

흰쥐 재생간의 Glutathione S-Transferase 및 Glutathione Reductase의 활성치*

계명대학교 의과대학 생화학교실

곽춘식 · 김여희 · 문교철 · 이숙형

= Abstract =

Glutathione S-Transferase and Glutathione Reductase Activities in Regenerating Rat Liver

Chun Sik Kwak, PhD; You Hee Kim, MD; Kyo Cheol Mun, MD;
Sook Hyung Lee, MD

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

Changes in the activities of the following enzymes have been studied over a period of ten days after 70% (median and left lateral lobes) partial hepatectomy in rats: cytosolic, mitochondrial and microsomal glutathione S-transferase, cytosolic glutathione reductase and cytosolic glutathione peroxidase of regenerating liver.

The activity of cytosolic glutathione S-transferase in the regenerating rat liver significantly diminished between the second and sixth days after the partial hepatectomy and that of mitochondrial glutathione S-transferase slightly decreased between the second and the third days after operation. However, the microsomal glutathione S-transferase activity in the regenerating rat liver showed a slight increase between the third and sixth days after operation.

The cytosolic glutathione reductase activity in the regenerating rat liver slightly decreased between the first and third days after operation and the cytosolic glutathione peroxidase activity in the regenerating rat liver had a significant diminution between the second and the tenth days after the partial hepatectomy.

서 론

Glutathione S-transferase (RX: glutathione R-transferase, EC 2. 5. 1. 18, GST) 는 생체내에서 주로 친지질성 및 친전자성물질에 환원형 glutathione (GSH)를 포함시켜 glutathione의 thioether (R-S-G)를 형성하는 반응을 촉매하는 효소 (Jakoby, 1978; Kim, 1979b)로서 동물의 간, 신, 폐, 심, 비, 소장, 뇌, 적혈구, 백혈구등 동물의 여러 조직과 혈액중에 분포

(Trip등, 1974; Clifton 과 Kaplowitz, 1977; Fleischer 등, 1977; Grahnen과 Sjöholm, 1977; Hayes와 Mantle, 1986b; Kaplowitz 등, 1978; Marcus등, 1978; Mukhtar 등, 1978a; Mukhtar 등; 1978b; Asaoka와 Takhashi, 1983; Royer와 Kenney 1985; Theodore등, 1985; Ishikawa 등, 1986; Kodate 등, 1986)되어 있으며 세포 내에서는 세포질, 세포핵, mitochondria 및 microsome분획중에 존재 (Friedberg 등, 1968; Bannikov와 Tchipyseva, 1978; Wahlländer 등, 1979; Lee와 McKinney, 1982; Ryle와 Mantle, 1984) 하는 것으로알려

* 이 논문은 1988년도 계명대학교 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어졌음.

저있다. 이러한 동물의 GST는 많은 종류의 isozyme이 있다고 하며 쥐에서는 14종(Hayes, 1986; Hayes와 Mantle, 1986a), 사람에서는 13종(Vander Jagt 등, 1985)이 발견된 것으로 보고 되어있다. 그리고 GST는 외인성 및 내인성 독소들중 친지성질 및 친전자성질을 가진 물질들의 해독과 prostaglandin과 leukotriene의 생합성에도 필요한것(Litwack 등, 1971; Kamisaka 등, 1975; Jakoby, 1978; Wolkoff 등, 1979a; Wolkoff 등, 1979b; Vessey와 Zakim, 1981; Hayes와 Chalmers, 1983; Hayes와 Mantle 1986a; Pemble 등, 1986; Takawa 등, 1986)으로 알려져 있다.

이 효소는 급성 및 전격성간염(Tsuru 등, 1978), 간경변증(Tsuru 등, 1978), 간암(Ohmi와 Arias, 1981) 등 간질환에서 혈중에 그 활성이 증가되며 간암조직(Sherman, 1983), 사염화탄소 중독간(Adachi 등, 1981; Harisch와 Meyer, 1985)에서 그 활성이 저하되어 있다고 한다.

Glutathione reductase (NAD(P)H: oxidized-glutathione oxidoreductase, EC 1.6.4.2, GR)는 생체내에서 가역적으로 환원형 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)와 산화형 glutathione(GSSG)으로 부터 산화형 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺)와 GSH를 생성하는 효소(Kim, 1979a)이며 동물의 간, 신, 췌, 심, 갑상선, 적혈구, 폐등에서 많이 합성분포(Manso와 Wroblewsky, 1958; Carlberg와 Mannervik, 1975; Ray와 Prescotti 1975; Moron 등, 1979)되며 세포내에서는 세포질에 분포되어 있다(Goldberg와 Spooner, 1983)고 한다.

이 효소는 담석증(Kerppola 등, 1959; Wakui 등, 1976), 급만성 담낭염(Kerppola 등, 1959), 간암(Taniguchi 등, 1974; Wakui 등, 1976), 급만성 간염(Wakui 등, 1976), 폐쇄성황달(Kerppola 등, 1959; West 등, 1961; Wakui 등, 1976) 및 담즙울체시(Tor 등, 1981)에 혈중에 그 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다.

흰쥐의 간을 부분절제하면 잔류된 간엽은 급격히 재생되어 비대해지며 이때 물질대사는 심한 변동을 받음과 동시에 물질대사에 관여하는 효소들의 활성도도 변동을 나타낸다(Becker, 1963; Ksukada 및 Lieberman, 1964; Fausto 및 Van Lanker, 1965; Lieberman 및 Kane, 1965; Bucher, 1967; 김, 1968a; 김, 1968; 곽 등, 1968; 권, 1969; Okubo 및 Chandler, 1974; Nagatsu 등, 1976; 곽 및 조, 1978; Clement, 1979; Sakas 와 Cook, 1979; 곽, 1980; Sheid, 1985; 문 등, 1988a, 문 등, 1988b)고 한다. GST와 GR도 간에서

그 합성이 왕성함으로 (Manso와 Wroblewsky, 1958; Trip 등, 1974; Carlberg와 Mannervik, 1975; Grahnen과 Sjöholm, 1977; Moron 등, 1979; Hayes와 Mantle, 1986b) 재생간에서 그 활성의 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 보고는 찾아 볼 수 없었다.

이 연구는 재생간에서 GST 및 GR활성의 변동을 알아보기 위하여 시행한 것으로서 흰쥐를 사용하여 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 10일동안 경시적으로 재생간의 세포질에서 GST와 GR의 활성을 그리고 mitochondria와 microsome분획에서 GST 활성을 측정하는 한편 glutathione 연관 효소로서 조직의 산화적 손상을 방지하는 효소(Chow와 Tappel, 1972; Chow와 Tappel, 1973; Player 등, 1977; Chance 등, 1979; Wendel, 1980)의 하나로 알려져 있는 glutathione peroxidase (glutathione: hydrogen-peroxide oxidoreductase, EC 1. 11. 1. 9, GSH-Px)의 활성도도 세포질에서 함께 측정하여 그 성적을 보고코자 한다.

재료 및 방법

동물 및 처지 : 동물은 4주이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~360gm이 되는 Sprague-Dawley종 숫흰쥐 25마리를 사용하였으며 간엽절제수술 후 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 쥐를 각각 5마리씩 죽여 실험에 사용하였다.

각 실험군들은 개별분리 수용하였으며 실험전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 제일 사료주식회사의 제품을 사용하였으며 물과 함께 자유로이 먹도록 하였다.

간엽절제 수술은 효소활성의 일중변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 가능한 한 무균상태를 유지하면서 ether마취하에서 실시 하였다. 흰쥐의 간엽절제수술은 복부정중선을 따라 상복부를 약 2cm 절개하여 간의 중엽과 좌측외엽을 복강밖으로 압출하고 인접조직간의 인대를 절단한 후 간엽의 거저부위를 결찰한 뒤 간엽을 절제 하였다. 절제한 간엽은 전체간의 약 70%가 되며 이것을 원래간(original liver)이라 부르기로 하였다.

시 약 : Reduced glutathione, oxidized glutathione, 2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB), ethylene diamine tetraacetic acid disodium salt dihydrate (EDTA), reduced β -nicotinamide adenine dinucle-

tid phosphate tetrasodium salt type I (NADPH), glutathione reductase type III (from bakers yeast), glutathione peroxidase (from bovine erythrocytes), glutathione S-transferase (from rat liver), 단백질분해액(10g/100ml, bovine albumin)은 Sigma사의 제품을 사용하였으며 그의 일반시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간적출 및 세포분획 : 모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 절식시킨 후 약한 ether마취하에서 시행하였으며 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시키고 간을 적출하였다. 적출한 간은 2~4°C의 0.25M sucrose 액으로 잘 씻고 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있는 sucrose 액을 가능한 한 모두 제거하였다. 간엽질제시 절제한 원래간도 같은 방법으로 씻은 후 세포분획에 제공하였다.

적출한 간은 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그중 3g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon gloss homogenizer (Thomas사 제품, chamber clearance 0,005-0,007inch)로 2~4°C를 유지하면서 400rpm의 속도로 마쇄하여 10w/v%의 간균질액을 만들었다. 그리고는 이 간균질액을 취하여 sucrose linear density gradient 초원심분리법 (곽 과 곽, 1986)으로 cytosol, microsome 및 mitochondria 분획을 분리하였다.

위의 세포분획법에서 모든조작은 2~4°C에서 시행하였으며 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge 였다. 그리고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하였다.

효소액의 조제 : 분리한 microsome과 mitochondria는 단백질량으로 3mg/ml가 되도록 0.25M sucrose 액으로 현탁시켰으며 이 현탁액을 ultrasonic dismembrator (Fisher model 300)로 20±0.4 K cycles/sec의 조건으로 2분씩 5회 10분간 초음파 마쇄를 하여 이액을 GST 효소액으로 사용하였으며 cytosol분획은 아무처치를 하지 않은 상태로 GST, GR 및 GSH-Px의 효소액으로 사용하였다.

효소 활성도 측정 : Cytosol, microsome 및 mitochondria의 GST 활성도 측정은 DNCB와 GSH를 기질로 하여 25°C에서 2분간 반응시키는 동안에 생성된 GSH-DNCB conjugate의 분자흡광계수 ($E_{340nm}^{1\%1cm}$ 9,6 $mM^{-1} cm^{-1}$)를 이용하여 효소활성을 산출하는 방법

인 Habig 등(1974)의 법에 의하였다. 이 효소 활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 conjugated DNCB를 n mole로 나타내었다.

세포질 GR의 활성도 측정은 GSSG와 NADPH를 기질로 하여 37°C에서 2분간 반응시키는 동안에 NADPH가 NADP⁺로 산화되는 정도를 340nm에서 흡광도를 측정하여 효소 활성도를 산출하는 Goldberg와 Spooner(1983) 방법에 의하였다. 이 효소활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 산화된 NADPH를 p mole로 나타내었다.

세포질 GSH-Px의 활성도 측정은 GSH, H₂O₂ 및 NADPH를 기질로 사용하고 GR를 촉매로 하여 GSH-Px 효소시료와 함께 25°C에서 5분간 반응시키는 동안에 GSH가 H₂O₂에 의해 GSSG로 산화되고 이것이 GR과 NADPH에 의해 GSH로 환원될 때 NADPH는 산화되며 이 NADPH가 NADP⁺로 산화되는 정도를 340nm파장에서 time scan을 하여 NADPH의 분자흡광계수 ($E_{340nm}^{1\%1cm}$ 6,22 $mM^{-1} cm^{-1}$)를 이용하여 효소의 활성을 산출하는 방법인 Paglia와 Valentine(1967)의 법에 의하였다. 이 효소 활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 산화된 NADPH를 n mole로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제효소들을 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 그리고 이 실험에서 각 효소 활성도 측정에 사용한 분광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varin Cary 210) 였다.

단백질량 : 효소액중의 단백질량은 0.5N perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3 : 1)으로 단백을 정제하는 Greenberg와 Rothstein(1957)법으로 효소액중의 단백을 정제한 다음 biuret법(Gornall 등, 1949)으로 정량하였다.

언어진 각종 성적들의 평균치중 상호 비교가 필요한 경우는 Student의 t-검정법(Scheffler, 1980)에 의하여 검정하였다.

성 적

재생간의 GST 활성도의 변동 : 흰쥐재생간의 cytosol, mitochondria 및 microsome분획의 GST활성도의 변동은 각각 표1, 2 및 3과 같다. 흰쥐의 간엽을 절제한 후 재생간의 cytosol과 mitochondria분획의 GST활성

Table 1. Activities of cytosolic glutathione S-transferase (GST) in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy day(s)	GST activities (n moles conjugated dinitrochlorobenzene/mg protein/min)			
	Orginal liver	(%)	Regenerating liver	(%)
1	148.2±21.4	(100)	139.8±20.3	(94)
2	147.7±19.8	(100)	111.8±16.2*	(76)
3	150.3±20.6	(100)	103.7±14.1**	(69)
6	151.2±22.3	(100)	109.2±15.3*	(72)
10	149.8±21.8	(100)	146.3±19.8	(98)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Significant difference from original livers (*;p 0.05, **;p 0.01).

Table 2. Activities of mitochondrial glutathione S-transferase (GST) in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy day(s)	GST activities (n moles conjugated dinitrochlorobenzene/mg protein/min)			
	Orginal liver	(%)	Regenerating liver	(%)
1	13.8±4.8	(100)	13.9±5.1	(101)
2	13.9±4.1	(100)	10.7±5.6	(77)
3	14.1±3.7	(100)	11.5±3.6	(82)
6	13.5±4.3	(100)	14.2±6.2	(105)
10	13.2±3.8	(100)	14.0±5.1	(106)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Table 3. Activities of microsomal glutathione S-transferase (GST) in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy day(s)	GST activity (n moles conjugated dinitrochlorobenzene/mg protein/min)			
	Orginal liver	(%)	Regenerating liver	(%)
1	20.2±4.6	(100)	19.6±5.2	(97)
2	21.3±3.9	(100)	22.1±4.2	(104)
3	19.4±3.1	(100)	27.3±4.8*	(141)
6	18.9±4.2	(100)	23.8±3.9	(126)
10	18.2±4.7	(100)	19.5±5.1	(107)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Significant difference from original livers (*;p 0.05).

도는 간재생이 활발한 시기에 약간 감소되었다. 그러나 microsomal분획은 이시기에 약간 증가되었다. 즉 재생간의 cytosol 분획의 GST활성도는 간엽절제 후 2일에 원래간에 비하여 약 24%(P<0.05)의 감소를 보였으며, 3일에는 약 31%(P<0.01), 6일에는 약 28%(P<0.05)의 감소를 보였다. 그리고 mitochondria 분

획의 GST활성도는 간엽절제 후 2일에 원래간에 비해 약 23%, 3일에는 약 18%의 감소를 나타내었으나 통계학적 의미는 없었다. 그러나 microsomal분획의 GST활성도는 간엽절제 후 3일에 원래간에 비해 약 41%(P<0.05), 6일에는 약 26%의 증가를 보였다.

Table 4. Activities of glutathion reductase (GR) in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy day(s)	GR activities (p moles NADPH oxidized/mg protein/min)			
	Orginal liver	(%)	Regenerating liver	(%)
1	948±148	(100)	805±149	(85)
2	932±156	(100)	752±161	(81)
3	929±179	(100)	716±152	(77)
6	908±143	(100)	951±132	(105)
10	896±138	(100)	920±146	(103)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Table 5. Activities of cytosolic glutathione peroxidase (GSH-Px) in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy day(s)	GSH-Px activities (n moles NADPH oxidized/mg protein/min)			
	Orginal liver	(%)	Regenerating liver	(%)
1	14.0±2.2	(100)	14.1±2.3	(101)
2	16.1±2.0	(100)	10.2±2.1**	(63)
3	15.8±2.7	(100)	8.4±1.9*	(53)
6	14.9±2.6	(100)	5.3±1.3***	(38)
10	17.2±3.1	(100)	6.8±1.6***	(40)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Significant difference from original livers (*;p 0.05, **;p 0.01, ***;p 0.001).

재생간의 GR 및 GSH-Px의 활성도 변동 : 흰쥐 재생간의 cytosol 분획의 GR 및 GSH-Px의 활성도 변동은 각각 표 4 및 5와 같다. 흰쥐간엽을 절제한 후 재생간의 GR활성도는 간재생이 활발한 시기에는 약간 감소하는 경향을 나타내었으며 재생간의 cytosol 분획의 GSH-Px활성도도 간엽절제 후 시간이 경과 하면 감소하는 경향을 나타내었다. 즉 재생간의 GR 활성도는 간엽절제 후 1일에는 원래간에 비하여 15% 감소를 보였으며, 2일에는 19%, 3일에는 23%의 감소를 보였으나 통계학적 의의는 없었다. 그리고 cytosol 분획의 GSH-Px의 활성도는 간엽절제 후 2일에 원래간에 비해 약 37%(P<0,01), 3일 후에는 약 47%(P<0,05), 6일 후에는 약 62%(P<0,001), 10일 후에는 약 60%(P<0,001)의 현저한 감소를 보였다.

고 찰

흰쥐간의 약 70%가 되는 간의 중엽과 좌측외엽을 절제하면 잔류된 간엽은 왕성한 재생력을 나타내기

때문에 (Becker 1963; Ksukada 및 Lieberman, 1964; Lieberman과 Kane, 1965)흰쥐의 간엽절제술은 조직 재생과 재생간의 물질대사를 연구 할 수 있는 실험 model로 널리 이용되고 있다(Ksukada 및 Lieberman, 1964; Fansto와 Van Lancker, 1965; Lieberman 및 Kane, 1965; Bucher, 1967; Fritzsom, 1967; 김, 1968a; 김, 1968b; 광동, 1968; 권, 1969; Lamy 등, 1973; Okubo와 Chandler, 1974; 광 및 조, 1978; Clement, 1979; Sekas와 Cook,1979; 광, 1980; Sheid, 1985).

흰쥐에서 간재생이 활발한 시기는 간엽절제 후 1 일에서 3일 사이라고 하며 (김, 1968a; 김, 1968b)이 시기에는 물질대사에 관여하여 여러 효소들의 활성이 변동되며, 간재생이 활발한 시기에 활성이 증가되는 효소를 보면 5-nucleotidase (안 과 광, 1987), γ-glutamly transpeptidase (안 과 광, 1987), malate dehydrogenase (김 등, 1986), adenosine aminohydrolase (Sheid, 1985), leucine aminopeptidase(광, 1980) sialyltransferase (Clement, 1979), alkaline phosphatase (광 및 조, 1978), UDP-N-acetylglucosamine 2-epime-

rase (Okubo 등, 1977), thymidine kinase (Nawata와 Kamiya, 1975), glucosamine synthetase (Okubo와 Chandler, 1974) 및 acid phosphatase (Lamy 등, 1973) 등 이고 간재생이 활발한 시기에 그 활성이 감소하는 효소는 aspartate aminotransferase (문 등, 1988b), xanthine oxidase (김 등, 1987), superoxide dismutase (김 등, 1987), catalase (Lamy 등, 1973), urate oxidase (Lamy 등, 1973), D-amino acid oxidase (Lamy 등, 1973), L- α -hydroxy acid oxidase (Lamy 등, 1973), β -glucuronidase (Paris, 1972), N-acetyl sulfatase (Paris, 1972), C β A reductase (Fritzson, 1967) 및 uracil reductase (Fritzson, 1967) 등 이다.

이 연구는 흰쥐의 간염을 절제한 후 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일의 재생간에서 cytosol, mitochondria 및 microsome분획중의 GST와 cytosol 분획중의 GR과 GSH-Px의 활성을 측정하여 재생간에서 이들 효소의 활성이 어떻게 변동되는지를 알아본 것이다.

이 실험에서 흰쥐의 간염을 절제한 후 재생간에서 cytosol 분획의 GST활성도는 간염절제 후 2일, 3일 및 6일에 약간 감소 되었으며 mitochondria분획에서도 이의 활성도는 2일 및 3일에 약간 감소 되었다. 그러나 재생간의 microsome분획에서의 GST활성도는 간염절제 후 3일 및 6일에 약간 증가 되었다. 이 실험에서 재생간의 microsome분획의 양은 cytosol 분획의 양에 비해 훨씬 적은 양이기 때문에 이 실험 성적에서 microsome분획의 GST활성이 증가되었지만 재생간의 총GST활성도를 계산해보면 원래간의 총GST활성도 보다는 감소되어 있었다. 그리고 이 실험에서 재생간의 cytosol 분획의 GR활성도는 간염절제 후 1일 부터 3일까지 약간 감소 되었으며 cytosol 분획의 GSH-Px의 활성도도 간염절제 후 2일부터 10일까지 현저히 감소되어 있었다. 이 성적은 재생기의 간조직에서는 cytosol과 mitochondria분획의 GST는 활성이 감소되고 microsome분획의 GST는 활성이 증가되며 재생간의 총GST는 그활성이 감소된다는 것을 보여준 것이며 또한 cytosol의 GR활성도와 GSH-Px활성도도 간재생이 왕성한 시기에 감소한다는 것을 보여준 것이다.

재생기의 간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백질합성이 증가 (Kuskada와 Lieberman, 1964; Fausto와 Van Lancker, 1965; Lieberman과 Kane, 1965; 김, 1968a; 김, 1968b)되며 반면에 일부 해독기능과 배설기능 이 저하(정 과 유, 1969; 정 등, 1986)되어 있어 재생간은 독성물질에 대한

간상해의 위험에 노출되어 있다(정등 1986). 정등 (1986)에 의하면 재생기의 간조직은 방어기전의 확보보다는 간재생을 위해 더 유리한쪽으로 먼저 대사가 진행되는 것이 타당하다고 했으며 문등(1988a)도 재생간에서의 물질대사는 간재생에 주력하여 대사가 진행된다고 하였다.

이상 문헌상의 지견과 이 실험성적으로 볼때 GST와 GSH-Px도 해독에 관여하는 효소인 만큼 이들 효소는 간재생이 활발한 시기에는 그활성이 감소될 것이다. 그리고 재생간의 cytosol 분획에서의 GSH-Px의 활성감소는 정등(1986)이 흰쥐 재생간에서 관찰한 성적과 일치되며 이로부터 재생간에서 해독기능의 저하는 더욱 분명해진다. 그러나 간염절제 후 1일, 2일 및 3일째 재생간에서의 GR활성도 감소는 이 실험 결과만으로는 무엇이라 설명하기 어렵다. 그리고 이 실험만으로는 재생간에서 이들 효소의 활성증가의 원인이 무엇인지는 밝힐 수 가 없으며 또한 이들 효소의 활성증가가 촉매효율의 증감인지, 효소합성의 증감인지도 분명치 않다. 따라서 재생간에서의 이들 효소의 활성 변동의 원인과 기전은 앞으로 계속 추구해 보아야 하겠다.

요 약

재생간에서 GST, GR 및 GSH-Px의 활성변동을 알아보기 위하여 흰쥐간을 부분절제하고 1일 부터 10일까지의 재생간에서 세포질 GST, GR 및 GSH-Px의 활성과 mitochondria 와 microsome 분획에서 GST활성을 각각 측정하였다.

흰쥐재생간의 GST활성도는 cytosol 분획에서는 간염절제 후 2일 부터 6일까지, mitochondria분획에서는 2일 및 3일에 약간 감소되었다. 그러나 microsome분획은 간염절제 후 3일 및 6일에 약간 증가 되었다.

재생간의 GR활성도는 간염절제 후 1일, 2일 및 3일에 약간 감소되었으며 재생간세포질의 GSH-Px활성도도 간염절제 후 2일 부터 10일까지 현저한 감소를 나타내었다.

참 고 문 헌

Adachi Y, Horii K, Suwa M, Tanihata M, Ohba Y, Yamamoto T: Serum glutathione S-transferase in experimental liver damage in rats. *Gastroenterologia*

(Jpn) 1981; 16: 129.

안광옥, 광춘식: 흰쥐 재생간의 5-Nucleotidase 및 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의 대논문집 1987; 6: 241.

Asaoka K, Takahashi K: Purification and properties of porcine brain glutathione S-transferase. *J Biochem (Jpn)* 1983; 94: 1191.

Bannikov GA, Tchipyseva TA: Ligandin in steroidogenically active cells of rat gonads. *Br J Cancer* 1978; 38: 350.

Becker FF: Restoration of liver mass following partial hepatectomy. *Am J Pathol* 1963; 43: 497.

Bucher NLR: Experimental aspects of hepatic regeneration. *N Engl J Med* 1967; 277: 738.

Carlberg I, Mannervik B: Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *J Biol Chem* 1975; 250: 5475.

Chance B, Sies H, Boveris A: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59: 527.

Chow CK, Tappel AL: An enzymatic protective mechanism against lipid peroxidation damage to lungs of ozone-exposed rats. *Lipids* 1972; 7: 518.

Chow CK, Tappel AL: Activities of pentose shunt and glycolytic enzymes in lungs of ozone exposed rats. *Arch Environ Health* 1973; 26: 205.

정기용, 김인산, 손건영, 조준승: 흰쥐의 간엽부분 절제 후 재생간에서의 산화적손상에 대한 방어기전. 경북의대잡지 1986; 27: 263.

정상호, 광춘식: 흰쥐 담즙울체 간의 Leucine Amino-peptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 210.

정우, 유호열: 백서에 있어서 간엽절제후 재생간의 Hippuric acid합성 및 Sulfobromophthalein의 담관 배설에 관한 연구. 경북의대잡지 1969; 10: 171.

Clement P: Effect of Partial hepatectomy and hydrocortisone administration on liver and serum sialyltransferase activities. *Biochim Biophys Acta* 1979; 583: 14.

Clifton G, Kaplowitz N: The glutathione S-transferase of the small intestine in the rat. *Cancer Res* 1977; 37: 788.

Fausto N, Van Lancker JL: Molecular mechanisms of liver regeneration. IV. Thymidylc kinase and deoxyribonucleic acid polymerase activities in normal and regenerating liver. *J Biol Chem* 1965; 240: 1247.

Friedberg T, Benthley P, Stasiecki P, Glatt HR, Raphael D, Oesch F: The identification, solubilization and characterization of microsome-associated glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 1968; 254: 12028.

Fritzson P: Dephosphorylation of pyrimidine nucleotides in the soluble fraction of homogenates from normal and regenerating rat liver. *Eur J Biochem* 1967; 1: 12.

Goldberg DM, Spooner RJ: Glutathione reductase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M (eds): *Methods of Enzymatic Analysis*, ed 3. Weinheim, Verlag Chemie GmbH 1983, vol III, p 258.

Gornall AG, Bardawil CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751.

Grahn A, Sjöholm I: The preparation of ligandin with glutathione S-transferase activity from porcine liver cytosol by affinity chromatography on bromosulphophthalein sepharose. *Eur J Biochem* 1977; 80: 573.

Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan ND (eds), *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1957 vol 4, p 708.

Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB: Glutathione S-transferase; the first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130.

Harisch G, Meyer W: Studies on tissue distribution of glutathione and on activities of glutathione related enzymes after carbon tetrachloride induced liver injury. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1985; 47: 399.

Hayes JD: Purification and physical characterization of glutathione S-transferase K: Differential use of S-hexyl glutathione affinity matrices to isolate a novel glutathione S-transferase from rat liver. *Biochem J* 1986; 233: 789.

Hayes JD, Chalmers J: Bile acid inhibition of basic and neutral glutathione S-transferase in rat liver. *Biochem J* 1983; 215: 581.

Hayes JD, Mantle TJ: Inhibition of hepatic and extrahepatic glutathione S-transferases by primary and secondary bile acids. *Biochem J* 1986a; 233: 407.

Jakoby WB: The glutathione S-transferase: A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol* 1978; 46: 383.

Kamisaka K, Habig WH, Ketley JM, Arias IM, Jakoby WB: Multiple forms of human glutathione S-transferase and their affinity for bilirubin. *Eur J Biochem* 1975; 60: 153.

Kaplowitz N, Spina C, Graham M, Kuhlenkann J:

- Glutathione S-transferase in human lymphoid cell lines and fractionated peripheral leukocytes. *Biochem J* 1978; 169: 465.
- Kerppola W, Nikkila EA, Pitlanen E: Serum TPN-linked enzymes glucose-6-phosphate dehydrogenase, isocitric dehydrogenase, and glutathione reductase activities in health and in various disease states. *Acta Med Scand* 1959; 164: 357.
- Kim BK: *Enzyme nomenclature*, IUB New York, Academic Press, 1979a, p 92.
- Kim BK: *Enzyme nomenclature*, IUB New York, Academic Press, 1979b, p 186.
- 김동성: 백서에 있어서 간엽절제후 재생시기의 간단백 및 혈장단백의 합성속도에 관하여. *현대의학* 1968a; 8: 192.
- 김종태: 재생간의 in vitro에 있어서의 단백질합성과 humoral factor. *경북의대잡지* 1968b; 9: 39.
- 김여희, 문교철, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. *계명의대논문집* 1986; 5: 124.
- 김여희, 문교철, 곽춘식, 이상일: 흰쥐 재생간의 Xanthine Oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1987; 6: 95.
- Kodate C, Fukushi A, Narita T, Kudo H, Soma Y, Sato K: Human placental form of glutathione S-transferase (GST- π) as a new immunohistochemical marker for human colonic carcinoma. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 1986; 77: 226.
- Kskuada K, Lieberman I: Metabolism of nucleolar ribonucleic acid after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1964; 239: 1564.
- 곽춘식: 간엽 부분절제한 흰쥐 혈청 및 재생간장의 Leucine Aminopeptidase의 활성도. *경북의대잡지* 1970; 21: 500.
- 곽춘식, 조준승: 흰쥐 재생간의 Alkaline phosphatase의 활성치. *한국생화학회지* 1978; 11: 151.
- 곽연식, 김종태, 정태호: 간엽부분 절제한 흰쥐간장 및 혈청의 Cholesterol함량 변동에 관하여. *현대의학* 1968; 8: 517.
- 곽춘식, 곽정식: 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. *계명의대논문집* 1986; 5: 45.
- 권기징, 유효열: Ethionine이 백서재생간의 단백질합성에 미치는 영향. *경북의대잡지* 1969; 10: 183.
- Lamy J, Lamy JN, Schmitt M, Weill J: Effect d'une hepatectomie minimale sur l'activite de la catalase et des oxydases peroxysomales du foie du rat. *Biochimie* 1973; 55: 1491.
- Lee CYG, Mckinney JD: Identity of microsomal glutathione S-transferases. *Mole Cell Biochem* 1982; 48: 91.
- Lieberman I, Kane P: Synthesis of ribosomes in the liver after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1965; 240: 1737.
- Litwack G, Ketterer B, Arias IM: Ligandin: A hepatic protein which binds steroids and bilirubin, carcinogens and a number of exogenous organic anions. *Nature* 1971; 234: 466.
- Marcus CJ, Habig WH, Jakoby WB: Glutathione S-transferase from human erythrocytes, non-identity with the enzymes from liver. *Arch Biochem Biophys* 1978; 188: 287.
- Manso C, Wroblewsky F: Glutathion reductase activity in blood and body fluids. *J Clin Invest* 1958; 37: 214.
- Moron HS, Depierre JW, Mannervik B: Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochim Biophys Acta* 1979; 582: 67.
- Mukhtar H, Lee IP, Bend JR: Glutathione S-transferase activities in rat and mouse sperm and human semen. *Biochem Biophys Res Commun* 1978a; 83: 1093.
- Mukhtar H, Lee IP, Foureman GL, Bend JR: Epoxide metabolizing enzyme activities in rat testes: Post-natal development and relative activity in interstitial and spermatogenic cell compartments. *Chem Biol Interact* 1978b; 22: 153.
- 문교철, 김여희, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1988a; 7: 258.
- 문교철, 김여희, 곽춘식: 간엽 부분절제한 흰쥐 혈청 및 재생간의 Mitochondrial Aspartate Aminotransferase의 활성치. *계명의대논문집* 1988b; 7: 1.
- Nagasue N, Inokuchi K, Iwaki A, Yukaya H, Kobayashi M: Lysosomal enzyme β -glucuronidase. Release from regenerating liver after partial hepatectomy. *Arch Sur* 1976; 111: 919.
- Nawata H, Kamiya T: Two molecular forms of thymidine kinase in the cytosol of regenerating rat liver. *J Biochem* 1975; 78: 1215.
- Ohmi N, Arias IM: Ligandinemia in primary liver cancer in rat and man. *Hepatology* 1981; 1: 316.
- Okubo H, Chandler AM: Regulation of glucosamine synthesis during the first twenty-four hours following injury and partial hepatectomy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974; 146: 1159.
- Okubo H, Shibata K, Ishibashi H, Yanase T: Regulation of N-acetylneuraminic acid synthesis following injury and partial hepatectomy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1977; 155: 152.

- Paglia ED, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158.
- Paris JE: Effect of whole body irradiation and puromycin on hydrolytic enzyme activation in regenerating rat liver. *Radiat Res* 1972; 50: 592.
- Pemble SE, Taylor JB, Ketterer B: Tissue distribution of rat glutathione transferase subunit 7, a hepatoma marker. *Biochem J* 1986; 240: 885.
- Player TJ, Mills DL, Horton AA: Age dependent changes in rat liver microsomal and mitochondrial NADPH dependent lipid peroxidation. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 78: 397.
- Ray LE, Prescott JM: Isolation and some characteristics of glutathione reductase from rabbit erythrocytes. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975; 148: 402.
- Royer TD, Kenney WC: Acidic glutathione S-transferase of rat testis. *Biochem J* 1985; 230: 125.
- Ryle CM, Mantle TJ: Studies on the glutathione S-transferase activity associated with rat liver mitochondria. *Biochem J* 1984; 222: 553.
- Scheffler WC: *Statistics for the biological sciences*, ed 2, USA Menlo Park, Addison Wesley Publishing Company, 1980, p 84.
- Sekas G, Cook RT: The evaluation of liver function after partial hepatectomy in the rat: Serum changes. *Br J Exp Pathol* 1979; 60: 447.
- Sheid B: Adenosine aminoglycolase activity in the regenerating rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1985; 238: 259.
- Sherman M, Campbell JAH, Titmuss SA, Kew MC, Kirsch RE: Glutathione S-transferase in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1983; 3: 170.
- Takikawa H, Sugiyama Y, Kaplowitz N: Binding of bile acid by glutathione S-transferase from rat liver. *J Lipid Res* 1986; 27: 955.
- Taniguchi N, Tsukada Y, Hiral H: Acquisition of fetal properties in hepatoma on glutathione metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1974; 354: 161.
- Tor J, Pascual C, Segura RM, Vilaseca J, Schwartz S, Guardia J: Glucose phosphate isomerase and glutathione reductase in benign and malignant extrahepatic cholestasis. *Clin Chem* 1981; 27: 634.
- Trip JAJ, Van Dam J, Tepper T, Que GS: A simple procedure for the purification of porcine ligandine (Y-protein). *FEBS Lett* 1974; 45: 6.
- Twuru M, Kamisaka K, Hirano M, Kameda H: Quantification of human serum ligandin by radioimmuno assay. *Clin Chim Acta* 1978; 84: 251.
- Vander Jagt DL, Hunsaker LA, Garcia KB, Royer RE: Isolation and characterization of the multiple glutathione S-transferase from human liver. *J Biol Chem* 1985; 260: 11603.
- Vessey DA, Zakim D: Inhibition of glutathione S-transferase by bile acids. *Biochem J* 1981; 197: 321.
- Wahländer A, Soboll S, Sies H: Hepatic mitochondrial and cytosolic glutathione content and the subcellular distribution of GSH S-transferase. *FEBS Lett* 1979; 97: 138.
- Wakui K, Kumata H, Tadaki H, Yamagata S: Clinical significance of serum glutathione reductase in various clinical conditions, especially in liver diseases. *Tohoku J Exp* 1976; 118: 17.
- Wendel A: Glutathione peroxidase, in Jakoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*. Academic Press, New York, 1980, vol 1, p 333.
- West M, Berger C, Rony H, Zimmerman: Serum enzymes in disease. VI. Glutathione reductase in sera of normal subjects and of patients with various disease. *J Lab Clin Med* 1961; 57: 946.
- Wolkoff AW, Goresky CA, Sellin J, Gatmaitan Z, Arias IM: Role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma into liver. *Am J Physiol* 1979a; 236: 638.
- Wolkoff AW, Weisiger RA, Jakoby WB: The multiple roles of the glutathione S-transferase (ligandins). *Prog Liver Dis* 1979b; 6: 213.