

주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 β -D-Glucuronidase 활성에 미치는 영향*

계명대학교 의과대학 생화학교실

김 여 희 · 임 종 술 · 곽 춘 식

서 론

β -D-glucuronidase (β -D-glucuronide glucuronosylhydrolase, EC 3. 2. 1. 31)는 간에 풍부히 존재하는 효소(Dingle, 1973; Smith와 Ganschow, 1978; Kim, 1979; Stahl과 Fishman, 1984; Kurtin과 Schwesinger, 1985; Powell 등, 1988; Takagaki 등, 1988)로서 glycosaminoglycan의 비말단의 β -D-glucuronsyl기를 가수분해하거나 또는 β -D-glucuronide를 가수분해하여 β -D-glucuronic acid를 유리 시키는 반응을 촉매하는 효소이다(Kim, 1979; Stahl과 Fishman, 1984; Powell 등, 1988; Takagaki 등, 1988).

이 효소는 동물의 조직에 널리 분포되고 (Ide와 Fishman, 1969; Contractor와 Shane, 1972; Geokas와 Rinderknecht, 1973; Potier와 Gianetto, 1973; Höök 등, 1975; Himeno 등, 1976; Owens와 Stahl, 1976; Hoehn과 Kanfer, 1978; Smith와 Ganschow, 1978) 특히 간(Ide와 Fishman, 1969; Geokas와 Rinderknecht, 1973; Potier와 Gianetto, 1973; Höök 등, 1975; Himeno 등, 1976; Owens와 Stahl, 1976; Hoehn과 Kanfer, 1978; Smith와 Ganschow, 1978), 신(Geokas와 Rinderknecht, 1973; Höök 등, 1975; Smith와 Ganschow, 1978), 췌(Geokas와 Rinderknecht, 1973; Höök 등, 1975), 비(Höök 등, 1975; Smith와 Ganschow, 1978), 근육(Geokas와 Rinderknecht, 1973; Höök 등, 1975)에서 이 효소의 합성력이 왕성하며 세포내에서는 lysosome과 endoplasmic reticulum에 주로 존재한다(Ide와 Fishman, 1969; Contractor와 Shane, 1972; Potier와 Gianetto, 1973; Himeno 등, 1976; Owens와 Stahl, 1976; Hoehn과 Kanfer, 1978; Smith와 Ganschow, 1978)고 한다. 또한 이 효소는

혈장 및 혈청(Woolen과 Walker, 1965; Williams와 Keys, 1970), 소변(Begum, 1973), 담즙(Ho 등, 1979; Ho 등, 1985), 활액(Moro 등, 1975), 양수(Butterworth 등, 1974) 등에서도 출현됨이 밝혀져 있다. 그리고 혈장 중의 활성도는 폐쇄성 황달(Björkerud 등, 1967; Aronsen 등, 1972; Garay 등, 1972; Chatterjea와 Chopra, 1979), 간염(Chatterjea와 Chopra, 1979), 간암(Urban과 Unsworth, 1977; Nagasue 등, 1982), 관상동맥질환(Miller 등, 1966a; Miller 등, 1967), 췌염(Dubick 등, 1987), 당뇨병(Miller 등, 1966b; Belfiore 등, 1972), 출혈성 shock(Demling 등, 1980), 고혈압(Simon과 Altman, 1984) 및 Kwashiorkor(Begum과 Ittyerah, 1970)환자에서 증가되며 특히 담즙울체가 수반되는 간담도 질환에서 이의 활성이 현저히 증가되고(Björkerud 등, 1967; Aronsen 등, 1972; Garay 등, 1972; Chatterjea와 Chopra, 1979) 아울러 담즙울체간에서도 이 효소의 활성이 현저히 증가된다(Aronsen 등, 1972; 박은미, 1990)고 한다.

주정은 인류 역사와 더불어 옛날부터 인간의 기호 음료로서 널리 음용되어 왔다. 근래에 와서 주정의 소비량이 늘어남에 따라 음주로 인해 야기되는 질병들이 관심의 대상이 되고(Bruguera 등, 1979; Christofersen과 Poulsen, 1979; Bosron과 Li, 1980; Wooddell, 1980; Lieber, 1985; Chedid 등, 1986; Dworkin 등, 1988) 있으며 특히 주정 대사의 주된 장기인 간에 미치는 주정의 영향은 더욱 주목을 받고 있다(Liu 등, 1975; Matsuzaki와 Lieber, 1977; Wands 등, 1979; Nakano 등, 1982; Uchida 등, 1983; Chang, 1985; Savolainen 등, 1986; Chang, 1987; Eagon 등, 1987; LaBaume 등, 1987; Diehl 등, 1988; Ellenhorn과 Barceloux, 1988; Hoek 등, 1988; Venkatesan 등, 1988; Yamada 등, 1988; Hutabart와 Yost, 1989; 김여희 등,

* 이 논문은 1992년도 계명대학교 을종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음.

1989; 곽춘식 등, 1989; Casey 등, 1990; Diehl 등, 1990; 김여희 등, 1990). 따라서 음주로 인해 지방간, 간염 및 간경변증이 초래된다(Christoffersen과 Poulsen, 1979; Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b)는 보고가 있고 보면 간질환이 있을 때 음주를 하거나 주정(ethanol) 중독이 야기된다면 간조직과 혈청에서 이 효소의 활성 변동은 더욱 심할 것으로 생각된다. 또한 일반적으로 간담도 질환시 음주는 해롭다고 하나 그 학문적 뒷받침은 분명치 않다.

이 연구는 이러한 문제를 해결키 위한 일환으로 시도한 실험으로서 만성 주정 중독 흰쥐에게 담즙울체를 야기시키거나, 담즙울체가 진행되고 있는 흰쥐에게 급성주정중독을 야기시킨 후 혈청과 간조직에서 β -D-glucuronidase의 활성도를 측정하여 그 성적을 비교 검토한 것이다.

재료 및 방법

동물 및 처치 : 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280-320g되는 Sprague-Dawley종의 수흰쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 총 26군으로 나누었다(도 1). 즉 정상군(1군), 총담관 결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 총담관결찰군(총 5군), 단순 개복술 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 가수술군(총 5군), Eagon 등(1987)의 방법에 준하여 5%(v/v) ethanol을

60일간 섭취시킨 만성 주정 중독군(1군), 5%(v/v) ethanol을 60일간 투여한 후 계속 5% ethanol을 섭취시키면서 총담관결찰후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군(총 5군), 5%(v/v) ethanol을 60일간 섭취시킨후 가수술을 한 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군(총 5군), Liu 등(1975)의 방법에 따라 체중 kg당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 죽인 급성 주정 중독군(총 2군), 총담관 결찰 14일후 체중 kg당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 죽인 총담관 결찰 후 급성 주정 중독을 시킨 군(총 2군) 등이다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양 사료 주식회사의 실험동물사료를 먹게 하였다.

만성 주정 중독군, 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 및 만성 주정 중독 후 총담관결찰을 한 군에서는 물대신 5%(v/v) ethanol용액(Eagon 등, 1987)을 자유로이 먹게 하였다. 그리고 급성 주정 중독은 흰쥐 체중 kg당 4g의 ethanol이 투여되도록 25%(v/v) ethanol용액을 조제(Liu 등, 1975)하여 1회 경구 투여하였다.

총담관결찰술, 가수술 및 간적출술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 일정한 시간에 시행하였으며

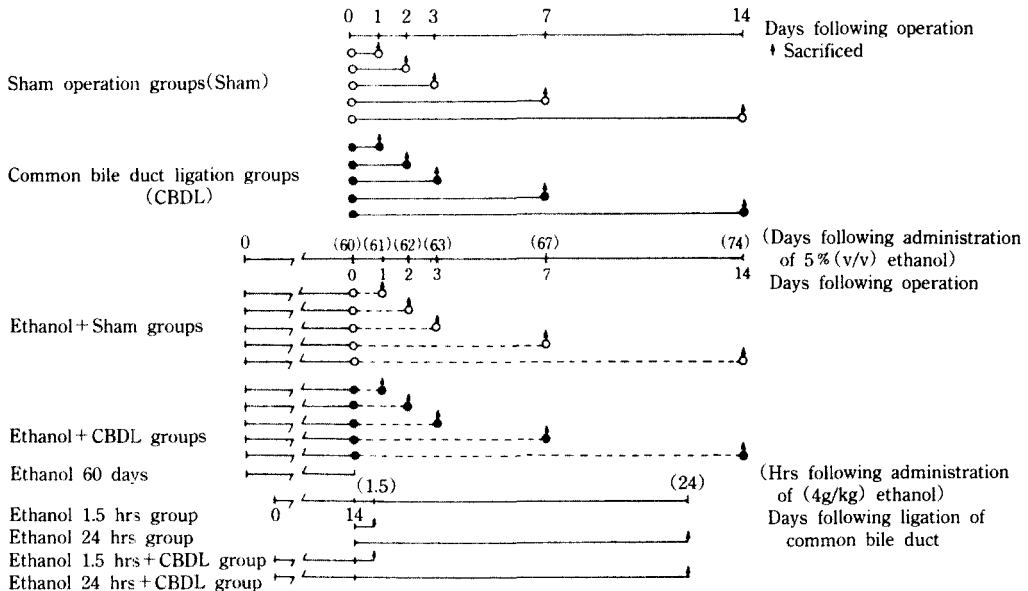


Fig. 1. Experimental design.

쥐를 약 12시간 금식시킨 후 ether마취하에서 실시하였다.

총담관결찰은 간근위부와 약 1cm 아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중결찰한 후 그 중간부위를 절단하였으며 간 적출시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다.

모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 시행하였으며 복부대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사시킨 후 간문맥으로 삽관하여 4°C의 0.25M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있는 sucrose액을 가능한 한 제거하였다. 채취한 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

시약 : Phenolphthalein glucuronide sodium, phenolphthalein, sodium dodecyl sulfate, glycine, Triton x-100, β-D-glucuronidase(from bovine liver, G 0376) 및 단백 표준액(10g/100ml bovine albumin) 등은 Sigma사의 제품을 사용하였으며 그 외 시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간의 lysosome 및 microsome 분획의 분리: 적출한 간을 즉시 2-4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중약 5g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer (Thomas사 제품, chamber clearance, 0.005-0.007 inch)로 2-4°C를 유지하면서 400rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간 균질액을 만들었다. 이 간균질액 일정량을 취하여 sucrose density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 microsome분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄균질액을 571 × g(average relative centrifugal force)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 pellet을 0.25M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10-35w/v% sucrose linear density gradient용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500 × g에서 15분간 원심분리하여 얻은 원심관 중앙부와 상부에 형성된 pellet을 모아서 88,500 × g에서 1시간 원심분리하여 pellet을 얻고 이 pellet을 다시 0.25M sucrose액에 재현탁시켜 88,500 × g에서 다시 1시간 원심분리하여 pellet을 얻었다. 이 pellet을 microsome분획으로 사용하였다.

Lysosome분획의 분리는 Graham(1984)법을 수정

하여 사용하였다. 즉 간 마쇄 균질액 약 10ml을 취하여 1,000 × g에서 10분간 원심분리하여 상청액을 얻었다. 이 상청액을 다시 10,000 × g에서 20분간 원심분리하여 pellet을 얻었으며 이 pellet을 10w/v% sucrose액에 현탁시켜 그 일정량을 37-72w/v% sucrose linear density gradient용액을 넣은 원심관 관저에 부하시켰다. 그리고는 이 원심분리관을 95,000 × g에서 2시간 원심분리하여 51-57%(1.23-1.26g/cm) sucrose액층 부위에 형성된 pellet을 취한 후 이 pellet을 0.25M sucrose액으로 1회 세척하여 lysosome분획으로 사용하였다. 위의 세포 분획법에서 모든 조작은 2-4°C에서 시행하였으며 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 그리고 sucrose density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하여 제조하였다.

효소 시료 조제: Lysosomal 및 microsomal β-D-glucuronidase 활성도 측정용 시료는 Graham(1984)법으로 분리한 lysosome과 sucrose linear density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 분리한 microsome분획을 0.1% Triton x-100으로 2배 희석하여 진탕한 액(Musa등, 1965)을 사용하였다.

효소활성도 측정: 간의 lysosomal 및 microsomal β-D-glucuronidase활성도 측정은 phenolphthalein glucuronide를 기질로 사용하여 pH 4.5(0.1M acetate buffer, pH 4.5), 38°C 조건에서 4시간 반응하는 동안에 생성된 phenolphthalein을 비색정량하는 Fishman 등(1967)의 법에 의하였다. 이들 β-D-glucuronidase활성도의 단위는 1분간에 1mg의 단백 또는 1mg의 혈청이 반응하여 생성한 phenolphthalein을 nmol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제 효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다.

이 실험에서 β-D-glucuronidase활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varian Cary 210)였다.

단백정량: 효소 시료 중의 단백 정량은 0.5M-perchloric acid와 methanol-ether혼합액(3:1)으로 단백을 정제하는 Greenberg와 Rothstein(1957)법으로 효소 시료 중의 단백을 정제한 다음 biuret법으로 정량하였다.

성적검정: 유의성 검정은 Student's t-test로 하

였다.

성 적

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도에 미치는 영향: 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에서 계속 5%(v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 간의 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도의 변동은 표 1과 같다.

취간의 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도는 만성 주정 중독군, 가수술군 및 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 등에서는 별 변동을 나타내지 않았다.

정상위의 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가수술군에 비해 이 효소의 활성도가 총담관 결찰 후 2일과 3일에는 약 32%($p < 0.05$), 7일에는 약 35%($p < 0.05$), 14일에는 약 101%($p < 0.01$)의 증가를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비하여 이 효소의 활성도가 총담관결찰 후 14일에만 약 50

%의 유의한 증가를 나타내었다. 그리고 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상위의 총담관을 결찰한 군에서 이 효소활성도의 변동을 비교했을 때는 실험 전기간 동안 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 약간의 활성도 감소를 나타내었다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간의 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도에 미치는 영향: 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 간의 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도 변동은 표 2와 같다.

취간의 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 그리고 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 정상군이나 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 그러나 이 효소는 총담관 결찰

Table 1. Effect of common bile duct ligation on liver lysosomal β -D-glucuronidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	β -D-Glucuronidase activities (nmol phenolphthalein mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	(Normal; 5.21 ± 0.90, Ethanol; 4.96 ± 0.81) CBDL	Ethanol+ Sham	Ethanol+ CBDL
1	5.17 ± 0.87	6.15 ± 1.48	5.02 ± 0.84	6.10 ± 1.34
2	5.20 ± 0.92	6.84 ± 0.93 ^a	4.87 ± 0.79	6.02 ± 1.22
3	5.21 ± 0.96	6.89 ± 0.90 ^a	4.76 ± 0.82	6.15 ± 1.28
7	5.19 ± 0.85	7.02 ± 1.41 ^a	4.94 ± 0.80	6.32 ± 1.94
14	5.22 ± 0.98	10.48 ± 2.42 ^b	5.13 ± 0.86	7.67 ± 1.58 ^d

All values are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

a; $p < 0.05$ vs. Sham, b; $p < 0.01$ vs. sham, d; $p < 0.05$ vs. Ethanol + Sham

Table 2. Effect of common bile duct ligation on liver lysosomal β -D-glucuronidase activities in acute ethanol intoxicated rats

β -D-Glucuronidase activities (nmol phenolphthalein mg protein ⁻¹ min ⁻¹)					
Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs + CBDL
5.21 ± 0.90	10.48 ± 2.42 ^a	4.97 ± 0.83	9.26 ± 1.72 ^a	5.02 ± 0.91	9.67 ± 1.68 ^s

All values are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

k; $p < 0.01$ vs. Normal, o; $p < 0.01$ vs. Ethanol 1.5 hrs, s; $p < 0.001$ vs. Ethanol 24 hrs

14일 후 급성 주정 중독을 시킨군과 총담관 결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 상호간에 별 차이가 없었다.

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 microsomal β -D-glucuronidase 활성도에 미치는 영향: 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 계속 5%(v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 간의 microsomal β -D-glucuronidase 활성도의 변동은 표 3과 같다.

쥐간의 microsomal β -D-glucuronidase 활성도는 만성 주정 중독군, 가수술군 및 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 등에서는 별 변동을 나타내지 않았다.

정상쥐의 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가수술 군에 비해 이 효소의 활성도가 총담관 결찰 후 2일에는 약 165%($p < 0.01$), 3일에는 약 212%($p < 0.01$), 7일에는 약 298%($p < 0.001$), 14일에는 약 325%($p < 0.001$)의 현저한 증가를 나타내었다.

만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 그

대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비하여 이 효소 활성도가 총담관결찰 후 2일에는 약 231%($p < 0.001$), 3일에는 약 259%($p < 0.001$), 7일에는 약 370%($p < 0.001$), 14일에는 약 487%($p < 0.001$)의 현저한 활성증가를 나타내었다. 그리고 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 총담관만 결찰한 군을 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다는 총담관 결찰 후 2일에는 약 16%, 3일에는 약 7%, 7일에는 약 20% 증가되었으나 유의성은 없었으며 14일에만 약 44%($p < 0.05$)의 유의한 증가를 나타내었다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간의 microsomal β -D-glucuronidase 활성도에 미치는 영향: 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 간의 microsomal β -D-glucuronidase 활성도 변동은 표 4와 같다.

쥐간의 microsomal β -D-glucuronidase 활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 그리고

Table 3. Effect of common bile duct ligation on liver microsomal β -D-glucuronidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	β -D-Glucuronidase activities (nmol phenolphthalein mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	(Normal; 0.54 \pm 0.24, CBDL	Ethanol; 0.53 \pm 1.25) Ethanol+Sham	Ethanol+ CBDL
1	0.54 \pm 0.25	0.95 \pm 0.38	0.52 \pm 0.26	0.82 \pm 0.33
2	0.55 \pm 0.21	1.46 \pm 0.49 ^b	0.51 \pm 0.24	1.69 \pm 0.46 ^f
3	0.58 \pm 0.22	1.81 \pm 0.54 ^b	0.54 \pm 0.27	1.94 \pm 0.51 ^f
7	0.56 \pm 0.26	2.23 \pm 0.60 ^c	0.57 \pm 0.26	2.68 \pm 0.62 ^f
14	0.53 \pm 0.27	2.25 \pm 0.58 ^c	0.55 \pm 0.25	3.23 \pm 0.65 ^{f, s}

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

b; $p < 0.01$ vs. Sham, c; $p < 0.001$ vs. Sham, f; $p < 0.01$ vs. Ethanol + Sham, g; $p < 0.05$ vs. CBDL

Table 4. Effect of common bile duct ligation on liver microsomal β -D-glucuronidase activities in acute ethanol intoxicated rats

β -D-Glucuronidase activities (nmol phenolphthalein mg protein ⁻¹ min ⁻¹)					
Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs + CBDL
0.54	2.25	0.56	2.42	0.58	2.38
\pm 0.24	\pm 0.58 ^l	\pm 0.21	\pm 0.55 ^p	\pm 0.23	\pm 1.60 ^s

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

l; $p < 0.001$ vs. Normal, p; $p < 0.001$ vs. Ethanol 1.5 hrs, s; $p < 0.001$ vs. Ethanol 24 hrs

microsomal β -D-glucuronidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 정상군이나 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨군에 비해 현저한 활성 증가를 나타내었다. 그러나 이 효소는 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관 결찰 후 14일 경과한 군과 상호 비교했을 때는 별 차이가 없었다.

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 β -D-glucuronidase 활성도에 미치는 영향: 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 계속 5%(v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때의 혈청 β -D-glucuronidase 활성도의 변동은 표 5와 같다.

취 혈청의 β -D-glucuronidase 활성도는 만성 주정 중독군, 가수술군 및 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 등에서는 별 변동을 나타내지 않았다.

정상주의 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가

수술군에 비해 혈청의 이 효소의 활성도가 총담관 결찰 후 1일부터 약간 증가되었으나 7일까지는 유의성이 없었다. 그러나 총담관 결찰 후 14일에는 그 대조군인 가수술군에 비해 약 188%($p < 0.001$)의 현저한 증가를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 혈청의 이 효소 활성도가 총담관 결찰 후 3일에는 약 62%($p < 0.05$), 7일에는 약 98%($p < 0.05$), 14일에는 약 326%($p < 0.001$)의 현저한 증가를 나타내었다. 그리고 정상주의 총담관을 결찰한 군 보다는 총담관 결찰 후 2일에는 약 18%, 3일에는 약 22%, 7일에는 약 43%($p < 0.05$)의 증가를 나타내었다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 혈청 β -D-glucuronidase 활성도에 미치는 영향: 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 혈청의 β -D-glucuronidase 활성도 변동은 표 6과 같다.

Table 5. Effect of common bile duct ligation on serum β -D-glucuronidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	β -D-Glucuronidase activities (nmol phenolphthalein $ml^{-1} min^{-1}$)			
	Sham	(Normal; 1.27 ± 0.29 , Ethanol; 1.24 ± 0.27)		
		CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+ CBDL
1	1.28 ± 0.30	1.48 ± 0.36	1.25 ± 0.28	1.68 ± 0.47
2	1.32 ± 0.26	1.51 ± 0.52	1.23 ± 0.31	1.79 ± 0.51
3	1.30 ± 0.27	1.67 ± 0.46	1.26 ± 0.26	2.04 ± 0.66^d
7	1.28 ± 0.31	1.91 ± 0.62	1.27 ± 0.30	2.52 ± 0.87^d
14	1.29 ± 0.34	3.72 ± 0.95^c	1.25 ± 0.27	$5.33 \pm 1.23^{f, g}$

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

c; $p < 0.001$ vs. Sham, d; $p < 0.05$ vs. Ethanol + Sham, f; $p < 0.001$ vs. Ethanol + Sham, g; $p < 0.05$ vs. CBDL

Table 6. Effect of common bile duct ligation on serum β -D-glucuronidase activities in acute ethanol intoxicated rats

β -D-Glucuronidase activities (nmo phenolphthalein $ml^{-1} min^{-1}$)					
Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5hrs +CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs + CBDL
1.29	3.72	1.23	4.42	1.27	5.37
± 0.29	$\pm 0.95^1$	± 0.27	$\pm 1.21^p$	± 0.30	$\pm 1.26^{s, u}$

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

1; $p < 0.001$ vs. Normal, p; $p < 0.001$ vs. Ethanol 1.5 hrs, s; $p < 0.001$ vs. Ethanol 24 hrs, u; $p < 0.05$ vs. CBDL 14 days

쥐 혈청의 β -D-glucuronidase 활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 그리고 혈청의 이 효소 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이나 다같이 정상군 또는 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 그리고 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관 결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 24시간에 희생시킨 군이 총담관 결찰 후 14일 경과한 군보다 약 44%($p < 0.05$)의 유의한 활성증가를 나타내었다.

고 찰

주정은 극성 유기 용매로서 음주 후 주로 간에서 대사되며 일정 농도 이상에서는 단백질을 변성시킬 수 있다(Ellenhorn과 Barceloux, 1988).

간은 물질대사의 중추 기관으로서 대단히 복잡하고 다채로운 기능을 가진 장기이며(Sherlock, 1985a) 체외로부터 흡수되거나 체내에서 생성된 유해물질을 해독하여 배설시키는 해독기구를 가짐으로써 생체를 보호하고 있다(Jakoby 등, 1982). 그러나 이러한 기능을 가진 간이라 하더라도 장기간 음주를 하면 간은 지방간, 간염, 간경변증 등의 병변이 야기될 수 있으며(Christoffersen과 Poulsen, 1979; Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b) 이때 간 세포는 심한 형태학적 및 생화학적 변화를 받는다(Christoffersen과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987)고 한다. 이러한 변화는 주로 mitochondria와 endoplasmic reticulum에서 관찰되며 mitochondria에서 나타나는 변화는 종창 변형 및 cristae의 배열문란 등이고 endoplasmic reticulum에서 나타나는 변화로는 smooth endoplasmic reticulum의 증식을 들 수 있다. 이외에도 Mallory소체 증식과 간세포의 괴사를 수반하는 형태학적 변화도 관찰된다. 또한 체내에 흡수된 주정은 간에서 대사되며 이 대사과정은 ethanol이 acetaldehyde로 산화되고 다시 acetate로 산화되어 이용된다(Bosron과 Li, 1980; Lieber, 1985). 특히 이러한 대사과정에서 생성된 acetaldehyde는 간세포의 세포막 손상과 세포자멸의 괴사를 초래하는 것(Sherlock, 1985b)으로 알려져 있다. 이와 같이 음주로 인한 간손상이 있을 때 간에서 일어나는 대사성 변화로는 lactate의 생산증가, pyruvate의 생성감소, 지방산의 합성촉진, 지방산의 산화감소 및 구연산 회로의 활성저하 등을 들

수 있다(Ritchie, 1980; Ellenhorn과 Barceloux, 1988).

간 조직에 담즙울체가 야기되는 경우는 원발성 담즙성 간경변증, 담관염, 담즙울체형 간염, 선천성 담도폐쇄, 종양이나 담석에 의한 담도폐쇄 등(Halsted, 1976)이며 이와 같은 간담도 질환시 간조직은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화 등 형태학적 변화와 아울러 심한 간세포의 기능 장애도 나타난다(Desmet, 1979).

흰쥐의 총담관을 결찰하면 간은 담즙울체가 되고 시간이 경과함에 따라 담즙울체간은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화가 나타나므로(Moritz와 Snodgrass, 1972; 장대성 등, 1987; 김효석 등, 1989) 간담도 질환의 생화학적 연구를 위한 실험적 model을 만들기 위한 한가지 방법이 바로 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체간을 만드는 것이다(Kaplan과 Righetti, 1970; 박춘식, 1980; Toda 등, 1980; 박춘식과 장억규, 1985; 박춘식과 이상일, 1985; 박춘식 등, 1987; 정상호와 박춘식, 1987). 담즙울체로 간의 배설기능이 저하되면 간세포에 존재하는 alkaline phosphatase (Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; Tada 등, 1980; 박춘식 등, 1987), leucine aminopeptidase (박춘식, 1980; 정상호와 박춘식, 1987), 5'-nucleotidase (박춘식과 장억규, 1985; 박춘식 등, 1987) 및 γ -glutamyl transpeptidase (박춘식과 장억규, 1985; 박춘식 등, 1987)는 그 활성이 증가되며 alanine aminotransferase (박춘식과 장억규, 1985; 김여희 등, 1990) 및 lactate dehydrogenase (박춘식과 이상일, 1985) 등은 그 활성이 감소된다고 한다. 이와 같이 담즙울체간에서 그 활성이 증가되는 효소들은 담즙울체시 그 활성이 증가되며 담즙울체간에서 그 활성이 감소되는 효소들은 간외로 누출이 증가되어 나타난 결과라고 한다.

이상과 같이 주정 중독 또는 담즙울체로 간손상이 야기되면 형태학적 및 생화학적 변화가 야기되므로 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 간 손상의 정도는 더욱 심해질 것이다. 따라서 이 실험에서와 같이 급성 및 만성 주정 중독시 간에 담즙울체를 야기시킨다면 혈청과 간조직에서 β -D-glucuronidase 활성도의 변동은 더욱 심해질 것이다.

김여희 등(1989, 1990, 1991a, 1991b)은 흰쥐에게 급성 및 만성 주정 중독을 시키고 간에 담즙울체를 야기시켰을 때 간조직의 alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase 및 leucine aminopeptidase가 혈중으로 다량 누출되었

다고 하였으며 이 성적은 담즙울체로 인한 간세포의 손상이 주정 중독으로 증폭되어 나타난 결과라 하였다. 따라서 이들 연구자의 보고는 위의 추론을 한층 더 뒷받침하는 자료라 생각된다.

이 실험에서 정상쥐의 총담관을 결찰했을 때 간의 lysosomal β -D-glucuronidase 활성도는 총담관 결찰 후 2일부터 14일까지 유의한 활성증가를 나타내었으며 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때는 총담관 결찰 후 14일에만 유의한 활성증가를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상쥐의 총담관을 결찰한 군에서 이 효소 활성도를 비교했을 때는 실험 전기간 동안 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 약간 활성감소를 나타내었다.

일반적으로 동물체의 조직이 손상을 받을 때는 세포 내 소기관인 lysosome이 관여하게 되며 이 lysosome 내에는 40여종의 산성 가수분해 효소가 함유되어 있다(de Duve, 1963; Weissman, 1965; Allison, 1967; de Duve, 1970)고 한다. 이 lysosome 효소들은 손상받은 조직의 세포 내 소기관의 파괴된 부분을 소화하고 아울러 세포 자가 용해 과정을 촉매하는 것(de Duve 등, 1955; de Duve, 1963; Comolli, 1967; de Duve, 1970)으로 알려져 있다. 이와같은 lysosome 효소들 중 간의 lysosome에 비교적 풍부히 존재하는 효소가 바로 이 실험에서 관찰한 β -D-glucuronidase이다. 위의 담즙울체간의 형태학적 변화와 lysosome 효소의 기능을 볼 때 이 실험에서 관찰한 간의 lysosomal β -D-glucuronidase가 만성 주정 중독시 담즙울체를 야기했을 때 그 활성이 담즙울체만 있을 때 보다 감소하는 것은 심한 간세포의 괴사가 원인이 되어 이 효소의 합성이 지연되고 아울러 혈중으로 다량 누출되어 나타난 결과 아닌가 생각된다.

이 실험에서 정상쥐나 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때 간의 microsomal β -D-glucuronidase 활성도는 총담관 결찰 후 2일부터 14일까지 현저한 활성증가를 나타내었다. 그리고 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상쥐의 총담관을 결찰한 군에서 이 효소의 활성도를 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 수술 후 2일부터 14일까지 더욱 현저한 활성증가를 나타내었다.

이 성적을 볼 때 특히 만성 주정 중독시 총담관을 결찰하면 총담관만 결찰했을 때보다 간의 microsomal β -D-glucuronidase가 간에서 그 합성이 더욱 증가되는 것으로 생각된다. 그러나 그 원인이 무엇인지 이 실험

험만으로 분명하게 설명하기는 어렵다.

이 실험에서 간의 lysosomal 및 microsomal β -D-glucuronidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 정상군이나 그 대조군인 급성 주정 중독을 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 그러나 이 효소들은 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다. 이 성적은 담즙울체시 급성 주정 중독을 야기시키면 간의 β -D-glucuronidase 활성도에는 별 영향을 미치지 않는다는 것을 보여준 결과라 하겠다.

이 실험에서 혈청의 β -D-glucuronidase 활성도는 정상쥐의 총담관을 결찰했을 때는 대조군인 가수술 군에 비해 총담관 결찰 후 14일에 현저한 활성증가를 나타내었다. 그러나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 혈청의 이 효소 활성도가 총담관 결찰 후 3일부터 14일까지 현저한 증가를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상쥐의 총담관을 결찰한 군에서 이 효소의 활성도를 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 수술 후 2일부터 14일까지 더 높은 활성증가를 나타내었다.

이 실험에서 쥐 혈청의 β -D-glucuronidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이나 다같이 정상군 또는 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관 결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 총담관 결찰 후 14일 경과한 군보다 유의한 활성증가를 나타내었다.

이 성적은 급성 및 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때 보다 간 손상의 증폭으로 간의 β -D-glucuronidase가 간외로 누출이 심해진다는 것을 보여주는 것이라 할 수 있으며 또한 ethanol이 생체 세포의 세포막과 세포소기관막의 투과성을 증가시킨다는 보고(Geokas와 Rinderhnecht, 1973)가 있고 보면 이 사실은 더욱 확실하다고 하겠다.

이상 문헌상의 지견과 성적으로 보아 간의 lysosomal β -D-glucuronidase는 담즙울체시 만성 주정 중독이 야기되면 그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 지연되는 효소로 생각되며 간의 microsomal β -D-glucuronidase는 담즙울체시 만성 주정 중독이 야기되면

그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 증가되는 효소라 생각된다. 그리고 급성 및 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 간 손상이 증폭되므로 간에서 이들 효소의 누출이 증가되는 것으로 생각된다. 따라서 이 성적은 담즙울체로 간 손상이 있을 때는 음주를 해서는 안된다는 것을 뒷받침하는 자료라 할 수 있다.

요 약

이 연구는 간담도 질환시 음주의 해로움에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 급성 및 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 총담관 결찰로 담즙울체를 야기시켜 혈청과 간의 β -D-glucuronidase활성도를 측정하였다.

정상위의 총담관을 결찰했을 때 간의 lysosomal β -D-glucuronidase활성도는 총담관 결찰 후 2일부터 14일까지 유의한 활성증가를 나타내었다. 그러나 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때는 총담관 결찰 후 14일에만 유의한 활성증가를 나타내었다.

만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상위의 총담관을 결찰한 군에서 이 효소활성도를 비교했을 때는 실험 전기간 동안 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 약간의 활성도 감소를 나타내었다.

정상위나 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때 간의 microsomal β -D-glucuronidase활성도는 총담관 결찰 후 2일부터 14일까지 현저한 활성증가를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상위의 총담관을 결찰한 군에서 이 효소의 활성도를 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 수술 후 2일부터 14일까지 더욱 현저한 활성증가를 나타내었다.

간의 lysosomal 및 microsomal β -D-glucuronidase활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 정상군이나 그 대조군인 급성 주정 중독을 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 그러나 이 효소들은 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관 결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다.

정상위의 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가수술군에 비해 혈청의 β -D-glucuronidase활성도가 총담관 결찰 후 14일에 현저한 증가를 나타내었다. 그러나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는

그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 혈청의 이 효소 활성도가 총담관 결찰 후 3일부터 14일까지 현저한 증가를 나타내었다. 그리고 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상위의 총담관을 결찰한 군과 이 효소의 활성도를 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 수술 후 2일부터 14일까지 더 높은 활성증가를 나타내었다.

취 혈청에서 β -D-glucuronidase활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨군이나 다같이 정상군 또는 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 총담관 결찰 14일 후 급성 중독을 시킨 군과 총담관 결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 24시간에 희생시킨 군이 총담관 결찰 후 14일 경과한 군보다 유의한 활성증가를 나타내었다.

이상의 성적으로 보아 간의 lysosomal β -D-glucuronidase는 담즙울체시 만성 주정 중독이 야기되면 그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 지연되는 효소로 생각되며 간의 microsomal β -D-glucuronidase는 담즙울체시 만성 주정 중독이 야기되면 그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 증가되는 효소라 생각된다. 그리고 급성 및 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때 보다 간 손상이 증폭되므로 간에서 이들 효소의 누출이 증가되는 것으로 생각 된다.

참 고 문 헌

Allison A: Lysosomes and disease. *Sci Am* 1967; 217: 62-72.
 Aronsen KF, Hägerstrand, Nordén JG: Enzyme studies in man with extra hepatic biliary obstruction. *Acta Path Microbiol Scand* 1972; 80: 501-508.
 Begum A: Urinary excretion of β -glucuronidase in protein-calorie malnutrition. *Clin Chim Acta* 1973; 46: 229-234.
 Begum A, Ittyerah TR: Arylsulfatase and β -glucuronidase activity in serum in Kwashiorker. *Clin Chim Acta* 1970; 28: 263-268.
 Belfiore F, Vecchio LL, Napoli E: Serum β -glucuronidase activity in diabetic patients as related to vascular complications and degree of glucose metabolic disorder. *Am J Med Sci* 1972; 264: 457-466.
 Björkerud S, Björntorp P, Scherstén T: Lysosomal

- enzyme activity in human liver in obstructive jaundice. *Scand J Clin Invest* 1967; 20: 224-230.
- Bosron WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase, in Jakoby WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York, Academic Press, 1980, Vol 1, pp 231-244.
- Bruguera M, Bertran A, Bombi J, et al: Giant mitochondria in hepatocytes. A diagnostic hint for alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1979; 73: 1383-1387.
- Butterworth J, Broadhead DM, Sutherland GR, et al: Lysosomal enzymes of amniotic fluid in relation to gestational age. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 119: 821-828.
- Gasey CA, Kragoskow SL, Sorrell MF, et al: Effect of chronic ethanol administration on total asialoglycoprotein receptor content and intracellular processing of asialoorosomucoid in isolated rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1052: 1-8.
- 장대성, 광정식, 손태중: 총담관 결찰에 의한 담관중식성 변화의 초미형태학적 연구, 경북의대잡지 1987; 28: 113-122.
- Chang ES: Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients, *J Clin Electron Microscopy* 1985; 18: 331-347.
- Chang ES: Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987; 37: 213-224.
- Chatterjea MN, Chopra SK: Serum and urinary beta-glucuronidase activity in viral hepatitis and obstructive jaundice cases. *J Assoc Physicians India* 1979; 27: 749-754.
- Chedid A, Mendenhall CL, Tosch T, et al: Significance of mega mitochondria in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1986; 90: 1858-1864.
- Christoflensen P, Poulsen H: Alcoholic liver disease, in MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ (eds): *Pathology of the Liver*. New York, Churchill Livingstone Inc, 1979, pp 232-244.
- 정상호, 광춘식: 흰쥐 담즙을체간의 Leucine Aminopeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 210-221.
- Comolli R: Cytotoxicity of silica and liberation of lysosomal enzymes. *J Path Bact* 1967; 93: 241-253.
- Contractor SF, Shane B: Purification and characterization of lysosomal β -glucuronidase from human placenta. *Biochem J* 1972; 128: 11-18.
- de Duve C: The lysosome. *Sci Am* 1963; 208: 64-72.
- de Duve C: *The role of lysosomes in cellular pathology*. Triangle 1970; 9: 200-208.
- de Duve C, Pressman BC, Gianetto R, et al: Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue. *Biochem J* 1955; 60: 604-617.
- Demling RH, Proctor R, Duy N, et al: Lung lysosomal enzyme release during hemorrhagic shock and endotoxemia. *J Surg Res* 1980; 28: 269-279.
- Desmet VJ: Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis, in MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer, PJ(eds): *Pathology of the Liver*. New York, Churchill Livingstone Inc, 1979, pp 272-305.
- Diehl AM, Goodman Z, Ishak KG: Alcohollike liver disease in nonalcoholics. A clinical and histologic comparison with alcohol-induced liver injury. *Gastroenterology* 1988; 95: 1056-1062.
- Diehl Am, Wells M, Brown ND, et al: Effect of ethanol on polyamine synthesis during liver regeneration in rats. *J Clin Invest* 1990; 85: 385-390.
- Dingle JT: The extracellular secretion of lysosomal enzymes, in Dingle JT, Fell HB(eds): *Lysosomes in Biology and Pathology*. Amsterdam, North Holland, 1973, pp 421-436.
- Dubick MA, Mayer AD, Majumdar APN, et al: Biochemical studies in peritoneal fluid from patients with acute pancreatitis relationship to etiology. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 305-312.
- Dworkin BM, Rosenthal WS, Stahl RE, et al: Decreased hepatic selenium content in alcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 1213-1217.
- Eagon PK, Willet JE, Seguiti SM: Androgen responsive functions of male rat liver. Effect of chronic alcohol ingestion. *Gastroenterology* 1987; 93: 1162-1169.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG: *Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. New York, Elsevier Science Publishing Co Inc, 1988, pp 782-796.
- Fishman WH, Kato K, Anstiss CL, et al: Human serum beta-glucuronidase; its measurement and some of its properties. *Clin Chim Acta* 1967; 15: 435-447.
- Garay EAR, Spetale MDR, Morisoli LS: Relationship between bilirubin and β -glucuronidase activity in rats with experimental obstructive jaundice. *Clin Chim Acta* 1972; 37: 171-177.
- Geokas MC, Rinderknecht H: Plasma arylsulfatase and β -glucuronidase in acute alcoholism. *Clin*

- Chim Acta* 1973; 46: 27-32.
- Graham J: Isolation of subcellular organelles and membranes, in Rickwood D(ed): *Centrifugation(a practical approach)* ed 2. Oxford, IRL Press, 1984, pp 161-182.
- 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.*
- Halsted JA: The Laboratory in Clinical Medicine. *Interpretation and Application.* London, Saunders Co, 1976, pp 426-429.
- Himeno M, Nishimura Y, Tsuji H, et al: purification and characterization of microsomal and lysosomal β -glucuronidase from rat liver by use of immunoadfinity chromatography. *Eur J Biochem* 1976; 70: 349-359.
- Ho KJ, Ho LH, Kruger OR: Characterization and determination of the activity of biliary β -glucuronidase in rats. *J Lab Clin Med* 1979; 93: 916-925.
- Ho YC, Ho LH, Ho KJ: Human hepatic β -glucuronidase: An enzyme kinetic study. *Enzyme* 1985; 33: 9-17.
- Hoehn SK, Kanfer JN: L-Ascorbic acid and lysosomal acid hydrolase activities of quinea pig liver and brain. *Can J Biochem* 1978; 56: 352-356.
- Hoek JB, Rubin R, Thomas AP: Ethanol-induced phospholipase C activation is inhibited by phorbol esters in isolated hepatocytes. *Biochem J* 1988; 251: 865-871.
- Höök M, Wasteson A, Oldberg A: A heparan sulfate-degrading endoglycosidase from rat liver tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 67: 1422-1428.
- Hutabarat RM, Yost GS: Purification and characterization of an ethanol-induced UDP-glucuronosyltransferase. *Arch Biochem Biophys* 1989; 273: 16-25.
- Ide H, Fishman WH: Dual localization of β -glucuronidase and acid phosphatase in lysosomal and in microsomes. II. Membrane-associated enzymes. *Histochemie* 1969; 20: 300-321.
- Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J: *Metabolic Basis of Detoxication. Metabolism of Functional Groups,* New York, Academic Press, 1982, pp 5-317.
- Kaplan MM, Righetti A: Induction of rat liver alkaline phosphatase: The mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction. *J Clin Invest* 1970; 49: 508-516.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature, IUB,* New York, Academic Press, 1979, pp 280-281.
- 김효석, 박재용, 김은영, 광규식, 최용환, 정준모: 총담관결찰시 간세포의 초미형태학적 변화. 대한내과학회잡지 1989; 36: 459-470.
- 김여희, 광춘식, 정성광: Ethanol중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1989; 8: 113-121.
- 김여희, 광춘식, 정성광: Ethanol중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Aspartate Aminotransferase활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1990; 9: 87-95.
- 김여희, 이숙형, 광춘식, 문교철: 주정 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Alkaline Phosphatase활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1991a; 10: 18-27.
- 김여희, 박은미, 광춘식: Ethanol중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Leucine Aminopeptidase활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1991b; 10: 196-207.
- Kurtin WE, Schwesinger WH: Assay of β -glucuronidase in bile following ion pair extraction of pigment and bile acids. *Anal Biochem* 1985; 147: 511-516.
- 광춘식: 총수담관을 결찰한 흰쥐의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 Actinomycin D의 영향. 경북의대잡지 1980; 21: 126-134.
- 광춘식, 장억규: 흰쥐 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 1-27.
- 광춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간의 Plasma Membrane, Mitochondria 및 Microsome의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 67-76.
- 광춘식, 광정식: 흰쥐 간세포 분획법. I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5: 45-53.
- 광춘식, 이상일: 흰쥐 담즙울체 간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 131-137.
- 광춘식, 박은미, 문교철, 김여희: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Peroxidase 및 Glutathione Reductase활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1989; 8: 268-281.
- LaBaume LB, Merrill DK, Glary GL, et al: Effect of acute ethanol on serine biosynthesis in liver. *Arch Biochem Biophys* 1987; 256: 569-577.
- Lieber CS: Alcohol metabolism, in Hall P(ed): *alcoholic Liver Disease, Pathobiology, Epidemiology and Clinical Aspects.* Frome and London, Edward Arnold Ltd, 1985, pp 1-24.

- Liu SJ, Ramsey RK, Fallon HJ: Effect of ethanol on hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 369-378.
- Matsuzaki S, Lieber CS: Increased susceptibility of hepatic mitochondria to the toxicity of acetaldehyde after chronic ethanol consumption. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 75: 1059-1065.
- Miller BF, Keyes FP, Curreri PW: Bata-glucuronidase activity in serum increased by coronary-artery atherosclerosis. *Science* 1966a; 152: 775-776.
- Miller BF, Keyes FP, Curreri PW: Increase of serum bata-glucuronidase activity in human diabetes mellitus. *JAMA* 1966b; 195: 189-192.
- Miller BF, Keyes FP, Curreri PW: Increased activity of serum beta-glucuronidase in patients with coronary artery disease. *J Atheroscler Res* 1967; 7: 591-600.
- Moritz M, Snodgrass PJ: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology* 1972; 62: 93-100.
- Moro L, De Bernard B, Gonano F: Properties of β -glucuronidase activity in human synovial fluid. *Clin Chim Acta* 1975; 65: 371-377.
- Musa BU, Doe RP, Seal US: Purification and properties of human liver β -glucuronidase. *J Biol Chem* 1965; 240: 2811-2816.
- Nagasue N, Inokuchi K, Kanashima R: Serum activities of lysosomal enzymes in patients with liver cell carcinoma. *Dig Dis Sci* 1982; 27: 454-458.
- Nakano M, Worner TM, Lieber CS: Perivenular fibrosis in alcoholic liver injury: Ultrastructure and histologic progression. *Gastroenterology* 1982; 83: 777-785.
- Owens JW, Stahl P: Purification and characterization of rat liver microsomal β -glucuronidase. *Biochim Biophys Acta* 1976; 438: 474-486.
- 박은미: 흰쥐 담즙울체간의 α -D- 및 β -D-Mannosidase, α -D- 및 β -D-Glucosidase와 β -D-Glucuronidase의 활성도. 계명대학교대학원, 박사학위논문, 1990, 1-55.
- Potier M, Gianetto R: β -Glucuronidase isozymes of rat liver lysosomes. *Can J Biochem* 1973; 51: 973-979.
- Powell PP, Kyle JW, Miller RD, et al: Rat liver β -glucuronidase cDNA cloning, sequence comparisons and expression of a chimeric protein in COS cell. *Biochem J* 1988; 250: 547-555.
- Righetti ABB, Kaplan MM: Effects of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 491-495.
- Ritchie JM: The aliphatic alcohols, in Gilman AG, Goodman LS, Gilman A(eds): *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, ed 7. New York, Macmillan Publishin Co Inc, 1980, pp 376-388.
- Savolainen MJ, Baraona E, Leo MA, et al: Pathogenesis of the hypertriglyceridemia at early stages of alcoholic liver injury in the baboon. *J Lipid Res* 1986; 27: 1073-1083.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985a, pp 1-14.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985b, pp 346-360.
- Simon G, Altman S: Increased serum glycosidase activity in human hypertension. *Clin Exp Theo Prac* 1984; A6: 2219-2233.
- Smith K, Ganschow RE: Turnover of murine β -glucuronidase comparison among liver, kidney, and spleen and between lysosomes and microsomes. *J Biol Chem* 1978; 253: 5437-5442.
- Stahl PD, Fishman WH; β -D-Glucuronidase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M(eds); *Method of Enzymatic Analysis*, ed 3. Weinheim, Verlag Chemie GmbH, 1984, Vol IV, pp 246-256.
- Takagaki K, Nakamura T, Majima M, et al: Isolation and characterization of a chondroitin sulfatedegrading endo β -glucuronidase from rabbit liver. *J Biol Chem* 1988; 263: 7000-7006.
- Toda G, Ikeda Y, Kako M, et al: Mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction: An experimental study. *Clin Chim Acta* 1980; 107: 85-96.
- Uchida T, Kao H, Quispe-Sjogren M, et al: Alcoholic Foamy degeneration. A pattern of acute alcoholic injury of the liver. *Gastroenterology* 1983; 84: 683-692.
- Urban JL, Unsworth BR: Lysosomal enzyme release associated with the invasion of rat liver by Novikoff hepatoma. *Experientia* 1977; 33: 1217-1219.
- Venkatesan S, Ward RJ, Peters TJ: Effect of chronic ethanol feeding on the hepatic secretion of very-low-density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1988; 960: 61-66.
- Wands JR, Carter EA, Bucher NLR, et al: Inhibition of hepatic regeneration in rats by acute and chronic ethanol intoxication. *Gastroenterology* 1979; 77: 528-531.

- Weissman G: *Lysosome* II, *N Engl J Med* 1965; 273: 1143-1149.
- Williams CH, Keys JE: β -Glucuronidase activity in the serum and liver of rats treated with parathion. *Toxicol Appl Pharmacol* 1970; 16: 533-539.
- Wooddell WJ: Liver disease in alcohol addicted patients. in Davidson SV(ed); *Alcoholism and Health*. Century Boulevard, Aspen system Co, 1980, pp 125-134.
- Woolen JW, Walker PG: The fluorimetric estimation of β -glucuronidase in blood plasma. *Clin Chim Acta* 1965; 12: 659-669.
- Yamada S, Fujiwara K, Masaki N, et al: Evidence for potentiation of lipid peroxidation in the rat liver after chronic ethanol feeding. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 627-632.

= Abstract =

Effect of Common Bile Duct Ligation on Serum and Liver β -D-Glucuronidase Activities in Ethanol Intoxicated Rats

You Hee Kim, MD; Jong Sool Ihm, MD; Chun Sik Kwak, PhD

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

The activities of the liver and serum β -D-glucuronidase were studied when cholestasis was induced by common bile duct ligation in rats and chronic ethanol intoxication developed, or cholestasis following acute ethanol intoxication for manifestation of the biochemical background of alcohol intoxication in hepatobiliary disease.

When common bile duct was ligated in the rats, lysosomal and microsomal β -D-glucuronidase activities in the cholestatic liver and activity of β -D-glucuronidase in the serum showed a considerable increase.

When common bile duct was ligated after chronic ethanol intoxication, the activities of liver lysosomal β -D-glucuronidase decreased more significantly than in the group with common bile duct ligation, while the activities of liver microsomal β -D-glucuronidase and serum β -D-glucuronidase increased more significantly than in the group with common bile duct ligation performed.

The activities of liver lysosomal and microsomal β -D-glucuronidase and serum β -D-glucuronidase in the group with 14th day after common bile duct ligation increased markedly, and the same was seen in the group with acute ethanol intoxication after common bile duct ligation.

At the 24th hour following the acute intoxication with ethanol done after 14days of the common bile duct ligation, the rats showed more remarkable increase in the serum β -D-glucuronidase activity than the group only with the 14th day after the common bile duct ligation.

In summary, the liver lysosomal β -D-glucuronidase seem to be an enzyme which decreases activities in chronic ethanol intoxication with cholestasis more than in cholestasis. And the liver microsomal β -D-glucuronidase seem to be an enzyme which increases activities in chronic ethanol intoxication with cholestasis more than in cholestasis. The causes of the increase or the decrease seems to be the development or the retardment of biosynthesis.

Especially, when the acute and chronic ethanol intoxication with cholestasis occurred, the sera β -D-glucuronidase are higher than in cholestasis because of increased liver cell damage, which causes the enzyme to leak into the blood in great quantity. Accordingly, these results will be the data supporting alcoholic drink is enzymologically harmful in hepatobiliary disease.

Key Words: Cholestasis, Ethanol intoxication, β -D-Glucuronidase