

## 흰쥐 재생간의 Rhodanese의 활성화\*

계명대학교 의과대학 생화학교실

김여희 · 조경일 · 곽춘식

### 서 론

Rhodanese(thiosulfate: cyanide sulfurtransferase, EC 2. 8. 1. 1)는 cyanides, sulfites, organic sulfinates 및 dithiols을 sulfur conjugation하여 배설시키는 해독과정을 촉매하는 효소이며(Westley, 1973; Kim, 1979; Westley, 1980; Westley, 1981) 포유동물의 간에 주로 분포되어 있다(Westley, 1973; Westley, 1980). 이 효소는 혈중에도 출현되며(Drawbaugh와 Marrs, 1987) 간세포에서는 mitochondria에 많은 양이 존재한다(Koj 등, 1975; Westley, 1980).

간은 물질대사의 중추기관으로서 다양한 기능을 가진 장기이며(Sherlock, 1985), 특히 간은 체외로부터 흡수되거나 체내에서 생성된 유해물질을 해독하여 배설시키는 해독기구를 가짐으로써 생체를 보호하고 있다(Jakoby 등, 1982).

간에 손상이 야기되면 간은 손상을 수복하기 위해 재생이 활발해지는 것(Matsumoto와 Nakamura, 1991; Tomiya 등, 1992)으로 알려져 있다. 그러나 간의 재생에 대한 생화학적 지견은 분명치 않은 점이 많다. 간재생이 활발한 재생간의 생화학적 연구를 위해서는 흰쥐의 간엽을 부분 절제하여 형성된 재생간을 실험적 model로 이용하고 있다. 흰쥐의 간엽을 부분 절제하면 잔류된 간엽은 급격히 재생되며(Becker, 1963; Ksukada와 Lieberman, 1964; Lieberman과 Kane, 1965), 재생이 왕성한 시기의 재생간에서는 대사의 속도를 조절하기 위해 여러 효소들의 활성도가 변동된다. 특히 재생간에서 활성도가 변동되는 효소들 중에서는 해독에 관계하는 효소들의 활성도가 변동이 심하다(Lamy 등, 1973; Principato 등, 1983; 김여희 등, 1987; 김여희 등, 1988; 곽춘식 등, 1988; 문교철 등, 1988; 곽춘식 등,

1989; 김홍열과 곽춘식, 1991; 문교철 등, 1990)고 한다.

Rhodanese도 해독효소로서 포유동물의 간에서 합성되고(Westley, 1973; Westley, 1980; Jakoby 등, 1982) 혈중에도 유리되기(Drawbaugh와 Marrs, 1987) 때문에 간엽 절제 후의 재생간조직과 혈청에서 그 활성도의 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 간엽 절제 후 혈청과 재생간에서 그 활성도의 변동에 대한 보고는 찾아 볼 수 없었다.

이 연구는 재생간에서 rhodanese의 활성화 변동과 그 변동 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행한 실험으로서 흰쥐간의 중엽과 좌측외엽을 절제한 후 12시간부터 10일까지의 혈청과 재생간의 세포질, mitochondria 및 microsome에서 이 효소의 활성도를 측정하였으며 또한 흰쥐의 간엽을 절제한 후 1일 경과한 쥐의 재생간에서 이 효소의 Km치와 Vmax치도 함께 측정하여 이들 성적을 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**동물 및 처치:** 동물은 4주이상 같은 조건으로 사육한 체중 320-360g이 되는 Sprague-Dawley종 수컷흰쥐를 사용하였으며 가수술과 간엽 절제 수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 쥐를 각각 5마리씩 죽여 실험에 제공하였다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전 후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양사료 주식회사 제품의 실험 동물 사료를 먹도록 하였다.

간엽 절제 수술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식 시킨 후 가능한 한 무균 상태를 유지하면서 ether 마취하에서 실시하였다. 흰쥐의 간엽 절제 수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2cm 절개하여 간의 중엽과 좌측 외엽을

\* 이 논문은 1993년도 계명대학교 을종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음.

복강 밖으로 압출하고 인접 조직사이의 인대를 절단한 후 간엽의 기저부위를 절찰한 뒤 간엽을 절제하였다. 절제한 간엽은 전체 간의 약 70%가 되며 이것을 원래간(original liver)이라 부르기로 하였다. 절제한 원래간은 0.25M sucrose액으로 잘 씻고 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 혈액을 가능한 한 모두 제거하였다. 가수술은 단순개복술만 시행하였다.

**시 약:** Potassium cyanide, sodium thiosulfate pentahydrate, formaldehyde, ferric nitrate, ferric thiocyanate, rhodanese(type II, from bovine liver) 및 단백질준액(10g/100ml bovine albumin) 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며 그외 일반시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

**간 적출 및 세포 분획:** 간엽 절제군에서 재생간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사시켰다. 그리고는 간문맥에 삼관한 후 4℃의 0.25M sucrose액으로 관류하여 간에 남아있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다.

한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻고 곧 효소활성도를 측정하였다.

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2~4℃로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그중 5g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣은 다음 teflon glass homogenizer(Thomas사 제품, chamber clearance 0.005-0.007 inches)로 2~4℃를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose linear density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄균질액을 571 ×g(average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 7,796 ×g에서 20분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 104,000 ×g에서 1시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었다. 이때 얻은 상청액을 cytosol분획으로 사용하였다. 그리고 위의 과정에서 얻은 pellet를 0.25M sucrose액에 재현탁시키고 이액을 10~35w/v% sucrose linear density

gradient용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500 ×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 원심분리관 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 ×g에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet를 0.25M sucrose액에 현탁시키고 이액을 20~45w/v% sucrose linear density gradient용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 45,200 ×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25M sucrose액에 재현탁시켜 7,796 ×g에서 20분간 원심분리하여 pellet를 얻었으며 이것을 mitochondria 분획으로 사용하였다.

위의 세포분획법에서 모든 조작은 2~4℃에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 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:** Rhodanese 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 cytosol과 mitochondria 분획을 단백질량으로 5mg/10ml가 되도록 0.25M sucrose액에 현탁시켜 사용하였으며 microsome분획은 단백질량으로 5mg/ml가 되도록 0.25M sucrose액으로 현탁시켜 사용하였다.

**효소 활성도 측정:** 혈청과 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome분획의 rhodanese의 활성도 측정은 시료와 함께 potassium cyanide와 sodium thiosulfate를 기질로 사용하여 25℃에서 20분간 반응시키는 동안에 생성된 thiocyanate(SCN<sup>-</sup>)를 ferric nitrate와 반응시켜 생성된 ferric thiocyanate를 460nm 파장에서 비색하여 효소의 활성도를 산출하는 Westley(1981)의 법에 의하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1ml의 혈청 또는 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 ferric thiocyanate를 nmol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제된 효소를 사용하여 검증하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 그리고 이 실험에서 효소 활

성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varian, Cary 210)였다.

**Km치 및 Vmax치의 측정 :** 간엽절제술 후 1일 경과한 흰쥐의 간세포 분획 시료와 효소기질의 원액과 희석액들을 사용하여 rhodanese 활성도를 측정한다. 이들 성적으로부터  $1/v_i$ 치를 그리고 기질농도로부터  $1/[S]$ 치를 계산하여 이중 역수도(double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출(Segel, 1976)하였다.

**단백 정량 :** 효소시료 중의 단백질 정량은 0.5M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3 : 1)으로 단백을 정제(Greenberg와 Rothstein, 1957)한 다음 biuret법(Gornall 등, 1949)으로 정량하였다.

**성적 검정 :** 유의성 검정은 Student's t-test로 하였다.

성 적

흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 cytosolic, mito-

chondrial 및 microsomal rhodanese 활성화도의 변동 : 간엽 절제 후 경시적으로 측정된 흰쥐 재생간의 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal rhodanese 활성화도의 변동은 표 1, 2 및 3과 같다.

간엽 절제 후 재생간의 cytosolic rhodanese의 활성화도는 간엽 절제 후 1일부터 6일까지 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다(표 1). 재생간의 mitochondrial rhodanese 활성화도는 간엽 절제 후 1일부터 3일까지 약간의 감소를 나타내었다(표 2).

쥐 원래간의 microsomal rhodanese 활성화도는 원래간의 cytosolic rhodanese 활성화도에 비해 약 1/13, mitochondrial rhodanese 활성화도에 비해서는 약 1/18의 낮은 활성화도를 나타내었다. 그리고 재생간의 microsomal rhodanese 활성화도는 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 약간의 증가를 나타내었다(표 3).

Table 1. Activities of cytosolic rhodanese of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Rhodanese activities (nmol ferric thiocyanate mg protein <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	
	Original liver	Regenerating liver
0.5	3,055 ± 332	2,948 ± 326
1	3,070 ± 315	2,192 ± 308 <sup>b</sup>
2	3,041 ± 306	2,166 ± 314 <sup>b</sup>
3	3,028 ± 296	2,237 ± 321 <sup>b</sup>
6	3,017 ± 287	2,320 ± 318 <sup>b</sup>
10	3,008 ± 278	2,908 ± 334

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

b: P<0.05

Table 2. Activities of mitochondrial rhodanese of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Rhodanese activities (nmol ferric thiocyanate mg protein <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	
	Original liver	Regenerating liver
0.5	4,315 ± 896	4,176 ± 859
1	4,306 ± 907	3,628 ± 723
2	4,298 ± 912	3,762 ± 712
3	4,284 ± 904	4,073 ± 826
6	4,262 ± 891	4,272 ± 884
10	4,254 ± 862	4,298 ± 895

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

간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간에서 cytosolic 및 microsomal rhodanese의 Km치 및 Vmax치의 변동: 은 표 4와 같다.  
 microsomal rhodanese의 Km치 및 Vmax치의 변동: 은 표 4와 같다.  
 간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간의 cytosolic 및

Table 3. Activities of microsomal rhodanese of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Rhodanese activities (nmol ferric thiocyanate mg protein <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	
	Original liver	Regenerating liver
0.5	245.2 ± 67.4	318.6 ± 74.1
1	248.5 ± 58.7	324.3 ± 69.8
2	239.7 ± 62.3	256.7 ± 64.7
3	234.8 ± 52.8	245.5 ± 55.9
6	235.2 ± 54.1	242.3 ± 53.2
10	232.2 ± 51.2	236.2 ± 54.1

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

Table 4. Rhodanese kinetic parameters from regenerating rat liver determined with sodium thiosulfate

cell fractions	Km(mM)		Vmax(nmol ferric thiocyanate mg protein <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
Cytosol	245 ± 43	237 ± 49	3,684 ± 343	2,801 ± 369 <sup>b</sup>
Microsome	596 ± 131	584 ± 136	293 ± 62	406 ± 83 <sup>a</sup>

Michaelis-Menten constants for rhodanese were determined using sodium thiosulfate and potassium cyanide at 25°C for cytosolic and microsomal fractions of original livers and regenerating rat livers at the 1st day after partial hepatectomy.

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

a: P<0.05, b: P<0.01

Table 5. Activities of serum rhodanese after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Rhodanese activities (nmol ferric thiocyanate ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	
	Sham	Hepatectomy
0.5	204.5 ± 52.9	155.3 ± 48.2
1	207.4 ± 55.2	127.1 ± 39.3 <sup>a</sup>
2	205.6 ± 53.3	80.2 ± 41.9 <sup>b</sup>
3	206.2 ± 54.8	90.6 ± 44.2 <sup>b</sup>
6	209.1 ± 53.6	124.8 ± 38.3 <sup>a</sup>
10	208.4 ± 52.4	201.5 ± 53.8

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

a: P<0.05, b: P<0.01

간엽 절제 후 1일 재생간에서 cytosolic 및 microsomal rhodanese의 Km치는 별 변동이 없었다. 그러나 재생간의 Vmax치는 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었고 microsomal rhodanese의 Vmax치는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다.

흰쥐에서 간엽 절제 후 혈청의 rhodanese 활성도의 변동 : 간엽 절제 후 경시적으로 측정된 혈청의 rhodanese 활성도의 변동은 표 5와 같다. 간엽 절제 후 혈청의 rhodanese 활성도는 간엽 절제 후 1일부터 6일까지 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다.

## 고 찰

흰쥐에서 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제하면 잔류 간엽은 급격히 재생되어 증식 비대해지며(Becker, 1963; Ksukada와 Lieberman, 1964; Lieberman과 Kane, 1965; 김중태, 1968; 김동성, 1968) 이때 간 조직은 재생을 위해 핵산과 단백질합성이 활발해진다(Becker, 1963; Lieberman과 Kane, 1965; Bucher, 1967; 김동성, 1968; 권기정과 유호열, 1969). 이와 같은 간재생이 활발한 시기의 재생간에서 그 활성도가 변동되는 해독효소들은 많으며 그 중에서 활성도가 증가되는 해독효소들은 monoamine oxidase(분교철 등, 1988), alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, microsomal ethanol oxidizing system(김여희 등, 1988) 및 glyoxalase I(Principato 등, 1983)이며 그 활성도가 감소되는 해독효소들은 glutathione S-transferase, glutathione peroxidase(곽춘식 등, 1989), xanthine oxidase, superoxide dismutase(김여희 등, 1987), catalase(Lamy 등, 1973), cholinesterase(분교철 등, 1990), carboxylesterase 및 arylesterase(김홍열과 곽춘식, 1991) 등을 들 수 있다.

간세포에 존재하는 해독효소들은 간의 재생기에 간조직에서 그 활성도가 변동된다. 따라서 이 실험에서 측정된 rhodanese도 간세포에 주로 존재하는(Westley, 1973; Westley, 1980) 만큼 간의 재생이 활발한 시기에는 그 활성도가 변동될 수 있을 것이다.

이 실험에서는 흰쥐의 중엽과 좌측외엽을 절제한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일의 재생간에서 세포질, mitochondria 및 microsome의 rhodanese 활성도를 측정하여 그 변동을 알아내는 한편 혈

청에서도 이 효소활성도를 측정하였다. 또한 간에서 이들 해독효소의 활성도 변동기전의 일단을 알아보기 위하여 간엽절제 후 1일 경과한 쥐의 재생간에서 이 효소의 Km치와 Vmax치를 측정하였다.

이 실험에서 흰쥐의 간엽을 절제한 후 재생간에서 cytosolic rhodanese 활성도는 간엽절제 후 1일부터 6일까지 유의한 감소를 나타내었으며 재생간의 mitochondrial rhodanese 활성도도 간엽 절제 후 1일부터 3일까지 약간의 감소를 나타내었다. 그러나 재생간의 microsomal rhodanese 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 약간의 증가를 나타내었다. 특히 이 실험 성적에서 원래간의 microsomal rhodanese 활성도는 원래간의 cytosolic rhodanese 활성도에 비해 약 1/13, 원래간의 mitochondrial rhodanese 활성도에 비해서는 약 1/18의 낮은 활성도를 나타내었기 때문에 재생간에서 microsomal rhodanese 활성도가 약간 증가되었더라도 간의 총 rhodanese 활성도 변동에는 별 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 따라서 이 실험 성적은 재생간에서 총 rhodanese는 간재생이 왕성한 시기에 그 활성도가 감소되는 것으로 생각된다.

이 실험에서 흰쥐의 간엽을 절제한 후 1일째의 재생간에서 cytosolic 및 microsomal rhodanese의 Km치는 변동이 없었다. 그러나 재생간의 cytosolic rhodanese의 Vmax치는 유의한 감소를 나타내었고 microsomal rhodanese의 Vmax치는 유의한 증가를 나타내었다. 이와같이 재생간에서 이들 효소의 Km치가 변동이 없으면서도 그 활성도가 감소 또는 증가되고 또한 그 Vmax치가 감소 또는 증가된 것들만 때 재생간에서 이들 효소의 활성도가 감소 또는 증가된 것은 촉매효율의 변동으로 인해 나타난 결과라 보기는 어렵다. 따라서 이 실험에서 재생간의 cytosolic rhodanese 활성도가 감소된 것은 이 효소의 합성이 감소된 것으로 생각되며 또한 이 실험에서 microsomal rhodanese 활성도가 증가된 것은 이 효소의 합성이 증가되어 나타난 결과라 생각된다.

이 실험에서 흰쥐의 혈청의 rhodanese 활성도는 간엽 절제 후 1일부터 6일까지 유의한 감소를 나타내었다. 이 성적은 분명하게 설명하기는 어려우나 재생간에서 총 rhodanese 량의 감소로 인해 이 효소의 간세포외로의 유리가 감소되어 나타난 결과가 아닌가 생각된다.

재생기의 간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백질 합성이 증가되고(Becker, 1963;

권기징과 유호열, 1969) 아올리 열량소 대사도 활발해진다(Srinivason과 Misra, 1980; Schofield 등, 1985; Schofield 등, 1987; Nagino 등, 1989)고 한다. 바로 이 현상은 간재생을 위해 필수적인 것으로 생각된다. 특히 이러한 현상과 함께 재생간에서의 대사는 간재생을 위해 유리한 쪽으로 먼저 대사가 진행되는 것이라는 설이 있고(정기용 등, 1986; 문교철 등, 1988; 광춘식 등, 1989) 보면 이 실험에서 측정된 rhodanese는 간재생과는 무관한 효소가 아닌가 생각된다. 그리고 이 실험만으로는 재생간에서 이 효소의 활성도 변동이 어떤 원인에 의한 것인지는 분명치 않다. 따라서 재생간에서의 이 효소 활성도의 변동 원인과 기전을 분명히 알기 위해서는 앞으로 더욱 추구해 보아야 하겠다.

요 약

재생간에서 rhodanese의 활성도 변동을 알아보기 위하여 시행한 실험으로서 흰쥐간의 중엽과 좌측외엽을 절제하고 12시간부터 10일까지의 혈청과 재생간의 세포질, mitochondria 및 microsome에서 이 효소의 활성도를 측정하는 한편 재생간에서 이 효소의 Km치와 Vmax치도 함께 측정하였다.

간엽 절제 후 흰쥐 재생간의 cytosolic rhodanese 활성도는 간엽 절제 후 1일부터 6일까지 유의한 감소를 나타내었다. 재생간의 mitochondrial rhodanese도 간엽 절제 후 1일부터 3일까지 약간 감소를 나타내었다. 그러나 재생간의 microsomal rhodanese 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 약간 증가를 나타내었다.

간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간에서 cytosolic 및 microsomal rhodanese의 Km치는 변동이 없었다. 그러나 재생간이 cytosolic rhodanese의 Vmax치는 유의한 감소를 나타내었고 microsomal rhodanese의 Vmax치는 유의한 증가를 나타내었다.

간엽 절제 후 흰쥐 혈청의 rhodanese 활성도는 간엽 절제 후 1일부터 6일까지 유의한 감소를 나타내었다.

이상 결과로 보아 흰쥐의 재생간에서 cytosolic rhodanese 활성도가 감소되고 microsomal rhodanese의 활성도가 증가된 것은 이들 효소의 합성이 증가 또는 감소되어 나타난 결과라 생각된다.

참 고 문 헌

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.

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

Drawbaugh RB, Marrs TC: Interspecies differences in rhodanese(thiosulfate sulfurtransferase, EC 2. 8. 1. 1) activity in liver, kidney and plasma. *Comp Biochem Physiol [B]* 1987; 86: 307-310.

Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J 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.

Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J: *Metabolic Basis of Detoxication. Metabolism of Functional Groups*. New York, Academic Press, 1982, pp 5-317.

Kim BK: *Enzyme Nomenclature, IUB*. New York, Academic Press, 1979, pp 228-231.

김동성: 백서에 있어서 간엽절제 후 재생시기의 간 단백질 및 혈청 단백질의 합성속도에 관하여. *현대의학* 1968; 8: 129-135.

김홍열, 광춘식: 흰쥐 재생간의 Carboxylesterase 및 Arylesterase의 활성도. *계명의대논문집* 1991; 10: 147-157.

김종태: 재생간의 in vitro에 있어서의 단백질합성과 humoral factor. *경북의대잡지* 1968; 9: 39-46.

김여희, 문교철, 광춘식, 정성광: 흰쥐 재생간의 알콜대사 효소들의 활성치. *계명의대논문집* 1988; 7: 280-287.

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

- Koj A, Frendo J, Wojtczak L: Subcellular distribution and intramitochondrial localization of three sulfurtransferases in rat liver. *FEBS Lett* 1975; 57: 42-46.
- Kasukada K, Lieberman I: Metabolism of ribonucleic acid after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1964; 239: 1564-1568.
- 광춘식, 김여희, 문교철, 이숙형: 흰쥐 재생간의 Glutathione S-Transferase 및 Glutathione Reductase의 활성화. 계명의대논문집 1989; 8: 78-86.
- 광춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들이 활성화. 계명의대논문집 1988; 7: 64-75.
- 광춘식, 광정식: 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5: 45-53.
- 권기경, 유희열: Ethionine이 백서 재생간의 단백질 합성에 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 ribosome in the liver after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1965; 240: 1737-1741.
- Matsumoto K, Nakamura T: Molecular structure and function of hepatocyte growth factor. *Metabolism(Jpn)* 1991; 28: 599-618.
- 문교철, 김여희, 이숙형, 광춘식: 흰쥐 재생간의 Cholinesterase의 활성화도. 계명의대논문집 1990; 9: 98-102.
- 문교철, 박은미, 김여희, 광춘식: 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성화. 계명의대논문집 1988; 7: 258-265.
- Nagino M, Tanaka M, Nishikimi M, et al: Stimulated rat liver mitochondrial biogenesis after partial hepatectomy. *Cancer Res* 1989; 49: 4913-4918.
- Principato GB, Locci P, Rosi G, et al: Activity changes of glyoxalases I - II and glutathione reductase in regenerating rat liver. *Biochem Int* 1983; 6: 249-255.
- Schofield PS, McLees DJ, Myles DD, et al: Ketone-body metabolism after partial hepatectomy in the rat. *Biochem J* 1985; 231: 225-228.
- Schofield PS, Sugden MC, Corstorphine CG, et al: Altered interactions between lipogenesis and fatty acid oxidation in regenerating rat liver. *Biochem J* 1987; 241: 469-474.
- Segel IH: *Biochemical Calculations*, ed 2, New York, John Wiley and Sons Inc, 1976, pp 214-246.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985, pp 79-80.
- Srinivasan CN, Misra UK: Effect of actinomycin D on serum betalipoproteins of partially hepatectomized dogs. I, II, III, *Biochem Exp Biol* 1980; 16: 55-86.
- Tomiya T, Tani M, Yamada S, et al: Serum hepatocyte growth factor levels in hepatectomized and nonhepatectomized surgical patients. *Gastroenterology* 1992; 103: 1621-1624.
- Westley J: Rhodanese. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1973; 39: 327-368.
- Westley J: Rhodanese and the sulfane pool, in Jakoby WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York, Academic Press, 1980, Vol II, pp 245-262.
- Westley J: Thiosulfate: cyanide sulfurtransferase(Rhodanese), in Jakoby WB(ed): *Methods in Enzymology*. New York, Academic Press, 1981, Vol 77, pp 285-291.

=Abstract=

## **Rhodanese Activity in Regenerating Liver after Partial Hepatectomy in Rats**

**You Hee Kim, MD; Kyung Il Jo, MD; Chun Sik Kwak, PhD**

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

A study was made on changes of rhodanese activity in regenerating rat liver. Cytosolic, mitochondrial and microsomal rhodanese activities were determined in regenerating liver following 70%(median and left lateral lobes) partial hepatectomy in rats over a period of ten days. The activity of the rhodanese in serum was measured together with the above determination of hepatic enzymes. The values of Km and Vmax in these hepatic enzymes were measured.

The activity of cytosolic rhodanese in regenerating rat liver decreased significantly between the first and the sixth day following partial hepatectomy. The activity of mitochondrial rhodanese in regenerating rat liver decreased slightly between the first and the third day following partial hepatectomy.

However, the activity of microsomal rhodanese in regenerating rat liver increased slightly between the twelfth hour and the first day following partial hepatectomy.

The value of Vmax of the cytosolic rhodanese in regenerating rat liver showed a significant decrease at the first day following partial hepatectomy, while the Vmax value of the microsomal rhodanese in their livers showed a significant increase. On the other hand, the values of Km of the above hepatic enzymes did not change.

The rhodanese activity in serum decreased significantly between the first and the sixth day following partial hepatectomy.

Summarizing the view of the above results, cytosolic rhodanese in regenerating rat liver seems to be an enzyme decreasing in its biosynthesis in the regenerating stage, but microsomal rhodanese in the regenerating liver seems to be an enzyme increasing in its biosynthesis.

**Key Words:** Regenerating liver, Rhodanese