Franchini J, Magnani F, Mutti A. Mortality experience among chrome plating workers. Scand J Work Environ Health 1983;9:247-252.

International Agency for Research on Cancer(IARC). International agency for research on cancer monograph on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. Lyon: IARC Sci Publ, 1993.

Ito Y, Niiya Y, Shima S, Sarai S. Serum lipid peroxide level and blood superoxide dismutase

- activity in workers with occupational exposure to lead. *Int Arch Occup Environ Health* 1985;56:119-127.
- Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation in the rat heart : A possible mechanism of cadmium cardiotoxicology. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985;80:33-42.
- Kasai H, Nishimura S. Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by polyphenols and aminophenols in the presence of hydrogen peroxide and ferric ion. *Gann* 1984;75:565-566.
- Leandon SA, Hanawalt PC. Monoclonal antibody to DNA containing glycol. *Mutation Res* 1983;112:191-200.
- Liu X, Lu J, Liu S. Synergistic induction of hydroxyl radical-induced DNA single-strand breaks by chromium(VI) compound and cigarette smoke solution. *Mut Res* 1999;440:109-117.
- Loft S, Vistisen K, Ewertz M. Oxidative DNA damage estimated by 8-hydroxy-deoxyguanosine excretion in humans: influence of smoking, gender and body mass index. *Carcinogenesis* 1992, 13:2241-2247.
- Newman D. A case of adenocarcinoma of the left inferior turbinated body, and perforation of the nasal septum, in the person of a worker in chrome pigments. *Glasgow Med J* 1890;33:469-470.
- Price WJ. Spectrochemical analysis by atomic absorption. London: Rheine Heyden and son Ltd, 1979.
- Rodney PF, Robert JJ, Lay PA, Dixon NE, Raker RSU, Bonin AM. Chromium(V)-induced cleavage of DNA: Are chromium(V) complexes the active carcinogens in chromium(VI)-induced cancer? *Chem Res Toxicol* 1989;2:227-229.
- Shi X, Dalal NS. The role of superoxide radical in chromium(VI) generated hydroxyl radical: The Cr(VI) Haber-Weiss cycle. *Arch Biochem Biophys* 1992;292:323-327.
- Shi X, Chen CT, Halliwell B, Castranova V, Vallyathan V. Reduction of chromium(VI) and its relationship to carcinogenesis. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1999;2:87-104.
- Stella M, Montaldi A, Rossi R, Rossi G, Levis AG. Clastogenic effects of chromium on human lymphocytes in vitro and in vivo. *Mutat Res* 1982;101:151-164.
- Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanism in the toxicity of metal ions. *Free Radic Bio Med* 1995;18:321-336.
- Tagesson C, Kalliberg M, Leanderson P. Determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by coupled-column high performance liquid chromatography with electrochemical detection : a non invasive assay for in vivo oxidative DNA damage in humans. *Toxicol Methods* 1991;1:242-251.
- Tagesson C, Kallberg M, Klintonberg C, Starkhammer H. Determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by automated coupled-column high performance liquid chromatography : a powerful technique for assaying In vivo oxidative DNA damage in cancer patients. *European Journal of cancer* 1995;31:934-940.
- Ye J, Zhang X, Young HA, Mao Y, Shi X. Chromium(VI)-induced nuclear factor- κ B activation in intact cells via free radical reactions. *Carcinogenesis* 1995;16:2401-2405.
- Zhitkovich A, Voitkun V, Costra M. Glutathione and free amino acids from stable complexes with DNA following exposure of intact mammalian cells to chromate. *Carcinogenesis* 1995;16: 907-913.