

직업과 생활 습관, 그리고 CYP1A1, GSTM1, GSTT1 유전자 다형성이 요중 1-hydroxypyrene과 2-naphthol 농도에 미치는 영향

충북대학교 의과대학 예방의학교실¹, 동국대학교 의과대학 예방의학교실²

김 현¹ · 임현술² · 강종원¹ · 이호익¹ · 김용대¹ · 남홍매¹ · 이철호¹

— Abstract —

Effects of occupation, life style and genetic polymorphism of CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 on urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentration

Heon Kim¹, Hyun-Sul Lim², Jong-Won Kang¹, Holik Lee¹, Yong-Dae Kim¹,
Hong-Mei Nan¹, Chul-Ho Lee¹

*Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University¹
Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Dongguk University²*

Objectives : This study was performed to describe the distribution patterns of urinary 1-hydroxypyrene (1-OHP) and 2-naphthol concentration in coke oven workers and workers not occupationally exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), and to determine the effects of occupation, life style, and genetic polymorphism of cytochrome P450 1A1 (CYP1A1), glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) and theta 1 (GSTT1) on urinary 1-OHP and 2-naphthol concentration.

Methods : The study subjects were 19 coke oven workers and 156 shipyard workers. A questionnaire was used to obtain data about detailed smoking and food intake history. Urinary 1-OHP and 2-naphthol concentration and genetic polymorphism of CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 were analyzed.

Results : The urinary 1-OHP and 2-naphthol concentration was higher in the coke oven workers and in smokers. Urinary 1-OHP concentration was significantly correlated with time after last intake of roasted meat in non-smoking coke oven workers, whereas urinary 2-naphthol concentration was with amount of cigarette smoking at the sampling day in smoking shipyard workers. Urinary 1-OHP, but not 2-naphthol, concentration of the shipyard workers with Ile/Ile type of CYP1A1 was significantly lower than that of the shipyard workers with other CYP1A1 genotype.

Conclusions : Urinary 1-OHP would be a better marker for occupational exposure to PAH in coke oven workers, and urinary 2-naphthol might be better for non-occupational inhalation exposure to PAH. CYP1A1 would not play an important role in the metabolism of naphthalene but in the metabolism of pyrene.

Key Words : PAH, Coke oven worker, CYP1A1, GSTM1, GSTT1

〈접수일 : 1999년 7월 2일, 채택일 : 1999년 11월 8일〉

교신저자 : 김 현 (Tel : 0431-261-2864) E-mail : kimheon@med.chungbuk.ac.kr

서 론

다환성 방향족 탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbons; 이하 PAH)는 화석연료가 불완전 연소되면서 형성되는 것으로, 대기 중에 널리 퍼져 있으며(Hemminki, 1990), 식이나 흡연 등의 생활 습관요인과 직업적 요인에 의해서 노출될 수 있다. PAH는 호흡기와 소화기, 그리고 피부를 통하여 인체에 흡수되는데, 그 가운데 몇 가지는 동물 실험 결과 암을 일으키는 물질로 확인되었다(IARC, 1983). 따라서 PAH 노출 정도를 정확하게 측정하는 것은 PAH에 의한 건강 평가에 있어서 필수적인 사항이지만, 벤젠 고리가 세 개 이하인 경우 특히 측정이 어려워 일반적으로 적용하기 어렵다는 제한점이 있다(백성욱 등, 1998; Kaupp 등, 1992). 이러한 이유 때문에 PAH에 대한 노출 정도를 측정하기 위한 목적으로 몇 가지 생물학적 지표가 개발되어 사용되고 있다.

Pyrene은 인체에 발암성이 없는 PAH지만, PAH 중에 비교적 많이 포함되어 있으며 그 구성비율이 비교적 일정하여 PAH 노출 정도를 알려주는 생체지표로 이용되고 있다(Jongeneelen 등, 1987). 체내로 흡수된 pyrene은 대부분이 1-hydroxypyrene glucuronide(1-OHPG)나 1-hydroxypyrene(1-OHP)의 형태로 소변을 통해 배설되므로(Singh 등, 1995), 요중 1-OHPG나 1-OHP의 농도를 측정하여 인체에 흡수된 PAH 양을 추정하고자 하는 시도가 많이 있었다. 그러나 pyrene은 호흡기 뿐 아니라 소화기를 통해서도 잘 흡수되므로 요중 1-OHP나 1-OHPG 농도는 노출 경로에 따른 PAH 노출 정도를 정확하게 반영하지 못한다는 단점이 있다. 이에 비하여 naphthalene은 거의 대부분 호흡기를 통하여 흡수되는 PAH이다(Tingle 등, 1993). 그러므로 pyrene보다 naphthalene의 요중 대사산물의 농도가 호흡기를 통하여 흡수되는 PAH의 양을 더욱 잘 반영할 것으로 생각된다. Naphthalene은 수산화(hydroxylation)되어 1-, 또는 2-naphthol이 되고, 그 후 glucuronide나 sulfate가 결합되면 수용성을 갖게 되어 소변을 통해 배설된다(Jansen 등, 1995). 최근 HPLC를 이용할 때 매우 민감한 요중 2-naphthol

측정법이 개발되어(Kim 등, 1999), PAH에 대한 새로운 생물학적 노출지표로 사용할 수 있게 되었다.

직업적 PAH 노출이 없는 근로자 집단에서의 요중 PAH 대사산물 농도에 대한 조사가 이루어져야만, PAH에 고농도로 노출되는 근로자들이 순수하게 직업적으로 노출되는 PAH 양을 추정할 수 있다. 그러나, PAH 노출지표로서 요중 PAH 대사산물의 농도를 측정한 연구는, PAH 고농도 노출 근로자 집단만을 대상으로 수행된 것이 대부분이며(Jongeneelen 등, 1990; Buchet 등, 1992; Grimmer 등, 1993; Ferreira 등, 1994; 이송권, 1997), 고농도 노출 집단과 직업적 노출이 없는 집단을 동시에 대상으로 하고, 그 결과를 서로 비교한 연구는 국내외를 막론하고 거의 없다. 또한, 요중 1-OHP와 2-naphthol의 농도를 동시에 측정하고, 이를 서로 비교한 연구는 이루어진 바 없다.

체내로 흡수된 PAH는 CYP1A1 등의 1상 효소(phase 1 enzyme)에 의하여 우선 대사를 거친 다음, GSTM1이나 GSTT1 등의 2상 효소에 의하여 접합(conjugation)이 일어나 소변으로 배설된다. 그러므로, 이러한 효소의 활성에 의하여 소변으로 배설되는 PAH 대사산물의 농도가 변화할 것으로 추정된다. 이들 효소의 유전자 다형성 유형과 효소 활성 사이의 관련성이 잘 알려져 있으므로, CYP1A1과 GSTM1, 그리고 GSTT1 유전자 다형성 유형에 따라 요중 1-OHP나 2-naphthol의 농도가 변화할 가능성이 높으므로, 이를 확인할 필요가 있다.

이에 본 연구자 등은 직업적으로 PAH에 노출되는 코크스로 근로자와, 직업적 PAH 노출이 거의 없는 조선회 근로자들을 대상으로 이들의 요중 1-OHP 농도와 2-naphthol 농도를 서로 비교하고, 이 농도가 직업이나 흡연 등의 생활 습관, 그리고 CYP1A1, GSTM1, GSTT1 등의 유전자 다형성에 따라 변화하는가를 평가하는 것을 목적으로 본 연구를 수행하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

본 연구의 대상자는 코크스로 작업에 종사하는 근로자 19명과 직업적 PAH 노출 정도가 크지 않은

경남 지역에 위치한 1개 조선소에서 일하는 남자 근로자 156명으로 하였다. 이들의 인구학적 특성은 Table 1과 같다.

2. 연구 방법

1) 설문조사

식이요인과 흡연에 의한 PAH 노출을 조사하기 위하여 이들을 대상으로 자기기입식 설문조사를 시행하였다. 이 설문지에는 식품의 조리 형태, 조리 정도, 한 번 먹을 때 평균 구운 고기 섭취량, 1주 평균 구운 고기 섭취 회수, 최근 구운 고기를 섭취한 때부터 채노시점까지 경과 시간, 가장 최근 구운 고기 섭취량, 흡연 기간, 하루 평균 흡연량, 채노 전날 흡연량, 채노 당일 흡연량, PAH 관련 작업 여부 등에 대한 문항이 포함되어 있다.

2) 소변 채취 및 요중 creatinine 측정

대상자 전부에 대하여 1회노를 채취하고, 이 중 일부를 사용하여 creatinine을 측정하였다. 나머지 소변은 50cc polypropylene tube에 분주하여 섭씨 영하 20도에 보관하였다. 요중 creatinine 농도는 Jaffe법을 이용하여 측정하였다.

3) 요중 1-OHP 측정

Jongeneelen 등(1987)의 방법을 일부 변화하여 요중 1-OHP 농도를 측정하였다.

(1) 시료 전처리

대상자로부터 채취한 소변은 2N sodium acetate buffer로 pH를 5.0으로 맞추는 후 β -glucuronidase/sulfatase(3216unit:135unit)로 처리하고 37°C에서 16시간 반응시켰다. 반응이 끝난 시료는 acetonitrile로 추출하였다.

(2) 측정

전처리가 끝난 시료를 펌프(Waters 600E)와 형광검출기(Shimadzu RF-10AxL), 그리고 자동시료주입기(Hitachi L-7200), 자료처리장치(Shimadzu Chromatopac C-R3A)로 구성된 HPLC system를 사용하여 분석하였다. HPLC용 컬럼은 150mm X 4.6mm의 Tosoh TSK gel ODS-80TM reverse phase를 사용하였다. 이동상은 60% acetonitrile을 사용하였으며, 분당 1 ml의 속도로 흘려주었다. 형광검출기의 파장은 excitation 242 nm, 그리고 emission 388 nm를 사용하였다.

4) 요중 2-naphthol 측정

Kim 등(1999)의 방법을 사용하여 측정하였다.

(1) 시료 전처리

1-OHP 측정시 사용한 전처리 방법과 동일한 방법을 사용하였다.

(2) 측정

1-OHP 측정시 사용한 HPLC system를 사용하여 분석하였다. 컬럼은 250 mm X 4.0 mm의 YMC J' sphere ODS-H80를 사용하였다. 이동상은 38% acetonitrile을 사용하였으며, 분당 1 ml의 속도로 흘려주었다. 형광검출기의 파장은 excitation 227 nm, 그리고 emission 355 nm를 사용하였다.

5) 유전자 다형성 분석

(1) 백혈구층의 분리

환자군과 대조군의 혈액을 EDTA 튜브에 5 ml 정도 채취하여 보관하였다. 이 전혈을 HystopaqueR (Sigma Company)위에 중첩시켜 원심분리하고 백

Table 1. Demographic characteristics of the study subjects

		Total subjects (n=19)		Nonsmoker (n=7)		Smoker (n=12)	
		mean	S.D.	mean	S.D.	mean	S.D.
Coke oven workers (n=19)	Age (year)	47.0	6.0	45.0	7.8	48.2	4.7
	Height (cm)	169.4	4.7	169.9	5.6	169.2	4.3
	Weight (Kg)	69.0	11.2	67.9	9.7	69.7	12.5
		Total subjects (n=156)		Nonsmoker (n=64)		Smoker (n=92)	
		mean	S.D.	mean	S.D.	mean	S.D.
Shipyard workers (n=156)	Age (year)	37.9	8.0	40.9	6.9	35.8	8.1
	Height (cm)	170.1	6.2	169.5	5.9	170.5	6.4
	Weight (Kg)	64.1	9.4	64.6	12.0	63.7	7.1

혈구층(buffy coat)을 분리하여 저장하였다.

(2) DNA 추출

냉동보관한 백혈구층에 proteinase K를 가하여 단백질을 소화시키고 Qiagen genomic DNA purification kit를 이용하여 고분자량 DNA를 추출한 다음 RNase를 가하여 RNA를 분해하였다.

(3) GSTM1과 GSTT1 유전자형 분석

GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성 검사에는 multiplex PCR 기법을 사용하였다(Chen 등, 1996). Primer는 GSTM1에 대해서는 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'과 5'-GTTGGGCTCAAATATAC GGTGG-3'를, GSTT1에 대해서는 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3'과 5'-TCACCGGATCATGGC CAGCA-3'를 사용하였다. 이와 동시에 β -globin에 대한 primer로서 5'-CAACTTCATCCACGTTCA CC-3'과 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3'도 첨가하여 증폭시켰다. PCR은 genomic DNA 1.0 μ g, dNTP 혼합체 800 M, MgCl₂ 1.5 mM, KCl 40 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, Taq polymerase(Promega, USA) 2.0 unit를 섞어 총 용량이 25 μ l로 하여 denaturation 94 $^{\circ}$ C 1분 5초, annealing 60 $^{\circ}$ C 1분, extension 74 $^{\circ}$ C 1분으로 Thermocycler(Perkin Elmer Cetus, UK)에서 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물을 2% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색후 band를 확인하였다. GSTM1은 210 bp, 그리고 GSTT1은 410 bp의 band 존재 여부에 따라 '탈락'과 '존재'로 분류하였다.

(4) CYP1A1의 유전자형 분석

PCR primer는 HincII 제한부위를 생성하는 두 가지 primer, 즉 5'-GAACTGCCACTT-CAGCTG TC-3'와 5'-GAAAGACCTCCCAGCGGTCA-3'를 사용하였다. PCR은 DNA 1.0 μ g, dNTP 혼합체 800 M, MgCl₂ 1.5 mM, KCl 40 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, Taq polymerase(Promega, USA) 2.0 unit를 섞어 총 용량이 25 μ l로 하여 denaturation 94 $^{\circ}$ C 1분 30초, annealing 53 $^{\circ}$ C 1분 30초, extension 74 $^{\circ}$ C 30초로 Thermocycler(Perkin Elmer Cetus, UK)에서 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR

산물을 2% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 187 bp의 band를 확인하였다. 이렇게 생성된 PCR 산물 10 μ l에 HincII 10 unit를 섞어 총 용량이 20 μ l가 되게 하여 37 $^{\circ}$ C에서 하룻밤 반응시켰다. 다음날 반응산물 15 μ l를 12% PAGE gel에서 전기영동하여 ethidium bromide로 염색 후 최종 유전자형을 확인하였다. 제한 부위가 없이 139 bp의 band만을 보이는 것을 Ile/Ile 유전자형, 120 bp의 band만 보이는 것은 Val/Val 유전자형, 그리고 139 bp와 120 bp의 band가 보이는 것을 Ile/Val 유전자형으로 하였다.

(5) 통계분석

코크스로 근로자와 조선소 근로자의 요중 1-OHP 농도와 2-naphthol 농도, 그리고 이들을 요중 creatinine으로 보정한 농도의 산술평균과 표준편차, 그리고 기하평균과 기하표준편차를 산출하였다. 코크스로 근로자와 조선소 근로자 양군의 평균치 비교와, 흡연자와 비흡연자의 평균치 비교에는 Student t-test와 Wilcoxon 순위합검정을 이용하였다. 설문지로 조사된 식품의 조리 형태, 조리 정도, 섭취량, 흡연 정도, PAH 관련 작업 여부 등과 요중 1-OHP 농도와 2-naphthol 농도, 그리고 이들을 요중 creatinine으로 보정한 농도 사이의 관련성 평가에는 Pearson 상관분석을 시행하였다.

결 과

코크스로 근로자와 조선소 근로자에서 비흡연자와 흡연자의 요중 1-OHP와 2-naphthol의 농도는, 코크스로 근로자의 요중 1-OHP 농도와 조선소 근로자 중 비흡연자의 요중 2-naphthol 농도를 제외하고는 모두 대수정규분포를 하였다. 코크스로 근로자의 요중 1-OHP 농도와 조선소 근로자 중 비흡연자의 요중 2-naphthol 농도도 skewness가 각각 1.98과 2.91로 positive-skewed 분포를 하고 있었다. 코크스로 근로자의 PAH 대사산물 농도의 기하평균은, 1-OHP는 6.15 μ mole/mole creatinine, 2-naphthol은 6.01 μ mole/mole creatinine이었으며, 조선소 근로자에서는 1-OHP는 0.33 μ mole/mole creatinine, 2-naphthol은 2.41 μ mole/mole creatinine으로 나타났다(Table 2). 코크스로 근로자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농

Table 2. Distribution of Urinary concentrations of 1-hydroxypyrene and 2-naphthol in total subjects

Group	Metabolite	Arithmetic		Geometric		Range
		mean	ASD	mean	GSD	
Coke oven workers(n=19)	1-Hydroxypyrene					
	ng/ml	55.79	73.45	21.16	6.56	0.13~289.65
	μ mole/mole creatinine	13.23	14.94	6.15	5.14	0.05~60.44
	2-Naphthol					
Shipyard workers(n=156)	1-Hydroxypyrene					
	ng/ml	1.87	6.28	0.65	3.85	0.02~75.42
	μ mole/mole creatinine	0.74	2.73	0.33	2.94	0.02~33.60
	2-Naphthol					
Shipyard workers(n=156)	1-Hydroxypyrene					
	ng/ml	5.86	6.63	3.18	3.24	0.21~34.37
	μ mole/mole creatinine	4.15	4.86	2.41	3.03	0.20~36.23
	2-Naphthol					

Table 3. Distribution of urinary concentrations of 1-hydroxypyrene and 2-naphthol in nonsmokers and smokers

Group	Metabolite	Nonsmokers(n=7)			Smokers(n=12)			p-value
		AM \pm ASD	GM (GSD)	Range	AM \pm ASD	GM (GSD)	Range	
Coke oven workers	1-Hydroxypyrene							
	ng/ml	42.99 \pm 57.85	14.76 (9.63)	0.13~169.35	63.26 \pm 82.69	26.10 (5.43)	0.56~289.65	NS
	μ mole/mole creatinine	9.35 \pm 10.00	4.08 (7.56)	0.05~30.57	12.50 \pm 17.19	7.81 (4.10)	0.44~60.44	NS
	2-Naphthol							
Shipyard workers	1-Hydroxypyrene							
	ng/ml	13.12 \pm 11.07	9.06 (2.76)	1.59~32.11	23.78 \pm 18.53	17.37 (2.36)	4.15~56.23	NS
	μ mole/mole creatinine	4.77 \pm 3.07	3.79 (2.20)	1.03~8.78	8.69 \pm 4.12	7.87 (1.59)	4.06~17.50	<0.05
	2-Naphthol							
Shipyard workers	1-Hydroxypyrene							
	ng/ml	0.65 \pm 0.95	0.35 (2.96)	0.03~5.54	2.72 \pm 8.05	1.00 (3.88)	0.02~75.42	<0.05
	μ mole/mole creatinine	0.27 \pm 0.29	0.19 (2.39)	0.02~1.53	1.07 \pm 3.52	0.48 (2.82)	0.04~33.60	<0.05
	2-Naphthol							
Shipyard workers	1-Hydroxypyrene							
	ng/ml	2.72 \pm 4.68	1.39 (2.81)	0.21~28.19	8.04 \pm 6.94	5.66 (2.44)	0.42~34.37	<0.01
	μ mole/mole creatinine	2.41 \pm 3.99	1.11 (3.10)	0.20~20.37	5.37 \pm 5.05	4.14 (2.00)	0.54~36.23	<0.01
	2-Naphthol							

AM: arithmetic mean, ASD: arithmetic standard deviation, GM: geometric mean, GSD: geometric standard deviation

도의 산술평균은 각각 13.23 μ mole/mole creatinine과 7.25 μ mole/mole creatinine으로, 그리고 조선소 근로자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도의 산술평균은 각각 0.74 μ mole/mole creatinine과 4.15 μ mole/mole creatinine으로 나타났다 (Table 2). 요중 PAH 대사물질의 농도는 1-OHP와 2-naphthol 모두 코크스로 근로자에서 유의하게

높게 나타났다(p-value<0.01).

코크스로 근로자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도의 기하평균은, 비흡연자에서 1-OHP는 4.08 μ mole/mole creatinine, 2-naphthol은 3.79 μ mole/mole creatinine이었으며, 흡연자에서는 1-OHP는 7.81 μ mole/mole creatinine, 2-naphthol은 7.87 μ mole/mole creatinine으로 나타났다

Table 4. Correlation coefficients between variables and creatinine-adjusted urinary 2-naphthol and 1-hydroxypyrene concentrations

Variables	Coke oven workers		Shipyards workers	
	2-naphthol	1-OHP	2-naphthol	1-OHP
	Total subjects Non-smokers Smokers	Total subjects Non-smokers Smokers	Total subjects Non-smokers Smokers	Total subjects Non-smokers Smokers
Intake amount of roasted meat at one time	0.000	0.137	-0.163	0.000
	0.582	0.305	0.081	0.042
	-0.159	0.142	-0.314	-0.004
Weekly intake frequency of roasted meat	-0.150	-0.148	-0.030	-0.058
	0.571	0.107	0.075	0.069
	-0.614	-0.287	-0.118	-0.095
Time after last intake of roasted meat	0.391	0.455	0.077	0.043
	0.371	0.858*	0.094	0.030
	0.288	0.163	0.168	0.119
Last intake amount of roasted meat	0.020	0.321	-0.026	0.031
	0.636	0.593	0.098	-0.045
	-0.149	0.285	-0.041	0.065
Duration of cigarette smoking	0.545	0.368	0.096	-0.096
	-	-	-	-
	0.545	0.368	0.096	-0.096
Amount of daily cigarette smoking	-0.555	-0.603	0.126	0.013
	-	-	-	-
	-0.555	-0.603	0.126	0.013
Amount of cigarette smoking at the day before the sampling day	-0.127	0.016	0.144	-0.015
	-	-	-	-
	-0.127	0.016	0.144	-0.015
Amount of cigarette smoking at the sampling day	0.080	0.088	0.262*	-0.066
	-	-	-	-
	0.080	0.088	0.262*	-0.066

* P-value < 0.05

(Table 3). 조선소 근로자에서는 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도의 기하평균이, 비흡연자에서 1-OHP는 0.19 $\mu\text{mole/mole}$ creatinine, 2-naphthol은 1.11 $\mu\text{mole/mole}$ creatinine이었으며, 흡연자에서는 1-OHP는 0.48 $\mu\text{mole/mole}$ creatinine, 2-naphthol은 4.14 $\mu\text{mole/mole}$ creatinine으로 나타났다(Table 3). 흡연자와 비흡연자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도는 조선소 근로자에서는 두 가지 모두 흡연자에서 높게 나타났으나, 코크스로 근로자에서는 요중 2-naphthol 농도만이

유의한 차이를 보였다(p-value<0.05).

코크스로 근로자를 대상으로 한, 식품의 조리 형태와 조리 정도, 그리고 그 섭취량과, 요중 1-OHP 농도와 2-naphthol 농도 사이의 관련성 검증에서, 최근 구운 고기를 섭취한 후 경과한 시간과 요중 1-OHP 농도 사이만이 유의한 상관관계를 보였다(p<0.05). 조선소 근로자 중에서는 흡연자에서 조사 당일 피운 담배 개비 수가 증가할수록 요중 2-naphthol 농도가 증가하는 것으로 나타났다(Table 4).

조선소 근로자에서 CYP1A1 유전자형이 Ile/Ile

Table 5. Geometric mean (geometric standard deviation) of urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol in coke oven workers and shipyard workers by the genotype of CYP1A1 (unit: mole/mole creatinine)

Metabolite	Coke oven workers			Shipyard workers		
	Ile/Ile (n=14)	Ile/Val+Val/Val (n=5)	p-value*	Ile/Ile (n=88)	Ile/Val+Val/Val (n=68)	p-value
1-Hydroxypyrene	4.37 (5.39)	15.99 (3.11)	NS	0.27 (2.85)	0.41 (2.96)	<0.05
2-Naphthol	5.24 (2.04)	8.85 (1.59)	NS	2.40 (3.10)	2.42 (2.95)	NS

* P-value was calculated by Wilcoxon rank-sum test.

Table 6. Geometric mean (geometric standard deviation) of urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol in coke oven workers and shipyard workers by the genotype of GSTM1 (unit: mole/mole creatinine)

Metabolite	Coke oven workers			Shipyard workers		
	Undeleted (n=12)	Deleted (n=7)	p-value*	Undeleted (n=45)	Deleted (n=111)	p-value
1-Hydroxypyrene	7.81 (2.79)	4.08 (11.12)	NS	0.26 (2.66)	0.36 (3.02)	NS
2-Naphthol	6.52 (1.59)	5.23 (2.69)	NS	2.27 (3.59)	2.47 (2.82)	NS

* P-value was calculated by Wilcoxon rank-sum test.

Table 7. Geometric mean (geometric standard deviation) of urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol in coke oven workers and shipyard workers by the genotype of GSTT1 (unit: mole/mole creatinine)

Metabolite	Coke oven workers			Shipyard workers		
	Undeleted (n=12)	Deleted (n=7)	p-value*	Undeleted (n=90)	Deleted (n=66)	p-value
1-Hydroxypyrene	7.45 (6.15)	4.42 (3.82)	NS	0.35 (3.02)	0.29 (2.83)	NS
2-Naphthol	6.40 (2.11)	5.41 (1.84)	NS	2.52 (3.09)	2.26 (2.96)	NS

* P-value was calculated by Wilcoxon rank-sum test.

인 경우 다른 유전자형에 비해 요중 1-OHP 농도가 유의하게 낮았다(p<0.05). 코크스로 근로자에서 CYP1A1 유전자형이 Ile/Ile인 경우 평균 요중 1-OHP 농도가 4.37 mole/mole creatinine인데 비하여 Ile/Val 또는 Val/Val인 경우에는 그 값이 15.99 mole/mole creatinine이었으나, 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 5). GSTM1, GSTT1 유전자형과 요중 PAH 대사물질 농도 사이에는 코크스로 근로자와 조선소 근로자군 모두에서 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Table 6과 Table 7).

고 찰

코크스로 근로자의 요중 1-OHP 농도와 2-naphthol 농도는 조선소 근로자에 비하여 유의하게 높게

나타났는데, 이는 직업적 노출에 의하여 pyrene과 naphthalene을 포함한 PAH의 흡수가 증가하였음을 의미하는 것이다. 요중 2-naphthol의 mole 농도는 코크스로 근로자의 기하평균이 조선소 근로자의 기하평균의 2.5배에 해당하지만, 요중 1-OHP의 mole 농도는 코크스로 근로자의 기하평균이 조선소 근로자의 기하평균의 18.6배에 달하고 있다. 이러한 결과는 코크스로에서 노출되는 coke oven gas에, pyrene이나 그와 비슷한 분자량의 PAH가 많이 포함되어 있음을 시사하며, 요중 1-OHP 농도가 코크스로 근로자의 직업적 PAH 노출 평가에 적합한 생물학적 표식자임을 나타내는 것이다.

직업적으로 PAH에 노출되지 않은 근로자의 요중 1-OHP 농도는 외국인에 비하여 우리나라 근로자에서 높은 경향을 보였다. Ovrebo 등(1994)은 PAH 비노출 근로자의 요중 1-OHP 농도의 산술평균이

0.08 - 0.14 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 로 보고하였고, Boogaard 등(1994)은 최근 직업적 노출이 없었던 석유화학 사업장 근로자의 요중 1-OHP 농도 중위수를 0.21 $\mu\text{g/g creatinine}$ (0.11 $\mu\text{mole/mole creatinine}$), 95% 상한선을 0.99 $\mu\text{g/g creatinine}$ (0.51 $\mu\text{mole/mole creatinine}$)으로 보고하였다. 이 값들은 본 연구에서 조선소 근로자의 산술평균(0.74 $\mu\text{mole/mole creatinine}$)이나 기하평균(0.33 $\mu\text{mole/mole creatinine}$)에 비하여 현저히 낮은 것이다. Ovrebo 등(1995)은 대기오염이 심한 지역과 심하지 않은 지역의 일반 인구집단을 대상으로 연구를 수행하였는데, 코크스로 공장에 인접한 3개 지역 주민의 평균 요중 1-OHP 농도는 2.45 - 13.48 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 이었고, 다른 공업지역 주민의 평균 요중 1-OHP 농도는 0.41 - 1.54 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 이었으며, 비공업지역 주민의 평균 요중 1-OHP 농도는 0.14 - 0.20 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 이었는데, 본 연구 대상자의 요중 1-OHP의 농도는 일반 공업지역 주민과 비슷한 수준을 보여주고 있다. Kang 등(1995)은 구운 고기 섭취력과 요중 1-hydroxypyrene glucuronide(1-OHPG)의 관련성에 대한 연구를 수행하여 직업적 폭로가 없는 인구집단에서 구운 고기 섭취에 따라 요중 1-OHPG의 농도가 크게 변동한다고 보고하였다. 이상의 결과는 우리나라 사람들의 비직업적 PAH 노출 수준이 구미에 비하여 높다는 것을 시사하는 것으로서, 대기오염과 더불어, 숯불에 구워 먹는 우리나라 사람들의 식습관이 중요한 요인으로 작용할 가능성이 높은 것으로 추정된다.

Ovrebo 등(1994)은 PAH 노출 근로자의 요중 1-OHP 농도의 산술평균을 6.98 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 으로, 그리고 Santella 등(1994)은 건선 치료를 위해 coal tar를 피부에 바르는 환자들의 요중 1-OHP 농도의 산술평균을 547 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 로 보고하였다. 탄소전극 생산공장 근로자들을 대상으로 한 Petry 등(1996)의 연구에서는, 평균 요중 1-OHP의 농도가 0.5 - 61.8 $\mu\text{mol/mol creatinine}$ 범위에 있었으며, Angerer 등(1997)의 연구에서는 요중 1-OHP 농도의 중위수가 1.8 - 23.4 $\mu\text{g/g creatinine}$ 범위에 있는 것으로 보고하고 있다. 본 연구의 코크스로 근로자의 요중 1-OHP 농도도 위의 범위를 벗어나지 않는 것으로 나

타났다. 한편, 2-naphthol은 비교적 최근에 개발된 PAH의 생물학적 지표로서 이 지표를 이용한 연구는 극히 드물다. Yang 등(1999)은 일본인 사무직 근로자를 대상으로 2-naphthol의 요중 농도를 측정하여 2-naphthol의 요중 농도 기하평균이 3.16 ng/ml로 보고하였는데, 이 수치는 본 연구의 결과인 3.18 ng/ml와 거의 같은 값이다.

흡연자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도의 평균은 비흡연자에 비하여 높았는데, 이는 pyrene과 naphthalene을 포함한 다양한 PAH가 담배연기를 통하여 흡수됨을 나타낸다. 이러한 현상은 요중 PAH 대사산물의 농도 범위에서도 볼 수 있는데, 코크스로 근로자에서 흡연자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도의 최고치는 각각 비흡연자 최고치의 2배에 해당되는 높은 값이다. 비록 코크스로 근로자에서 흡연자와 비흡연자의 평균 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도가 유의한 차이를 보이지 않았으나, 코크스로 근로자의 수가 증가한다면 유의성을 확보할 수 있을 것으로 추정된다.

조선소 근로자에서 요중 2-naphthol은 1-OHP에 비하여 단순 농도로는 3배 정도, 그리고 mole 농도로는 5배 정도로 높게 나타났다. 특히 비흡연자의 요중 2-naphthol의 mole 농도는 1-OHP의 mole 농도에 비하여 평균 9배 정도로 매우 높게 나타났다. 이는 직업적으로 PAH에 노출되지 않는 사람에서는 naphthalene이 pyrene에 비하여 더 많은 양이 체내로 흡수되며, 따라서 2-naphthol 농도를 측정하는 것이 기술적으로 더 용이하다는 사실을 의미한다. 그러므로, 일반 인구집단의 PAH에 대한 생체지표로서 2-naphthol이 1-OHP에 비하여 더 많은 장점을 가지고 있다고 할 수 있다.

본 연구결과에서, 요중 2-naphthol 농도와 식이 습관 요인 사이에는 관련성이 관찰되지 않았으나, 요중 1-OHP 농도는 일부 식이 관련 요인과 유의한 관련성이 있는 것으로 나타났다. 특히 이러한 유의성이 요중 1-OHP 농도가 현저히 높았던 코크스로 근로자에서 발견되었다는 사실은, 소화기를 통하여 흡수되는 pyrene 양이 호흡기를 통한 직업적 노출량에 비하여 결코 간과할 수 없음을 시사하는 것이다. 이에 비하여 요중 2-naphthol은 1-OHP보다 식이요인의 영향을 덜 받는 PAH 노출지표임을 시사하는 결과로 판단된다. 요중 1-OHP 농도가 비흡

연자와 흡연자 사이에는 차이가 있었지만, 흡연량과는 유의한 관련성을 보이지 않았는데 비하여, 저농도로 PAH에 노출되는 근로자에서 조사 당일 피운 담배 개비수와 요중 2-naphthol 농도 사이에 유의한 상관관계가 있음이 관찰되었다. 이러한 결과는 직업적 노출량이 적은 사람들에서 흡기를 통한 PAH 노출량을 대변하는 지표로서는 2-naphthol 이 1-OHP보다 우월함을 시사하는 것이다.

이물질 대사효소의 유전자형과 PAH 대사물질간의 연구는 국내외를 막론하고 아직 많이 수행되지 못하여, 다양한 PAH의 대사에 대해서는 극히 일부만이 알려져 있을 뿐이다. 그 이유 중의 하나가, PAH는 매우 다양한 화학물질로 이루어진 화학물질군이기에 때문에 각각의 PAH가 서로 다른 대사효소의 영향을 받을 가능성이 높기 때문이다. 본 연구에서는 이들 효소 중에서 이물질 처리에 광범위하게 관여하는 CYP1A1과 GSTM1, 그리고 GSTT1의 유전자 다형성과 요중 1-OHP와 2-naphthol의 농도 사이의 관련성을 분석하였는데, 낮은 노출수준 근로자에서 1-OHP의 농도는 CYP1A1 유전자형에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다. PAH 노출 수준이 높은 근로자에서도 유사한 관계가 관찰되었으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 이 결과를, 체내에 흡수된 PAH의 농도가 낮을 때에는 CYP1A1에 의하여 주로 대사가 일어나다가, 그 농도가 높아지면 주로 다른 대사효소에 의하여 반응이 일어난다고 해석할 수도 있으나, 그보다는 고농도 노출 근로자의 대상자 수가 작아서 실제하는 관련성이 유의하지 않게 나타났을 가능성이 더 높다고 할 수 있다. Yang 등(1999)의 연구에 의하면 요중 2-naphthol 농도는 CYP1A1의 유전자형과는 관련이 없었는데, 이는 본 연구의 결과와 일치하는 것이다. 이러한 사실을 종합하면, CYP1A1은 분자량이 큰 PAH의 대사에 관여하지만, 분자량이 작은 PAH의 대사에는 CYP2E1 등의 효소가 더 중요한 역할을 한다고 할 수 있다(Kim 등, 1997; Yang 등, 1999). Ovrebo 등(1998)은 코크스로 근로자를 대상으로 연구한 결과 요중 1-OHP와, GSTM1과 GSTP1 유전자형간에는 통계적으로 유의한 관련성이 관찰되지 않았다고 보고한 바 있고, 본 연구의 결과도 이와 유사하다. GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성은 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도에 유의한 영향을

미치지 않았는데, 그 이유는 uridine diphosphate glucuronyl transferase나 sulfotransferase가 가장 중요한 역할을 하는 2상 효소이며, 이들에 비하여 상대적으로 적은 부분만이 GST에 의하여 접합이 이루어지기 때문으로 생각된다.

요 약

목 적 : 직업적으로 PAH에 노출되는 코크스로 근로자와, 직업적 PAH 노출이 거의 없는 조선소 근로자들을 대상으로 이들의 요중 1-OHP 농도와 2-naphthol 농도를 서로 비교하고, 이 농도가 직업과 흡연 등의 생활 습관, 그리고 CYP1A1, GSTM1, GSTT1 등의 유전자 다형성에 따라 변화하는가를 평가하는 것을 목적으로 본 연구를 수행하였다.

방 법 : PAH에 직업적으로 고농도로 노출되는 코크스로 근로자 19명과 PAH에 직업적으로 노출되지 않는 조선소 근로자 156명을 대상으로 식품의 조리 형태, 조리 정도, 섭취량, 흡연 습관, PAH 관련 작업 여부 등에 대한 정보를 설문조사를 통해 수집하였고, HPLC를 사용하여 요중 1-OHP와 2-naphthol의 농도를 측정하였다. 혈액으로부터 분리한 DNA를 PCR로 증폭하여 CYP1A1과 GSTT1, 그리고 GSTM1의 유전자형을 판별하였다.

결 과 : 코크스로 근로자의 기하평균은, 1-OHP는 6.15 $\mu\text{mole/mole creatinine}$, 2-naphthol은 6.01 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 이었으며, 조선소 근로자에서는 1-OHP는 0.33 $\mu\text{mole/mole creatinine}$, 2-naphthol은 2.41 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 이었다. 코크스로 근로자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도의 산술평균은 각각 13.23 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 와 7.25 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 로, 그리고 조선소 근로자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도의 산술평균은 각각 0.74 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 와 4.15 $\mu\text{mole/mole creatinine}$ 이었다. 요중 PAH 대사물질의 농도는 1-OHP와 2-naphthol 모두 코크스로 근로자에서 유의하게 높게 나타났다. 흡연자와 비흡연자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도는 조선소 근로자에서는 두 가지 모두 흡연자에서 높게 나타났으나, 코크스로 근로자에서는 요중 2-naphthol 농도만이 유의

한 차이를 보였다. 비흡연 코크스로 근로자에서, 요중 1-OHP 농도는 최근 구운 고기를 섭취한 후 경과한 시간과만 유의한 상관관계를 보인 반면, 흡연 조선소 근로자에서는 요중 2-naphthol 농도가 조사 당일 피운 담배 개비 수와만 유의한 상관관계를 나타냈다. 낮은 수준의 PAH에 노출되는 근로자에게서 CYP1A1 유전자형에 따라 요중 1-OHP 농도가 영향을 받는 것으로 나타났으나, 2-naphthol은 그렇지 않았으며, GSTM1과 GSTT1은 요중 1-OHP와 2-naphthol에 영향을 주지 않았다.

결론 : 이상의 결과를 통하여, 흡연과 코크스로 작업이 요중으로 배설되는 PAH 대사물질의 농도를 상승시킴을 알 수 있었다. 또, 요중 1-OHP 농도는 코크스로 근로자의 직업적 PAH 노출 평가에 적합한데 비하여, 요중 2-naphthol은 일반 인구집단의 PAH에 대한 생체지표로서 더 많은 장점을 가지고 있다고 할 수 있다. 이와 더불어, 호흡기와 소화기를 통하여 흡수되는 PAH의 종합적인 양을 평가하기에는 요중 1-OHP가 적합하며, 호흡기만을 통한 흡수량 평가에는 요중 2-naphthol이 우월함을 나타낸다. 한편, CYP1A1이, pyrene의 대사에서는 중요한 역할을 하지만 naphthalene 대사에서는 그렇지 않으며, GSTM1과 GSTT1은 이들 물질의 대사에 관여하는 정도가 크지 않음을 본 연구를 통해서 확인할 수 있었다.

참고문헌

백성옥, 최진수. 대기중 다환방향족탄화수소의 측정을 위한 시료포집방법의 비교평가. 한국대기보전학회지 1998; 14(1): 43-62.

이송권. 요중 대사물질을 이용한 PAH 환경근로자들의 노출평가 및 직업병 예방관리 개선연구. 경산대학교 대학원 보건학 박사학위논문, 1997.

Angerer J, Mannschreck C, Guumlndel J. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in a graphite-electrode producing plant: biological monitoring of 1-hydroxypyrene and monohydroxylated metabolites of phenanthrene. *Int Arch Occup Environ Health* 1997; 69(5): 323-31.

Boogaard PJ, van Sittert NJ. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in petrochemical industries by measurement of urinary 1-hydrox-

pyrene. *Occup Environ Med* 1994;51(4): 250-8.

Buchet JP, Gennart JP, Mercado-Calderon F, Delavignette JP, Cupers L, Lauwreys R. Evaluation of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in a coke production and a graphite electrode manufacturing plant: assessment of urinary excretion of 1-hydroxypyrene as a biological indicator of exposure. *Br J Ind Med* 1992;49:761-768.

Chen H, Sandler DP, Taylor JA, Shore JL, Liu E, Bloomfield CD, Bell DA. Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. *Lancet* 1996;347:295-297.

Ferreira M Jr., Buchet JP, Burrión JB, Moro J, Cupers L, Delavignett JP, Jacques J, Lauwerys R. Determinants of urinary thioethers, D-glucuronic acid and mutagenicity after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons assessed by air monitoring and measurement of 1-hydroxypyrene in urine: a cross-sectional study in workers of coke and graphite-electrode producing plants. *Int Arch Occup Environ Health* 1994;65:329-338.

Grimmer G, Dettbarn G, Jacob J. Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in highly exposed coke plant workers by measurement of urinary phenanthrene and pyrene metabolites (phenols and dihydrodiols). *Int Arch Environ Health* 1993;65:189-99.

Hemminki K. Environmental carcinogens. In: Cooper CS, Grover RL (eds) *Chemical carcinogenesis and mutagenesis*, vol I. Raven Press, New York. pp 33-62, 1990.

IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Polynuclear aromatic compounds, part 1, vol 32. Lyon, France. 1983.

Jansen EHJM, Schenk E, den Engrlsman G, van de Verken G. Use of biomarkers in exposure assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Clin Chem* 1995;41:1905-1906.

Jongeneelen FJ, Anzion RBM, Henderson PT. Detection of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J Chromatogr* 1987;413:227-232.

Jongenellen FJ, Leeuwen FE, Oosterink S, Anzion RBM, Loop F, Bos RP, van Veen HG. Ambient and biological monitoring of coke oven workers: determinants of the internal dose of

- polycyclic aromatic hydrocarbons. *Br J Ind Med* 1990;47:454-461.
- Kang DH, Rothman N, Poirier MC, Greenberg A, Hsu CH, Schwartz BS, Baser ME, Groopman JD, Weston A, Strickland PT. Interindividual differences in the concentration of 1-hydroxypyrene-glucuronide in urine and polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in peripheral white blood cells after charbroiled beef consumption. *Carcinogenesis* 1995;16:1079-1085.
- Kaupp H, Umlauf G. Atmospheric gas-particle partitioning of organic compounds: comparison of sampling method. *Atmos Environ* 1992; 26(A):2259-2267.
- Kim H, Wang R S, Elovaara E, Raunio H, Pelkonen O, et al. Cytochrome P450 Isozymes Responsible for the Metabolism of Toluene and Styrene in Human Liver Microsomes. *Xenobiotica* 1997;27:657-665.
- Kim H, Kim Y-D, Lee H, Kawamoto T, Yang M, Katoh T. Assay of 2-naphthol in human urine by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 1999;734:211-217.
- Ovrebø S, Haugen A, Fjeldstad PE, Hemminki K, Szyfter K. Biological monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbon in an electrode paste plant. *J Occup Med* 1994;36(3):303-10.
- Ovrebø S, Fjeldstad PE, Grzybowska E, Kure EH, Chorzing M, et al. A. Biological monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in a highly polluted area of Poland. *Environ Health Perspect* 1995;103(9):838-43.
- Ovrebø S, Ryberg D, Haugen A, Leira HL. Glutathione S-transferase M1 and P1 genotypes and urinary excretion of 1-hydroxypyrene in coke oven workers. *Sci Total Environ* 1998; 220(1):25-31.
- Petry T, Schmid P, Schlatter C. Airborne exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and urinary excretion of 1-hydroxypyrene of carbon anode plant workers. *Ann Occup Hyg* 1996; 40(3):345-57.
- Santella RM, Nunes MG, Blaskovic R, Perera FP, Tang D, et al. Quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons, 1-hydroxypyrene, and mutagenicity in urine of coal tar-treated psoriasis patients and untreated volunteers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994;3(2):137-40.
- Singh R, Tucek M, Maxa K, Tenglerova J, Weyand EH. A rapid and simple method for the analysis of 1-hydroxypyrene glucuronide: a potential biomarker for polycyclic aromatic hydrocarbon exposure. *Carcinogenesis* 1995;16 (12):2909-15.
- Tingle MD, Pirmohamed M, Templeton E, Wilson AS, Madden S, et al. An investigation of the formation of cytotoxic, genotoxic, protein-reactive and stable metabolites from naphthalene by human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1993;46:1529-1538.
- Yang M, Koga M, Katoh T, Kawamoto T. A study for the proper application of urinary naphthols, new biomarkers for airborne polycyclic aromatic hydrocarbons. *Arch Environ Contam Toxicol* 1999;36(1):99-108