

Dimethylformamide 취급 근로자에서의 CYP2E1, GSTM1, GSTT1 유전자 다형성과 N-methylformamide 배설량간의 관련성

김재일¹, 이충한², 이용환¹

¹고신대학교 의과대학 예방의학교실, ²외과학교실

Associations of the Genetic Polymorphisms of CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 with Urinary Excretion of N-methylformamide in the Workers Exposed to N, N-dimethylformamide

Jae Il Kim¹, Choong Han Lee², Yong Hwan Lee¹

¹Department of Preventive Medicine, ²Department of Surgery, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background: N,N-Dimethylformamide (DMF) has excellent solvent properties and is used intensively in the production of synthetic leather and resins. It has known to induce hepatotoxicity in human and animal by absorbing it through the lungs and skin. The metabolic transformation of DMF takes place mainly in the liver, with the aid of microsomal enzyme systems including cytochrome P450 (CYP), and glutathione S-transferase (GST). In metabolic studies and biological monitoring, urinary concentrations of metabolites are measured and expressed as N-methylformamide (NMF). This study examined the associations of the genetic polymorphism of CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 with DMF metabolism. **Methods:** The subjects were 30 workers who exposed to DMF in a synthetic leather factory. Their urinary samples were collected and NMF concentrations were measured. Also, DMF concentrations in air were measured by personal air sampler during their work. Genotypes of CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 were investigated using PCR-RFLP or multiolex PCR methods with DNA extracted from venous blood. Effects of the polymorphisms of CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 on DMF metabolism were analyzed. **Results:** The frequency of c1/c1 and c1/c2 genotypes for CYP2E1 were 76.6% and 23.3%, respectively. GSTM1 was deleted in 53.3% and GSTT1 deletion rate was 40.0%. In the group of GSTM1 deletion, mean urinary NMF concentrations (95.2 mg/g creatinine) were significantly higher than the undeleted group (45.3 mg/g creatinine, p=0.042). There were no significant differences of mean urinary NMF concentrations in the groups with the different genotypes of CYP2E1 and GSTT1. The distribution of CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 genotypes by urinary NMF concentrations had not statistical significance. **Conclusions:** In GSTM1 deleted workers who exposed to DMF, mean urinary NMF concentration was higher than undeleted cases. GSTM1 deleted workers are seemed to be more susceptible to DMF toxicity. It is necessary to screen whether the workers have GSTM1 deleted genotype or not when they are arranged to their work place.

Key words : N,N-dimethylformamide, N-methylformamide, CYP2E1, GSTM1, GSTT1

서 론

교신저자 : 이 용 환
주소: 602-703, 부산광역시 서구 암남동 34번지
고신대학교 의과대학 예방의학교실
TEL. (051-990-6459 FAX. (051-246-7201
E-mail: yhlee@kosin.ac.kr

합성피혁과 합성섬유, 필름 제조 시 널리 사용되는 디메틸포름아마이드(N,N-dimethyl-formamide, DMF)는 호흡기와 피부를 통해 흡수된다.¹⁾ 급성으로 노출될 경우에 복통, 구토, 어지러움증 및 혈압상승이 일어날 수 있으며, 만성적으로 노출될 경우에는 알코올에 대한 불내성,

· 본 연구는 고신대학교 의과대학 연구비 일부 지원에 의해 이루어짐

채장질환 및 고환암 등 여러 건강 장애를 일으킬 수 있으나²⁾, 1차 표적 기관이 간으로 주로 간 독성을 유발하는 것으로 알려져 있다.³⁻⁵⁾

우리 나라에서도 합성피혁 제조 공정 근로자에서 DMF 노출에 의한 독성 간염이 발생되어 DMF에 의한 독성 간염의 발생 위험이 알려지게 되었으며, 1998년에는 전국적인 역학조사가 실시된 바 있다.⁶⁾

흡수된 DMF는 간의 microsome 단백질, 즉 cytochrome P-450 (CYP)에 의해서 대사가 이루어지며^{1,7-10)}, DMF에 의한 독성은 DMF 자체보다는 대사과정에서 활성화된 N-methylformamide (NMF)나 N-hydroxymethyl-N-methylformamide (HMNF)와 같은 중간체에 의해서 간에 손상되는 것으로 알려졌다.¹¹⁻¹⁵⁾

CYP2E1은 소수성적인 여러 가지 물질을 대사시키는 기능을 하는데 DMF의 대사는 CYP2E1에 의해 촉진되며^{16,17)}, 공복이나 음주 상태에서 DMF에 노출될 경우 CYP2E1을 활성화시켜 그 중간 대사물질에 의해 간 손상을 더욱 증대시킬 수 있다고 한다.¹⁸⁾

DMF의 대사산물은 glutathione (GSH) 포함체를 형성하는데, glutathione S-transferase (GST)는 간에서 glutathione과 포함된 DMF 대사산물을 무독화시키는 역할을 하는 효소로 알려져 있다.¹⁹⁾ GST는 환원된 GSH를 다양한 전자친화성 물질과 결합시켜서, 외부로부터 유입된 독성 물질을 배설하는 동종효소들의 집단을 의미하는 것으로, 여러 조직에서 독성물질의 해독작용에 중요한 역할을 한다.²⁰⁾

최근 중합효소연쇄반응법과 제한 효소를 이용한 유전적 다형성(genetic polymorphism) 구명이 비교적 용이하게 되었으며, 특히 유해 물질 취급 근로자들에 있어서 유해물질을 대사하는 효소계의 유전적 다형성과 대사표현형(metabolic phenotype) 간의 연구가 활발히 이루어지고 있다.

DMF에 대한 CYP2E1 효소의 유전적 다형성을 연구한 보고가 최근 일부 있었으며, CYP2E1 유전자 다형성과 DMF 대사와의 관련성에 대한 결과는 연구자간에 차이가 있었다.²¹⁻²³⁾ 또한 phase II 대사에 관여하는 GST와 DMF 간의 관련성에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이었다.

이에 저자들은 DMF를 취급하는 근로자를 대상으로

DMF 대사산물인 NMF와 CYP2E1과 GST간의 관련성을 파악하기 위하여 본 연구를 실시하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 부산시 사상공단에 위치한 합성피혁 제조업체에서 DMF 직접 노출되는 근로자 30명을 대상으로 하였다.

합성피혁 제조공정은 크게 배합(mixing), 코팅(coating), 후가공(printing)으로 나뉘며, DMF는 코팅원액인 우레탄 수지에 20-70% 정도로 포함되어 있는데, 배합공정에서 우레탄 원액의 점도를 조정하기 위하여 DMF를 용제로 첨가한다. 섬유원단을 배합이 끝난 코팅원액에 함침시켜 섬유의 미세구조 사이로 침투시킨다. 이후 수세와 건조의 과정을 거친 뒤 조색안료를 DMF에 녹여 반복 조색 후 착색하는 표면처리 즉, 인쇄 과정을 거쳐 제품이 완성되게 한다.⁶⁾

2. 방 법

1) 공기 중 DMF의 측정

조사 대상 근로자들의 근무 부서별로 DMF에 대한 노출을 대표할 수 있는 근로자 20명에 대해서 공기 중 DMF를 측정하였으며, 각 부서별 측정 인원은 배합 부서 5명, 코팅 부서 13명, 인쇄 2명이었다.

공기 중 DMF 측정 방법은 작업자의 호흡기 위치에 개인 시료 채취기(MSA 사, USA)를 근무시간동안 부착하게 하여 실리카겔 흡착제로 DMF를 포집하였다. 개인 시료 채취기의 포집 유량은 0.2 L/min로 하였으며, DMF가 흡착된 실리카겔 튜브는 냉장보관 상태로 실험실로 옮겨서 메탄올 1 mL로 용출하여 가스크로마토그래피(Shimadzu GC-14A, Japan)로 분석하여 DMF의 노출농도를 측정하였다.²⁴⁾

2) 소변 중 NMF 배설량의 측정

금요일 오후 5시경 소변을 채취하여 NMF 배설량을 측정하였다. NMF 배설량은 Barnes 등²⁵⁾의 방법에 의해 다음과 같이 측정하였다. 소변 25 mL를 비이커에 넣고 1-2 mL가 되도록 농축시킨 후 셀룰로스 5 g을 첨가, 혼

합하고 15 mL의 디클로로메탄으로 4시간동안 추출하였다. 이 추출물을 가열하여 최종 부피가 5 mL가 되도록 한 후 활성화된 알루미나가 채워진 컬럼(300 × 10 mm)에 넣고 용제(디클로로메탄과 디클로로메탄에 용해된 3.5% 메틸알코올)로 씻어낸 후, 10% 메틸알코올(디클로로메탄과 용해된)로 용출, 가열하여 증발시킨 다음 0.5%의 증류수로 용해시켜 모세관칼럼(HP-Innowax, USA)이 장착된 가스크로마토그래피(HP-6890 Series, USA)로 분석하였으며, 검출기는 Flame Ionization Detector (FID)를 사용하였다. 온도는 칼럼 온도를 80 °C에서 3분간 유지하고 분당 20 °C씩 승온하여 160 °C에서 5분간 분석하였다. 불순물을 기화시키기 위하여 200 °C에서 4분간 칼럼을 세척하고, 다시 냉각시킨 후 분석하였다.

소변 중 크레아티닌은 Jaffe rate법²⁶⁾을 이용하여 Synchron CS3 (Beckman, USA)로 측정하였다.

3) 유전자 다형성 분석

유전자 분석을 위하여 약 5 mL의 혈액을 채취하고 Promega사의 DNA추출 kit를 이용하여 제작회사의 방법에 따라 DNA를 추출한 후 이것을 증합효소 연쇄반응(Polymerase chain reaction, 이하 PCR)의 주형으로 사용하였다.

CYP2E1의 유전자 다형성 분석을 위한 PCR primer는 *Rsa* I 제한부위를 생성하는 두가지 primer, 즉 5'-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3'와 5'-TTCATTCTGTCTTC TAACTGGCA-3'를 사용하였다. PCR은 총 용량을 25 uL로 하여 denaturation 94°C 1분, annealing 53°C 1분, extension 74°C 30초로 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR 산물을 2% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 410 bp의 band를 확인하였다. 이렇게 나온 PCR산물 10 μL에 *Rsa* I 10 unit를 섞어 총 용량이 20 μL가 되게 하여 37 °C에서 6시간 반응시켰다. 반응산물 15 μL를 1.5% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후 최종 유전자형을 확인하였다. 제한 부위가 없는 410 bp의 band만 보이는 것을 c2/c2 유전자형, 360 bp와 50 bp의 band가 보이는 것은 c1/c1 유전자형, 그리고 410 bp와 360 bp 그리고 50 bp의 band가 보이는 것을 c1/c2 유전자형으로 분류하였다(Fig. 1).

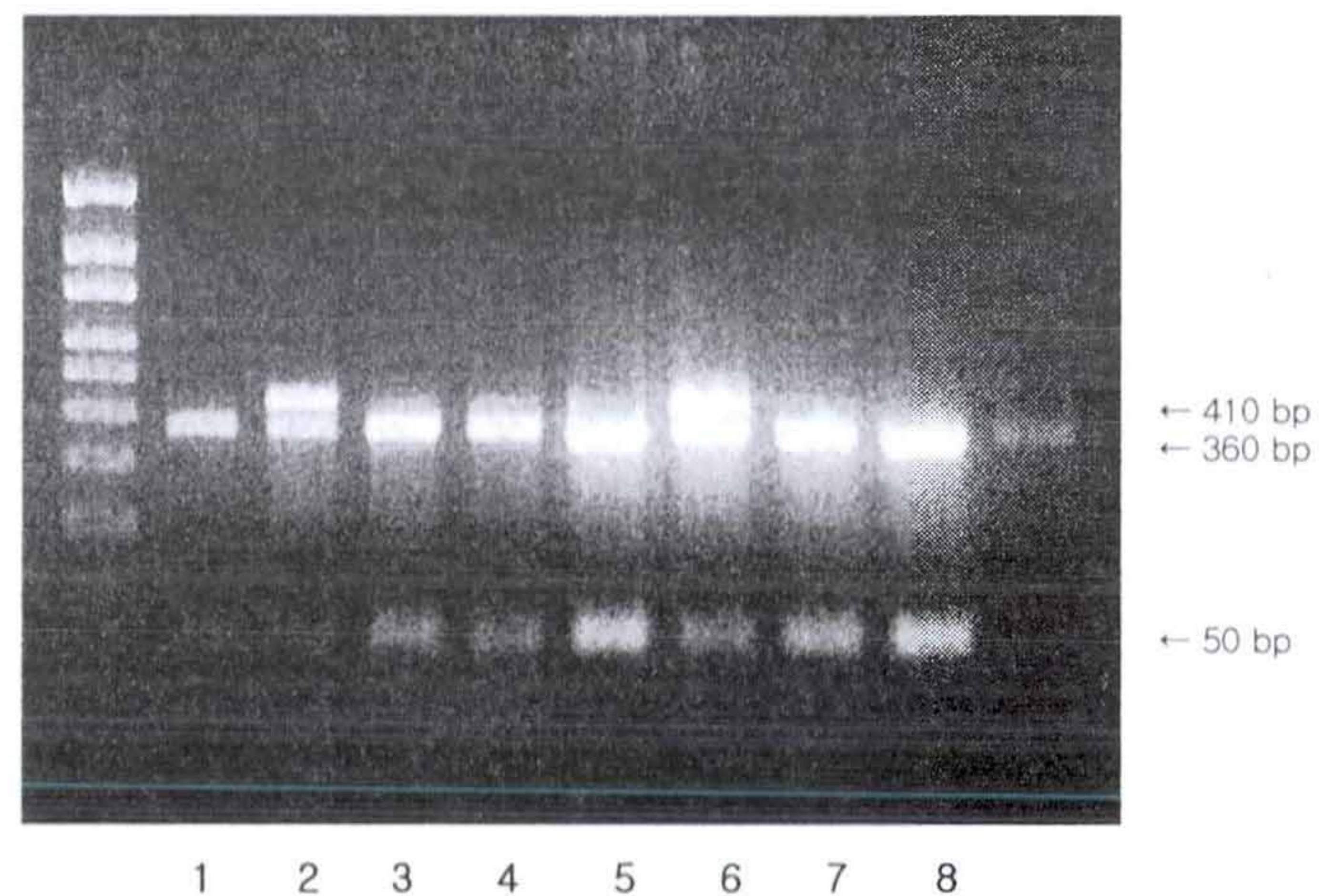


Fig. 1. Determination of CYP2E1 genotype. Lane 1,3,4,5,7,8: homozygous wild type (c1/c1); Lane 2,6: heterozygous mutant type (c1/c2).

GSTM1과 GSTT1의 유전자 다형성검사에는 multiplex PCR기법을 사용하였다.²⁷⁾ PCR용 primer는 GSTM1에 대한 sense primer 5'-GAAGGTGGCCTCCTC CTTGG-3'와 anti-sense primer 5'-AATTCTGGATTCTAGCAGAT-3', GSTT1에 대한 sense primer 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3'와 anti-sense primer 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3', β -globulin 유전자에 대한 sense primer 5'-CCACCTCATCCACGTTTACC-3'과 anti-sense primer 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3' 등 여섯 가지를 동시에 사용하였다. PCR 반응은 genomic DNA 1.0 μg dNTP 혼합체 80 μM, 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 μL로 하여 denaturation 94°C 1분 5초, annealing 60 °C 1분, extension 74°C 1분으로 Thermocycler (Perkin Elmer Cetus, UK)에서 35회 증폭시켰다. 증폭된 PCR산물을 2% agarose gel에서 전기영동시켜 ethidium bromide로 염색 후, 210 bp 크기의 band가 존재하는가를 확인함으로써 GSTM1의 결손여부를, 그리고 473 bp 크기의 band가 존재하는가를 확인함으로써 GSTT1의 결손여부를 판정하였다(Fig. 2).

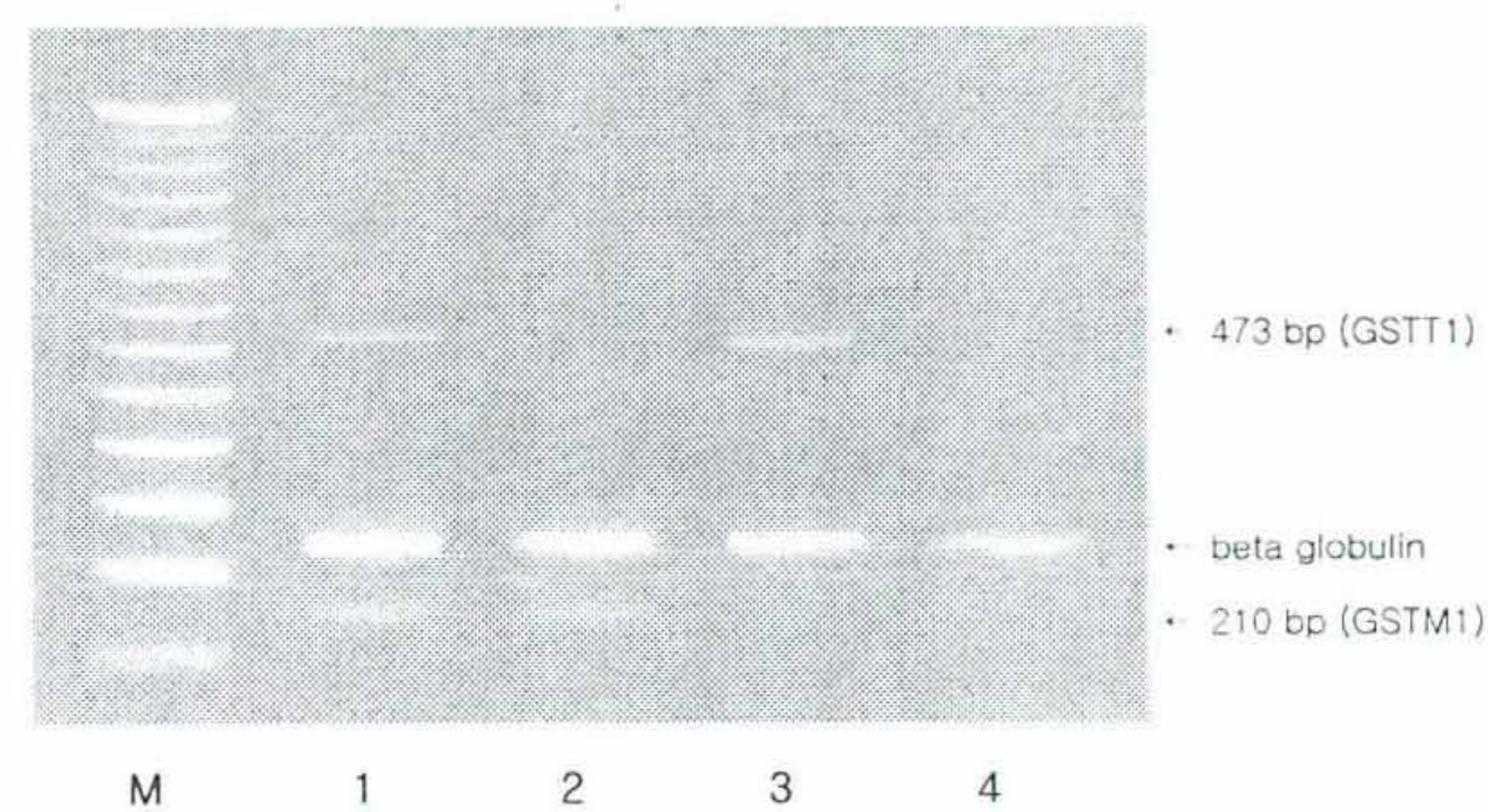


Fig. 2. Determination of GSTM1 and GSTT1 genotype. M: molecular size marker (ΦX174/HaeIII); Lane 1: GSTT1(+) / GSTM1(+); Lane 2: GSTT1(-) / GSTM1(+); Lane 3: GSTT1(+) / GSTM1(-); Lane 4: GSTT1(-) / GSTM1(-).

4) 자료 분석

얻어진 자료는 SPSS(Version 11.0, SPSS Inc, USA)를 사용하여 통계분석 하였다. 유전자 다형성에 따른 소변 중 NMF 농도의 비교는 Mann-Whitney test로 검정하였으며, 소변 중 NMF 농도에 따른 유전자 다형성 분포에 대해서는 단변수 분석을 하였다. 최종적으로 유전자 다형성 유형과 음주, 흡연을 포함한 다변량 분석을 실시하였다.

결 과

1. 연구 대상자의 일반적 특성

연구대상자 30명의 남, 녀별 분포는 남자가 23명으로서 76.7%를 차지하였으며, 여자는 7명, 23.3% 였다(table 1).

Table 1. General characteristics of study subjects

Variables	Numbers(%)
Sex	
Male	23(76.7)
Female	7(23.3)
Age (years)	39.5 ± 9.1
Tenure (months)	76.8 ± 60.1
Work department	
Mixing	9(30.0)
Coating	15(50.0)
Printing	6(20.0)
Smoking	
No	13(43.3)
Yes	17(56.7)
Drinking	
No	11(36.7)
Yes	19(63.3)

평균 연령은 39.5세 이었고 평균 근무기간은 76.8 개월 이었다. 대상자들의 부서별 분포는 배합부서 9명, 코팅 부서 15명, 인쇄부서 6명이었다. 흡연률과 음주율은 각각 56.7%, 63.3% 이었다.

2. 공기 중 DMF 농도와 소변 중 NMF의 농도

배합, 코팅, 인쇄 부서에 대해 부서별로 작업환경 공기 중 DMF농도와 대상 근로자들의 소변 중 NMF 배설 농도를 측정한 결과는 표2와 같았다.

Table 2. N,N-dimethylformamide (DMF) concentration in air and urinaryN-methylformamide (NMF) concentration in workers exposed to DMF

Department	DMF (ppm)	NMF (mg/g creatinine)
	GM (Range)	GM (Range)
Mixing	12.3(4.0 - 45.0)	59.9(5.7 - 277.8)
Coating	20.8(5.0 - 70.0)	99.5(25.0 - 483.1)
Printing	8.8(6.5 - 12.0)	30.2(2.7 - 115.9)
Total	16.7(4.0 - 70.0)	67.3(2.7 - 483.1)

공기 중 DMF의 농도는 코팅부서에서의 20.8 ppm으로서 가장 높았으며, 배합부서 12.3 ppm, 인쇄부서 8.8 ppm의 순서였다. 소변 중 NMF 배설량도 코팅부서 근무 근로자들에게서 평균 99.5 mg/g creatinine으로서 배합부서 59.9 mg/g creatinine, 인쇄부서 30.2 mg/g creatinine 보다 더 높았다. 전체적으로는 소변 중 NMF 배설량의 평균 농도가 67.3 mg/g creatinine이었다.

3. 유전자 다형성에 따른 소변 중 NMF 농도 비교

CYP2E1과 GSTM1, GSTT1의 유전자 다형성에 관한 결과는 표 3과 같다. CYP2E1의 c1/c1형의 빈도는 23명 (76.7%), c1/c2형은 7명(23.3%)이었으며 c2/c2형은 발견할 수 없었다. c1/c1형의 소변 중 NMF 농도는 77.3 mg/g creatinine, c1/c2형은 42.7 mg/g creatinine 으로서 통계적으로 유의한 차이는 없었다(P=0.311).

GSTM1의 결손은 16명(53.3%) 이었으며, 결손이 없는 사람은 14명(46.7%) 이었다. 결손이 있는 경우의 소변 중 NMF 농도는 95.2 mg/g creatinine로서 결손이 없는 경우의 45.3 mg/g creatinine보다 통계적으로 유의하게 더 높았다(P=0.042).

GSTT1의 결손은 12명(40.0%)으로서 결손이 없는 18명(60.0%) 보다는 낮았다. 소변 중 NMF 농도는 결손이 없는 경우가 62.7 mg/g creatinine 으로서 결손이 있는 경우의 70.6 mg/g creatinine 보다 더 높았지만, 통계적으로 유의한 차이는 없었다(P=0.439).

Table 3. Gene frequency of CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 and urinary N- methylformamide

	Frequency (%)	NMF (mg/g creatinine)		P-Value
		GM (Range)		
CYP2E1				
	c1/c1	23(76.7)	77.3(5.7 - 483.1)	0.311
	c1/c2	7(23.3)	42.7(2.7 - 277.8)	
GSTM1				
	Deleted	16(53.3)	95.2(5.7 - 483.1)	0.042
	Undeleted	14(46.7)	45.3(2.7 - 152.5)	
GSTT1				
	Deleted	12(40.0)	62.7(17.4 - 277.8)	0.439
	Undeleted	18(60.0)	70.6(2.7 - 483.1)	

4. 소변 중 NMF 농도에 따른 유전자 다형성 빈도

소변 중 NMF의 배설 허용기준인 40 mg/g creatinine을 기준으로 DMF 대사와 관련된 CYP2E1, GSTM1, GSTT1의 유전자 다형성 발현 빈도를 비교하였다.

CYP2E1의 c1/c2형은 소변 중 NMF 농도가 40 mg/g creatinine 미만과 이상인 군 사이에 유의한 차이가 없었다(OR : 0.208, 95% CI : 0.035 - 1.254, table 4).

Table 4. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) for CYP2E1

CYP2E1 genotype	NMF concentrations (mg/g creatinine)		OR	95% CI
	<40(%)	≥40(%)		
c1/c1(n=23)	5(21.7)	18(78.3)	1	-
c1/c2(n=7)	4(57.1)	3(42.9)	0.208	0.035 - 1.254

소변 중 NMF 농도에 따른 GSTM1 결손은 표 5와 같이 소변 중 NMF 배설 농도가 40 mg/g creatinine 이상인 경우와 미만인 경우에 있어서 유의한 차이가 없었다(OR : 3.250, 95% CI : 0.629 - 16.789).

Table 5. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) for GSTM1

GSTM1	NMF concentrations (mg/g creatinine)		OR	95% CI
	<40(%)	≥40(%)		
Undeleted(n=14)	6(42.9)	8(57.1)	1	-
Deleted(n=16)	3(18.8)	13(81.3)	3.250	0.629 - 16.789

GSTT1의 결손은 소변 중 NMF 농도가 40 mg/g creatinine 이상일 때와 미만인 경우에 있어서 유의한 차이가 없었다(OR : 0.769, 95% CI : 0.158 - 3.744, table 6).

Table 6. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) for GSTT1

GSTT1	NMF concentrations (mg/g creatinine)		OR	95% CI
	<40(%)	≥40(%)		
Undeleted(n=18)	5(28.8)	13(71.2)	1	-
Deleted(n=12)	4(33.3)	8(66.7)	0.769	0.158 - 3.744

NMF 배설량과 여러 변수간의 관련성을 알아보기 위하여 음주와 흡연, CYP2E1, GSTM1, GSTT1 등 유전자 다형성을 포함시킨 다변량 로지스틱 분석을 시행하였으나 NMF 배설량과 관련있는 변수는 없었다(table 7).

Table 7. Multiple linear logistic regression analysis

Variable	β	S.E.(β)	Wald chi-square	OR	95% CI
Drinking	1.532	1.723	0.791	4.627	0.476-94.875
Smoking	1.905	1.351	1.989	6.720	0.031-7.826
CYP2E1	-2.499	1.296	3.717	0.082	0.006-1.042
GSTM1	2.127	1.372	2.402	8.388	0.570-123.504
GSTT1	-0.159	1.021	0.204	0.853	0.115-6.314

고 찰

체내에 흡수된 DMF의 대사는 주로 간에 존재하는 효

소들에 의해서 이루어지는데, 먼저 DMF의 결사슬인 메틸기가 cytochrome P450의 작용에 의한 수산화 반응을 통하여 HMMF가 생성되고, 다시 효소 및 비효소(구조의 변형)적인 반응에 의해서 NMF가 생성된다. NMF는 친전자성 물질로서 phase II 효소인 glutathione 과 복합체를 형성하거나 N-formyl 기와 결합을 통하여 N-acetyl-S-(N-methylcarbamoyl) cystein (AMCC)을 생성하여 소변으로 배설된다.²⁸⁾ 현재 DMF 노출에 따른 생물학적 모니터링은 주로 소변 중 NMF의 배설량을 가지고 평가하고 있다.²⁹⁾

대부분의 유기용제는 물에 용해되지 않으며 대사 과정을 통하여 수용성 대사산물로 생전환되어 대소변을 통하여 배설된다. 대사산물은 원래의 화학물질보다 더 독성이 강해질 수도 있고 그 반대의 경우도 있는데, DMF는 NMF나 HMMF와 같은 중간체에 의해서 간에 손상되는 것으로 알려져 있다. 이러한 대사과정에 관여하는 효소의 유전자 다형성에 대한 많은 연구가 있었다.

Phase I과 phase II 대사에 관여하는 효소는 여러 종류이지만 그 중에서도 P450의 여러 isozyme과 phase II 효소인 GST 중 주로 mu (M)와 theta (T), 두 isozyme에서 선천적으로 결손된 유전자 표현형이 알려져 있다.³⁰⁾

유기용제 생전환의 상당부분은 cytochrome P450에 의하여 이루어진다. cytochrome P450은 수많은 mixed function oxidase 역할을 하는 hemoprotein의 집합체이다. 인체에서도 20가지 이상의 isozyme이 밝혀졌지만 대부분의 xenobiotics 대사에 관여하는 것으로는 1A1, 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 등이 있다.^{31, 32)}

생체 이물질 노출시 생체에 미치는 영향은 P450 isozyme의 양에 따라 다르다. P450은 유전학적인 효소 다형성으로 다양하며, 화학물질의 노출에 따라 특정 isozyme이 유도되기도 하고 억제되기도 한다. 또한 선천적인 gene의 변화는 특정한 P450의 결손으로 인하여 효소의 기능이 결핍되므로 결국 관련되는 특정 유기용제에 대한 감수성 여부로 작용하게 된다. DMF에 대한 cytochrome P450 효소의 유전적 다형성을 연구한 보고가 최근 일부 있으며, 2E1과 관련이 있었다는 보고와²¹⁾, 없었던 것^{22, 23)}으로 서로 연구 결과가 엇갈리고 있다. 본 연구에서는 연구 대상자들의 CYP2E1의 유전자 다형성 분포가 c1/c1 형 76.7%, c1/c2 형이 23.3% 였으며

c2/c2 형은 발견되지 않았다. 기존의 연구 결과는 c1/c2 형이 백인에서는 2-10%^{33, 34)}, 핀란드인 10%³⁵⁾, 스웨덴인 9%³⁴⁾, 흑인 2%³³⁾, 그리고 동양인의 경우 26-43%^{36, 37)}, 일본인 27%³³⁾ 등으로 보고되었으며, 본 연구의 결과는 동양인에서의 성적보다는 다소 낮은 편이었다. 우리 나라 사람을 대상으로 한 연구에서는 45.7%³⁸⁾, 13.4%²¹⁾의 성적이 보고되어 본 연구 결과와는 차이가 있었다.

또한 c1/c1 형을 가진 사람의 소변 중 NMF 평균 농도는 77.3 mg/g creatinine, c1/c2 형은 42.7 mg/g creatinine 으로서 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 소변 중 NMF 배설 수준에 따른 CYP2E1 유전자 다형성의 분포에 있어서도 유의한 차이를 발견할 수가 없었다. Nomiyama 등²²⁾은 c1 homozygotes의 NMF 반감기가 c2 heterozygotes의 NMF 반감기와 유의한 차이가 없었다고 보고하여 CYP2E1 유전자 다형성이 DMF 대사에 영향을 미치지 않는다고 보고하였으며, 김 등²¹⁾은 c1/c1 형에서 NMF 배설량이 더 많았다고 보고하여 본 연구 결과와는 차이가 있었는데, 이는 DMF 노출 수준의 차이 등 대상자들의 특성이 달랐기 때문으로 생각된다.

Phase II 대사에 관여하는 효소로는 GST의 gene type 중 M1과 T1이 많이 연구되었다. 잘 알려져 있는대로 GST는 친전자성 대사산물을 해독화하는데 주로 관여한다. GSTM1의 결손률은 한국인 61%³⁹⁾로 매우 높고, 일본인 52%⁴⁰⁾, 일반적인 백인 40-45%⁴¹⁾, 핀란드인 46%⁴¹⁾, 스페인인 49%⁴²⁾, 독일인 54%⁴³⁾ 등이다.

본 연구에서는 GSTM1의 결손률이 53.3%로서 다른 연구자들의 결과보다는 낮은 편이었으나 일반적인 백인들 보다는 높은 편이었다. GSTM1이 결손된 사람에서의 소변 중 NMF 농도가 결손되지 않은 사람보다 더 높게 나타났다. 그러나 소변 중 NMF 배설 수준에 따른 GSTM1 분포에 있어서는 유의한 차이가 없었다. 이 결과로 볼 때 GSTM1이 NMF 배설량에 영향을 미칠 것으로 생각되나 본 연구의 대상자 수가 적다는 한계점 때문에 추가 연구가 필요하다고 판단된다.

GSTT1의 경우에는 민족에 따라 차이가 있어서 유럽인들은 대부분이 가지고 있고 오직 10-25%의 인구에서 결여된 반면, 중국인과 한국인은 60-65%의 인구에서 결여되어 있다.³⁰⁾ Nelson 등⁴⁴⁾은 한국인의 GSTT1 유전자 결손률은 60.2%, 중국인의 결손률은 64.4%, 백인의 결손

률은 15.7-23.7%, 흑인의 결손률은 21.8%, 그리고 멕시코인의 결손률은 9.7%라고 보고하였으며, To-Figueras 등⁴²⁾은 스페인인의 GSTT1의 결손률은 19.2%로 보고하였다.

본 연구에서 GSTT1의 결손률은 40.0%로서 Nelson 등⁴⁴⁾의 연구결과보다는 낮았지만 백인과 흑인, 멕시코인들 보다는 높은 편이었다. 소변 중 NMF 배설량에 있어서 GSTT1 결손자와 비결손자 간에 유의한 차이는 없었으며, NMF 배설 수준에 따른 GSTT1 분포에 있어서도 유의한 차이를 발견할 수가 없었다.

본 연구 조사대상 사업장의 공기 중 DMF 평균 농도는 16.7 ppm으로서 우리 나라 DMF 취급 사업장 전국 실태조사 결과⁶⁾의 측정 결과인 3-20.9 ppm의 범위 내에 있었지만 비교적 높은 수준으로서 조사 대상자들은 타 합성피혁 제조업체 근무 근로자들보다는 DMF에 과노출되고 있는 상태이었다.

현재 우리 나라의 DMF의 공기 중 노출 기준은 8시간 가중 노출기준 10 ppm (30 mg/m³)이며, 소변 중 대사물질인 NMF는 40 mg/L로 되어 있다. 본 연구에서 소변 중 NMF 평균 배설농도는 67.3 mg/g creatinine으로서 기준치를 초과하고 있었다.

지금까지 DMF를 제외한 유기용제 노출시의 감수성 평가를 위하여 유전자 다형성에 대한 연구가 많이 진행되어 왔으며, CYP2E1에 대해서도 여러 연구자가 발표를 하였다. 그러나 DMF에 대해서는 아직 연구가 활발히 이루어지지 않고 있으며, 특히 GST 유전자 다형성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 본 연구는 1개 사업장 근로자 30명만을 대상으로 수행되었기 때문에 결과 해석에 있어서 DMF 노출 근로자 전체로 확대하기 어려운 제한점이 있다. 특히 조사 대상자 수가 비교적 적은 연구로서 여러 가지 변수를 고려하기 힘든 면이 있었다.

그러나 본 연구에서와 같이 고농도의 DMF에 노출되고 있는 근로자를 대상으로 한 연구는 그리 흔하지 않으므로 향후 고농도 노출 근로자를 추가하여, 교란요인 등에 대한 고려를 한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구는 DMF에 고농도로 노출되고 있는 근로자를 대상으로 소변 중 NMF 배설량과 CYP2E1과 GSTM1, GSTT1 유전자 다형성간의 관련성을 확인해 보기 위하여 시도된 연구로서 GSTM1 결손인 경우 소변 중 NMF 배설량과 관련이 있을 수 있다는 결과를 얻었으며, 이에

대한 추가적인 보완 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

결 론

디메틸포름아마이드(N,N-dimethylformamide, DMF)를 취급하는 근로자를 대상으로 DMF 대사산물인 엔메틸포름아마이드(N-methylformamide, NMF)와 CYP2E1, GSTM1, GSTT1 유전자 다형성 간의 관련성을 파악하기 위하여 부산시 사상공단에 위치한 합성피혁 제조업체에서 DMF에 노출되는 근로자 30명을 대상으로 본 연구를 수행한 결과, GSTM1 결손이 있는 경우 소변 중 NMF 배설량이 GSTM1 결손이 없는 경우보다 더 높았다. 이로 미루어 GSTM1 유전자 결손시 DMF 노출 근로자들에 있어서 DMF 대사과정의 중간 대사산물에 의해 건강장해가 발생할 가능성이 더 클 것으로 생각된다. 따라서 DMF 취급 근로자들에 대한 건강 진단 시 GSTM1 유전자 결손 여부에 대한 선별 검사를 실시함으로써 DMF에 대한 감수성이 있는 근로자들을 선별할 필요성이 있다.

참고문헌

1. Mraz J, Nohova H: Absorption, metabolism and elimination of N,N-dimethylformamide in humans. *Int Arch Occup Environ Health* 64: 85-92, 1992
2. IPCS: Environmental Health Criteria 114. Dimethylformamide, Geneva, WHO, 1991
3. Clayton JW, Barenas JR, Hood DB, Schepers GWH: The inhalation toxicity of dimethylformamide (DMF). *Am Ind Hyg Assoc J* 24: 144-154, 1963
4. Lauwerys RR, Kivits A, Lhoir M, Rigolet P, Houbeau D, Buchet JP, Roels HA: Biological surveillance of workers exposed to dimethylformamide and the influence of skin protection on its percutaneous absorption. *Int Arch Occup Environ Health* 45: 189-293, 1980
5. Marz J, Cross H, Gescher A, Threadgill MD, Fleck J: Difference between rodents and humans in the metabolic toxification of N,N-dimethylformamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 98: 507-516, 1989
6. 한국산업안전공단 산업안전보건연구원: 우리나라 dimethylformamide 노출실태 및 건강장해에 관한 조사보고서, 인천, 1999
7. Cooksey PG, Gate EN, Gescher A, Hickman JA, Langdon SP, Stevens MFG: The formation and metabolism of N-hydroxymethyl compounds. IV. Cytotoxicity and antitumor activity of N-hydroxy-methylformamide, a putative metabolite of N-methylformamide. *Biochem Pharmacol* 32:

- 3037-3043, 1983
8. Dossing M: Noninvasive assessment of microsomal enzyme activity in occupational medicine: present state of knowledge and future perspectives. *Int Arch Occup Environ Health* 53: 205-218, 1984
9. Kestell P, Threadgill MD, Gascher A, Gledhill AP, Shaw AJ, Farmer PB: An investigation of the relationship between hepatotoxicity and the metabolism of N-alkylformamides. *J Pharmacol Exp Ther* 240: 265-270, 1987
10. Pearson PG, Slatter JG, Rashed MS, Han DH, Baillie TA: Carbamoylation of peptides and proteins in vitro by S-(N-methylcarbamoyl)glutathione and S-(N-methylcarbamoyl) cysteine, two electrophilic S-linked conjugates of methylisocyanate. *Chem Res Toxicol* 4: 436-444, 1991
11. Kennedy JR: Biological effects of acetamide, formamide, and their monomethyl and dimethyl derivative. *CRC Crit Rev Toxicol* 17: 129-182, 1986
12. Scailteur V, Lauwerys RR: Dimethylformamide (DMF) hepatotoxicity. *Toxicology* 43: 231-238, 1987
13. Fleming LE, Shalat SL, Redlich CA: Liver injury in workers exposed to dimethylformamide. *Scand J Work Environ Health* 16: 289-292, 1990
14. Gescher A: Metabolism of N,N-dimethylformamide: key to the understanding of its toxicity. *Chem Res Toxicol* 6: 245-251, 1993
15. Bulcke MV, Rosseel MT, Wijnants P, Buylaert W, Belpaire FM: Metabolism and hepatotoxicity of N, N - d i m e t h y l f o r m a m i d e , N-hydroxymethyl-N-methylformamide, and N-methylformamide in the rat. *Arch Toxicol* 68: 291-295, 1994
16. Cross H, Dayal R, Hyland R, Gescher A: N- Alkilformamide are metabolized to N- alkylcarbamoylating species by hepatic microsomes from rodents and humans. *Chem Res Toxicol* 3: 357-362, 1990
17. Hyland R, Gescher A, Thummel K, Schiller C, Jheeta P, Mynett K, Smith AW, Mraz J: Metabolic oxidation and toxification of N-methylformamide catalyzed by the cytochrome P450 isoenzyme CYP2E1. *Mol Pharmacol* 41: 259-266, 1992
18. Marz J, Jheeta P, Gescher A, Hyland R, Thummel K, Threadgill MD: Investigation of the mechanistic basis of N,N-dimethylformamide toxicity. Metabolism of N,N-dimethylformamide and its deuterated isotopomers by cytochrome P4502E1. *Chem Res Toxicol* 6: 197-207, 1993
19. Imazu K, Fujishiro K, Inoue N: Effects of dimethylformamide on hepatic glutathione metabolism in rats. *Toxicology* 72: 41-50, 1992
20. Groppi A, Coutelle C, Fleury B, Iron A, Begueret J, Couzigou P: Glutathione S-transferase class in French alcoholic cirrhotic patients. *Hum Genet* 87: 628-630, 1991
21. 김기웅, 강성규: Dimethylformamide (DMF) 대사에 있어서 DMF 대사 효소의 유전자 다양성에 따른 영향과 민감도. *산업안전보건연구원지* 4: 71-77, 2000
22. Nomiyama T, Nakashima H, Sano Y, Chen LL, Tanaka S, Miyauchi H, Yamauchi T, Sakurai H, Omae K: Does the polymorphism of cytochrome P-450 2E1 affect the metabolism of N,N- dimethylformamide? Comparison of the half-lives of urinary N-methylformamide. *Arch Toxicol* 74: 755-759, 2001
23. Nomiyama T, Haufroid V, Buchet JP, Miyauchi H, Tanaka S, Yamauchi T, Imamiya S, Seki Y, Omae K, Lison D: Insertion polymorphism of CYP2E1 and urinary N-methylformamide after N,N-dimethylformamide exposure in Japanese workers. *Int Arch Occup Environ Health* 74: 519-522, 2001
24. NIOSH: NIOSH manual of analytical methods. Method 2004, 4th ed., Cincinnati, U.S. Department of Health and Human Services, 1994
25. Barnes JR, Henry NW: The determination of N-methylformamide and N-methylacetamide in urine. *Am Ind Hyg Assoc J* 35: 84-87, 1974
26. 이기범: 임상병리 핸드북, 서울, 고문사, 1992, III-67
27. Chen H, Sandler DP, Taylor JA, Shore DL, Liu E, Bloomfield CD, Bell DA: Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. *Lancet* 347: 295-297, 1996
28. Chieli E, Saviozzi M, Menicagli S, Branca T, Gervasi PG: Hepatotoxicity and P4502E1 dependent metabolic oxidation of N,N-dimethylformamide in rats and mice: *Arch Toxicol* 69: 165-170, 1995
29. ACGIH: Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices, 7th ed., Cincinnati, ACGIH, 2001
30. Löf A, Johanson G: Toxicokinetics of organic solvents: A review of modifying factors. *Crit Rev Toxicol* 28: 571-650, 1998
31. Indulski JA, Lutz W: Metabolic genotype in relation to individual susceptibility to environmental carcinogens. *Int Arch Occup Environ Health* 73: 71-85, 2000
32. Smith DA, Abel SM, Hyland T, Jones BC: Human cytochromes P450s: selectivity and measurement in vivo. *Xenobiotica* 28: 1095-1128, 1998
33. Kato S, Shields PG, Caporaso NE, Hoover RN, Trump BF, Sugimura H, Weston A, Harris CC: Cytochrome P450 IIE1 Genetic Polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk. *Cancer Reserach* 52: 6712-6715, 1992
34. Persson I, Johansson I, Bergling H: Genetic polymorphism of CYP2E1 in a Swedish population. Relationship to the occurrence of lung cancer. *FEBS Lett* 319: 207-211, 1993
35. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S: The human CYP2E1 gene and lung cancer: Dra I and Rsa I restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. *Carcinogenesis* 14: 85-88, 1992
36. Uematsu E, Kikuchi H, Abe T, Motomiya M, Ohmachi T, Sagami I, Watanabe M: Msp I polymorphism of the human CYP2E1 gene. *Nucleic Acides Res* 19: 5797-5797, 1991
37. Uematsu E, Kikuchi H, Motomiya M, Abe T, Sagami I, Ohmachi T, Wakui A, Kanamaru R, Watanabe M:

- Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P450 IIE1 gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn J Cancer Res* 82: 254-256, 1991
38. 이창희, 전진호, 박준한, 강동묵, 김대환, 문덕환, 이채언: 한국인의 스티렌 대사와 관련된 CYP2E1 유전적 다형성. *대한산업의학회지* 11: 161-173, 1999
39. 김현, 김원재, 이형래, 이무송, 김철환, 김로사, 남홍매: N-Acetyltransferase 2와 glutathione S-transferase mu 및 theta 다형성이 방광암 발생에 미치는 영향에 대한 환자-대조군 연구. *예방의학회지* 31: 275-284, 1988
40. Jourenkova N, Reinikanen M, Bouchardy C, Husgafvel-Pursiainen K, Dayer P, Benhamou S, Hirvonen A: Effects of glutathione S-transferases GSTM1 and GSTT1 genotypes on lung cancer risk in smokers. *Pharmacogenetics* 7: 515-518, 1997
41. Hirvonen A, Pelin K, Tammilehto L, Karjalainen A, Linnainmaa K: Inherited GSTM1 and NAT2 defects as concurrent risk modifiers in asbestos-related human malignant mesothelioma. *Cancer Res* 55: 2981-2983, 1995
42. To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Galan MC, Ramon JM, Rodamilans M, Huguet E, Corbella J: Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) polymorphisms and lung cancer risk among Northwestern Mediterraneans. *Carcinogenesis* 18:1529-1533, 1997
43. Kempkes M, Golka K, Reich S, Reckwitz T, Bolt HM: Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 null genotypes as potential risk factors for urothelial cancer of the bladder. *Arch Toxicol* 71: 123-126, 1996
44. Nelson HH, Wiencke JK, Christoani DC, Cheng TJ, Zuo ZF, Schwartz BS, Lee BK, Spitz MR, Wang M, Xu X, Kelsey KT: Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* 16: 1243-1245, 1995