

## [원저]

# PON1과 ALDH2 유전자 다형성에 따른 요중 페놀농도와 요중 TBARS농도 사이의 관련성

이철호<sup>1</sup>, 유승도<sup>1</sup>, 엄상용<sup>2</sup>, 김용대<sup>2</sup>, 김 현<sup>2</sup>국립환경과학원 환경건강연구부 환경역학과<sup>1</sup>, 충북대학교 의과대학 예방의학교실<sup>2</sup>

## - 요약 -

연구배경	직업적 벤젠 노출이 없는 일반인에서 요중 페놀 농도와 지질과산화 정도 사이의 관련성을 평가하며, 이러한 관련성이 ALDH2와 PON1 유전자 다형성에 따라 달라지는가를 평가하기 위하여 본 연구를 시행하였다.
방 법	직업적 벤젠 노출력이 없는 155명에 대하여 흡연 여부를 확인하고, 요중 페놀 농도와 요중 thiobarbituric acid reactive substances(이하 TBARS)의 농도를 측정하였으며, ALDH2 및 PON1 유전자 다형성을 조사하였다. 요중 페놀과 TBARS 농도의 자연대수값 사이의 관련성을 상관분석으로 평가하고, 이를 ALDH2와 PON1 유전자형에 따라 반복하였다.
결 과	대상자의 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도는 여자가 남자보다 높았으나, 흡연 유무, ALDH2 유전자형, PON1 유전자형에 따라서는 유의한 차이를 보이지 않았다. 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도의 자연대수값 사이에는 유의한 관련성이 있었다. 남자, 비흡연자, ALDH2 *1/*1 유전자형, PON1 Q/R 유전자형, 그리고 특히 ALDH2 *1/*1형이며 PON1 Q/Q 혹은 Q/R 유전자형인 군에서 두 변수간의 상관관계가 유의하였다.
결 론	요중 페놀 농도가 증가함에 따라 지질과산화가 더 심해지며, 이러한 효과는 ALDH2 *1/*1유전자형과 PON1 유전자 Q 대립 유전자를 가지고 있는 사람에서 더 두드러지게 나타난다. (대한임상건강증진학회지 2008;8(2):108~116)
중심단어	페놀, TBARS, ALDH2, PON1

## 서 론

벤젠은 화학물질 제조나 정유 산업 등에서 직업적으로 노출될 수 있지만, 자동차 배기 가스나 담배 연기, 그리고 심지어는 음식물 등에도 함유되어 있어서 비직업적으로도 쉽게 노출된다. 이 벤젠은 골수 기능 저하, 재생불량성 빈혈, 골수형 백혈병 등을 유발하므로, IARC에서는 Group 1 발암물질로 분류하고 있다.<sup>1)</sup> 체내에 흡수된 벤젠은 일차적으로 간에서 제 1상 및 제 2상 효소에 의하여, benzene epoxide를 거쳐 페놀로 대사되어 glucuronide등이 접합되어 소변으로 배설되거나, t,t-muconaldehyde를 거쳐서 고리가 열린 다음 뮤

콘산(t,t-muconic acid) 형태로 소변으로 배설된다. 소변으로는 페놀(13~50%) 형태로 가장 많이 배설되며, 그 다음이 뮤콘산 (2~25%), 1,4-benzoquinone(5%), catechol(1.3~1.6%), S-phenylmercapturic acid(0.5%), 1,2,4-trihydroxybenzene등의 순서로 배설량이 많다.<sup>2)</sup> 이러한 이유 때문에 소변중의 페놀이나 뮤콘산, 그리고 S-phenylmercapturic acid 농도를 측정하는 방법으로 벤젠노출을 평가하는 생물학적 모니터링 방법이 널리 사용되고 있다. 이 가운데 페놀은 소변중에 존재하는 벤젠 대사물질 가운데 가장 농도가 높으며, 요중 뮤콘산이나 S-phenylmercapturic acid보다 측정이 용이하므로 벤젠 노출 평가지표로 널리 사용하고 있다.

벤젠과 그 대사 산물은 세포 내에서 산소유리기(reactive oxygen species)를 생성하거나, DNA/RNA/protein adducts를 생성한다.<sup>3)</sup> 산소유리기는 반응성이 매우 높아서 세포 내에 존재하는 DNA와 반응하여 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OH-dG) 등의 DNA adduct를 생성하게 되고 이것은 DNA의 복제과정 중에

\* 이 논문은 2006학년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의하여 연구되었음.

• 교신저자 : 김 현 충북대학교 의과대학 예방의학교실

• 주 소 : 충북 청주시 흥덕구 개신동 12번지

• 전 화 : 043-261-2864

• E-mail : kimheon@cbu.ac.kr

• 접수 일 : 2008년 4월 4일

• 채 택 일 : 2008년 6월 23일

각종 돌연변이를 유발하는 원인이 되는 것으로 알려져 있다.<sup>4)</sup> 벤젠은 인체에 산화적 스트레스(oxidative stress)를 가하여 DNA, 단백질, 지질 등의 생체물질에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.<sup>5-6)</sup> 특히, 지질은 산화적 스트레스를 받으면 불포화 지방산(polyunsaturated fatty acid)이 과산화되어 세포막의 유동성이 감소되며, 이때 생성된 여러 가지 부산물이 돌연변이를 유발하거나 효소의 활성을 억제하고, 단백질이나 핵산 등과 cross-link를 이루기도 한다.<sup>7)</sup> 특히 벤젠은 지용성이 강하여 지질성분이 많은 생체막에서 영향을 나타낼 가능성이 높다. 그러므로, 생체막의 손상지표인 malondialdehyde(MDA)가 8-hydroxydeoxyguanosine이나 comet assay의 oligo tail moment 등의 다른 산화적 손상 지표에 비하여 톨루엔과 PAH에 의한 산화적 손상의 지표로서 더 적절한 것으로 판단된다.<sup>8)</sup> 본 연구에서는 MDA의 생성량을 반영하는 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)의 양을 측정하여 산화적 손상 정도의 지표로 사용하였다.

Aldehyde dehydrogenase 2(이하 ALDH2) 효소는 알코올이 대사되어 생성되는 아세트알데히드를 초산으로 바꿔주는 작용을 하는 효소로서 벤젠이나 톨루엔 등의 유기물질 대사에도 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>9)</sup> 동량의 벤젠을 ALDH2 wild-type 생쥐와, ALDH2 효소를 발현하지 못하는 ALDH2 knock-out 생쥐에게 투여한 결과 ALDH2 knock-out 생쥐에서는 벤젠이 페놀과 hydroquinone, 그리고 무콘산으로 더 많이 대사되었으며 벤젠에 의한 산화적 손상이 덜 심하게 나타났다.<sup>10)</sup> 이는, 사람의 ALDH2 유전자형에 따라서 인체내 벤젠 대사경로가 변화될 수 있으며, 그 결과로 동일한 농도의 벤젠에 노출되어도 그에 의하여 나타나는 산화적 손상 정도는 ALDH2 유전자형에 따라 다를 수 있음을 나타내는 것이다.

Paraoxonase-1(이하 PON1)은 유기인제 화합물의 독성제거와 지질 과산화에 관여하는 효소로서, 산소유리기(reactive oxygen species, 이하 ROS)에 의한 손상을 복구하는 과정에 작용하는 효소 가운데 하나이다.<sup>11-12)</sup> PON1은 벤젠과 같은 유기용제의 표적장기 가운데 하나인 뇌에서도 발현되며<sup>13)</sup>, 농약 대사와 무관하게 산화적 스트레스를 완화시킬 수 있고, 그 기능이 저하된 경우에는 혈청이나 대식세포의 산화적 스트레스가 증가한다.<sup>11)</sup> 그러므로 PON1의 유전자 다형성에 의해서 벤젠에 의한 산화적 스트레스의 정도에 차이가 있을 가능성이 높다.

저자 등은 직업적 노출이 없는 일반인을 대상으로, 요중 페놀 농도와, 지질과산화 지표인 요중 TBARS 농도를 측정하여, 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도 사이의 관련성을 평가하며, 이러한 관련성이 ALDH2와 PON1 유전자 다형성에 따라 달라지는가를 평가하기 위하여 본 연구를 시행하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구대상자

연구 대상자는 2006년 3월 1일부터 2006년 10월 31일 사이에 충북대학교병원에 건강검진을 위하여 내원한 사람 가운데, 유의한 벤젠 노출이 있을 것으로 판단되는 직업에 종사하지 않았으며, 본 연구의 취지에 대한 설명을 듣고 연구 대상으로 참여하여 혈액과 소변을 제공하는 것을 허락한 사람으로 하였다.

대상자는 모두 155명이며 이 가운데 남자가 89 명이었고 여자는 66명 이었다. 대상자 연령의 평균±표준편차는 65.6±9.9세였다(표 1). 음주빈도는 비음주가 46.8%로 가장 많았으며, 한 달에 두세번이 그 다음으로 많았다. 흡연률은 50.3%였다. 만성기관지염, 기관지천식, 폐기종, 석면폐증, 진폐증, 폐결핵 등을 포함하는 만성폐질환을 앓고 있는 사람은 16명으로 전체의 10.3%에 해당하였으며, 심장질환을 앓고 있는 사람은 11.0%였다. 고혈압이 있다고 응답한 사람은 56명으로 36.1%에 해당하였다.

Table 1. General characteristics of subjects included in the study

Variable	Group	Number (%)
Gender	Males	89 (57.4)
	Females	66 (42.6)
Age	< 50	7 ( 4.5)
	50- 59	32 (20.7)
	60- 69	68 (43.9)
	≥70	48 (30.9)
	Mean ± S.D. <sup>1)</sup>	65.6 ± 9.9
Drinking frequency	Not drinking	72 (46.8)
	2 - 3 times/month	57 (37.0)
	1 - 2 times/week	7 ( 4.5)
	3 - 4 times/week	4 ( 2.6)
	Almost everyday	14 ( 9.1)
Smoking status	Smokers	78 (50.3)
	Non-smokers	76 (49.0)
Chronic lung diseases	Yes	16 (10.3)
	No	139 (89.7)
Heart diseases	Yes	17 (11.0)
	No	138 (89.0)
Hypertension	Yes	56 (36.1)
	No	99 (63.9)

<sup>1)</sup> Standard deviation

### 2. 조사방법

구조화된 설문지를 이용하여 흡연에 대한 정보를 확인하였다. 모든 대상자들로부터 상지 정맥에서 혈액을 채취하여

EDTA로 처리하고 분석전까지 영하 70도에 보관하였으며, 일회용을 수집하여, 50 ml 폴리프로필렌 튜브에 옮겨 담아 분석전까지 영하 20도에서 보관하였다.

### 3. 요중 페놀의 측정

대상자의 요중 페놀 농도를 HPLC를 이용하여 측정하였다. 대상자의 소변에 2 N sodium acetate 완충액을 가해 pH를 5.0으로 맞춘 후  $\beta$ -glucuronidase/sulfatase(3216 unit: 135 unit)로 처리하고 37°C에서 16시간 반응시켰다. 반응이 끝난 시료는 10,000 g에서 10분 동안 원심 분리하여 상등액 50  $\mu$ l를 주입하였다. 소변 시료 및 표준시료의 분석은 펌프(Hitachi L2130, Tokyo, Japan)와 형광검출기(L7485 모델, Hitachi), 그리고 자동시료주입기(L-7200 모델, Hitachi), 자료처리장치(Autochro-2000 모델, Younglin, Seoul, Korea)로 구성된 HPLC를 사용하여 분석하였다.

요중 페놀 농도 측정에는 250 mm $\times$ 4.6 mm J'sphere ODS-H80 역상 컬럼(YMC, Wilmington, USA)을 사용하였으며, 이동상은 20% acetonitrile을 사용하여 분당 1 ml의 속도로 흘려주었다. 형광검출기의 파장은 excitation 239 nm, emission 299 nm를 사용하였다.

### 4. 요중 TBARS 분석

대상자의 요중 TBARS 농도는 Chen 등<sup>14)</sup>의 방법을 약간 변형하여 HPLC를 이용해 측정하였다. 소변 50  $\mu$ l를 따서 여기에 0.05% butylated hydroxytoluene(BHT) 50  $\mu$ l와 0.1125 N nitric acid (HNO<sub>3</sub>) 150 $\mu$ l, 그리고 42 mM thiobarbituric acid(TBA) 150  $\mu$ l를 첨가하여 10초간 잘 섞은 후, 이 혼합물을 95°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 얼음물에 담가 5분간 냉각시켰다. n-Butanol 300  $\mu$ l를 첨가하여 10초 동안 잘 섞은 다음 5분 동안 10,000 g에서 원심분리 후 상등액 10  $\mu$ l를 HPLC에 주입하였다. 소변 시료 및 표준시료의 분석은 펌프(Younglin Lsp 930)와 형광검출기(RF-10AxL, Shimadzu, Kyoto, Japan), 그리고 자동시료주입기(SIL 10Avp, Shimadzu), 자료처리장치(Autochro-2000, Younglin)로 구성된 HPLC를 사용하여 분석하였다. 컬럼은 150 mm $\times$ 4.6 mm TSK Gel ODS-80TM 역상 컬럼(Tosoh, Tokyo, Japan)을 사용하였으며, 이동상은 potassium dihydrogen phosphate(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 완충액-methanol-acetonitrile(60:25:15, v/v/v)을 사용하여 분당 1 ml의 속도로 흘려주었다. 형광검출기의 파장은 excitation 515 nm, 그리고 emission 553 nm를 사용하였다. TBARS 농도는 산가수분해된 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)의 표준곡선으로부

터 결정하였다. 표준곡선은 각각의 농도(10.0과 5.0, 2.5, 1, 0.5  $\mu$ M 그리고 blank)로 희석된 TMP 표준액을 95°C에서 30분 동안 반응시켜 구하였다. 이 방법의 TBARS 검출한계는 0.07 nM/ml였다. 분석된 요중 TBARS 농도는 요중 creatinine 농도로 보정하였다.

### 5. ALDH2 및 PON1 유전자 다형성 분석

환자군과 대조군의 혈액을 EDTA 튜브에 5 ml 정도 채취하여 보관하였다. 대상자 전부에서 채취한 정맥혈에서 DNA Extractor WB Kit(Wako, Japan)를 이용하여 DNA를 추출한 후 이것을 중합효소 연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)의 주형으로 이용하였다.

ALDH2와 PON1 유전자 다형성 분석은 실시간 유전자 증폭기(iCycler iQ™ multicolor Real-Time PCR, Bio-rad, USA)를 이용한 5'-nuclease activity 방법을 이용하였다. ALDH2 유전자의 시발체 염기서열은 Fw: 5'-CGG GAG TTG GGC GAG TAC -3'과 Rev: 5'-AGG TCC CAC ACT CAC AGT TTT C-3', 형광 탐침자(Taqman probe)는 VIC -CAG GCA TAC ACT GAA GT-NFQ(\*1 대립유전자)와 FAM-CAG GCA TAC ACT AAA GT-NFQ(\*2 대립유전자)를 사용하였고, PON1 유전자 시발체는 Fw: 5'-CTG AGC ACT TTT ATG GCA CAA ATG A-3'과 Rev: 5'-ACC ACG CTA AAC CCA AAT ACA TCT C-3', 형광탐침자는 5'-VIC-CCT ACT TAC AAT CCT G-NFQ-3'(Q 대립유전자)와 5'-FAM-CCC TAC TTA CGA TCC TG-NFQ-3'(R 대립유전자)를 이용하였다. PCR 반응액은 추출한 DNA 20 ng, 2X TaqMan Universal Master Mix(Applied Biosystems, Foster, USA) 7.5  $\mu$ l, 시발체 10 pmol, 형광 탐침자 2.5  $\mu$ mol을 섞어 총 용량이 15 $\mu$ l가 되도록 만들었으며, 이것을 iCycler iQ Real-time PCR Thermal Cycler (BIO-RAD, USA)로 92°C에서 10분, 95°C에서 15초, 60°C에서 60초로 하여 40회 반응시키면서 형광 탐침자에 해당하는 형광값을 이용하여 유전자형을 분석하였다. 증폭결과는 iCycler iQ Ver 3.1 (BIO-RAD, USA) 프로그램을 이용해 확인하였다.

### 6. 자료처리 및 통계분석

자료입력과 정리에는 Microsoft Excel for Windows를 사용하였고, 통계분석에는 SPSS V.10.0을 이용하여 시행하였다. 크레아티닌으로 보정한 요중 페놀과 TBARS 농도의 기하평균과 기하표준편차, 그리고 산술평균과 산술표준편차를 구하고, 성별, 흡연 여부, ALDH2 유전자형, PON1 유전자형 등에 따

로서 Student t-test, ANOVA, Kruskal-Wallis test 등의 방법을 이용하여 평균치를 비교하였다. 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도는 우편향분포를 하고 있으므로, 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도의 자연대수값을 구하고, 이들 사이의 Pearson 상관분석을 시행하여 두 변수 사이의 관련성을 평가하였다. 또한, ALDH2 유전자형과 PON1 유전자형에 따른 두 변수 사이의 관련성을 평가하기 위해서 상관분석을 시행하였다. 이때 상관계수는 전체 대상자와 남성 및 여성 대상자에 각각에 대한, 연령의 영향을 보정한 편상관계수를 제시하였다.

## 결 과

### 1. 요중 페놀 농도 분포

대상자의 요중 페놀농도의 기하평균(기하표준편차)은 3.85 (2.36) mmol/mol creatinine이었다. 성별에 따른 기하평균(기하표준편차) 농도는 남자 2.70(3.07) mmol/mol creatinine, 여자 4.60(2.20) mmol/mol creatinine 으로 여자가 남자에 비하여 통계적으로 유의하게 높았다( $p$ -value<0.05). 흡연여부에 따른 요중 페놀농도 비교결과, 현재 흡연자가 3.85(2.36) mmol/mol creatinine 로 현재 비흡연자의 2.96(3.21) mmol/mol creatinine에 비하여 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 요중 페놀농도의 평균값은 ALDH2 유전자형이나 PON1 유전자형에 따라서 유의한 차이를 보이지 않았다(표 2).

**Table 2.** Urinary phenol concentrations according to gender, smoking status and ALDH2 and PON1 genotypes

Variable	Group	Number	Mean and standard deviation (mmol/mol creatinine)		p-value
			GM <sup>1)</sup> (GSD <sup>2)</sup>	AM <sup>3)</sup> ±ASD <sup>4)</sup>	
All subjects		155	3.85 (2.36)	5.09 ± 4.21	
Gender	Males	89	2.70 (3.07)	4.47 ± 4.28	0.032
	Females	66	4.60 (2.20)	5.93 ± 3.98	
Smoking status	Smokers	78	3.85 (2.36)	5.19 ± 3.77	NS
	Non-smokers	76	2.96 (3.21)	5.41 ± 4.55	
ALDH2 genotype	*1/*1	107	3.25 (2.92)	4.98 ± 4.05	NS
	*1/*2	43	4.06 (2.49)	5.72 ± 4.67	
	*2/*2	5	1.78 (2.02)	2.17 ± 1.52	
PON1 genotype	Q/Q	17	4.18 (2.19)	5.47 ± 3.93	NS
	Q/R	68	3.35 (2.81)	5.20 ± 4.66	
	R/R	70	3.26 (2.93)	4.90 ± 3.84	

<sup>1)</sup> Geometric mean

<sup>2)</sup> Geometric standard deviation

<sup>3)</sup> Arithmetic mean

<sup>4)</sup> Arithmetic standard deviation

### 2. 요중 TBARS 농도 분포

전체 대상자의 요중 TBARS 농도의 기하평균(기하표준편차)은 1.77(2.09)  $\mu$ mol/g creatinine 이었으며, 여자의 요중 TBARS 평균농도는 2.17(2.14)  $\mu$ mol/g creatinine으로 남자의 1.53(1.99)  $\mu$ mol/g creatinine에 비하여 통계적으로 유의하게 높았다( $p$ -value<0.01). 현재 흡연자의 요중 TBARS 농도의 기하평균(기하표준편차)은 1.93(2.13)  $\mu$ mol/g creatinine으로 비흡연자의 해당값인 1.64(2.03)  $\mu$ mol/g creatinine과 유의한 차이를 보이지 않았다. ALDH2 유전자형이나 PON1 유전자형에 따라서도 요중 TBARS농도의 평균값은 유의한 차이를 보이지 않았다(표 3).

**Table 3.** Urinary TBARS concentrations according to gender, smoking status and ALDH2 and PON1 genotypes

Variable	Group	Number	Mean and standard deviation ( $\mu$ mol/g creatinine)		p-value
			GM <sup>1)</sup> (GSD <sup>2)</sup>	AM <sup>3)</sup> ±ASD <sup>4)</sup>	
All subjects		155	1.77 (2.09)	2.32 ± 2.04	
Gender	Males	89	1.53 (1.99)	1.91 ± 1.48	0.007
	Females	66	2.17 (2.14)	2.88 ± 2.52	
Smoking status	Smokers	78	1.93 (2.13)	2.59 ± 2.38	NS
	Non-smokers	76	1.64 (2.03)	2.07 ± 1.60	
ALDH2 genotype	*1/*1	107	1.71 (2.02)	2.18 ± 1.68	NS
	*1/*2	43	1.91 (2.34)	2.72 ± 2.81	
	*2/*2	5	1.98 (1.34)	2.04 ± 0.54	
PON1 genotype	Q/Q	17	1.42 (2.61)	2.16 ± 2.28	NS
	Q/R	68	1.81 (2.22)	2.53 ± 2.56	
	R/R	70	1.83 (1.83)	2.17 ± 1.28	

<sup>1)</sup> Geometric mean

<sup>2)</sup> Geometric standard deviation

<sup>3)</sup> Arithmetic mean

<sup>4)</sup> Arithmetic standard deviation

### 3. 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도 사이의 상관관계

전체 대상자의 요중 페놀 농도의 자연대수값과 요중 TBARS 농도의 자연대수값 사이의 관련성을 상관분석을 이용하여 비교한 결과, Pearson 상관계수가 0.224로 통계적으로 유의하였다( $p$ -value=0.05). 두 자연대수값 사이의 상관관계를 성별로 나누어 통계적 검정을 시행한 경우에 남자에서는 상관계수가 0.208로 경계적 유의성을 보였으나, 여자에서는 유의하지 않았다. 흡연자에서는 두 자연대수값 사이에 유의한 상관관계를 발견할 수 없었으나, 비흡연자에서 Pearson 상관계수가 0.256으로 통계적으로 유의하였다( $p$ -value<0.05).

ALDH2 유전자형에 따라서 대상자를 나누어 두 자연대수값

**Table 4.** Correlations between ln(urinary phenol concentration) and ln(urinary TBARS concentration) according to gender, smoking status and ALDH2 and PON1 genotypes

Variable	Group	Number	Correlation coefficient	p-value
All subjects		155	0.224	0.005
Gender	Males	89	0.208	0.050
	Females	66	0.124	NS
Smoking status	Smokers	78	0.164	NS
	Non-smokers	76	0.256	0.025
ALDH2 genotype	*1/*1	107	0.197	0.042
	*1/*2	43	0.284	NS
	*2/*2	5	0.875	0.052
PON1 genotype	Q/Q	17	0.263	NS
	Q/R	68	0.440	0.000
	R/R	70	-0.012	NS

사이의 관련성을 비교한 경우에는 ALDH2 \*1/\*1 유전자형에서 상관계수가 0.197로 유의하였으며( $p$ -value<0.05), ALDH2 \*2/\*2 유전자형에서 상관계수가 0.875로 경계적 유의성을 나타냈다( $p$ -value=0.052). PON1 유전자형에 따라 나누어 시행한 상관분석에서는 PON1 Q/R 유전자형에서 요중 페놀 농도의 자연대수값과 요중 TBARS 농도의 자연대수값 사이의 상관계수가 0.440이었으며 통계적 유의성을 보였다( $p$ -value<0.01, 표 4).

#### 4. ALDH2유전자형과 PON1 유전자형의 상호작용

우리나라 사람들의 ALDH2 유전자형 중에는 \*1/\*1 유전자형이 가장 빈도가 높으며, 이 유전자형을 가진 사람과 \*1/\*2 혹은 \*2/\*2 유전자형을 가진 사람들에 비하여 ALDH2 활성이 유의하게 높고, 본 연구의 결과에서 ALDH2 \*1/\*1 유전자형을 가진 사람에서 요중 페놀 농도의 자연대수값과 요중 TBARS 농도의 자연대수값이 유의한 상관관계를 보여주었으므로, ALDH2 \*1/\*1 유전자형에서 다른 유전자형에 비하여 벤젠노출에 의한 ROS 증가가 더 현저하게 나타날 것으로 판단된다. 또, PON1 유전자의 Q 대립유전자가 R 대립유전자에 비하여 효소 활성이 낮으므로, Q 대립유전자를 가진 사람은 흡연이나 대기오염물질 노출에 의한 독성을 효과적으로 제거하지 못하여 체내 ROS의 생성이 증가할 수 있다. 그러므로, 두 유전자 유전자형의 조합을 벤젠에 의한 ROS 생성 수준을 근거로 나누어 본다면, ALDH2 \*1/\*1 유전자형과 PON1 Q/Q 혹은 Q/R 유전자형을 동시에 보유하고 있는 사람이 동일한 양의 벤젠 노출에 의하여 생성되는 ROS 수준이 가장 높고, ALDH2 \*1/\*1 유전자형이나 PON1 Q/Q 혹은 Q/R 유전자형 둘 중 하나만을 가지고 있는 사람이 그 다음으로

**Table 5.** Correlations between ln(urinary phenol concentration) and ln(urinary TBARS concentration) according to combination genotype of the ALDH2 and PON1 genes

Genotype	Correlation coefficient <sup>1)</sup> (Number)		
	All	Males	Females
ALDH2 *1/*1 genotype and PON1 Q/Q or Q/R genotype	0.408 <sup>2)</sup> (57)	0.377 <sup>3)</sup> (34)	0.239 (23)
ALDH2 *1/*1 genotype or PON1 Q/Q or Q/R genotype	0.047 (78)	0.066 (43)	-0.155 (35)
ALDH2 *1/*2 or *1/*2 genotype and PON1 R/R genotype	0.228 (20)	-0.129 (12)	0.287 ( 8)

<sup>1)</sup> Partial correlation coefficients adjusted for age.

<sup>2)</sup> p-value < 0.01

<sup>3)</sup> p-value < 0.05

높으며, 두 가지 유전자형 어느 것도 가지고 있지 않은 사람이 가장 낮은 수준일 것으로 예측할 수 있다. 이에 본 연구에서는 ALDH2 유전자형과 PON1 유전자형의 상호작용이 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도 사이의 상관관계에 미치는 영향을 평가하기 위하여 전체 대상자를 1) ALDH2 \*1/\*1형이며, PON1 Q/Q 혹은 Q/R 유전자형인 사람과 2) ALDH2 \*1/\*1형이거나, PON1 Q/Q 혹은 Q/R 유전자형인 사람, 그리고 3) ALDH2 \*1/\*2 혹은 \*1/\*2형이며, PON1 R/R 유전자형인 사람의 세군으로 나누어 상관분석을 시행하였다. 그 결과, ALDH2 \*1/\*1형이며 PON1 Q/Q 혹은 Q/R 유전자형인 군에서 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도 사이의 상관계수가 0.408로 통계적으로 유의하였으며( $p$ -value<0.01), 이러한 결과는 특히 남성에서 두드러지게 나타났다(상관계수=0.377,  $p$ -value<0.01). ALDH2 \*1/\*1형이거나 PON1 Q/Q 혹은 Q/R 유전자형인 군이나 ALDH2 \*1/\*2 혹은 \*1/\*2형이며 PON1 R/R 유전자형 군에서는 전체 대상자 뿐 아니라, 남성 및 여성 대상자에서도 유의한 상관관계를 확인할 수 없었다(표 5).

## 고 찰

본 연구에서는 벤젠에 대한 노출 수준을 알아보기 위하여 요중 페놀농도를 측정하였다. 2005년도 노동부의 조사결과<sup>15)</sup>에 따르면, 벤젠 취급 근로자의 요중 페놀 농도의 산술평균은 12.648 mmol/mol creatinine이고 기하평균은 9.587 mmol/mol creatinine 이었는데, 본 연구의 전체 대상자의 산술평균(5.09 mmol/mol creatinine)과 기하평균(3.85 mmol/mol creatinine)은 벤젠취급 근로자의 해당값의 반에도 미치지 못하는 값이다. 그러나 프랑스의 직업적 벤젠노출이 없는 대조군의 산술평균(3.97 mmol/

mol creatinine) 값<sup>16)</sup>에 비하면 약간 높은 값이다. 요중 페놀 농도의 단위를  $\mu\text{mol/L}$ 로 환산하면, 남자는  $34.91 \mu\text{mol/L}$ , 여자는  $34.69 \mu\text{mol/L}$ 에 해당하는데, 이 값은 직업적 벤젠노출이 없는 중국인 남녀의 중앙값인  $61.4 \mu\text{mol/L}$ 와  $53.2 \mu\text{mol/L}$ 에 비하면 상대적으로 낮은 값이다.<sup>17)</sup> 본 연구에서 여성이 남성에 비하여 요중 페놀 농도가 높았는데( $p\text{-value}<0.05$ ), 이 결과는 여성의 경우 남성과는 다른 벤젠 노출원이 존재할 가능성을 시사하는 것이다. 화장품이나 향수 등에 휘발성 유기화합물이 사용될 수 있으므로, 이에 의해서 여성이 남성보다 벤젠에 더 많이 노출되었을 가능성이 있다. 그러나, 벤젠 대사가 남녀 사이에 차이가 있기 때문에 비슷한 양의 벤젠에 노출되었다고 하더라도 여성에서 페놀로 더 많이 대사되어 나타난 결과일 수도 있다.

요중TBARS 농도의 기하평균은 남자( $1.53 \mu\text{mol/g creatinine}$ )에 비하여 여자( $2.17 \mu\text{mol/g creatinine}$ )에서 더 높게 관찰되었다( $p\text{-value}<0.01$ ). 전체 대상자의 요중 TBARS 농도의 기하평균인  $1.77 \mu\text{mol/g creatinine}$ 은 Kim 등<sup>18)</sup>이 보고한 한국인 임산부에서의 농도( $1.67 \mu\text{mol/g creatinine}$ )와 비슷한 값이지만, 김대선 등<sup>19)</sup>이 보고한 농촌지역 성인의 요중 TBARS 농도의 기하평균인  $1.18 \mu\text{mol/g creatinine}$ 이나, 포르투갈인의  $0.81 \mu\text{mol/g creatinine}$ <sup>20)</sup>에 비해서는 높은 것이다. 또한, 전체 대상자의 요중 TBARS 농도의 기하평균을 mol/mol creatinine 단위로 나타낸 값( $200.57 \text{ mol/mol creatinine}$ )은 임종한 등의 연구에서 나타난, 인근에 소각장 및 공단이 없는 대조군 지역주민의 기하평균( $126.5 \text{ mol/mol creatinine}$ )보다는 높은 값이지만, 산업폐기물 소각장 주변 지역주민의 기하평균( $268.5 \text{ mol/mol creatinine}$ )에 비하여는 낮은 수준이었다.<sup>21)</sup> Jacob 등<sup>22)</sup>과 Agarwal 등<sup>23)</sup>은 요중 TBARS 농도가 흡연과 관련이 있는 것으로 보고하였는데, 본 연구에서 현재의 흡연하고 있는 사람의 요중 TBARS 농도가 비흡연자에 비하여 높은 편이었으나, 통계적으로 유의한 차이를 보이는 것은 아니었다.

ALDH2 \*2/\*2 유전자형을 가진 사람은 ALDH2 활성이 낮은 상태이다. 비록 통계적으로 유의하지는 않았으나, ALDH2 \*2/\*2 유전자형을 가진 사람들의 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도는 다른 ALDH2 유전자형을 가진 사람에 비하여 낮은 경향을 보였다. 이러한 결과는 ALDH2 knock-out 생쥐에서 벤젠에 의한 산화적 손상이 덜 심하게 나타났다는 결과<sup>10)</sup>와 일치하는 것이다. 특기할 점은 ALDH2 \*2/\*2 유전자형을 가진 사람에서 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도사이의 상관계수가 0.875로 매우 높고, 경계적 유의성을 보였다. 다만, 본 연구에서 ALDH2 \*2/\*2 유전자형을 가진 대상자가 5명에 불과하여 산출된 통계치의 신뢰구간이 넓은 양상을 보였다.

비록 통계적으로 유의하지 않았으나 ALDH2 \*2/\*2 유전자

형을 가진 대상자들의 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도가 다른 두 유전자형을 가진 사람들에 비하여 상대적으로 낮으며, 두 농도의 자연대수값 사이의 상관계수가 큰 것은, 페놀로 대사되는 화학물질에 대한 노출 정도의 분포가 비슷하다고 가정할 때, ALDH2 \*2/\*2 유전자형을 가진 사람에서는 대사에 의한 페놀 생성량이 적고, 지질과산화 정도도 낮으나, 생성되는 페놀량이 증가하면 이에 비례하여 지질과산화가 증가한다고 해석할 수 있다. 이에 비하여 ALDH2 활성이 높은, ALDH2 \*1/\*1 유전자형을 가진 사람들의 요중 페놀 농도의 자연대수값과 요중 TBARS 농도의 자연대수값은 유의한 상관관계를 보여주었다( $p\text{-value}<0.05$ ).

PON1은 체내 ROS 농도와 관련된 대사효소로서<sup>11)</sup>, 유기인제 화합물의 독성 제거와 지질 과산화에 관여하며, 폐 조직에서 주로 발현된다.<sup>11,24-25)</sup> Alveolar lining 부위는 벤젠 등의 환경 독성물질에 직접적으로 노출되는 부위로, 이곳에서 PON1은 그 독성을 제거하는데 중요한 역할을 할 것이다. PON1 유전자의 Q allele은 R allele에 비하여 낮은 효소 활성을 가지는 것으로 알려져 있다.<sup>24)</sup> 따라서 Q/Q 유전자형을 가진 사람은 흡연이나 대기오염물질 노출에 의한 독성을 효과적으로 제거하지 못하고, 따라서 체내 ROS의 생성이 증가하게 된다.

본 연구에서도 PON1 Q대립유전자를 가지고 있는 사람들에서 두 자연대수값의 상관계수가 큰 경향이 있었고, 요중 페놀농도도 상대적으로 높은 경향이 있었다. 특히 PON1 Q/R 유전자형을 가진 대상자에서 요중 페놀 농도의 자연대수값과 요중 TBARS 농도의 자연대수값 사이의 상관계수가 0.440으로 통계적으로 유의하였다( $p\text{-value}<0.01$ ). 이러한 결과는 벤젠과 같이 페놀로 대사되는 물질이 체내에 흡수되어 페놀로 대사되면서 ROS를 생성하는데, PON1의 활성이 저하된 Q 대립유전자를 가진 사람에서는 ROS 생성을 효과적으로 억제하지 못하여 지질과산화가 더 심하게 나타나게 되고, 그 결과 요중 TBARS 농도가 증가함을 시사하는 것이다.

ALDH2 \*1 대립유전자를 가진 사람들에서 요중 페놀 농도와 요중 TBARS 농도가 상대적으로 높고 두 변수사이에 상관계수가 유의하였으며, PON1 Q대립유전자를 가지고 있는 사람들에서 요중 페놀 농도가 상대적으로 높고 두 자연대수값 사이의 상관계수가 큰 경향이 있었으므로, 이 두 대립유전자를 동시에 가지고 있는 사람에서 요중 페놀이나 TBARS 농도 그리고 그 둘 사이의 상관관계가 뚜렷하게 상승할 가능성이 있다. 이런 이유로 ALDH2 유전자형과 PON1 유전자형에 따라 대상자를 3개 군으로 나누었을 때, ALDH2 \*1/\*1 유전자형이면서 PON1 유전자 Q 대립유전자를 가지고 있는 사람에서 요중 페놀 농도의 자연대수값과 요중 TBARS 농도의 자연

대수값 사이의 상관계수가 0.408로 유의하게 나타났으나 ( $p$ -value<0.01), 다른 조합의 대상자에서는 유의한 상관관계를 찾아낼 수 없었다. 이 결과는 ALDH2 \*1/\*1 유전자형을 가진 사람들의 체내에서 페놀로 대사되는 화합물에 의하여 더 많은 페놀이 생성되고 그 과정에서 ROS가 발생하지만, PON1의 활성이 낮아서 ROS를 충분히 제거하지 못하여 산화적 손상이나 지질과산화가 더 심하게 나타난다고 해석할 수 있다. 그러므로, ALDH2 \*1/\*1 유전자형이면서 PON1 유전자 Q 대립유전자를 가지고 있는 사람은 벤젠에 의한 독성에 상대적으로 민감하므로 자동차 배기가스에 의한 대기오염의 피해가 더 심각하게 나타날 가능성이 높다.

본 연구에서 대기 중의 벤젠농도를 직접 측정하지 않았으며, 지질과산화에 영향을 줄 수 있는 식품 섭취에 대한 조사를 하지 않았다는 점이 본 연구의 제한점이다. 또, 본 연구에 사용한 TBARS 측정방법은 실제 MDA 농도에 비하여 과대평가되는 경향이 있어서 실질적인 MDA 변화량을 충분하게 반영하지 못하므로 민감도가 낮다는 문제가 있다. 그러나, 벤젠이 지용성이 강하여 생체막에서 주로 영향을 나타낼 가능성이 높아 MDA가 가장 적절한 산화적 손상의 지표로 생각되나, 현재 MDA의 변화량을 적절히 반영할 수 있는 지표로서 측정방법 확립되어 있는 다른 지표를 찾기 어려워서 부득이 TBARS 방법을 본 연구에 사용하였다.

본 연구의 결과는, 요중 페놀 농도가 증가함에 따라 지질과산화와 같은 산화적 손상이 더 심해지며, 이러한 효과는 ALDH2 \*1/\*1 유전자형과 PON1 유전자 Q 대립유전자를 가지고 있는 사람에서 더 두드러지게 나타나는 경향이 있다고 요약할 수 있다.

## 참고문헌

1. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Some industrial chemicals and dyestuffs. Benzene, Lyon, France, 1982.
2. Ong CN, Lee BL. Determination of benzene and its metabolites: application in biological monitoring of environmental and occupational exposure to benzene. J Chromatogr B Biomed Appl 1994;660:1-22.
3. Shen Y, Shen HM, Ong CN. Benzene metabolites enhance reactive oxygen species generation in HL60 human leukemia cells. Hum Eep Toxicol 1996;15:422-7.
4. Takeuchi T, Nakajima M, Morimoto K. Establishment of a human system that generates O<sub>2</sub>- and induces 8-hydroxydeoxyguanosine, typical of oxidative DNA damage, by a tumor promotor. Cancer Res 1994;54:5837-40.
5. Floyd RA. The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. Carcinogenesis 1990;11:1447-50.
6. Ding AH, Chan PC. Singlet oxygen in copper-catalyzed lipid peroxidation in erythrocyte membranes. Lipids 1984;19:278-84.
7. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. Science 1978; 201:875-80.
8. Draper HH, Polensek L, Hadley M, McGirr LG. Urinary malondialdehyde as an indicator of lipid peroxidation in the diet and in the tissues. Lipids 1984;19:836-43.
9. Kawamoto T, Matsuno K, Kodama Y, Murata K, Matsuda S. ALDH2 polymorphism and biological monitoring of toluene. Arch Environ Health 1994;49:332-6.
10. Kim H, Eum S-Y, Zhang YW, Kim E-Y, Kim S-H, LeeC-J, Lee C-H, Kim Y-D, Kang J-W, Kawamoto T. Change in the metabolic pathway of benzene in Aldh2 knockout mice. 2007. 제15회 기초의학학술대회초록집. p 461.
11. Humbert R, Adler DA, Distech CM. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. Nature Genet 1993;3:73.
12. Hong SH, Song J, Min WK, Kim JQ. Genetic variations of the paraoxonase gene in patients with coronary artery disease. Clin Biochem 2001;34:475-81.
13. Rodrigo L, Hernandez AF, Lopez-Caballero JJ, Gil F, Pla A. Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role. Chem Biol Interact 2001;137:123-37.
14. Chen HJ, Wu CF, Huang JL. Measurement of urinary excretion of 5-hydroxymethyluracil in human by GC/NICI/MS: correlation with cigarette smoking, urinary TBARS and etheno DNA adduct. Toxicol Lett 2005;155:403-10.
15. 노동부. 화학물질 노출기준 개정연구 - 벤젠. 2005.
16. Premel-Cabic A, Caileux A, Allain P. Level of urinary phenol and hippuric acid in control subjects and subjects exposed to benzene and toluene. Ann Biol Clin 1988;46:683-7.
17. Kim S, Vermeulen R, Waidyanatha S, Johnson BA, Lan Q, Rothman N, Smith MT, Zhang L, Li G, Shen M, Yin S, Rappaport SM. Using urinary biomarkers to elucidate dose-related patterns of human benzene metabolism. Carcinogenesis 2006;27:772-81.
18. Kim YJ, Hong YC, Lee KH, Park HJ, Park EA, Moon HS, et al. Oxidative stress in pregnant women and birth weight reduction. Reprod Toxicol 2005;19:487-492.
19. 김대선, 이철호, 엄상용, 강택신, 김용대, 김현. 일개 농촌지역의 초등학교와 주민에서 다환성 방향족 탄화수소와 톨루엔 노출이

- 요중 thiobarbituric acid reactive substance 농도에 미치는 영향. 예방의학회지 2008;41:61-7.
20. Goulart M, Batoreu MC, Rodrigues AS, Laires A, Rueff J. Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis* 2005;20:311-5.
21. 임종한, 홍윤철, 이관희, 권호장, 장재연. 국내 일부 소각장 근로자와 주변 지역주민들의 PCDDs/Fs 노출과 건강영향평가. 예방의학회지 2003;36:314-22.
22. Jacob RA, Aiello GM, Stephensen CB, Blumberg JB, Milbury PE, Wallock LM, et al. Moderate antioxidant supplementation has no effect on biomarkers of oxidant damage in healthy men with low fruit and vegetable intakes. *J Nutr* 2003;133:740-3.
23. Agarwal R. Smoking, oxidative stress and inflammation: impact on resting energy expenditure in diabetic nephropathy. *BMC Nephrol* 2005;6:13.
24. Hong SH, Song J, Min WK, Kim JQ. Genetic variations of the paraoxonase gene in patients with coronary artery disease. *Clin Biochem* 2001;34:475-481.
25. Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P, Ruiz J. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest* 1997;99:62-66.

[ Abstract ]

## Relationship between Urinary Phenol and TBARS Concentrations According to the ALDH2 and PON1 Genotypes

Chul-Ho Lee<sup>1</sup>, Seung-Do Yu<sup>1</sup>, Sang-Yong Eom<sup>2</sup>, Yong-Dae Kim<sup>2</sup>, Heon Kim<sup>2</sup>

Environmental Epidemiology Division, Environmental Health Research Department, National Institute of Environmental Research<sup>1</sup>,  
Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University<sup>2</sup>

<b>Background</b>	This study was performed to test the relationship between the levels of phenol and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) in urines from individuals who were not occupationally exposed to benzene, and to evaluate the effects of ALDH2 gene and PON1 gene polymorphism on the relationship.
<b>Methods</b>	One hundred and fifty-five persons (89 males and 66 females) who visited a university hospital for a screening test and were not occupationally exposed to benzene were the subjects of this study. Information about smoking status was collected through interviews. Urinary phenol and TBARS concentrations were measured, and genotypes of ALDH2 and PON1 genes were identified. Urinary phenol and TBARS levels were compared according to sex, smoking status and the ALDH2 and PON1 genotypes. The correlation between ln(phenol) and ln(TBARS) was statistically tested in all subjects and in subgroups with different ALDH2 and PON1 genotypes.
<b>Results</b>	Urinary phenol and TBARS concentrations were higher in females than in males, but no statistical difference was found in the comparisons according to sex, smoking status, and the ALDH2 and PON1 genotypes. There was a significant correlation between ln(phenol) and ln(TBARS), and especially in males, non-smokers or individuals with ALDH2 *1/*1 or PON1 Q/R genotype. Those with ALDH2 *1/*1 genotype and PON1 Q/Q or Q/R genotype showed a higher and significant correlation between the natural logarithmic values of urinary phenol and TBARS concentrations.
<b>Conclusions</b>	An increase in urinary phenol concentration leads to a more severe lipid peroxidation or oxidative stress. Individuals with ALDH2 *1/*1 genotype and PON1 Q/Q or Q/R genotype would be more sensitive to the phenol-related lipid peroxidation. (Korean J Health Promot Dis Prev 2008; 8(2):108-116)
<b>Key words</b>	phenol, TBARS, ALDH2, PON1

• Address for correspondence : **Heon Kim**  
Department of Preventive Medicine, College of Medicine,  
Chungbuk National University  
• Tel : 043-261-2864  
• E-mail : kimheon@cbu.ac.kr