

시료보관은행에 저장된 혈액을 이용한 납 노출의 유전적 감수성에 관한 후향성 코호트 조사 연구 - 입사 1년차 대상자 연구

김남수¹ · 김진호¹ · 리갑수¹ · 이성수¹ · 김화성¹ · 안규동¹ · Brian S. Schwartz² · 이병국^{1*}

¹순천향대학교 산업의학연구소 · ²존스홉킨스대학교 블룸버그 공중보건대학원

Retrospective Cohort Study on Genetic Susceptibility of Lead Exposure using Stored Blood in Specimen Bank-Focused Newly employed workers

Nam-Soo Kim¹ · Jin-Ho Kim¹ · Kap-Soo Lee¹ · Sung-Soo Lee¹ · Hwa-Sung Kim¹ ·
Kyu-Dong Ahn¹ · Brian S. Schwartz² · Byung-Kook Lee^{1*}

¹Institute of Industrial Medicine, Soonchunhyang University, Chonan, Korea;

²Department of Epidemiology, Johns Hopkins School of Hygiene and Public Health, Baltimore, Maryland, USA

Genotype of ALAD and VDR yields two alleles, respectively and it has been implicated in susceptibility to lead toxicity. Also genotype known to vary by race. To evaluate the genetic susceptibility of ALAD and VDR gene on health effect of lead exposure, this study was done with new workers who entered lead industries from 1992 to 2001. Among database of lead industries of Soonchunhyang University Institute of Industrial Medicine, only new workers were selected for this study. The total of eligible workers for this category was 3,540 workers including non lead exposed workers of same lead industries. Genotype of ALAD and VDR were measured from stored blood in specimen bank of Soonchunhyang University, blood lead and other relevant information were obtained from database of each workers which were gathered at their first year of employment.

Among 3,540 new employed study subjects during period of 1992-2001, 3204 workers(90.5%) had ALAD genotype 1-1; whereas 336 workers(9.5%) had variant type of ALAD (1-2 or

2-2). Lead exposed workers, 9.8%(n=243) male and 8.1%(n=16) female were heterozygous for the ALAD allele. Also non lead exposed workers, 8.9%(n=67) male and 9.3%(n=10) female were heterozygous for the ALAD allele.

For VDR genotype, 2,903 workers(89.7%) out of total tested 3,238 workers were belonged to type bb and 335 workers(10.3%) were type bB or BB. Lead exposed workers, 10.4%(n=235) male and 12.2%(n=24) female were heterozygous for the VDR allele. Also non lead exposed workers, 9.2%(n=64) male and 12.5%(n=12) female were heterozygous for the VDR allele.

No significant differences were seen in mean blood lead levels by ALAD and VDR genotype, nor was significantly associated with blood lead except age in multiple regression analysis.

Key Words : Specimen bank, Lead exposure, ALAD, VDR

이 논문은 2002년 한국학술진흥재단의 협동연구 과제 지원에 의해 연구되었음(KRF-2002-042-E00030)

접수일 : 2006년 3월 30일, 채택일 : 2006년 5월 23일

* 교신저자 : 이병국 (충남 아산시 신창면 읍내리 646, 순천향대학교 산업의학연구소

Tel : 041-530-1760, Fax : 041-530-1778, E-mail : bklee@sch.ac.kr)

I. 서론

최근 들어 인간의 유전체 지도가 완성됨에 따라 질병에 대한 유전체의 역할이 더욱 강조되고 있다. 납과 같은 중금속도 유전체에 따라 인체에 영향을 다르게 주는 것으로 알려져 있다. 납 노출과 관련된 유전체중 가장 잘 알려진 것은 δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) 유전체와 vitamin D receptor (VDR) 유전체이다(Benkmann 등, 1983).

혈색소 합성에 관여하는 두 번째 효소인 ALAD의 활성도는 납에 의해 가장 먼저 영향을 받는 생화학적 효소 중 하나이다. 납이 체내에 흡수되면 선택적으로 이 효소를 억제하여 ALA에서 그 다음 단계인 porphobilinogen으로 전환을 억제하여 혈액에 ALA량을 증가시킨다. 본 효소는 ALAD1과 ALAD2로 구분되는 2개의 allele를 가지는 다형질(polymorphism) 효소로서 표현형으로는 ALAD1-1, ALAD1-2 그리고 ALAD2-2의 3가지로 구분된다(Wetmur, 1994).

최근의 유전독성학의 연구는 ALAD의 다형질이 체내 흡수된 납의 대사과정에 영향을 주며 이로 인한 인체 영향에도 관여하고, 특히 개인의 납에 대한 감수성이 이 효소의 다형질성과 밀접한 관계가 있다는 보고가 있다(Alexander 등, 1998; Astrin 등, 1987; Bergdahl 등, 1997).

Wetmur 등(1991)은 ALAD의 이형 유전형질(ALAD1-2)을 가진 사람들의 혈중 납량이 정형 유전형질을 가진 사람들(ALAD1-1)보다 유의하게 높았다고 보고하였고, Schwartz 등(1995)은 이형 유전자형을 가진 근로자들의 혈중 납량은 높은 반면 혈중 zinc protoporphyrin(ZPP)의 농도는 오히려 낮아 이형 유전자가 납 작업자들에게서 보호효과가 있다고 보고한 바 있다. 한편 Smith 등(1995)은 ALAD의 다형질성은 표적장기에 따라 약력학적효과가 달라 납 독성을 증가시키거나 약화시켜, 신기능에 대한 ALAD의 다형질성 연구에서 이형 ALAD를 나타내는 납 작업군이 정형 ALAD를 가진 납 작업군보다 blood urea nitrogen (BUN)과 uric acid가 높은 값을 나타내어 ALAD의 이형 유전자형이 신기능에 나쁘게 영향을 준다고 보고하였다. 현재까지의 납에 대한 ALAD 유전자 다형질성의 영향은 다면성(multifaceted)을 가지고 있어 연구결과에 따라 이형 유전형질의 보호효과에 대한 이견이 있다.

한편 Vitamin 대사에 관여하는 유전체인 vitamin D receptor (VDR)는 인간에서 3종의 다형질성 유전자를 나타낸다. 이들 유전형질의 다형질성은 경골(tibia)의 납량에 영향을 준다는 보고가 있다. VDR은 calcium 결합 단백질의 형성에 영향을 주기 때문에 뼈의 mineralization과 reabsorption에 밀접한 관계가 있다. 체내 납의 95%가 뼈속에 저장되어 있고 납이 calcium대사와 밀접한 관계가 있어 VDR 유전체의 이형성과 납 노출과의 관련은 계속 추구되어야 할 과제이다.

본 연구에서는 1992년도부터 2001년까지 신규 입사한 근로자를 대상으로 유전형질의 다형질성에 따른 혈중납량을 비교함으로써 논란이 되고 있는 다형질성과 관련된 연구결과를 재확인하여 다형질성에 따른 납에 의한 감수성의 유무를 확인하고자 한다. 이에 저자들은 우리나라 납 작업자들에게 대한 보건관리를 수행하면서 납 작업자들의 혈액을 냉동 보관하여 미래에 사용할 목적으로 혈액시료은행을 구축하여 운영하고 있는바, 여기에 보관된 혈액을 이용하여 ALAD와 VDR 유전체 검사를 실시하여 유전형질에 따른 혈중 납량 등 관련 변수를 조사함으로써 소기의 목적을 달성하고자 한다. 즉, ALAD와 VDR 유전형질에 따른 혈중 납량을 비교함으로써 납 노출로 인한 유전적 감수성을 구명하고자 한다.

II. 연구대상 및 방법

납 사업장의 근로자들 중 1992년 1월 이후부터 2001년까지 10년간 3,540명을 대상으로 하였다. 이들중 납부서에 근무하는 생산직근로자 2,683명은 납 노출군으로 구분하였고, 납사업장에 근무하는 사무직 근로자 857명은 비 납노출군으로 정하였다. 이들로부터 입사 1년 이내에 채취되어 냉동 보관된 혈액으로 ALAD 및 VDR 유전자 형질을 분석하고, 이들의 유전자 형질에 따른 혈중 납량을 비교 분석하였다. 한편, 이들 냉동보관된 혈액의 연구목적 이용에는 본 저자들이 소속된 연구윤리위원회의 승인이 있었다.

1. ALAD 유전형질의 분석 (Wetmur 등, 1991)

1) DNA 추출방법

정맥혈을 항응고제인 15% -K₃EDTA Vacutainer에 채혈하여 냉동고에서 보관하였다. DNA 추출방법은 200 μ l의 전혈을 1.5ml microcentrifuge tube에 넣어 25 μ l QIAgen protease K와 200 μ l AL (prepare) buffer를 넣고 잘 섞은 후 70°C 항온수조에서 10분간 방치하였다. Isopropanol(96-100%) 210 μ l를 첨가하여 5초간 진탕 후, 8,000rpm에서 수초간 원심분리하였다. 2ml 용량의 collection tube에 QIAamp spin column을 넣고 시료를 전량 옮긴 후, 8,000 rpm에서 원심분리하였다. Filter를 이용하여 용액은 제거하고 흡착된 시료에서 순수한 DNA만을 분리하기 위하여 AW (wash) buffer를 혼합하여 8,000rpm으로 1분씩 2회 원심분리 하였으며, 최종적으로 13,000 rpm에서 2분간 원심분리 하였다.

QIAamp spin column에서 AE(elution) buffer 200 μ l를 넣고 70°C에서 incubation 한 후 실온에서 1분간 방치하고 Filter를

부착하여 8,000rpm에서 1분간 원심분리하여 추출된 DNA가 포함된 시료를 중합효소 연쇄 반응 (Polymerase Chain Reaction) 용으로 사용하였다.

2) 중합효소 연쇄반응

중합효소 연쇄반응은 Bio RAD사의 Thermal Gene Cycler을 이용하였다. 중합효소 연쇄반응을 위한 primer는 OPERON (Operon Inc., CA U.S.A.)에서 합성한 oligonucleotide primer를 사용하였다. 실험에 이용한 최종 농도는 증류수로 희석하여 4 µg/ml 되게 하였다. primer의 염기배열은 다음과 같다.

ALAD-A : 5'-CCCAACCATCCCTCTCAGTC-3'

ALAD-B : 5'-CCCAACCTCCCTTCCTTTTT-3'

중합효소 연쇄반응 전처리는 10배 농축된 PCR buffer 5 µl, 0.2 mM-dNTP 1 µl, 그리고 1-5 u/100µl Taq DNA polymerase 0.3 µl (5 unit/µl)를 포함한 용액을 이용하였다. 전처리 용액에 primer A 1 µl (200µg/µl)와 primer B 1 µl (200µg/µl)를 넣은 후 template DNA 3 µl (<1 µg/100µl 105 - 106 copies)를 넣은 후 증류수로 총 50µl로 하였다.

PCR 조건은 94 °C에서 3분간 1 cycle, 94 °C에서 30초, 60 °C에서 30초, 72 °C에서 1분으로 연속적으로 41 cycle한 후 마지막으로 59 °C에서 1분 30초, 72 °C에서 10분간 증폭시켰다.

3) 제한효소 (MspI)에 의한 DNA의 소화

제한효소 처리 시약인 MspI 2 µl (sequence C/CGG, 10 unit/µl)와 incubation buffer (SURE/Cut 5 buffer L) 5 µl를 PCR용 tube에 넣고 중합효소 연쇄 반응한 DNA 시료 20 µl를 가한 후 증류수로 총 50 µl로 맞춘 후 37 °C에서 24시간 반응시켰다.

4) agarose gel 전기영동

10 µl의 반응 산물을 0.5 µl/µl ethidium bromide가 혼합된 1.5% agarose gel을 TBE buffer (Tris base 0.089M, Boric acid 0.089M, EDTA 0.002M) 상에서 150V로 40분간 전기영동을 하였다. 전기영동한 gel은 UV-transilluminator를 이용하여 139-473 염기쌍 범위 내에서 염색된 DNA 절편을 확인하였다. 시료 DNA의 절편위치는 표준 DNA를 동시에 전기영동하여 비교 확인하였다.

ALAD 1-1, 1-2, 2-2 각각의 경우 염색상이 나타나는 절편의 위치가 전기영동상 이동한 위치에 따라서 서로 다른 양상을 나타내어 ALAD1-1은 473, 271, 158, 139 염기쌍 절편을 보

이고 ALAD1-2는 473, 402, 271, 158, 139 염기쌍의 절편을 그리고 ALAD2-2는 402, 271, 158, 139 염기쌍의 절편을 보여 이 유전인자의 다형성을 결정하였다.

2. VDR 유전형질의 분석

1) 중합효소 연쇄반응

ALAD 유전형질 분석을 위하여 추출된 DNA 시료를 이용하여 Bio RAD사의 Thermal Gene Cycler을 이용한 중합효소 연쇄반응을 하였다. 중합효소 연쇄반응을 위한 primer는 (주) 바이오닉스에서 합성한 oligonucleotide primer를 사용하였으며, 실험에 이용한 최종 농도는 증류수로 희석하여 4 µg/ml 되게 하였다. primer의 염기배열 및 PCR 조건은 다음과 같다.

VDR-A : 5'-CAA CCA AGA CTA CAA GTA CCG CGT CAG TGA-3'

VDR-B : 5'-AAC CAG CGG GAA GAG GTC AAG GG-3'

중합효소 연쇄반응 전처리는 10배 농축된 PCR buffer 2 µl, 0.2 mM-dNTP 0.4 µl, 그리고 1-5 u/100µl Taq DNA polymerase 0.1 µl (5 unit/µl)를 포함한 용액을 이용하였다. 전처리 용액에 primer A 0.4 µl (200µg/µl)와 primer B 0.4 µl (200µg/µl)를 넣은 후 template DNA 2 µl (<1 µg/100µl 105 - 106 copies)를 넣은 후 증류수로 총 20µl로 하였다.

PCR 조건은 94 °C에서 3분간 1 cycle, 94 °C에서 30초, 60 °C에서 30초, 72 °C에서 1분으로 연속적으로 41 cycle한 후 마지막으로 59 °C에서 1분 30초, 72 °C에서 10분간 증폭시켰다.

2) agarose gel 전기영동

중합효소 연쇄반응 후의 반응산물 중 6µl를 취하여 5×완충용액 (loading buffer) 2µl와 혼합하였다. 0.5µl/µl ethidium bromide가 혼합된 1.5% agarose gel에 comb를 꼽아 홈을 만들고 전기영동 장치 내의 TBE buffer (Tris base 0.089M, Boric acid 0.089M, EDTA 0.002M) 상에서 그 홈으로 완충용액과 혼합된 반응산물을 주입하여 150V로 40분간 전기영동 한 후 겔을 Gel document system을 이용하여 확인하였다.

3) 제한효소 (BsmI)에 의한 DNA의 소화

제한효소 처리 시약인 BsmI 0.4 µl (sequence GAATGCN/NCTTAC/GNN, 13 unit/µl)와 incubation buffer (SURE/Cut 5 buffer L) 1 µl를 PCR용 tube에 넣고 중합효소 연쇄 반응한 DNA 시료 4 µl를 가한 후 증류수로 총 10 µl로 맞춘다. 65 °C에서 2시

간 30분간 반응시키고 agarose gel 전기영동으로 VDR 유전형질을 관찰하였다.

증폭된 DNA 염기 크기는 825bp이었고 BsmI 제한효소로 처리한 후에 150-825 염기쌍 범위 내에서 절편이 확인되었다. BsmI 제한효소에 의해 절단된 유전자형은 3가지의 양상을 보였는데 BB는 825bp 염기 절편을 보이고 Bb는 825, 675, 150 염기쌍의 절편을 그리고 bb는 675, 150 염기쌍의 절편을 보여 이 유전자의 다형성을 결정하였다.

3. 혈중 납량의 분석 (Fernandes 1975)

혈중 연 정량분석은 polarized zeeman 바탕보정장치가 장착되어 있는 원자흡수분광광도계 (atomic absorption spectrophotometer, Z-8100, Hitachi, Japan)를 사용하였으며, 자동시료 주입장치 (autosampler, SSC-200, Hitachi, Japan)가 부착된 기기를 사용하였다.

4. 자료의 분석

자료의 분석은 SAS 8.2 (SAS Institute Inc.)를 이용하였다.

기술적 자료의 분석을 위하여 t-검정을 이용하였고, 다변량 분석을 위하여 다중 회귀분석과 로지스틱 회귀분석을 이용하였다.

III. 연구결과

신규입사자 3,540명 중 성별과 납 노출여부에 따른 유전형질의 빈도분포는 표 1 과 같다. 전체 대상자중 3,204명 (90.5%)이 ALAD 정형 유전형질인 ALAD 1-1형이었으며 336명 (9.5%)이 이형 유전형질인 ALAD 1-2 혹은 2-2형으로 나타났다. 납 노출자 중 남자의 이형 유전형질 (ALAD 1-2 혹은 2-2)은 2,485명중 243명 (9.8%)이었고, 비노출자 중 남자 750명중 67명 (8.9%)이 이형 유전형질을 나타냈다. 또한 납노출자 중 여자 198명중 16명 (8.1%)이 ALAD 이형 유전형질을 나타내었고, 비노출자 중 여자 107명중 10명 (9.3%)이 ALAD 이형 유전형질을 나타내었다.

VDR 유전형질의 분포는 신규입사자중 분석이 완료된 3,228명 중 2,903명 (89.7%)이 정형 유전형질인 bb 형이었으며, 335명 (10.4%)이 이형 유전형질인 bB 혹은 BB로 나타났다. 납 노출자 중 남자들의 이형 유전형질 (VDR bB 혹은 BB)이 2,251명중 235명 (10.4%)이었으며, 비노출자 중 남자

Table 1. Frequency distribution of ALAD and VDR genotype of study subject of first year of employment by exposure and gender

Gene		Lead exposed		Non-lead exposed		Total(%)
		Male	Female	Male	Female	
ALAD	1-1	2,242	182	683	97	3,204(90.5)
Genotype	1-2/2-2	243	16	67	10	336(9.5)
VDR	bb	2,016	173	630	84	2,903(89.7)
Genotype	bB/BB	235	24	64	12	335(10.3)

Table 2. Summary table of study variables of study subjects of first year of employment by type of lead exposure and gender

Characteristic	Lead exposed						Non-lead exposed					
	Male			Female			Male			Female		
	N	Mean	S.D	N	Mean	S.D	N	Mean	S.D	N	Mean	S.D
Age, years	2,485	28.8	7.6	198	37.9	10.1	750	28.5	9.3	107	28.5	12.0
Weight, kg	1,980	63.3	8.2	183	55.7	7.4	574	63.3	8.7	91	52.2	6.5
Blood lead, µg/dl	2,485	30.2	14.3	198	34.0	19.5	750	30.2	9.1	107	8.3	4.8

694명중 64명(9.2%)이 이형유전형질을 나타냈다. 또한 여자 납노출자 197명중 23명(12.2%)이 VDR 이형 유전형질을 나타내었고, 비노출 여자 작업자 96명중 12명(12.5%)이 VDR 이형 유전형질을 나타내었다.

ALAD와 VDR 유전형질에 따른 1992년 신규입사자 3,540명의 각 변수별로 평균과 표준편차를 구한바 표 3과 같다. ALAD 정형 유전형질인 1-1형인 연구대상자들의 혈중 납량의 평균은 $26.2 \pm 15.3 \mu\text{g/dl}$ 이었으며, 이형 유전형질인 ALAD1-2 혹은 2-2인 연구대상자들의 혈중납량의 평균은 $27.5 \pm 16.0 \mu\text{g/dl}$ 로 양군간의 유의한 혈중 납량의 차이는 없었다. 또한 VDR의 유전형질에 따른 차이도 없었다.

표 4는 유전형질구분과 납 노출 및 성별구분에 따른 혈중 납량의 분포이다. 납 작업자들의 남자 및 여자의 ALAD 정형 유전형질의 평균 혈중 납량은 $30.1 \pm 14.1 \mu\text{g/dl}$ 과 $34.1 \pm 19.8 \mu\text{g/dl}$ 로서 여성 납 작업자들의 평균 혈중 납량이 유의하게 높

았다. 한편 납 작업자들의 남자 및 여자의 ALAD 이형 유전형질의 평균 혈중 납량은 $31.2 \pm 15.7 \mu\text{g/dl}$ 과 $31.9 \pm 16.7 \mu\text{g/dl}$ 로서 양군간의 차이는 없었다. 또한 이들 납 근로자들의 ALAD 유전형질에 따른 평균 혈중 납량의 차이는 없었다.

한편 납 작업자들의 남자 및 여자의 VDR 정형 유전형질의 평균 혈중 납량은 $30.6 \pm 14.4 \mu\text{g/dl}$ 과 $33.4 \pm 19.7 \mu\text{g/dl}$ 로서 여성 납 작업자들의 평균 혈중 납량이 유의하게 높았다. 한편 납 작업자들의 남자 및 여자의 VDR 이형 유전형질의 평균 혈중 납량은 $31.2 \pm 15.9 \mu\text{g/dl}$ 과 $39.0 \pm 18.0 \mu\text{g/dl}$ 로서 여자 납 작업자들의 평균혈중납량이 유의하게 높았다. 그러나 이들 납 근로자들의 VDR 유전형질에 따른 평균 혈중 납량의 차이는 없었다. 같은 납 공장에서 근무하는 납부서가 아닌 비 납부서 근로자들의 ALAD 와 VDR 유전형질에 따른 남녀의 평균 혈중 납량을 비교하면 비납부서 남자 근로자들의 혈중 납량이 유전형질의 구분에 관계없이 비 납부서 여자 근로자보

Table 3. Summary table of study variables of subjects of first year employment by ALAD and VDR genotype

Characteristic	ALAD						VDR					
	Type 1-1			Type 1-2/2-2			Type bb			Type Bb/BB		
	N	Mean	S.D	N	Mean	S.D	N	Mean	S.D	N	Mean	S.D
Age, years	3,204	30.0	8.6	336	29.7	8.6	2,903	30.2	8.7	335	30.6	9.3
Weight, kg	2,553	62.8	8.8	275	62.6	7.9	2,272	62.6	8.7	63.1	63.1	8.8
Blood lead, $\mu\text{g/dl}$	3,204	26.2	15.3	336	27.5	16.0	2,903	26.6	15.5	335	27.6	16.9

Table 4. Summary table of study variables of subjects of first year employment by ALAD and VDR genotype

Variable	ALAD (n=3540)				VDR (n=3238)			
	1-1		1-2/2-2		bb		Bb/BB	
	No.	Mean \pm S.D	No.	Mean \pm S.D	No.	Mean \pm S.D	No.	Mean \pm S.D
Blood lead ($\mu\text{g/dl}$)								
Lead exposed								
Male	2251	30.1 ± 14.1	234	31.2 ± 15.7	2016	30.6 ± 14.4	235	31.2 ± 15.9
Female	182	34.1 ± 19.8	16	31.9 ± 16.7	173	33.4 ± 19.7	24	39.0 ± 18.0
Non lead exposed								
Male	686	13.9 ± 8.9	64	16.4 ± 10.5	630	14.4 ± 9.3	64	13.4 ± 9.4
Female	98	8.4 ± 4.9	9	8.1 ± 3.3	84	8.4 ± 4.7	12	10.0 ± 6.3

다 높아서, VDR 이형 유전형질의 경우를 제외하고는 남녀간의 유의한 차이가 나타났다.

ALAD 및 VDR 유전형질이 혈중 납량에 미치는 영향을 평가하기 위하여 중회귀 분석을 이용하였다(표 5). 종속변수로는 혈중 납량을 택하였으며 독립변수로는 ALAD 및 VDR 유전형질을 택하였다. 혈중 납량에 미치는 교란변수로서 연령, 성 및 체중을 고려하여 중회귀 분석을 실시하였다. 입사 1년 미만의 신규입사자들을 대상으로 ALAD 및 VDR 유전형질이 혈중 납량에 미치는 영향을 다중 회귀 분석한 결과 연령은 혈중 납량에 유의한 영향을 나타내었고 ALAD 유전형질 및 VDR 유전형질은 혈중 납량에 유의한 영향을 못하였다.

IV. 고찰

Heme 합성과정의 두 번째 효소인 δ -aminolevulinic acid dehydratase는 다형질성이 있어 동형 유전형질인 ALAD1과 이형 유전형질인 ALAD2로 구분되며 그 빈도는 백인에서는 9:1로 알려져 있다(Wetmur 등, 1991). 이 2개의 allele는 ALAD1-1, ALAD1-2 그리고 ALAD2-2 등의 3개의 표현형으로 나타난다. 이 유전적 이형성은 인종에 따라 달라 백인에서는 이형 유전자가 약 15-20% 나타나는 반면, 흑인에서는 이형 유전형질이 거의 발견되지 않는다 (Benkmann 등, 1983; Sousa 등, 1991). 본 연구에서는 3,540명의 신규입사 근로자들 중 이형 유전형질을 가진 근로자들이 9.5%로서

Schwartz 등 (1995)의 연구결과인 11% 및 일본의 9% (Benkmann 등, 1983)와 유사한 결과를 나타내고 있었다. 한편 Vitamin 대사에 관여하는 유전체인 vitamin D receptor (VDR)는 인간에서 3종의 다형질성 유전체를 나타낸다. VDR의 유전형질의 이형성은 인종간의 차이가 커서 동양인의 경우 이형유전형질의 분포가 10-16% 정도(Weaver, 2003; Kim, 2003; Chuang, 2004; Huang, 2001)로서 본 연구의 10.3%와 유사하였다. 반면, 서양인들은 이형유전형질의 분포가 동양인 보다 많아서 37%에서 62%까지 보고 된 바 있다(Bell, 2001; Fountas, 1999; Palomba, 2003; Zajičková, 2002). 이렇듯 인종 간에 ALAD 유전형이나 VDR 유전형의 차이는 의미 있게 나타나는 것으로 사료된다.

Wetmur는 ALAD효소의 이형성이 납의 체내대사와 관련이 있음을 발표한 바 있다 (Wetmur, 1994). 이형의 유전형질을 가진 어린이나 성인들이 동형의 유전형질을 가진 사람들보다 혈중 납량이 약 9 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 정도 평균이 높은 것으로 보고하여 (Wetmur 등, 1991), 이형의 유전형질을 가진 사람의 ALAD효소가 혈액에서 납을 효과적으로 결합하여 혈액 내의 납 농도를 증가시키므로 이형 유전자를 가진 사람이 납에 보다 감수성이 있을 것이라는 주장을 한 바 있다. Alexander 등(1998)은 납 체련 근로자들을 대상으로 한 연구에서 이형 유전형질을 가진 납 작업자들에서 혈중 납량이 23.1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 로서 정형 유전형질을 가진 납 작업자들의 28.4 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 보다 적었다고 보고한바 있다. 한편 Schwartz 등 (1995)은 3개 축전지 회사에 근무하는 납 작업자 290명을 대상으로 ALAD 유전형

Table 5. Linear regression modelling of effect modification by genotype on blood lead with age, gender, lead exposure, weight

Variable	β coefficient	SE β	p-value	R ²
Model 1				0.27
Age(yrs)	0.3745	0.0273	0.0000	
ALAD1-2 (Yes=1, No=0)	1.2832	0.7741	0.0975	
Model 2				0.27
Age(yrs)	0.3748	0.0286	0.0000	
ALAD1-2 (Yes=1, No=0)	1.3988	2.8339	0.6216	
Model 3				0.26
Age(yrs)	0.3750	0.0285	0.0000	
VDR23 (Yes=1, No=0)	0.4996	0.7809	0.5223	
Model 4				0.26
Age(yrs)	0.3593	0.0302	0.0000	
VDR23(Yes=1, No=0)	-3.7036	2.7876	0.1841	

* VDR23 = VDR bB or VDR BB

질을 조사한 바 유전형질구분에 따른 평균 혈중 납량의 차이는 없었으나 혈중 납량 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상과 이하를 종속변수로 한 logistic 분석에서 유전형질의 구분이 유의한 교차비를 나타내었다고 하여 납 작업자들의 현재 폭로수준에 대한 선택 인자로 작용함을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 ALAD와 VDR 형질구분과 성별에 따른 평균 혈중 납량을 단순 비교 한 바 납 작업자들 중 남성보다 여성에서 혈중 납량이 유의하게 높았고 유전형질의 이형성에 따른 차이는 없었다. 이는 여성의 경우 주로 축전지 공장의 조립부서(극판 쌓기)에 근무하는 경우가 많아 남성 근로자들의 평균 납 농도 보다 높았다고 사료된다. 또한 본 조사대상 대조군은 납 공장에서 근무하는 사무직 근로자로서 납 작업자보다는 납 노출의 기회가 적으나 납 노출이 어느 정도 있는 작업장에서 근무함을 알 수 있었다. 특히 비 납부서의 남자 근로자들의 혈중납량이 비 납부서의 여자 근로자들보다 상대적으로 높게 나타났다. 이는 비 납 근로 여자근로자들의 직무가 대부분 순수한 사무직인 반면, 남자 비납근로자들은 현장과 연계된 사무직이 많았기 때문으로 판단된다. 남자근로자들의 경우는 흡연자가 많아 상대적으로 높은 혈중 납량을 나타냈을 가능성도 있으나(Alessio 등, 1995) 본 조사에서는 흡연에 관한 자료를 얻을 수 없어 이를 확인하기 어려웠다.

본 조사에서 연령, 성별과 납부서 근무 여부에 따른 혈중 납량의 차이가 나타나서 이들 교란변수를 통제한 후 유전형질이 혈중 납량에 미치는 영향을 회귀분석 한 바 ALAD 및 VDR 유전형질의 경우 이형성이 혈중 납량에 유의한 영향을 주지 못하였다. 다만, 연령은 혈중 납량에 유의한 영향을 주었다.

ALAD의 유전형질에 관한 대부분의 선행연구에서 이형 유전형질에서 혈중 납량이 높은 값을 나타내어 ALAD 이형 유전형질이 납에 의한 건강영향에 보호효과가 있다고 주장하였다. 즉, 이형 유전형질 군에서 적혈구 내에서 납을 더 단단히 결합된 상태로 존재하여 실질적으로는 납의 독성을 약화시킨다고 설명하고 있다. 그러나 본 연구에서는 ALAD 유전형질이 혈중 납량에 유의한 영향을 주지 못하여 선행연구들을 뒷받침하지 못하였다.

Schwartz 등 (2000)은 한국인 납 근로자들을 대상으로 유전형질과 납 노출 지표들과의 관련성 연구에서 ALAD와 VDR 양자의 유전형질이 혈중 납량에 유의한 영향을 준다고 발표한 바 있다. 그러나 본 연구에서는 VDR 유전형질도 혈중 납량에 유의한 영향을 주지 않아 다른 결과를 나타냈다. Schwartz 등 (2001)의 연구는 934명을 대상으로 한 단면조사에서 얻어진 연구인 반면 본 연구는 입사 첫해의 근로자만을 대상으로 하였기 때문에 단순 비교는 어려우나 양자의 차이

를 유추한다면 ALAD의 영향은 입사 초기부터 나타나는 한편, VDR의 영향은 일정기간이 지나서 나타나는 것인지 혹은 다른 원인에 의해 차이가 나는지를 규명하여야 할 것으로 사료된다.

ALAD와 VDR의 다형성이 납의 체내축적과 대사작용에 영향을 준다는 것은 이미 여러 보고들에 의해 확인되었다. 그러나 특히 ALAD의 다형성이 인체의 여러 장기들에서의 납의 분포에 어떠한 영향을 주는지는 구명되어야 할 과제이다. Onalaja와 Claudio (2000)는 이에 대하여 두 가지 가설을 제시하고 있다. 첫째는 ALAD 효소, 특히 이형 유전형질 효소에 납의 결합이 증대되며 신장이나 뇌 같은 다른 장기에도 납의 분포가 증가되어 독성이 커진다는 것이고, 둘째는 반대로 ALAD 효소가 납의 저장소 역할을 하여 납을 혈액 내에 가두고 있어 다른 장기로 가는 것을 막기 때문에 신장이나 뇌에 납이 축적되는 것을 보호한다는 것이다. 지금까지 연구된 ALAD 유전형질과 납 노출에 따른 건강영향에 관한 연구들은 연구결과가 일치하지 않아 상기 두 개의 가설 중 어떤 것이 더 신뢰성이 있는지는 판단하기 어려우나 대체로 이형 유전형질 군에서 혈중 납이 증가하나 다른 장기에서의 영향은 적을 것이라는 의견이 적지 않아 후자의 가설에 대한 보고가 많아지고 있다. 본 연구는 전자의 가설을 지지하는 근거가 되지 못하였으나 추후 본 연구대상자들을 후향성 코호트로 추적하여 일정 시점 후에 유전형질의 다형성과 납독성이 어떻게 관련성이 있는지를 규명할 수 있을 것이라 사료된다.

V. 결론

납독성과 관련이 있다고 알려진 ALAD 및 VDR 유전형질은 이형성이 있고, 인종에 따라 차이가 있다고 알려져 있다. 우리나라 납 작업자들의 이들 유전형질의 이형성의 분포와 이형성과 혈중납량과의 관련성을 규명하기 위하여 시료은행에 보관된 시료를 이용하여 우리나라 납 노출 사업장의 근로자들 중 1992년 1월 이후부터 2001년까지의 입사자중 입사 1년 이내의 약 3,540명(납 작업자 2683명, 비납작업자 857명)을 대상으로 연구를 시행하였다.

상기 연구 대상자들의 냉동 보관된 혈액으로 ALAD 및 VDR 유전자 형질을 분석하고, 혈중 납량과 체중등의 관련정보는 입사년도에 측정된 자료를 이용하였다.

ALAD 정형 유전형질인 ALAD 1-1형은 연구대상자 3,540명중 3,217명(90.9%)이었고, 323명(9.1%)이 이형 유전형질인 ALAD 1-2 혹은 2-2형으로 나타났다. 한편 납에 노출된 남자들의 이형 유전형질이 9.4%이었으며, 비노출 남자작업자 8.5%만이 이형 유전형질을 나타냈다. 또한 여자 납 노출 작

업자들 8.1%가 ALAD 이형 유전형질을 나타낸 반면, 비노출 여자 작업자 8.4%가 ALAD 이형 유전형질을 나타내었다.

VDR 유전형질의 분포는 분석완료 한 신규입사자 3,228명 중 2,903명(89.7%)이 정형 유전형질인 bb 형이었으며, 335명(10.3%)이 이형 유전형질인 bB 혹은 BB으로 나타났다. 또한 납 노출 남자 작업자들의 이형 유전형질이 10.4%이었으며, 비 노출 남자 작업자들의 9.2%만이 이형 유전형질을 나타내었다. 반면에 여자 납노출 작업자들 12.2%가 VDR 이형 유전형질을 나타내었고, 비노출 여자 작업자 12.5%가 VDR 이형 유전형질을 나타내었다.

ALAD와 VDR 유전형질에 따른 혈중 납량의 평균의 차이는 없었으며, ALAD 및 VDR 유전형질이 혈중 납량에 미치는 영향을 다중 회귀분석 한 결과 연령만이 혈중 납량에 유의한 영향을 주었을 뿐 ALAD와 VDR 유전형질은 혈중 납량에 영향을 주지 못했다.

REFERENCES

- Alessio L, Apostoli P, Crippa M. Influence of individual factors and personal habits on the levels of biological indicators of exposure. *Toxicology letters* 1995; 77: 93-103
- Alexander BH, Checkoway H, Costa-Mallen P, Faustman EM, Woods JS, et al. Interaction of blood lead and δ -aminolevulinic acid dehydratase genotype on markers of heme synthesis and sperm production in lead smelter workers. *Environ Heal Persp* 1998; 106(4): 213-216
- Astrin KH, Bishop DF, Wetmur JG, Kaul B, Davidow B, et al. δ -aminolevulinic acid dehydratase isozymes and lead toxicity. *Annals New York Academy of Sciences* 1987; 5(4): 23-29
- Bell NH, Morrison NA, Nguyen TV, Eisman J, Hollis BW. Apa I polymorphisms of the vitamin D receptor predict bone density of the lumbar spine and not racial difference in bone density in young men. *J Lab Clin Med* 2001; 137(2): 133-140
- Benkmann HG, Bogdanski P, Goedde HW. Polymorphism of delta-aminolevulinic acid dehydratase in various populations. *Hum Hered* 1983; 33: 62-64
- Bergdahl IS, Gerhardsson L, Schutz A, Desnick RJ, Wetmur JG, et al. Delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism: Influence on lead levels and kidney function in humans. *Arch Environ Health* 1997; 52: 91-96
- Chuang HY, Yu KT, Ho SK, Wu MT, Lin GT, et al. Investigations of vitamin D receptor polymorphism affecting worker's susceptibility to lead. *J Occup Health* 2004; 46: 316-321
- Fernandes FJ. Micromethod for lead determination in whole blood by atomic absorption with use of graphite furnace. *Clin Chem* 1975; 21: 555-561
- Fountas L, Moutsatsou P, Kastanias I, Tamouridis N, Tzanela M, et al. The contribution of vitamin D receptor gene polymorphisms in osteoporosis and familial osteoporosis. *Osteoporos Int* 1999; 10: 392-398
- Huang J, Ushiyama T, Inoue K, Kawasaki T, Hukuda S. Vitamin D receptor gene polymorphisms and osteoarthritis of the hand, hip and knee; a case-control study in Japan. *Rheumatology* 2000; 39: 79-84
- Kim HS, Lee SS, Lee GS, Hwangbo Y, Ahn KD, et al. The protective effect of δ -aminolevulinic acid dehydratase 1-2 and 2-2 isozymes against blood lead with higher hematologic parameters. *Environ Heal Persp* 2004; 112(5): 538-541
- Onalaja AO, Claudio L. Genetic susceptibility to lead poisoning. *Environ Health Perspect* 2000; 108(supplement 1): 23-28
- Palomba S, Giuliano Numis F, Mossetti G, Rendina D, Vuotto P, et al. Raloxifene administration in postmenopausal women with osteoporosis: effect of different Bsm I vitamin D receptor genotypes. *Human Reproduction* 2003; 18(1): 192-198
- Schwartz BS, Lee BK, Stewart W, Ahn KD, Springer K, et al. Associations of δ -aminolevulinic acid dehydratase genotype with plant, exposure duration, and blood lead and zinc protoporphyrin levels in Korean lead workers. *Am J Epidemiol* 1995; 142: 738-745
- Schwartz BS, Lee BK, Lee GS, Stewart WF, Simon D, et al. Associations of blood lead, dipercaptosuccinic acid-chelatable lead, and tibia lead with polymorphisms in the Vitamin D Receptor and d-Aminolevulinic Acid Dehydratase Genes. *Environ Health Persp* 2000; 108: 949-954
- Smith CM, Wang X, Hu H, Kelsey KT. A polymorphism in the δ -aminolevulinic acid dehydratase gene may modify the pharmacokinetics and toxicity of lead. *Environ Health Persp* 1995; 103: 248-253
- Sousa M, Silva M, Duarte A, Azevedo E. Delta-aminolevulinic acid dehydrase (ALAD) polymorphism in mixed Brazilian from the State of Bahia. *Gene Geography* 1991; 5: 33-38
- Weaver VM, Schwartz BS, Ahn KD, Stewart WF, Kelsey KT, et al. Associations of renal function with polymorphisms in the δ -aminolevulinic acid dehydratase, vitamin D receptor, and nitric oxide synthase genes in Korean lead workers. *Environ Health*

- Persp 2003; 111(13): 1613–1619
- Wetmur JG, Kaya AH, Plewinska M, Desnick RJ. Molecular characterization of the human δ -aminolevulinate dehydratase 2 (ALAD2) allele; Implications for molecular screening of individuals for genetic susceptibility to lead poisoning. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 757–763
- Wetmur JG, Lehnert, Desnick RJ. The δ -aminolevulinate dehydratase polymorphism: higher blood lead levels in lead workers and environmentally exposed children with the 1-2 and 2-2 isozymes. *Environmental Research* 1991; 56: 109–119
- Wetmur JG. Influence of the common human δ -aminolevulinate dehydratase polymorphism on lead body burden. *Environ Health Perspect* 1994; 102(suppl 3): 215-219
- Zajčková K, Zofkova I, Bahbouh R, Krepeldva A. Vitamin D receptor gene polymorphism, bone mineral density and bone turnover: Fok I genotype is related to postmenopausal bone mass. *Physiol Res* 2002; 51: 501–509