

다환성 방향족 탄화수소 노출에 의한 DNA 산화적 손상과 Paraoxonase-1 (PON1) 유전자 다형성이 폐암 발생에 미치는 영향

이철호¹⁾, 이계영²⁾, 최강현³⁾, 홍윤철⁴⁾⁵⁾, 김용대¹⁾, 강종원¹⁾⁶⁾, 김 현¹⁾⁵⁾

충북대학교 의과대학 예방의학교실¹⁾, 단국대학교 의과대학 내과학교실²⁾,
충북대학교 의과대학 내과학교실³⁾, 서울대학교 의과대학 예방의학교실⁴⁾, 서울대학교 의학연구원 환경의학연구소⁵⁾

Effects of Oxidative DNA Damage Induced by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Genetic Polymorphism of the Paraoxonase-1 (PON1) Gene on Lung Cancer

Chul-Ho Lee, Kye-Young Lee²⁾, Kang-Hyeon Choe³⁾, Yun-Chul Hong⁴⁾, Yong-Dae Kim, Jong-Won Kang, Heon Kim

Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University¹⁾; Department of Internal Medicine, Dankook University College of Medicine²⁾; Department of Internal Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University³⁾; Department of Preventive Medicine, Seoul National University College of Medicine⁴⁾; Department of Preventive Medicine, Seoul National University, Institute of Environmental Medicine, SNUMRC⁵⁾

Objectives : Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which are risk factors for lung cancer, have been reported to induce oxidative DNA damage. The paraoxonase (PON) plays a significant role in the detoxification of a variety of organophosphorous compounds, with paraoxonase-1 (PON1) being one of the endogenous free-radical scavenging systems in the human body. The aim of this case-control study was to investigate the effects of PAH exposure, oxidative stress and the Q192R polymorphism of PON1 genes, and their interactions in the carcinogenesis of lung cancer.

Methods : One hundred and seventy seven lung cancer patients and 177 age- and sex-matched controls were enrolled in this study. Each subject was asked to complete a questionnaire concerning their smoking habits and environmental exposure to PAHs. The Q192R genotypes of the PON1 gene was examined, and the concentrations of urinary 1-hydroxypyrene (1-OHP), 2-naphthol and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG) measured.

Results : Cigarette smoking was found to be a significant risk factor for lung cancer. The urinary 8-OH-dG level was

higher in the patients, whereas the urinary 1-OHP and 2-naphthol levels were higher in the controls. There was a significant correlation between the urinary levels of 8-OH-dG and 1-OHP in both the cases and controls. The PON1 polymorphism was associated with an increased risk of lung cancer. Individuals carrying the Q/Q genotype of the PON1 gene were found to be at higher risk of developing lung cancer. There was a significant correlation between the urinary levels of 8-OH-dG and 1-OHP in those with the PON1 Q/Q genotype.

Conclusions : These results lead to the conclusion that PAHs would induce oxidative DNA damage, especially in individuals with the PON1 Q/Q genotype. Therefore, people with the PON1 Q/Q genotype would be more susceptible to lung cancer than those with the R/R or Q/R genotypes of the PON1 gene.

J Prev Med Public Health 2005;38(3):345-350

Key Words : Lung cancer, Paraoxonase-1, 8-hydroxydeoxyguanosine, Polycyclic aromatic hydrocarbons

서론

우리가 살아가는 대기 환경은 수많은 화학물질들로 구성되어 있으며, 다환성 방향족 탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbons; PAH)를 비롯한 다양한 유해물질이 포함되어 있다. 이들 유해 환경물질이 인

체에 나타내는 효과는 그 종류에 따라 매우 다양하지만, 그 중에서도 폐암 발생의 증가가 가장 심각한 문제로 인식되고 있다. 폐암은 한국인 남성에서 두 번째로 많이 발생하는 암이며 [1], 위암이나 간암의 발생률은 해마다 감소하는 추세에 있는 반면, 폐암으로 인한 사망자수는 급격한

증가 양상을 보이고 있다.

체내에 흡수된 변이원성 대기오염 물질은 인체 내에서 돌연변이와 암을 유발한다 [2]. 그 가운데 PAH가 대표적인 대기오염 물질이자 발암물질로 알려져 있다 [3]. PAH 중의 함량이 비교적 일정한 것으로 알려진 pyrene은 네 개의 벤젠 고리로 구성되어 있는데, 인체 내에서 1-hydroxylation되어서 1-hydroxypyrene (1-OHP)으로 대사된다 [4]. 그러므로 소변으로 배설되는 대

접수: 2004년 9월 20일, 채택: 2005년 3월 28일

본 연구는 보건복지부 보건과학기술진흥사업의 지원에 이루어진 것임. (02-PJ1-PG1-CH03-0001)

책임저자: 김 현 (충북 청주시 흥덕구 개신동 산48번지, 전화: 043-261-2864, 팩스: 043-274-2965, E-mail: kimheon@cbu.ac.kr)

사물질인 1-OHP를 측정함으로써 PAH 노출 수준을 측정하고 있다 [5,6]. 벤젠 고리가 두 개인 나프탈렌 (naphthalene)은 1-naphthol 또는 2-naphthol로 대사되는 것으로 알려져 있고 [7], 최근 고압액체크로마토그래피 (HPLC)를 이용한 2-naphthol 측정법이 개발되었다 [8]. 이 지표는 1-OHP에 비해, 직업적 PAH 노출이 없는 일반 인구 집단의 대기오염 노출 정도를 더 잘 반영하는 것으로 알려져 있다 [9]. 흡수된 PAH는 체내에서 superoxide anion과 hydrogen peroxide, 그리고 hydroxyl radical과 같은 활성산소 (reactive oxygen species, ROS)를 생성한다 [10,11]. ROS는 반응성이 매우 높아서 DNA의 염기 부분에 산화적 손상을 일으켜 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG)을 생성하게 되고 이것은 DNA의 복제과정 중에 각종 돌연변이를 유발하게 되며, 궁극적으로는 폐암을 유발할 가능성이 높다 [12-14]. 대기오염 물질에 의한 개개인의 인체 영향을 평가하기 위해서는 실제로 그 물질에 의하여 발생된 유전자의 손상 정도를 측정해야만 한다. 산화적 유전자 손상 정도를 측정하기 위하여 혈중 또는 요중 8-OH-dG 농도를 널리 이용하고 있다. 대기오염 물질 노출 후 암 발생까지 매우 오랜 시간이 소요되므로, 대기오염과 암 발생 사이의 인과관계를 입증하기 어려우나, 요중 8-OH-dG 농도와 같은 매우 민감한 변이원성 지표를 사용한다면, 대기오염 정도와 체내 변이원성 효과, 그리고 나아가서는 암 발생과의 관련성을 평가할 수 있다.

인체에 생성된 ROS가 거대분자에 손상을 입히거나, 그 손상을 복구하는 과정에는 여러 가지 효소가 관여한다. 이러한 효소 가운데 하나인 paraoxonase-1(PON1)은 유기인체 화합물의 독성제거와 지질 과산화에 관여하는 효소이며 [15,16], 그 mRNA가 간과 신장 그리고 폐, 뇌에서 발견되는 것으로 알려져 있다 [17]. PON1은 농약 대사와 무관하게 산화적 스트레스를 완화시킬 수 있으며, PON1의 기능이 저하된 경우에는 혈청이나 대식세포의 산화적 스트레스가 증가한다 [15]. PON1 유전자의 192번 위치에 glutamine(G)→arginine(A) 아미노산 치환이 있으며 RR형에 비하여 QQ

형의 활성이 낮은 것으로 알려져 있다 [15,18]. 이 유전적 다형성의 분포는 국가나 인종에 따라서 현저한 차이가 있으므로 [19-22], 대기오염에 의한 인체 영향 평가에 있어서 대사효소의 유전적 다형성 조사는 필수적인 요소이다.

이상의 사실을 토대로 흡연이나 PAH 노출에 의하여 인체 내의 ROS 생성량이 증가하며, 특히 PON1 Q/Q형에서 더 많은 ROS가 생성되고, 그 결과, PON1 Q/Q형을 가진 사람에서 흡연이나 PAH에 의한 폐암 발생 위험도가 높아질 것이라 가설을 설정할 수 있다.

본 연구의 목적은, 한국인에서 PAH 노출이 DNA 산화적 손상에 미치는 인과관계를 조사하고, PON1 유전자 다형성이 이러한 인과관계에 미치는 영향을 파악하여, 궁극적으로 이러한 요인들이 폐암발생에 미치는 효과를 평가하는 것이다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

충북대학교 병원과 단국대학교 병원, 그리고 인하대학교 병원에서 조직병리학적 으로 폐암으로 새롭게 진단 받은 환자 177명을 환자군으로 하였다. 한편, 동일 병원에 내원하거나 인접한 지역에 거주하면서 암으로 진단 받은 적이 없는 사람 중에서, 환자군과 성은 같고 연령 차이는 3세 이내의 사람을 환자군과 1:1로 짝지은 177명을 대조군으로 하였다.

환자군의 평균 연령은 66.9세이고 표준편차가 10.0세였으며, 대조군은 평균 연령이 63.8세이고 표준편차가 10.8세였다. 환자군과 대조군의 성별 분포는 각각 남성이 131명 (74.0%) 여성이 46명 (26.0%)이었다.

2. 연구 방법

1) 설문 조사

숙련된 면접 조사원이 구조화된 설문지를 이용하여 환자군과 대조군에 대하여 직접 면접조사를 실시하였으며 설문지에는 인적 사항 및 인구학적 요인, 그리고 흡연력, 음주력, 직업력 등이 포함되어 있다.

2) PON1 유전자 다형성 분석

환자군과 대조군의 혈액을 EDTA 튜브에 5 ml 정도 채취하여 보관하였다. 채취한 정맥혈에서 DNA Extractor WB Kit(Wako, Japan)를 이용하여 DNA를 추출한 후 이것을 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)의 주형으로 이용하였다.

PON1 유전자 다형성은 TaqMan PCR 기법을 이용하여 확인하였다. 시발체는 5'-CTGAGCACTTTTATGGCACAAATGA-3'과 5'-ACCACGCTAAACCCAAATACATCTC-3'를 사용하였고 TaqMan probe는 5'-VIC-CCTACTTACAATCCTG-NFQ-3'(Q 대립유전자)와 5'-FAM-CCCTACTTACGATCCTG-NFQ-3' (R 대립유전자)을 이용하였다. TaqMan PCR 혼합액(총 25 ul)은 100 ng DNA와 10 pmol 시발체, 그리고 2.5 μmole probe, IX TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, USA)를 혼합하여 사용하였다. iCycler iQ Real-time PCR Thermal cycler (BIO-RAD, USA)로 92 °C에서 10분, 95 °C에서 15초, 60 °C에서 60초로 하여 40 cycle을 반응시켰다. 증폭결과는 iCycler iQ Ver 3.1 (BIO-RAD, USA) 프로그램을 이용해 확인하였다.

3) 요중 1-OHP와 2-naphthol의 측정

대상자의 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도를 HPLC를 이용하여 측정하였다. 대상자의 소변에 2 N sodium acetate 완충액을 가해 pH를 5.0으로 맞춘 후 βglucuronidase/sulfatase (3216 unit:135 unit)로 처리하고 37 °C에서 16시간 반응시켰다. 반응이 끝난 시료는 acetonitrile로 추출하였다. 소변 시료 및 표준시료의 분석은 펌프(Waters 600E, Millipore, USA)와 형광검출기(RF-10AxL, Shimadzu, Japan), 그리고 자동시료주입기(L-7200, Hitachi, Japan), 자료처리장치(Chromatopac C-R3A, Shimadzu, Japan)로 구성된 HPLC를 사용하여 분석하였다.

요중 1-OHP는 농도는 150 mm 역상컬럼(TSK gel ODS-80TM, Tosoh, Japan)을 사용하였으며, 이동상은 60% acetonitrile을 사용하여 분당 1 ml의 속도로 흘러주었다. 형광검출기의 파장은 excitation 242 nm, 그리고 emission 388 nm를 사용하였다.

Table 1. Lung cancer risk according to cigarette smoking and alcohol drinking

Variable	No. (%)		OR (95% CI) [†]	p-value
	Cases (N=177)	Controls (N=177)		
Cigarette smoking				
Never smoker	30 (17.0)	68 (38.4)	1.00	<0.001
Current smoker or ex-smoker	147 (83.0)	109 (61.6)	8.32 (3.57-19.42) [‡]	
Alcohol drinking				
Never drinker	79 (44.6)	68 (38.4)	1.00	0.059
Current drinker or ex-drinker	98 (55.4)	109 (61.6)	0.59 (0.34-1.02) [‡]	
Cumulative smoking [§]	47.0 ± 28.8	31.1 ± 18.8		<0.001
Weekly alcohol consumption [¶]	257.2 ± 220.6	125.3 ± 123.9		<0.001

[†]OR (95% CI): odds ratio (95% confidence interval).

[‡]Adjusted by age and sex.

[§]Adjusted by age, sex and cigarette smoking.

[§]Mean ± standard deviation: pack-years

[¶]Mean ± standard deviation: g/week

Table 2. Geometric means (geometric standard deviations) of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations in cases and controls (unit: $\mu\text{mol/mol creatinine}$)

Variables	Cases (N=177)	Controls (N=177)	p-value
8-Hydroxydeoxyguanosine	3.08 (1.95)	1.92 (2.00)	<0.001
1-Hydroxypyrene	0.04 (3.70)	0.11 (4.61)	0.009
2-Naphthol	1.80 (4.55)	2.43 (4.68)	0.067

Table 3. Correlation coefficients between log-transformed creatinine-adjusted urinary 8-hydroxydeoxyguanosine concentration and variables on smoking habits, and log-transformed urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations

Variables	Correlation coefficients with urinary 8-OH-dG concentration	
	Cases (N=177)	Controls (N=177)
Duration of cigarette smoking (year)	-0.110	-0.022
Amount of daily cigarette smoking (cigarettes)	-0.006	-0.105
Cumulative smoking (pack-years)	-0.009	-0.135
Weekly alcohol consumption (g/week)	0.076	0.037
1-Hydroxypyrene ($\mu\text{mol/mol creatinine}$)	0.206 [*]	0.275 [*]
2-Naphthol ($\mu\text{mol/mol creatinine}$)	-0.017	0.092

^{*}p-value<0.01

Table 4. Polymorphic distribution of the *PON1* gene in cases and controls

<i>PON1</i> genotype	Cases	Controls	OR (95% CI) [†]	p-value
	No. (%)	No. (%)		
R/R	73 (41.2)	77 (43.5)	1.00	0.162 [‡]
Q/R	80 (45.2)	89 (50.3)	0.96 (0.60-1.54)	
Q/Q	24 (13.6)	11 (6.2)	2.59 (1.13-5.92)	
R/R or Q/R	153 (86.4)	166 (93.8)	1.00	0.016
Q/Q	24 (13.6)	11 (6.2)	2.63 (1.20-5.77)	

[†]OR and 95% CI were adjusted for age, sex and smoking history.

[‡]p-value for χ^2 trend

요중 2-naphthol 농도는 250 nm 역상 컬럼 (Jsphere ODS-H80, YMC, USA)을 사용하였으며, 이동상은 38% acetonitrile을 사용하여 분당 1 ml의 속도로 흘려주었다. 형광검출기의 파장은 excitation 227 nm, 그리고 emission 355 nm를 사용하였다.

요중 creatinine 농도를 Jaffe 법으로 측정하여 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도를 보정하였다.

4) 요중 8-OH-dG 농도의 측정

대상자의 요중 8-OH-dG 농도는 시판되는 ELISA kit (8-OH-dG Check, Japan Institute for the Control of Aging, Japan)를 사용하여 분석하였다. 측정은 제조사의 설명서대로 시행하였다.

5) 자료 분석

설문조사 결과와 요중 PAH 대사산물 농도 그리고 요중 8-OH-dG 농도, *PON1* 유전자 다형성 유형 사이의 관련성을 PC-SAS

패키지를 이용하여 분석하였다. p-value는 0.05 이하를 유의한 것으로 판정하였다.

통계분석은 Student t-test를 이용하여 요중 PAH 대사산물과 8-OH-dG의 농도가 환자-대조군에 따라 차이가 있는지 검정하였고, 유전자 다형성 유형에 대하여 요중 8-OH-dG의 농도가 환자-대조군에서 차이가 있는지는 Student t-test와 Wilcoxon rank sum test를 이용하여 검정하였다. 요중 PAH 대사산물과 8-OH-dG와 상관분석을 시행하였다. 성과 연령에 의한 영향을 보정한 대응비 (odds ratio; OR)를 계산하기 위하여 로지스틱 분석을 이용하였다.

결 과

환자군의 83.0%과 대조군의 61.6%에서 과거 흡연력이 있었고 흡연의 폐암발생 위험도는 8.32 (95% CI=3.57-19.42) 였다. 누적흡연량도 환자군에서 대조군보다 유의하게 많았다 (p<0.001). 과거 음주력은 폐암 발생위험도를 감소시키는 것으로 나타났다지만 유의하지는 않았다. 그러나 주당 알코올 섭취량은 환자군에서 더 많았다 (p<0.001)(Table 1).

요중 8-OH-dG 농도의 기하평균(기하표준편차)은 환자군 3.08(1.95) $\mu\text{mol/mol creatinine}$, 대조군 1.92(2.00) $\mu\text{mol/mol creatinine}$ 로 환자군에서 대조군보다 높았다 (p<0.001). 그러나 요중 1-OHP 농도의 기하평균(기하표준편차)은 대조군에서 환자군보다 높았다 (p=0.009). 요중 2-naphthol 농도는 대조군에서 환자군보다 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (p=0.067)(Table 2).

요중 8-OH-dG 농도는 흡연기간(년), 하루 흡연량(개비), 누적흡연량(pack-year), 주당 알코올 섭취량, 요중 2-naphthol 농도 등과는 유의한 상관을 보이지 않았으나 요중 1-OHP 농도와는 유의한 양의 상관관계를 보였다 (p<0.01)(Table 3).

PON1 유전자의 Q/Q 형은 환자군에서 13.6%, 대조군에서 6.2%로 관찰되었으며, Q/R 형은 R/R 형에 비해 폐암발생 교차비가 높지 않았으나, Q/Q 형은 R/R 형에 비해 폐암 발생의 교차비 2.59 (95% CI=1.13-

Table 5. Geometric mean (geometric standard deviation) of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine concentration according to the Q192R polymorphism of the *PON1* gene (unit: $\mu\text{mol/mol creatinine}$)

Group	<i>PON1</i> genotype		p-value
	R/R or Q/R	R/R or Q/R	
Cases	3.01 (1.94)	3.51 (2.06)	NS*
Controls	3.51 (2.06)	1.77 (1.72)	NS*†

*NS: not significant

† p-value was estimated using Wilcoxon rank sum test.

5.92)로 높았다. *PON1* 유전자 R/R 형 또는 Q/R 형에 대한 Q/Q 형의 폐암 발생 위험도는 2.63 (96% CI=1.20-5.77)으로 유의하게 높았다 (Table 4). *PON1* 유전자 Q/Q 형을 지닌 사람의 흡연력은 환자군 24명 중 18명(75.0%), 대조군 11명 중 8명(72.7%)으로 유의한 차이가 없었다.

요중 8-OH-dG 기하평균 농도는 환자군에서 대조군보다 높았으나, *PON1* 유전자 형에 따른 차이는 통계적으로 의미가 없었다 (Table 5).

PON1 유전자 다형성에 따른 요중 8-OH-dG 농도와 요중 1-OHP 농도, 요중 2-naphthol 농도 사이의 상관분석에서 요중 8-OH-dG 농도는 요중 1-OHP 농도와는 유의한 양의 상관관계를 보였으나 요중 2-naphthol 농도와는 관련이 없었다. 대상자를 폐암 여부와 *PON1* 유전자 유형에 따라 나누어 요중 1-OHP 농도와 요중 8-OH-dG 농도 사이의 상관관계를 분석한 결과, *PON1* 유전자 Q/Q형인 경우가 R/R 혹은 Q/R 형인 경우보다 상관계수가 더 크게 나타났다. 표본 수가 작았던 *PON1* 유전자 Q/Q형인 경우를 제외하고는 모두 통계적으로 의미가 있었다 (Table 6).

고찰

전반적인 암 사망 원인 중 흡연이 30%를 차지하며 [23], 폐암 발생 원인의 약 87%가 흡연인 것으로 알려져 있다 [24]. 본 연구에서도 흡연자에서의 폐암 발생 위험 교차비 8.32 (95% CI = 3.57-19.42)로 높았다. 음주 또한 흡연과 관련되어 폐암 발생의 중요 요인으로 알려져 있으며 [25-27] 본 연구에서는 주당 알코올 섭취량이 환자군에서 대조군보다 유의하게 많았다.

DNA의 산화적 손상지표인 요중 8-OH-

dG 농도가 환자군에서 대조군보다 유의하게 높았다. 이는 암환자의 요중 8-OH-dG 농도가 대조군보다 50% 정도 높다고 한 Rozalski 등 [28]과 Erhola 등 [29]의 연구 결과나, Ichinose 등 [29]의 연구에서 생쥐의 폐조직 DNA의 8-OH-dG가 디젤 배기 분진의 노출량에 따라 증가하고, 이것이 폐중앙 발병과 상관관계를 보였다는 결과와도 일치하는 것이다. 또한, 비소세포암종 (non-small cell carcinoma)의 경우 방사선 치료를 받는 동안, 그리고 소세포암종은 약물 치료를 받은 후에 요중 8-OH-dG 농도가 감소한다는 Erhola 등 [29]의 연구 결과도 있으므로 8-OH-dG, 즉 DNA의 산화적 손상은 폐암 발생 초기 단계 뿐 아니라 진행 과정에서 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

대기 중 PAH 노출의 생물학적 지표로 이용되고 있는 요중 1-OHP와 2-naphthol 농도는 대조군에서 환자군보다 높았다. 이는 환자군의 일부가 폐암 진단을 전후하여 흡연을 중단하였으며, 환자군이 주로 병원 등의 실내 환경에서 생활함에 따라 대기 오염물질에 대한 노출이 상대적으로 적기 때문인 것으로 생각된다. 하지만 이들 지표는 단기간의 PAH 노출을 반영하는 것으로 암과 같이 장기간에 걸친 효과의 평가에는 부적합하다. 본 연구에서 이 두 지표는 폐암 발생과의 관련성을 평가하기 보다는 PAH 노출에 따른 DNA 산화적 손상의 정도가 *PON1* 유전자 다형성에 따라 차이가 있는지를 평가하기 위하여 부수적으로 측정된 것이다.

PAH 노출에 의한 DNA 산화적 손상 효과를 평가하기 위한 요중 1-OHP, 2-naphthol

농도와, 요중 8-OH-dG 농도 사이의 상관분석 결과에서 요중 8-OH-dG 농도는 요중 2-naphthol 농도와는 상관관계를 보이지 않았으나 요중 1-OHP 농도와는 유의한 양의 상관관계를 보였다. 이는 Chuang 등 [30]이 택시 기사를 대상으로 조사한 연구에서 요중 8-OH-dG 농도와 1-OHP 농도가 유의한 상관성을 보였다는 결과와, PAH를 다량 포함하는 디젤 배기 분진에 노출된 생쥐의 폐조직 DNA에서 8-OH-dG 농도가 디젤 배기 분진의 투여량에 따라 증가한다는 Ichinose 등 [29]의 결과, 그리고 직업적으로 PAH 노출이 없는 건강한 한국인 남성을 대상으로 시행한 Kim 등 [31]의 연구에서 말초혈액 DNA의 8-OH-dG 농도가 요중 1-OHP 농도와 유의한 상관성을 보였다는 결과와 일치하는 소견이다. 즉 PAH 노출은 DNA의 산화적 손상을 유발하는 것으로 생각된다.

*PON1*은 체내 ROS의 생성과 관련된 것으로 알려진 대사효소이다 [15]. 이는 유기인체 화합물의 독성 제거와 지질 과산화에 관여하며 [15,16], 폐 조직 [17], 특히 clara cell과 endothelial cell, alveolar epithelium의 type I cell 등에서 주로 발견된다 [33,34]. Alveolar lining 부위는 PAH나 유기인체 화합물 등의 환경 독성물질에 직접적으로 노출되는 부위로, 이곳에서 *PON1*은 그 독성을 제거하는데 중요한 역할을 할 것이다. *PON1* 유전자의 Q allele은 R allele에 비하여 낮은 효소 활성을 가지는 것으로 알려져 있으며 [18], 또한 Sent 등 [35]은 흡연이 *PON1* 효소 활성을 감소시킨다고 보고하였다. 따라서 Q/Q 유전자형을 가진 사람은 흡연이나 대기오염물질

Table 6. Correlation coefficients between log-transformed creatinine-adjusted urinary 8-hydroxydeoxyguanosine concentration and log-transformed urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations according to the Q192R polymorphism of the *PON1* gene

Group	<i>PON1</i> genotype	N	Correlation coefficient	
			1-Hydroxypyrene	2-Naphthol
Total subjects	R/R or Q/R	319	0.154*	0.022
	Q/Q	35	0.415*	-0.129
Cases	R/R or Q/R	153	0.166*	-0.011
	Q/Q	24	0.469*	-0.025
Controls	R/R or Q/R	166	0.271†	0.100
	Q/Q	11	0.360	-0.035

* p-value<0.05

† p-value<0.01

노출에 의한 독성을 효과적으로 제거하지 못하고, 따라서 체내 ROS의 생성이 증가하여 폐암 발생을 증가시킬 수 있다. 본 연구에서 PON1 유전자 R/R 형 또는 Q/R 형에 대한 Q/Q 형의 폐암 발생 위험도 2.63 (95% CI = 1.20-5.77)으로 유의하게 높았다. 본 연구의 대조군의 PON1 유전자의 R allele형 빈도는 69%로 관찰되었으며 이는 과거 한국인에 대한 조사 결과인 60%와 비슷한 수준이다 [16]. 그러나, PON1 유전자와 폐암의 관련성에 대한 연구는 아직까지 보고된 것이 없다.

환자군의 1-OHP 농도가 대조군에 비하여 낮았음에도 불구하고 환자군의 8-OH-dG 농도는 대조군에 비하여 높았다는 사실은, 폐암 환자의 체내에서는 적은 양의 PAH에 노출되더라도 더 많은 ROS가 생성될 수 있음을 암시하는 것이다. 즉 같은 양의 PAH에 노출되더라도 더 많은 ROS가 생성되는 특성을 가진 사람들이 폐암에 더 잘 걸리게 된다고 해석할 수 있다. 특히, PON1 유전자 Q/Q형인 경우에 R/R 형이나 Q/R 형에 비하여 요중 1-OHP 농도가 증가함에 따라 요중 8-OH-dG 농도가 더욱 현저하게 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 폐조직에서 PAH가 ROS를 생성하며 PON1이 ROS 생성을 억제하는데, PON1의 활성이 저하된 Q/Q 형에서는 ROS 생성이 효과적으로 억제되지 못하여 DNA에 더 큰 산화적 손상을 가하게 되고, DNA의 산화적 손상은 돌연변이를 유발함으로써 폐암을 발생시키게 되므로, PON1 유전자 Q/Q형인 사람은 폐암발생 위험이 증가함을 시사하는 것이다.

본 연구는 대상자 수가 충분히 크지 않아 Q/Q 형과 폐암 발생 위험의 관련성을 평가하기엔 미흡하며 위험요인과 결과 간의 시간적 선후관계가 분명하지 않은 것이 제한점으로 지적된다. 표본수의 증가와, 다양한 인적 특성 정보, 전향적 디자인 연구 등으로 보완하여야 할 것이다.

요약 및 결론

한국인에서 PAH 노출과 DNA 산화적 손상의 인과관계와, 이에 미치는 PON1 유전

자 다형성의 영향을 관찰하고, 이러한 요인들이 폐암발생에 미치는 효과를 평가하고자 하였다. 연구 결과 폐암 발생은 흡연과 유의한 관련성이 있었고, 요중 1-OHP 농도는 요중 8-OH-dG 농도와 유의한 양의 상관관계를 보였으며, DNA 산화적 손상의 지표인 요중 8-OH-dG 농도는 환자군에서 대조군보다 유의하게 높았다. PON1 유전자가 Q/Q 형일 때 Q/R 또는 R/R 형보다 폐암 발생의 위험도가 유의하게 증가하였으며, 특히 PON1 유전자 Q/Q 형을 지닌 환자군에서 Q/R 혹은 R/R 형을 지닌 환자군에 비해 요중 1-OHP 농도 증가에 따른 요중 8-OH-dG 농도 증가가 두드러졌다. 이 결과는 PAH 노출에 의하여 ROS가 생성되고, 이 ROS가 돌연변이를 유발함으로써 폐암을 발생시키게 되는데, 같은 양의 PAH에 노출되더라도 더 많은 ROS가 생성되는 체질을 가진 사람들이 폐암에 잘 걸리게 되며, 그중에서도 PON1 유전자 Q/Q 형을 가진 사람은 흡연이나 PAH 노출에 의하여 생성된 ROS를 효과적으로 제거하지 못하므로 폐암 발생 위험이 더욱 증가함을 시사하는 것이다.

참고문헌

1. Central Cancer Registry Center in Korea. Annual report of the central cancer registry in Korea. Seoul: Ministry of Health and Welfare; 2003
2. Henminki K. Environmental carcinogens. In: Cooper CS, Grover RL (eds) Chemical carcinogenesis and mutagenesis. vol I. New York: Raven Press; 1990. p.33-62
3. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Polynuclear aromatic compounds, part 1, vol 32. Lyon: IARC; 1983
4. Jacob J, Grimmer G, Raab G, Schmoldt A. The metabolism of pyrene by rat liver microsome and the influence of various mono-oxygenase inducers. *Xenobiotica* 1982; 12: 45-53
5. Jongeneelen FJ, Arzian RBM, Henderson PT. Detection of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J Chromatogr* 1987; 413: 227-232
6. Kang JW, Cho SH, Kim H, Kang DH, Lee CH. Urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol as a biological exposure markers of total suspended particulate in the general population. *Korean J*

7. Hoke H, Zellerhoff R. Metabolism and toxicity of diisopropyl naphthalene as compared to naphthalene and monoalkyl naphthalenes: A minireview. *Toxicology* 1998; 126: 1-7
8. Kim H, Kim YD, Lee H, Kawamoto T, Yang M, Katoh T. Assay of 2-naphthol in human urine by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 1999; 734: 211-217
9. Kim H, Cho SH, Kang JW, Kim YD, Nan HM, Lee CH, Lee H, Kawamoto T. Urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations in male Koreans. *Int Arch Occup Environ Health* 2001; 74: 59-62
10. Flowers L, Ohnishi ST, Penning TM. DNA strand scission by polycyclic aromatic hydrocarbon o-quinones: Role of reactive oxygen species, Cu(II)/Cu(I) redox cycling, and o-semiquinone anion radicals. *Biochemistry* 1997; 36: 8640-8648
11. Ohnishi S, Kawanishi S. Double base lesions of DNA by a metabolites of carcinogenic benzo[a]pyrene. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 778-782
12. Floyd RA, Watson JJ, Harris J, West M, Wong PK. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine, hydroxyl free radical adduct of DNA in granulocytes exposed to the tumor promoter, tetradecanoylphorbolacetate. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 137: 841-846
13. Floyd RA. The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1990; 11: 1447-1450
14. Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res* 1992; 275: 331-342
15. Humbert R, Adler DA, Distche CM. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nature Genet* 1993; 3: 73
16. Hong SH, Song J, Min WK, Kim JQ. Genetic variations of the paraoxonase gene in patients with coronary artery disease. *Clin Biochem* 2001; 34: 475-481
17. Rodrigo L, Hernandez AF, Lopez-Caballero JJ, Gil F, Pla A. Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role. *Chem Biol Interact* 2001; 137: 123-137
18. Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P, Ruiz J. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99: 62-66
19. Padungtod C, Niu T, Wang Z, Savitz DA,

- Christiani DC, Ryan LM, Xu X. Paraonase polymorphism and its effect on male reproductive outcomes among Chinese pesticide factory workers. *Am J Ind Med* 1999; 36: 379-387.
20. Marchesani M, Hakkarainen A, Tuomainen TP, Kaikkonen J, Pukkala E, Uimari P, Seppala E, Matikainen M, Kallioniemi OP, Schleutker J, Lehtimäki T, Salonen JT. New paraonase 1 polymorphism I102V and the risk of prostate cancer in Finnish men. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 812-818
21. Furlong CE, Li WF, Richter RJ, Shih DM, Lusa AJ, Allea E, Costa LG. Genetic and temporal determinants of pesticide sensitivity: role of paraonase (*PON1*). *Neurotoxicology* 2000; 21: 91-100
22. Aynacioglu AS, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Nacak M, Tapanyigit EE, Roots I. Paraonase 1 mutations in a Turkish population. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 157: 174-177
23. American Cancer Society. Tobacco use. In: American Cancer Society, (Ed). *Cancer facts & figures 2001*. Atlanta: American Cancer Society; 2001. p.29-32
24. WHO. In: *Tobacco or health: a global status report*. Geneva: WHO; 1997. p.10-48
25. Potter JD, McMichael AJ. Alcohol, beer and lung cancer-a meaningful relationship? *Int J Epidemiol* 1984; 13: 240-242
26. De Stefani E, Correa P, Fierro L, Fonham ET, Chen V, Zavala D. The effect of alcohol on the risk of lung cancer in Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2: 21-26
27. Dosemeci M, Gokmen I, Unsal M, Hayes RB, Blair A. Tobacco, alcohol use, and risks of laryngeal and lung cancer by subsite and histologic type in Turkey. *Cancer Causes Control* 1997; 8: 729-737
28. Rozalski R, Gackowski D, Roszkowski K, Foksinski M, Olinski R. The level of 8-hydroxyguanine, a possible repair product of oxidative DNA damage, is higher in urine of cancer patients than in control subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 1072-1075
29. Erhola M, Toyokuni S, Okada K, Tanaka T, Hiai H, Ochi H, Uchida K, Osawa T, Nieminen MM, Alho H, Kellokumpu-Lehtinen P. Biomarker evidence of DNA oxidation in lung cancer patients: association of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine excretion with radiotherapy, chemotherapy, and response to treatment. *FEBS Lett* 1997; 409: 287-291
30. Ichinose T, Yajima Y, Nagashima M, Takenoshita S, Nagamachi Y, Sagai M. Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in mice by diesel exhaust particles. *Carcinogenesis* 1997; 18: 185-192
31. Chuang CY, Lee CC, Chang YK, Sung FC. Oxidative DNA damage estimated by urinary 8-hydroxydeoxyguanosine: influence of taxi driving, smoking and areca chewing. *Chemosphere* 2003; 52: 1163-1171
32. Kim YD, Lee CH, Nan HM, Kang JW, Kim H. Effects of genetic polymorphisms in metabolic enzymes on the relationships between 8-hydroxydeoxyguanosine levels in human leukocytes and urinary 1-hydroxypyrene and 2-naphthol concentrations. *J Occup Health* 2003; 45: 160-167
33. Mango GW, Johnston CJ, Reynolds SD, Finkelstein JN, Plopper CG, Stripp BR. Clara cell secretory protein deficiency increases oxidant stress response in conducting airways. *Am J Physiol* 1998; 275: L348-356
34. Romanova LK, Goriachkina VL. Cytophysiology of lung bronchiolar secretory cells - source of inflammation "antimediators". *Arkh Patol* 1999; 61: 20-27.
35. Senti M, Tomas M, Anglada R, Elosua R, Marugat J, Covas MI, Fito M. Interrelationship of smoking, paraonase activity, and leisure time physical activity: a population-based study. *Eur J Intern Med* 2003; 14: 178-184