

일부 청소년의 요중 코티닌 농도와 자매염색분체 교환빈도

백동기, 장성실¹⁾, 이태용¹⁾, 노영만²⁾, 이연경³⁾, 조영채¹⁾, 이동배¹⁾

충남대학교 대학원, 충남대학교 의과대학 예방의학교실¹⁾, 가톨릭대학교 산업의학센터²⁾, 고려대학교 의과대학 예방의학교실³⁾

Concentration of Urinary Cotinine and Frequency of Sister Chromatid Exchange in Lymphocytes among Male Adolescents

Dong-Ki Paek, Seong-Sil Chang¹⁾, Tae-Yong Lee¹⁾, Young-Man Roh²⁾, Yeonkyeng Lee³⁾,
Young-Chae Cho¹⁾, Dong-Bae Lee¹⁾

Graduate School of Chungnam National University; Department of Preventive Medicine and public Health, College of Medicine,
Chungnam National University¹⁾; Catholic Industrial Medical Center, The Catholic University²⁾;
Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Korea University³⁾

Objectives : To evaluate the internal burden and hazardous effects associated with smoking in middle and high school students.

Methods : We analysed urinary cotinine(U-cotinine) concentrations and the frequency of Sister Chromatid Exchanges (SCE). A comparison was done of U-cotinine concentrations and the frequency of SCE in peripheral lymphocytes across school levels (middle vs. high) and smoking types (direct: daily & occasional smoking, indirect: usual indirect & non-smoking), in 122 males.

Results : The middle school student group comprised 6.8% daily smokers, 15.9% occasional smokers, 40.9% daily indirect smokers, and 35.4% nonsmokers, while the high school student group comprised 18.0%, 20.5%, 39.7%, and 21.8%, respectively. The U-cotinine concentration and the frequency of SCE among the middle school students were 79.11 $\mu\text{g/l}$ and 2.0 per cell, respectively, which were significantly lower than the 146.85 $\mu\text{g/l}$ ($p=0.078$) and 2.6 per cell

($p=0.005$) of the high school students. Among the 40 direct smokers, these two biomarkers were 235.66 $\mu\text{g/l}$ and 2.59 per cell, significantly higher than the 67.33 $\mu\text{g/l}$ ($p=0.0001$) and 2.1 per cell ($p=0.003$) among indirect smoking groups. The variation in individual U-cotinine concentration ranged widely in both the indirect and direct smoking groups.

Conclusion : Urinary cotinine concentrations and the frequency of Sister Chromatid Exchange seem to objectively and effectively evaluate student exposure whether it was direct or indirect smoking. Consequently, these biomarkers may be useful in monitoring the objective efficacy of anti-smoking programs in adolescent populations.

Korean J Prev Med 2001;34(3):269-276

Key Words: Direct/indirect smoking, Urinary cotinine, Sister chromatid exchanges

서 론

흡연은 예방이 가능한 질병과 사망의 주요 원인이며, 이러한 건강장해의 발생률은 흡연을 어린 나이에 시작할수록 높아진다는 것이 많은 연구결과에서 잘 알려져 있다. 흡연은 가장 유력한 발암원인의 하나로서, 대부분의 암유발에 관련되고, 고혈압, 고지질혈증, 심근경색, 관상동맥 질환, 만성폐쇄성 폐질환, 폐렴, 인플루

엔자 등의 질환에 중요한 위험인자이다.

최근에는 직접흡연 뿐 아니라, 환경성 흡연이나 수동 흡연 등의 간접흡연이 폐암의 위험을 증가시킨다고 알려졌는데, 간접흡연은 담배를 피우는 사람이 뿜어낸 담배연기를 타인이 들어 마시는 경우와 담배의 필터를 통해 걸러지지 않고 나오는 연기를 들어 마시는 경우가 있으며, 특히 후자의 경우가 해로운 물질이 2-3배 많기 때문에, 최근 선진국에서는 간접흡

연의 피해를 막기 위해 적극적인 금연정책들을 펼치고 있으며, 미국 환경청(United States Environmental Protection Agency: USEPA)은 간접흡연을 암 유발의 직접 영향을 끼치는 A급 발암 원인으로 규정하는 등, 직·간접흡연은 범국가적 차원에서 주요 보건문제로 부각되었다.

1950년대 말부터 진행되고 있는 직·간접흡연이 건강에 미치는 영향에 대한 예방 및 보건학적 연구동향은 근래에, 여러 나라에서 청소년을 포함한 다양한 인구집단의 흡연율과 건강영향평가가 주를

이루고 있다 [1]. 1996년 세계보건기구 (WHO)의 15세 이상 성인 남녀를 대상으로 한 국가간 흡연율 조사에 의하면, 87개 국가 중 우리나라 성인남자의 흡연율이 68.2%로 가장 높았는데 [2], 국내 연구자들의 조사 결과도 흡연율이 약 60-75% 되는 등 [3, 4], 우리나라 성인남자의 흡연율은 외국과 비교해서 매우 높은 상태에 있다 [5]. 청소년 흡연율의 경우도 점차 증가하는 성향을 보이고 있고, 외국과 비교하면, 고3 남학생의 흡연율은 우리나라가 41%로 미국 흑인 28.3%, 일본 28.3%, 영국 20.5%, 러시아 19.4%, 이스라엘 9.3%에 비해 월등히 높으며, 여학생의 흡연율은 7.5%로 영국의 16.5%나 미국의 17.4%보다는 낮으나 일본의 5.2%나 러시아의 4.8%보다는 높은 수준이다 [6]. 또한, 흡연시작연령도 점차 낮아지는 추세에 있어, 이들 청소년들의 직·간접흡연이 건강에 미치는 영향에 대한 평가와 관리가 절실한 실정이다.

그러나 직접흡연과는 달리 간접흡연의 경우는 비흡연자 개개인의 노출량을 평가하기가 매우 어렵기 때문에 직·간접흡연자에서 담배구성성분의 체내 부하량을 정량적으로 추정하는 몇 가지 생물학적 지표로서 호기중 일산화탄소, 혈중 카르복시헤모글로빈, 소변이나 타액 중 티오사이아네이트, 요중 하이드록시프로린 및 N-니트로소프로린 등이 있지만, 가장 광범하게 사용되고 있는 것은 니코틴의 대사산물인 코티닌을 혈액, 타액 및 소변 중에서 분석하는 것이다 [7]. 체액의 코티닌에 대해 각 시료간의 상관성을 분석한 결과, 혈중 코티닌과 요중 코티닌은 0.81, 혈중 코티닌과 타액 코티닌은 0.82 혹은 0.95 [8, 9]라는 연구가 있고, 체내에 흡수된 니코틴의 양은 혈중 코티닌이 가장 잘 반영하지만, 타액과 요중 코티닌이 혈중 코티닌 농도와 관련성이 높아서 흡연노출의 생물학적 지표로서 많이 쓰이고 있다.

이외에 직·간접흡연으로 인한 발암성 혹은 돌연변이성을 검증하기 위한 단기 시험법에는 핵산 또는 단백질의 구조변성(DNA or protein adduct), 취약부위검사(fragile site test), 혹은 자매염색분체

교환빈도(sister chromatid exchanges, SCE)를 분석하고 있다 [10].

코티닌에 대하여 흡연군은 물론 간접흡연군의 체액 내 기준농도(background concentration)가 인종, 성, 연령별로 차이를 보인다고 알려져 있으나, 우리나라 사람에서는 성과 연령별로 다양한 인구군을 대상으로 제시된 참고치가 아직 없다. 또한, 단기 유전독성시험의 하나인 자매염색분체 교환빈도(SCE)에 관한 연구도 최근 일부 연구자를 통해 일반 인구집단의 흡연에 대한 건강영향 평가나 주로 스타이렌과 같은 유기용제 및 발암성 중금속 취급 근로자를 대상으로 소수 연구되었을 뿐, 청소년들을 대상으로 연구한 것이 아직 없다.

본 연구는 성인기의 흡연 행태에 결정적인 영향을 주는 청소년들을 대상으로 직·간접흡연으로 인한 체내 부하량과 발암가능성의 건강영향을 파악한다든지 혹은 향후 청소년집단을 대상으로 한 금연정책의 효과를 평가하는 객관적 지표로 활용될 수 있는 요중 코티닌 농도와 말초림프구내의 자매염색분체 교환빈도(SCE)를 분석하여 이들 집단의 직·간접흡연에 대한 생물학적 모니터링 지표들의 참고치를 제시하고자 실시되었다.

조사 대상 및 방법

1. 조사대상

청소년들의 직·간접흡연량을 파악함에 있어 정확성과 편의성을 고려하여 중학교와 고등학교 각 2학년 학생들을 대상으로 하였다. 대상학교는 양호교사의 협조가 가능했던 논산시에 소재한 1개 고등학교와 천안시에 소재한 1개 중학교이었다. 양호교사는 각 학교에서 3개 학급을 선정하였고, 참여의사가 50% 미만인 3개 학급을 제외하고 중학교 1개 학급과 고등학교 2개 학급이 연구에 참여하였다. 선정된 3개 학급 학생들에게 연구의 취지를 설명한 후, 학부모들이 불참의사를 밝혔거나, 결석이나 조퇴 등의 사유로 자리에 없는 학생을 제외하여 중학생은 48명 중 45명, 고등학생은 85명 중 78명이 설문지

에 응답하였다.

조사시기는 중학교의 경우는 1999년 12월 9일, 고등학교는 12월 20일 오전에 시료채취까지 모두 완료하였다. 설문조사를 완료한 123명 중 소변과 혈액을 채취할 수 없었던 각각 1명과 10명을 제외하고 122명의 소변시료, 113명의 혈액시료를 분석하였다.

2. 설문조사

설문조사의 내용에는 연령(만), 키, 몸무게 등의 인구학적 특성과, 지난 30일간 본인의 흡연 경험, 평소의 흡연량, 담배구입경로 등의 직접흡연에 관한 사항과, 친한 친구들 중 흡연자의 수, 가족 구성원 중 흡연자, 가정 및 학교 내 밀폐된 공간에서 흡연자와의 접촉빈도 등의 간접흡연 노출 환경에 관한 특성을 포함하였다.

설문조사는 자기기입식으로 실시되었고, 내용 중 문의사항이 있는 학생은 손을 들어 질문서의 내용을 확인하였고, 그 응답은 모든 학생들이 함께 듣도록 함으로써 관찰자 편이(observer bias)를 최소화하였다. 참여자 123명 중 소변과 혈액이 모두 없는 1명을 제외한 122명의 설문을 분석하였다.

3. 흡연정도에 따른 대상자 분류

흡연정도에 따라 대상자를 분류하고자 조사일을 기준으로 최근 30일 이내 흡연한 경우를 흡연군으로 정의하고, 흡연군 중에서 월 평균 20개비 이상 흡연하는 경우를 상습흡연군, 월 평균 19개비 이하이면서 지난 달 동안 흡연한 경험이 있는 경우를 비상습흡연군으로 정의하였다. 최근 30일 이내 흡연한 적은 없지만, 흡연하는 친구가 5명 이상이거나 동거가족 중 흡연자가 있거나, 실내에서 타인 흡연에 주 4회 이상 노출되는 경우를 간접흡연군으로 정의하였고, 최근 흡연한 적이 없으면서, 흡연하는 친구가 5명 미만이고, 동거가족 중 흡연자가 없고 실내에서 타인 흡연에 주 3회 이하로 접촉하는 경우는 비흡연군으로 정의하였다.

4. 시료채취 및 보관

소변과 혈액시료는 한국건강관리협회 건강진단팀의 임상병리사가 채취하였다. 소변시료는 뚜껑이 있는 15 ml 용기에 넣고 냉동저장하여 운송한 후 분석시까지 -70℃이하에서 냉동보관하였다. 혈액시료는 말초정맥혈 2 ml를 5 cc 주사기로 채혈하여 헤파린 처리된 용기에 넣고 냉장보관하여 운송하고, 채혈 당일 림프구를 분리 배양하여 자매염색분체 교환빈도(SCE)를 분석하기 위한 염색까지의 실험 과정을 거쳐 1주일 이내에 슬라이드로 제작하여 상온에 보관하였으며, 제작일로부터 2개월 이내에 광학현미경으로 관찰하여 판독하였다. 소변시료의 분석자와 자매염색분체 교환빈도(SCE) 판독자는 대상자의 흡연여부에 대한 정보를 모르는 가운데 시료를 분석·판독하고 결과를 송부하여 분석자 및 판독자의 편이를 최소화하였다.

5. 요중 코티닌 분석 및 자매염색분체 교환빈도 분석

1) 요중 코티닌 분석

① 표준용액제조: 코티닌 표준용액의 원액은 메탄올에 2.0 g/L로 만들어 실험시마다 High performance liquid chromatography(HPLC) 이동상용액으로 희석하여 사용하였다. 표준용액의 농도는 31.25 µg/l, 62.5 µg/l, 312.5 µg/l, 625 µg/l, 875 µg/l, 3750 µg/l, 7500 µg/l, 15,000 µg/l의 8 단계가 사용되었다. 내부 표준물질은 리도카인(Randall, 1980)을 증류수에 1 g/L로 제조하였다.

② 회수율: 요중 코티닌 표준시료는 분석실험실에서 건강한 비흡연자의 뇨를 표준시료제작에 사용하였으며, 표준시료제작시 비흡연자의 소변에 코티닌을 31.25 µg/l에서 15,000 µg/l의 농도를 8단계로 첨가하고 전처리하여 회수율을 살펴본 것으로, 전체 회수율은 92.57%였다.

③ 시료 전처리: 실험대상자의 소변시료는 디클로로메탄을 이용한 액체-액체법으로 추출하고자, 소변시료 2 ml 들어 있는 시험관에 내부표준물질인 리도카인(Randall, 1980) 용액(1 g/L) 50 µl를 넣고

섞은 후, 다시 12.5 M KOH 용액을 0.15 ml 넣고 섞은 다음, 디클로로메탄을 3 ml 넣고 15분간 수평 교반기에서 흔들고, 10분간 5,000 rpm으로 원심분리하였다. 아래층의 유기용제층을 취하여 유리 시험관에 보관하고(1차 추출액), 남은 수층에 1.5 ml의 0.5 M HCl 첨가하여 흔들고, 다시 12.5 M KOH 용액을 0.15 ml 첨가하여 섞은 다음, 디클로로메탄을 2 ml 가한 후 5분간 수평 교반기에서 흔들고 원심분리하였다. 분리된 유기용제층을 1차 추출액이 담긴 유리 시험관에 넣어 합한 다음, 질소가스로 유기용제층을 증발 건조시켰다. HPLC 이동상용액 0.2 ml로 증발건조된 시료를 녹여준 후 50 µl를 HPLC에 주입하여 분석하였다.

④ HPLC 조건 및 비중보정: 이동상용액은 아세토니트릴과 완충액(50 mmol/L potassium phosphate + 0.8 mmol heptanesulfonic acid)을 30:70으로 혼합하여 pH 4.4로 맞추었다. HPLC (Waters 600E, USA)는 isocratic mode로 사용하고 헬륨가스로 이동상액을 sparging 하였다. 컬럼은 Novapak C₁₈(3.9 × 150 mm) 컬럼과 Bondapak C₁₈(3.9 × 300 mm) 컬럼을 이중 연결하여 사용하고 254 nm 파장으로 조정된 검출기(UV detector, Waters 441, 미국)를 이용하여 분석하였다. 각 시료의 비중은 농도 × 0.024(요비중-1.00)로 계산하여 보정하였다.

2) 자매염색분체 교환빈도(SCE) 분석

15% fetal bovine serum(FBS, GIBCO, 미국)을 포함한 RPMI 1640(RPMI, GIBCO, 미국) 9 ml에 상기의 헤파린 처리된 전혈 1 cc를 첨가하고 페니실린 - 스트렙토마이신과 2% phytohemagglutinin (PHA-M, DIFCO, 미국)을 가하여 37℃, 5% CO₂ incubator에서 총 72 시간 배양하였다. 배양 시작 24시간 후에 5-bromo-2-deoxyuridine(10 µg/ml)를 가하고, 배양한 세포를 수거하기 90 분 전에 Colcemid(GIBCO, 미국)를 최종농도 0.1 µg/ml가 되도록 첨가하였다. 72 시간의 배양이 끝나면 배양액을 conical tube (Falcon, 15 ml)에 옮겨 800 rpm에서 6분간 원심

분리한 후 상등액을 제거하고, 37℃ water bath에서 10분간 저장액(0.075 M KCl) 처리를 한 후 신선한 고정액(methanol:glacial acetic acid=3:1)을 가하여 8분간 원심분리한 후 세포를 수거하였다.

원심분리된 세포를 슬라이드에 떨어뜨리고, 슬라이드는 공기건조하여 자매염색분체 교환빈도(SCE)를 관찰하기 위해 Perry와 Wolff-FPG(fluorescence-plus-Giemsa) 염색법으로 염색하였다. 자매염색분체 교환빈도(SCE)는 광학현미경하에서 각각 30개의 2차 분열 중기의 염색체를 찾아 1000배율에서 20회씩 관찰하여 세포당 자매염색분체 교환빈도(SCE)를 산출하였다. 20회 현미경 관찰하여 얻은 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 Cronbach α는 0.898(0.891-0.899)이었다.

6. 자료분석방법

청소년들 중 중·고등학생의 흡연관련 특성에 관한 통계적 유의성은 chi-square test로 분석하였고, 요중 코티닌 양이 현저히 높은 1명을 제외하고, 제반 흡연 정도에 따라 요중 코티닌의 농도와 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 평균값, 중앙값, 최소값, 최대값을 구하였다. 또한 직접흡연군과 간접흡연군에서의 흡연관련 특성과 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 관련성은 분산분석을 실시하였다. 분석시 통계프로그램은 SAS windows version 6.12를 사용하였다.

결 과

1. 조사대상자들의 흡연관련 특성

연구대상의 평균연령은 16.6 세(14-20 세)였다. 상습흡연군은 중학생 6.8%, 고등학생 18.0%로 고등학생이 많았고, 비흡연군은 중학생 36.4%, 고등학생 21.8%로 중학생이 많았다 (p=0.027). 흡연친구 수는 중학생의 경우 84.1%가 5명 미만, 고등학생의 경우 65.4%가 6명 이상의 흡연친구가 있다고 응답하여 고등학생에서 흡연하는 친구수가 많았다 (p=0.001). 가족 내 흡연자 수와 집안에서의 접촉 횟수는 통계적으로 차이를 보이지 않았다. 담

배의 출처를 비교해 보면, 친구나 직접 구입하는 경우가 고등학생이 82.6%로 중학생보다 많았으나 통계적으로 유의하지는 않았다 ($p=0.075$) (Table 1).

2. 조사대상자들의 요중 코티닌 농도와 자매염색분체 교환빈도 (SCE)

중학생의 요중 코티닌 농도의 평균은 $79.1 \mu\text{g/l}$ 로 고등학생의 $146.9 \mu\text{g/l}$ 보다 낮은 값을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 세포당 자매염색분체 교환빈도(SCE)는 중학생이 2.0 개로 고등학생의 2.4 개보다 유의하게 낮았다 ($p=0.005$)(Table 2).

3. 흡연여부에 따른 요중 코티닌 농도와 자매염색분체 교환빈도 (SCE)

흡연군과 간접흡연군에서 두 생물학적 지표의 평균을 비교한 결과, 간접흡연군의 요중 코티닌 평균농도는 $67.3 \mu\text{g/l}$, 직접흡연군은 $235.7 \mu\text{g/l}$ 로 요중 코티닌 농도가 매우 유의한 차이를 보였다 ($p=0.000$). 흡연정도에 따른 비교에서, 상습흡연군과 비상습흡연군의 요중 코티닌 평균농도는 $403.0 \mu\text{g/l}$ 과 $120.0 \mu\text{g/l}$ 으로 상습흡연군에서 유의하게 높지만 ($p=0.0046$), 간접흡연군과 비흡연군에서의 요중 코티닌 농도는 $62.9 \mu\text{g/l}$ 과 $73.0 \mu\text{g/l}$ 로 유의한 차이가 없었다 (Table 3).

자매염색분체 교환빈도(SCE)의 경우, 직접흡연군은 세포당 2.6 개로, 간접흡연군 2.1 개보다 유의하게 높았다 ($p=0.003$). 흡연정도에 따른 비교에서는, 상습흡연군과 비상습흡연군, 간접흡연군과 비흡연군의 자매염색분체 교환빈도 (SCE)의 평균에서 유의한 차이가 없었다

(Table 4).

흡연정도에 따른 요중 코티닌의 분포를 빈도로 나타낸 결과, 상습흡연군은 $10 \mu\text{g/l}$ 부근에 2명을 제외하고 $100 \mu\text{g/l}$ 부근부터 비교적 높은 농도의 요중 코티닌에 분포하였고 비상습흡연군은 $1\sim 2 \mu\text{g/l}$ 부근에서 최고 빈도를 보였으며, 그 이외에는 모두 $100 \mu\text{g/l}$ 을 약간 넘는 수준 이하에 분포하였다. 흡연군은 간접흡연군보다 비교적 높은 값을 보였으나, 흡연여부에 따라 명확한 분포상의 경계를 나타

내지는 않았다 (Figure 1).

자매염색분체 교환빈도(SCE)의 분포는 상습흡연군은 1.6 개부터 3.4 개까지 분포하였고, 비상습흡연군도 유사하였으나 3.8 개 이상에 2명 정도가 분포하였다. 간접흡연군은 1.2 개부터 23.8 개까지 넓은 분포를 보였는데 1.6 개에서 최대수를 나타내고 모두 3.2 개 미만에 분포하였으나, 흡연군의 분포와 명확한 경계를 나타내지는 않았다 (Figure 2).

Table 1. Characteristics of smoking according to school

	Middle school	High school	Total	No(%)	p-value**
Smoking status*					0.027
Daily smoking	3(6.8)	14(18.0)	17(13.9)		
Occasional smoking	7(15.9)	16(20.5)	23(18.9)		
Usual indirect smoking	18(40.9)	31(39.7)	49(40.2)		
No smoking	16(36.4)	17(21.8)	33(27.0)		
Number of smoking friends					0.001
Less than five	37(84.1)	27(34.6)	64(52.5)		
From six to ten	3(6.8)	25(32.1)	28(23.0)		
More than ten	4(9.1)	26(33.3)	30(24.6)		
Contact of smoker out of the house					0.630
Unusual	25(56.8)	39(50.0)	64(52.5)		
Sometimes in a week	9 (20.5)	15 (19.2)	24 (19.7)		
Nearly everyday	10 (22.7)	4 (30.8)	14 (11.5)		
Number of smoking family members					0.162
None	16 (36.4)	31 (39.7)	47 (38.5)		
One	19 (43.2)	35 (44.9)	54 (44.3)		
More than one	9 (20.4)	12 (15.4)	21 (17.2)		
Contact of smoker in the house					0.770
Unusual	21 (47.7)	49 (62.8)	70 (57.4)		
Sometimes in a week	8 (18.2)	14 (18.0)	22 (18.0)		
Nearly everyday	15 (34.1)	15 (19.2)	30 (24.6)		
Total	44 (100)	78 (100)	122 (100)		
Source of cigarette					0.075
Friend or self-purchasing	4 (44.4)	19 (82.6)	23 (71.9)		
Family or etc	5 (55.6)	4 (17.4)	9 (28.1)		
Subtotal	9 (100)	23 (100)	32 (100)		

* Daily smoking, self-smoking experienced within recent 30 days and smoking more than 20 (one pack) pieces per month; Occasional smoking, self-smoking experienced within recent 30 days and smoking less than 19 pieces per month; Usual indirect smoking, no self-smoking experienced within 30 days but who have smoking more than 1 family member or 5 smoking friends or who expose others smoking more than 3 times a week in closed spaces; No smoking, no smoking experienced within 30 days.

** Comparison between school levels

Table 2. Concentration of urinary cotinine and frequency of sister chromatid exchanges per cell among the subjects by school (mean ± SD)

	n	Middle school	n	High school	N	Total	p-value**
Urinary cotinine($\mu\text{g/l}$)	43	79.1 ± 146.2	78	146.9 ± 224.8	121	122.8 ± 202.4	0.078
Mean SCE	42	2.0 ± 0.6	71	2.4 ± 0.7	113	2.3 ± 0.7	0.005

** t-test compared between school status

Table 3. Concentration of urinary cotinine according to smoking status

Smoking status	Median	Range	Mean±SD	p-value
Direct smoking	115.0	1.8 ~ 1216.4	235.7±287.8	
Daily smoking	327.2	9.7 ~ 1216.4	403.0±357.8	0.005*
Occasional smoking	57.9	1.8 ~ 567.4	120.0±126.7	0.000**
Indirect smoking	33.1	1.8 ~ 533.0	67.3±110.5	
Usual indirect smoking	27.6	1.8 ~ 533.0	62.9±111.3	0.680*
No smoking	43.0	1.8 ~ 532.1	73.0±103.0	

* T-test comparison between subgroups within each direct(or indirect) smoking group

** T-test comparison between direct and indirect smoking subtotal groups

Table 4. Frequency of sister chromatid exchanges per cell according to smoking status

Smoking status	Median	Range	Mean±SD	p-value
Direct smoking	2.6	1.7 ~ 4.2	2.6±0.6	
Daily smoking	2.6	1.7 ~ 3.5	2.6±0.9	0.694*
Occasional smoking	2.6	1.7 ~ 4.2	2.6±0.7	0.003**
Indirect smoking	1.8	1.1 ~ 3.9	2.1±0.7	
Usual indirect smoking	1.8	1.2 ~ 3.9	2.1±0.7	0.620*
No smoking	1.9	1.1 ~ 3.3	2.1±0.6	

* T-test comparison between subgroups within each direct(or indirect) smoking group

** T-test comparison between direct and indirect smoking subtotal groups

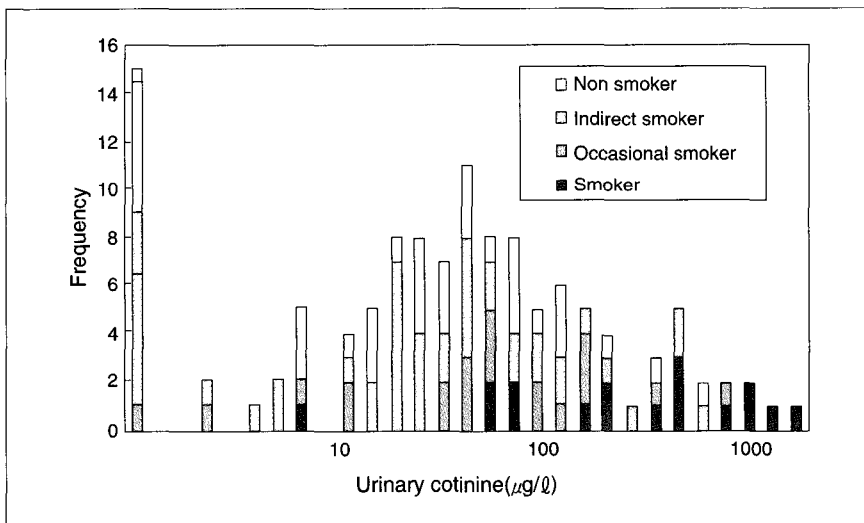


Figure 1. Concentration of urinary cotinine according to smoking status.

4. 학군 및 흡연정도에 따른 요중 코티닌 농도와 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 관계

중고교에 상관없이 상습흡연군에서 가장 높은 요중 코티닌의 농도를 나타내었다. 중학생의 경우, 상습흡연군이 가장 높은 292.5 µg/l 이었으나 흡연정도에 따른 요중 코티닌 배설량 증가경향은 통계적인 유의성을 보이지 않았다 (p=0.067). 고등학생의 경우는 89.2~426.7 µg/l 로 흡연정도가 증가함에 따라 코티닌 배설량에

매우 유의한 차이를 보였고 상습흡연군이 가장 높은 농도를 보였다(p=0.0001) (Table 5).

자매염색분체 교환빈도(SCE)의 경우, 전체에서 흡연정도에 따라 2.1~2.8 개로 증가하는 경향이었으나 통계적으로 유의하지 않았다(p=0.068). 중학생은 1.9~2.5 개로 흡연정도에 따라 유의하게 증가하였고(p=0.023), 고등학생은 2.2~2.7 개로, 흡연정도에 따른 증가경향은 유의하지 않았다 (Table 6).

고 찰

본 연구는 날로 증가하는 청소년의 직·간접흡연에 대한 건강영향 평가에 기준이 될 수 있도록, 일부 중·고등학생을 대상으로 생물학적 지표로서 요중 코티닌과 말초혈액 림프구 중 자매염색분체 교환빈도(SCE)를 분석하여 청소년기의 참고치를 제시하고자 하였다.

한국금연운동협의회 [6]에서 1988년부터 매 2년 간격으로 전국 120 개 중·고등학교 학생 6000 명을 조사한 결과인 중학교 2학년 남학생의 1997년 3.8%, 1999년 8.7%와, 고등학교 2학년 남학생은 1997년 41.0%, 1999년 31.1%와 비교하면, 고등학생의 경우는 동일 집단을 대상으로 한 다른 연구의 흡연율과 유사한 반면, 중학생의 경우는 본 조사에서의 흡연율이 높았다. 이는 연구마다 흡연의 정의가 다소 차이가 있거나, 흡연율의 증감추세를 반영한 것 이외에도, 대상자의 지역적·사회경제적 특성이 달랐기 때문이라고 사료된다. 본 연구의 자료수집시기는 12월 중순임을 감안할 때, 중학생에서 흡연율의 변동이 학년말에 더 유동적일 수도 있고, 연구대상의 참여에 부모의 동의가 선제되어 있었는데, 중학생인 경우 부모의 동의가 고등학생보다 저조하였으므로, 중학생의 경우 자녀의 흡연이 의심되면 연구참여를 독려하여 흡연자의 연구참여가 비흡연자보다 많았던 것으로 사료된다.

고등학생의 경우, 흡연량에 따른 네 군의 코티닌 값은 각각 426.7 µg/dl로부터 62.1 µg/dl까지 매우 유의한 차이를 보였으나(p=0.0001), 중학생의 경우는 292.4 µg/dl로부터 55.8 µg/dl까지 분포하였고 흡연량에 따라 요중 코티닌이 증가하는 경향이 통계적으로 유의하지 않았다 (p=0.067). 비흡연군의 요중 코티닌 농도가 간접흡연군과 그다지 차이가 없다는 점, 고등학생에서는 간접흡연군이 비흡연군보다 낮은 요중 코티닌 값을 보인 것은 고등학생에서의 간접흡연이 매우 심각함을 시사하는 것으로, 겨울철 밀폐된 교실 및 화장실에서 비흡연자도 등교 후 본인

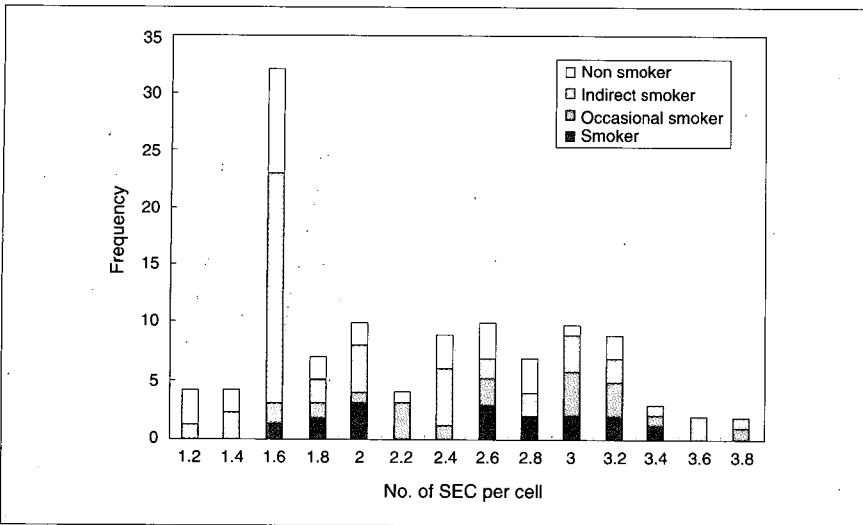


Figure 2. Frequency of sister chromatid exchanges according to smoking status.

Table 5. Concentration of urinary cotinine according to school and smoking status (mean±SD, unit:µg/l)

	n	Middle school	n	High school
Daily smoking	3	292.5±444.3	14	426.7±351.9
Occasional smoking	7	76.6±101.6	16	127.5±136.3
Usual indirect smoking	17	64.4±124.6	31	62.1±105.5
No smoking	16	55.8± 54.0	17	89.2±133.8
p-value		0.067		0.000

Table 6. Frequency of sister chromatid exchanges per cell according to school and smoking status (mean±SD)

	n	Middle school	n	High school
Daily smoking	3	2.5±0.6	13	2.6±0.6
Occasional smoking	7	2.5±0.6	12	2.7±0.7
Usual indirect smoking	17	1.9±0.5	30	2.3±0.8
No smoking	15	1.9±0.6	16	2.2±0.7
p-value		0.023		0.234

이 알지 못하는 사이에 상당량 간접적인 흡연을 할 가능성이 있으며, 최종 흡연자를 접촉한 시간이 감안되지 못한 점이나 응답의 진실성에 대한 의문 등 설문지를 통한 노출량의 추정이 비정확함을 반영한 것이라고 사료된다.

외국에서 연구한 요중 코티닌 농도의 참고치를 보면, Jarvis 등 [8]은 46명의 완전한 비흡연자의 요중 코티닌이 1.5 µg/l, 간접흡연군 7.7 µg/l, 흡연군 1,390 µg/l 라 하였고 Thomson 등 [11]도 85명 성인 남자 비흡연자에서 19.7 µg/l, 9명의 흡연자에서 2,050 µg/l 라 하였으며, Cummings 등 [12]에 의하면 4일 이상

노출이 없는 경우는 6.2 µg/l, 지난 4일간 2-4회 노출된 경우 7.8 µg/l, 3-5회 노출된 경우 9.8 µg/l, 6회 이상인 경우는 12.5 µg/l 를 보였고, Michael 등 [13]은 비흡연군에서 6.0 µg/l, 간접흡연군에서 9.2 µg/l, 하루 10 개비 미만자에서 646.8 µg/l, 10 개비 이상자에서 1100.7 µg/l 으로 보고하였다. 영유아를 대상으로 한 연구[14]에서는 아기가 있는 방에서 흡연을 하지 않는 경우 아기의 요중 코티닌은 2.36 µg/l, 아기가 있는 방에서 흡연을 하는 경우 3.07 µg/l 로, 본 연구의 간접흡연군 및 비흡연군의 요중 코티닌 농도는 이러한 연구들의 결과보다 10 배

정도 높지만, 흡연자의 요중 코티닌 농도는 비교적 낮게 나타났다. 본 연구의 결과, 흡연여부에 따른 코티닌의 차이가 유의하지만, 흡연정도에 따른 차이가 그다지 현저하지 않았고, 특히 간접흡연군 및 비흡연군의 요중 코티닌 농도가 외국과 비교할 때, 매우 높은 상태임을 볼 때, 우리나라 청소년의 간접흡연으로 인한 체내 니코틴 부하량은 매우 심각한 상태임을 알 수 있다. 또한, 중학생 흡연자의 44.4%와 고등학생 흡연자의 82.6%가 담배를 직접 구입하거나 혹은 친구를 통해 얻으며, 중학생의 15.9%, 고등학생의 65.4%에서 흡연한 친구수가 5명 이상이라는 응답을 고려할 때, 학교 금연프로그램을 적용함에 있어서 청소년에 대한 담배판매규제를 실제로 정착시키기 위한 범국가적인 차원의 정책적인 배려도 반드시 포함되어야 할 것이다.

자매염색분체 교환빈도(SCE)의 경우는 중학생에서는 직·간접흡연량에 따라 세포당 평균 2.5 개로부터 1.9개까지 유의한 변화를 보였으나(p=0.023), 고등학생의 경우는 2.6 개로부터 2.2 개까지로 그러한 경향이 유의하지 않았다. 외국의 연구와 비교시, 비흡연군으로서 소아를 대상으로 간접흡연에 대한 영향을 연구한 Tang 등 [15]에 의하면, 자매염색분체 교환빈도(SCE)는 간접흡연정도가 심한 소아군이 약한 소아군보다 통계적으로 유의하지 않으나 자매염색분체 교환빈도가 많은 경향을 보였고(p=0.076), 성인 비흡연자를 대상으로 한 Gorgels 등 [16]의 연구에 따르면 주당 평균 70 시간 정도 간접흡연을 하는 사람들의 자매염색분체 교환빈도(SCE)는 4.66±0.05로 주당 평균 5 시간정도 간접흡연하는 군의 4.68±0.04와 비슷하였다 (p=0.80).

위 두 연구자의 결과를 볼 때, 소아에서는 간접흡연에 의한 조기 발암성평가로서 자매염색분체 교환빈도(SCE)가 유용하였으나, 성인에서는 현저한 간접흡연 노출시간의 차이에도 불구하고 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 분별능이 유의하지 못하였다. 본 연구에 따르면, 중학생과 달리, 고등학생에서는 흡연량에 따른 자

매염색분체 교환빈도(SCE)의 유의한 차이를 보이지 못했는데, 이는 상기의 두 연구에서 시사하는 바와 같이 성인기에는 자매염색분체 교환빈도(SCE)가 증가하는 경향이 간접흡연 노출량의 영향을 증가하기 때문인지 혹은 고등학생에서는 거짓응답이 더 많은 것인지 혹은 간접흡연으로 인한 발암성의 위험은 거의 직접흡연군과 동일한 수준이기 때문인지 알 수가 없었다.

더욱이 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 변이에 영향을 주는 요인으로 기타 다른 유해물질에의 노출, 개인 감수성, 유전자 손상 및 복구에 관련된 유전적 변이 등 이외에 열, 산소 등이 증가하면 염색체 이상 빈도도 증가되기 때문에, 한 연구 내에서 연구대상 중의 사례-비교군에 대한 상대적인 위험도를 추정하는데는 유용할 지라도 연구 간, 혹은 대상집단 간의 정량적인 비교가 어렵고, 특히 노출정도를 비교적 정확히 반영하는 요중 코티닌과 자매염색분체 교환빈도(SCE)와의 관련성은 이러한 제반 요인을 감안하지 않고는 제대로 분석할 수 없다. 다만, 흡연 정도에 따라서 요중 코티닌 농도와 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 단순상관계수를 분석한 결과는 각각 0.451(p=0.001)과 0.296(p=0.001)로 유의한 관련성을 보였고, 두 생물학적 지표사이의 상관계수는 유의하지 않았다.

본 연구의 제한점은 연구의 편의상 대상이 일부 중·고등학생이므로 전체 청소년의 상황을 대표하는 데에 무리가 있다는 것과, 설문서에 흡연관련 사항 중 마지막 흡연 후 몇 시간이 경과되었는지 혹은 최종 흡연량/노출량이 얼마인지 조사되지 않아서 두 가지 생물학적 지표인 요중 코티닌이나 림프구 중 자매염색분체 교환빈도(SCE) 분석에 노출시점을 감안하여 관련성을 분석하지 못한 것이다. 또한 설문서 상 간접흡연자로 분류된 학생 중 상당수가 직접흡연을 의심할 만큼의 요중 코티닌 값을 가지고 있었으나 통상의 설문지 조사에서의 분류 오류 정도로 감안하여 재분류를 시도하지 않았다.

이와 같은 제한점에도 불구하고 본 연

구는 일부 청소년을 대상으로 체내 부하량과 조기 발암성을 평가하는 지표를 통해 이들 집단에서의 직·간접흡연의 심각성을 제시하였고, 학교단위의 금연정책의 필요성과 객관적인 지표를 통한 금연프로그램의 효과판정이 가능하다는 것을 피력하였다. 우리나라와 같이 성인기의 흡연율이 높은 경우에는 장기적인 안목에서 청소년을 대상으로 한 보다 강력한 금연정책이 정착되어야 하고, 특히 학교 단위 담배사용 예방을 위한 지침의 개발 및 금연 프로그램이 정착하는데 있어서 이들 객관적인 생물학적 지표를 활용하여 프로그램 효과를 보다 정확히 평가하는 일은 장기적인 안목에서 다양한 인구 집단에서 흡연으로 인한 건강영향을 조기에 규명하여 질병을 예방할 뿐만 아니라 범국가적인 차원에서 흡연율을 낮추는데 기여할 것이다.

결론

일부 청소년들을 대상으로 직·간접흡연으로 인한 니코틴의 체내 부하량 및 흡연으로 인한 발암성을 예측하는 참고치를 제시하고자, 중·고등학생 122 명에서 생물학적 모니터링 지표인 요중 코티닌과 자매염색분체 교환빈도(SCE)를 분석한 결과는 다음과 같다.

직·간접흡연량을 연구자의 조작적 정의에 따라 분류한 결과, 중학생에서 상습흡연군, 비상습흡연군, 간접흡연군, 비흡연군은 6.8%, 15.9%, 40.9%, 35.4%이었고 고등학생에서는 18.0%, 20.5%, 39.7%, 21.8%이었다. 중학생의 요중 코티닌 배설량의 평균은 79.11 $\mu\text{g/l}$ 로 고등학생의 146.85 $\mu\text{g/l}$ 보다 낮은 경향이 있으나 통계적으로 유의하지 않았다(p=0.078). 세포당 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 평균값은 고등학생에서 2.4로 중학생의 2.0보다 유의하게 높았다(p=0.005). 흡연자의 요중 코티닌 평균농도는 235.66 $\mu\text{g/l}$ 로서, 간접흡연자의 67.33 $\mu\text{g/l}$ 보다 유의하게 높았고(p=0.000), 자매염색분체 교환빈도(SCE)의 경우도 직접흡연자의 경우 세포당 2.6

개로 간접흡연자의 2.1개보다 유의하게 높았다(p=0.003). 간접흡연군 및 비흡연군의 요중 코티닌 농도는 매우 넓은 분포로 직접흡연군과 상당 부분 겹쳐 있었으며, 일부 간접흡연군의 자매염색분체 교환빈도(SCE)가 흡연군과 유사하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 연구대상에서 두 생물학적 지표는 흡연여부에 따라 유의한 차이를 보였다. 본 연구는 이들 청소년에서 비흡연군을 포함한 간접흡연군의 노출량이 심각함을 제시하여 이러한 객관적인 지표를 활용한 강력하고 효율적인 금연프로그램이 필요함을 시사하였다.

감사의 글

연구에 적극 협조해 주신 충남지부 양호교사협의회장 허임순 선생님과 김숙경 선생님, 김종복 선생님, 코티닌 분석에 큰 도움을 주신 가톨릭대학교 의과대학 여의도성모병원 산업의학센터 한진구 선생님, 시료채취에 도움을 주신 한국건강관리협회 대전센터 조영표 부장님, 자매염색분체 교환빈도(SCE) 분석에 도움을 주신 산업안전보건연구원 산업화학물질연구센터 맹승희 선생님, 그리고 논문편집에 도움주신 권윤형 선생님께 감사드립니다.

참고문헌

1. Boffetta P, Nyberg F. Reply letter: Multicenter case-control study of exposure to environmental tobacco smoke and lung cancer in Europe. *Monogr Natl Cancer Inst* 1995; 91(9): 803-804
2. Wallace RB. Maxcy-Rosenau-Last Public Health & Preventive Medicine. 14th Ed. Prentice-Hall International Inc. USA, 1998
3. Lee YJ, Rhee JA. Smoking status and its related factors in male students of middle and high schools in Kwangju. *Korean J Prev Med* 1993; 26(3): 359-370(Korean)
4. 보건복지부. 보건복지 통계연보. 1998
5. Han JH, Kim M, Oh DH, Ohrr HC. A study on the relationship between smoking habits and BMI of adult males. *Korean J Epidemiology* 1998; 20(1): 39-50(Korean)

6. 한국금연운동협의회. 청소년의 흡연. Available from: URL:<http://myhome.sinbiro.com/~red72/청소년의 흡연.htm>
7. Stellman JM. Encyclopedia of Occupational Health and Safety. Vol 2, 4th Ed. ILO Geneva. 1998
8. Jarvis M, Tunstall-Pedoe H, Feyerabend C. Biochemical markers of smoke absorption and self-reported exposure to passive smoking. *J Epidemiol Community Health* 1984; 38: 335-9
9. Curval M, Elvin CE, Kazemi-Vala E. The pharmacokinetics of cotinine in plasma and saliva, from non-smoking healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; 38: 335-9
10. Kao-Shan C-S, Fine RL, Whang-Peng J, Lee EC, Chabner BA. Increased fragile sites and sister chromatid exchange in bone marrow and peripheral blood of young cigarette smokers. *Cancer Res* 1987; 47(12): 6278-6282
11. Thomson SG, Stone R, Nanchahal K, Wald NJ. Relation of urinary cotinine concentration to cigarette smoking and to exposure to other people's smoke. *Thorax* 1990; 45: 356-61
12. Cummings KM, Markello SJ, Mahoney M. Measurement of current exposure to environmental tobacco smoke. *Arch Environ Health* 1990; 45: 74-9
13. Michael A, Wall MD, Jean J, Jacob P, Benowitz N. Cotinine in the serum, saliva and urine of nonsmokers, passive smokers and active smokers. *Am J Public Health* 1988; 78(6): 699-701
14. Dwyer T, Ponsonby A-L, Couper D. Tobacco smoke exposure at one month of age and subsequent risk of SIDS - a prospective study. *Am J Epidemiol* 1999; 149(7): 593-602
15. Tang D, Warburton D, Tannenbaun SR, Skipper P, Santella RM, Cereijido GS, Crawford FG, Perera FP. Molecular and genetic damage from environmental tobacco smoke in young children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(5): 427-31
16. Gorgels WJ, van Poppel G, Jarvis MJ, Stenhuis W, Kok FJ. Passive smoking and sister-chromatid exchanges in lymphocytes. *Mutat Res* 1992; 279(4): 233-8