

환경 노출 평가 및 인체 위해성 평가에 있어서 Exposure Biomarker와 Effect Biomarker의 활용

성균관대학교 약학대학
이 병 무

1. 서론

우리는 환경 및 산업 독성물질(예, 발암물질 등)에 항상 노출되고 있으며, 이에 따른 환경 및 인체의 위해성 평가의 중요성이 크게 부각되고 있다(1,2). 인체 위해성을 평가하기 위해서는 아래와 같은 최소한의 자료가 요구된다. 첫째, 인체에 어떤 환경 독성물질에 노출되었나를 확인해야 하며, 둘째, 확인된 물질이 어떤 유해 독성작용을 갖고 있으며, 셋째, 인체에 노출된 환경 독성물질의 양을 정확히 평가해야 한다. 이중 노출량의 정확한 산출이 매우 중요시 되며, 보통 인체 노출량을 평가하기 위하여 환경 모니터링(수질 및 대기중 독성물질의 분석)을 하거나 개인 휴대용 배지를 사용하여 인체에 노출 가능한 환경 독성물질을 분석한다(3,4). 그러나, 환경 모니터링을 이용하여 노출량을 산출하는 데에는 많은 한계점이 있다. 예를 들면, 노출경로에 관한 문제이다. 사람이 노출될 수 있는 경로는 물, 공기뿐 만 아니라 피부노출, 음식물 등에 의한 경구노출등 다양하나 이러한 노출 가능한 경로들이 고려되어 종합적으로 평가될 수 없으며, 일정한 농도의 환경 독성물질이 물과 공기를 통해 개개인에 노출될 수 있는 정확한 량도 제시할 수 없다(5). 또한, 물과 대기 중에 존재하는 환경 독성물질의 농도는 수시로 변할 수 있고, 그 변화 폭이 매우 크므로 노출량을 정확히 예측하기란 쉽지 않다. 따라서, 인체 위해성 평가를 하기 위해서는 무엇보다 노출가능 인구집단으로부터 시료(혈액, 뇨 등)를 채취하여 정확한 노출량과 독성효과를 평가하는 것이 가장 바람직하며 이를 위한 Biomarker의 체계적 연구와 활용방안이 과학화되어야 한다(6,7).

2. Biomarker 와 인체 모니터링의 정의

Biomarker는 인체 위해성 평가를 위해 사용하는 수단으로서 인체 모니터링에 널리 이용되고 있으며, 아래와 같이 여러 형태로 정의 될 수있다.

- 1) 인체에 여러 경로(air, water, soil, food등)로 노출된 환경 독성물질 또는 그 대사체, 효소의 변화, 생화학적 변화 등을 측정하는 것
- 2) 생물학적, 화학적, 물리적 유해 독성물질과 생체와의 상호작용으로 나타난 반응 정도를 측정하는 것
- 3) 환경 독성물질이 인체에 노출된 후 세포나 분자적 수준에서 생화학적, 생리학적, 기

능적으로 나타난 반응을 측정하는 것

Biomarker의 정의를 종합해 보면 인체에 여러 경로를 통해 종합적으로 노출된 환경 독성물질이 생체내의 주요 분자(예, DNA, 단백질, 지질 등)와 반응하여 나타나는 생리적, 생화학적, 기능적 변화를 측정하거나, 환경 독성물질이 대사가 안된 상태의 parent compound 또는 대사체를 생체 시료에서 측정하는 것을 의미한다. 인체 모니터링이란 Biomarker를 이용하여 노출된 환경 독성물질의 인체내 동태, 인체 각 장기의 노출량, 노출에 따른 독성현상을 예측할 수 있는 방법을 말한다(8,9).

3. Biomarker의 분류

Biomarker 는 환경 독성물질이 체내에 노출된 후 질병이 발생되기까지는 여러 단계로 분류될 수있다 (Figure 1).

따라서, 분류된 각 단계에 해당하는 생체내 변화 모두가 (Internal Dose, Biological Effective Dose, Early Disease, Susceptibility) Biomarker로 활용될 수있다.

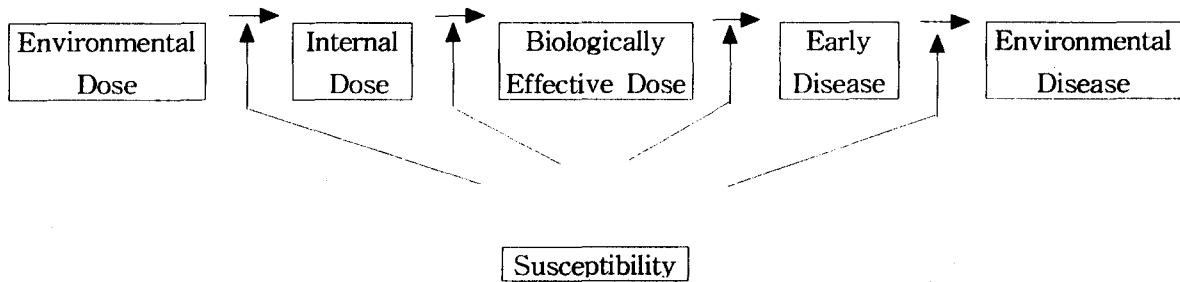


Figure 1. Environmental Exposure, Biomakers and Environmental Disease Progress.

가. Exposure Biomarker

환경 독성물질이 인체에 노출된 후 체내에 존재하는 독성물질, 그 대사체, 또는 생화학적 변화가 Exposure Biomarker로 활용될 수 있으며, Internal Dose 및 Biological Effective Dose (BED)가 여기에 해당된다.

예를 들면, 벤조피렌(BP)이 체내에 흡수되었을 경우 대사되기 이전의 BP와 BP대사체(예, BP-1-OH 등), 벤조피렌 대사체(BP-diolepoxide, BPDE)에 의한 DNA, 단백질, 지질의 손상체, 즉 BPDE-DNA, -Protein, 및 -Lipid adduct등이 이에 해당한다고 볼 수있다(10,11).

나. Effect Biomarker

환경 독성물질에 노출된 후 toxicokinetics와 toxicodynamics를 거쳐 여러 독성효과가 나타나기 시작한다. 체내의 생리학적 변화, 생화학적 변화, 행동의 변화, 그리고 질병과 원인적으로 관련될 수 있는 어떠한 변화도 이에 해당한다. 예를 들면 벤조피렌에 노출된 후 폐, 간, 신장, 내분비계 등에서의 독성현상이 나타나거나 발암현상이 일어나는 것을 말한다.

그러나, Exposure Biomarker중 DNA, Protein 그리고, Lipid adduct나 손상체의 경우는 Effect Biomarker 즉, BED로 활용될 수 있다.

다. Susceptibility Biomarker

환경 독성물질에 노출되었을 때 사람은 선천적 또는 후천적으로 이에 대응하는 능력에 많은 차이가 있다. Figure 1에서 보여 주듯이 노출에서 질병 발생에 이르기까지의 여러 단계의 진행과정에서 개체에 따라 진행 속도와 반응 정도가 매우 다를 수 있다.

예를 들면, 벤조피렌이 발암물질로서 작용하기 위해서는 BPDE로 전환되어야 한다. 그러나, 대사과정에서 개체간 또는 인종간의 P-450 induction정도가 다르며, 방어효소인 Glutathione-S-transferase (GST)의 활성도에도 차이가 있으므로, 동일량의 BP에 노출되었다 하더라도 BPDE의 최종 생산량은 다르게 되어 생체내 DNA, Protein, Lipid와 반응하는 정도에도 차이를 가져오게 된다. 결국, 개체별로 발암물질 노출에 대한 발암률이 다르게 된다. 물론, 이 과정에서 DNA가 손상될 경우, repair의 차이, 면역 상태의 차이가 모두 종합적으로 반영될 것이다. 즉, 노출과 질병발생에 이르는 여러 단계에서 개체별 polymorphism이 중요한 factor로서 작용하게 된다.

4. 인체 모니터링에 있어서의 Biomarker의 선택과 응용

앞에서 언급한 바와 같이 Biomarker는 노출에서 질병 발생단계에 이르기까지 그 종류가 다양하다. 환경 독성물질에 노출 후 어떤 단계를 연구하느냐에 따라 Biomarker의 선택이 달라지게 되므로, Biomarker의 정확한 선택은 연구목적과 연구결과의 성패를 좌우하게 된다. 예를 들면, BP에 노출된 시점이 2개월 전이라면 현재 BP 노출여부 및 노출량을 구하기 위해 혈액이나 뇨에서 BP 또는 그 대사체를 측정하려 한다면, 잘못된 연구 계획이 될 것이다. 왜냐 하면, 노출 후 4일 후면 혈액이나 뇨에서 거의 BP를 검출하기란 쉽지 않기 때문이다. 따라서, Biomarker의 선정에는 Biomarker의 반감기가 중요한 factor가 된다. BP 노출 2개월 후에는 BP-globin adduct(반감기3-4개월)를 측정하는 것이 적절할 것이다(12).

Table I . Half Life of Selected Biomarkers

Exposure	Biomarkers	Half-life	Reference
Smoking	Nicotine	2 hr	13
	Thiocyanate	14 day	
	4-ABP-Hb	3 mo	
Hg	Hg	2 mo in the body 3-4 yrs in the brain	15
TCE	Trichloroethanol	2 hrs in blood	16
	Trichloroacetic acid	100 hrs in blood	

Trichloroethylene(TCE)에 노출될 경우 그 대사체에 따라 반감기가 50배 정도 차이가 있으므로, 어떤 대사체를 선택하여 측정하느냐는 매우 중요하다(Table I). 또한, 노출된 환경 독성물질을 혈액과 뇨중 어떤 시료에서 측정하느냐에 따라 분석해야 할 화학물질의 구조가 달라진다. 예를 들면 Styrene에 노출된 사람이 혈액에서 Styrene 노출량을 측정하려면 Styrene을 측정해야 하며 뇨에서는 mandelic acid를 측정해야 한다(Table II).

Biomarker의 인체 모니터링에의 응용은 Biomarker의 성격에 따라 다양하다. 그러나, 인체 및 환경 위해성 평가에 있어서 무엇보다도 어떤 환경물질이 인체내에 노출되었나를 확인하는 것이 제일 중요하다고 하겠다. 즉, 혈액이나 뇨중에서 의심되는 특정 환경 독성물질을 확인하지 않고서는 인체에 노출되었다고 단정할 수는 없기 때문이다. 그 다음 단계는 노출량의 산출이다. 즉, 반감기를 고려한 적절한 Biomarker를 선택하여 Biomarker의 농도와 노출량과의 상관관계를 고려하여 산출하게 된다. 경우에 따라서는 노출량과 체액내의 독성물질 농도와의 관계에서 보정계수를 이용하여 노출량을 산출할 수도 있다(17).

Table II . Examples of Chemicals for Analysis in Blood and Urine After Exposure

Chemicals Exposed	Chemicals for Analysis
Benzene	Benzene(B), Phenol(U)
Benzo(a)pyrene	BP-OH, BP-(OH) ₂ , BP-(OH) ₃ , BP-(OH) ₄ , BP-Q, BPDE , etc. (B).
Dieldrin	Dieldrin(B)
Cd	Cd(B)
Nitrobenzene	Methemoglobin(B), p-nitrophenol(U)
Styrene	Styrene(B), mandelic acid(U)
TCDD	TCDD(U, B)
Toluene	Toluene(B), hippuric acid(U)

※ (B) : blood , (U) : urine

이 때 Exposure Biomarker와 Effective Biomarker중 어떤 Biomarker를 선택하느냐도 중요하지만, Exposure Biomarker중에서도 어떤 Biomarker를 선택하느냐도 문제가 된다(18,19).

다음은, 환경 독성물질의 노출과 직접적으로 관련하여 나타날 수 있는 생물학적 반응의 평가이다. 이 경우, BED, Early Disease를 평가할 수 있는 Biomarker를 측정하여 연구한다. 발암물질의 경우 BED에는 발암물질-DNA, -RNA, -단백질 adduct가 이용되고 있으며, Lipid adduct는 최근 개발 중에 있다. Early Disease 경우 Oncoprotein P21과 Chromosome loss를 Biomarker로 활용할 수 있다.

Biomarker의 선택에는 sensitivity와 specificity를 또한 고려해야 한다(20-22). Table III에 나열되어 있듯이 sensitivity와 specificity가 가장 우수한 Biomarker는 DNA adduct, protein adduct 그리고 체액(혈액, 뇨)내의 환경 독성물질을 들 수 있으며, sensitivity와 specificity가 가장 낮은 Biomarker는 염색체 이상, 림프구에서의 HGPRT (hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase)의 측정, 그리고 뇨에서 변이원성을 측정하는 것이다. 그러나, 뇨에서 변이원성을 측정하는 것은 뇨중 여러가지 혼합물뿐만 아니라, 시험 결과에 영향을 주는 여러 종류의 false positive 및 false negative를 유발할 수 있는 antifactual factor가 존재하므로 해석상의 문제도 있다.

Table III. Sensitivity and Specificity of Biomarkers in Molecular Dosimetry of Environment Carcinogens.

<p>High</p> <p>DNA adducts</p> <p>Protein adducts</p> <p>Unchanged or Metabolized Carcinogens</p>
<p>Intermediate</p> <p>Urinary amino compounds (Aromatic amines)</p> <p>Methemoglobin (Aromatic amine)</p>
<p>Low</p> <p>Chromosome aberration</p> <p>Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) in lymphocytes</p> <p>Mutagenicity in urine</p>

또한 뇨는 배설되는 일종의 방어 수단이므로 체내의 다른 주요 Biomarker와 상관 관계가 없으면 그 용도는 무의미하다. 최근 연구결과에서 보여주듯이 염색체를 이용한 분석 역시 Biomarker로 사용하는 데에 있어서 연구자의 측정오차가 다른 Biomarker에 비해 비교적 크며, 용량 반응과의 관계에서도 매우 sensitivity가 떨어지며 specificity도 낮다.

반면, DNA adduct나 protein adduct는 매우 우수하게 평가되었다(23, 24) (Figure 2, 3). 즉, 염색체 이상 시험 결과에서는 BP투여 량이 10배씩 증가함에 따라 0.3~1배 정도의 염색체 이상이 세포에서 확인 되었으며(매우 둔감하게 증가), DNA나 Protein adduct의 경우는 BP투여 량이 3배씩 증가할 때 adduct량도 거의 3배씩 증가했다. 만성적으로 발암물질에 노출될 경우 발암물질에 대한 항체가 생성되어 Exposure Biomarker로 활용할 수도 있다(25).

Table IV. Biological Samples for Measuring Biomarkers.

Blood	Milk	Sputum
Expired Air	Placenta	Tissues
Fingernails	Saliva	Urine
Hair	Semen	etc.

Biomarker를 이용한 위해성 평가에 있어서 시료의 확보가 중요한 문제이며, 실제 이용 가능한 시료의 종류에는 여러가지가 있다(Table IV). 그러나, 무엇보다도 시료의 선택과 함께 Biomarker의 선택조건도 충분히 고려되어야 한다(Table V).

Table V. Factors Affecting Biomarker Selection

Accuracy
Cost
Half-life
Measurement Method : easy, practical, rapid, simple, reproducible.
Sensitivity
Specificity
Stability

5. 결론

환경 및 인체 위해성 평가에 있어서 Biomarker의 개발과 응용연구가 환경모니터링의 한계점을 보완할 뿐만 아니라, 과학기술적인 측면에서 그 중요성이 크게 부각되고 있다. 따라서, 환경 및 위해성 평가를 효율적으로 하기 위해서는 환경 독성물질의 노출에 따른 Biomarker의 database가 체계화되어야 하며, Biomarker분석법을 확립 및 실용화하여, Biomarker를 이용한 위해성 평가방법론을 국내에서도 빠른 시일내에 구축해야 한다.

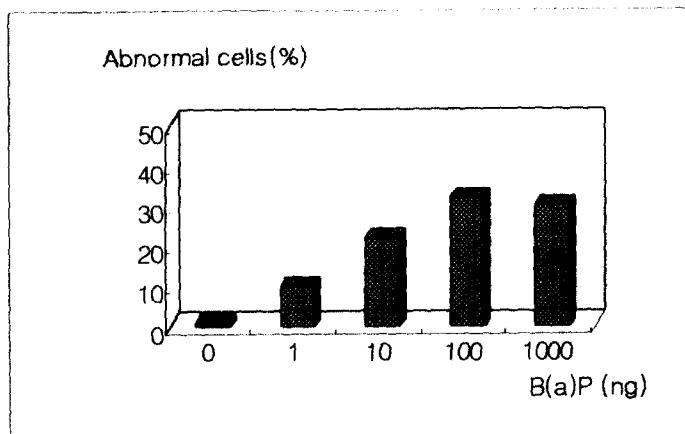


Figure 2. Chromosomal aberration of mouse spleen cells treated with benzo(a)pyrene. Compounds were added in 20 μ l anhydrous DMSO to monolayer cultures of 2×10^9 cells growing in 5 ml of medium. Cell cultures were initiated 24 h before treatment and were exposed benzo(a)pyrene. Cytotoxicity was determined by counting the number of chromosomally aberrated cells of 100 or more

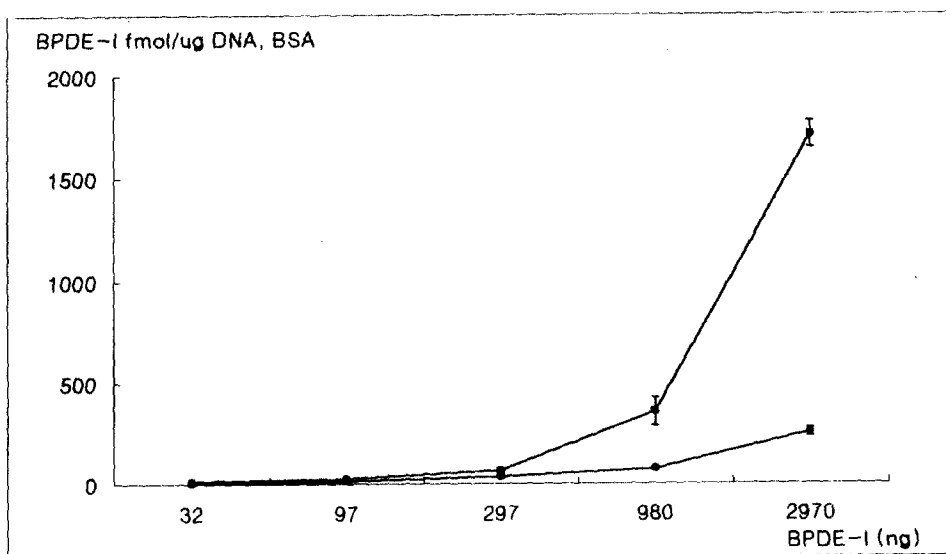


Figure 3. Dose-related adduct formation of modified calf thymus DNA and BSA with BPDE-I in vitro. Calf thymus DNA and BSA were incubated for 2 h at 37 °C in dark with BPDE-I delivered in tetrahydrofuran at final concentration from 0.106 to 9.760 nmol. Each point was expressed as mean \pm SD of three experiments. Statistically significant with $P < 0.005$ (F test). The symbols indicated BPDE-I-DNA (■), BPDE-I-BSA (●)

References

1. R.M. Santella, Y.J. Zhang, T.L. Young, Y. Li, M. Toor, B.M. Lee, M. Stefanidis, D. Warburton, V. Deleo, and F.P. Perera : Biological Monitoring of Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, In *Anticarcinogenesis and Radiation Protection 2*, O. F. Nygaard and A. C. Upton (eds), Plenum Press, New York, 155-169, 1991.
2. Byung M. Lee : Evaluation and Monitoring of Chemical carcinogen for Environmental Risk Assessment. *한국 과학 기술단체 총연합회*, 1992
3. Charles E. Feigley and Byung M. Lee : Determination of Sampling Rates of Passive Samplers for Organic Vapors Based on Estimated Diffusion Coefficient, *Amer. Industrial Hygiene Assoc. J.*, 49, 266-269, (1988)
4. 이병무 : 화학발암물질에 대한 인체암 위해성 평가를 위한 방법론. *한국독성학회지*, 9:317-329, 1992
5. 이병무, 최옥경 : 식품가열에 따른 Benzo[a]pyrene 생성 및 한국인의 발암 위해성 평가. *식품위생, 안전성학회지*, 9:133-139, 1994
6. R.M. Santella, Y. Li, Y.J. Zhang, T.L. Young, M.Stefanidis, X.Q. Lu, B.M. Lee, M. Gomes, and F.F. Perera : Immunologic Methods for the Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-DNA and Protein Adducts. In *Genetic Toxicology of Complex Mixtures*, ed. M. Waters, Plenum Press, New York, pp.291-301, 1990.
7. 이병무, 이정화, 최문정 : 벤조피렌의 직업적 노출에 대한 면역학적 인체모니터링에 관한 연구. *산업보건연구논문집*, 90-104, 1992
8. Byung M. Lee : Biological Human Monitoring of Benzo(a)pyrene: As a Model Study for Carcinogen Exposure. *한국과학기술단체 총연합회 논문집*, 1037-1041, 1990.
9. Byung M. Lee : Biological Human Monitoring of Carcinogen Exposure: A New Strategy in Cancer Prevention. *한국독성학회지*, 6:61-73, 1990.
10. R.M. Santella, A. Weston, F.P. Perera, G.T. Trivers, C.C. Harris, T.L. Young, D. Nguyen, B.M. Lee and M.C. Poirier : Interlaboratory Comparison of Antisera and Immunoassays for Benzo(a)pyrene-diol-epoxide-I-modified DNA, *Carcinogenesis*, 9, 1265-126, (1988)
11. Byung M. Lee : Carcinogen-DNA and -Protein Adducts in Chemical Carcinogenesis. *Biochemistry News*. *한국생화학학회지*, 10:180-186, 1990.
12. Byung M. Lee and Regina M. Santella : Quantitation of Protein Adducts as a Marker of Genotoxic Exposure: Immunologic Detection of Benzo(a)pyrene-globin Adducts in Mice, *Carcinogenesis*, 9, 1773-1777, (1988)
13. Benowitz NL : Circadian blood nicotine concentrations during cigarette smoking. *Clin Pharmacol Ther.*, 1982 Dec;32(6):758-764
14. Friberg LT : The rationale of biological monitoring of chemicals with special reference to metals. *Am Ind Hyg Assoc J.*, 1985;46:633-642
15. Tannenbaum SR : Direct measurements on chemicals and their effects on humans. Presented at the Symposium on basic Research in Risk Assessment. National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC, March 9-12, 1987
16. Vainio H, Sorsa M, Rantanen J, Hemminki K, Aitio A : Biological monitoring in the identification of the cancer risk of individuals exposed to chemical carcinogens. *Scand J Work Environ Health*, 1981;7:241-251

17. 이병무, 최문정, 변수현 : 암 위해성 평가를 위한 노출보정계수의 산출.
한국 환경성독연변이·발암원학회지, 15:1-6 1995
18. Seung Ki Lee and Byung Mu Lee : Oxidation of Erythrocyte Protein and Lipid, and Hemolysis in Rabbit Red Blood Cells Treated with Benzo(a)pyrene or Adriamycin, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 51, 557-569, (1997)
19. Kyu Bong Kim and Byung Mu Lee : Oxidative Stress to DNA, Protein, and Antioxidant Enzymes(Superoxide Dismutase and Catalase) in Rats Treated with Benzo(a)pyrene, *Cancer Letters*, 113, 205-212, (1997)
20. Byung M. Lee , Y.Baoyun, R. Herbert, K. Hemminki, F.P. Perera and R.M. Santella : Immunologic Measurement of Polycyclic Aromatic Hydrocarbone Albumin Adducts in Foundry Workers and Roofers, *Scan. J. Work Environ. Health*, 17, 190-4, (1991)
21. R.M. Santella, Y.J. Zhang, L.L. Hsieh, T.L. Young, X.Q. Lu, B.M. Lee , G.Y. Yang and F.P. Perera : Immunological Methods for Monitoring Human Exposure to Benzo(a)pyrene and Aflatoxin B1, Measurement of Carcinogen Adducts, *American Chemical Society Symposium Series*, 451, 229-245, (1991)
22. R.M. Santella, Y.J. Zhang, T.L. Young, B.M. Lee and X.Q. Lu : Monitoring Human Exposure to Environmental Carcinogens, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 283, 165-181, (1991)
23. M.J Choi, J.H. Lee and B.M. Lee : Comparative Assessment of DNA Adduct Formation, Salmonella Mutagenicity and Chromosome Aberration Assays as Short-term Tests for DNA Damage, *Journal of Toxicology & Environmental Health*, 49, 271-284, (1996)
24. Byung M. Lee, J.J. Jang and H.S. Kim : Benzo(a)pyrene diol-epoxide-I-DNA-and oxidative DNA adducts associated with gastric adenocarcinoma., *Cancer Letters*, 125, 1-8, 1998
25. Byung M. Lee and Paul T. Strickland : Antibodies to Carcinogen-DNA Adducts in Mice Chronically Exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Immunology Letters*, 36, 117-124, (1993)