

흰쥐 재생간의 Carboxylesterase 및 Arylesterase의 활성도*

계명대학교 의과대학 생화학교실

김 흥 열 · 곽 춘 식

서 론

Carboxylesterase(carboxylic-ester hydrolase, EC 3.1.1.1)는 carboxylester, thioester 및 arylamide를 가수분해(Kim, 1979; Heymann, 1980; Heymann, 1982)하며 동물의 간, 폐, 비, 신, 장, 뇌, 지방조직 및 혈청에 분포되어 있는 효소이다(Junge 등, 1974; Junge와 Krisch, 1975; Stoops 등, 1975; Højring과 Svensmark, 1976; Højring과 Svensmark, 1977; Raftell 등, 1977; Hashinotsum 등, 1978; Heymann, 1980; Main과 Rush, 1980; Tsujita 등, 1982; Cain 등, 1983; Kaur와 Ali, 1983; Tsujita와 Okuda, 1983; Junge, 1984; Johnsen과 Odden, 1986). 이 효소는 세포 내에서는 주로 endoplasmic reticulum에 존재(Junge 등, 1974; Heymann, 1980; Nousiainen과 Hänninen, 1981; Johnsen 등, 1986)하며 세포질(Ecobichon, 1972; Heymann, 1980; Nousiainen과 Hänninen, 1981; Johnsen 등, 1986), mitochondria(Junge와 Krisch, 1975) 및 lysosome분획(Tanaka 등, 1987) 중에서도 발견된다.

Arylesterase(aryl-ester hydrolase, EC 3.1.1.2)는 주로 지방산의 방향족 ester를 가수분해하는 효소(Augustinsson, 1961; Kim, 1979)로서 동물의 거의 모든 조직과 체액 중에 분포(Wilde와 Kekwick, 1964; Holmes와 Masters, 1967; Haugen과 Suttie, 1974; Burlina 등, 1977; Dixon과 Webb, 1978; Lorentz 등, 1979; Mackness와 Walker, 1983)되어 있으며 간, 신, 근육, 뇌, 심, 장 및 폐의 순으로 많이 분포되어 있다(Holmes와 Masters, 1967; Dixon과 Webb, 1978)고 한다. 그리고 이 효소도 endoplasmic reticulum에 풍부히 존재하는 것(Haugen과 Suttie, 1974; Burlina 등, 1977)으로 알려져 있다.

이 두 효소는 조직과 체액 중에서 성상이 상이한

isozyme으로 존재(Augustinsson, 1961; Wilde와 Kekwick, 1964; Højring과 Svensmark, 1976; Lorentz 등, 1979; Main과 Rush, 1980; Cain 등, 1983; Tsujita와 Okuda, 1983; Harano 등, 1988)하며 특히 간 조직에서는 이들 효소의 합성이 왕성하기 때문에 그 함유량이 많다(Holmes와 Masters, 1967; Haugen과 Suttie, 1974; Junge와 Krisch, 1975; Stoops 등, 1975; Heymann, 1980; Main과 Rush, 1980; Heymann, 1982; Tsujita와 Okuda, 1983; Johnsen 등, 1986)고 한다.

이러한 양 효소는 해독 효소의 한 종류(Augustinsson, 1961; Holmes와 Masters, 1967; Junge와 Kuisch, 1975; Heymann, 1980; Heymann, 1982; Cain 등, 1983)로서, carboxylesterase는 제초제(herbicide), 해충제(pesticide), 살충제(insecticide) 및 의약품에서 유기 인체를 제외한 지방족 ester화합물을 가수분해하여 무독화시키는 역할(Junge 등, 1974; Junge와 Krisch, 1975; Stoops 등, 1975; Højring과 Svensmark, 1977; Raftell 등, 1977; Hashinotsum 등, 1978; Heymann, 1980; Main과 Rush, 1980; Heymann, 1982; Tsujita 등, 1982; Cain 등, 1983; Kaur와 Ali, 1983; Tsujita와 Okuda, 1983; Junge, 1984; Johnsen 등, 1986)을 하며 arylesterase는 이들 약품들 중 방향족 ester화합물을 가수분해하여 무독화시키는 기능을 가진다(Augustinsson, 1961; Holmes와 Masters, 1967; Kim, 1979)고 알려져 있다.

흰쥐의 간을 부분 절제하면 찬류된 간엽은 급격히 재생(Becker, 1963; Ksukada와 Liebermann, 1964; Lieberman과 Kane, 1965; 김종태, 1968; 김동성, 1968)되며 이 때 각종 효소들의 활성이 변동되는 것(Fritzson, 1967; Paris, 1972; Lamy 등, 1973; Okubo와 Chandler, 1974; Nawata와 Kamiya, 1975; Okubo 등, 1977; 곽춘식과 조준승, 1978; Clement, 1979; 곽춘식, 1989; Principato 등, 1983; Sheid, 1985; 김여희 등,

* 이 논문은 김홍열의 석사학위 논문임.

1986; 안광육과 꽈춘식, 1987; 김여희 등, 1987; 김여희 등, 1989; 꽈춘식 등, 1989)으로 알려져 있다. 그리고 특히 이를 중에서도 해독 과정을 촉매하는 효소들의 활성도가 크게 변동된다는 보고들이 많다(Paris, 1972; Principato 등, 1983; 안광육과 꽈춘식, 1987; 김여희 등, 1987; 김여희 등, 1988; 문교철 등, 1988b; 꽈춘식 등, 1989). 따라서 carboxylesterase와 arylesterase도 해독 효소일 뿐만 아니라 간에서 그 합성이 왕성하므로 간 재생이 활발한 시기의 재생간에서는 이 효소들의 활성도가 변동될 것으로 생각된다. 그러나 재생간에서 이를 효소의 활성 변동에 대한 보고는 찾아 볼 수 없었다.

이 연구는 재생간에서 carboxylesterase와 arylesterase의 활성도가 어떻게 변동되는가를 알아보기 위하여 시행한 실험으로서 흰쥐에서 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 10일 동안 경시적으로 재생간의 세포질, mitochondria와 microsome 그리고 혈청에서 이를 효소의 활성도를 측정하여 그 결과를 보고코자 한다.

재료 및 방법

동물 및 처치 : 동물은 4주이상 같은 조건으로 사육한 체중 320-360g이 되는 Sprague-Dawley종 숫흰쥐를 사용하였으며 정상군 그리고 가수술과 간엽 절제 수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 쥐를 각각 5마리를 죽여 실험에 제공하였다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양사료주식회사 제품의 실험동물 사료를 먹도록 하였다.

간엽 절제 수술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 가능한 한 무균 상태를 유지하면서 ether 마취 하에서 실시하였다. 흰쥐의 간엽 절제 수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2cm 절개하여 간의 중엽의 좌측 외엽을 복강 밖으로 압출하고 인접 조직사이의 인대를 절단한 후 간엽의 기저부위를 결찰한 뒤 간엽을 절제하였다. 절제한 간엽은 전체 간의 약 70%가 되며 이것을 원래간(original liver)이라 부르기로 하였다. 그리고 가수술은 단순 개복술만 시행하였다.

시약 : Sodium pyrophosphate, semicarbazied-HCl, eserine hemisulfate, ethyl valerate, glucine, NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide; grade III), NADH

(reduced nicotinamide adenine dinucleotide; grade III, disodium salt), tris(hydroxymethyl) aminomethane, phenylacetate, diethyl-P-nitrophenyl phosphate, triton X-100, phenol, alcohol dehydrogenase (from bakers yeast, A-3236), carboxylesterase (from rabbit liver E-0887) 및 단백 표준액(10g/100ml bovine albumin) 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며 그외 일반 시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간 적출 및 세포 분획 : 간엽 절제군에서 재생간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether마취 하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시키고 재생간을 적출하였다.

적출한 재생간은 2~4°C의 0.25M-sucrose액으로 잘 씻고 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있는 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 그리고 정상 흰쥐에서도 같은 방법으로 간을 적출하고 0.25M sucrose액으로 간을 세척하였다.

한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

간의 세포 분획은 정상 흰쥐간, 원래 간 및 재생간을 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 2g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose 액을 넣은 다음 teflon glass homogenizer (Thomas사 제품, chamber clearance 0.005-0.007 inch)로 2~4°C를 유지하면서 400rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10 w/v%의 간 조직 균질액을 만들었다. 그리고는 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법(꽈춘식과 꽈정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄 균질액을 571×g (average relative centrifugal force이하 생략함)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄 부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 7,796 ×g에서 20분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 104,400×g에서 1시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 다시 얻었다. 이때 얻은 상청액을 cytosol분획으로 사용하였다. 그리고 위의 과정에서 얻은 pellet를 0.25M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10~35 w/v% sucrose liner density gradient용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 원심관 중앙부위와 상부에 형성된 pellet를 모아서 88,500×g에서 1시간 원심분리하여 pellet를 얻고 이 pellet를 다시 0.25M-sucrose액에 재현탁시켜 88,500×

g에서 1시간 재원심분리하여 pellet를 얻었다. 이 pellet를 microsome분획으로 사용하였다.

한편 위의 $7,796 \times g$ 에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet을 0.25M-sucrose액에 혼탁시키고 이 액을 20~45 w/v% sucrose linear density gradient-용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 $45,200 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25 M-sucrose액에 재현탁시켜 $7,796 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 pellet을 얻었으며 이것을 mitochondria분획으로 사용하였다.

위의 세포 분획법에서 모든 조작은 $2\sim4^{\circ}\text{C}$ 에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다.

그리고 이때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient-용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하였다.

효소 시료 조제: Carboxylesterase 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 mitochondria 및 microsome분획을 단백량으로 $5\text{mg}/\text{ml}$ 가 되도록 0.25M-sucrose액에 혼탁시켰으며 이 혼탁액을 1% triton X-100액으로 배로 희석한 후 잘 혼합하여 사용하였다 (Junge, 1984). 그리고 cytosol분획은 아무런 처리없이 원액 그대로 사용하였다. Arylesterase 활성도 측정용 시료는 위의 triton X-100을 처리한 mitochondria 및 microsome 효소액과 cytosol 효소액 1ml 에 대해서 diethyl-p-nitrophenyl phosphate (Junge과 Klees, 1984)를 10 nmol씩 가해준 후 잘 혼합하여 사용하였다.

효소 활성도 측정: 혈청과 간의 세포질, mitochondria 및 microsome분획의 carboxylesterase의 활성도 측정은 ethyl valerate를 기질로 사용하여 25°C 에서 5분간 반응시키는 동안에 생성된 ethanol과 NAD^{+} 및 alcohol dehydrogenase 공존 하에서 acetaldehyde로 산화될 때 NAD^{+} 가 환원되어 NADH로 되면서 증가하는 흡광도를 339nm 파장에서 측정하여 효소 활성도를 산출하는 Junge(1984)의 법에 의하였다. 그리고 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1ml 의 혈청 또는 1mg 의 단백이 반응하여 생성한 NADH를 nmol로 나타내었다. 혈청과 간의 세포질, mitochondria 및 microsome분획의 arylesterase의 활성도 측정은 phenyl acetate를 기질로 사용하여 25°C 에서 3분간 반응시키는 동안에 생성된 phenol을 270nm 파장에서 그 흡광도를 측정하여 산출하는 Junge 및 Klees(19

84)법에 의하였다. 그리고 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1ml 의 혈청 또는 1mg 의 단백이 반응하여 생성한 phenol을 nmol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제된 효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 그리고 이 실험에서 각 효소 활성도 측정에 사용한 분광 광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varian, cary 210)였다.

단백 정량: 효소액 중의 단백 정량은 0.5N-perchloric acid와 methanol-ether 혼합액 (3:1)으로 단백을 정제하는 Greenberg 및 Rothstein(1957)법으로 효소액 중의 단백을 정제한 다음 biuret법 (Gornall 등, 1949)으로 정량하였다.

얻어진 각종 성적들의 평균치 중 상호비교가 필요한 경우는 Student의 t-검정법 (Schefler, 1980)에 의하여 검정하였다.

성 적

흰쥐에서 간엽 절제 후 혈청 및 재생간의 carboxylesterase의 활성도 변동: 간엽 절제 후 경시적으로 측정한 재생간의 세포질, mitochondria 및 microsome분획과 혈청에서의 carboxylesterase 활성도의 변동은 표 1, 2, 3, 및 4와 같다. 간엽 절제 후 재생간의 세포질 분획의 carboxylesterase의 활성도는 2일, 3일 및 6일째 재생간에서 의의있는 감소를 나타내었다 (표 1). 그리고 재생간의 mitochondria분획의 carboxylesterase의 활성도는 세포질의 그것과 마찬가지로 간엽 절제 후 2일째 재생간에서 감소를 나타내었다 (표 2). 한편 재생간의 microsome분획의 carboxylesterase의 활성도는 간엽 절제 후 2일, 3일 및 6일째의 의의있는 감소를 나타내었다 (표 3).

간엽 절제 후 혈청의 carboxylesterase 활성도는 간엽 절제 후 2일 및 3일째에 감소를 나타내었다 (표 4).

흰쥐에서 간엽 절제 후의 혈청 및 재생간의 arylesterase의 활성도 변동: 간엽 절제 후 경시적으로 측정한 재생간의 세포질, mitochondria 및 microsome 분획과 혈청에서의 arylesterase 활성도의 변동은 표 5, 6, 7 및 8과 같다. 간엽 절제 후 재생간의 세포질 분획의 arylesterase 활성도는 2일째 재생간에서 감소를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었다. 그러나 3

Table 1. Cytosolic carboxylesterase activities of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

Post Hepatectomy days	Carboxylesterase activities (nmol NADH/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal)	202.6 ± 25.4			
0.5	198.6 ± 25.8	(100)	206.4 ± 24.3	(104)
1	196.2 ± 26.5	(100)	202.1 ± 25.2	(103)
2	195.4 ± 27.3	(100)	$156.3 \pm 22.4^*$	(80)
3	195.8 ± 25.6	(100)	$148.2 \pm 20.8^*$	(76)
6	196.2 ± 28.3	(100)	$150.9 \pm 21.6^*$	(78)
10	194.8 ± 27.8	(100)	168.6 ± 23.1	(87)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group.

Significant difference from original livers(*); P<0.05.

Table 2. Mitochondrial carboxylesterase activities of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

Post Hepatectomy days	Carboxylesterase activities (nmol NADH/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal)	67.3 ± 18.7			
0.5	69.4 ± 19.2	(100)	51.5 ± 22.3	(89)
1	69.8 ± 18.7	(100)	57.6 ± 19.6	(83)
2	69.1 ± 17.6	(100)	$42.8 \pm 16.4^*$	(69)
3	68.8 ± 18.4	(100)	52.3 ± 19.2	(91)
6	69.3 ± 17.9	(100)	64.6 ± 19.8	(93)
10	69.5 ± 18.5	(100)	68.1 ± 20.5	(87)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group.

Significant difference from original livers(*); P<0.05.

Table 3. Microsomal carboxylesterase activities of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

Post hepatectomy days	Carboxylesterase activities (nmol NADH/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal)	276.8 ± 37.6			
0.5	268.5 ± 36.8	(100)	254.4 ± 38.6	(95)
1	275.4 ± 38.1	(100)	220.3 ± 36.2	(80)
2	272.6 ± 39.5	(100)	$204.6 \pm 35.3^*$	(75)
3	268.2 ± 38.2	(100)	$165.1 \pm 57.8^*$	(62)
6	276.8 ± 40.6	(100)	$188.2 \pm 49.8^*$	(68)
10	277.4 ± 37.7	(100)	232.8 ± 43.2	(84)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group.

Significant difference from original livers(*); P<0.05.

Table 4. Activities of serum carboxylesterase after partial hepatectomy in rats

Post hepatectomy days	Carboxylesterase activities (nmol NADH/ml/min)			
	Sham	(%)	Hepatectomy	(%)
(Normal)	87.2 ± 20.8			
0.5	87.6 ± 21.4	(100)	90.5 ± 20.5	(103)
1	86.8 ± 20.6	(100)	84.0 ± 20.7	(97)
2	85.9 ± 22.3	(100)	$49.8 \pm 10.1^{**}$	(58)
3	87.2 ± 23.1	(100)	$60.5 \pm 10.5^*$	(69)
6	86.4 ± 21.8	(100)	77.3 ± 15.4	(89)
10	87.0 ± 21.2	(100)	78.6 ± 17.2	(90)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group; Sham: sham operation, Hepatectomy: hepatectomized animals.

Significant difference from sham operated animals(*; P<0.05, **; P<0.01).

Table 5. Cytosolic arylesterase activities of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

Post hepatectomy days	Arylesterase activities (nmol NADH/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal)	638 ± 172			
0.5	640 ± 176	(100)	632 ± 168	(99)
1	639 ± 178	(100)	566 ± 159	(89)
2	640 ± 172	(100)	474 ± 107	(74)
3	638 ± 168	(100)	$369 \pm 103^*$	(58)
6	642 ± 169	(100)	651 ± 162	(101)
10	636 ± 175	(100)	642 ± 176	(101)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group.

Significant difference from original livers(*; P<0.05).

Table 6. Mitochondrial arylesterase activities of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

Post hepatectomy days	Arylesterase activities (nmol phenol/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal)	225.2 ± 69.3			
0.5	228.6 ± 72.1	(100)	216.3 ± 68.4	(95)
1	225.2 ± 69.6	(100)	226.5 ± 70.3	(101)
2	227.8 ± 73.3	(100)	233.8 ± 73.8	(103)
3	224.6 ± 70.8	(100)	239.4 ± 75.2	(107)
6	226.5 ± 72.7	(100)	243.7 ± 76.3	(108)
10	227.3 ± 70.5	(100)	241.3 ± 76.9	(106)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group

Table 7. Microsomal arylesterase activities of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

Post hepatectomy days	Arylesterase activities (nmol phenol/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal)	$5,659 \pm 897$			
0.5	$5,678 \pm 875$	(100)	$5,432 \pm 786$	(96)
1	$5,692 \pm 894$	(100)	$4,287 \pm 637^*$	(75)
2	$5,685 \pm 906$	(100)	$3,568 \pm 542^*$	(63)
3	$5,668 \pm 922$	(100)	$2,926 \pm 483^*$	(52)
6	$5,702 \pm 898$	(100)	$3,539 \pm 606^*$	(62)
10	$5,708 \pm 875$	(100)	$4,578 \pm 738$	(80)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group
Significant difference from original livers(*; P<0.05).

Table 8. Activities of serum arylesterase after partial hepatectomy in rats

Post hepatectomy days	Arylesterase activities (nmol phenol/ml/min)			
	Sham	(%)	Hepatectomy	(%)
(Normal)	162.8 ± 21.0			
0.5	164.8 ± 22.2	(100)	148.2 ± 18.6	(90)
1	161.2 ± 20.4	(100)	$115.6 \pm 15.7^{**}$	(72)
2	162.3 ± 21.5	(100)	$103.7 \pm 14.3^{***}$	(64)
3	164.6 ± 21.8	(100)	$107.3 \pm 12.9^{***}$	(65)
6	161.4 ± 22.0	(100)	143.6 ± 17.8	(89)
10	162.5 ± 20.6	(100)	150.4 ± 18.7	(93)

The data are expressed as mean \pm SD with 5 animals in each group; Sham: sham operation,
Hepatectomy: hepatectomized animals.
Significant difference from sham operated animals(**; P<0.01, ***; <0.001).

일제 재생간에서는 의의있는 활성감소를 나타내었다(표 5).

재생간의 microsome분획의 arylesterase의 활성도는 간엽 절제 후 1일, 2일, 3일 및 6일째 재생간에서 의의있는 감소를 나타내었다(표 7). 그러나 재생간의 mitochondria분획의 arylesterase의 활성도는 별 변동을 나타내지 않았다(표 6).

혈청의 arylesterase활성도는 간엽 절제 후 1일부터 3일째까지 감소를 나타내었다(표 8).

고 찰

흰쥐에서 일부 간엽을 절제하면 잔류 간엽은 급격히 증식 비대(Becker, 1963; Ksukada와 Lieberman, 1964; Lieberman과 Kane, 1975; 김종태, 1968; 김동성,

1968)해지며 이때 간 조직은 조직의 재생을 위해 먼저 혁산과 단백의 합성이 왕성해진다(Becker, 1963; Lieberman과 Kane, 1965; Bucher, 1967; 김동성, 1968; 권기정과 유호열, 1969)고 한다. 이와같은 재생기의 간에서는 해독기능이 변동되는 등(정우와 유호열, 1969; Paris, 1972; Principato 등, 1983; 안광욱과 곽춘식, 1987; 김여희 등, 1987; 김여희 등, 1988; 문교철 등 1986b; 곽춘식 등, 1989) 물질대사의 심한변동이 초래된다. 따라서 이런과정을 촉매하는 효소들의 활성도도 큰 변동을 보인다(Fritzson, 1967; Paris, 1972 Lamy 등, 1973; Okubo와 Chandler, 1974; Nawata와 Kamiya, 1975; Okubo 등, 1977; 곽춘식과 조준승, 1978; Clement, 1979; 곽춘식, 1980; Principato 등, 1983; Sheid, 1985; 김여희 등, 1986; 안광욱과 곽춘식, 1987; 김여희 등, 1987; 김여희 등, 1988; 문교철 등,

1988a; 문교철 등, 1988b; 김여희 등, 1989; 곽춘식 등, 1989)고 한다. 간 재생이 활발한 시기의 재생간에서 그 활성이 증가되는 효소들을 살펴보면 monoamine oxidase(문교철 등, 1988b), alcohol dehydrogenase(김여희 등, 1988), aldehyde dehydrogenase(김여희 등, 1988), microsomal ethanol oxidizing system(김여희 등, 1988), 5'-nucleotidase(안광우과 곽춘식, 1987), γ -glutamyl transpeptidase(안광우과 곽춘식, 1987), malate dehydrogenase(김여희 등, 1986), adenosine aminohydrolase(Sheid, 1985), leucine aminopeptidase(곽춘식, 1980), sialytransferase(Clement, 1979), alkaline phosphatase(곽춘식과 조준승, 1978), UDP-N-acetylglucosamine 2'-epimerase(Okubo 등, 1977), thymidine kinase(Nawata와 Kamiya, 1975), glucosamine synthetase(Okubo와 Chandler, 1974) 및 glyoxalase I(Principato 등, 1983) 등을 들 수 있으며 그 활성이 감소되는 효소들을 살펴보면 cathepsin B(김여희 등, 1989), cathepsin D(김여희 등, 1989), cathepsin H(김여희 등, 1989), glutathione S-transferase(곽춘식 등, 1989), glutathione peroxidase(곽춘식 등, 1989), glutathione reductase(곽춘식 등, 1989), aspartate aminotransferase(김여희 등, 1987; 문교철 등, 1988a), alanine aminotransferase(안광우과 곽춘식, 1987), xanthine oxidase(김여희 등, 1987), superoxide dismutase(김여희 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) 등을 들 수 있다.

이 연구는 흰쥐 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일째의 혈청과 재생간의 세포질, mitochondria 및 microsome분획에서 해독 효소의 일종인 carboxylesterase와 arylesterase의 활성도를 측정하여 혈청과 재생간에서 이들 효소의 활성도가 어떻게 변동되는가를 알아 본 것이다.

이 실험에서 흰쥐 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 재생간에서 세포질과 microsome분획의 carboxylesterase활성도는 간엽절제 후 2일, 3일 및 6일째 재생간에서 의의있는 감소를 나타내었다. 그리고 mitochondria분획의 carboxylesterase는 2일째에 의의 있는 활성 감소를 나타내었다. 할편 혈청의 carboxy-

esterase활성도는 간엽 절제 후 2일 및 3일째에 현저한 감소를 나타내었다. 재생간의 세포질 분획의 arylesterase활성도는 간엽절제 후 3일째 재생간에는 현저한 감소를 나타내었으며 microsome분획의 arylesterase활성도는 간엽 절제 후 1일, 2일, 3일 및 6일째 재생간에서 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 재생간의 mitochondria분획의 arylesterase활성도는 의의있는 변동을 나타내지 않았다.

이상 이 실험의 성적은 재생간에서 carboxylesterase와 arylesterase활성도는 간재생이 진행되는 시기에는 활성이 감소되는 효소라는 것을 보여 준 것이며 아울러 간엽 절제 후 간재생이 활발한 시기에 혈청에서도 이들 효소의 활성이 감소된다는 것을 보여 준 것이다.

재생기의 간에서는 간 조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백 합성이 증가되며 반면에 일부 해독 반응에 관여하는 효소인 glutathione S-transferase, glututathione peroxidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, catalase 및 β -glucuronidase들의 활성이 저하되어 (Paris, 1972; Lamy 등, 1973; 김여희 등, 1987; 곽춘식 등, 1989) 있어 재생간은 독성 물질에 대한 간 상해의 위험에 노출되어 있다. 정기용 등(1986)과 곽춘식 등(1989)에 의하면 재생기의 간 조직은 방어기전의 확보보다는 간재생을 위해 더 유리한 쪽으로 먼저 대사가 진행되는 것이 타당하다고 했으며 문교철 등(1988)도 재생간에서 물질 대사는 간재생에 주력하여 대사가 진행되는 것이라 생각하고 있다.

이상 문헌상의 지견과 이 실험 성적으로 볼 때 carboxylesterase와 arylesterase도 해독에 관여하는 효소이므로 간재생이 활발한 시기에는 그 활성도가 감소되는 것으로 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 재생간에서 이들 효소의 활성 감소의 원인에 대해서는 알 수가 없으며 또한 이들 효소의 활성 감소가 촉매 효율의 감소인지 효소 합성의 감소인지도 분명치 않다. 따라서 재생간에서의 이들 효소의 활성도 변동의 원인과 기전은 앞으로 추구해 보아야 하겠다.

요 약

흰쥐의 간엽을 부분 절제한 후 각 시기의 혈청과 재생간의 세포질, mitochondria 및 microsome분획에서 carboxylesterase와 arylesterase의 활성도가 어떻게 변동되는가를 알아보기 위하여 시행한 실험으로서

흰쥐 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 쥐를 회생시켜 재생간과 혈청에서 이들 효소의 활성도를 측정하였다.

재생간의 세포질과 microsome분획의 carboxylesterase활성도는 간엽 절제 후 2일, 3일 및 6일째 재생간에서 의의있는 감소를 나타내었다. 혈청의 carboxylesterase활성도는 간엽 절제 후 2일 및 3일째에 현저한 감소를 나타내었다.

재생간의 세포질 분획의 arylesterase활성도는 간엽 절제 후 3일째 재생간에서 현저한 감소를 나타내었다. 재생간의 microsome분획의 arylesterase활성도는 간엽 절제 후 1일, 2일, 3일 및 6일째에 재생간에서 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 mitochondria분획에서는 이 효소 활성도가 별 변동을 나타내지 않았다. 혈청의 arylesterase활성도는 간엽 절제 후 1일, 2일 및 3일째에 현저한 감소를 나타내었다.

이상 결과로 보아 재생간의 carboxylesterase 및 arylesterase와 간엽 절제 후의 혈청에서 이들 효소는 간재생이 활발한 시기에는 그 활성이 저하되는 효소라고 생각된다.

참 고 문 헌

안광욱, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 5'-Nucleotidase 및 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 241-251.

Augustinsson KB: Multiple form of esterase in vertebrate plasma. *Ann N Y Acad Sci* 1961; 94: 844-859.

Becker FF: Restoration of liver mass following partial hepatectomy. I. Influence of blood flow. *Am J Pathol* 1963; 43: 497-510.

Bucher NL: Experimental aspects of hepatic regeneration. *N Engl J Med* 1967; 277: 738-746.

Burlina A, Michelin E, Galzigna L: Characteristics and behaviour of arylesterase in human serum and liver. *Eur J Clin Invest* 1977; 7: 17-20.

Cain K, Reiner E, Williams DG: The identification and characterization of two separate carboxylesterases in quinea-pig serum. *Biochem J* 1983; 215: 91-99.

정기용, 김기산, 손건영, 조준승 : 흰쥐의 간엽부분 절제 후 재생간에서의 산화적손상에 대한 방어기전. 경북의대잡지 1986; 27: 263-269.

정우, 유후열 : 백서에 있어서 간엽절제 후 재생간의 Hippuric acid 합성 및 Sulfobromophthalein의 담관배설에 관한 연구. 경북의대잡지 1969; 10: 171-

175.

Clement P: Effect of partial hepatectomy and hydrocortisone administration on liver and serum sialyltransferase activities. *Biochim Biophys Acta* 1979; 583: 14-19.

Dixon M, Webb EC: *Enzymes*. London, Longman Group Ltd, 1978, pp 634-635.

Ecobichon DJ: Cytoplasmic carboxylesterases of human and domestic animal liver: Aggregation, dissociation and molecular weight estimation. *Can J Biochem* 1972; 50: 9-15.

Fritzson P: Dephosphorylation of pyrimidine nucleotides in the soluble fraction of homogenates from normal and regenerating rat liver. *Eur J Biochem* 1967; 1: 12-20.

Gornall AG, Bardawil CJ, David MM: Deteramination of serum protein by means of biuret reaction. *J of xenobiotics in the rat. Biochem Pharmacol* 1983; 32: 3479-3480.

Kim BK: *Enzyme Nomenclature*, IUB. New York, Academic Press, 1979, pp 234-235.

김종태 : 재생간의 in vitro에 있어서의 단백합성과 Humoral Factor. 경북의대잡지 1968; 9: 39-46.

김동성 : 백서에 있어서 간엽절제 후 재생시기의 간 단백 및 혈장단백의 합성속도에 관하여. 현대의학 1968; 8: 129-135.

김여희, 문교철, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. 계명의대논문집 1986; 5: 124-131.

김여희, 문교철, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Cathepsin B, D 및 H의 활성도. 계명의대논문집 1989; 8: 261-267.

김여희, 문교철, 곽춘식, 정성평 : 흰쥐 재생간의 일콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 1988; 7: 280-287.

김여희, 문교철, 곽춘식, 이상일 : 흰쥐 재생간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 95-101.

Ksukada K, Lieberman I: Metabolism of nucleolar ribonucleic acid after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1964; 239: 1564-1568.

곽춘식 : 간엽부분절제한 흰쥐 혈청 및 재생간장의 Leucine Aminopeptidase의 활성도. 경북의대잡지 1980; 21: 500-505.

곽춘식, 조준승 : 흰쥐 재생간의 Alkaline Phosphatase의 활성치. 한국생화학회지 1978; 11: 151-160.

곽춘식, 김여희, 문교철, 이숙형 : 흰쥐 재생간의 Glutathione S-Transferase 및 Glutathione Reductase의 활성치. 계명의대논문집 1989; 8: 78-86.

곽춘식, 곽정식 : 흰쥐 간세포 분획법. I. Mitochondria

- 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5: 45-53.
- 권기정, 유호열: Ethionine이 백서 재생간의 단백합성에 미치는 영향. 경북의대잡지 1969; 10: 183-188.
- Lamy J, Lamy JN, Schmitt M, et al: Effect d'une hepatectomie minimale sur l'activité de la catalase et des oxydases peroxysomales du foie du rat. *Biochimie* 1973; 55: 1491-1494.
- Lieberman I, Kane P: Synthesis of ribosomes on the liver after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1965; 240: 1737-1741.
- Lorentz K, Flatter B, Augustin E: Arylesterase in serum: Elaboration and clinical application of a fixed-incubation method. *Clin Chem* 1979; 25: 1714-1720.
- Mackness MI, Walker CH: Partial purification and properties of sheep serum A-esterases. *Biochem Pharmacol* 1983; 32: 2291-2296.
- Main AR, Rush RS: Hydrolysis of choline esters by *Biol Chem* 1949; 177: 751-766.
- 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, pp 708-731.
- Harano T, Miyata T, Lee S, et al: Biosynthesis and localization of rat liver microsomal carboxylesterase. *Eur J Biochem* 1988; 103: 149-155.
- Hashimoto M, Higashino K, Hada T, et al: Purification and enzymatic properties of rat serum carboxylesterase. *J Biochem* 1978; 84: 1325-1333.
- Haugen DA, Suttie JW: Purification and properties of rat liver microsomal esterases. *J Biol Chem* 1974; 249: 2717-2722.
- Heymann E: Carboxylesterase and amidases, in Jakoby WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York, Academic Press, 1980, vol II, pp 291-323.
- Heymann E: Hydrolysis of carboxylesters and amides, in Jakoby WE, Bend JR, Caldwell J(eds): *Metabolic Basis of Detoxication*. New York, Academic Press, 1982, pp 229-245.
- Højring N, Svensmark D: Carboxylesterases with different substrate specificity in human brain extracts. *J Neurochem* 1976; 27:523-528.
- Højring N, Svensmark D: Carboxylesterase of human brain extract, purification and properties of a butyrylesterase. *Biochim Biophys Acta* 1977; 481: 500-514.
- Holmes RS, Masters CJ: The developmental multiplicity and isozyme status of cavia esterases. *Biochem Biophys* 1967; 132: 379-399.
- Johnsen H, Odden E, Lie φ, et al: Metabolism of T-2 toxin by rat liver carboxylesterase. *Biochem Pharmacol* 1986; 35: 1469-1473.
- Junge W: Carboxylesterase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M(eds): *Method of Enzymatic Analysis*, ed 3. Weinheim, Verlag Chemie GmbH 1984, vol IV, pp 2-7.
- Junge W, Heymann E, Krisch K: Human liver carboxylesterase, purification and molecular properties. *Arch Biochem Biophys* 1974; 165: 749-763.
- Junge W, Klees H: Arylesterase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M(eds): *Method of Enzymatic Analysis*, ed 3. Weinheim, Verlag Chemie GmbH 1984, vol IV, pp 8-12.
- Jung W, Krisch K: The carboxylesterases/amidases of mammalian liver and their possible significance. *Crit Rev Toxicol* 1975; 3: 371-434.
- Kaur S, Ali B: The effects of phenobarbital, 3-methylcholanthrene and benzo(a) pyrene on the hydrolysis rabbit liver oligomeric and monomeric carboxylesterase(EC 3. 1. 1. 1). *J Biol Chem* 1980; 255: 7168-7173.
- 문교철, 김여희, 곽춘식: 간엽을 부분질제한 흰쥐 혈청 및 재생간의 Mitochondrial Aspartate Aminotransferase 활성치. 계명의대논문집 1988a; 7: 1-6.
- 문교철, 박은미, 김여희, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1988b; 7: 258-265.
- Nawata H, Kamiya T: Two molecular forms of thymidine kinase in the cytosol of regenerating rat liver. *J Biochem* 1975; 78: 1215-1224.
- Nousiainen U, Hänninen O: On the inducibility of cytosolic and microsomal carboxylesterase by phenobarbital on rat tissues. *Acta Phamacol Toxicol* 1981; 49: 77-80.
- 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: 1159-1162.
- Okubo H, Shibata K, Ishibashi H, et al: Regulation of N-acetylneuraminic acid synthesis following injury and partial hepatectomy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1977; 155: 152-156.
- Paris JE: Effect of whole body irradiation and puromycin on hydrolytic enzyme activation in regeneration rat liver. *Radiat Res* 1972; 50: 592-599.
- Principato GB, Locci P, Rosi G, et al: Activity changes of glyoxalases I-II and glutathion reductase in regenerating rat liver. *Biochem Int* 1983; 6: 249-255.

- Raftell M, Berzins K, Blomberg F: Immunochemical studies of a phenobarbital inducible esterase in a rat liver microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1977; 181: 534-541.
- Scheffler WC: *Statistics for the Biological Sciences*, ed 2. USA Menlo Park, Addison-Wesley Publishing Company, 1980, pp 84-89.
- Sheid B: Adenosine aminohydrolase activity in the regenerating rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1985; 238: 259-262.
- Stoops JK, Hamilton SE, Zerner B: Carboxylesterase (EC 3.1.1.1). A comparison of some kinetic properties of horse, sheep, chicken, pig and ox liver carboxylesterase. *Can J Biochem* 1975; 53: 565-573.
- Tanaka M, Iio T, Tabata T: Purification and characterization of a carboxylesterase from rabbit liver lysosomes. *J Biochem* 1987; 101: 619-623.
- Tsujita T, Okuda H, Yamasaki N: Purification and some properties of carboxylesterase of rat adipose tissue. *Biochem Biophys Acta* 1982; 715: 181-188.
- Tsujita T, Okuda H: Human liver carboxylesterase, properties and comparison with human serum carboxylesterase. *J Biochem* 1983; 94: 793-797.
- Wilde CE, Kekwick GO: The arylesterases of human serum. *Biochem J* 1963; 91: 297-307.

=Abstract=

Carboxylesterase and Arylesterase Activities in the Regenerating Rat Liver

Heung Yeol Kim, MD; Chun Sik Kwak, PhD

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

This study was intended to investigate the changes of serum and regenerating liver carboxylesterase and arylesterase activities after 70% (median and left lateral lobes) partial hepatectomy in rats.

The activities of cytosolic and microsomal carboxylesterase in the regenerating rat liver significantly decreased between the second and the sixth days after partial hepatectomy. However, the activity of mitochondrial carboxylesterase in the regenerating rat liver markedly decreased on the second day after partial hepatectomy. And the carboxylesterase activity in the serum substantially decreased between the second and the third days after operation.

The cytosolic arylesterase activity in the regenerating rat liver showed a marked decrease from third day after partial hepatectomy, and the microsomal arylesterase activity in the regenerating liver had a marked diminution between the first and the sixth days after operation. But the mitochondrial arylesterase activity did not change. And that of serum arylesterase also showed a striking decrease between the first and the third days after operation.

Key Words : Arylesterase, Carboxylesterase, Cholestatic liver.