

톨루엔 노출 근로자에서 유전자적 요인, 생활습관 및 식이가 요중 마노산 배설에 미치는 영향

가톨릭대학교 산업의학센터 · 가톨릭대학교 예방의학교실¹⁾

임현우 · 박정일 · 노영만 · 이강숙 · 이정민 · 이원철¹⁾ · 이세훈¹⁾ · 정치경

— Abstract —

Effects of Genetic Factor, Life Styles, and Diet on Urinary Hippuric Acid Excretion in Toluene Exposed Workers

Hyeon-Woo Yim, Chung-Yill Park, Young-Man Roh, Kang-Sook Lee, Jung-Min Lee, Won-Chul Lee*, Se-Hoon Lee¹⁾, Chee-Kyung Chung

Catholic Industrial Medical Center, Department of Preventive Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Objectives : The purpose was to investigate the distributions and the effects of genetic polymorphism of aldehyde dehydrogenase 2(ALDH2), cytochrome P450 1A1(CYP1A1), and cytochrome P450 2E1(CYP2E1) on the toluene metabolism.

Methods : The subjects consisted of 160 workers who were exposed to toluene in different industries such as paint manufacturing, painting on steel and wood products, printing, bonding, and coating. The exposed toluene level was monitored by passive air sampler, and the questionnaire variables were age, sex, smoking, drinking, previous night's drinking, use of personal protective equipment, work duration, and taking benzoic acid containing food. The urinary hippuric acid collected in the end of shift was corrected by urinary creatinine concentration. The genotypes of ALDH2, CYP1A1, and CYP2E1 were investigated using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism(PCR-RFLP) methods with DNA extracted from venous blood.

Results : The geometric mean and the geometric standard deviation of urinary hippuric acid concentration were 0.44 g/g creatinine and 2.80. The urinary hippuric acid concentration was significantly related to personal exposed toluene level among personal exposed toluene level, use of personal protective equipment, and benzoic acid containing food diet. The slope differences of the regression for ALDH2, CYP1A1, and CYP2E1 genetic polymorphism, age, smoking, and work duration tended to be significant. In multiple regression analysis, the regression coefficient of toluene, ALDH2, CYP1A1, CYP2E1 genetic polymorphism were significant.

Conclusions : From the above results, urinary hippuric acid level after toluene exposure was significantly affected by the genetic polymorphism of ALDH2, CYP1A1, CYP2E1. It is needed further investigation of the urinary hippuric acid level considering the effect of genetic polymorphism.

Key Words : Aldehyde dehydrogenase2(ALDH2), Cytochrome P450 1A1(CYP1A1), Cytochrome P450 2E1(CYP2E1), Toluene, Hippuric acid

〈접수일 : 2000년 9월 8일, 채택일 : 2000년 9월 30일〉

교신저자 : 박 정 일(Tel : 02-3779-1405) E-mail : cypark@cmc.cuk.ac.kr

서 론

톨루엔에 대한 생물학적 지표에 대한 연구는 국내에서도 많이 이루어져서 요중 마노산에 대한 연구(박은미 등, 1987 ; 이채언 등, 1988 ; 한태영 등, 1993 ; 배기택 등, 1991), 요중 o-cresol에 대한 연구(이세훈 등, 1988), 혈중 톨루엔에 대한 연구(양정선 등, 1993)가 보고되었다. 요중 o-cresol은 마노산에 비하여 상관계수도 낮고(이세훈 등, 1988), 전처리과정의 조작이 불편하고, 측정농도가 미량분석이란 점과 혈중 톨루엔의 경우 특이적이고 예민하긴 하나 채혈을 해야하는 불편이 따른다. 따라서 현실적으로 측정이 비교적 간편하고, 배설량이 비교적 많은 요중 마노산을 톨루엔 노출의 생물학적지표로 널리 이용하고 있다.

그러나, 톨루엔에 노출되지 않은 일반인들에게서도 식품중에 안식향산과 글리신이 함유되어 있는 식품을 섭취하면 요중으로 마노산이 배설되어(Ogata, 1985 ; Nagayama et al, 1986 ; Michitsuji et al, 1987 ; 심상효 등, 1996), 톨루엔 노출의 생물학적지표로 요중 마노산을 이용하는 경우에 순수하게 톨루엔에 의해 배설되는 마노산의 양을 정확히 파악하기 어렵다는 단점이 있다.

톨루엔의 인체내 흡수는 주로 폐를 통하여 이루어지며, 액체상태의 톨루엔에 피부가 접촉하는 경우 피부를 통해서도 흡수된다. 인체에 흡수된 톨루엔의 일부는 톨루엔 상태로 호기되고, 약 80% 정도가 간장의 microsomal mixed function oxidase system에 의해 benzyl alcohol로 변환된 후, alcohol dehydrogenase(ADH), aldehyde dehydrogenase(ALDH) system에 의해 benzoic acid로 산화되고, 마지막으로 glycine으로 conjugation되어 마노산으로 배설되며, 흡수된 톨루엔의 1% 미만이 o-, m-, p-cresol로 대사된다(Hasegawa et al, 1983 ; WHO, 1996).

Microsomal mixed function oxidase system에서 benzyl alcohol, o-cresol, p-cresol로 변환되는데 여기에 관여하는 cytochrome P450은 CYP1A2, CYP2B6, CYP2E1, CYP2C8, CYP1A1이 보고되었다. 이중 CYP1A2, CYP2B6, CYP2E1, CYP2C8이 톨루엔에서 benzyl alcohol형성에 중요

한 역할을 하며, CYP1A2, CYP2B6, CYP2E1은 o-cresol과 p-cresol의 형성에 중요한 역할을 한다고 보고되었다(Nakajima et al, 1997a ; Nakajima 1997b), 이러한 cytochrome P450 중 CYP1A1과, CYP2E1에서 유전적 다양성이 보고되고 있으며(Hayashi et al, 1991 ; Oyama et al, 1995), CYP1A1의 경우 유전자 다양성에 따라 마노산 배설에 영향을 준다고 보고되었다(Kawamoto et al, 1995). Benzyl alcohol에서 ADH, ALDH에 의하여 benzoic acid로 산화되었다가 마지막으로 마노산으로 전환되는데, 이 과정에 주된 효소로 관여하는 ALDH에는 ALDH1, ALDH2, ALDH3, ALDH4 등 4개의 isoenzyme이 존재하며 이중 ALDH1과 ALDH2가 주된 효소로 작용한다(Harada, 1989). 이중 ALDH2가 유전적으로 다양성이 있는 것이 보고되었으며(Yoshida et al, 1983 ; Harada, 1989 ; Crabb et al, 1989 ; Kawamoto et al, 1993 ; Oyama et al, 1993), 톨루엔 대사에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(Kawamoto et al, 1995 ; 장성실 등, 1996)

즉, 요중 마노산 농도는 톨루엔 노출 이외에 톨루엔 대사에 관여하는 효소의 유전적 요인(Kawamoto et al, 1994a ; Kawamoto et al, 1994b ; Kawamoto et al, 1995 ; 장성실 등, 1996)에 의해 영향을 받으며 그 이외 식이(Ogata, 1985 ; Nagayama et al, 1986 ; Michitsuji et al, 1987 ; 심상효 등, 1996) 및 생활습관(Inoue et al, 1993)에 의하여 영향을 받는다.

따라서 톨루엔 노출의 생물학적 허용한계 기준의 설정시 유전적 다양성은 인종간에 많은 차이가 있기 때문에(Singh et al, 1989 ; Crabb et al, 1989) 각 민족의 유전적 요인을 고려하지 않은 상태에서의 생물학적 허용한계 기준의 설정은 비활성 유전자형을 가진 톨루엔 취급 근로자의 경우 허용노출농도가 상으로 노출될 위험이 있다. 그러므로 생물학적 지표 특성연구(biomarker characterization study)로서 톨루엔에 노출된 근로자에서 생물학적 지표로 이용되고 있는 요중 마노산 농도의 분포와 요중 마노산 농도에 영향을 주는 내적 혹은 외적 결정인자를 평가하는 것이 필요하다. 즉, 톨루엔 노출과 톨루엔의 생물학적 모니터링으로 이용되는 요중 마노산 농도간의 양-반응 관계에서 효과 변경인자로서 작용

Table 1. Job title and number of subject in toluene exposed workers

| Job | No. of plant | No. of subject |
|---|--------------|----------------|
| Paint manufacturing | 3 | 72 |
| Painting : | | |
| Machine or products of wood manufacturing | 10 | 50 |
| Printing | 5 | 12 |
| Bonding | 3 | 12 |
| Coating | 1 | 14 |
| Total | 22 | 160 |

하는 ALDH2, CYP1A1, CYP2E1 유전자의 다양성 분포를 조사하고, 이들 유전자가 직업적으로 노출되는 톨루엔 수준에 따라 요중 마노산 농도에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

연구대상자는 경인지역에 위치한 22개의 사업체에서 유기용제 작업을 하는 근로자 220명이었으며, 화요일부터 금요일까지 연구대상자에 대한 조사를 수행하여 모든 자료를 얻을 수 있었던 160명을 최종 연구대상자로 하였다. 톨루엔에 노출된 근로자 160명의 직무별 분류는 페인트 제조 72명, 기계제조나 가구제조업에서 도장작업 50명, 인쇄업 12명, 접착작업 12명, 벽지의 코팅작업 14명이었다(Table 1).

2. 연구방법

1) 설문조사

개인특성에 관한 정보는 오후 5시경 요시료의 채취(ACGIH, 1999)와 함께 시행하여 얻었다. 설문 내용은 성, 연령, 유기용제 작업장 근무경력, 흡연습관, 음주습관, 검사전날 밤의 음주 여부, 시료 채취전 6시간 이내에 섭취한 식이조사, 측정일 개인보호구의 착용 여부에 대하여 조사하였다. 흡연습관은 현재 흡연여부로 구분하였고, 음주습관은 주 1회 이상 음주하는 경우를 음주습관이 있다고 구분하였고, 검사일 전날 밤에 섭취한 음주에 의해 마노산 배설의 영향을 알아보기 위하여 검사전날 음주 여부를 조사하였다. 식이조사는 마노산으로 대사되어 배설

될 수 있는 안식향산을 포함하고 있는 음료(과일쥬스, 메실엑기스, 이온음료), 과일, 빵, 건포도의 섭취여부를 조사하여 식이 유무로 구분하였다. 개인보호구의 착용유무와 착용한 마스크의 종류(면마스크, 유기용제용 방독마스크)를 조사하였다.

2) 개인노출량 평가

Passive air sampler(Organic Vapour Monitor #3500, 3M, St. Paul, Minnesota, USA)를 작업자의 호흡기영역에 착용시켰다. 근무가 시작된 후 1시간 정도 지난 시점인 오전 9시에 착용하였고, 작업이 종료될 즈음인 오후 5시경에 탈거하였다. 포집된 톨루엔은 NIOSH 공정시험법 4000에 의거 이황화탄소(CS_2) 1.5 ml에 30분간 가끔씩 흔들어준 후 정량분석 하였다(NIOSH, 1994). 정량분석에는 가스크로마토그래피(HP 5890 II, USA)를 이용하였으며, 이때 사용하였던 검출기는 flame ionization detector(FID)로 하였고, 분석조건은 Table 2와 같았으며 검출한계는 1.64×10^{-3} mg/sample이었다.

3) 요중 마노산 및 요중 크레아티닌 측정

노시료를 오후 5시경 passive air sampler의 수거와 함께 채취하였으며 다음과 같은 방법으로 요중 마노산을 측정하였다. 증류수로 10배 희석한 뇨를 Syringe필터(공극 0.45 μ m, Coater Ma02140, USA)로 여과시킨 후 HPLC(Waters 600E, USA)를 이용하여 UV detector 254 nm의 파장에서 측정하였다. 이때 사용한 mobile phase는 D.W:acetonitrile:acetic acid (95:5:0.2)의 비율이었고 유량은 1.0 ml/min로 isocratic method를 이용하였다

Table 2. The systems and operating conditions of gas chromatography

| GC | HP 5890 II, USA |
|------------------|-------------------------------------|
| Column | Neutrabond I (60 cm×0.53 cm×0.2 μm) |
| Detector | FID |
| Temperature | |
| Injector | 200℃ |
| Detector | 250℃ |
| Column (initial) | 40℃(5 min) |
| (ramp) | 3℃/min |
| (final) | 150℃(1 min) |
| Flow rate column | 6.5 ml/min |
| H ₂ | 30 ml/min |
| Air | 330 ml/min |
| Split vent | 273 ml/min(after 0.3 sec) |

(한국산업안전공단 산업보건연구원, 1997). 또한 컬럼(column)은 Nova-Pak C18(3.9×150 mm)을 사용하였다. 마노산(SIGMA, USA) 표준용액은 0.5, 1.0, 2.0g/l로 시료와 같은 방법으로 분석하여 검량선을 작성하였다. 이 때 검출한계는 2.24×10^{-4} g/L이었다. 요중 크레아티닌은 100배 희석한 요 3 ml에 picric acid 수용액 1 ml와 NaOH 1 ml을 가하여 잘 혼합한 후 Spectrophotometer(Hitachi 330, Japan)를 이용하여 파장 520m에서 측정하였다. 크레아티닌(SIGMA, U.S.A) 표준용액은 0.5, 1.0, 2.0g/L로 하여 시료와 같은 방법으로 분석하여 검량선을 작성하였다. 검출된 요중 마노산을 크레아티닌으로 보정하였다.

4) 유전적 다양성 분석

① DNA추출

연구대상자의 말초정맥혈을 채취하여 24시간 이내에 백혈구로부터 DNA를 추출하였다. 말초정맥혈 300 μl에 TE buffer(1M tris-HCl(pH 7.6) 5 ml, 0.5M EDTA 1 ml, ddH₂O 494 ml) 1 ml를 섞어 원심분리하여 3회 세척한 후, 상층액을 버리고 남아있는 pellet에 증합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, 이하 PCR) K buffer(10X PCR buffer 1ml, NP50 45 μl, Tween-20 45 μl, proteinase K(20 ng/ml) 30 μl, D.W 8.8 ml)를 0.15 ml에 첨가하여 58°C에서 45분간 처리하여 pellet이 완전히 녹으면, 95°C에서 10분 동안 가열한 후, 이것을 PCR의 주형으로 사용하였다.

② ALDH2, CYP1A1, CYP2E1 유전자 다양성 분석
ALDH2의 유전자 다양성 분석을 위한 PCR은 MboII 제한효소부위가 포함되도록 두가지 primer, 즉 5'-GTC AAC TGC TAT GAT GTG TTT GGA-3'와 5'-TAA TAC GAC TCA CTA TAG CCA CAC TCA CAG TTT TCT CTT-3'를 사용하였다. PCR은 총 용량이 20 μl로 하여 denaturation 94°C 30초, annealing 63°C 5초, 62°C 35초, extension 72°C 30초를 15회 반복하고, 다시 denaturation 94°C 30초, annealing 66°C 2초, 65°C 38초, extension 72°C 30초를 20회 반복하여 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물을 2% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 141bp의 band를 확인하였다. 이렇게 나온 PCR산물 10 μl에 MboII 10unit를 섞어 총 용량이 20 μl가 되게 하여 37°C에서 8시간이상 반응시켰다. 그 다음 반응산물 15 μl를 12% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 최종 유전자형을 확인하였다. 113bp만 보이는 것을 NN 유전자형, 141bp만 보이는 것을 DD 유전자형, 그리고 141bp와 113bp의 band가 보이는 것을 ND 유전자형으로 하였다(장성실 등, 1996).

CYP1A1의 유전자 다양성 분석을 위한 PCR primer는 HincII 제한효소부위가 포함되도록 두가지 primer, 즉 5'-GAA CTG CCA CTT CAG CTG TC-3'와 5'-GAA AGA CCT CCC AGC GGT CA-3'를 사용하였다. PCR은 총 용량이 20 μl로 하

여 denaturation 95°C 30초, annealing 58°C 30초, extension 72°C 40초로 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물을 2% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 187bp의 band를 확인하였다. 이렇게 나온 PCR산물 10 µl에 HincII 10unit를 섞어 총 용량이 20 µl가 되게 하여 37°C에서 8시간 이상 반응시켰다. 그 다음 반응산물 15 µl를 12% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 최종 유전자형을 확인하였다. 제한효소부위가 없는 139bp와 48bp의 band만 보이는 것을 Ile/Ile 유전자형, 120bp와 48bp의 band만 보이는 것을 Val/Val 유전자형, 그리고 139bp와 120bp 그리고 48bp의 band가 보이는 것을 Ile/Val 유전자형으로 하였다(Oyama et al, 1995).

CYP2E1의 유전자 다양성 분석을 위한 PCR primer는 RsaI 제한효소부위를 생성하는 두가지 primer, 즉 5'-CCA GTC GAG TCT ACA TTG TCA-3'와 5'-TTC ATT CTG TCT TCT AAC TGG CA-3'를 사용하였다. PCR은 총 용량을 20 µl로 하여 denaturation 94°C 1분 30초, annealing 58°C 1분, extension 72°C 1분으로 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR산물을 2% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 410bp의 band를 확인하였다. PCR산물 10 µl에 RsaI 10unit를 섞어 총 용량이 20 µl가 되게 하여 37°C에서 5시간 반응시켰다. 반응산물 15 µl를 1.5% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 최종 유전자형을 확인하였다. 제한 효소 부위가 없는 410bp의 band만 보이는 것을 c2/c2 유전자형, 360bp와 50bp의 band가 보이는 것은 c1/c1 유전자형, 그리고 410bp와 360bp 그리고 50bp의 band가 보이는 것을 c1/c2 유전자형으로 분류하였다(Hayashi et al, 1991).

5) 통계분석

실험결과와 설문지에 의하여 얻어진 자료는 Microsoft excel 2000을 이용하여 전산 입력한 후 SAS(version 6.12)를 이용하여 분석하였다.

요중 마노산 농도는 산술평균 및 표준편차, 대수 변환후 기하평균 및 기하표준편차를 구하였다. 요중 마노산 농도의 비교는 대수 변환후 요중 마노산 농도가 정규분포를 하였기 때문에 두 군인 경우에는 t test

를, 세 군인 경우에는 ANOVA를 시행하였다. 유전자 분석후 각 요인별로 유전자 분포에 차이가 있는지 여부는 χ^2 분석을 하였다. 각 요인별로 연구대상자를 나눈 후 톨루엔 노출 수준에 따른 요중 마노산 배설농도의 회귀식을 구하였으며, 이때 회귀계수(기울기)의 차이가 있는지 여부는 일반선형모델로 분석하였다.

연구대상자에서 요중 마노산 농도에 미치는 영향을 알아보기 위한 회귀식을 회귀분석을 통하여 알아보았다. 마지막으로 여러 요인별로 층화한 후 유전자형에 따라 요중 마노산 농도의 차이가 있는지 여부를 개인별 노출 톨루엔농도를 보정한 상태에서 ANCOVA로 비교하였다.

결 과

1. 연구대상자의 일반적 특성

연구 대상자는 160명으로 개인별 톨루엔 노출 농도는 50 ppm 이하가 143명(89.4%), 51~100 ppm인 경우가 9명(5.6%), 100 ppm초과인 경우가 8명(5.0%)이었다(Table 3). 연구대상자중 남자는 130명(81.2%), 여자는 30명(18.8%)이었다. 톨루엔 노출이 100 ppm이 초과한 작업장에서 근무한 8명은 모두 남자 근로자이었다.

연령 분포는 40대 이상이 68명(42.5%)으로 가장 많았고, 30대가 60명(37.5%), 30세 미만이 32명(20.0%)의 순 이었다. 톨루엔 노출이 100 ppm 초과인 작업장에서 근무한 8명중 4명(50%)이 30대 이었다.

흡연여부는 90명(56.2%)이 흡연자이었고, 연구대상자의 62명(38.8%)이 음주 습관이 있었다. 검사전날 음주여부에 대해서는 16명(11.2%)이 술을 먹었다고 응답하였으며, 이들은 모두 톨루엔 노출이 50 ppm 이하의 작업장에서 근무하는 근로자이었다.

톨루엔 작업장 근무력은 10년 이상이 64명(40%)으로 가장 많았으며, 5년 미만이 61명(38.1%), 5-9년이 35명(21.9%)의 순 이었다.

작업중 개인보호구의 착용은 32명(20.0%)이 착용하였다고 하였으며, 톨루엔 노출이 50 ppm 이하의 작업장은 27명(18.9%)이 개인보호구를 착용한 반면, 51~100 ppm의 작업장은 4명(44.4%)이 개인보호구를 착용하였다. 그러나 100 ppm초과의 작업

Table 3. General characteristics of study subject by toluene exposed level

| Variable | Toluene exposure level(ppm) | | | Total (n=160) |
|---------------------------|-----------------------------|---------|---------|------------------|
| | ≤50 | 51-100 | >100 | |
| Sex | | | | |
| Male | 115(80.4) | 7(77.8) | 8(100) | 130(81.2) |
| Female | 28(19.6) | 2(22.2) | 0(0) | 30(18.8) |
| Age(years) | | | | |
| <30 | 28(19.6) | 3(33.3) | 1(12.5) | 32(20.0) |
| 30-39 | 54(37.8) | 2(22.2) | 4(50.0) | 60(37.5) |
| ≥40 | 61(42.7) | 4(44.5) | 3(37.5) | 68(42.5) |
| Smoking | | | | |
| Yes | 79(55.2) | 5(55.6) | 6(75.0) | 90(56.2) |
| No | 64(44.8) | 4(44.4) | 2(25.0) | 70(43.8) |
| Drinking | | | | |
| Yes | 55(38.5) | 4(44.4) | 3(37.5) | 62(38.8) |
| No | 88(61.5) | 5(55.6) | 5(62.5) | 98(61.2) |
| Previous night's drinking | | | | |
| Yes | 16(11.2) | 0(0) | 0(0) | 16(10.0) |
| No | 127(88.8) | 9(100) | 8(100) | 144(90.0) |
| Work duration(years) | | | | |
| <5 | 57(39.9) | 2(22.2) | 2(25.0) | 61(38.1) |
| 5-9 | 30(21.0) | 1(11.1) | 4(50.0) | 35(21.9) |
| ≥10 | 56(39.1) | 6(66.7) | 2(25.0) | 64(40.0) |
| PPE * | | | | |
| Yes | 27(18.9) | 4(44.4) | 1(12.5) | 32(20.0) |
| No | 116(81.1) | 5(55.6) | 7(87.5) | 128(80.0) |
| Food† | | | | |
| Yes | 18(12.6) | 2(22.2) | 3(37.5) | 23(14.4) |
| No | 125(87.4) | 7(77.8) | 5(62.5) | 137(85.6) |
| Total | 143(89.4) | 9(5.6) | 8(5.0) | 160(100) |

Data in parenthesis indicate percentage

*Use of personal protective equipment, †Benzoic acid containing food diet

장에서는 8명중 1명(12.5%)만이 개인보호구를 착용하였다.

요 채취전 안식향산이 함유된 식품을 섭취한 경우가 23명(14.4%)이었으며, 톨루엔 노출 50 ppm 이하 작업장은 18명(12.6%), 51~100 ppm은 2명(22.2%), 100 ppm 초과는 3명(37.5%)이었다(Table 3).

2. 각 요인별 요중 마노산 농도

직업적으로 톨루엔에 노출된 연구대상자의 요중 마노산 산술평균 및 표준편차는 0.74 ± 0.83 g/g creatinine, 기하평균은 0.44g/g creatinine, 기하

표준편차는 2.80이었고, 요중 마노산 농도의 범위는 0.03~3.77g/g creatinine이었다(Table 4).

작업시 노출된 톨루엔 수준별, 연령 및 성별, 흡연 및 음주습관, 검사전날 음주여부, 근무기간별, 작업시 마스크 착용여부, 그리고 요 채취전 안식향산이 함유된 식품의 섭취여부별로 총화한 요중 마노산 농도의 기하평균, 기하표준편차 및 마노산 농도의 범위는 Table 4와 같았다.

작업시 50 ppm 이하의 톨루엔에 노출된 근로자의 요중 마노산의 기하평균은 0.37g/g creatinine, 51~100 ppm은 0.64g/g creatinine, 100 ppm 초과는 2.80g/g creatinine으로 작업시 노출되는

Table 4. Comparison of urinary hippuric acid concentration by several characteristics in toluene exposed workers

| Variable | Number of subject | Urine hippuric acid concentraion | | | P-value* |
|---------------------------|-------------------|----------------------------------|------------|-----------|----------|
| | | AM±ASD | GM(GSD) | Range | |
| Toluene | | | | | |
| ≤50 | 143 | 0.55±0.53 | 0.37(2.51) | 0.03-3.00 | 0.001 |
| 51-100 | 9 | 1.80±1.07 | 0.64(1.75) | 0.86-3.77 | |
| >100 | 8 | 2.96±0.87 | 2.80(1.49) | 1.10-3.76 | |
| Sex | | | | | |
| Male | 130 | 0.80±0.88 | 0.47(2.83) | 0.03-3.77 | 0.068 |
| Female | 30 | 0.50±0.53 | 0.33(2.53) | 0.04-2.30 | |
| Age(years) | | | | | |
| <30 | 32 | 0.82±0.84 | 0.47(3.00) | 0.06-3.11 | 0.898 |
| 30-39 | 60 | 0.76±0.94 | 0.43(2.94) | 0.03-3.77 | |
| ≥40 | 68 | 0.68±0.72 | 0.44(2.61) | 0.04-3.30 | |
| Smoking | | | | | |
| Yes | 90 | 0.77±0.85 | 0.47(2.83) | 0.03-3.76 | 0.510 |
| No | 70 | 0.70±0.81 | 0.42(2.77) | 0.04-3.77 | |
| Drinking | | | | | |
| Yes | 62 | 0.79±0.76 | 0.50(2.71) | 0.05-3.30 | 0.225 |
| No | 98 | 0.71±0.87 | 0.41(2.82) | 0.03-3.77 | |
| Previous night's drinking | | | | | |
| Yes | 16 | 0.53±0.40 | 0.37(2.59) | 0.07-1.31 | 0.479 |
| No | 144 | 0.76±0.86 | 0.45(2.83) | 0.03-3.77 | |
| Duration | | | | | |
| <5 | 61 | 0.64±0.76 | 0.38(2.83) | 0.03-3.64 | 0.043 |
| 5-9 | 35 | 0.76±0.10 | 0.38(3.32) | 0.04-3.76 | |
| ≥10 | 64 | 0.82±0.79 | 0.57(2.39) | 0.08-3.77 | |
| PPE† | | | | | |
| Yes | 32 | 0.69±0.78 | 0.46(2.48) | 0.07-3.64 | 0.853 |
| No | 128 | 0.75±0.84 | 0.44(2.89) | 0.03-3.77 | |
| Food† | | | | | |
| Yes | 23 | 0.92±1.13 | 0.48(3.32) | 0.03-3.64 | 0.704 |
| No | 137 | 0.71±0.77 | 0.44(2.72) | 0.04-3.77 | |
| Total | 160 | 0.74±0.83 | 0.44(2.80) | 0.03-3.77 | |

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

*P-value was calculated by student t-test or ANOVA after log transformation of urinary hippuric acid concentration.

†Use of personal protective equipment, †Benzoic acid containing food diet

톨루엔 수준에 따라 요중 마노산 농도에 유의한 차이가 있었다(p=0.001, Table 4). 근무기간에 따른 요중 마노산 농도의 기하평균은 10년 미만인 0.38g/g creatinine이었고, 10년 이상이 0.57g/g creatinine으로 근무기간에 따라 요중 마노산 농도에 유의한 차이가 있었다(p=0.043). 작업시 개인보호구 착용여부 및 안식향산이 함유된 식품의 섭취여

부에 따라 요중 마노산 농도에 차이가 없었다.

3. 각 요인별 ALDH2 유전자 다양성 분포

연구대상자의 ALDH2 유전자는 NN형 57.5%, ND형 40.0%, DD형 2.5%이었다(Table 5). 톨루엔 노출이 50 ppm 초과인 작업장에서는 ALDH2 유전자의 DD형이 한 명도 없었다. 여성근로자중

Table 5. The distribution of ALDH2 genotype by several characteristics in toluene exposed workers

| Variable | ALDH2 genotype(n=160) | | | P-value* |
|----------------------|-----------------------|----------|--------|----------|
| | NN | ND | DD | |
| Toluene | | | | |
| ≤50 | 84(58.7) | 55(38.5) | 4(2.8) | |
| 51-100 | 4(44.4) | 5(55.6) | 0(0) | |
| >100 | 4(50.0) | 4(50.0) | 0(0) | 0.793 |
| Sex | | | | |
| Male | 72(55.4) | 54(41.5) | 4(3.1) | |
| Female | 20(66.7) | 10(33.3) | 0(0) | 0.392 |
| Smoking | | | | |
| Yes | 47(52.2) | 39(43.3) | 4(4.4) | |
| No | 45(64.3) | 25(35.7) | 0(0) | 0.096 |
| Drinking | | | | |
| Yes | 36(58.1) | 24(38.7) | 2(3.2) | |
| No | 56(57.1) | 40(40.8) | 2(2.1) | 0.878 |
| Work duration(years) | | | | |
| <5 | 30(49.2) | 28(45.9) | 3(4.9) | |
| 5-9 | 19(54.3) | 16(45.7) | 0(0) | |
| ≥10 | 43(67.2) | 20(31.3) | 1(1.6) | 0.171 |
| Total | 92(57.5) | 64(40.0) | 4(2.5) | |

Data in parenthesis indicate percentage

* P-value was calculated by chi-square

ALDH2 유전자의 DD형이 한 명도 없었다. 음주 습관에 따른 ALDH2 유전자형의 분포는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 근무기간에 따른 ALDH2 유전자형의 분포는 통계적으로 유의한 차이는 없었으나, 근무기간 5년 미만에서는 NN형 49.2%이었으나, 5~9년은 54.3%, 10년 이상은 67.2%이었다.

4. 각 요인별 CYP1A1 유전자 다양성 분포

연구대상자의 CYP1A1 유전자는 Ile/Ile형 59.4%, Ile/Val형 32.5%, Val/Val형 8.1%이었다(Table 6). 톨루엔 노출이 50 ppm 초과인 작업장에서는 CYP1A1 유전자의 Val/Val형이 한 명도 없었다. 톨루엔 노출 수준별, 성별, 흡연습관, 음주 습관, 근무기간에 따른 CYP1A1 유전자형의 분포는 차이는 없었다.

5. 각 요인별 CYP2E1 유전자 다양성 분포

연구대상자의 CYP2E1 유전자는 c1/c1형이 60.6%, c1/c2형이 33.1%, c2/c2형이 6.3%이었다(Table 7). 톨루엔 노출이 51~100 ppm 작업장에

서는 CYP2E1 유전자의 c2/c2형이 한 명도 없었다. 톨루엔 노출 수준별, 성별, 흡연습관, 음주 습관, 근무기간에 따른 CYP2E1 유전자형의 분포는 차이는 없었다.

6. 각 요인별 톨루엔 농도에 대한 회귀계수의 비교.

요중 마노산 배설 농도에 대한 회귀식을 각 요인별로 총화하여 회귀식을 구하였다(Table 8). ALDH2 유전자의 NN형에서는 톨루엔의 회귀계수가 0.0278로 통계적으로 유의하였으며 ND형에서는 톨루엔의 회귀계수가 0.0135로 통계적으로 유의하였다. ALDH2 유전자형간에 톨루엔의 회귀계수를 비교하였더니, 유전자형에 따라 회귀계수가 차이가 있었다.

각각의 회귀계수를 비교하여 톨루엔 대사에 교호작용이 있을 것을 의심되는 변수는 ALDH2, CYP1A1, CYP2E1, 연령, 흡연습관, 근무기간이었다(p<0.2).

7. 요중 마노산 농도에 대한 회귀분석결과

Table 8에서 톨루엔 대사에 교호작용이 있을 것으로 생각되는 변수인 ALDH2, CYP1A1,

Table 6. The distribution of CYP1A1 genotype by several characteristics in toluene exposed workers

| Variable | CYP1A1 genotype(n=160) | | | P-value* |
|----------------------|------------------------|----------|---------|----------|
| | Ile/I | Ile/Val | Val/Val | |
| Toluene | | | | |
| ≤50 | 85(59.4) | 45(31.5) | 13(9.1) | |
| 51-100 | 6(66.7) | 3(33.3) | 0(0) | |
| >100 | 4(50.0) | 4(50.0) | 0(0) | 0.793 |
| Sex | | | | |
| Male | 75(57.7) | 46(35.4) | 9(6.9) | |
| Female | 20(66.7) | 6(20.0) | 4(13.3) | 0.188 |
| Smoking | | | | |
| Yes | 54(60.0) | 32(35.6) | 4(4.4) | |
| No | 41(58.6) | 20(28.6) | 9(12.9) | 0.133 |
| Drinking | | | | |
| Yes | 35(56.4) | 22(35.5) | 5(8.1) | |
| No | 60(61.2) | 30(30.6) | 8(8.2) | 0.809 |
| Work duration(years) | | | | |
| <5 | 39(63.9) | 16(26.2) | 6(9.8) | |
| 5-9 | 20(57.1) | 11(31.4) | 4(11.4) | |
| ≥10 | 36(56.3) | 25(39.1) | 3(4.7) | 0.468 |
| Total | 95(59.4) | 52(32.5) | 13(8.1) | |

Data in parenthesis indicate percentage

* p-value was calculated by chi-square

CYP2E1, 연령, 흡연습관, 근무기간은 톨루엔과 interaction term의 형태로, Table 4에서 요중 마노산으로 배설되는 물질 중 유의한 소견을 보인 개인별 톨루엔 노출 농도와 임상적 의의가 있는 안식향상 식품의 섭취유무 및 개인보호구의 착용을 독립변수로 넣어 다중회귀분석을 시행하였다. 그 결과 톨루엔 노출 농도, ALDH2, CYP2E1, CYP1A1 유전자 다양성이 요중 마노산 농도에 유의한 영향을 주었다(Table 9).

개인별 톨루엔 노출 수준이 100ppm 이라고 가정할 때, ALDH2유전자 NN형에 비하여 ND형은 요중 마노산 농도가 1.56g/g creatinine 낮았다(p<0.001). CYP1A1 유전자 Ile/Ile형에 비하여 Ile/Val형은 요중 마노산 농도가 0.42g/g creatinine 높았고(p=0.018), Val/Val형은 요중 마노산 농도가 1.14g/g creatinine 높았다(p=0.007). CYP2E1 유전자 c1/c1형에 비하여 c1/c2 형은 요중 마노산 농도가 0.49g/g creatinine 낮았다(p=0.026, Table 9) 그 외 연령, 흡연습관, 근무기간에 따라서는 톨루엔 노출 근로자에서 요중 마노산

농도에 유의한 차이가 없었다.

고 찰

연구대상자중 100 ppm 초과인 고농도 노출에서 근무하는 근로자는 모두 남자이었다. 100 ppm 근로자중 흡연율이 75%로 높았는데 이는 남자근로자로 구성되었기 때문이다. 톨루엔 수준별 음주습관의 차이는 없었으나, 검사전날 음주를 한 경우는 모두 50 ppm 이하의 작업장 근로자였음이 특이하였다.

본 연구대상자의 ALDH2는 활성형인 NN형이 57.5%, 불활성형인 ND형, DD형이 각각 40.0%, 2.5%이었으며 위 결과는 ALDH2 다양성에 대한 국내의 연구를 보면 톨루엔에 노출되는 근로자들의 ALDH2 불활성형 표현형의 구성비가 35%(이강숙 등, 1995), 24.6%(장성실 등, 1996)로 다소 차이가 있으나, 권오춘(1997)의 41.5%와는 유사하였다. ALDH2 불활성형은 유럽 및 미국인을 비롯한 백인은 거의 0%로 알려져 있으나, 동양인의 경우에는 중국인의 경우 50%, 일본인의 41~44%로 알려져 있

Table 7. The distribution of CYP2E1 genotype by several characteristics in toluene exposed workers

| Variable | CYP2E1 genotype(n=160) | | | P-value* |
|----------------------|------------------------|----------|---------|----------|
| | c1/c1 | c1/c2 | c2/c2 | |
| Toluene | | | | |
| ≤50 | 87(60.8) | 47(32.9) | 9(6.3) | |
| 51-100 | 6(66.7) | 3(33.3) | 0(0) | |
| >100 | 4(50.0) | 3(37.5) | 1(12.5) | 0.793 |
| Sex | | | | |
| Male | 74(56.9) | 46(35.4) | 10(7.7) | |
| Female | 23(76.7) | 7(23.3) | 0(0) | 0.084 |
| Smoking | | | | |
| Yes | 49(70.0) | 19(27.1) | 2(2.9) | |
| No | 48(53.3) | 34(37.8) | 8(8.9) | 0.066 |
| Drinking | | | | |
| Yes | 40(64.5) | 19(30.7) | 3(4.8) | |
| No | 57(58.2) | 34(34.7) | 7(7.1) | 0.683 |
| Work duration(years) | | | | |
| <5 | 39(63.9) | 17(27.9) | 5(8.2) | |
| 5-9 | 24(68.6) | 11(31.4) | 0(0) | |
| ≥10 | 34(53.1) | 25(39.1) | 5(7.8) | 0.278 |
| Total | 97(60.6) | 53(33.1) | 10(6.3) | |

Data in parenthesis indicate percentage
 * p-value was calculated by chi-square

다(Singh et al, 1989 ; Crabb et al, 1989).

CYP1A1 유전자는 Ile/Ile형이 59.4%, Ile/Val형이 32.5%, DD형이 8.1%로 이 구성비는 남흥매 등(1999)의 Ile/Ile형이 52.0%, Ile/Val형이 45.9%, DD형이 2.1%와 유사하였고, CYP2E1 유전자형은 c1/c1형이 60.6%, c1/c2형이 33.1%, c2/c2형이 6.3%로 남흥매 등(1999)의 c1/c1형이 66.3%, c1/c2형이 30.6%, c2/c2형이 3.1%의 구성비가 유사하였다.

유전자 다양성이 톨루엔 대사에 영향을 주는 경우, 어떤 유전자 형태에서 대사가 지연됨으로 인하여 톨루엔 독성작용이 더 지속되고, 따라서 건강근로자 효과에 의해 이직함으로써 대조군의 유전자 구성비와는 차이가 있을 것으로 가정하였으나, 세 유전자 모두에서 대조군과 비교하여 유전자형의 구성비에 유의한 차이가 없었다. 따라서 대상 작업장의 톨루엔 농도에서는 세 유전자가 근무에 영향을 미칠 정도로 대사의 차이를 일으키지 않거나, 유전자 다양성이 대사에 영향을 미치나 톨루엔의 독성정도가

미미하여 건강근로자 효과를 일으키지 않은 것으로 추정된다. 중추신경계에 미치는 영향을 고려하여 설정한 미국의 TLV 50 ppm(ACGIH, 1999)를 고려할 때, 본 연구대상자의 톨루엔 노출 농도는 50 ppm 미만이 89.4%로 대부분을 차지하였다.

요중 마노산은 식이에 의해서 영향을 받는데 안식향산과 글리신이 함유되어 있는 식품을 섭취하면 정상인에서도 다량의 마노산이 배설되는 것으로 알려져 있다(Ogata, 1985 ; Nagayama et al, 1986 ; Michitsuji et al, 1987 ; 심상효 등, 1996). 또한 근로자가 유기용제용 마스크를 착용한 경우 톨루엔 노출 양과 톨루엔 흡수량 사이에는 차이가 발생할 것이다. 따라서 개인별 톨루엔 노출 농도, 요 채취 전 안식향산이 함유된 식품의 섭취여부, 작업시 마스크 착용여부를 독립변수로 하여 요중 마노산 배설농도의 회귀식을 계산한 결과, 톨루엔 농도는 유의한 회귀계수였으나, 안식향산이 함유된 식품의 섭취여부 및 마스크 착용은 요중 마노산 배설농도에 유의한 영향을 주지 못하였다. 요 검사 채취 6시간 이전에 안식

Table 8. Comparison of regression coefficient between personal exposure level to toluene and urinary hippuric acid concentration by genetic factor, life styles, diet history

| Variable | No. of subject | β (X 0.01) | α | γ^2 | P-value |
|---------------------------|----------------|---------------------|----------|------------|---------|
| ALDH2 genotype* | | | | | |
| NN | 92 | 2.78 | 0.22 | 0.71 | <0.001 |
| ND | 64 | 1.35 | 0.22 | 0.75 | <0.001 |
| DD | 4 | 2.25 | 0.15 | 0.38 | 0.382 |
| CYP1A1 genotype* | | | | | |
| Ile/Ile | 95 | 1.72 | 0.33 | 0.58 | <0.001 |
| Ile/Val | 52 | 2.05 | 0.25 | 0.65 | <0.001 |
| Val/Val | 13 | 3.49 | 0.10 | 0.64 | 0.001 |
| CYP2E1 genotype* | | | | | |
| c1/c1 | 97 | 1.65 | 0.34 | 0.56 | <0.001 |
| c1/c2 | 53 | 2.16 | 0.22 | 0.67 | <0.001 |
| c2/c2 | 10 | 2.98 | 0.09 | 0.92 | <0.001 |
| Sex | | | | | |
| Male | 130 | 1.81 | 0.32 | 0.59 | <0.001 |
| Female | 30 | 2.45 | 0.18 | 0.70 | <0.001 |
| Age(years)* | | | | | |
| <30 | 32 | 1.16 | 0.46 | 0.43 | <0.001 |
| 30-39 | 60 | 2.30 | 0.20 | 0.73 | <0.001 |
| ≥40 | 68 | 2.24 | 0.23 | 0.69 | <0.001 |
| Smoking* | | | | | |
| Yes | 90 | 1.72 | 0.28 | 0.66 | <0.001 |
| No | 70 | 2.34 | 0.27 | 0.57 | <0.001 |
| Drinking | | | | | |
| Yes | 62 | 2.00 | 0.28 | 0.60 | <0.001 |
| No | 98 | 1.79 | 0.29 | 0.61 | <0.001 |
| Previous night's drinking | | | | | |
| Yes | 16 | 2.07 | 0.21 | 0.30 | 0.027 |
| No | 144 | 1.85 | 0.30 | 0.61 | <0.001 |
| Work duration* | | | | | |
| <5 | 61 | 1.41 | 0.35 | 0.53 | <0.001 |
| 5-9 | 35 | 2.28 | 0.15 | 0.85 | <0.001 |
| ≥10 | 64 | 2.24 | 0.25 | 0.55 | <0.001 |

Model: hippuric acid corrected for creatinine = $\beta(\text{toluene}) + \alpha$

* P<0.20: comparison of regression coefficient(slope)

향산 함유 식품의 섭취유무를 조사하였고, 점심식사 이후 소변을 참았다가 채취하도록 하였으나, 요중 마뇨산 배설 농도에 안식향산의 함유 식품의 섭취가 큰 영향을 미치지 못한 것은 안식향산이 함유된 식품을 섭취한 경우가 23명으로 적었으며, 안식향산이 함유된 식품 섭취후 30분후에 요중 마뇨산량이 최고치에 이르는 점(Gotoh et al, 1990 ; 심상효 등, 1996)

이 원인으로 생각된다. 또한 작업시 개인 보호구인 유기용제용 마스크 착용유무도 요중 마뇨산 배설 농도에 유의한 영향을 미치지 못하였으며 이는 작업중 마스크를 착용한 근로자가 32명(20%)으로 적었고, 특히 100 pm 이상의 작업장에서 근무한 8명의 근로자중 1명만이 마스크를 착용하였다고 응답하였으며, 근로자가 작업중 마스크를 항상 착용하는 것이 아니

Table 9. Results of multiple regression analysis of the urinary hippuric acid concentration

| Co-variate | β (SE) | t-value | p-value |
|-----------------------|-----------------|---------|---------|
| toluene | 0.0263(0.0044) | 6.01 | <0.001 |
| toluene*ALDH2a | -0.0156(0.0021) | -7.56 | <0.001 |
| toluene*ALDH2b | -0.0063(0.0121) | -0.52 | NS |
| toluene*CYP1A1a | 0.0042(0.0018) | 2.32 | 0.018 |
| toluene*CYP1A1b | 0.0114(0.0073) | 1.57 | 0.007 |
| toluene*CYP2E1a | -0.0049(0.0022) | -2.25 | 0.026 |
| toluene*CYP2E1b | 0.0002(0.0039) | 0.05 | NS |
| toluene*age | 0.0001(0.0001) | 0.51 | NS |
| toluene*smoking | -0.0019(0.0020) | -0.93 | NS |
| toluene*work duration | 0.0003(0.0002) | 1.62 | NS |
| PPE | -0.1085(0.0848) | -1.28 | NS |
| food | -0.0127(0.0994) | -0.13 | NS |

Intercept: 0.2123

R-square: 0.7596

Coding: genotype of ALDH2(ALDH2a: NN=0, ND=1, DD=0; ALDH2b: NN=0, ND=0, DD=1), genotype of CYP1A1(CYP1A1a: Ile/Ile=0, Ile/Val=1, Val/Val=0; CYP1A1b: Ile/Ile=0, Ile/Val=0, Val/Val=1) genotype of CYP2E1(CYP2E1a: c1/c1=0, c1/c2=1, c2/c2=0; CYP2E1b: c1/c1=0, c1/c2=0, c2/c2=1), age(years), smoking habits(no=0, yes=1), work duration at risk(years), exposed toluene level(ppm), benzoic acid containing food diet(no=0, yes=1), use of personal protective equipment(PPE: no=0, yes=1)

NS: no significant

라, 간헐적으로 착용하는 경우도 마스크를 착용한다고 응답하였기 때문으로 생각된다.

인체에 흡수된 톨루엔은 약 80% 정도가 간장의 microsomal mixed function oxidase system에 의해 benzyl alcohol로 변환되고, alcohol dehydrogenase(ADH), aldehyde dehydrogenase(ALDH) system에 의해 benzoic acid로 산화된 후 마뇨산으로 배설된다(Hasegawa et al, 1983 ; WHO, 1996).

음주습관에 대한 ALDH2의 효과를 연구한 이전의 문헌들에 의하면 ALDH2 불활성형의 유전자를 가진 사람은 알코올의 대사과정에서 생성된 아세트 알데히드가 분해되지 못하고 체내에 축적되어 피부 발적과 더불어 두통, 심계항진, 저혈압 및 오심, 구토 등과 같은 불쾌감을 일으키므로 이러한 유전자형이 알코올 의존증 및 알코올로 인한 간독성 등의 질환에 예방적 요인으로 작용한다(Crabb et al, 1993 ; Kawamoto, 1994b ; 이강숙 등, 1995). 본 연구에서 음주습관에 따른 ALDH2 유전자형의 분포는 큰 차이가 없었다. 톨루엔 작업자에서는 ALDH2 유전자의 분포가 음주와 관련이 없는 것인지는 향후 음주량에 대한 조사,

음주횟수에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 50 ppm 이상에 노출된 근로자수와 DD형의 연구 대상자가 적어 통계적인 의문은 있으나 톨루엔 노출 수준에 따른 ALDH2 유전자형의 분포는 유의한 차이가 없었다. 이러한 소견은 ALDH2 유전자형이 톨루엔 작업과 관련되어 미치는 영향은 음주습관에 미치는 영향만큼 크지 않다는 장성실 등(1996)의 연구가 일치하는 소견이었다.

ALDH2 유전자형에 따라 톨루엔 노출 농도를 보정한 상태에서 요중 마뇨산 농도의 기하평균은 톨루엔 농도가 50 ppm 미만의 사업장에서 유의한 차이를 보였다(Table 11). 이러한 소견은 톨루엔 노출 농도 100 ppm 이하에서는 ALDH2가 더 많이 작용하고, 100 ppm 이상에서는 ALDH1이 더 많이 작용하여 100 ppm을 경계로 톨루엔 대상경로에 차이가 있다는 장성실 등(1996)의 연구소견과 일치하나 50 ppm 이상에서의 근로자수가 적어 100 ppm 이상에서의 대사능의 차이를 확인할 수는 없었다.

또한 5년 미만의 근무기간에서는 ALDH2 유전자형에 따라 요중 마뇨산 농도의 유의한 차이가 있었으나, 10년 이상인 근로자 군에서는 ALDH2의 유

전자형에 따른 요중 마노산 농도의 기하평균 차이를 확인할 수 없었다. 쥐에서 톨루엔의 투여가 cytochrome P450에 대한 효소 유도 작용이 있다 (이무형, 1991)는 연구에서처럼 사람에서도 지속적인 톨루엔 노출이 cytochrome P450의 효소를 유도하여 요중 마노산 농도에 미치는 영향, 즉, 근무기간에 따른 영향은 향후 다수의 근로자를 대상으로 한 연구가 필요할 것이다.

Xenobiotics의 대상에는 크게 두 단계, 즉 functional reaction과 conjugation reaction으로 나눈다. Cytochrome P450은 이중 functional reaction에 관여하는 효소이다. CYP2E1과 CYP1A1이 톨루엔 대상에 미치는 영향을 monoclonal antibody로 조사한 Nakajima(1997b)의 연구에 의하면 CYP2E1은 톨루엔에서 benzyl alcohol로 대사되는데 크게 작용하고, p-cresol을 만드는데 관여하며, CYP1A1은 benzyl alcohol의 형성에는 관여하지 않으나 o-, p-cresol의 형성에 관여한다고 보고하였다.

CYP1A1의 경우 톨루엔이 benzyl alcohol의 형성에는 관여하지 않기 때문에 요중 마노산 농도에 영향을 미치지 않을 것으로 생각되나(Nakajima, 1997b), Kawamoto 등(1995)의 연구에서 보면 Ile/Val, Val/Val 형이 요중 마노산 배설농도가 Ile/Ile 형에 비하여 유의하게 증가하였고, 본 연구에서도 같은 결과가 나왔다. CYP1A1의 Ile/Val 유전적 다양성은 흡연과 관련된 폐암에 유의한 상관이 있음이 보고되었다(Nakachi et al, 1991). 따라서 흡연습관과 관련되어 톨루엔 대사에 영향을 미칠 것으로 추측되었으나 향후 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서 CYP2E1의 경우 c1/c1형에 비하여 c1/c2 형의 경우 톨루엔 100 ppm에 노출될 경우 요중 마노산 농도가 0.45g/g creatinine 낮았다. 이러한 소견은 CYP2E1의 5-flanking region의 유전적 다양성이 톨루엔 대사와의 차이가 없었다는 Kawamoto 등(1995)의 연구결과와는 상반되는 결과이었다. c1/c2 유전자형의 요중 마노산 농도가 낮아지는 것은 톨루엔에서 benzoic acid로 대사 단계에서 지연됨을 나타내고 있다.

직업적으로 톨루엔에 노출과 요중 마노산 배설 농도의 영향에 큰 영향을 미칠것으로 고려되었던 개인 보호구 착용, 안식향산이 함유된 식품의 섭취여부,

음주 및 흡연 습관, 검사전날 음주여부는 요중 마노산 농도에 유의한 영향을 미치지 않았다. 오히려 ALDH2, CYP1A1, CYP2E1 유전자의 다양성에 따라 요중 마노산 배설농도가 큰 영향을 받았다.

톨루엔 100 ppm에 노출되었다고 가정할 때 가장 많은 분포를 차지한 ALDH2 NN형, CYP1A1 Ile/Ile형, CYP2E1 c1/c1형의 유전자를 40세 근로자로서 근무경력이 10년인 흡연하는 근로자의 요중 마노산 배설 농도는 3.14g/g creatinine인데 반하여, 같은 조건에서 ALDH2 ND형인 경우의 요중 마노산 배설 농도는 1.58g/g creatinine이고, CYP2E1 c1/c2를 가진 경우는 2.65g/g creatinine으로 유전자형에 따라 영향을 받았다. 따라서 요중 마노산으로 톨루엔 노출량 평가를 하는 경우에 유전자형에 따라 마노산 배설농도가 달라지기 때문에 유전자형의 대사능의 차이를 고려하여 마노산 기준농도를 찾는 연구가 이루어져야 하겠다.

본 연구의 제한점으로는 연구 대상자의 톨루엔 노출 농도는 50 ppm 미만이 89.4%로 대부분이었기 때문에 위자료를 가지고 우리나라 TLV인 100 ppm 노출시의 요중 마노산 농도를 추정하는 것은 다소 어려움이 있다. 또한 본 조사는 단면조사 이었고, 간장질환 이상자에 대한 조사를 시행하지 않아 결과의 편이가 있을 수도 있다. 또한 연구대상자들이 노출된 유기용제가 순수한 톨루엔이 아닌 복합유기용제의 한 성분인 톨루엔에 노출되었다. 복합유기용제에 노출되어 톨루엔 대사에 영향을 유기용제는 스타이렌, 에틸벤젠 등이 알려져 있다(Hee, 1993). 본 연구에서는 노출된 복합유기용제에서 톨루엔 대사에 영향을 줄 수 있는 유기용제 농도를 조사하지 않아 유기용제 간에 상호작용이 고려되지 않은점이 제한점으로 남는다.

요 약

목적 : 본 연구는 생물학적 지표 특성 연구를 위한 단면조사 연구로서 톨루엔 노출과 톨루엔의 생물학적 모니터링으로 이용되는 요중 마노산 농도간의 양-반응 관계에서 효과 변경인자로서 작용하는 유전자 ALDH2, CYP1A1, CYP2E1의 다양성 분포를 조사하고, 이들 유전자가 요중 마노산 배설 농도에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

방 법 : 연구대상자는 경인지역에 위치한 22개의 사업체에서 페인트 제조 72명, 제조업에서 도장작업 50명, 인쇄업 12명, 집착작업 12명, 벽지의 코팅작업 14명등 160명의 근로자이었다. 성, 연령, 유기용제 작업장 근무경력, 흡연습관, 음주습관, 검사일 이전 밤에 음주 여부, 시료 채취전 6시간 이내에 섭취한 식품조사, 측정일 개인보호구의 착용 여부에 대하여 설문조사를 시행하였다. 톨루엔에 대한 개인노출량은 passive air sampler로 측정하였고, 요중 마노산은 요중 크레아틴으로 보정하여 측정하였다. 또한 aldehyde dehydrogenase 2(ALDH2), cytochrome P450 1A1(CYP1A1), 그리고 cytochrome P450 2E1(CYP2E1)의 유전적 다양성은 혈액으로부터 백혈구의 DNA를 추출하여 제한효소 절단 길이 다양성(restriction fragment length polymorphism, RFLP)법으로 검사하여 다음의 결과를 얻었다.

결 과 : 연구대상자의 요중 마노산 농도의 기하평균은 0.44g/g creatinine, 기하표준편차 2.80이었다. 톨루엔 노출 농도, 개인 보호구 착용여부, 안식향산이 함유된 식품의 섭취여부중 요중 마노산 배설 농도에 영향을 미치는 인자는 톨루엔 노출 농도뿐이었다. ALDH2, CYP1A1, CYP2E1, 연령, 흡연, 근무기간에서 회귀계수간에 차이를 보이는 경향이 있었다. 요중 마노산 농도에 대한 다중회귀분석에서 톨루엔, ALDH2, CYP1A1, CYP2E1 유전자형의 회귀계수가 통계적으로 유의하였다.

결 론 : 톨루엔 노출로 인한 요중 마노산 배설 농도는 ALDH2, CYP1A1, CYP2E1 유전자 다양성에 의해 영향을 받기 때문에, 유전자형의 대사능의 차이를 고려하여 마노산 기준 농도를 찾는 연구가 이루어져야 하겠다.

참고문헌

권오춘, 주리, 이중정, 김창윤, 정중학 등. 톨루엔 취급 근로자의 ALDH2 genetic polymorphism에 따른 요중 마노산 배설량. 대한산업의학회지 1997;9(2):332-40.
 남홍매, 김현, 강종원, 배장환, 최강현 등. GSTM1과 GSTT1, 그리고 CYP1A1, CYP2E1 다양성이 폐암발생에 미치는 영향에 대한 환자-대조군 연구. 예방의학회지 1999;32(2):123-9.
 노동부. 유해물질의 허용농도 및 작업환경측정법. 노동부

고시 제 88-69호. 서울, 1988.
 노영만, 이세훈, 김현욱, 이광목, 정치경 등. 유기용제의 성분분석과 건강영향에 관한 연구. 대한산업의학회지 1993;5(1):88-103.
 문영환, 노재훈. 톨루엔 취급 근로자의 건강장해. 예방의학회지 1986;19(2):177-83
 박은미, 노재훈, 문영환. 톨루엔에 폭로된 근로자의 요중 마노산에 관한 연구. 예방의학회지 1987;20(2):228-35
 배기택, 문덕환, 김종환, 문찬석, 이채언. 톨루엔 크실렌 및 벤젠폭로의 생화학적 지표들에 관한 연구. 대한산업의학회지 1991;3(2):165-76
 심상효, 박정일, 손정일. 안식향산 함유 식품 섭취가 톨루엔 폭로 근로자들의 요중 마노산 농도에 미치는 영향. 대한산업의학회지. 1996;8(3):526-34
 양정선, 강성규, 김기웅, 이종성, 조영숙 등. 톨루엔 폭로 근로자의 혈중 톨루엔 및 요중 마노산 농도. 한국산업위생학회지 1993;3(2):188-93
 이강숙, 허성욱, 노영만, 박정일. 톨루엔 폭로 작업자에서 Aldehyde dehydrogenase2(ALDH2)의 유전자형과 요중 마노산. 한국의 산업의학 1995;35(2):55-60
 이무형. 톨루엔을 투여한 흰쥐의 간 미크로솜 Cytochrome P-450과 요중 마노산. 가톨릭대학 의학부 논문집 1991;44(2):103-10
 이세훈, 김형아, 이병국, 이광목. 톨루엔 폭로근로자의 요중 마노산 및 o-cresol배설농도와 자각증상. 한국의 산업의학. 1988;27(2):4-11
 이채언, 신해림, 조병만, 문덕환, 손혜숙 등. 톨루엔 폭로 근로자들의 요중 마노산 배설량. 예방의학회지 1988;21(2):374-9
 장성실, 박정일, 이강숙, 노영만. Aldehyde dehydrogenase2(ALDH2) 유전자형이 톨루엔의 생물학적 폭로지표인 요중 마노산 배설에 미치는 영향. 대한산업의학회지. 1996;8(3):454-65
 통계청. 한국의 사회지표. 통계청, 1995
 한국산업안전공단 산업보건연구원. 건강진단 기준상 유해물질 분석법의 표준화에 관한 연구(1). 한국산업안전공단, 1997
 한태영, 전진호, 김성준, 엄상화, 김재환 등. 작업시간대별 톨루엔 기중농도와 요중 마노산 배설량에 관한 연구. 대한산업의학회지 1993;5(2):205-15
 ACGIH. 1999 TLVs and BEIs. Cincinnati, OH. USA, ACGIH, 1999.
 Cherry N. Hutchins H. Pace T. Waldron HA. Neurobehavioural effects of repeated occupational exposure to toluene and paint solvents. British Journal of Industrial Medicine. 1985;42(5):291-300.
 Cohr KH. Stokholm J. Toluene. A toxicologic review. Scandinavian Journal of Work.

- Environment & Health. 1979;5(2):71-90.
- Crabb DW, Edenberg HJ, Bosron WF, Li TK. Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity. *J. Clin. Invest* 1989;83:314-6
- Gotoh M, Ogino K, Kobayashi H, Hobara T. Effects of soft drink intake on the concentration of urinary hippuric acid in workers exposed to toluene. *Japanese Journal of Industrial Health* 1990;32:28-9
- Harada S. Polymorphism of aldehyde dehydrogenase and its application to alcoholism. *Electrophoresis* 1989;10:652-5
- Hasegawa K, Shiojima S, Koizumi A, Ikeda M. Hippuric acid and o-cresol in the urine of workers exposed to toluene. *Archives of Occupational & Environmental Health*. 1983;52(3):197-208.
- Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450 2E1 gene. *J Biochem* 1991;110:559-65
- Hee SQ. Biological monitoring an introduction. New York: Van Nostrand Reinhold, 1993
- Inoue O, Seiji K, Watanabe T. Possible ethnic difference in toluene metabolism: A comparative study among Chinese, Turkish and Japanese solvent workers. *Toxicology Letters* 1986;34:167-74
- Inoue O, Seiji K, Watanabe T, Nakatsuka H, Jin C, et al. Effects of smoking and drinking on excretion of hippuric acid among toluene-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health* 1993;64:425-30
- Kawamoto T, Matsuno K, Arashidani K, Yoshikawa M, Oyama T, et al. Biologic monitoring of toluene and DNA polymorphism in humans. *Int Arch Occup Environ Health* 1993; 65(1):s131-3
- Kawamoto T, Matsuno K, Kodama Y, Murata K, Matsuda S. ALDH2 polymorphism and biological monitoring of toluene. *Arch Environ Health*. 1994a;49(5):332-6
- Kawamoto T, Murata K, Koga M, Hattori Y, Kodama Y. Distribution of urinary hippuric acid concentrations by ALDH2 genotype. *Occup Environ Med*, 1994b;51(12): 817-21
- Kawamoto T, Koga M, Murata K, Matsuda S, Kodama Y. Effects of ALDH2, CYP1A1, and CYP2E1 genetic polymorphism and Smoking and Drinking Habits on Toluene Metabolism in Humans. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995;133(2):295-304.
- Linz DH, de Garmo PL, Morton WE, Wiens AN, Coull BM, et al. Organic solvent-induced encephalopathy in industrial painters. *Journal of Occupational Medicine*. 1986;28(2):119-25.
- Lundberg I, Hakansson M. Normal serum activities of liver enzymes in Swedish paint industry workers with heavy exposure to organic solvents. *British Journal of Industrial Medicine*. 1985;42(9):596-600.
- Michitsuji H, Ohara A, Yamaguchi K, Fujiki Y. Effect of intake refrigerants on excretion of hippuric acid in urine. *Matsushita Med J* 1987;26:106-16
- Nagayama T, Nishijima M, Yasuda K, Saito K, Kamimura H, et al. Benzoic acid in agricultural food products and processed foods. *Food Hyg Soc J* 1986;27:316-25
- Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res* 1991;51:5177-80
- Nakajima T, Wang RS, Elovaara E, Gonzalez FJ, Gelboin HV, et al. Toluene Metabolism by cDNA-Expressed Human Hepatic Cytochrome P450. *Biochemical Pharmacology* 1997a;53:271-277
- Nakajima T. Cytochrome P450 isoforms and the metabolism of volatile hydrocarbons of low relative molecular mass. *J Occup Health* 1997b;39:83-91
- National Institute for Occupational Safety and Health: NIOSH manual of analytical methods, 4th Toluene(passive) 1994.
- Ogata M. Indices of biological monitoring with special reference to urinalysis for metabolites of organic solvents. *Jpn J Ind Health* 1985;27:229-41
- Oyama T, Hattori Y, Kodama Y. Biologic monitoring of toluene and DNA polymorphism in humans. *Int Arch Occup Environ Health* 1993;65:s131-s3
- Oyama T, Mitsudomi T, Kawamoto T, Ohgami A, Kodama Y. Detection of CYP1A1 gene polymorphism using designed RFLP and distributions of CYP1A1 genotypes in Japanese. *Int Arch Occup Environ Health* 1995: 67:253-6

- Seedorff L, Olsen E. Exposure to organic solvents I. A survey on the use of solvents. *Annals of Occupational Hygiene*. 1990;34(4):371-8
- Singh S, Fritze G, Fang B, Harada S, Paik YK, Eckey R, Agarwal DP, Goedde HW. Inheritance of mitochondrial aldehyde dehydrogenase: genotyping in Chinese, Japanese and South Korean families reveals dominance of the mutant allele. *Hum Genet*. 1989;83:119-21
- Sullivan JB, Krieger GR, editors. *Hazardous Materials Toxicology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992
- Ukai H, Watanabe T, Nakatsuka H, Satoh T, Liu SJ, et al. Dose-dependent increase in subjective symptoms among toluene-exposed workers. *Environmental Research*. 1993;60(2):274-89
- WHO. *Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace*. Geneva:WHO 1996
- Yoshida A, Wang G, Dave V. Determination of Genotypes of human aldehyde dehydrogenase ALDH2 Locus. *Am J Hum Genet* 1983;35:1107-16