

## 소변 중 4-hydroxyproline 분석에 관한 연구

저자 : 이규원, 이경중, 조영봉

출처 : 대한예방의학회지 2002;35(4):282-286

외부의 자극에 의한 스트레스는 체내에서 잉여 활성 산소의 발생을 증가시켜서 지방질, 단백질, 효소나 DNA를 공격하여 질병을 일으키거나 노화가 빨리 진행된다고 알려져 있다. 암이나 동맥 경화, 고혈압, 심근경색, 당뇨병 등의 질병이 대표적 예가 될 것이다. 활성산소는 세포벽 지방의 산화를 촉진시켜서 세포를 지지하고 있는 결합조직 콜라겐 성분인 hydroxyproline(Hyp)과 proline(Pro)의 소변 중 농도를 증가시킨다. 콜라겐은 약 1,000개의 아미노산으로 구성되어 있으며 (Gly-X-Y)<sub>n</sub>의 배열을 하고 있으며 X위치의 약 10% 정도가 Pro이며 Y위치의 약 10% 정도가 Hyp으로 구성되어 있다. Hyp은 콜라겐에 특이적으로 존재하기 때문에 이와 관련된 연구에 많이 활용되고 있다.

이 연구는 소변 중 유리형 4-Hyp을 o-phthalic dicarboxaldehyde와 dansyl chloride를 이용하여 유도체화시켜서 HPLC 형광검출기를 이용하여 분석할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 이는 많은 시료를 단시간에 분석해야 하는 산업위생학적 요구를 수용할 수 있으며 비용 또한 절감하는 방법이 된다. 또한 타이어생산 공장에서 근무하는 남성 근로자(22명)와 병원에서 근무하는 일반 사무직 근로자(남성 8명, 여성 10명)의 소변을 분석함으로써 실제 적용을 평가하였다.

실험방법은 10 ml 시험관에 소변 200  $\mu$ l 와 borate buffer(5 mmol, pH 8.0, 500  $\mu$ l)를 넣은 후 OPA(4 % in acetonitrile : borate buffer(0.1 mol, pH 8.0)=1:1, 300  $\mu$ l)를 넣어 1차 유도체화하였다. 이 중 1 ml를 취하여 C18 칼럼에 흘려준 후 borate buffer(0.1 mol, pH 8.0) 1 ml를 흘려서 칼럼을 씻어주었다. 이렇게 받은 용액 1 ml를 취하여 10 ml screw cap vial에 담은 후 dansyl-Cl(1.5 mmol, 400 mg in 1 l acetone) 300  $\mu$ l를 넣고 water bath에서 10분간(70°C) 반응시켰다. 반응이 끝나면 상온에서 약 30분간 식힌 후 dichloromethane 2 ml를 넣어서 용매를 추출하고 원심분리한 후 상층액 20  $\mu$ l를 HPLC/형광검출기(Em: 340 nm, Ex: 538 nm)에 주입하여 분석하였다. 칼럼은 ODS hypersil column(200 $\times$ 4.6 mm; Hewlett Packard)에 TSK Guardgel ODS-80Ts(15 $\times$ 3.2 mm; Tosoh)를 연결하였으며, 이동상의 유량은 1.0 ml/min이었다. Dansyl-Cl와 Hyp의 반응에서 dansyl-Cl의 몰 비(4-Hyp/dansyl-Cl, W/W)는 최소 60배 이상이 되어야 되며, 120배에서 가장 반응이 좋았다.

작업하기 전의 타이어 생산 근로자들과 병원의 근로자들에서 분석한 소변 중 4-Hyp은 각각  $5.36 \pm 5.53$  nmol/mg Cre과  $4.91 \pm 4.89$  nmol/mg Cre 이었다. 그러므로 연구자들은 정상인의 소변에서 dansyl-Cl를 이용하여 4-Hyp을 유도체화하여 HPLC로 분석 가능함을 확인하였다. 한편, 소변 중 유리형 4-Hyp 농도에 대한 작업 전과 작업 후의 대응표본 t-검정을 실시한 결과, 타이어생산 근로자의 작업 후( $11.82 \pm 16.73$  nmol/mg Cre)의 소변 중 농도는 작업 전보다

약 2배 높은 수치였다. 이러한 결과는 작업 중 발생된 내·외부 스트레스가 원인이 되어 소변 중 Hyp 농도를 증가시켰을 가능성을 시사하나 스트레스 이외의 변수들을 보다 체계적으로 통제된 보충연구가 필요해 보인다. **▶▶▶**

(제공 : 이 경 종)

## 목록

	예방의학회지 제35권 4호
RAW 264.7 Cell에서 납에 의한 NO 생성의 조절에 미치는 Glutathione의 효과	신새론, 오경재, 권근상 등
일부 자원 여성에서 모발염색 후 림프구의 DNA 손상과 관련 요인	조진아, 오은하, 설동근 등
소변 중 4-hydroxyproline 분석에 관한 연구	이규원, 이경종, 조영봉
사회적 지지가 만성적 스트레스와 면역체계에 미치는 영향	장세진, 고상백, 박종규 등
2001년 경상북도에서 발생한 콜레라 유행에 관한 역학조사	이준호, 임현술, 이관 등
여성 노인에서 출산력과 고관절 골절 발생간의 관련성: 코호트 연구	이승미, 김윤이, 윤경은 등
도시지역 노인의 치매 위험요인에 관한 단면연구	정인숙, 김정순, 천병철 등
대구지역 암등록사업의 효율적 수행방안	진대구, 감신, 천병렬 등
국민건강면접조사를 이용한 한국인의 DALE(Disability-Adjusted Life Expectancy)에 관한 연구	권영훈, 이종규, 도영경 등
고혈압 환자의 연간 내원일수, 처방일수 그리고 진료비	임부돌, 천병렬, 감신 등
노인 인구에서 육체적 활동과 고관절 골절 발생간의 관련성 : 코호트 연구	윤경은, 이승미, 김윤이 등
지역사회 노인의 신체기능 평가도구 개발	이윤환, 이경종, 한근식 등 <b>▶▶▶</b>