

흰쥐 膽汁鬱滯 肝臟의 5'-Nucleotidase 와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase 의 活性值*

啓明大學校 醫科大學 生化學教室

郭 春 植

嶺南大學校 藥學大學 生化學教室

張 億 奎

=Abstract=

Activities of 5'-Nucleotidase and Gamma-Glutamyl Transpeptidase of Cholestatic Liver in Rats

Chun Sik Kwak

Department of Biochemistry, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea

Uk Kyu Chang

Department of Biochemistry, Yeungnam University
College of Pharmacy, Gyongsan, Korea

Changes in the activities of 5'-nucleotidase, gamma-gultamyl transpetidase, and alkaline phosphatase in serum were studied with rats which had bile duct ligated totally and partially over a period of 6 days after operation. The above enzymes were also observed in the activities of both membrane bound and soluble of liver. Activities of alanine aminotransferase, asparate aminotransferase, and lactate dehydrogenase in both serum and liver, and incorporation rates of amino acid mixture-(U)-¹⁴C into both serum protein and liver protein were compared with the changes observed above. And then the effects of actinomycin D administered to totally ligated rats were also observed.

The levels of total bilirubin of serum increased sharply after the ligation of the common bile duct. 5'-Nucleotidase, gamma-glutamyl transpeptidase and alkaline phosphatase showed increased activities both in membrane bound and in soluble of liver, however, the increases of 5'-nucleotidase and gamma-glutamyl transpeptidase were not detectable until second day, whereas the significant increase of alkaline phosphatase was detectable within 12 hours after common bile duct ligation. In the serum, however, the activities of these enzymes were significantly elevated in 12 hours

* 본 논문은 계명대학교 동산의료원 일상연구 보조비로 이루어졌음.

* 본 논문은 1985년도 계명대학교 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어 졌음.

after operation. Maximum levels were appeared on first day for 5'-nucleotidase and on third day for alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transpeptidase.

5'-Nucleotidase activities in the serum of both control rats and totally bile duct ligated ones were found to be approximately increased by 1.7 fold 1 day after the administration of actinomycin D. The activities of hepatic membrane bound and serum hepatic alkaline phosphatase were significantly diminished 1 day after the administration of actinomycin D. The activities of hepatic membrane bound and soluble of both 5'-nucleotidase and gamma-glutamyl transpeptidase, and serum gamma-glutamyl transpeptidase did not change 1 day after the administration of actinomycin D. But the activities of hepatic membrane bound of both 5'-nucleotidase and gamma-glutamyl transpeptidase were significantly inhibited 1.5 day after the administration of actinomycin D.

Partial ligation of bile duct which is the ligation of bile ducts of both median and left lateral lobes, also induced a significant increase of 5'-nucleotidase, gamma-glutamyl transpeptidase, and alkaline phosphatase in serum but serum bilirubin level remained within the normal range. Liver membrane bound of 5'-nucleotidase and gamma-glutamyl transpeptidase also showed a marked increase but liver soluble of those did not change.

Alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase of serum were strikingly increased after total ligation of bile duct, but they were increased moderately in partially ligated rats. And the activities of the three enzymes were markedly decreased in the liver of totally and partially bile ducts ligated rats.

Incorporation rates of amino acid mixture-(U)-¹⁴C into both serum protein and liver protein showed a significant increase after the total bile duct ligation in rats and reverse effect was observed after the administration of actinomycin D. In the case of partial ligation, the incorporation rate showed a slight increase in ligated lobe compared with patent lobe of liver.

The above results showed that bile duct ligation might cause an early increase in synthesis of hepatic alkaline phosphatase, however, the increase in synthesis of 5'-nucleotidase and gamma-glutamyl transpeptidase is delayed until the phase of bile duct proliferation.

The early changes within 1 day in serum activities of 5'-nucleotidase and gamma-glutamyl transpeptidase seemed to be caused by alteration of membrane permeability of hepatic cell.

緒 論

5'-Nucleotidase(5'-ribonucleotide phosphohydrolase, EC 3.1.3.5; 5'-NT)는 1934년 Reis¹⁾에 의해 처음으로 發見된 酶素이며 主로 5'-ribonucleotide 를 加水分解하여 磷酸을 遊離시키는 反應을 觸媒하는 酶素으로써 特히 adenosine-5'-phosphate 와 inosine-5'-phosphate의 加水分解에 敏感하게 作用한다^{1,2)}고 한다.

이 酶素는 真核細胞의 大部分에서 主로 膜部位 特히 原形質膜, 內形質細網膜, 絲立體膜 等에서 膜의 外側表面에 偏在되어 있다고 하며 動物에 따라 서는 細胞質에서도 發見되는 것^{3~12)}으로 알려져 있다.

o) 膜酶素는 分子量이 140,000~150,000의 糖

蛋白으로 되어 있다³⁾고 하나 그 자세한 性狀이나 膜表面에서의 生理的 機能은 잘 알려져 있지 않다. 그리고 이 酶素는 動物의 거의 모든 組織에 分布되어 있으며 肝臟, 臍下垂體後葉, 心臟, 筋肉, 神經組織, 肺臟, 腎臟, 脾臟, 血管組織, 睾丸의順序로 많이 存在한다고 하며 血漿과 膽汁에도 出現하는 것^{6,7,13~27)}으로 알려져 있다.

한편 γ -glutamyl transpeptidase((5-glutamyl)-peptide: amino acid 5-glutamyl transferase, EC 2.3.2.2; : GGT)는 1952년 Hanes 等²⁸⁾에 의해 처음으로 公認된 酶素로서 γ -glutamyl peptide 를 부터 γ -glutamylamide를 遊離시켜 다른 peptide 나 L-amino acid에 移行시켜 새로운 γ -glutamyl peptide를 生成하는 反應을 觸媒하는 酶素이다^{29~31)}.

o) 酶素도 5'-NT와 마찬가지로 真核細胞의 膜部

位에 存在하고 原形質膜, 內形質細胞膜의 外則 表面에 偏在되어 있으며 及시 細胞質에서도 發見되는 것^{32~34)}으로 알려져 있다. 그러나 그 性狀이나 膜表面에서의 生理的 機能은 잘 알려져 있지 않다. 그리고 이 酶素도 及시 動物이나 人體組織에 널리 分布되어 있으며 腎臟, 脾臟, 肝臟의 順으로 많이 存在한다고 하며 또한 血漿, 尿, 膽汁 및 脊髓液 等에도 出現됨이 밝혀져 있다^{35~39)}.

이와같이 이를 두 酶素은 生體膜의 表面酶素로서 動物組織에 널리 分布되어 있으며 아울러 體液中에서도 發見된다. 또한 動物의 肝組織에서는 그 含有量이 많을 뿐만 아니라 그 合成이 旺盛하다^{5~7, 9~12, 14)}고 하며 特히 肝의 膽道細胞에 그 含有量이 많다고 하여 alkaline phosphatase (ortho-phosphoric monoester phosphohydrolase, EC 3.1.3.1 : ALP) 및 leucine aminopeptidase(L-leucyl-peptide hydrolase, EC 3.4.1.1 : LAP)와 더불어 소위 膽道系 酶素라고 불리우기도^{40~45)}한다.

이러한 두 酶素은 ALP 및 LAP 와 더불어 特히 膽汁鬱滯가 隨伴되는 肝膽道疾患에서 血中에 顯著히 增加되고^{25, 26, 30, 46~60)} 따라서 肝機能検査의 한 種目으로서 肝膽道疾患의 診斷과豫後判定에 利用되고 있다. 그러나 이 두 酶素가 肝膽道疾患時에 어떻게 血中에 增加되는지 즉 그 增加機轉에 對해서는 아직도 不分明한 점이 많으며 이를 究明하기 위한 研究들이 試圖되어 그 結果가 報告^{56, 61~66)}되고 있으나 分明한 點이 없으며, 세가지 相反된 學說만 主張되고 있을 따름이다.

現在까지 主張되고 있는 이를 學說을 살펴보면 그 하나는 肝의 排泄機能 障碍로 이들 酶素가 逆流停滯되어 血中으로의 漏出이 增加된다^{53, 63~65)}는 것이고, 다른 學說은 損傷된 肝에서 이들 酶素의 合成이 增加되고 따라서 血中으로 多量 漏出됨으로써 增加된다^{36, 62)}는 것이며, 나머지 하나는 損傷된 肝細胞의 膜으로부터 多量 遊離됨으로써 增加된다^{61, 66)}는 學說이다.

本研究는 膽汁鬱滯가 隨伴되는 肝膽道疾患時에 增加되는 血清 5'-NT 및 GGT의 增加와 膽汁鬱滯와의 關係, 그리고 그 增加機轉等을 자세히 알아보기 為하여 흰쥐에서 總輸膽管 또는 肝의 中葉과 左側 外葉膽管을 結紮하고 一部 肝葉의 膽管을開放해 두었을 때의 각 肝葉의 5'-NT 와 GGT 그리고 血中의 5'-NT 와 GGT의 變動을 經時的으로 觀察하는 한편 膽汁鬱滯時 그 合成이 增加되는 것^{67, 68)}으로 알려져 있는 ALP 와 肝損傷時 多量 血

中으로 漏出되는 alanin aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2, 6, 1, 2 : ALT), aspartate aminotransferase (L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.1 : AST) 및 lactate dehydrogenase (L-lactate: NAD⁺ oxidoreductase, EC 1.1.1.27 : LDH)等^{69~71)}을 血清과 肝에서 測定하였으며 또한 肝 및 血清 蛋白合成能을 測定함과 아울러 肝 및 血清의 5'-NT, GGT 및 ALP 그리고 肝과 血清의 蛋白合成能에 對한 actinomycin D의 影響도 觀察하여 그 結果를 比較檢討한 것이다.

材料 및 方法

動物 및 處置:動物은 2주以上 같은 條件으로 飼育한 體重 230~250g 되는 Sprague-Dawley 種의 複毛쥐를 使用하였으며 1群을 5마리로 하여 다음과 같이 19群으로 나누었다.

- 1) 正常群: (1群)
- 2) 假手術群: 假手術後 12時間, 1日, 2日, 3日 및 6日째에 죽인群(總 5群)
- 3) 總輸膽管 結紮群: 總輸膽管 結紮後 12시간, 1日, 2日, 3日 및 6日째에 죽인群(總 5群)
- 4) 肝臟의 中葉 및 左側 外葉膽管을 結紮한 群(以下部分 膽管結紮群이라 略함): 部分 膽管結紮後 1日, 2日, 3日, 및 6日째에 죽인群(總 4群)
- 5) 假手術 前後에 actinomycin D를 投與하고 1日 및 1.5日 後에 죽인群(總 2群)
- 6) 總輸膽管 結紮 前後에 actinomycin D를 投與한 1日 및 1.5日 後에 죽인群(總 2群)

위의 各 實驗群들은 個別 分離 收容하였으며 實驗 前後에 一定한 條件으로 飼育하였다. 飼料는 市販되는 第一飼料株式會社의 製品을 購入하여 使用하였으며 물과 같이 自由로이 飲食하도록 하였다. 手術은 酶素活性의 日中變動을 考慮하여 쥐를 一定한 時間に 죽일 수 있도록 手術時間은 調節하였으며 12時間 節食시킨 後可能한 無菌狀態를 維持하면서 弱한 ether 麻醉下에서 實施하였다.

總輸膽管의 結紮은 가급적 肝에서 近接한 部位의 總輸膽管을 그리고 部分膽管 結紮은 肝의 中葉과 左側外葉으로 分枝되는 膽管을 結紮하였다.

結紮은 2重으로 하였으며 探血 및 肝 摘出時에 膽管의 閉鎖狀態를 確認하였다.

假手術은 膽管結紮한 하지 않고 그 외 모든 操作은 膽管結紮群과 同一하게 하였다.

Actinomycin D의 投與는 手術前 1時間과 手術後 18時間에 體重 100g 當 50 μg ^{72~74)}의 大腿 外側筋肉에 注射하고 手術後 24時間 및 36時間에 動物을 죽였다.

血液 및 肝의 採取도 역시 弱한 ether 麻醉下에서 施行하였으며 血液은 腹部 大動脈으로부터 採血하였고 肝은 採血直後에 4°C의 0.25M sucrose 液으로 漂流하여 肝에 남아있는 血液을 除去한 다음 摘出하였으며 摘出한 肝은 純布로 均等히 壓迫하여 肝내에 남아 있는 sucrose 液을 可能한 한 모니 除去하였다. 그리고 採血한 血液은 遠心分離하여 血清을 얻고 肝과 더불어 곧 化學検査에 提供하였다.

試薬 : Amino acid mixture-(U)-¹⁴C은 New England Nuclear 會社의 algal protein hydrolysate-(U)-¹⁴C을 使用하였으며 그 組成은 表 1과 같다.

Sodium deoxycholic acid, 5'-AMP(5'-adenosine monophosphate), L-γ-glutamyl-p-nitroanilide, glycylglycin, disodium p-nitrophenylphosphate, p-nitroaniline, L-glycine, L-alanine, L-aspartic acid, α-ketoglutaric acid, pyruvic acid, L-lactic acid, NADH(reduced nicotinamide adenine dinucleotide; yeast grade III, sodium salt), NAD⁺(nicotinamide adenine dinucleotide; yeast grade III, disodium salt), LDH(lactic dehydrogenase; bovine heart, Type X), MDH(malic dehydrogenase; porcine heart, transaminase 測定用) PMS(phenazine methosulfate), INT(2-(p-Iodophenyl)-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium chloride), tris(hydroxymethyl) aminomethane, sodium barbiturate, barbital, 綜合標準 酶素液(enzyme control 2-N)蛋白標準液 (10g/100ml bovine albumin) 等은 Sigma 社의 것을 使用하였으며, actinomycin D는 P-L-Biochemical 社의 製品을 그리고 PPO(2,5-diphenyloxazole), Bis-MSB(p-bis-(0-methylstyril benzene)), soluene-100(組織溶解剤), toluene 等은 Packard 社의 scintillation grade를 그리고 alk-phos substrate reagent, alk-phos color developer, tris-barbital buffer(pH8.8, μ 0.075)는 Gelman Science 社의 것을 使用하였다. 그 외一般 試薬들은 市販되는 特級 또는 一級品을 購入하여 使用하였다.

肝臟 酶素液의 調製 : 前處理한 肝臟은 즉시 2~4°C로 冷却한 後 切片으로 만들고 混合하여 그 종

Table 1. Composition of algal protein hydrolysate-(U)-¹⁴C

Amino acid	% of amino acid
L-Aanine	8
L-Arginine	7
L-Aspartic acid	8
L-Glutamic acid	12.5
L-Glycine	4
L-Histidine	1.5
L-Isoleucine	5
L-Leucine	14
L-Lysine	6
L-Phenylalanine	8
L-Proline	5
L-Serine	4
L-Threonine	5
L-Tyrosine	4
L-Valine	8

New England Nuclear Catalog 76, 549 Albany Street Boston, Massachusetts, 02118, USA.

2g을 秤量하여 9倍量의 0.25M-sucrose 液을 넣어 teflon glass homogenizer(Thomas 社 製品, chamber clearance 0.005~0.007 inch)로 2~4°C를 維持하면서 2,000 rpm의 速度로 磨碎하여 肝均質液(10W/V%)를 만들었다. 이 均質液을 둘로 나누어 그 중 한 部分은 Dupont Sorvall OTD 65B ultracentrifuge를 사용하여 105,000×g에서 超遠心分離하여 上清을 얻고 이것을 肝의 可溶性 5'-NT, GGT, ALP 및 細胞質 LDH의 酶素液으로 하였다. 그리고 남은 沈澱物은 0.25M sucrose 液으로 1回 洗滌한 後 沈澱物의 9倍量에 該當되는 0.5% sodium deoxycholic acid가 包含된 0.5% sodium bicarbonate液⁶²⁾을 넣어 test tube super mixer로 10分間 強하게 震盪하고 이어 Fisher model 300, ultrasonic dismembrator로 2~4°C를 維持하면서 20±0.4 kilocycles/sec의 條件으로 2分씩 5回 總 10分間 超音波 磨碎를 施行하였다. 이와 같은 過程을 거쳐 얻어진 均質液은 肝의 膜結合 5'-NT 및 GGT의 酶素液으로 使用하였다.

한편 膜結合 酶素 測定用 均質液 一部를 使用하여 거기에 0.2倍量의 n-butanol을 넣어 2~4°C에서 30分間 test tube super mixer로 強하게 震盪한 後 20,000×g에서 遠心分離하여 얻은 遠心管下層部分의 맑은 液⁷⁵⁾을 肝의 膜結合 ALP 酶素液으로 하였다.

나머지 部分의 肝 均質液을 使用하여 膜結合 酶素液 製造時와 같은 方法으로 超音波 磨碎를 施行하고 $105,000 \times g$ 에서 遠心分離하여 그 上清을 얻어 肝의 總 ALT 및 AST 酶素液으로 使用하였다.

酶素活性度測定

5'-NT의 活性度測定: 肝 및 血清 5'-NT의 活性測定은 5'-AMP 를 基質로 하여 37°C 에서 30分間 反應시킨 後 遊離되는 酸을 定量하는 Campbell의 方法⁷⁶⁾에 依하였으며 이때 反應液은 40mM veronal 緩衝液 (pH7.5)에 MnCl_2 2 μM 과 5'-AMP 2 μM 이 含有되도록 하였다. 그리고 本 酶素의 活性單位는 1U의 血清 또는 1g의 蛋白이 30分동안 基質液과 反應하여 1 μM 을 遊離시키는 活性을 1單位로 하는 Campbell單位로 나타내었다.

GGT의 活性度測定: 肝 및 血清 GGT의 测定은 L- γ -glutamyl-p-nitroanilide 를 基質로 하여 37°C 에서 30分間 反應시킨 後 遊離되는 p-nitroaniline 을 定量하는 Orlowski 및 Moister의 法⁷⁷⁾에 依하였으며 이때 反應液은 0.1M tris-HCl 緩衝液 (pH9.0)에 2.5mM L- γ -glutamyl-p-nitroanilide, 50mM glycylglycine, 10mM MgCl_2 가 含有되도록 하였다. 그리고 本 酶素活性의 單位는 1U의 血清 또는 1g의 蛋白이 1分동안 反應하여 p-nitroaniline 1 μM 을 遊離시키는 活性을 1單位로 하는 Orlowski單位로 나타내었다.

ALP의 活性度測定 및 血清 肝性 ALP의 测定: 肝 및 血清 總 ALP의 活性測定은 p-nitrophenyl phosphate 를 基質로 하여 37°C 에서 30分間 反應시킨 後 遊離되는 p-nitrophenol 을 比色하여 定量하는 Bessey等⁷⁸⁾의 法에 依하였다. 이때 反應液은 0.1M glycine sodium hydroxide 緩衝液 (pH10.5)에 6mM disodium p-nitrophenyl phosphate, 1mM MgCl_2 및 0.1mM ZnCl_2 가 含有되도록 하였으며 本 酶素活性의 單位는 1ml의 血清 또는 1mg의 蛋白이 1時間동안 反應하여 p-nitrophenol 1 μM 를 遊離시키는 活性을 1單位로 한 것으로써 Bessey-Lowry 單位라 한다.

한편 血清 肝性 ALP의 活性度는 血清 ALP isozyme의 電氣泳動을 施行하여 肝性 ALP 分割의 百分率로부터 血清 總 ALP量을 代入하여 算出하였다. 그리고 이때 血清 ALP의 電氣泳動은 美國 Gelman Science 社의 電氣泳動裝置로써 deluxe regulated power supply 와 sepratex chamber를 使用하였으며, 支持體로서는 같은 會社 製品인 sepraphore III (cellulose polyacetate membrane)

를 그리고 각 分割中의 ALP測定을 為한 基質液으로서는 β -naphthyl phosphate 가 包含된 alk-phos substrate 試藥을, 發色劑로서는 fast violet B 가 含有된 alk-phos color developer를 使用하였다.

電氣泳動의 操作은 seprapore III strip을 tris-barbital 緩衝液 (pH8.8, $\mu=0.075$)에 20分間 담근 뒤에 吸水紙로서 過剩의水分을 除去하고 sample applicator로 약 1 μl 의 試料를 seprapore III strip의 中央에 바른 後 225V, 2mA/stripe의 條件에서 30分間 電氣泳動시켰다. 電氣泳動이 完了된 seprapore III strip은 37°C 에서 15分間 基質液과 反應시키고 다시 發色劑와 反應시킨 後 乾燥하였다 그리고 이때 나타난 각 分割의 색깔은 같은 會社의 ACD-18 automatic computing densitometer를 利用하여 550nm의 波長에서 比色하여 각 分割의 百分率을 算出하였으며 얻어진 肝性 ALP의 百分率에 血清 總 ALP의 値를 代入하여 肝性 ALP의 活性値를 求하였다.

ALT, AST 및 LDH의 活性度測定: 肝 및 血清 ALT의 活性測定은 L-alanine과 α -ketoglutaric acid를 基質로 하여 25°C 에서 10分間 反應시키는동안 生成되는 pyruvic acid가 NADH 및 LDH와 共存下에서 lactate로 還元될 때 340nm 波長에서 最大吸收帶를 갖는 NADH가 酸化되어 NAD^+ 로 되면서 減少하는 吸光度로써 酶素活性을 定量하는 Karmen等의 法⁷⁹⁾에 依하였다. 또한 肝 및 血清 AST의 测定은 L-aspartic acid와 α -ketoglutaric acid를 基質로 하여 ALT와 같은 温度 및 時間에서 生成되는 oxaloacetic acid가 NADH 및 MDH와 共存下에서 malate로 轉換될 때 NADH가 NAD^+ 로 되면서 減少하는 吸光度로써 그活性을 定量하는 Karmen法⁸⁰⁾에 依하였다. 그리고 이때 ALT의 反應液은 80mM phosphate 緩衝液 (pH7.4)에 0.8M L-alanine, 0.18mM NADH, 18mM α -ketoglutaric acid 및 0.185u LDH가 含有되도록 하였으며 AST의 反應液은 80mM phosphate 緩衝液 (pH7.4)에 200mM L-aspartic acid, 0.18mM NADH, 12mM α -ketoglutaric acid 및 0.375u MDH가 含有되도록 하여 反應시켰다. 그리고 ALT 및 AST活性의 單位는 血清 1ml 또는 蛋白 1mg이 25°C , 340nm에서 吸光度가 1分間に 0.001 減少하는 活性能을 1單位로 하는 Karmen 單位로 나타내었다.

肝 및 血清의 LDH活性의 测定은 L-lactic acid를 基質로하고 助酵素로써 NAD^+ 를 中間 電子運搬

體로 PMS 를 그리고 發色試藥으로 INT 를 使用하여 37°C 에서 5分間 反應시켜 生成된 formazan 의 紫色을 比色 定量하는 Babson 및 Phillips의 方法⁸¹⁾에 依하였으며 이때 反應液은 0.2M tris-HCl 缓衝液(pH8.5)에 50mM L-lactate, 1.5mM NAD⁺ 0.8mM INT 및 0.32mM PMS 가 含有되도록 하였다. 그리고 LDH 活性의 單位는 Wroblewski⁸²⁾ 單位로 換算하여 나타내었다.

本 實驗에서 採擇한 酶素活性 測定法들의 正確度를 높이기 為한 方便으로 Sigma 社의 綜合標準 酶素를 使用하여 檢定하였으며 같은 試料에 對해서 2回 測定하여 그 平均值를 取하였다. 그리고 本 實驗에서 各 酶素의 活性度測定에 使用한 分光光度計는 Varian Cary 210, computer controlled enzyme spectrophotometer 였다.

한편 總 bilirubin 的 定量은 diazo 反應을 原理로 하는 Malloy 및 Evelyn 法⁸³⁾에 依하였으며 蛋白의 定量은 試料를 0.5N perchloric acid로 沈澱시키고 같은 試藥으로 3回 洗滌(마지막 1回는 加温한다)한뒤 methanol-ether 混合液(3:1)으로서 2回 洗滌하여 蛋白質을 精製⁸⁴⁾한 다음 Biuret 法⁸⁵⁾으로 定量하였다.

Amino acid mixture-(U)-¹⁴C의 肝 및 血清 蛋白內 缸入速度의 測定: 胆道結紮 또는 假手術을 施行한 雙과 胆道結紮 또는 假手術 施行前後에 actinomycin D量 投與한 實驗動物을 죽이기 3時間前에 體重 100g 當 amino acid mixture-(U)-¹⁴C 4 μCi 를 腹腔內로 注入하여 血清 및 肝 蛋白內 缸入한 放射能을 測定하였다. 즉 摘出한 肝臟은 곧 2~4 $^{\circ}\text{C}$ 로 冷却한 後 切片으로 만들고 混合하여 그 중 200mg 을 秤量하고 0.25M sucrose 液을 넣어 2~4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 teflon glass homogenizer로 磨碎하여 10 W/V%의 均質液을 만들었다.

蛋白質의 分離를 為하여 0.5N perchloric acid를 磨碎均質液에 넣어 蛋白質을 沈澱시키고 遠心分離한 다음 다시 0.5N perchloric acid로서 3回 洗滌(마지막 1回는 加温한다)한뒤 다시 methanol-ether 混合液(3:1)으로서 2回 洗滌⁸⁴⁾하고 곧 蛋白을 乾燥시켰다.

한편 血清은 0.5ml 를 使用하여 위와 같은 方法으로 蛋白質을 分離하였다. 分離乾燥한 蛋白質들은 一定量을 秤量하여 soluene-100에 溶解시키고 一定量의 scintillator 液液(5.0g PPO, 0.5g bis-MSB/l of toluene)에 넣어 混合한 다음 Packard Tri-Carb 4530, liquid scintillation spectrometer로서 그

放射能을 測定하였다.

얻어진 各種 成績들의 平均值中 相互比較가 必要한 境遇는 Student의 t-檢定法⁸⁶⁾에 依하여 檢定하였다.

成 績

원위에서 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮했을 때의 血清 總 bilirubin濃度, 肝重量, 肝組織의 總 및 可溶性 蛋白量의 變動: 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮한 後 經時的으로 觀察한 血清의 總 bilirubin濃度, 肝重量, 肝組織의 總 및 可溶性蛋白量의 變動을 보면 各各 第1圖 第2表, 第3表 및 第4表와 같다.

膽道閉鎖의 指標로 삼고 있는 血清 總 bilirubin은 總輸膽管 結紮後 12時間에 顯著히 上昇되어 2日에는 5.4(mg/100ml)로 假手術群 0.2에 比해 27倍 ($p<0.001$)나 높은 濃度를 나타내었으며 以後 6日에도 계속 높은 濃度를 維持하였다(圖 1참조). 이와 같이 蔡汁鬱滯가 계속되는期間에 있어서의 肝의 重量을 보면 總輸膽管 結紮後 2日에 12.8(g)으로 假手術群 7.9에 比해 약 1.6倍 ($p<0.001$)의 增加를 보였으며 以後 더욱 增加되어 6日에는 20.3으로 假手術群 7.6에 比해 약 2.7倍($p<0.001$)의 增加를 보였다(表 2참조).

反面에 肝組織의 總蛋白質量은 總輸膽管 結紮後 1日부터 漸次 減少되는 傾向을 보였으나 意義있는 減少는 아니었으며(表 3참조) 肝組織의 可溶性蛋白의 境遇는 總輸膽管 結紮後 6日에 와서 假手術群에

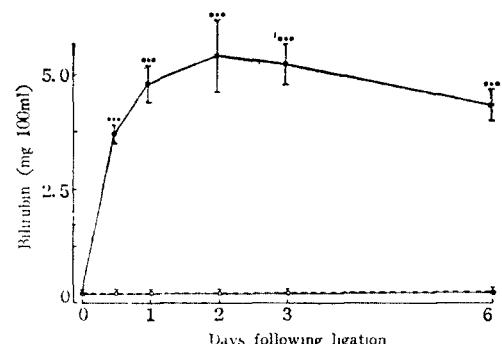


Fig. 1. Change in serum bilirubin level after bile duct ligation in rats. Vertical brackets at point indicated mean \pm SE with 5 animals in each group. ○—○ =sham operated animals; ●—● =common bile duct ligated animals; ◎—◎ =median and left lateral bile duct ligated animals. ***; $p<0.001$

Table 2. Change of liver weight after ligation of bile duct in rats

Days following ligation	Sham (Control)	MLBDL		
		Whole liver	Patent lobe	Ligated lobe
(gram of tissue wet weight)				
0		7.6±0.3		
0.5	8.0±0.4	8.3±0.8		
1	8.1±0.5	8.4±0.7	8.1±0.5	2.4±0.5
2	7.9±0.3	12.8±1.8***	9.2±0.4***	2.5±0.4
3	7.7±0.4	17.3±2.6***	10.4±0.4***	2.8±0.4
6	7.6±0.5	20.3±3.3***	12.5±0.6***	3.2±0.5
				9.3±0.5

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operated animals, CBDL=common bile duct ligated animals, MLBDL=median and left lateral bile duct ligated animals.

Significant difference from controls(***: p<0.001)

Table 3. Change of total protein content of the liver after ligation of bile duct in rats

Days following ligation	Sham (Control)	CBDL	MLBDL		
			Whole liver	Patent lobe	Ligated lobe
(mg/0.1g of tissue wet weight)					
0			16.0±1.3		
0.5	15.3±1.2	15.9±1.3			
1	16.1±1.4	15.1±1.5	16.2±1.3	16.0±1.2	16.3±1.3
2	16.2±1.5	14.5±1.6	16.2±1.5	16.2±1.5	16.2±1.4
3	16.0±1.6	13.9±1.8	15.8±1.5	16.3±1.4	15.6±1.5
6	15.9±1.3	13.4±1.9	15.3±1.4	16.1±1.2	14.9±1.6

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operated animals, CBDL=common bile duct ligated animals, MLBDL=median and left lateral bile duct ligated animals.

Table 4. Change of soluble protein content of the liver after ligation of bile duct in rats

Days following ligation	Sham (Control)	CBDL	MLBDL		
			Whole liver	Patent lobe	Ligated lobe
(mg/0.1g of tissue wet weight)					
0			9.6±0.8		
0.5	9.3±0.6	8.7±0.6			
1	9.4±0.5	8.9±0.5	9.5±0.6	9.6±0.6	9.5±0.5
2	9.5±0.6	9.0±0.7	9.4±0.7	9.5±0.7	9.4±0.7
3	9.6±0.7	8.8±1.0	9.0±0.9	9.7±0.9	8.7±0.8
6	9.7±0.6	7.6±1.2*	8.8±1.0	9.6±1.0	8.4±0.8*

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group; Sham=sham operated animals, CBDL=common bile duct ligated animals, MLBDL=median and left lateral bile duct ligated animals.

Significant difference from controls(*: p<0.05)

比 해 약 22% ($p<0.05$)의 減少를 보였다(表 4 참조).

한편 肝의 中葉과 左側外葉의 胆管을 結紮한 즉部分膽管 結紮群에서는 實驗 全期間동안 血中 總

bilirubin의 增加는 보지 못했으며 肝臟의 重量은總輸膽管을 結紮한 회귀에 比해서 輕度의 增加에 不過하였다(圖 1 및 表 2 참조). 그리고 肝組織의總蛋白은 別 變動을 보이지 않았으며, 可溶性 蛋

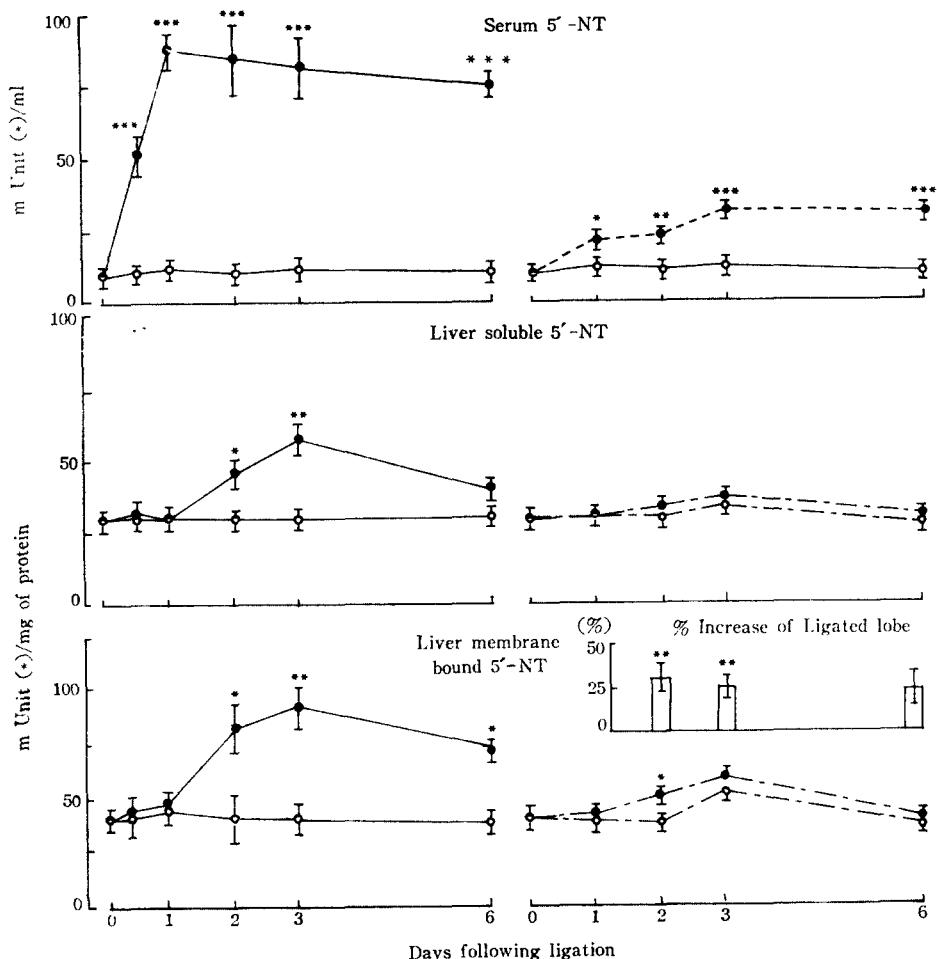


Fig. 2. 5'-Nucleotidase(5'NT) activity in serum and liver after bile duct ligation in rats. Vertical brackets at point indicated mean \pm SE with 5 animals in each group. ○—○ =sham operated animals; ●—●=common bile duct ligated animals; ●---● =median and left lateral bile duct ligated animals; ○—·—○=patent hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals; ●—·—●=ligated hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals. *; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001, (*); Campbell unit

白은 6日群에서 胆道가 閉鎖된 肝의 中葉 및 左側外葉이 胆道가開放된 肝葉의 可溶性蛋白量에 比해 약 12.5%($p<0.05$) 減少를 보였다(表 3 및 4 참조).

懸垂에서 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮했을 때의 血清 및 肝組織 5'-NT의 變動: 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮한 後 經時的으로 觀察한 血清과 肝組織의 5'-NT의 變動을 보면 第 2 圖과 같다.

總輸膽管을 結紮한 後 基本 膽汁鬱滯가 繼續하는期間에 있어서의 血清 5'-NT의 變動을 보면 結紮

後 12時間에 51.6(Campbell unit; m unit/ml of serum)으로 假手術群 10.6에 比해 약 4.9倍($p<0.001$)의 增加를 보였으며 結紮後 24時間에는 티록增加되어 87.2로 假手術群 11.4에 比해 약 7.6倍($p<0.001$)의 增加를 보였으며, 以後 6日까지 繼續높은 値를 維持하였다. 이에 比해 肝組織의 膜結合 5'-NT는 12時間에 41.9(Campbell unit; m unit/mg of protein), 1日에는 44.6으로 假手術群과 같은 水準을 維持하다가 2日에 82.2로 假手術群 40.2에 比해 약 2倍($p<0.05$)의 增加를 보였으며 3日에

는 더욱 增加되어 假手術群에 比해 약 2.3倍의 增加를 보였고 以後 6日에도 繼續 增加된 値를 維持하였다. 그리고 肝組織의 可溶性 5'-NT는 總輸膽管 結紮後 2日 및 3日에만 增加를 보였는데 그 增加의 程度는 假手術群에 比해 각각 약 1.5倍($p < 0.05$) 및 약 2倍($p < 0.01$)였으며 膜結合 5'-NT에 比해서는 그 增加의 程度가 훨씬 顯著하였다. 그러나 部分膽管 結紮群에서는 實驗 全期間 동안 별 變動을 보이지 않았다.

한편 部分膽管을 結紮한 칙위에서의 血清 5'-NT

는 部分膽管 結紮後 1日에 20.7, 3日에 31.0, 6日에는 29.7로 增加되었으나 總輸膽管 結紮群에 比해 그 增加度는 顯著히 낮았었다. 그리고 部分膽管 結紮群에서 肝組織의 膜結合 5'-NT를 보면 膽管이 開放되어 있는 肝葉에 比해 膽管을 結紮한 肝葉이 약간 增加되었다. 즉 膽道가 閉鎖된 肝葉이 2日 및 3日에 膽道가 開放된 肝葉에 比해 각각 약 33%($p < 0.001$) 및 약 26%($p < 0.01$)의 增加를 보였으며 總輸膽管을 結紮했을 때 보다는 그 增加度가 낮았다.

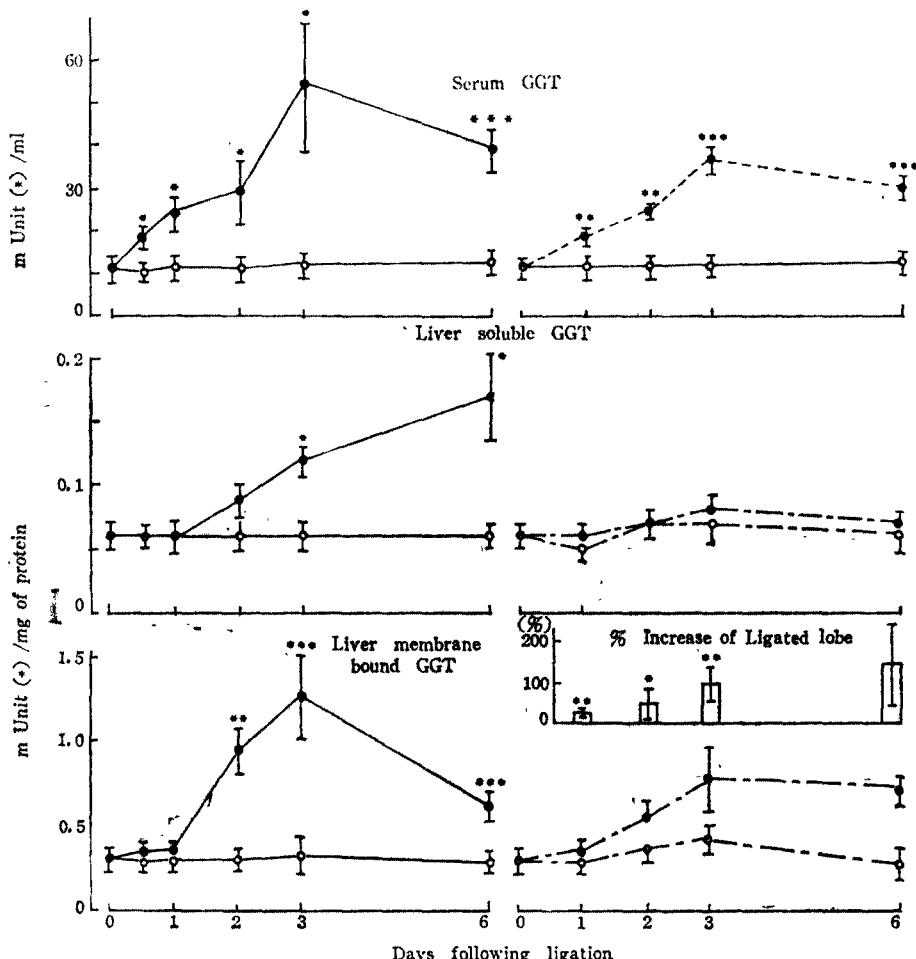


Fig. 3. Gamma-glutamyl transpeptidase(GGT) activity in serum and liver after bile duct ligation in rats. Vertical brackets at point indicated mean±SE with 5 animals in each group. ○—○=sham operated animals; ●—●=common bile duct ligated animals; ○- - - ○=patent hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals; ○- - - ○=ligated hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals. *; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (*); Orlowski unit

원위에서 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮했을 때의 血清 및 肝組織의 GGT의 變動: 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮한 後 經時的으로 觀察한 血清 및 肝組織의 GGT의 變動을 보면 圖 3과 같다. 즉 血清 GGT의 活性度는 總輸膽管 結紮後 12時間에 18.3(Orlowski unit: m unit/ml of serum)으로 假手術群 10.2에 比해 약 1.8倍 ($p < 0.05$)增加되었으며 以後 3日에는 54.5로 假手術群 11.8에 比해 약 4.6倍 ($p < 0.05$)의 增加를 보여 最高值에 達하고 以後 6日에는 약간 低下되기는 하나 高은 値를 維持하였다. 그러나 이들 增加의 程度는 血清 5'-NT

와 血清 肝性 ALP의 增加의 程度에는 미치지 못하였다(圖 2 및 4 참조).

그리고 肝組織의 膜結合 GGT의 變動을 보면 肝組織의 膜結合 5'-NT의 增加의 傾向과 마찬가지로 總輸膽管 結紮後 2日부터 增加를 나타내었으며 그 增加의 程度는 假手術群 0.31(Orlowski unit: m unit/mg of protein)에 比해 0.96으로 약 3.1倍 ($p < 0.01$)의 增加를 보였으며 以後 3日에는 1.28로 假手術群에 比해 약 3.9倍 ($p < 0.01$)의 增加를 보여 最高值에 達하고 以後 6日에도 繼續 高은 值를 維持하였다. 그리고 總輸膽管을 結紮한 群에서 可溶

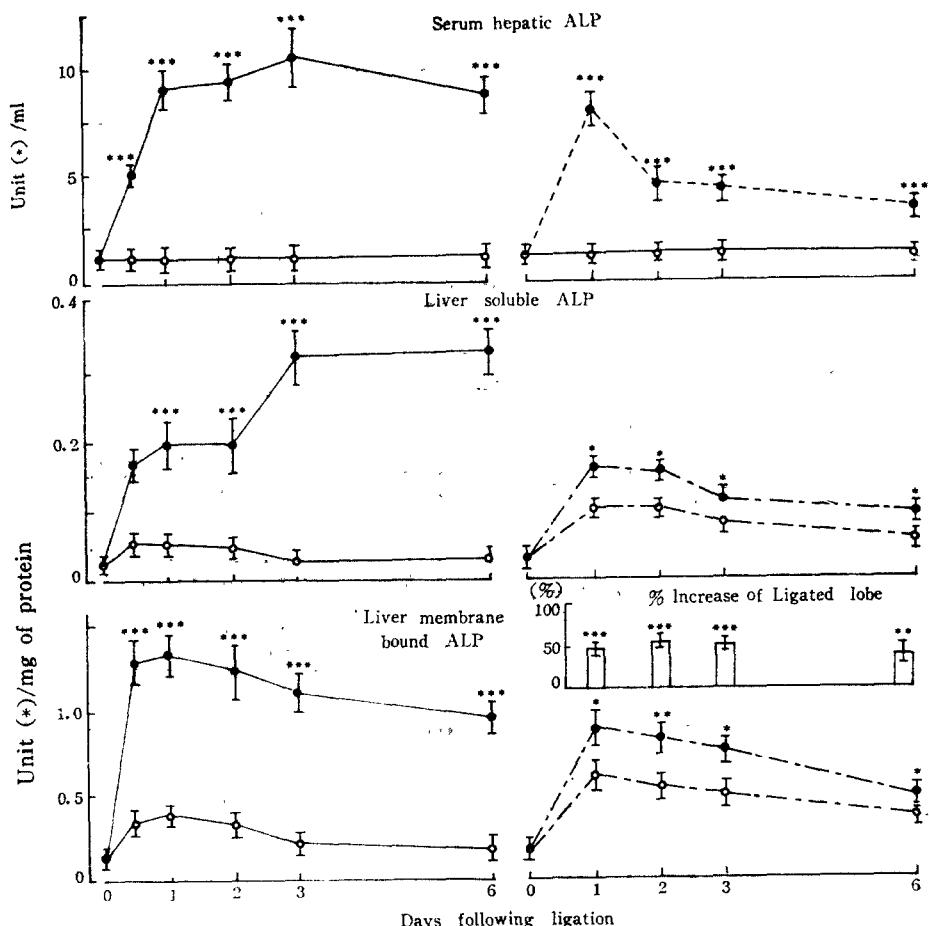


Fig. 4. Alkaline Phosphatase(ALP) activity in serum and liver after bile duct ligation in rats. Vertical brackets at point indicated mean \pm SE with 5 animals in each group. ○—○ = sham operated animals; ●—● = common bile duct ligated animals; ●—·—● = median and left lateral bile duct ligated animals; ○—·—○ = patent hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals; ●—·—● = ligated hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals. *; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$, ***; $p < 0.001$, (*); Bessey-Lowry unit

性 GGT 의 變動을 보면 結紮後 2日째부터 약간 增加되나 統計學的意義는 없었으며 以後 3日 및 6日에 假手術群 0.06에 比해 각각 0.12 및 0.17로 약 2倍($p<0.05$) 및 약 2.8倍($p<0.05$)의 增加를 보였다. 그러나 正常 및 假手術群에서 可溶性 GGT 的活性值가 膜結合 GGT活性值의 5分의 1에 不過하기 때문에 總 GGT 的側面에서 본다면 意義가 없다고 하겠다. 그리고 部分膽管 結紮群에서는 肝組織의 可溶性 GGT는 實驗全期間동안 別變動을 보이지 않았다.

한편 部分膽管을 結紮한 환쥐에서의 血清 GGT는 總輸膽管 結紮群에 比해서 약간 낮기는 하나 같은 傾向으로 增加되었으며, 그 增加의 程度를 보면 1日群에서 18.5(Orlowski unit; $m\text{ unit}/ml$ of serum)로 假手術群 11.2에 比해 약 1.6倍($p<0.01$) 2日에는 약 2.2倍($p<0.01$), 3日에는 약 3.1倍($p<0.001$), 6日에는 약 2.5倍($p<0.001$)로 繼續 높은 値를 維持하였다. 그리고 肝組織의 膜結合 GGT의 變動을 보면 膽道를 開放한 肝葉에 比해

膽道가 閉鎖된 肝葉이 反而 增加되었으며 그 增加의 程度를 보면 1日群이 약 28%($p<0.01$), 2日群이 약 53%($p<0.05$), 3日群이 약 97%($p<0.01$)의 增加를 보였으며, 6日에는 더욱 增加되어 약 142%의 增加를 보였으나 統計學的意義는 없었다.

한편 正常群에서 膜結合 GGT의 活性度와 可溶性 GGT의 活性度를 比較해 보면 膜結合 GGT가 可溶性 GGT보다 약 5倍나 높은 値를 보였으며 이는 ALP의 兩者의 差異(圖 4 참조)와는 비슷하였으나 5'-NT의 兩者의 差異(圖 2 참조)보다는 훨씬 差異가 많았다.

환쥐에서 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮했을 때의 血清 및 肝組織의 ALP의 變動: 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮한 後 經時的으로 觀察한 血清肝性 ALP 및 肝組織 ALP의 變動을 보면 第 4 圖와 같다. 血清肝性 ALP의 活性度는 總輸膽管 結紮後 12時間에 5.1(Bessey-Lowry unit; $unit/ml$ of serum)로 假手術群 1.3에 比해 약 3.9倍($p<0.001$)

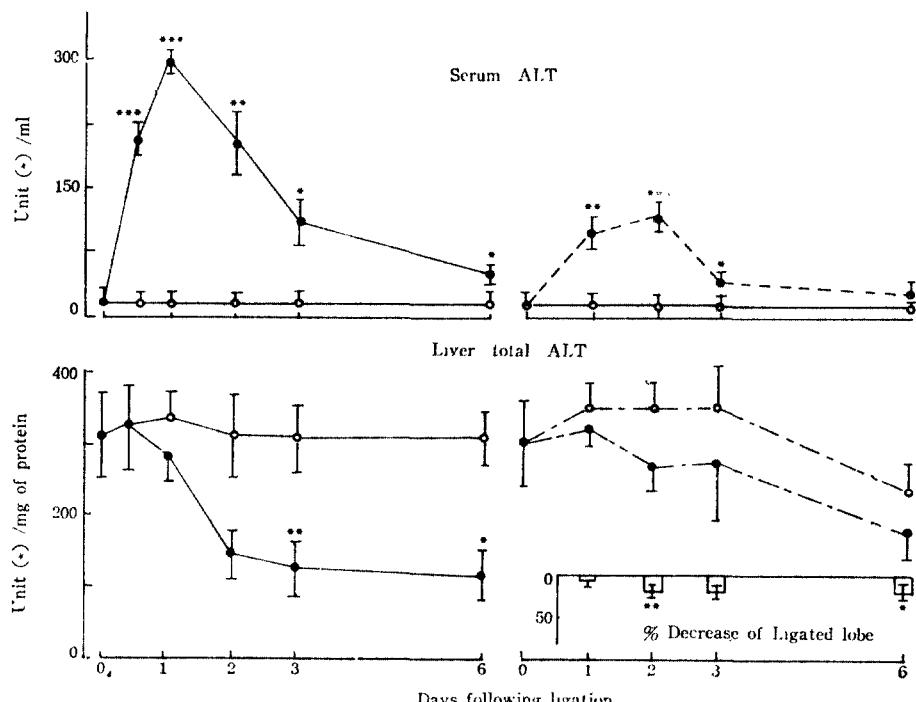


Fig. 5. Alanine aminotransferase(ALT) activity in serum and liver after bile duct ligation in rats. Vertical brackets at point indicated mean \pm SE with 5 animals in each group. ○—○ = sham operated animals; ●—● = common bile duct ligated animals; ○---○ = patent hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals; ●---● = ligated hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals. *; $p<0.05$, **; $p<0.01$, ***; $p<0.001$, (*) Karmen unit

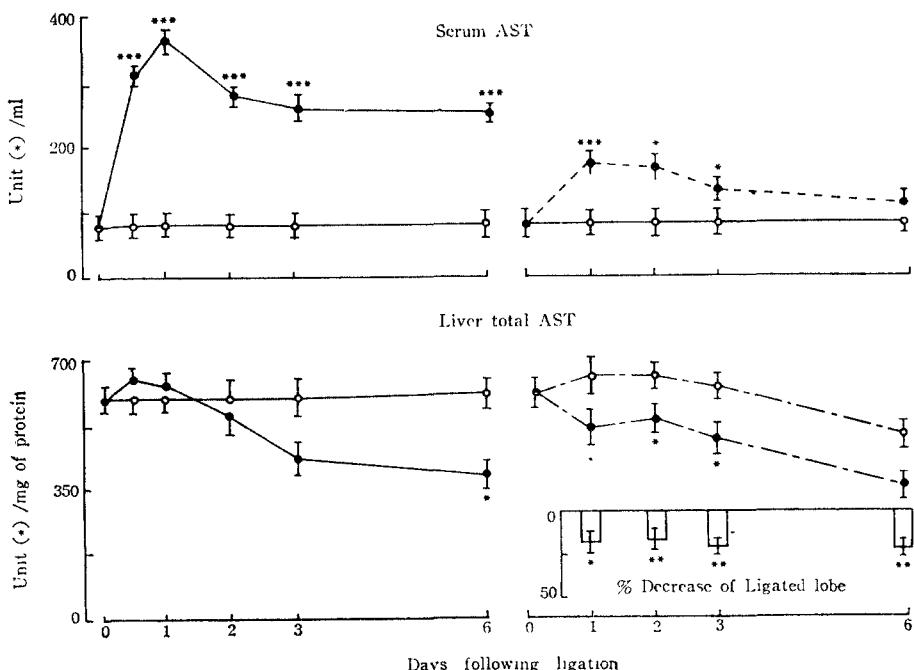


Fig. 6. Aspartate aminotransferase (AST) activity in serum and liver after bile duct ligation in rats. Vertical brackets at point indicated mean \pm SE with 5 animals in each group. ○—○ = sham operated animals; ●—● = common bile duct ligated animals; ●---● = median and left lateral bile duct ligated animals; ○---○ = patent hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals; ●---● = ligated hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals. *; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$, ***; $p < 0.001$, (*): Karmen unit

增加되었으며以後 3일에는 더욱增加되어 10.5로假手術群 1.3에比해 약 8.1倍($p < 0.001$)의顯著한增加를보이며以後 6일에도繼續 높은值得維持하였다. 이에比해肝組織의膜結合 ALP는 12時間에 1.3(Bessey-Lowry unit; unit/mg of protein)으로 거의最高值得비슷한程度로增加되어假手術群 0.36에比해 약 3.6倍($p < 0.001$)의增加를보였으며以後繼續 높은值得維持하였다. 그리고正常群에있어서肝組織의可溶性ALP는膜結合 ALP에比해 5분의 1에不遇었으며, 總輸膽管을結紮했을때도역시膜結合 ALP가 높았다. 그러나그增加率은可溶性 ALP가 더顯著하였다즉 12時間에 0.23으로假手術群 0.06에比해 약 3.8倍($p < 0.001$)의增加를보이고以後繼續增加되어3일 및 6일에는假手術群 0.03에比해 0.32로약 10.6倍($p < 0.001$)의增加를보였다.

한편部分膽管을結紮한 흰쥐에서血清肝性 ALP는 24時間에 5.6(Bessey-Lowry unit; unit/ml of serum)으로假手術群보다 4.3倍($p < 0.001$)나높은

最高值得나타내고以後減少되기는하나 6일에도높은值得維持하였다.

그리고肝組織의膜結合 ALP의變動을보면역시膽管을開放한肝葉에比해膽道가閉鎖된肝葉이역시增加되었으며그增加의程度를보면1日群이 약 45%($p < 0.001$), 2日群이 약 55% ($p < 0.001$), 3日群이 약 49%($p < 0.001$), 6日群이 약 42%($p < 0.01$)의增加를보였다.

또한肝組織의可溶性 ALP도可溶性 5'-NT나可溶性 GGT와는달리開放된肝葉보다閉鎖된肝葉이 약간의增加를보였으며같은動物에서는오히려膜結合 ALP보다그增加率은높았다. 즉 1일에는 약 60%($p < 0.05$), 2일에는 약 50%($p < 0.05$), 3일 및 6일에는각각 약 30%($p < 0.05$) ($p < 0.01$)의增加를보였다.

risultati
의血清 및肝組織의ALT 및 AST의變動：血清 ALT는總輸膽管結紮後 12時間에假手術群 17(Karmen unit; unit/ml of serum)에比해 208로

서 약 12배 ($p < 0.001$)의 显著한 增加를 보이고 以後 더욱 增加되어 1일에는 假手術群보다 약 17.5倍 ($p < 0.001$)나 急激한 增加를 보였으며 以後 漸次 減少되기는 하나 6일에도 正常으로 恢復되지는 않았다. 反面에 肝組織의 總 ALT는 1일부터 減少되기 始作하여 3일後부터는 假手術群의 2분의 1以下로 低下되었다.

그러나 部分膽管 结紮群에서의 血清 ALT는 總輸膽管을 结紮한 豚椎에 比해 輕度의 增加에 不過하였다으며 아울러 肝組織의 總 ALT도 輕度의 減少에 不過하였다(以上 圖 5 참조).

한편 總輸膽管을 结紮했을 때의 血清 總 AST의 變動을 보면, 같은 動物에서 觀察한 血清 總 ALT보다는 그活性值이 더 높았으나 그增加率에 있어서는 오히려 월선 낮았다. 즉 總輸膽管 结紮後 12時間에는 假手術群 76(Karmen unit; unit/ml of serum)에 比해 312로 약 4.1倍($p < 0.001$)의 增加를 보였고 1일에는 더욱 增加하여 假手術群 77에 比해 370으로 약 4.8倍 ($p < 0.001$)의 增加를 보였으며 以後 약간 減少되기는 하나 繼續높은 値를 維持하였다.

그리고 肝組織의 總 AST도 時間 經過에 따라 약간 減少되었으나 그 減少의 時期와 減少率은 肝組織의 總 ALT와는 약간 差異가 있었다. 즉 減少의 時期는 2日後부터였고 그 減少率은 약간 낮았었다.

또한 部分膽管 结紮群에서의 血清 AST도 역시 總輸膽管을 结紮한 豚椎에 比해 輕度의 增加에 不過하였다며 아울러 肝組織의 總 AST도 역시 輕度의 減少에 不過하였다(以上 圖 6 참조).

그리고 正常群이나 假手術群에서 血清 ALT와 AST의活性值을 比較해 보면 AST가 ALT에 比해 4.5倍가량 그活性值이 높았고 肝組織에서 總 ALT와 總 AST의活性值을 比較해 보면 AST가 ALT에 比해 2倍가량 높았다(圖 5 및 참조).

豚椎에서 總輸膽管 또는 部分膽管을 结紮했을 때의 血清 및 肝組織의 LDH의 變動: 總輸膽管 또는 部分膽管을 结紮한 後 經時的으로 觀察한 血清 및 肝組織의 LDH의 變動을 보면 第 7 圖와 같았으며 그 變動의 備向은 aminotransferase 들과 差異하였다.

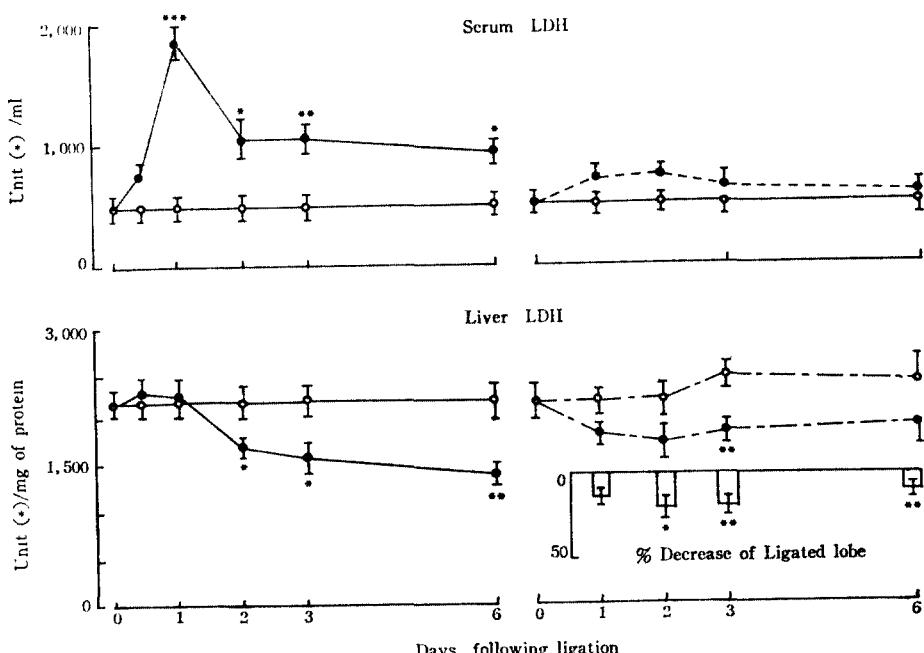


Fig. 7. Lactate dehydrogenase(LDH) activity in serum and liver after bile duct ligation in rats. Vertical brackets at point indicated mean \pm SE with 5 animals in each group:
○—○=sham operated animals;
●—●=common bile duct ligated animals;
●---●=median and left lateral bile duct ligated animals;
○---○=patent hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals;
●---●=ligated hepatic lobe of median and left lateral bile duct ligated animals.
*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$, ***; $p < 0.001$, (*); Wroblewski unit

Table 5. Incorporation of amino acid mixture-(U)-¹⁴C into serum protein after bile duct ligation in rats

Days following ligation	Sham(control) (%)	CBDL (%)	MLBDL (%)
(DPM/mg of protein)			
0		21.86 ± 1.67	
0.5	21.34 ± 3.12 (100)	22.18 ± 2.16 (104.9)	
1	21.97 ± 2.38 (100)	26.21 ± 2.12* (119.3)	25.78 ± 2.66 (117.3)
2	22.87 ± 2.13 (100)	28.12 ± 2.26** (123.0)	25.91 ± 2.96 (113.3)
3	22.37 ± 2.47 (100)	29.68 ± 3.58** (132.7)	26.11 ± 3.10 (116.7)
6	22.76 ± 2.08 (100)	27.35 ± 2.81* (120.2)	25.55 ± 2.86 (112.3)

All values are expressed as mean ± SD with 5 animals in each group; Sham = sham operation animals, CBDL = common bile duct ligated animals, MLBDL = median and left lateral bile duct ligated animals.

Amino acid mixture-(U)-¹⁴C 4 μci/100g body weight, was given 3 hours prior to sacrifice.

Amino acid mixture-(U)-¹⁴C was described in table 1.

Significant difference from controls(*; p < 0.05, **; p < 0.01)

Table 6. Incorporation of amino acid mixture-(U)-¹⁴C into liver protein after bile duct ligation in rats

Days following ligation	Sham(control) (%)	CBDL (%)	MLBDL
			Patent lobe(control)(%) Ligated lobe(%)
(DPM/mg of protein)			
0		4,120 ± 186	
0.5	3,810 ± 150 (100)	3,686 ± 243 (96.7)	
1	3,928 ± 205 (100)	4,808 ± 376** (122.4)	3,826 ± 206 (100) 4,477 ± 306** (117.0)
2	3,800 ± 226 (100)	4,962 ± 327*** (130.5)	4,034 ± 165 (100) 4,526 ± 188** (112.2)
3	3,826 ± 218 (100)	5,374 ± 426*** (140.5)	3,983 ± 274 (100) 4,765 ± 307** (119.6)
6	3,870 ± 237 (100)	4,725 ± 292** (122.1)	4,210 ± 198 (100) 4,694 ± 204** (111.5)

All values are expressed as mean ± SD with 5 animals in each group; Sham = sham operation animals, CBDL = common bile duct ligated animals, MLBDL = median and left lateral bile duct ligated animals.

Amino acid mixture-(U)-¹⁴C 4 μci/100g body weight, was given 3 hours prior to sacrifice.

Amino acid mixture-(U)-¹⁴C was described in table 1.

Significant difference from controls(**; p < 0.01, ***; p < 0.001)

다. 즉 血清 LDH 는 總輸膽管 結紮後 12時間부터
增加하기 始作하여 1일에는 假手術群 492(Wroblew-
ski unit; unit/ml of serum)에 比해 1876으로서
약 3.8倍($p < 0.001$)의 增加를 보이고 以後 減少되-
기는 하나 6일에도 高은 値를 보였다. 그리고 肝組織의
LDH 는 2일부터 減少되어 6일에는 假手術群

2167 (Wroblewski unit; unit/mg of protein)에
比해 1400으로 약 3分의 1의 減少를 보였다.

그리고 部分膽管 結紮群에서의 血清 LDH 는 增
加되기는하나 總輸膽管을 結紮한 회위에 比해 輕度
의 增加에 不過하였으며 아울러 肝組織의 LDH 도
減少되기는하나 그 減少率은 낮았었다.

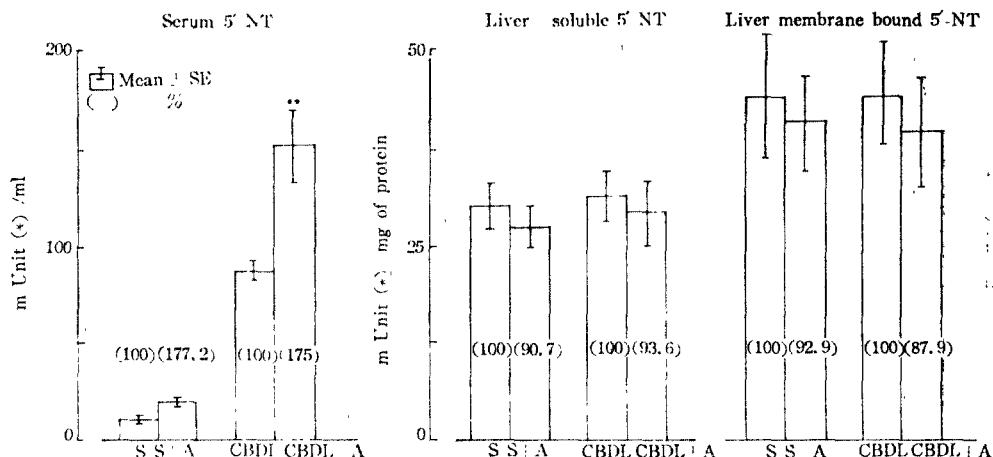


Fig. 8. Effect of actinomycin D on serum and liver 5'-nucleotidase (5'-NT) level in bile duct ligated rats. The vertical bars are expressed as mean \pm SE with 5 animals in each group; S = sham operated, CBDL = common bile duct ligated animals. Actinomycin D(A), 50 μ g/100g of body weight were given 1 hour before and 18 hours after operation and were sacrificed 24 hours after surgery. **; p < 0.01, (*); Campbell unit

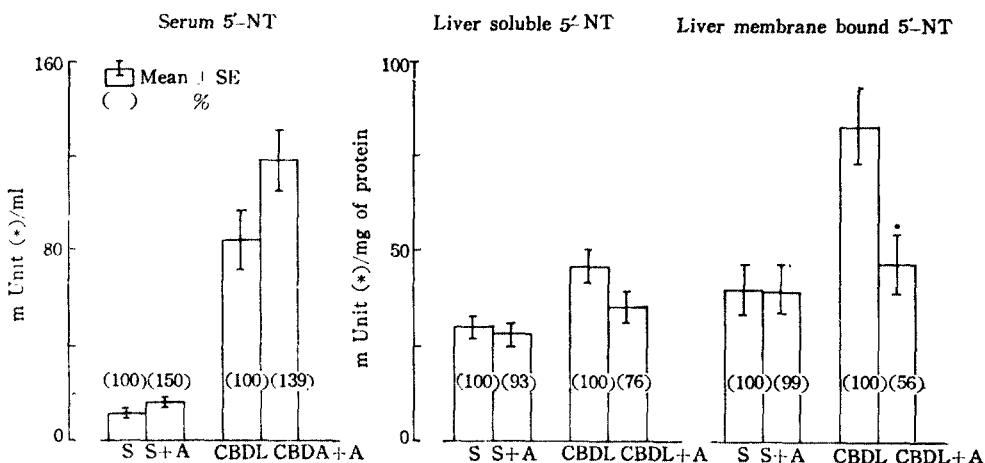


Fig. 9. Effect of actinomycin D on serum and liver 5'-nucleotidase (5'-NT) level in bile duct ligated rats. The vertical bars are expressed as mean \pm SE with 5 animals in each group; S = sham operated, CBDL = common bile duct ligated animals. Actinomycin-D(A), 50 μ g/100g of body weight were given 1 hour before and 18 hours after operation and were sacrificed 36 hours after surgery. *; p < 0.05, (*); Campbell unit

脾汁管 또는 部分膽管을 結紮했을 때
의 amino acid mixture-(U)-¹⁴C 의 血清 및 肝臟
白에의 编入速度 : 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮한 後 經時的으로 觀察한 amino acid mixture-(U)-¹⁴C 的 血清蛋白에의 编入速度는 第 5 表에 表示된 바와 같다. 즉 總輸膽管을 結紮한 後 amino acid mixture-(U)-¹⁴C 的 血清蛋白에의 编入速度는

本 實驗에서 觀察한 血清의 여러 酶素들의 活性增加보다는 약간 높게 總輸膽管 結紮後 1日부터 增加되기 始作하여 6日까지 繼續 增加된 値를 維持하였다.

그리나 部分膽管 結紮群에서는 實驗期間동안 增加되기는 하나 統計學의 意意義는 없었다.

한편 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮한 後 經時

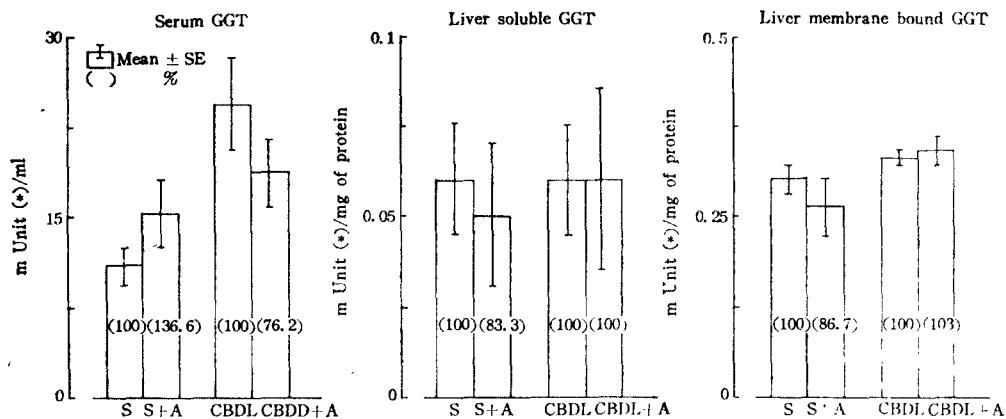


Fig. 10. Effect of actinomycin D on serum and liver gamma-glutamyl transpeptidase(GGT) level in bile duct ligated rats. The vertical bars are expressed as mean \pm SE with 5 animals in each group; S=sham operated, CBDL=common bile duct ligated animals. Actinomycin-D (A), 50 μ g/100g of body weight were given 1 hour before and 18 hours after operation and were sacrificed 24 hours after surgery. (*); Orlowski unit

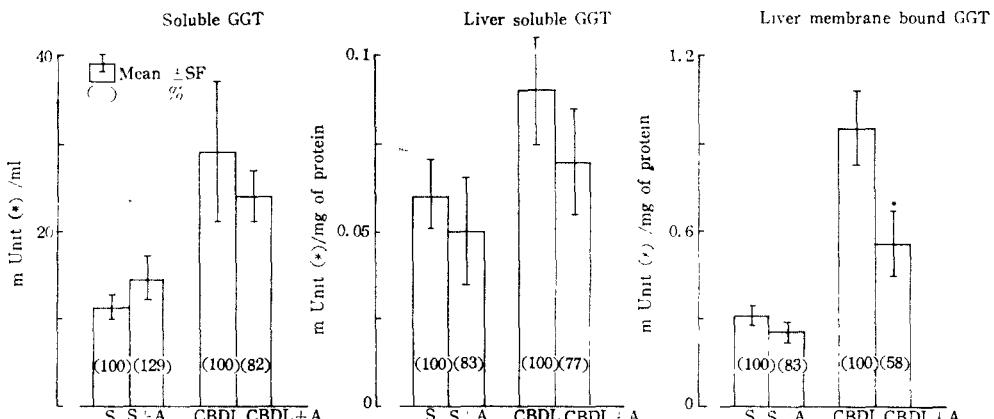


Fig. 11. Effect of actinomycin D on serum and liver gamma-glutamyl transpeptidase(GGT) level in bile duct ligated rats. The vertical bars are expressed as mean \pm SE with 5 animals in each group; S=sham operated, CBDL=common bile duct ligated animals. Actinomycin-D(A), 50 μ g/100g of body weight were given 1 hour before and 18 hours after operation and were sacrificed 36 hours after surgery. *: p < 0.05, (*); Orlowski unit

의으로 觀察한 amino acid mixture-(U)-¹⁴C 의 肝蛋白에의 編入速度를 보면 第 6表와 같다. 즉 總輸膽管을 結紮한 後 amino acid mixture-(U)-¹⁴C 的 肝蛋白에의 編入速度는 역시 血清에서와 마찬가지로 1日부터 增加되기 始作하였으며 3日에는 더욱 增加되어 假手術群보다 약 40%($p < 0.001$)의 增加를 보이고 以後 6日에도 假手術群에 比해 약 20%($p < 0.01$)나 높은 值를 維持하였다.

그리고 部分膽管 結紮群에서도 實驗 全期間동안意義있는 增加를 보였으나 그 增加의 程度는 總輸膽管 結紮群보다는 낮하였다.

翹椎에서 總輸膽管 結紮과 actinomycin D 投與量 竝行했을 때의 肝組織과 血清의 5'-NT의 變動： 總輸膽管 結紮 前後에 actinomycin D を 投與하고 1日 및 1.5日 後의 肝組織과 血清의 5'-NT의 變動을 보면 第8 및 9圖와 같다. 즉 actinomycin D

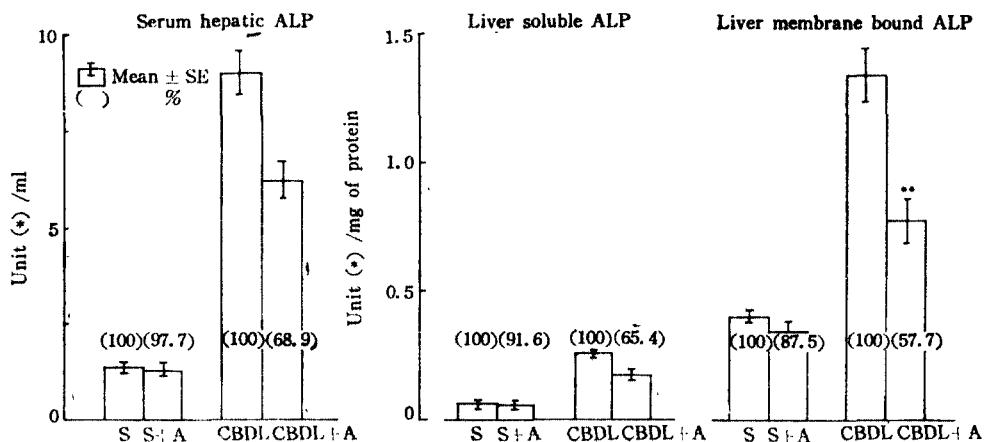


Fig. 12. Effect of actinomycin D on serum and liver alkaline phosphatase(ALP) level in bile duct ligated rats. The vertical bars are expressed as mean \pm SE with 5 animals in each group; S=sham operated, CBDL=common bile duct ligated animals. Actinomycin D(A), 50 μ g/100g of body weight were given 1 hour before and 18 hours after operation and were sacrificed 24 hours after surgery. **; p<0.01, (*); Bessey-Lowry unit

를 投與하고 1日後의 肝組織의 膜結合 5'-NT의 變動을 觀察하였을 때 總輸膽管 結紮群이나 假手術群이 다같이 약간의 泄害 現象을 보여주었으나 統計學的 意義는 없었다.

그리나 1.5日後에는 總輸膽管 結紮群에서 膜結合 5'-NT가 意義 있는 ($p<0.05$) 泄害 現象을 보였다. 그리고 肝組織의 可溶性 5'-NT는 1日 및 1.5日群 모두 actinomycin D投與로 약간의 泄害 現象을 보였으나 統計學的 意義는 없었다.

한편 血清 5'-NT는 總輸膽管 結紮群에서 actinomycin D를 投與함으로서 泄害되지는 않고 오히려 1日群에서 약 75%($p<0.01$), 1.5日群에서는 약 39%나 顯著한 增加를 보여주었다. 그리고 假手術群들에서도 actinomycin D를 投與함으로서 增加되었으나 統計學的 意義는 없었다.

원쥐에서 總輸膽管 結紮과 actinomycin D投與量 立行했을 때의 肝組織과 血清의 GGT 및 ALP의 變動: 總輸膽管 結紮 前後에 actinomycin D를 投與하고 1日 및 1.5日後에 肝組織과 血清의 GGT의 變動을 보면 각각 第10圖 및 第11圖와 같다.

Actinomycin D를 投與하고 肝組織의 膜結合 GGT와 可溶性 GGT를 觀察하였을 때 假手術群들에서는 兩者 모두가 actinomycin D의 投與로 약간 泄害되었으나 統計學的 意義는 없으며 總輸膽管 結紮群에서는 actinomycin D投與後 1日에는 變動을 보이지는 않았으나 1.5日後에는 意義 있는

($p<0.05$) 泄害 現象을 나타내었다. 그리고 血清 GGT의 境遇는 actinomycin D를 投與했을 때 假手術群들은 增加되고 總輸膽管 結紮群들은 減少되는 相反된 成績을 나타내었다. 그러나 統計學的 意義는 없었다(以上 第10 및 11圖 참조).

한편 actinomycin D를 投與하고 1日後 肝組織의 膜結合 ALP와 可溶性 ALP의 變動을 觀察하였을 때 總輸膽管 結紮群에서는 膜結合 ALP가 약 42%($p<0.01$)의 顯著한 泄害 現象을 보였다.

그리고 可溶性 ALP도 약간의 泄害 現象을 나타내었으나 統計學的 意義는 없었으며 假手術群에서도 兩者 모두 意義 있는 泄害 現象은 보이지 않았다.

한편 血清 ALP의 境遇는 actinomycin D投與와 總輸膽管 結紮을 立行했을 때 약 31%($p<0.01$)의 泄害 現象을 보였다. 그러나 假手術群에서는 actinomycin D를 投與해도 泄割 現象은 볼 수 없었다(以上 第12圖 참조).

원쥐에서 總輸膽管 結紮과 actinomycin D投與量 立行했을 때의 amino acid mixture-(U)-¹⁴C의 肝 및 血清蛋白에의 编入速度의 變動: 總輸膽管 結紮時 增加되는 肝이나 血清蛋白으로의 amino acid mixture-(U)-¹⁴C의 编入速度는 1日群에서 兩者 모두 actinomycin D의 投與로 泄害되었으며 그 泄害의 程度는 血清蛋白이 總輸膽管 結紮群에서 약 35%($p<0.001$), 假手術群에서는 약 27%($p<0.001$) 그리고 肝蛋白은 總輸膽管 結紮群이 약 26

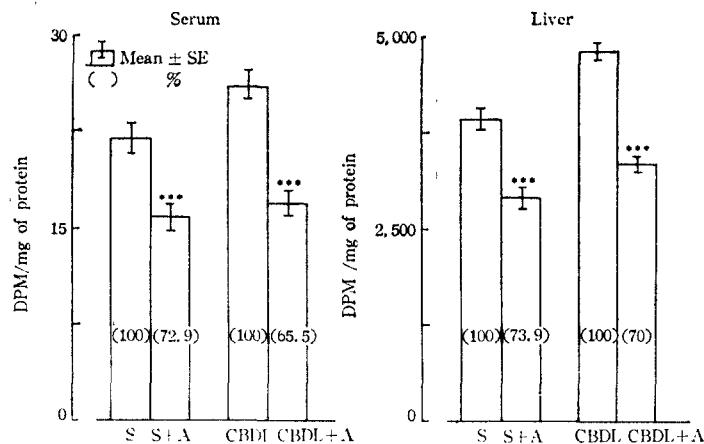


Fig.13. Effect of actinomycin D on the incorporation of amino acid mixture-(U)-¹⁴C into serum and liver protein after bile duct ligation in rats. The vertical bars are expressed as mean±SE with 5 animals in each group; S=sham operated, CBDL=common bile duct ligated animals.
Actinomycin-D (A), 50μg/100g of body weight were given 1 hour before and 18 hours after operation and were sacrificed 24 hours after surgery. Amino acid mixture-(U)-¹⁴C was given as described in table 1. ***; p<0.001

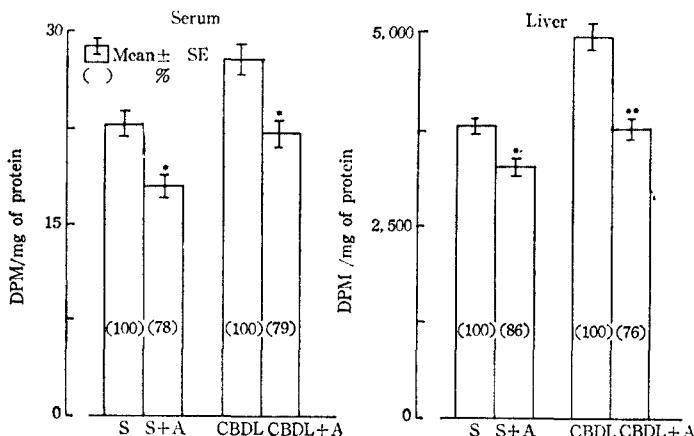


Fig.14. Effect of actinomycin D on the incorporation of amino acid mixture-(U)-¹⁴C into serum and liver protein after bile duct ligation in rats. The vertical bars are expressed as mean±SE with 5 animals in each group; S=sham operated, CBDL=common bile duct ligated animals. Actinomycin-D (A), 50μg/100g of body weight were given 1 hour before and 18 hours after operation and were sacrificed 36 hours after surgery. Amino acid mixture-(U)-¹⁴C was given as described in table 1. *; p<0.05, **; p<0.01

%($p < 0.001$)의 汗害를 보였으며 1.5日 群에서 역시 汗害 現象을 보였으나 그 程度는 1.1日 群보다 덜하였다.

考 察

肝의 排泄機能에 障碍가 起起되면 胆道를 通해

腸으로 排泄되는 胆汁色素, 胆汁酸 및 cholesterol 等이 血中에 增加된다는 事實^{74,87,88}은 이미 잘 알려져 있다.

그리고 酶素中에는 胆道系 酶素인 5'-NT, GGT, ALP 및 LAP가 血中에 增加되며^{25,26,30,45-60,67,89,90} 또한 ALT, AST 및 LDH도 역시 血中에 增加된

나^{71, 74, 91, 92)}.

膽道閉鎖時 이들 酵素의 增加 機轉에 對해서는 血清 ALP 나 LAP는 肝臟에서 그 生成이 增加되어 血中에 遊離됨으로서 增加된다^{67, 68, 73, 90)}고 하며 血清 ALT 및 AST는 主로 肝細胞膜의 透過性亢進으로 細胞外로 漏出되어 增加되는 것^{69, 70)}으로 알려져 있다.

그러나 5'-NT 와 GGT의 血中增加에 對해서는 逆流停滯說^{53, 63~65)}, 合成增加說^{36, 62)} 및 遊離說^{61, 66)}等이 각각 主張되고 있으나 어떤 것인지는 分明치 않다.

現在까지 胆汁鬱滯와 關連性을 가진 物質들의 血中增加는 主로 다음과 같은 原因에 依해 著起되는 것으로 생각되고 있다. 즉 排泄路遮斷으로 血中에 逆流되는 것과 肝에서의 合成速度의 增加, 破壊速度의 延遲等으로 血中에 多量遊離되는 것과 肝細胞膜의 透過性亢進으로 血中에 多量漏出되는 것 그리고 血中에서의 分解速度의 延遲 等이다.

本實驗에서 흰쥐의 總輸膽管을 結紮하고 甚한 胆汁鬱滯를 惹起시켰을 때 血清과 肝組織의 膜結合 및 可溶性 5'-NT, GGT 및 ALP는 顯著히 上昇되었다. 그러나 이들 血清酵素와 肝組織 酵素間에는 그 上昇時期와 上昇率에 있어서는相當한 差異를 보였다. 즉 血清 5'-NT 와 GGT는 總輸膽管 結紮後 12時間에 急激히 增加됨에 比해 肝組織의 膜結合 및 可溶性 5'-NT 와 GGT는 2日後에 비로소 增加되었다. 그리고 그 上昇率은 血清의 것이 훨씬 높았다.

한편 血清肝性 ALP 와 肝組織의 膜結合 및 可溶性 ALP는 이들과는 달리 모두 12時間에 急激히 增加되었으며, 그 上昇率에 있어서는 前者와 마찬가지였다.

本成績은 Kryszewski 等⁶²⁾이 흰쥐에서 總輸膽管을 結紮했을 때의 成績과 비슷하다.

本實驗에서 흰쥐 肝臟의 中葉과 左側外葉 膽管을 結紮했을 때 즉 部分膽管 結紮群에서는 血中 bilirubin의 增加를 볼 수 없었음에도 血清 5'-NT, GGT 및 血清肝性 ALP는 總輸膽管 結紮群에 比해 그 增加度가 낮기는 하나 實驗期間동안 모두 增加되었다. 그리고 이 群에서 肝組織中の 膜結合 5'-NT, GGT 및 ALP는 같은 흰쥐에서 다같이 膽道가 閉鎖된 肝葉이 膽道가 開放된 肝葉보다 훨씬 增加되었으며 肝組織의 可溶性 ALP도 높은 增加를 보였다.

그러나 肝組織의 可溶性 5'-NT 와 GGT는 實驗

期間동안 別 變動을 보이지 않았다.

本實驗에서 觀察한 血清 및 肝組織의 ALP에 對한 成績은 金 및 柳⁹¹⁾가 흰쥐에서 總輸膽管 또는 部分膽管을 結紮하고 觀察한 成績과一致되며 따라서 ALP에 對한 本實驗 成績은 肝臟의 ALP가 그 生成量增加로 血中으로 多量遊離되어 增加된다는 合成增加說을 더욱 肯定해 주는 結果라 생각된다.

한편 鄭⁹⁰⁾은 總輸膽管을 結紮했을 때 血中 5'-NT 및 GGT와 더불어 增加되는 血中 LAP도 ALP와 마찬가지로 肝組織의 LAP合成增加가 그 原因이라 했다.

以上 研究者の 成績과 本實驗에서 觀察한 ALP의 成績으로 보아 胆汁鬱滯가 있을 때 血中에 5'-NT 와 GGT가 增加되는 것은 肝에서 그 生成量이 增加되어 이것이 多量 血中으로 遊離되는 데 있음이 分明하며 적어도 bilirubin의 增加와는 直接의 인連關係이 없는 것으로 생각된다.

本實驗에서 肝의 ALP는 12時間부터 增加되는 데 比해 肝의 5'-NT 및 GGT는 2日째부터 增加되었다.

이것은 胆汁鬱滯가 惹起되었을 때 肝 ALP는 比較的 早期에 合成이 增加되는 데 比해 肝의 5'-NT 및 GGT는 比較的 늦게 合成이 增加된다는 것을 보여주는 結果라 생각된다.

膽汁鬱滯時 肝臟所見을 觀察한 Moritz 및 Snodgrass⁹³⁾의 報告를 보면 흰쥐에서 總輸膽管을 結紮한 後 1時間이 經過되었을 때는 肝의 細膽管과 洞樣構造의 擴張과 門脈帶에 硝子變性이 觀察되고 12時間 經過後에는 수많은 細胞가 壞死現象이 나타나며 同時に 膽道細胞의 增殖이始作되었다고 한다. 그리고 24시간 後에는 肝의 全域에 壞死現象이 나타나고 壞死部位에는 炎性細胞의 浸潤이 보였다고 하며 以後 18일까지 壞死現象은 漸次消滅되는데 比해 이와는 달리 膽道細胞의 增殖은 오히려 活潑해져서 18일 後에는 膽道細胞가 肝 全體의 半을 차지했다고 한다.

이러한 膽道細胞의 增殖이 本實驗에서 觀察한 2日 以後 肝腫脹을 說明해 주는 것이며 이와 아울러 肝의 5'-NT가 膽道增殖이甚할 때 膽道細胞에서 그 增加를 볼 수 있었다는 報告⁹⁴⁾와 膽道系酵素가 膽道細胞에서 그 合成이 旺盛하다는 報告⁹⁵⁾가 있고 보면 本實驗에서 觀察된 바와 같이 肝의 5'-NT 와 GGT合成의 增加時期는 膽道細胞의 增殖이 旺盛한時期로까지 延長될 수 밖에 없으리라 생각된다.

그러나 肝의 5'-NT 나 GGT 에 比해 肝 ALP 의 빠른 增加는 本 實驗 成績만으로는 說明하기 어렵다.

本 實驗에서 觀察한 肝의 膽道系 酵素들은 膜結合酵素가 可溶性酵素에 比해 顯著한 增加를 보여주었다. 이의 한 點은 可溶性 酵素들이 蛋白合成處에서 生成되어 細胞膜 部位로 運搬되는 過程에 있는 酵素라 假定해 본다면 이 點은 解結되리라 생각되며 細胞의 膜部位에서 이들 酵素의 繼續的인 除去와 供給이 이들 可溶性 酵素의 增加를 두드러지게 하지 못하는 原因이라 생각된다.

그러나 이들 膜酵素의 增加는 그 原因을 알 수 없으며 따라서 膜部位에서의 이들의 生理化學의 作用이 밝혀지기까지는 어려울 것으로 생각된다.

本 實驗에서 肝의 膜 및 可溶性 5'-NT 와 GGT 는 다같이 2日째부터 增加했음에도 不拘하고 血清에서의 兩 酵素는 일찍이 12時間부터 增加되고 있다.

즉 肝에서 이들 酵素의 合成이 增加되기도 前에 벌써 兩 酵素는 血中에 增加되어 있었다. 이러한 血清 5'-NT 및 GGT의 初期의 增加는 다음과 같이 세 가지 可能성을 생각해 볼 수 있다.

첫째로는 肝以外 組織에서의 多量漏出, 둘째는 膽道閉鎖로 因한 血中으로의 逆流, 세째로는 肝細胞膜의 損傷으로 因한 膜에서의 多量 遊離 等이다.

그러나 膽汁鬱滯時 腎에서 GGT의 增加를 볼 수 없었다는 報告⁹⁶⁾와 肝以外 5'-NT를 豊富히 가지고 있는 臟器가 많지 않다는 報告⁶²⁾를 보면 肝以外 組織에서의 漏出은 거의 信憑성이 없을 것 같다 만약 이들 酵素가 逆流停滯되어 增加된다면 肝에서도 어느 程度增加되어야 하나 本 成績에서 別 變動이 없는 點으로 보아 逆流停滯說도妥當치 않으리라 생각된다. 따라서 세번째 説인 肝細胞膜의 損傷으로 因한 膜部位에서의 多量 遊離가 가장 有力視된다.

本 實驗에서 actinomycin D를 總輸膽管 結紮 前後에 投與하고 1日 後에 觀察했을 때 肝組織의 ALP 나 血清肝性 ALP의 活性은 actinomycin D의 投與로서 顯著히 抑制되었다.

그러나 肝組織 및 血清의 GGT의 肝組織의 5'-NT는 意義있는 抑制現象을 나타내지 않았으며, 特異하게도 血清 5'-NT는 顯著히 增加되어 있었다.

本 成績에서 肝이나 血清 ALP가 actinomycin D의 投與로 抑制된다는 것은 膽汁鬱滯時 肝 및 血清 ALP가 그 合成이 增加된다는 事實을 徒 반침

해 주는 것이 된다. 따라서 肝組織 및 血清의 GGT 와 肝組織의 5'-NT가 別 變動을 보이지 않는다는 것은 膽道 細胞의 増殖이 旺盛하지 않는 時期에는 이들의 合成이 別로 增加되지 않는다는 것을 立證해 주는 資料라 생각되며 本 實驗에서 膽道 結紮群의 膜結合 5'-NT 및 GGT가 actinomycin D投與後 1.5日에 泣害되는 現象은 이를 더욱 徒 반침해 주는 것이라 생각된다.

그리고 actinomycin D의 投與로 因한 血清에서의 5'-NT의 增加는 細胞膜 部位에서 5'-NT를 受容하는 組合蛋白의 合成抑制가 細胞膜 部位에 새로이 合成되어 組合될려고 하는 5'-NT의 受容을 堪當할 수 없어서 結局 細胞外로 多量 漏出되어 나타난 結果라 생각된다. 따라서 이러한 點이 血中 GGT의 增加보다 5'-NT의 增加를 더욱 顯著하게 해준 것이 아닌가 생각되며 結局 膽道 結紮後 初期에 보여준 結果는 肝細胞膜의 損傷으로 이들 酵素가 多量血中으로 遊離되는데 그 原因이 있다고 생각되며 本 實驗에서 觀察한 血清 ALP, AST 및 LDH의 初期 增加도 이를 한층 더 徒 반침해 주는 것이라 생각된다.

그리고 膽汁酸들이 清淨劑로 使用^{62, 69, 97)}되는 만큼 膽汁鬱滯로 因한 膽汁酸의 增加가 이들 膽道系 酵素들의 血中 增加에 寄與하는 要因이 될 것으로 생각된다.

本 實驗에서 部分 膽管을 結紮했을 때 血清 bilirubin이 增加되지 않았으므로 膽汁色素의 血中蓄積은 없었을 것이다.

그럼에도 肝臟組織 特히 膽管이 閉鎖된 肝臟에서 膜結合 5'-NT, GGT 및 ALP가 顯著히 上昇되고 있다. 이것은 膽道가 閉鎖된 肝臟에서 膽汁 排泄의 遲延으로 局所의 膽汁鬱滯가 起起되고 이로 因한 膽汁酸들의 負荷量 增加가 혹 그 原인이 된것이 아닌가 생각된다.

總輸膽管을 結紮했을 때 血中 ALT, AST 및 LDH는 모두 12時間부터 顯著히 增加되어 1日에는 最高値에 到達하고 以後 減少되나 6日에도 正常으로는 恢復되지 않았다.

그리고 部分膽管 結紮群에서도 增加되었는데 그 增加의 程度는 前者에 比해 輕度에 不過하였다.

한편 肝組織의 이들 酵素는 膽管 結紮後 時間이 輕화되면서 正常値 以下로 점점 減少되는 傾向을 나타내었다.

이들 成績과 膽道系 酵素의 成績을 比較해 보면 血清에서는 膽道 結紮後 2日까지는 그 變動의 傾向

이 비슷하였으나 그以後는 서로 相異하였다. 즉 2日 以後는 膽道系 酶素가 繼續 增加되어 있었으나 ALT, AST 및 LDH는減少되고 있었다.

그리고 肝組織에서의 變動은 實驗 全期間동안 相異한 結果를 나타내었다. 즉 肝組織의 膽道系 酶素는 增加되는데 比해 肝組織의 ALT, AST 및 LDH는 減少되고 있었다.

Kaplan과 Righetti⁶⁸⁾는 흰쥐에 總輸膽管을 結紮하고 cycloheximide를 投與하면 血中 ALP의 增加는 抑制되나 血清 ALT의 增加는 抑制되지 않았다고 하며 郭 및 張⁷⁴⁾도 역시 흰쥐에 總輸膽管을 結紮하고 actinomycin D를 投與하면 血中 ALP의 增加는 顯著히 抑制되나 血清 ALT의 增加는 그다지 抑制되지 않았다고 하였다.

그리고 血清 ALT, AST 및 LDH는 膽汁鬱滯時에 增加되고^{71, 74, 91, 92)} 特히 血清 ALT 및 AST는 肝實質細胞의 損傷이 있을 때 細胞外로 漏出되어 增加되는 것^{69, 70)}으로 알려져 있는 만큼 이論點과 本 實驗 成績으로 보아 肝組織에서 膽道系 酶素들의 生成 및 增加가 肝實質細胞損傷의 程度에는 平行하는 것이 아님을 알 수 있다.

本 實驗에서 總輸膽管을 結紮했을 때나 部分膽管을 結紮했을 때 肝蛋白이나 血清蛋白의 合成이 대같이 顯著히 增加되었다.

郭, 張⁹⁰⁾ 그리고 Fujioka 등⁹⁸⁾도 膽管 結紮時 本 實驗에서와 같은 結果를 얻었다고 한다.

Gustavsson 등⁹⁹⁾은 黃疸이 甚한 患者에서 肝組織의 蛋白合成이 增加됨을 觀察하고 있다.

朴과 柳¹⁰⁰⁾는 膽管을 閉鎖한 肝組織에서 α -aminoisobutyric acid-¹⁴C의 肝細胞內 移行速度가 增加됨을 報告하고 있다.

이들 報告와 本 實驗 成績을 綜合해 보면 膽汁鬱滯가 肝 및 血清蛋白의 合成을 增加시키는 것이 明白한 事實로 받아 들여진다.

그러나 本 實驗에서 알 수 있는 바와 같이 肝組織과 血清의 蛋白合成 增加와 5'-NT, GGT 및 ALP의 增加가 時期의 으로 相異하며 또 그 增加率도 顯著한 差異가 있었다.

그리고 肝의 ALT, AST 및 LDH는 오히려 減少되어 있었다. 이로보아 이들 膽道系 酶素의 生成增加는 肝이나 血清蛋白의 生成과는 큰 關係가 없는 것으로 생각된다.

以上 文獻上의 知見과 本 實驗의 結果로 보아 膽汁鬱滯時 起起되는 血清 5'-NT 및 GGT의 血中 增加는 肝細胞膜의 生化學的 變性에 依해서 細胞膜

에 存在하는 이들 酶素가 多量 遊離되어 나오는 것과 아울러 膽道細胞의 增殖과 이 細胞에서의 顯著한 合成亢進이 더욱 甚한 血中 增加를 誘導하는 것으로 생각된다. 그리고 어떤 物質이 이들 酶素의 誘導因子인지는 分明치 않으나 膽汁鬱滯로 因한 膽汁酸들의 增加가 이들 酶素合成을 誘導하는 한가지 要因이 아닌가 생각된다.

要 約

膽汁鬱滯가 隨伴되는 肝膽道疾患에서 增加되는 血清 5'-NT와 GGT의 增加機轉을 仔細히 알아보기 為하여 흰쥐의 總輸膽管 또는 肝의 中葉과 左側外葉 膽管을 結紮하고 經時적으로 血清과 肝組織의 5'-NT, GGT 및 ALP의 變動을 觀察하는 한편 肝組織損傷과 肝 및 血清蛋白合成能等을 測定하였으며 아울러 이들 酶素와 肝 및 血清蛋白合成能에 對한 actinomycin D의 影響도 觀察하여相互比較하였다.

總輸膽管을 結紮한 흰쥐에서는 血清 總 bilirubin이 12時間에 顯著히 上昇되어 6日까지 繼續 높은 濃度를 維持하였다.

이와같이 膽汁鬱滯가 持續되는 狀態에서 血淌과 肝組織의 膜結合 및 可溶性 5'-NT, GGT 및 ALP는 顯著히 上昇되었다.

그러나 이들 血清酶素와 肝組織酶素間에는 그 上昇時期와 上昇率이 큰 差異를 보였다. 즉 血清 5'-NT와 GGT는 總輸膽管 結紮後 12時間에 急激히 上昇됨에 比해 肝組織의 膜結合 및 可溶性 5'-NT와 GGT는 2日째에 顯著히 上昇되었다. 그리고 그 上昇率은 前者가 後者에 比해 複雫 높았다.

한편 血淌肝性 ALP와 肝組織의 膜結合 및 可溶性 ALP는 모두 12時間에 急激히 增加되었으며 그 上昇率은 역시 前者가 높았다.

Actinomycin D를 總輸膽管 結紮 前後에 投與하고 1日後 이들 酶素의 變動을 觀察했을 때 血清 ALP나 肝組織의 膜結合 A.I.P는 대같이 顯著히 그 活性이 抑制되었다.

그리고 血清 및 肝組織의 膜結合 GGT와 肝組織의 膜結合 5'-NT는 actinomycin D投與後 1日에는 意義있는 抑制現象을 보이지 않았다. 그러나 1.5日後에는 肝組織의 膜結合 5'-NT와 GGT는 意義있는 抑制現象을 나타내었다.

이와는 反面에 血清 5'-NT는 actinomycin D를

投與하지 않은 總輸膽管 結紮群보다 약 75%의 增加를 보였다.

總輸膽管 結紮로서 血清의 ALT, AST 및 LDH는 나같이 12時間부터 顯著히 增加되어 11일에는 最高値에 達하고 以後 減少되기는 하나 繼續 높은 値를 維持하였다. 그리고 그 增加率의 크기는 血清 ALT, AST, LDH의 順序였다.

그리나 部分膽管을 結紮한 휘경에서는 이들 酶素가 前者에 比해 輕度의 增加에 不過하였다.

總輸膽管을 結紮했을 때 肝組織의 總 ALT, 總 AST 및 LDH는 5'-NT, GGT 및 ALP와는 달리 오히려 總輸膽管 結紮後 1日 또는 2日後부터 減少되어 繼續 減少된 値를 보였다.

그리고 역시 部分膽管 結紮群에서도 膽道가 閉鎖된 肝葉이 減少된 値를 나타내었으며 그 減少率은 總輸膽管 結紮群보다 낮았다.

한편 部分膽管을 結紮한 휘경에서는 血清 bilirubin의 增加가 없음에도 血清 5'-NT, GGT 그리고 血清肝性 ALP는 모두 實驗 全期間동안 增加되었다. 그러나 그 增加의 程度는 總輸膽管을 結紮한 휘경보다는 낮았다.

또한 肝組織中의 膜結合 5'-NT, GGT 및 ALP는 같은 휘경에서 나같이 膽道가 閉鎖된 肝葉이 膽道가 開放된 肝葉보다 增加되었으며 이것도 역시 總輸膽管을 結紮한 群보다는 낮은 增加率을 보였다. 그리고 肝組織의 可溶性 5'-NT와 GGT는 實驗全期間동안 變動을 보이지 않았다.

그리나 肝組織의 可溶性 ALP는 膽道가 閉鎖된 肝葉이 開放된 肝葉보다 훨씬 높았다.

總輸膽管을 結紮한 휘경에서 amino acid mixture-(U)-¹⁴C의 肝組織 및 血清蛋白에의 編入速度는 酶素들의 活性增加보다는 약간 높게 兩者 모두 總輸膽管 結紮後 1日부터 增加되어 始作하여 6日까지 繼續 높은 値를 維持하였다.

한편 部分膽管을 結紮한 動物에서도 역시 膽道가 閉鎖된 肝葉이 膽道가 開放된 肝葉보다 amino acid mixture-(U)-¹⁴C의 肝蛋白에의 編入率이 增加되었으나 그 增加率은 總輸膽管을 結紮한 휘경보다는 낮았다.

그리나 이의 清血蛋白에의 編入率은 意義있는 增加를 보이지 않았다.

그리고 總輸膽管 結紮 前後에 actinomycin D를 投與했을 때 肝과 血清蛋白合成이 顯著히 抑制되었다.

總輸膽管을 結紮한 휘경에서 肝은 總輸膽管 結

紮後 2日에 약 1.6倍 6日은 약 2.7倍의 肝大를 보였다.

그러나 部分膽管 結紮群에서는 肝臟의 肝大의 程度가 輕度에 不過하였다.

그리고 總輸膽管 結紮群이나 部分膽管結紮群 모두 肝組織의 總蛋白濃度는 別 變動이 없었다.

그러나 可溶性 蛋白의濃度는 6日에 意義있는 減少를 보였다.

以上의 成績으로 보아 膽汁鬱滯時 起起되는 血清 5'-NT 및 GGT의 增加는 肝細胞膜의 生化學的 變性에 依해서 細胞膜에 合存되어 있는 이들 酶素가 血中으로 多量 遊離되어 나오는에 起因한 것으로 생각되며 同시에 膽道細胞의 増殖과 이 細胞에서의 이들 酶素의 合成亢進이 더욱 韶和 血中增加를 誘導하는 것으로 생각된다.

그리고 어떤 物質이 誘導因子인지는 分明치 않으나 혹 膽汁鬱滯로 因한 膽汁酸의 增加가 이들 酶素合成을 誘導하는 것이 아닌가 생각된다.

參 考 文 獻

- Reis, J. L.: La nucleotidase et sa relation avec la desamination des nucléotides dans le cœur et dans le muscle. Bull. Soc. Chim. Biol., 16: 385, 1934.
- Wilkinson, J. H.: The principles and practice of diagnostic enzymology. 1st ed., Edward Arnold publishers, Great Britain, p. 144, 1976.
- Evans, W. H., and Gurd, J. W.: Properties of a 5'-nucleotidase purified from mouse liver plasma membranes. Biochem. J., 133: 189, 1973.
- Song, C. S., and Bodansky, O.: Subcellular localization and properties of 5'-nucleotidase in the rat liver. J. Biol. Chem., 242: 694, 1967.
- Widnell, C. C.: Cytochemical localization of 5'-nucleotidase in subcellular fractions isolated from rat liver. I. The origin of 5'-nucleotidase activity in microsomes. J. Cell. Biol., 52: 542, 1972.
- Wachstein, M., and Meisel, E.: Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH. Am. J. Clin. Pathol., 27: 13,

- 1957.
7. Essner, E., Novikoff, A.B., and Masek, B.: Adenosine triphosphatase and 5'-nucleotidase activities in the plasma membrane of liver cells as revealed by electron microscopy. *Biophys. Biochem. Cytol.*, 4 : 711, 1958.
 8. Thines-Sempoux, D., Amar-Costepec, A., Beaufay, H., and Berthet, J.: The association of cholesterol, 5'-nucleotidase and alkaline phosphodiesterase I with a distinct group of microsomal particles. *J. Cell. Biol.*, 43 : 189, 1969.
 9. Riemer, B.L., and Widnell, C.C.: The demonstration of a specific 5'-nucleotidase activity in rat tissue. *Arch. Biochem. Biophys.*, 171 : 343, 1975.
 10. Stanley, K.K., Edwards, M.R., and Luzio, J.P.: Rapid internalization of plasma membrane 5'-nucleotidase in rat spleen lymphocytes in response to rabbit anti-(rat liver-5'-nucleotidase) serum. *Biochem. Soc. Trans.*, 7 : 1023, 1979.
 11. Maito, Y., and Tsushima, K.: Cytosol 5'-nucleotidase from chicken liver purification and some properties. *Biochem. Biophys. Acta*, 438 : 159, 1976.
 12. Greger, J., and Fabianowska-Majewska, K.: A distinctive activity of 5'-nucleotidase for dTMP in rat liver mitochondria. *Enzyme*, 25 : 26, 1980.
 13. Ahmed, Z., and Reis, J.L.: The activation and inhibition of 5'-nucleotidase. *Biochem. J.*, 69 : 386, 1958.
 14. Gulland, J.M., and Jackson, E.M.: 5'-nucleotidase. *Biochem. J.*, 32 : 597, 1938.
 15. Heppel, L.A., and Hilmoe, R.J.: Purification and properties of 5'-nucleotidase. *J. Biol. Chem.*, 188 : 665, 1951.
 16. McManus, J.F.A., Lupton, C.H., Jr., and Harden, G.: Histochemical studies of 5'-nucleotidase. I. Method and specificity. *Lab. Invest.*, 1 : 480, 1952.
 17. Naidoo, D.: The activity of 5'-nucleotidase determined histochemically in the develop-
 - ing rat brain. *J. Histochem. Cytochem.*, 10 : 421, 1962.
 18. Newman, W., Feigin, I., Wolf, A., and Kabat, E.A.: Histochemical studies on tissue enzyme. *Am. J. Pathol.*, 26 : 257, 1950.
 19. Novikoff, A.B. and Essner, E.: The histochemical demonstration of a specific phosphatase (5'-nucleotidase). *Biochem. J.*, 50 : 534, 1952.
 20. Reis, J.: Über die aktivität der 5'-nukleotidase in den tierischen und messchlichen geweben. *Enzymologia*, 2 : 183, 1937.
 21. Reis, J.: Über die spezifische phosphatase der nervengewebe. *Enzymologia*, 2 : 110, 1937.
 22. Reis, J.: Über die spezifität der prostatas- und hodenphosphatase. *Enzymologia*, 5 : 251, 1938.
 23. Reis, J.L.: The specificity of phosphomonoestersases in human tissues. *Biochem. J.*, 48 : 548, 1951.
 24. Schenker, S., Balint, J., and Schiff, L.: Differential diagnosis of jaundice: report of a prospective study of 61 proved cases. *Am. J. Dig. Dis.*, 7 : 449, 1962.
 25. Belfield, A., and Goldberg, D.M.: Application of a continuous spectrophotometric assay for 5'-nucleotidase activity in normal subjects and patients with liver and bone disease. *Clin. Chem.*, 15 : 931, 1969.
 26. Hill, P.G., and Sammons, H.G.: An assessment of 5'-nucleotidase as a liver function test. *Q. J. Med.*, 36 : 457, 1967.
 27. Bergmeyer, H.U.: Methods of enzymatic analysis. 2nd english ed., New York and London, Academic press. Inc., 2 : 874, 1974.
 28. Hanes, C.S., Hird, F.J.R., and Isherwood, F.A.: Enzymatic transpeptidation involving γ -glutamyl peptides and α -aminoacyl peptide. *Biochem. J.*, 51 : 25, 1952.
 29. Goldbarg, J.A., Friedman, O.M., Pineda, E.P., Smith, E.E., Chatterji, R., Stein, E.H., and Rutenburg, A.M.: The colori-

- metric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem. Biophys., 91: 61, 1960.
30. Szczeklik, E., Orlowski, M., and Szewczuk, A.: Serum γ -glutamyl transpeptidase activity in liver disease. Gastroenterology, 41: 353, 1961.
31. Rosaki, S.B., and Rau, D.: Serum γ -glutamyl transpeptidase activity in alcoholism. Clin. Chim. Acta, 39: 41, 1972.
32. Szewczuk, A.: A soluble form of γ -glutamyl transpeptidase in human tissue. Clin. Chim. Acta, 14: 608, 1966.
33. Hurghey, R.P., and Curthoys, N.P.: Comparison of the size and physical properties of γ -glutamyl transpeptidase purified from rat kidney following solubilization with papain or with triton x-100. J. Biol. Chem., 251: 7863, 1976.
34. Horiuchi, S., Inoue, M., and Morino, Y.: γ -glutamyl transpeptidase: Sidedness of its active site on renal brush-border membrane. Eur. J. Biochem., 87: 429, 1977.
35. Orlowski, M., and Szewczuk, A.: Colorimetric determination of gamma-glutamyl transpeptidase activity in human serum and tissue with synthetic substrates. Acta Biochem. Polon., 8: 189, 1961.
36. Albert Z., Orlowski, M., and Szewczuk, A.: Histochemical demonstration of gamma-glutamyl transpeptidase. Nature, 191: 767, 1961.
37. Naftalin, L., Child, V. J., Morley, D.A., and Smith, D.A., Observations on the site of origin of serum γ -glutamyl transpeptidase activity. Clin. Chim. Acta, 26: 297, 1969.
38. Kokot, F., Kvska, J., and Grzybek, H.: Gamma-glutamyl transpeptidase(GGTP) in the urine and intestinal contents. Arch. Immunol. Ther. Exp., 13: 549, 1965.
39. Bergmeyer, H.Y.: Methods of enzymatic analysis. 2nd English ed., New York and London, Academic Press. Inc., 2: 718, 1974.
40. Song, C.S., Rubin, W., Rifkind, A.B., and Kappas, A.: Plasma membranes of the rat liver, isolation and enzymatic characterization of a fraction rich in bile canaliculi. J. Cell. Biol., 41: 124, 1969.
41. Issa, F.S., Mullock, B.M., and Hinron, R.: 5'-nucleotidase in liver plasma membrane and in the serum of normal and jaundiced rats. Biochem. Soc. Trans., 4: 55, 1976.
42. Rutenburg, A.M., Kim, H., Fischbein, J.W., Hanker, J.S., Wasserkrug, H.L., and Seligman, A.M.: Histochemical and ultrastructural demonstration of γ -glutamyl transpeptidase activity. J. Histochem. Cytochem., 17: 517, 1969.
43. Kaplan, M.M.: Alkaline phosphatase. Gastroenterology, 63: 452, 1972.
44. Wilkinson, J.H.: The principles and principles of diagnostic enzymology, led, Edward Arnold publishers, Great Britain, p. 303, 1976.
45. 鈴木宏: 肝臓 alkaline phosphatase(日文). 代謝誌, 13: 293, 1976.
46. Young, L.I.: Serum 5'-nucleotidase: characterization and valuation in disease states. Ann. N.Y. Acad. Sci., 75: 357, 1958.
47. Bardawill, C., and Chang, C.: Serum lectic dehydrogenase, leucine aminopeptidase and 5'-nucleotidase activities: observation in patients with carcinoma of the pancreas and hepatobiliary disease. Canad. Med. Ass. J., 89: 755, 1963.
48. Eshchar, J., Rudzki, C., and Zimmerman, H.J.: Serum levels of 5'-nucleotidase in disease. Am. J. Clin. Pathol., 47: 598, 1967.
49. Connell, M.D., and Dinwoodie, A.J.: Diagnostic use of serum alkaline phosphatase isoenzymes and 5'-nucleotidase. Clin. Chim. Acta, 30: 235, 1970.
50. Belfield, A.: Serum alkaline phosphatase and 5'-nucleotidase activities in patients with hepatobiliary disease. Clin. Chim. Acta, 37: 525, 1972.
51. Brocklehurst, D., Lathe, G.H., and Apar-

- icio, S. R.: Serum alkaline phosphatase, nucleotide pyrophosphatase, 5'-nucleotide and lipoprotein-x in cholestasis. *Clin. Chim. Acta*, 67: 269, 1976.
52. Ellis, G., Goldberg, D. M., Spooner, R. J., and Ward, A. M.: Serum enzyme test in disease of the liver and biliary tree. *Am. J. Clin. Path.*, 70: 248, 1978.
53. Rutenburg, A. M., Goldberg, J. A., and Pineda, E. P.: Serum γ -glutamyl transpeptidase activity in hepatobiliary pancreatic disease. *Gastroenterology*, 45: 43, 1963.
54. Gibinski, K., Szeton, R., and Maraszek, J.: Evaluation of γ -glutamyl transpeptidase (GGTP) and leucylaminopeptidase (LAP) determination in internal diseases. *Gastroenterologia Basel*, 99: 237, 1963.
55. Aronson, K. F., Hanson, A. and Nosslin, B.: The value of γ -glutamyl transpeptidase in differentiating viral hepatitis from obstructive jaundice: a statistical comparison with alkaline phosphatase. *Acta Chir. Scand.*, 130: 92, 1965.
56. Villa, L., Dioguardi, N., Agostoni, A., Ideo, G., and Stabilini, R.: Prognostic value of serum γ -glutamyl transpeptidase activity in liver disease. *Enzyme. Biol. Clin.*, 7: 109, 1966.
57. Aronsen, K. F., Nosslin, B., and Pihl, B.: The value of γ -glutamyl transpeptidase as a screen test for liver tumor. *Acta Chir. Scand.*, 136: 17, 1970.
58. Zein, A., and discombe, R.: γ -glutamyl transpeptidase as a diagnostic aid. *Lancet*, II: 748, 1970.
59. Lum, G., and Gambino, S. R.: Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity as an indicator of disease of liver, pancreas, or bone. *Clin. Chim.*, 18: 358, 1972.
60. Whitfield, J. B., Pounder, R. E., Neale, G., and Moss, D. W.: Serum γ -glutamyl transpeptidase activity in liver disease. *Gut*, 13: 702, 1972.
61. Reghetti, A. B. B., and Kaplan, M. M.: Disparate responses of serum and hepatic alkaline phosphatase and 5'-nucleotidase to bile duct obstruction in the rat. *Gastroenterology*, 62: 1034, 1972.
62. Kryszewski, A. J., Neale, G., Whilfield, J. B., and Moss, D. W.: Enzyme change in experimental biliary obstruction. *Clin. Chim. Acta*, 47: 175, 1973.
63. Holdsworth, G., and Coleman, R.: Enzyme profiles in mammalian bile. *Biochim. Biophys. Acta*, 389: 47, 1975.
64. Evans, W. H., Kremmer, T., and Culvenor, J. G.: Role of membranes in bile formation; comparison of the composition of bile and live bile canalicular plasma membrane subfraction. *Biochem. J.*, 154: 589, 1976.
65. Mullock, B. M., Issa, F. S., and Hinton, R. H.: Bile 5'-nucleotidase in the serum of jaundiced rats. *Clin. Chim. Acta*, 79: 129, 1977.
66. Voyvoda, O. S., Coleman, R., and Holdsworth, G.: Effects of different bile salt upon the composition and morphology of liver plasma membrane preparation. *Biochim. Biophys. Acta*, 465: 68, 1977.
67. Posen, S.: Alkaline phosphatase. *Ann. Intern. Med.*, 67: 183, 1967.
68. Kaplan, M. M., and Righetti, A.: Induction of rat liver alkaline phosphatase, the mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction. *J. Clin. Inves.*, 49: 508, 1970..
69. Linds, S.: A comparison between the patterns(GOT, GPT, LDH) in serum and tissue extraction in cardiac and hepatic disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 10: 303, 1958.
70. Takada, Y., Ichihara, A., Tanioka, H., and Inove, H., The biochemistry of animal cells, the effect of corticosteroids on leakage of enzyme from dispersed rat liver cells. *J. Biol. Chem.*, 239: 3590, 1964.
71. 曹準承, 李斗龍: 總輸膽管 結紮至 因社肝 및 血清中의 乳酸脫水素酵素의 變動. 廣大論文集, 28: 341, 1979.

72. Evans, G.W., Myron, D.R., and Wiederanders, R.E.: Effect of protein synthesis inhibitors on plasma ceruloplasmin in the rat. *Am. J. Physiol.*, 216 : 340, 1959.
73. Righetti, A., and Kaplan, M.M.: Effects of actinomycin D on the liver alkaline phosphatase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 136 : 391, 1971.
74. 박준석, 장익규 : 총수답관을 결찰한 흰쥐의 릴청 ceruloplasmin에對한 actinomycin D의 효과. *한국생화학회지*, 12(2) : 103, 1979.
75. Morton, R.K.: The purification of alkaline phosphatase of animal tissue. *Biochem. J.*, 57 : 595, 1954.
76. Campbell, D.M.: Determination of 5'-nucleotidase in blood serum. *Biochem. J.*, 82 : 34, 1962.
77. Orlowski, M., and Meister, A.: γ -glutamyl β -nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of L and D- γ -glutamyl transpeptidase activities. *Biochem. Biophys. Acta*, 73 : 679, 1963.
78. Bessey, O.A., Lowry, O.H., and Brock, M.J.: A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.*, 164 : 321, 1964.
79. Karmen, A., Wroblewski, F., and La Due, J.S.: Transaminase activity in human blood. *J. Clin. Invest.*, 34 : 126, 1955.
80. Karmen, A.: A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxaloacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, 34 : 131, 1955.
81. Babson, A.L., and Phillips, G.E.: A rapid colorimetric assay for serum lactic dehydrogenase. *Clin. Chim. Acta*, 12 : 210, 1965.
82. Wroblewski, F., and LaDue, J.S.: Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 90 : 210, 1955.
83. Malloy, H.T., and Evelyn, K.A.: The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J. Biol. Chem.*, 119 : 481, 1937.
84. Colowick, S.P., and Kaplan, N.O.: Methods for isolation and degradation of labeled protein, in: *Method in enzymology*. Academic Press Inc., New York, Vol.4, p. 708, 1957.
85. Kingsley, G.R.: Procedure for serum protein determination, in: *Standard method of clinical chemistry*. Academic press Inc., New York, Vol.7, p. 199, 1972.
86. Geigy, J.R.: *Documenta geigy scientific table*. 6th ed. Basile, Switzerland, 1962.
87. Schiff, L.: *Diseases of the liver*. 2th, J.B. Lippincott company, philadelphia, Montreal, pp. 197—200, 1967.
88. Shielock, S. *Diseases of the liver and biliary system*. 5th, Blackwell scientific publications, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, pp. 234—299, 1975.
89. Wilkinson, J.H.: *The principles and practice of diagnostic enzymology*, led, Edward Arnold publishers, Great Britain, p. 303, 1976.
90. 박준석 : 총수답관을 결찰한 흰쥐의 릴청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 Actinomycin D의 영향. *경북의대잡지*, 21(2) : 126, 1980.
91. 金鴻雄, 柳藥烈 : 흰쥐에 있어서 膽汁鬱帶時 肝의 Alkaline phosphatase와 蛋白合成能의 變動에 關하여. *慶北醫大雜誌*, 15(2) : 147, 1974.
92. Ginsberg, A.L.: Very high levels of SGOT and LDH in patients with extrahepatic biliary tract obstruction. *Dig. Dis.*, 15 : 803, 1970.
93. Moritz, M., and Snodgrass, P.J.: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology*, 62 : 93, 1972.
94. Yeung, C.Y.: Serum 5'-nucleotidase in neonatal hepatitis and biliary atresia preliminary observation. *Pediatrics*, 50 : 812, 1972.
95. Hobbs, J.R., Campbell, D.M., and Schener, P.J.: The clinical value of serum 5'-nucleotidase assay. In wicland, O., ed.: *Proceedings of the sixth international congresses of clinical chemistry*, Vol.2,

- Basel, New York: Karger, p. 106, 1966.
96. Emanuelli, G., Satta, G., and Perpignano, G.: Lysosomal damage and its possible relationship with mitochondrial lesion in rat kidney under obstructive jaundice. *Clin. Chim. Acta*, 25 : 167, 1969.
97. Inoue, M., Hayashida, S., Hosomi, F., Horiochi, S., and Morino, Y.: The molecular forms of γ -glutamyl transferase in bile and serum of icteric rats. *Biochem. Biophys. Acta*, 615 : 70, 1980.
98. Fujioka, M., Koga, M., and Lieberman, I.: Metabolism of ribonucleic acid after partial hepatectomy. 1. Bile duct obstruction and regeneration of the liver. *Proc. Soc. Exp. Bile. Med.*, 106 : 809, 1961.
99. Gustavsson, A., Samsioe, G., Schersten, T., and Stakeberg, H.: Progress in liver disease, Vol. 4. Propper, H., and Schiffner, F. Ed., Grune and Stratton. p. 143, 1972.
100. 박연복, 유효열: 환경에 있어서 담즙물체시 α -aminoisobutyric acid- ^{14}C 의 간세포내 이행에 관하여. 경북의 대장지, 16(1) : 269, 1975.