

톨루엔 취급 근로자의 ALDH2 Genetic Polymorphism에 따른 뇨중 마뇨산 배설량

영남대학교 의과대학 예방의학교실 및 생화학교실*

권오춘 · 주 리 · 이중정 · 김창윤 · 정종학 · 김성용*

— Abstract —

ALDH2 Genetic Polymorphism and Urinary Hippuric Acid Concentration in Toluene Exposed Workers

Oh-Choon Kwon, Ree Joo, Jung-Jeung Lee,
Chang-Yoon Kim, Jong-Hak Chung, Seong-Yong Kim*

Department of Preventive Medicine and Public Health, Department of Biochemistry,
College of Medicine, Yeungnam University*

In this study we evaluated the effects of the genetic polymorphism of aldehyde dehydrogenase2 (ALDH2) on toluene metabolism and determined biological exposure indices (BEIs) for toluene by the genotypes of ALDH2.

The study subject were 77 men workers who are handling toluene in a video tape manufacturing factory and a textile company. Through the face-to-face interview, the information about smoking and drinking behavior was obtained. For determination of ALDH2 polymorphism, 5 ml of venous blood sample was obtained from each subject after informed consent. DNA was extracted from the buffy coat and ALDH2 genotyping were performed using a polymerase chain reaction (PCR) method. The genotype of ALDH2 was classified into the homozygous genotype of normal ALDH2 (NN), and the heterozygous genotype of normal and inactive ALDH2 (ND), and homozygous genotype of an inactive ALDH2 (DD). The concentration of hippuric acid (HA), the main metabolite of toluene, was determined in urine specimens collected at the end of shift, corrected with creatinine (HA/C), and compared with BEI for toluene, which is 2.5 g/g creatinine. The personal exposure level of toluene were monitored, using personal air sampler and analyzed by gas chromatography.

The frequencies of the three genotypes in this study subject were, NN : 45 (58.4%), ND : 26 (33.8%) and DD : 6 (7.8%), and frequencies of the genotypes in the middle or heavy toluene exposure workers were not significantly different from those in the mild toluene exposure workers. The frequencies of the DD type of ALDH2 was lower among

alcohol drinkers than among non-drinkers. The urinary HA concentration of DD group was significantly lower than that of the NN or ND group, which suggests that the HA formation from toluene decreased in DD group. Regression lines were used to estimate the BEIs of the NN, ND, and DD groups.

$$\text{NN} : y = 0.0085x + 0.23, r = 0.90$$

$$\text{ND} : y = 0.0074x + 0.21, r = 0.85$$

$$\text{DD} : y = 0.0041x + 0.82, r = 0.83$$

The three regression lines revealed that the estimated urinary HA concentration of NN, ND, and DD groups at 377 mg/m³ toluene(TLV-TWA) exposure were 3.43, 3.00, and 2.37 g/g creatinine, respectively. The HA concentration of the NN, and ND group were higher than that of the ACGIH BEI (2.5 g/g creatinine); however, the HA level of DD group was lower than the BEI.

These results suggest that the ACGIH BEI is not adequate to estimate the toluene exposure of the NN, ND and DD groups at the same time.

Based upon these results, a new BEI for ALDH2 deficient workers may be necessary.

Key Words : ALDH2, Genetic polymorphism, Urinary hippuric acid

서 론

톨루엔은 산업장에서 가장 널리 쓰이는 유기용제 중의 하나이다. 톨루엔은 취급하는 근로자들에게 중추신경계 억제, 두통, 현기증, 피로, 졸리움, 구역질, 구토, 경련, 혼수, 운동실조 등의 증상과 눈, 코, 목에 자극증상을 일으킬 수 있으며, 이들 증상은 톨루엔 폭로의 정도와 밀접한 관련성이 있는 것으로 알려져 있다(Ukai 등, 1993).

톨루엔의 인체내 흡수 경로는 주로 폐를 통하여 이루어지며, 일부 피부를 통하여서도 이루어진다(Sullivan과 Krieger, 1992; Kawamoto 등, 1994; Zenz 등, 1994). 인체에 흡수된 톨루엔의 80%는 microsomal mixed function oxidase system에 의해 benzyl alcohol로 전환되고 alcohol dehydrogenase/aldehyde dehydrogenase system에 의해 benzoic acid로 산화되었다가 마지막으로 마노산으로 전환된다. 이 과정에 주된 효소로 관여하는 aldehyde dehydrogenase(ALDH)에는 ALDH1, ALDH2, ALDH3, ALDH4의 4가지 isoenzyme이 존재하는데 ALDH1과 ALDH2가 benzoic acid의 산화과정에 주된 효소로 작용하게 된다(Harada, 1989).

이 중 ALDH2는 유전적으로 polymorphism이 있는 것으로 보고되고 있다(Yoshida 등, 1983;

Crabb 등, 1989; Oyama 등, 1993). 민족에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있는데 유럽 및 미국의 코카서스 백인종과, 흑인종에서는 ALDH2의 불활성형이 매우 드물며, 이와는 대조적으로 몽고인종에 속하는 동양인에서는 흔히 발견된다(Goedde 등, 1992).

ALDH2의 유전적 polymorphism 현상은 ALDH2 유전자의 487번째 아미노산 위치에 구조적인 점돌연변이로 인해 DNA수준에서 guanine-cytosine이 adenine-thymine으로 치환된 결과로 단백질 합성과정에서 glutamate가 lysine으로 변화하기 때문이다(Yoshida 등, 1983). 이런 경우 알콜섭취 후 아세트알데히드의 대사 결함으로 안면홍조, 빈맥, 구토, 저혈압 등을 경험하게 되며, 톨루엔 폭로 후 ALDH2의 유전자형에 따라 서로 다른 대사의 정도를 보여 노중 마노산 양의 차이를 보일 수 있을 것으로 생각된다.

현재 미국에서는 작업장에서의 톨루엔 폭로허용농도를 1993년 American Conference of Governmental Industrial Hygienists(ACGIH)에서 정한 Threshold Limit Value-Time Weighted Average(TLV-TWA) 50 ppm(188 mg/m³)을 사용하고 있으며(ACGIH, 1992-1993), 현재 우리나라에서는 ACGIH의 TLV-TWA가 1993년 개정되기 전의 톨루엔 허용농도기준 100 ppm(377 mg/m³)을 1988년부터 사용해 오고 있다(노동부,

1988). 이 ACGIH의 TLV-TWA 100 ppm을 기준으로 할 때 작업장의 공기 중 톨루엔 허용농도 외에 근로자의 개인폭로의 정도를 평가하는 방법으로 근로자의 뇨에서 톨루엔의 주된 대사물인 마노산농도를 측정하는 생물학적 허용한계치, 즉 BEI(biological exposure indices)는 2.5 g/g creatinine 이 적용되고 있다(ACGIH, 1992-1993).

그러나 우리 나라에서 뇨중 마노산 농도 BEI 2.5 g/g creatinine을 톨루엔 취급 근로자에게 일률적으로 적용할 때 ALDH2 유전자 불활성형 톨루엔 취급 근로자에 있어서 실제 톨루엔 폭로량보다 낮은 것으로 잘못 평가될 수 있다.

이 연구는 톨루엔 취급 근로자를 대상으로 중합효소반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여 ALDH2의 유전자형의 빈도를 조사하고, 작업장내 톨루엔 농도와 각 유전자형 별로 뇨중 마노산의 양을 측정하여 톨루엔 취급 근로자들의 ALDH2 유전자형과 뇨중 마노산 배설량과의 관련성을 보고자 하였다.

대상 및 방법

경상북도 구미공단에서 톨루엔을 주용제로 사용하는 일개 비디오테이프 제조공장 근로자 44명과 대구시 염색공단의 섬유염색공장에서 제판, 코팅 및 염료배합 등 톨루엔을 취급하는 근로자 33명으로 총 77명을 대상으로 하였다.

개인별 ALDH2의 유전자형 판별을 위한 전시험으로써 1995년 8월에서 9월 사이에 녹화테이프 제조공장 근로자를 대상으로 분석 하였으며, 1996년 3월에서 5월 사이에 톨루엔을 취급하는 근로자를 대상으로 면접을 통한 일반적 특성 및 직업력을 조사하고 연구에 필요한 생체시료를 얻었다.

연구대상 선정시에 작업의 특성상 여자 근로자가 거의 없는 실정이여서 남자 근로자만을 대상으로 하였고, 개인별 톨루엔의 폭로수준은 20 ppm 미만 폭로군이 60명이었으며, 20 ppm 이상폭로군이 17명이었고, 그 중 톨루엔 폭로 허용농도 기준인 TLV-TWA가 100 ppm이 넘는 근로자도 6명이 포함되었다. 면접시 뇨중마노산 배설에 영향을 미칠수 있는 과일이나 음식, 음료를 섭취한 근로자는 대상에서 제외시켰다(Kawamoto 등, 1994).

톨루엔의 개인 폭로량 측정은 조사대상자에게 개인용시료포집기(GILAIR-3, Gilian, USA)를 이용하여 근로자가 작업을 시작하기 전 근로자의 작업복의 목깃이나 가슴 등의 호흡기 위치에 부착하여 charcoal tube에 시료를 채취한 후 작업이 끝난 후 수집하여 front 층(100 mg)과 back 층(50 mg)을 vial에 각각 분리해서 넣고 용출액 CS₂ 1.0 ml씩 가한 후 마개를 닫고 30분간 가끔 흔들면서 방치하여 탈착된 시료를 가스 크로마토그래피(GC-14A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다. 분석 조건은 capillary 칼럼을 이용하여 injector temperature 225 °C, column temperature 150 °C, detector temperature 200 °C로 하였으며 carrier 가스는 N₂를 이용하여 30 ml/min의 속도로 분석하였다.

개인별 뇨중 마노산농도의 측정은 대상자의 뇨를 교대작업이 끝난 직후 밀폐용기를 이용하여 채집한 후 고속 액체 크로마토그래피(Waters 625 LC system, Millipore, USA)를 이용하여 마노산의 양을 정량 하였다. 분석조건은 C₁₈ reverse column을 사용하여 칼럼온도는 25 °C, 이동상은 20 mM KH₂PO₄ (pH 3.3)/ 아세트니트릴로 하였고 유속은 1.0 ml/min., 압력은 100 kg/cm²로 하였다. 또한 creatinine 배설량으로 뇨중 마노산의 농도를 보정하였다.

개인별 ALDH2의 유전자형의 판별은 대상자들로부터 정맥혈을 취한 후 Wizard™ genomic DNA purification kit(Promega)로 genomic DNA를 추출하였다. UV spectrophotometer (UV 1201, Shimadzu, Japan)를 이용하여 DNA의 농도를 측정 한 후 5'-ending ALDH2 primer, 3'-ending ALDH2 primer, dNTP, Taq polymerase, PCR buffer와 DNA template를 섞어 PCR mixture를 만들어 Thermal cycler(Gene Amp PCR System 2400, Perkin Elmer, USA)에 반응혼합액을 94°C에서 1분 30초간 denaturing, 55°C에서 1분 30초간 annealing, 72°C에서 30초간 polymerization을 30 cycle 반복시켰다. 반응이 끝난 시료 일부를 ethidium bromide를 포함한 polyacrylamide gel에 전기영동을 한 후 자외선 하에서 증폭여부를 확인하였다.

자외선 하에서 band가 확인된 PCR 생성물에 5'-end γ -³²P labelling한 ALDH2 primer와 dATP,

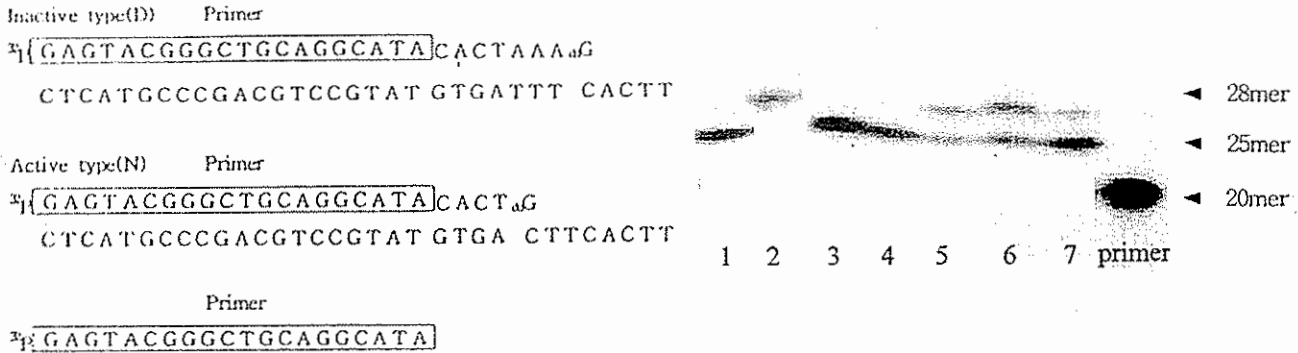


Fig. 1. Determination of ALDH2 polymorphism by polymerase chain reaction method. 1, 3 and 4 indicate NN type and 2 indicates DD type and 5, 6 and 7 indicate ND type.

dTTP, dCTP, ddGTP, Taq polymerase, PCR buffer를 mix하여 Thermal cycler에서 94 °C 1분 30초, 55 °C 1분 30초, 72 °C 1분 동안 DNA를 합성하였다.

합성한 DNA시료를 6× sample loading buffer와 5:1로 혼합하여 미리 준비한 6% sequencing gel에서 75 watt로 전기영동하였다. 전기영동 후 gel을 5% acetic acid, 15% methanol 용액에 15분간 담구어 고정시켰다. Gel을 말린 후 x-ray film에 노출시키고 현상하여 ALDH2 polymorphism을 구별하였다.

ALDH2 polymorphism은 NN군(homozygous genotype of normal ALDH2), ND군(heterozygous genotype of normal and inactive ALDH2)과 DD군(homozygous genotype of an inactive ALDH2)으로 구분하였다(Fig. 1).

성 적

대상자들의 ALDH2 유전자형은 전체 77명 중 NN군이 45명으로 58.4%를 차지하였으며 ND군이 26명으로 33.8%, DD군이 6명으로 7.8%를 차지하였다.

20 ppm 미만의 톨루엔 저폭로군에서는 NN군이 34명으로 56.7%를 차지하였으며 ND군이 22명으로 36.7%, DD군이 4명으로 6.7%를 차지하였고, 20

Table 1. Genotypes of ALDH2 in toluene exposed workers

Toluene exposure level(ppm)	n	Genotype (%)		
		NN	ND	DD
<20	60	34 (56.7)	22 (36.7)	4 (6.7)
20≤	17	11 (64.7)	4 (23.5)	2 (11.8)
Total	77	45 (58.4)	26 (33.8)	6 (7.8)

NN : homozygous genotype of normal ALDH2.

ND : heterozygous genotype of normal and inactive ALDH2.

DD : homozygous genotype of inactive ALDH2.

ppm 이상의 비교적 중등도 이상의 톨루엔 폭로군에서는 NN군이 11명으로 64.7%, ND군이 4명으로 23.5%, DD군이 2명으로 11.8%였으며 두 군간에 통계적으로 유의한 분포의 차이는 없었다(Table 1).

대상자들의 평균연령은 31.8±5.0 세였고 NN군에서는 32.4±4.8 세, ND군에서는 30.8±5.3 세 그리고 DD군에서는 31.2±5.9 세로 각 유전자형간에 유의한 연령의 차이는 없었다.

작업년수는 NN군에서는 64.8±38.9개월, ND군에서는 70.5±36.2 개월 그리고 DD군에서는 63.5±31.9개월로 각 유전자형간에 유의한 차이는 없었으며 평균 작업년수는 66.6±37.2개월이었다.

Table 2. Genotypes of ALDH2 by age, duration of exposure and alcohol drinking

Characteristics	Genotype			Total
	NN(n=45)	ND(n=26)	DD(n=6)	
Age(years)	32.4± 4.8	30.8± 5.3	31.2± 5.9	31.8± 5.0
Durations of exposure (months)	64.8±38.9	70.5±36.2	63.5±31.9	66.6±37.2
Alcohol				
Non-drinker	5 (45.5%)	4 (36.4%)	2 (18.2%)	11 (100.0%)
Drinker	40 (60.6)	22 (33.3)	4 (6.1)	66 (100.0)

Table 3. Urinary HA concentration by ALDH2 genotype and toluene exposure level

Toluene exposure level(ppm)	HA (g/g creatinine)					
	NN		ND		DD	
	n	Mean±SD	n	Mean±SD	n	Mean±SD
<20	34	0.28±0.16*	22	0.25±0.09*	4	0.09±0.09
20≤	11	1.03±0.61	4	0.52±0.22	2	0.55±0.56

* : p<0.05 compared with DD group.

HA : hippuric acid.

대상자 중 음주여부에서도 음주자는 66명이었으며, 유전자형별로 보면 NN군에서 40명으로 60.6%, ND군에서 22명으로 33.3%, DD군에서 4명으로 6.1%를 차지하였으며, 비음주자는 모두 11명으로, 그 중 NN군에서 5명으로 45.5%, ND군에서 4명으로 36.4%, DD군에서 2명으로 18.2%로 음주군과 비음주군 사이에 유전자형의 차이는 없었다(Table 2).

톨루엔 농도 20 ppm 미만의 톨루엔 저폭로군과 20 ppm 이상의 중등도 이상 폭로군의 유전자형에 따른 뇨중 마노산의 농도는 톨루엔 20 ppm 미만인 군에서는 NN군에서 0.28±0.16 g/g creatinine이었고, ND군에서 0.25±0.09 g/g creatinine으로 DD군에서 0.09±0.09 g/g creatinine보다 통계적으로 유의하게 높았으며 (p<0.05), 비교적 중등도 이상의 톨루엔 폭로군에서는 NN군에서 1.03±0.61 g/g creatinine으로 ND군의 0.52±0.22 g/g creatinine, DD군의 0.55±0.56 g/g creatinine보다 높게 나타났으나, 20 ppm 이상의 톨루엔 폭로군에서 불활성유전자형의 빈도가 적어 통계적 유의성을 검정할 수 없었다(Table 3).

톨루엔 농도 20 ppm 미만의 톨루엔 폭로군과 20

ppm 이상의 폭로군 유전자형에 따른 뇨중 마노산의 농도와 톨루엔 폭로 간의 상관관계는 톨루엔 20 ppm 미만 폭로군의 NN군에서는 뇨중 마노산의 농도와 톨루엔 폭로간의 상관계수가 0.4576(p<0.001), ND군에서는 0.3926(p<0.001), DD군에서 0.3543, 전체적으로는 0.4452(p<0.001)로 비교적 상관성이 약했으며, 20 ppm 이상 폭로군에서는 상관계수가 전체적으로 0.8222(p<0.001), NN군에서 0.8426(p<0.001), ND군에서 0.9662(p<0.001)로 높은 상관관계를 보였으며 DD군에서 상관계수는 0.7893으로 높은 상관관계를 보였으나 DD형 유전자의 빈도가 적어 통계적 유의성을 검정할 수 없었다(Table 4).

Table 4. Correlation coefficients between urinary HA and toluene exposure level by ALDH2 genotype

Toluene exposure level(ppm)	HA (g/g creatinine)			
	NN	ND	DD	Total
<20	0.4576*	0.3926*	0.3543	0.4452*
20≤	0.8426*	0.9662*	0.7893	0.8222*

* : p<0.001.

ALDH2유전자형에 따른 뇨중 마노산의 농도와 톨루엔 폭로 간의 상관관계를 단순회귀분석하여 다음과 같은 단순회귀방정식을 구하였다.

$$NN : y(\text{뇨중마노산농도}) = 0.0085x(\text{톨루엔 폭로 농도}) + 0.23, r = 0.90$$

$$ND : y = 0.0074x + 0.21, r = 0.85$$

$$DD : y = 0.0041x + 0.82, r = 0.83$$

각 유전자형 뇨중 마노산의 농도와 톨루엔 폭로 간의 상관계수는 NN군에서 0.90($p < 0.001$), ND군에서 0.85($p < 0.001$), DD군에서 0.83($p < 0.001$)으로 NN군, ND군, DD군 모두 높은 상관관계를 보였다.

고 찰

산업장에서 사용되는 주된 유기용제로는 벤젠과 그 유도체인 톨루엔을 들 수 있으나 톨루엔은 벤젠에 비해 독성이 적고 만성중독을 일으키는 예가 드물어 산업장에서 널리 사용되고 있다(Poctor 등, 1988).

톨루엔의 체내 흡수는 주로 호흡기를 통하여 이루어지고, 피부나 다른 기관을 통한 흡수는 미량에 불과하다. 체내에 흡수된 톨루엔의 20%는 호기시에 호흡기를 통해 배설되고 나머지는 methyl기가 hydroxylation되고 benzoic acid로 산화되었다가 다시 glycine과 결합하여 마노산으로 되어 소변으로 배설되고 일부 *o*-, *m*-, *p*-cresol, benzoyl glucuronide 등의 형태로 배설된다(Kawamoto 등, 1994).

톨루엔이 마노산으로 변환되는데 여러 가지 효소가 관련되는데 cytochrome P-450, alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase 등이다(Crabb 등, 1989; Oyama 등, 1993; Kawamoto 등, 1994; Kawamoto 등, 1995). 이 중에 aldehyde dehydrogenase의 두 가지 주된 isozyme에는 ALDH1과 ALDH2가 있으며, 간내 미토콘드리아에 존재하는 ALDH2는 톨루엔 대사 뿐만 아니라 알코올의 대사에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Kawamoto 등, 1994).

최근 ALDH2의 cDNA와 genomic DNA의 배열이 규명되었는데, 이 촉매의 부족은 ALDH2 gene의 polypeptide subunit중 amino acid position 487의 structural point mutation으로

인해 발생하게 된다. 이것은 DNA level의 G(C)가 A(T)로 변환되어 결국 glutamate가 lysine으로 됨으로써 생기게 된다(Yoshida 등, 1983; Hsu 등, 1985).

ALDH2의 유전자형은 민족에 따라 차이가 있다. 1992년 독일의 Goedde 등(1992)의 연구에 의하면 유럽의 독일, 스웨덴, 핀란드, 헝가리, 터키 등의 코카서스인의 ALDH2 불활성 유전자형의 빈도를 조사한 결과 헝가리인에서만 1%의 빈도를 보였으며, 그 외에는 0%였다. 또한 아프리카 흑인종과 남미의 원주민, 호주의 원주민 등에서도 ALDH2 불활성 유전자형의 빈도는 거의 0%였다. 그러나 몽고계통의 중국인에서는 16%, 일본인에서 24% 정도의 불활성형 유전자의 빈도를 보이며 한국인에서도 15% 정도의 빈도를 나타내는 것으로 보고하였다.

상하이에 사는 중국인에서 ALDH2의 유전자형을 조사한 결과 NN형이 54%, ND형이 41%, DD형이 5%로 전체 유전자 불활성형의 빈도는 25%로 보고하였으며(Muramatsu 등, 1995), Chen 등(1994)이 중국의 여러 민족을 대상으로 조사한 바에 의하면 한족에서 유전자 불활성형이 24%, 베트남족이 35%, 몽고족이 10%, 티베트족이 5%의 빈도를 보였다고 보고하였다.

일본에서도 Crabb 등(1989)과 Harada 등(1989)이 ALDH2의 genetic polymorphism이 있다는 사실을 보고한 바 있으며, Kawamoto 등이 112명의 남자 대학생과 45명의 톨루엔 취급 근로자를 대상으로 한 연구에서 남자 대학생군에서 NN형이 53%, ND형이 42.6%, DD형이 4.1%였으며, 유전자 불활성형의 빈도는 25.4%였다. 또한 톨루엔 취급 근로자에서도 비슷한 빈도를 보였다고 보고하였다.

이 연구에서는 전체 77명 중 NN군이 45명으로 58.4%를 차지하였으며 ND군이 26명으로 33.8%, DD군이 6명으로 7.8%를 차지하였으며 불활성형의 빈도는 24.7%였다. 이는 상하이에 사는 중국인(Muramatsu 등, 1995)과 중국의 한족을 대상으로 한 연구(Chen 등, 1994), 일본인 남자 대학생들을 대상으로 한 연구(Kawamoto 등, 1994)와 거의 비슷한 빈도를 보였다. 그러나 독일의 Goedde 등(1992) 연구에서 한국의 유전자 불활성형빈도 15% 보다는 높은 빈도를 보였다.

ALDH2의 유전자형에 알코올 대사에 차이가 있으므로 음주여부가 영향을 받는다는 것은 여러 연구에서 보고되고 있다(Chao 등, 1994; Muramatsu 등, 1995; Tanaka 등, 1996). 1995년 중국인 알콜중독자와 비음주자를 대상으로 ALDH2의 유전자형을 조사한 결과 비음주자 105명중 NN형이 54%인 반면 알콜중독자군에서는 91%를 차지하였으며, 비음주군에서의 DD형의 빈도는 5%, 알콜중독자군에서는 0%의 빈도를 보였다(Muramatsu 등, 1995). 비슷한 연구로는 중국에서 건강한 비음주자와 알콜중독자, 알콜성 간경화증환자를 대상으로 한 조사에서 NN형의 빈도는 각각 52%, 88%, 81%의 빈도를 보였으며, DD형은 12%, 0%, 0%의 빈도를 보였다(Chao 등, 1994). 또한 1996년 일본에서도 66명의 비음주자와 90명의 알콜중독자와 31명의 알콜성 간질환을 앓고 있는 환자군의 ALDH2의 유전자형을 조사한 결과 NN형의 빈도는 각각 6%, 30%, 23%의 빈도를 보였으며, DD형은 58%, 23%, 36%의 빈도를 보였다(Tanaka 등, 1996).

이 연구에서는 대상자 77명 중 음주자는 66명이었으며, 음주자군에서 NN군의 빈도는 60.6%, 비음주자군에서는 45.5%를 차지하였다. DD군의 빈도는 음주자군에서 6.1%를 차지하였으며, 비음주자군에서는 18.2%로 비음주자군에서 DD형의 빈도가 3배정도 높았으나 DD형의 빈도가 적어 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

ACGIH는 톨루엔의 허용 기준으로 시간가중 평균허용농도(TLV-TWA) 50 ppm으로 권고하고 있는데(ACGIH, 1992) 우리 나라에서는 시간가중 평균허용농도로 100 ppm을 기준으로 적용하고 있다(노동부, 1988).

이러한 작업장 공기중의 허용농도에 의존하는 것 이외에 근로자의 개인적 폭로상태를 측정하는 방법으로 생물학적 허용한계치 즉 BEI를 채택하여 개인 폭로를 감시하기도 하는데 톨루엔에서는 톨루엔의 주 대사물질인 뇨중 마노산의 농도를 측정하여 그 지표로 사용하고 있다.

톨루엔의 생물학적 폭로 지표로서 뇨중 마노산은 톨루엔 폭로와 유의한 상관관계가 있는 것으로 나타난 연구결과(박은미 등, 1987; 이성수 등, 1989; 조규상, 1991)들이 있다. 물론 톨루엔 폭로가 주로 호흡기를 통하여 이루어지므로, 폭로 지표를 사용한

생물학적 감시를 위해서는 작업환경 대기 중 톨루엔 농도를 측정하는 것이 우선된다고 하겠다.

Harada(1989)와 Crabb 등(1989)은 ALDH의 활성도에 따라 알코올 대사의 정도가 다르다고 보고하여, ALDH의 activity에 따라 톨루엔 대사 정도에도 차이가 있을 것으로 생각되며 톨루엔 폭로 근로자들의 ALDH2 유전자형을 PCR을 이용하여 genotype 별로 분류하고 뇨중 마노산의 농도를 측정하였을 때 톨루엔의 작업환경 농도와 genotype에 따른 뇨중 마노산 농도와의 사이에 상관관계가 있을 것으로 생각된다.

이 연구에서 개인별 톨루엔 폭로농도가 20 ppm 미만인 군에서 NN형의 뇨중 마노산의 평균농도는 0.28 g/g creatinine인 반면 DD형의 평균 뇨중 마노산 농도는 0.09 g/g creatinine으로 통계적으로 뇨중으로 마노산 배설에 유의한 차이가 있었다. 개인별 톨루엔 폭로농도가 20 ppm이상인 군에서도 NN형 뇨중 마노산의 평균농도는 1.03 g/g creatinine으로 DD형의 평균 뇨중 마노산 농도는 0.55 g/g creatinine보다 높은 배설량을 보였으나, 톨루엔 고폭로군과 DD형의 빈도가 적어 통계적으로 유의하지는 않았다.

Oyama 등(1993)은 톨루엔 폭로농도 37 ppm 이하에서는 폭로군과 비폭로군을 구별한다는 것은 의미가 없으며, 확실히 ALDH2와 톨루엔 대사간의 상관성을 규명하기 위해서는 최소한의 톨루엔 농도가 40 ppm은 넘어야 한다고 주장하였다.

이 연구에서는 톨루엔 폭로농도 20 ppm을 기준으로 하여 20 ppm이하의 톨루엔 저농도 폭로군과 20 ppm 이상의 중농도 이상 폭로군의 유전자형에 따른 뇨중 마노산의 농도와 톨루엔 폭로 간의 상관관계를 분석하였는데 톨루엔 저농도 폭로군의 NN군에서는 뇨중 마노산의 농도와 톨루엔 폭로 간의 상관계수가 0.4576, ND군에서는 0.3926 DD군에서는 0.3543, 전체적으로는 0.4452로 비교적 상관성이 약했으며, 중농도 이상 폭로군에서는 상관계수가 전체적으로 0.8222, NN군에서 0.8426, ND군에서 0.9662, DD군에서 0.7893으로 높은 상관관계를 보여 저농도 톨루엔 농도에서는 뇨중 마노산과의 상관관계가 거의 성립하지 않음을 보여주었다.

Kawamoto 등(1994)의 연구 결과에서는 대상자들의 작업환경 대기중 톨루엔 농도가 높은 군의 수

가 적어 유전자형에 따른 뇨중 마노산 배설량 사이에 통계학적으로 유의한 관련성을 찾기가 힘들다고 보고하여, 대부분의 근로자가 작업환경기준 이하의 톨루엔에서 폭로되는 것으로 나타난 본 조사의 결과를 보아 이 점이 연구에서의 제한점으로 생각되며, 앞으로 진행될 연구에서는 연구 목적에 부합하는 대상자 선별에 중점을 두어야 할 것이다.

또한 마노산은 톨루엔 폭로근로자에서만 배설되는 것이 아니라 톨루엔에 폭로되지 않는 사람에서도 배설될 수 있는데 음식 및 음료수에 포함된 benzoic acid에서도 영향을 받을 수 있다. 이 연구에서는 이러한 문제점을 제거하기 위해 연구대상 선정시 직접 면접을 통하여 뇨중마노산 배설에 영향을 미칠 수 있는 과일이나 음식, 음료를 섭취한 근로자는 대상에서 제외 시켰다.

이 연구에서 산출한 ALDH2의 3가지 유전자형의 회귀식은 NN군이 $y(\text{뇨중마노산농도}) = 0.0085x(\text{톨루엔 폭로농도}) + 0.23$, $r = 0.90$, ND군이 $y = 0.0074x + 0.21$, $r = 0.85$, DD형이 $y = 0.0041x + 0.82$, $r = 0.83$ 으로 DD군의 회귀계수는 NN이나 ND군의 회귀계수보다 유의하게 낮았으며, 이러한 결과를 볼 때 DD군에서 뇨중 마노산 배설량으로 톨루엔 폭로농도를 평가하는 데는 부적합할 것으로 생각된다.

또한 NN, ND, DD군의 세 회귀선에 톨루엔의 TLV-TWA 377 mg/m³을 대입시켜 보면 마노산의 농도는 각각 3.43 g/g creatinine, 3.00 g/g creatinine, 2.37 g/g creatinine으로 NN과 ND군의 마노산의 농도는 ACGIH의 BEI 2.5 g/g creatinine보다 높고 DD군에서는 BEI보다 낮았다.

따라서 ACGIH의 BEI는 NN, ND, DD군의 톨루엔 폭로를 동시에 만족시키기에는 적절하지 못할 것으로 생각되며 ALDH2 불활성유전자형 근로자를 위해서는 새로운 BEI 기준이 요구된다. 연구의 제한점으로 현재 우리나라에 톨루엔에 고농도로 폭로되는 근로자가 많지 않아 대상선정에 어려움이 있었으며, 대상자의 ALDH2 유전자형중 DD형의 빈도가 적어 빈도별로 큰 차이에도 불구하고 통계적으로 유의한 결과가 나오지 않는 경우가 있었다. 해결방안으로는 톨루엔 고농도폭로군을 포함한 대상선정수를 늘릴 수밖에 없으며, 이 연구의 결과를 채용신체 검사나 작업장에 적성배치를 위해서 톨루엔 취급 작

업장에 적용할 때 분자생물학적 기법의 어려움이나 비용문제를 충분히 고려한 지속적인 연구가 시행되어야 할 것으로 본다.

요 약

톨루엔을 취급하는 비디오테이프 제조공장 근로자와 섬유염색공장 근로자 77명을 대상으로 PCR(Polymerase chain reaction)법을 이용하여 우리나라 성인 남자의 ALDH2의 유전자형의 빈도를 조사하고, 작업장내 톨루엔 농도와 ALDH2 유전자형별로 뇨중 마노산의 양을 측정하여 톨루엔 취급 근로자들의 ALDH2 유전자형과 뇨중 마노산 배설량과의 관련성을 조사하였다.

전체 77명의 톨루엔 취급 남자 근로자 중 ALDH2의 유전자형별로 NN군이 45명으로 58.4%를 차지하였으며 ND군이 26명으로 33.8%, DD군이 6명으로 7.8%를 차지 하였다. 대상자 중 음주군과 비음주군 사이에는 유전자형에 따른 유의한 분포의 차이는 없었다.

톨루엔 저농도 폭로군과 중농도 이상 폭로군의 유전자형에 따른 뇨중 마노산의 농도는 톨루엔 저폭로군에서는 NN군에서 0.28 ± 0.16 g/g creatinine으로 DD군에서 0.09 ± 0.09 g/g creatinine보다 통계적으로 유의하게 높았으며 비교적 중농도 이상의 톨루엔 폭로군에서는 NN군에서 1.03 ± 0.61 g/g creatinine로 DD군의 0.55 ± 0.56 g/g creatinine보다 높았다.

ALDH2 유전자형별 회귀식의 회귀계수는 NN형이 0.0085, ND형이 0.0074, DD형이 0.0041로 DD군의 회귀계수는 NN이나 ND군의 회귀계수보다 낮았으며, 이러한 결과를 볼 때 DD군에서 뇨중 마노산 배설량으로 톨루엔 폭로농도를 평가하는 데는 부적합하다고 할 수 있다.

톨루엔 취급 근로자들에서 ALDH2의 유전자형에 따라 서로 다른 정도의 증상 및 장애를 보일 수 있는데 현재 우리나라에서 시행하고 있는 톨루엔 개인 폭로량의 허용폭로기준인 뇨중 마노산 농도 BEI 2.5 g/g creatinine을 톨루엔 취급근로자에게 일률적으로 적용한다면 ALDH2 유전자가 DD형인 근로자에 있어서는 실제 톨루엔폭로량보다 낮게 평가될 수 있으므로 새로운 BEI 설정이 요망된다.

REFERENCES

- 노동부. 유해물질의 허용농도 및 작업환경측정법. 노동부고시 제 88-69호. 서울, 1988.
- 박은미, 노재훈, 문영한. 톨루엔에 폭로된 근로자의 뇨 중 마노산량에 관한연구. 예방의학회지 1987;20(2):228-235.
- 이성수, 안규동, 이병국, 남택승. 톨루엔 사용 근로자의 폭로량과 요중 마노산 배설량. 예방의학회지 1989;22(4):480-485.
- 조규상. 산업보건학. 서울 : 수문사, 1991.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 1992-1993 Threshold Limite Values for Chemical Substance and Physical Agents and Biological Exposure Indeces. ACGIH Inc, 1992.
- Chao YC, Liou SR, Chung YY, Tang HS, Hsu CT, Li TK, Yin SJ. Polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenase genes and alcoholic cirrhosis in Chinese patients. Hepatology 1994;19:360-266.
- Chen SH, Zhang M, Wang NS, Scott CR. Gene frequencies of alcohol dehydrogenase2 (ADH2) and aldehyde dehydrogenase2(ALDH2) in five Chinese minorities. Hum Genet 1994;94:571-572.
- Crabb DW, Edenberg HJ, Bosron WF, Li TK. Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity. J. Clin. Invest 1989;83:314-316.
- Goedde HW, Agarwal DP, Fritze G, Tackmann DM, Singh S, Beckmann G, Bhatia K, Chen LZ, Fang B, Lisker R, Paik YK, Rothhammer F, Saha N, Segal B, Srivastava LM, Czeizel A. Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different populations. Hum Genet 1992;88:344-346.
- Harada S. Polymorphism of aldehyde dehydrogenase and its application to alcoholism. Electrophoresis 1989;10:652-655.
- Hsu LC, Tani K, Fujiyoshi T, Kurachi K, Yoshida A. Cloning of cDNAs for human aldehyde dehydrogenases 1 and 2. Proc Nalt Acad Sci 1985;82:3771-3775.
- Kawamoto T, Koga M, Murata K, Matsuda S, Kodama Y. Effect of ALDH2, CYP1A1, and CYP2E1 genetic polymorphisms and smoking and Drinking habits on toluene metabolism in humans. Toxicol. Appl. Pharmacol 1995;133:295-304.
- Kawamoto T, Matsuno K, Kodama Y, Murata K, Matsuda S. ALDH2 Polymorphism and Biological Monitoring of Toluene. Arch Environ Health 1994; 49(5):332-336.
- Kawamoto T, Murata K, Koga M, Hattori Y, Kodama Y. Distribution of hippuric acid concentrations by ALDH2 genotype. Occup Environ Med 1994;51:817-821.
- Muramatsu T, Cheng WZ, Ru FY, Bao HK, Heqin Y, Yamada K, Higuchi S, Harada S, Kono H. Alcohol and aldehyde dehydrogenase genotypes and drinking behavior of Chinese living in Shanghai. Hum Genet 1995;96:151-154.
- Oyama T, Hattori Y, Kodama Y. Biologic monitoring of toluene and DNA polymorphism in humans. Int Arch Occup Environ Health 1993;65(1 suppl):s131- s133.
- Poctor NH, Hughes JP, Fischman ML. Chemical hazards of the workplace. Philadelphia : J.B. Lippincott Company, 1988.
- Sullivan JB, Krieger GR. Hazardous materials toxicology. Clinical Principles of Environmental Health. Baltimore : Williams & Wilkins, 1992.
- Tanaka F, Shiratori Y, Yokosuka O, Imazeki F, Tsukada Y, Omata M. High incidence of ADH2*1/ALDH2*1 genes among Japanese alcohol dependents and patients with alcoholic liver disease. Hepatology 1996;23:234-239.
- Ukai H, Watanabe T, Nakatsuka H, Satoh T, Liu SJ, Qiao X, Yin H, Jin C, Li GL, Ikeda M. Dose-dependent increase in subjective symptoms among toluene-exposed workers. Environ Res 1993;60(2):274-289.
- Yoshida A, Wang G, Dave V : Determination of Genotypes of human aldehyde dehydrogenase ALDH2 locus. Am J Hum Genet 1983;35:1107-1116.
- Zenz C, Dickerson OB, Horvath EP. Occupational medicine. St. Louis : Mosby, 1994.