

스티렌이 흰쥐의 간 조직 중 항산화계 효소 활성화에 미치는 영향

Effect of Styrene on Hepatic Activities of Antioxidant Enzymes in Rats

이종렬*, 김동훈**, 이상민**

백석문화대학교 보건행정과*, 경북도립대학교 응급구조과**

Jong-Ryol Lee(bellten@bscu.ac.kr)*, Dong Hun Kim(gpccent119@korea.kr)**,
Sang-Min Lee(goldfish333@daum.net)**

요약

스티렌은 플라스틱과 같은 생활용품에 광범위하게 사용되며, 건강에 위해를 야기시킬 수 있다. 스티렌이 간 조직 중 항산화계 효소 활성화에 미치는 영향을 확인하기 위해 50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 용량을 4일 동안 1일 2회 복강 투여하였다. 혈청 ALT 및 AST 활성 변동은 대조군에 비해 400 mg/kg 투여군에서 각각 약 1.2배 ($p<0.05$) 및 약 43.3% ($p<0.05$) 유의하게 증가하였다. 이는 투여용량이 증가할수록 간손상이 심화되었다는 것을 의미한다. MDA 함량 변동은 대조군에 비해 400 mg/kg 투여군에서 약 37.1% ($p<0.05$) 증가하였고, XO 활성도는 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군에서 약 15.2% 증가하였고, CYPdAH 활성도는 약 40.4% ($p<0.05$) 유의하게 증가하였다. 생성된 과잉의 활성산소종을 제거하기 위한 항산화계 효소인 GPx, CAT, SOD 및 GST 활성도는 대조군에 비해 400 mg/kg 투여군에서 각각 약 33.0% ($p<0.05$), 약 41.2% ($p<0.05$), 약 47.2% ($p<0.05$) 및 약 27.6% ($p<0.05$) 유의하게 감소하였다. GSH 함량은 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군에서 34.5% ($p<0.05$) 유의하게 감소하였고, 소모된 GSH 함량은 스티렌과 스티렌 중간대사산물에 의한 것으로 생각된다. 이상의 결과로 보아 스티렌의 대사과정에서 생성된 과잉의 활성산소종과 독성 중간대사산물에 의해 간 손상이 유발되었고, 이는 해독에 관여하는 항산화 효소계와 불균형과 관련이 있을 것으로 생각된다.

■ 중심어 : | 스티렌 | 활성산소종 | 항산화계 효소 | 간손상 |

Abstract

Styrene is a commercially important chemical used mainly in the production of raw materials and plastics. To determine the effect of styrene on hepatic activities of antioxidant enzymes, styrene was treated to Sprague-Dawley rats at 50 mg/kg, 200 mg/kg and 400 mg/kg (i.p) twice a day for 4 days. There were determined the significantly increased activities of serum AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), and the increased content of MDA (malondialdehyde) at the dose of 400 mg/kg compared to the control. The hepatic activities of XO (xanthine oxidase) and CYPdAH (cytochrome P450 dependant aniline oxidase) in the dose of 400 mg/kg compared to the dose of 200 mg/kg were more increased, which means the excessive ROS (reactive oxygen species)s were produced during Phase I. In addition, significantly decreased were rates of the hepatic activities of GPx (glutathione peroxidase), CAT (catalase), SOD (superoxide dismutase) and GST (glutathione S-transferase) at the dose of 400 mg/kg compared to the control. And, the group at the dose of 400 mg/kg showed more significantly decreased GSH (glutathione) level than the group at the dose of 200 mg/kg. The decrease in GSH could ascribe to the toxic metabolites of styrene, such as styrene oxide. In conclusion, these results indicate that the excessive ROSs and the toxic metabolites of styrene may result in the hepatotoxicity, and be related to their imbalanced activities for antioxidant enzymes.

■ keyword : | Styrene | Reactive Oxygen Species | Antioxidant Enzymes | Hepatotoxicity |

I. 서론

스티렌은 플라스틱이 사용되는 생활용품 및 건축용품 등을 제조하는데 사용되는 유기용제로 가교제 또는 희석용매 등으로서 광범위하게 사용되고 있으며, 소량으로 일부 담배 및 식품용기에도 포함되어 있다. 스티렌과 같은 유기용제는 물리적 특성 상 사용 동안 공기 중에 증발되어 장기간 작업 시 호흡기를 통해 고농도의 스티렌에 작업자들에게 폭로될 수 있다. 스티렌은 술을 마시거나 xylene 및 toluene과 같은 유기용제에 함께 폭로될 때 또는 일의 강도에 따라서 간 손상을 심화시킬 수 있다고 한다[1]. 이러한 조건은 간 대사 시 물질의 흡수, 저장 및 배설에 영향을 미치는 것을 의미한다. 특히, 중추신경계에 미치는 영향은 반복 폭로 보다는 고농도의 폭로에 영향을 더 크게 받으며, 말초신경계는 반복 폭로에 영향을 더 크게 받는다고 한다[2]. 동물 또는 사람의 경우 스티렌 흡수는 비교적 빠르게 전신에 넓게 분포되며 지방조직에 저장되어 천천히 제거되므로 장기간 반복적으로 폭로될 경우 체내 축적이 일어나 생체변환 과정에서 중간대사 산물의 독성에 의해 인체의 건강에 위해를 줄 수 있다. 스티렌에 노출 시 일반적인 증상은 눈, 코, 호흡수 증가 및 쉼쉼거림과 같은 호흡장애, 두통, 기억력 장애 및 어지러움 등이 나타난다[3]. 또한, 스티렌의 장기간 폭로는 돌연변이와 발암이 발생할 수 있고[4], 실험동물의 뇌의 monoamine oxidase (MAO)의 현저한 감소 및 인체 혈 중 콜레스테롤 수치를 증가시켜 심혈관계 질환을 유발할 수 있다고 한다[5]. 이와 같이 스티렌은 작업 과정 상 노출빈도가 높아 인체의 건강에 많은 문제를 야기시킬 수 있을 것으로 생각된다.

일반적으로 이물질 (xenobiotics)에 의한 생체 세포 조직 손상은 xenobiotics 자체 뿐만 아니라 이들의 대사과정에서 생성되는 반응성 활성 산소종에 의해 유발된다고 한다[6]. 특히, 활성산소 생성계에 의해 활성산소가 생성[7]되지만 활성산소 해독계인 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) 및 GST (glutathione S-transferase)에 의해 무독화됨으로써 활성산소에 의한 간 조직 손상을 보호하는 것으로 알려져 있다[8]. 그러나, 생체가 과잉의 xenobiotics에 노

출되거나 병적인 상태에서는 활성산소 생성계와 해독계 사이의 불균형에 의해 과잉의 활성산소가 생성되어 조직의 손상이 발생하는 것으로 알려져 있다[9].

특히, 스티렌의 전반적인 대사 속도결정 단계인 cytochrome P450에 의해 유해한 대사산물인 스티렌 7,8 oxide이 생성되고, 그 생성율이 높아질수록 독성 증가에 따른 조직손상은 더욱 심화된다고 한다[10]. 스티렌 관련 연구로는 흰쥐의 정자세포에서 500 mg/kg 투여한 흰쥐의 정자세포 수가 현저히 감소되었으며[11], 스티렌에 폭로된 마우스에서 생성된 과량의 활성산소가 해독에 관여하는 glutathione 함량을 감소시켰다고 한다[12]. 또한, 스티렌 대사과정에 관여하는 CYP2E1를 제거한 albino mice을 스티렌에 폭로한 경우 현저한 간 및 폐 조직에 독성이 나타났다고 한다[13]. 그러나, 아직까지 스티렌에 의한 간 조직 중의 활성산소 생성계 효소와 활성산소 해독계 효소들 간의 변동과 관련한 연구는 아직까지 미흡한 실정이다.

이에 본 연구에서는 실험동물에 스티렌을 반복적으로 투여하여 폭로시킨 후 혈청 중 ALT (alanine aminotransferase) 및 AST (aspartate aminotransferase)의 활성 정도를 확인하고, 간 조직 중의 malondialdehyde (MDA) 함량 변동과 활성산소의 생성계 효소 및 해독계 효소 활성변동을 상호 비교 검토하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물 및 사육방법

동물은 체중 230 ± 20 g의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종 수 흰쥐를 대한실험동물센터 (Korea)로부터 구입한 후 사육실 (온도: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도: $50 \pm 5\%$)에서 1주일 동안 적응시킨 후, 실험에 사용하였다. 실험동물은 대조군과 실험군으로 나누고 대조군과 각 실험군은 각 7 마리로 하였고, 실험군은 Gary 등 방법[14]에 의해 스티렌과 olive oil을 동량 혼합하여 1일 2회씩 (12h, 24h) 4일 동안 체중 kg 당 50 mg, 200 mg 및 400 mg을 복강으로 투여한 후 대조군과 함께 12시간 절식시켰

다. 본 동물 실험은 계명대학교 의과대학 동물실험 위원회의 승인을 받은 후, 실험동물 관리 및 이용에 관한 지침에 맞추어 실시하였다.

2. 효소활성 측정 시료 준비

실험동물의 처치는 효소 활성도의 일 중 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였으며, ether 마취 후 복부를 개복하고 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사시켰다. 적출한 간은 생리식염수로 세척하여 일정량의 적출 간 조직에 4배량의 0.25M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer potters (B. Braun, 멜중엔, 독일)를 이용하여 20% (w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 균질액을 초원심분리기 SCR 20 BB ((Hitachi, 도쿄, 일본)을 이용하여 600×g에서 10분, 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻고, 상층액을 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 얻어 이하의 실험에 사용하였다.

3. 혈청 ALT 및 AST 활성

혈액 생화학적 검사를 위해 혈액 일부를 colt activator (vacutainer tube BD, USA)에 주입하고 10-15분 동안 상온에 방치하여 응고시킨 후, 원심분리기 500 (한일과학, 대전, 한국)을 이용하여 2000×g에서 10분간 원심분리시켰다.

혈청 ALT (alanine aminotransferase) 활성도 및 AST(aspartate aminotransferase)활성도는 Reitman과 Freankel의 방법[15]에 따라 kit 시약 (아산 제약, 서울, 한국)을 사용하여 karmen unit로 나타내었다.

4. 간 조직 중 MDA 함량

Malondialdehyde (MDA) 함량은 Ohkawa 등의 방법[16]에 의해 일정량의 피부조직 마쇄균질액에 thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가하여 반응시킨 후 n-butanol을 가하여 TBA-reactive substance를 분광광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용

하여 532 nm에서 측정된 후 분자흡광계수 ($\epsilon = 1.5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)를 이용하여 피부조직 g 당 malo-ndialdehyde의 nmole로 나타내었다.

5. 간 조직 중 XO 및 CYPdAH 활성 측정

간 조직 중 xanthine oxidase (XO)의 활성은 Yoon 방법[17]에 의해 측정하였으며, 활성도는 분 당 단백질 1 mg이 기질인 xanthine에서 생성된 uric acid의 양을 nmole로 나타내었다. cytochrom P450 dependent aniline oxidase (CYPdAH)의 활성은 Bidlack과 Lowery 방법[18]에 따라 측정하였으며, 기질인 aniline을 사용하여 생성된 p-aminophenol을 phenol로 발색시켜 분광광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용하여 640 nm에서 측정하고 효소활성은 분자흡광계수 ($\epsilon = 6.22 \times \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$)을 이용하여 계산하였다. 단위는 단백질 1 mg이 1시간 동안 반응하여 생성된 p-aminophenol의 양을 nmole로 나타내었다.

6. 간 조직 중 GPx, CAT, SOD 및 GST 활성 측정

Glutathione peroxidase (GPx)의 활성은 Paglia와 Valentine 방법[19]에 따라 일정량의 효소원과 기질인 0.25 mM hydrogen peroxide를 가해 생성된 oxidized glutathione을 환원시키는데 소모된 NADPH를 분광광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용하여 측정하고, 분자흡광계수 ($\epsilon = 6.22 \times \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$)를 이용하여 1 mg의 단백질이 1분간 산화시킨 NADPH의 함량을 nmole로 효소활성도를 나타내었다. Catalase (CAT)의 활성은 Aebi 방법[20]에 따라 hydrogen peroxide를 기질로 환원되는 정도를 분광광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용하여 측정하고 분자흡광계수 ($\epsilon = 0.04 \times \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$)로 단백질 1 mg이 1분 동안 감소되는 hydrogen peroxide 양을 nmole로 나타내었다. Superoxide dismutase (SOD)의 활성은 Martin 등의 방법[21]에 따라 superoxide anion radical에 의해 hematoxylin으로부터 생성되는 hematin을 분광광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용하여 560 nm에서 측정하였으며, 대조군의 흡광도를 50% 억제

하는 효소량을 1 unit로 하여 1 mg의 단백질이 hematoxylin의 자동산화를 억제하는 정도를 U (Unit) 로 나타내었다. Glutathione S-transferase (GST) 의 활성은 Habig 등의 방법[22]에 따라 효소에 의해 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 GSH이 반응하여 생성되는 thioether의 흡광도를 분광광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용하여 340 nm에서 측정된 다음 흡광계수 ($\epsilon=9.5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 분 당 단백질 1 mg이 생성시킨 thioether의 μ mole로 효소 활성도를 나타내었다.

7. 간 조직 중 환원형 glutathione 함량

간 조직 중 환원형 glutathione (GSH)의 함량은 Ellman의 방법[23]에 따라 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)를 가해 생성되는 thiopental의 흡광도를 분광 광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용하여 측정하고 조직 1 g 당 GSH를 μ mole로 나타내었다.

8. 단백질 측정

간 조직 중 단백질 함량은 Lowry 등의 방법[24]에 따라 bovin serum albumin (BSA)을 표준용액으로 하여 분광광도계 UV-1601 (Shimadzu, 교토, 일본)을 사용하여 측정하였다.

9. 통계처리

데이터는 실험동물 7마리에 대한 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 IBM SPSS ver. 18.0 software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 혈청 중 ALT 및 AST 활성

50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 용량의 스티렌을 4일 동안 1일 2회 복강 투여한 후 혈청 ALT 및 AST 활성 변동을 나타낸 것은 [표 1]과 같다. 간 손상의 지표로 이용되는 ALT 활성은 대조군에 비해 200

mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 53% 및 1.2배 ($p<0.05$) 유의하게 증가하였고, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 31.0% 증가하였다. AST 활성은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 22.4% ($p<0.05$) 및 43.3% ($p<0.05$) 유의하게 증가하였다.

표 1. Changes of serum alanine aminotrasferase (ALT) and asparate aminotransferase (AST) activities in rat treated with styrene

TEST	GROUPS			
	C	50S	200S	400S
ALT	25.3±4.6a	27.3±7.1a	38.7±7.2a	56.7±10.2b
AST	76.9±10.7a	78.2±11.1a	94.2±15.1b	110.2±15.1b

Represents a significant difference at $p<0.05$ level compared with control. C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days. Unit: Karmen unit

3.2 간 조직 중 MDA 함량

50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 용량의 스티렌을 4일 동안 1일 2회 복강 투여한 후 간 조직 중 MDA 함량 변동을 나타낸 것이 [그림 1]과 같다. MDA 함량 변동은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 30.8% ($p<0.05$) 및 37.1% ($p<0.05$) 유의하게 증가하였다.

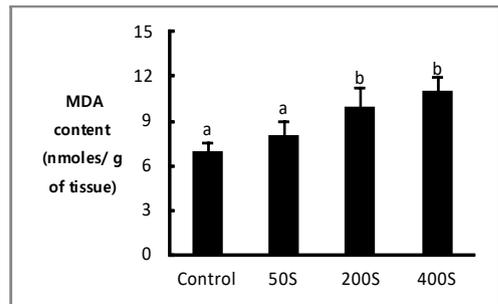


그림 1. Changes of hepatic MDA content in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the the figures indicates a significant difference ($p<0.05$). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

3.3 간 조직 중 XO 및 CYPdAH 활성

50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 용량의 스티렌을 4일 동안 1일 2회 복강 투여한 후 간 조직 중 XO 활성 및 CYPdAH 활성 변동을 나타낸 것이 [그림 2] 및 [그림 3]과 같다. XO 활성도는 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 19.0% ($p<0.05$) 및 37.0% ($p<0.05$) 유의하게 증가하였고, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 15.2% 증가하였다. 또한, 스티렌 대사에 관여하는 CYPdAH 활성도는 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 33.0% 및 79.8% ($p<0.05$) 유의하게 증가하였고, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 40.4% ($p<0.05$) 유의하게 증가하였다.

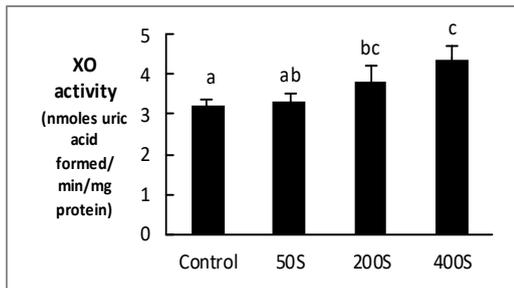


그림 2. Changes of hepatic XO activities in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the figures indicates a significant difference($p<0.05$). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

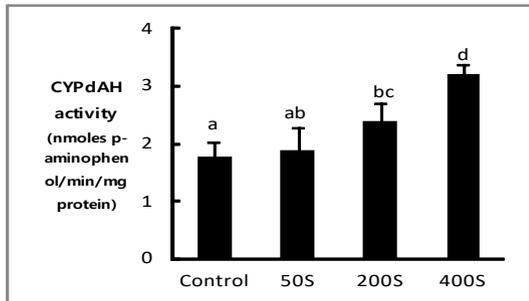


그림 3. Changes of hepatic CYPdAH activities in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the figures indicates a significant difference($p<0.05$). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

3.4 간 조직 중 GPx, CAT, SOD 및 GST 활성

50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 용량의 스티렌을 4일 동안 1일 2회 복강 투여한 간 조직 중 GPx, SOD, CAT 및 GST 활성 변동을 나타낸 것은 [그림 4-그림 6] 및 [그림 7]과 같다.

GPx 활성도는 대조군에 비해 400 mg/kg 투여군은 약 33.0% ($p<0.05$) 유의하게 감소하였고, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 약 18.1% 감소하는 경향이 나타났다. CAT 활성도는 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 약 21.0% ($p<0.05$) 및 41.2% ($p<0.05$) 유의하게 감소하였고, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 25.5% ($p<0.05$) 유의하게 감소하는 경향이 나타났다. SOD 활성도는 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 약 21.0% ($p<0.05$) 및 47.2% ($p<0.05$) 유의하게 감소하였다. GST 활성도는 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 약 14.8% ($p<0.05$) 및 27.6% ($p<0.05$) 유의하게 감소하였고, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 15.0% 감소하는 경향이 나타났다.

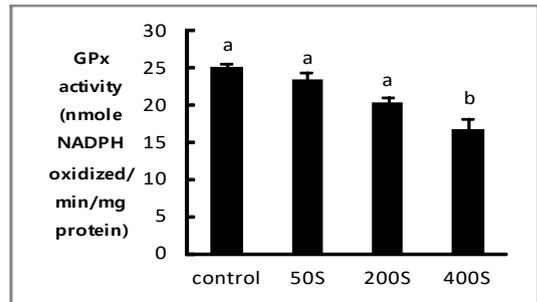


그림 4. Changes of hepatic GPx activities in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the figures indicates a significant difference($p<0.05$). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

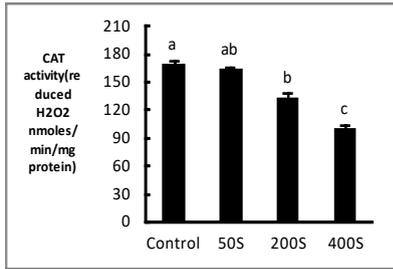


그림 5. Changes of hepatic CAT activities in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the figures indicates a significant difference(p<0.05). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

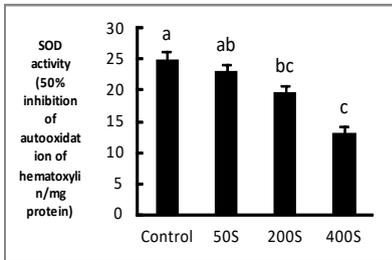


그림 6. Changes of hepatic SOD activities in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the figures indicates a significant difference(p<0.05). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

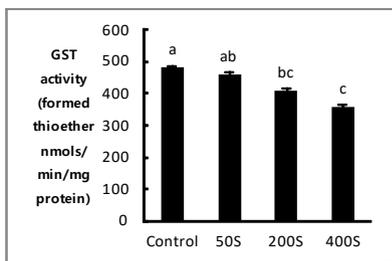


그림 7. Changes of hepatic GST activities in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the figures indicates a significant difference (p<0.05). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

3.5 간 조직 중 glutathione 함량

50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 용량의 스티렌을 4일 동안 1일 2회 복강 투여한 간 조직 중

glutathione 함량 변동을 나타낸 것이 [그림 8] 이다. Glutathione 함량은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 약 37.3% (p<0.05) 및 58.9% (p<0.05) 유의하게 감소하였고, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 34.5 % (p<0.05) 유의하게 감소하는 경향이 나타났다.

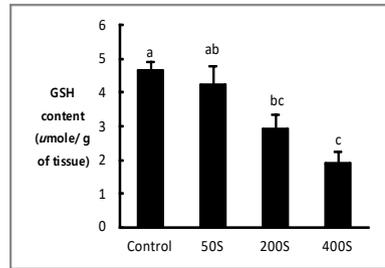


그림 8. Changes of hepatic contents of glutathione in rat treated with styrene for 4 days.

Values are mean±S.D.(n=7), different superscripts in the figures indicates a significant difference (p<0.05). C: control, 50S: group treated with styrene of 50 mg/kg for 4 days, 200S: group treated with styrene of 200 mg/kg for 4 days, 400S: group treated with styrene of 400 mg/kg for 4 days.

IV. 고찰

Xenobiotics의 일종인 스티렌에 노출 시 눈, 코 및 목의 자극, 호흡수 증가뿐만 아니라 쉼쉼거리고 같은 호흡장애, 두통, 기억력 장애 및 어지러움 등이 나타날 수 있고[3], 장기간 노출 시 돌연변이, 발암 유발[4] 및 혈 중 콜레스테롤 수치를 증가시켜 심혈관계 질환 등을 유발할 수 있다고 한다[5]. 그러나, 아직까지 스티렌의 활성산소 생성계 및 해독효소들과 관련한 간 조직의 손상 정도에 대한 보고는 미흡한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 간 손상에 미치는 스티렌의 영향을 알아보기 위해 간 조직 중 활성산소 생성계 및 해독계 효소들의 활성변동을 관찰하였다. 간 손상의 지표로 이용되는 ALT 활성은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 52.9% 및 85.7% (p<0.05) 유의하게 증가하였고, AST 활성은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 22.4% 및 43.3% (p<0.05) 유의하게 증가하였다. AST와 ALT

활성 결과를 볼 때 스티렌의 용량이 증가할수록 흰쥐에 간손상이 심화되었음을 확인할 수 있었고, 이러한 결과는 스티렌이 마우스의 간독성을 유발한다고 보고[12]와 일치하였다. 체내의 여러 자극에 의해 생성된 활성산소는 다가불포화지방산으로부터 lipid peroxide (LPO)을 생성하여 생체막을 손상시켜 세포막의 손상지표로 이용되는[16] MDA 함량은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 30.8% ($p < 0.05$) 및 37.1% ($p < 0.05$) 유의하게 증가하였다. 이는 스티렌의 용량이 증가할수록 세포막의 손상이 증가됨을 의미한다. 또한, Kaukiainen[25]에 의하면 유기용제의 노출기간이 길수록 대사중후군 발생 위험인자와의 관련이 높다고 하며, 스티렌에 장기적으로 노출된 근로자의 경우 혈 중 지질함량의 변화가 있다고 한다[26]. 이는 스티렌에 의한 심혈관 질환 및 당뇨병과 같은 대사성 질환도 유발될 수 있음을 암시하고 있으므로 추후 스티렌과 관련한 심혈관 질환에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각된다.

일반적으로 xenobiotics에 의한 생체 조직세포 손상은 xenobiotics 자체 뿐만 아니라 이들의 대사과정에서 생성되는 활성산소에 의해 유발된다고 한다[6]. 따라서, 스티렌 용량 별 XO 활성도는 투여 용량이 50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400mg/kg 으로 증가할수록 유의하게 증가하는 것으로 나타났고, 이는 스티렌 대사 과정에서 과잉의 활성산소가 생성되었다는 것을 의미한다. 또한, cytochrome P450은 스티렌의 대사과정에서 생성된 중간대사 산물인 styrene oxide에 대사에 관여하며, styrene oxide는 조직 손상을 유발하는 것을 알려져 있다[14]. CYPdAH 활성은 cytochrome P450 함량 변동을 대체하여 확인 가능하다고 알려져 있어[18], 스티렌 용량 별 CYPdAH 활성도를 확인한 결과 대조군 및 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 79.8% ($p < 0.05$) 및 40.4% ($p < 0.05$) 유의하게 증가하였다. 이러한 결과는 흰 쥐에 1-bromopropane 또는 chloroform과 같은 유기용제를 투여 시간 조직 중 그 함량이 급격히 증가한다는 보고[27][28]가 이를 뒷받침해 주고 있으며, 본 결과에서는 스티렌의 대사과정에서 생성된 활성산소 및 독성 중간대사산물에 의해 간 조직 손상이 발

생될 수 있다는 것을 암시해주고 있다. Xenobiotics의 해독 대사과정 phase II에 해당하는 간 조직 중 GPx, CAT, SOD 및 GST 활성 변동과 glutathione 함량 변동을 확인하였다. 스티렌 용량 별 GPx 활성도는 대조군에 비해 400 mg/kg 투여군은 약 33.0% ($p < 0.05$) 유의하게 감소하였고, CAT 활성도는 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 25.5% ($p < 0.05$) 유의하게 감소하는 경향이 나타났다. 또한, 스티렌 용량 별 SOD 활성도는 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 약 21.0% ($p < 0.05$) 및 47.2% ($p < 0.05$) 유의하게 감소하였고, GST 활성도는 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 약 14.8% ($p < 0.05$) 및 27.6% ($p < 0.05$) 유의하게 감소하였다. 특히, 생체가 과잉의 xenobiotics에 노출되거나 병적인 상태에서는 활성산소 생성계와 해독계 사이의 불균형에 의해 과잉의 활성산소가 생성되어 조직의 손상이 발생하는 것으로 알려져 있다[9]. 따라서, 활성산소 해독에 관여하는 항산화 효소인 GPx, CAT, SOD 및 GST가 조직손상 시 그 활성이 감소한다는 보고[29]를 감안해 볼 때, 스티렌 대사과정에서 생성된 활성산소가 해독체인 항산화 효소인 GPx, CAT, SOD 및 GST 활성을 억제시켰음을 암시하고 있다. 또한, 활성산소의 비단백성 해독 물질인 glutathione 함량 변동은 투여 용량이 증가할수록 감소하는 경향이 나타났으며, 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 34.5% ($p < 0.05$) 유의하게 감소하였다. 이러한 결과는 유기용제의 일종인 bromobenzene을 흰쥐에 투여 시 간 조직 GST 활성과 glutathione 함량이 급격히 감소된다는 연구 보고[30]와 일치하였으며, 스티렌에 의한 간 손상은 스티렌의 대사과정에서 생성된 styrene oxide의 해독에 관여하는 간 GST 활성 및 glutathione 함량에 상당한 영향을 받는다는 보고[31]가 있다. 따라서, 본 실험결과와 보고들을 볼 때, 스티렌의 대사 과정에 생성된 과잉의 활성산소가 해독 과정에 관여하는 GPx, CAT 및 SOD 뿐만 아니라 간 조직 GST 활성과 glutathione 함량이 스티렌의 독성 중간대사산물에 의해 억제되어 간 손상이 유발될 수 있음을 확인

할 수 있었다. 이상의 실험결과와 문헌을 종합해 볼 때 스티렌에 의한 간 손상은 스티렌의 대사과정에서 생성된 과잉의 활성산소가 phase II의 해독 대사과정을 억제시킴으로써 해독의 불균형으로 간손상이 유발되었고, 독성 중간대사산물인 styrene oxide에 의한 손상도 배제할 수 없다. 따라서, 추후 독성 중간대사산물인 styrene oxide와 간 손상 대사에 관여하는 효소들과의 직접적인 연관성에 대한 심도 있는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

본 연구에서는 스티렌이 혈 중 화학적 성분 변화 및 간 조직 중 활성산소 해독효소들과 관련한 간 조직의 손상에 미치는 영향을 확인하기 위해 50 mg/kg, 200 mg/kg 및 400 mg/kg 용량의 스티렌을 4일 동안 1일 2회 복강 투여하였다. 간 손상의 지표로 이용되는 ALT 활성은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 52.9% 및 85.7% ($p < 0.05$) 유의하게 증가하였고, AST 활성은 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군 및 400 mg/kg 투여군은 각각 22.4% 및 43.3% ($p < 0.05$) 유의하게 증가하였다. 간 조직 손상 정도의 원인을 확인하기 위한 활성산소 생성계 효소인 XO 활성도는 200 mg/kg 스티렌 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 15.2% 증가하였고, CYPdAH 활성도 200 mg/kg 투여군에 비해 400 mg/kg 투여군은 21.4% ($p < 0.05$) 유의하게 증가하였다. 이는 스티렌 대사 과정에 생성된 활성산소 및 독성 중간대사산물에 의해 간 조직의 손상이 야기되었다는 것을 의미한다. 이러한 간 조직의 손상이 활성산소의 해독체인 GPx, CAT, SOD 및 GST 활성과 관련된 것인지 확인한 결과, 스티렌 투여 용량이 증가할수록 GPx, CAT, SOD 및 GST 활성은 감소하였다. 또한, 유해산소의 비단백성 해독 물질인 glutathione 함량 변동도 스티렌의 투여 용량이 증가할수록 감소하였다. 이는 과잉으로 생성된 활성산소와 스티렌의 중간대사산물에 의해 해독에 관여하는 항산화 효소들의 활성이 억제되어 간 조직 손상이 야기되었음을 알 수 있다.

이상의 실험결과, 스티렌의 용량이 증가할수록 스티렌의 대사과정 중에 생성된 과잉의 활성산소가 phase II의 해독 대사과정을 억제시킴으로써 해독과정의 불균형으로 간손상이 유발되었고, 추가적으로 독성 중간대사산물인 styrene oxide에 관련한 손상 기전 및 대사성 증후군과 관련한 연구가 필요하다고 생각된다.

참고 문헌

- [1] H. K. Wilson, S. M. Rovertson, H. A. Waldron, and D. Gompertz, "Effect of alcohol on the kinetics of mandelic acid excretion in volunteers exposed to styrene vapour," *British Journal of Industrial Medicine*, Vol.40, No.1, pp.75-80, 1983.
- [2] N. Cherry and D. Gautrin, "Neurotoxic effects of styrene," *British Journal of Industrial Medicine*, Vol.47, No.1, pp.29-37, 1990.
- [3] 노동부, *건강진단 실무지침*, 제3권, 유해인자별 건강장해, 2006.
- [4] M. P. Guillemin and M. Berode, "Biological monitoring of styrene: A Review," *American Industrial Hygiene Association Journal*, Vol.49, No.10, pp.497-505, 1988.
- [5] R. Husain, S. P. Srivastava, M. Mushtag, and P. K. Seth, "Effect of styrene on levels of serotonin, noradrenaline, dopamine, and activity of acetyl cholinesterase and monoamine oxidase in rat brain," *Toxicology Letters*, Vol.7, No.1, pp.47-50, 1980.
- [6] G. H. Lee, S. W. Jin, S. J. Kim, T. H. Pham, J. H. Choi, and H. G. Jeong, "Tetrabromobisphenol a induces MMP-9 expression via NADPH oxidase and the activation of ROS, MAPK, and Akt pathways in human breast cancer MCF-7 cells," *Toxicological Research*, Vol.35, No.1, pp.93-101, 2019.
- [7] H. Xul, C. Li, O. Mozziconacci, R. Zhu, Y. Xu, Y. Tang, R. Chen, Y. Huang, J. M. Holzbeiberlein, C. schoneich, J. Huang, and B. Li, "Xan-

- thine oxidase-mediated oxidative stress promotes cancer cell-specific apoptosis," *Free Radical Biology & Medicine*, Vol.139, No.1, pp.70-79, 2019.
- [8] H. B. Kim and B. S. Yoo, "Propolis inhibits UVA-induced apoptosis of human keratinocyte HaCaT cells by scavenging ROS," *Toxicological Research*, Vol.32, No.4, pp.345-351, 2016.
- [9] A. J. Kattoor, A. Goel, and J. L. Mehta, "LOX-1: regulation, signaling and its role in athero-sclerosis," *Antioxidants*, Vol.8, No.7, pp.218-223, 2019.
- [10] 이창희, 전진호, 박준한, 강동묵, 김대환, 문덕환, 이채연, "한국인의 스티렌 대사와 관련된 Cytoc-hrome P450 II E1의 유전적 다형성," *대한산업의학회지*, 제11권, 제2호, pp.161-173, 1999.
- [11] Y. J. Chun, H. M. Lee, J. H. Han, and Y. K. Oh, "Styrene-mediated oxidative stresses in rat sperm cells," *Toxicological Research*, Vol.2, No.2, pp.129-134, 2005.
- [12] G. P. Carlson, "Comparison of the susceptibility of wild-type and CYP2E1 knockout mice to the hepatotoxic and pneumotoxic effects of styrene and styrene oxide," *Toxicology Letters*, Vol.150, No.3, pp.335-339, 2004.
- [13] M. G. Gadberry, D. B. DeNicola, and G. P. Carlson, "Pneumotoxicity and hepatotoxicity of styrene and styrene oxide," *Journal of Toxicology and Environmental Health*, Vol.48, No.3, pp.273-294, 1996.
- [14] G. P. Carlson, M. Turner, N. A. Mantick, M. Turner, and N. A. Mantick, "Effect of styrene and styrene oxide on glutathione-related antioxidant enzymes," *Toxicology*, Vol.227, No.3 pp.217-226, 2006.
- [15] S. Reitman and S. Frankel, "A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases," *American Journal of Clinical Pathology*, Vol.28, No.1, pp.56-63, 1957.
- [16] H. Ohkawa, N. Ohishi, and K. Yagi, "Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction," *Analytical Biochemistry*, Vol.95, No.1, pp.51-358, 1979.
- [17] J. G. Yoon, "A modified colorimetric assay for xanthine oxidase in rat liver extracts," *Keimyung College Research*, Vol.2, pp.295-308, 1984.
- [18] W. R. Bidlack and G. L. Lowery, "Multiple drug metabolism: p-nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation," *Bio-chemical Pharmacology*, Vol.31, No.3, pp.311-317, 1982.
- [19] D. E. Paglia and W. N. Valentine, "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase," *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, Vol.70, No.1, pp.158-169, 1967.
- [20] H. Aebi, "Methods of enzymatic analysis," NewYork: Academic Press, Vol.2, No.1, pp.35-43, 1974.
- [21] J. P. Martin, M. Dailey, and E. Sugarman, "Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol.255, No.2, pp.329-336, 1987.
- [22] W. H. Habig, M. J. Pabst, and W. B. Jakoby, "Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid and formation," *The Journal of Biological Chemistry*, Vol.249, No.2, pp.7130-7139, 1974.
- [23] G. L. Ellman, "Tissue sulfhydryl groups," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol.82, No.1, pp.70-77, 1959.
- [24] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, "Protein measurement with the folin phenol reagent," *The Journal of Biological Chemistry*, Vol.193, pp.265-275, 1951.
- [25] A. Kaukiainen, T. Vehmas, K. Rantala, M. Nurminen, R. Martikainen, and H. Taskinen, "Results of common laboratory tests in solvent exposed workers," *International Archives of Occupational and Environmental Health*, Vol.77, No.1, pp.39-46, 2004.

- [26] 허경화, 구정완, 원용립, 김민기, 고경선, 이미영, 김태균, 김기웅, "만성적인 스티렌 노출 근로자에 있어 대사증후군 유발에 관여하는 위험요인의 생리적 수준 변화," 한국산업위생학회지, 제19권, 제1호, pp.30-38, 2009.
- [27] 이상규, 정태천 "ICR 마우스 수컷에서 1-brom-opropane에 의한 cytochrome 4502E1의 유도," 환경독성보건학회지, 제24권, 제3호, pp.213-218, 2009.
- [28] S. Liu1, Y. Yao, S. Lu, K. Aldous, X. Ding, C. Mei1, and J. Gu, "The role of renal proximal tubule P450 enzymes in chloroform induced nephrotoxicity: utility of renal specific P450 reductase knockout mouse models," Toxicology and Applied Pharmacology, Vol.272, No.1, pp.230-237, 2013.
- [29] B. M. Moukette1, C. A. Pieme, P. C. N. Biapa, V. J. A. Moor, E. Berinyuy, and J. Y. Ngogang, "Afrostyrax lepidophyllus extracts exhibit in vitro free radical scavenging, antioxidant potential and protective properties against liver enzymes ion mediated oxidative damage," BMC Research Notes, Vol.8, No.1, pp.344-356, 2015.
- [30] S. Gopia, R. Vaddea, and O. H. Settya, "Protective effect of aqueous extract of Phyllanthus fraternus against bromobenzene induced changes on cytosolic glutathione S-transferase isozymes in rat liver," Biochemisrty and Biophysics Reports, Vol.10, No.1, pp.208-214, 2017.
- [31] T. Green, R. Lee, A. Toghill, S. Meadwcroft, V. Lund, and J. Foster, "The toxicity of styrene to the nasal epithelium of mice and rats: studies on the mode of action and relevance to humans," Chemico-biological Interactions, Vol.137, No.2, pp.185-202, 2001.

저 자 소 개

이 종 렬(Jong-Ryol Lee)

정회원



- 1998년 2월 : 계명대학교 공중 보건학과(보건학사)
- 2000년 2월 : 계명대학교 공중보건학과(보건학석사)
- 2004년 2월 : 계명대학교 공중보건학과(보건학박사)
- 2007년 3월 ~ 2008년 3월 : University of Tokyo 의학과 연구과 공공 건강의학전공 건강증진분야 연구원(Post - Doc)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 백석문화대학교 보건행정과 교수 <관심분야> : 보건교육, 건강증진, 보건의료

김 동 훈(Dong Hun Kim)

정회원

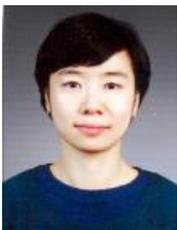


- 2016년 2월 : 대구가톨릭대학교 의학과 응급의학전공 석사
- 2019년 9월 : 대구가톨릭대학교 의학과 응급의학전공 박사
- 2020년 3월 ~ 현재 : 경북도립대학교 응급구조과 교수

<관심분야> : 응급구조, 응급의학

이 상 민(Sang-Min Lee)

정회원



- 1996년 2월 : 계명대학교 공중보건학과(보건학학사)
- 1999년 2월 : 계명대학교 공중보건학과(보건학석사)
- 2003년 8월 : 계명대학교 공중보건학과(보건학박사)
- 2005년 3월 ~ 현재 : 경북도립대학교 응급구조과 교수

<관심분야> : 병리독성, 생리활성, 응급의료