

## 흰쥐 재생간에서의 Glucose-6-Phosphate Isomerase 및 Fructose-1,6-Bisphosphate Aldolase의 활성도

계명대학교 의과대학 생화학교실 및 의과학연구소

김일경 · 문교철 · 곽춘식

=Abstract=

### Glucose-6-Phosphate Isomerase and Fructose-1,6-Bisphosphate Aldolase Activities in Regenerating Rat Liver after Partial Hepatectomy

Il Kyung Kim, M.D., Kyo Cheol Mun, M.D., and Chun Sik Kwak, Ph.D.

*Department of Biochemistry,*

*Keimyung University School of Medicine & Institute for Medical Science, Taegu, Korea*

This study was made in order to understand the changes involved with glucose-6-phosphate isomerase(GPI) and fructose-1, 6-bisphosphate aldolase(ALS) activities in regenerating rat liver

Cytosolic, mitochondrial and microsomal GPI and ALS activities were determined in regenerating liver tissue following 70%(median and left lateral lobes) partial hepatectomy in rats for a period of ten days. The activities of these enzymes in serum were also measured.

The activities of cytosolic and microsomal GPI in regenerating rat liver tissue showed a significant increase from the twelfth hour to the sixth day, and the from twelfth hour to the first day, respectively, following the partial hepatectomy. However, the mitochondrial GPI activity did not change

The activities of both cytosolic and mitochondrial ALS in regenerating rat liver tissue showed a significant increase from the first day to the second day following the partial hepatectomy. However, microsomal ALS in regenerating liver tissue increased significantly from the twelfth hour to the second day following the partial hepatectomy.

The activities of both GPI and ALS in rat serum showed a significant increase from the twelfth hour to the third day following the partial hepatectomy.

In view of the above results, the presence of both GPI and ALS in regenerating rat liver suggest the enzymes increase their biosynthesis in the regenerating stage

**Key words :** Fructose-1,6-bisphosphate aldolase, Glucose-6-phosphate isomerase, Regenerating rat liver

## 서 론

Fructose-1, 6-bisphosphate aldolase (D-fructose-1, 6-diphosphate D-glyceraldehyde-3-phosphate-lyase, EC 4, 1, 2, 13 이하 ALS라 함)는 D-fructose-1,6-bisphosphate로부터 glyceraldehyde 3-phosphate와 dihydroxyacetone phosphate 또는 D-fructose-1-phosphate로부터 glyceraldehyde와 dihydroxyacetone phosphate로 서로 가역적으로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이며(Wilkinson, 1976-Kim, 1984a) 특히 당분해 과정중에서 D-fructose-1,6-bisphosphate를 glyceraldehyde-3-phosphate와 dihydroxyacetone phosphate로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이다(Mayes, 1993a).

포유동물에서 이 효소는 꿀격근, 심, 간, 신, 부신, 비, 흉선, 혀의 순으로 풍부하게 분포되어 있으며(Dixon and Webb, 1978) 혈중에도 출현한다(Visnapuu et al, 1989)

또한 포유동물에서 이 효소는 A,B 및 C 3종의 isozyme으로 존재하며(Rutter et al, 1968 : Penhoet et al, 1969) 간세포에는 주로 ALS-B가 세포질, 세포핵 mitochondria 및 endoplasmic reticulum에 국재하는 것(Penhoet et al, 1969 ; Foemmel et al, 1975 ; Weiss et al, 1981)으로 알려져 있다.

Glucose-6-phosphate isomerase(D-glucose-6-phosphate ketol-isomerase, EC 5 3 1 9 이하 GPI라 함)는 당분해 경로 및 펜토스 인산 경로에서  $\alpha$ -D-glucose 6-phosphate와 D-fructose-6-phosphate를 서로 가역적으로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소로서(Wilkinson, 1976 ; Kim, 1984b , Mayes : 1993a & b) 포유동물에서는 꿀격근, 신, 간, 심, 뇌의 순으로 풍부하게 분포되어 있으며 혈중에도 출현한다(Pai, 1969 : Wilkinson, 1976 ; Dixon and Webb, 1978) 그러나 조직에서는 이 효소가 세포질 분획이 주가 되는 세포의 가용성 분획에 존재한다는 것(Gracy, 1982 ; Mayes, 1993a & b)만 알려져 있을 뿐이다

간에 손상이 야기되면 간은 손상을 수복하기 위해 재생이 활발해지는 것(Matsumoto and Nakamura, 1991 ; Tomiya et al, 1992)으로 알려져 있다 그러나 간의 재생에 대한 생화학적 지견은 아직도 충분치 않다. 간재생이 활발한 재생간의 생화학적 연구를 위해서는 흰쥐의 간엽을 부분 절제하여 형성된 재생간을 실험적 모델로 이용하고 있다 흰쥐의 간엽을 부분 절제하면 잔류된 간엽은 급격히 재생

되며(Becker, 1963 ; Tsukada and Lieberman, 1964 ; Lieberman and Kane, 1965), 재생이 왕성한 시기의 재생간에서는 간재생을 위해 대사의 속도가 조절 된다는 것은 잘 알려진 사실이다. 특히 재생간에서는 열량소 대사가 활발하므로 이에 관여하는 여러 효소들의 활성도가 증가된다(Gear, 1965 ; Dzhivianian and Ter-Dganian, 1979-Stein et al, 1985-김여희 외, 1986 ; Nagino et al, 1989 ; Dixit et al, 1992 ; 류동수, 1993)

GPI와 ALS는 열량소인 당의 대사에 관여하는 효소(Mayes, 1993a & b)로써, 간에 풍부하고 혈중에도 유리되기 때문에 간엽 절제 후의 혈청과 재생간에서는 이들 효소의 활성도 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 자세한 보고는 찾아 볼 수 없었다

이 연구는 흰쥐간의 중엽과 좌측외엽을 절제한 후 12시간부터 10일까지 재생 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome과 혈청에서 GPI와 ALS의 활성도를 측정하여 재생간의 세포분획에서 이들 효소의 활성도 변동을 밝히고자 한 것이다

## 재료 및 방법

**동물 및 처치** 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~360 g이 되는 Sprague-Dawley종 숫흰쥐를 사용하였으며 가수술과 간엽 절제 수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 쥐를 각각 5마리씩 실혈사시켜 실험에 제공하였다 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다 사료는 시판되는 삼양유지사료 주식회사 제품의 실험동물 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 ether마취하에서 실시하였다 흰쥐의 간엽 절제 수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2 cm 절개하여 간의 중엽과 좌측외엽을 복강 밖으로 압출하고 인접 조직사이의 인대를 결단한 후 간엽의 기저부위를 결찰한 뒤 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제하였다 절제한 간엽은 전체 간의 약 70%가 되며 이것을 원래간(original liver)이라 부르기로 하였다 그리고 절제한 원래간은 0.25 M sucrose액으로 잘 쟁고 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있던 혈액을 가능한 한 모두 제

거하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다

시약 : Tris(hydroxymethyl)aminomethane, fructose 6-phosphate, sodium azide, NADP( $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate sodium salt, Sigma grade), glucose-6-phosphate dehydrogenase (from torula yeast, G 7878), enzyme controls(2E, S 1005 and 2N, S 2005), fructose-1,6-bisphosphate aldolase Kit 시약(procedure No 752) 및 단백 표준액(10 g/100 ml bovine albumin)은 Sigma사 제품을 사용하였으며, 그 외 시약들은 시판하는 특급 또는 일급 품을 사용하였다.

간 적출 및 세포 분획 : 간엽 절제군에서 재생간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사 시켰다 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4°C의 0.25 M 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 효소 활성도를 측정하였다

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 Teflon glass homogenizer(Thomas사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inches)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10 % (w/v)의 간조직 균질액을 만들었다 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄균질액을 571  $\times$  g(average relative centrifugal force 이하 생략함)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 7,796  $\times$  g에서 20분간 원심분리하여 pellet와 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 104,000  $\times$  g에서 1시간 원심분리하여 pellet와 상청액을 얻었다. 이때 얻은 상청액을 cytosol분획으로 사용하였다. 그리고 위의 과정에서 얻은 pellet를 0.25 M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10~35 % (w/v) sucrose linear density gradient용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500  $\times$  g에서 15분간 원심분리하여 얻은 원심분리관 중앙부위와 상부에 형성된 pellet를 모아서 88,500  $\times$  g에서 1시간 원심분리하여 pellet를 얻고 다시 0.25 M sucrose액에 재

현탁시켜 88,500  $\times$  g에서 1시간 재원심분리하여 pellet를 얻었다. 이 pellet를 microsome 분획으로 사용하였다

한편 위의 7,796  $\times$  g에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet를 0.25 M sucrose액에 현탁시키고 이액을 20~45 % (w/v) sucrose linear density gradient용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 45,200  $\times$  g에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜 7,796  $\times$  g에서 20분간 원심분리하여 pellet를 얻었으며 이것을 mitochondria 분획으로 사용하였다

위의 세포분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 또한 이때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient용액의 제조는 gradient former(ISCO model 570)를 사용하였다

효소 시료 조제 : GPI와 ALS 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 cytosol, mitochondria 및 microsome분획을 단백질량으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose 액에 현탁시켜 사용하였다

효소 활성도 측정 . 혈청과 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome분획의 GPI 활성도 측정은 시료와 함께 fructose 6-phosphate를 기질로 사용하여 pH 8.7(50 mM tris buffer, pH 8.7), 25°C 조건에서 5분간 반응시키는 동안에 생성된 glucose 6-phosphate가 NADP 및 glucose 6-phosphate dehydrogenase 공존 하에서 6-phosphogluconate 와 NADPH로 전환될 때 340 nm 파장에서 증가하는 흡광도로써 효소 활성도를 정량하는 Bueding and Mackinnon(1955)의 방법에 의하였으며 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1 ml 혈청 또는 1 mg의 단백이 반응하여 생성한 NADPH를 nmol로 나타내었다.

혈청과 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 ALS 활성도 측정은 fructose 1,6-bisphosphate를 기질로 사용하여 pH 7.0(1.5 mM sodium fluoride in 0.3 M tris buffer, pH 7.0) 37°C 조건에서 30분간 반응시키는 동안에 생성된 glyceraldehyde 3-phosphate를 sodium hydroxide와 반응시켜 hydroxypyruvic aldehyde로 전환시킨 다음 2, 4 dinitrophenylhydrazine과 다시 반응시켜 생성된 hydrazone 을 alkal이로 발색시켜 560 nm 파장에서 비색정량하는 Siebly and Lehninger(1949)법을 응용한 Sigma사의

Kit 시약에 의하였다 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 ml 혈청 또는 1 mg의 단백이 반응하여 감소된 fructose 1,6-bisphosphate를 nmol로 나타내었다

이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 enzyme control을 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 각 효소 활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varn, Cary 210)였다

**단백질 정량:** 효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg and Rothstein (1957)법으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법(Gornall et al, 1949)으로 정량하였다

성적 검정 유의성 검정은 Student's t-test로 하였으며 유의수준은 0.05이하로 하였다

## 성 적

흰쥐간 세포분획에서 GPI의 국재소 취간 세포분

획에서 GPI의 국재소는 cytosol, mitochondria 및 microsome이었으며 이 중 GPI 활성도가 가장 높은 분획은 cytosol분획이었으며 가장 활성도가 낮은 분획은 mitochondria분획이었다(표 1).

흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal GPI의 활성도 변동: 간엽 절제 후 재생간의 cytosolic GPI의 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 6일까지 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었으며 재생간의 microsomal GPI의 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 유의한 증가를 나타내었다 그러나 mitochondrial GPI의 활성도는 재생간에서 별 변동을 나타내지 않았다(표 1)

흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal ALS의 활성도 변동. 간엽 절제 후 재생간의 cytosolic 및 mitochondrial GPI의 활성도는 다같이 간엽 절제 후 1일부터 2일까지 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다 재생간의 microsomal ALS의 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 2일까지 유의한 증가를 나타내었다(표 2)

흰쥐에서 간엽 절제 후 혈청의 GPI 활성도 변동

. 간엽 절제 후 혈청의 GPI 활성도는 간엽 절제 후

Table 1 Activities of cytosolic, mitochondrial, and microsomal glucose-6-phosphate isomerase in regenerating rat liver after partial hepatectomy

post hepatectomy days	Glucose-6-phosphate isomerase activities (nmol NADPH min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )					
	Cytosol		Mitochondria		Microsome	
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.5	507.7 ± 44.6	979.9 ± 87.4 <sup>c</sup> (93)*	37.2 ± 5.4	39.4 ± 6.7	81.4 ± 11.3	109.1 ± 14.2 <sup>b</sup> (34)
1	516.3 ± 43.9	950.0 ± 75.1 <sup>c</sup> (84)	38.3 ± 5.8	43.2 ± 7.3	80.6 ± 12.2	101.8 ± 13.1 <sup>a</sup> (26)
2	512.7 ± 47.1	932.1 ± 72.6 <sup>c</sup> (82)	37.8 ± 6.2	42.8 ± 8.1	82.1 ± 11.8	94.5 ± 12.4 (15)
3	507.5 ± 44.8	649.6 ± 63.7 <sup>b</sup> (28)	38.1 ± 6.6	41.9 ± 7.6	80.8 ± 12.7	92.4 ± 12.1 (14)
6	503.4 ± 46.2	632.3 ± 58.8 <sup>b</sup> (26)	37.6 ± 6.0	39.7 ± 6.8	82.4 ± 12.5	87.3 ± 13.2
10	498.8 ± 45.5	568.6 ± 60.6 (14)	37.0 ± 5.5	39.1 ± 5.9	81.7 ± 11.6	83.4 ± 12.8

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

Significant difference from original livers(a; P<0.05, b; P<0.01, c; P<0.001)

\* Value in the parentheses indicate percent increase of the enzyme activities relative to the respective original liver values

Table 2. Activities of cytosolic, mitochondrial, and microsomal fructose-1,6-bisphosphate aldolase in regenerating rat liver after partial hepatectomy

post hepatectomy days	Fructose-1,6-bisphosphate aldolase activities (nmol fructose 1,6-bisphosphate reduced min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )					
	Cytosol		Mitochondria		Microsome	
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.5	81.3 ± 16.5	99.2 ± 20.6 (22)*	15.3 ± 2.7	14.9 ± 2.3	90.3 ± 14.1	119.2 ± 23.1 <sup>a</sup> (32)
1	82.4 ± 15.4	131.3 ± 31.4 <sup>a</sup> (59)	15.8 ± 2.4	23.0 ± 4.9 <sup>a</sup> (46)	91.6 ± 13.8	121.7 ± 22.8 <sup>a</sup> (33)
2	80.7 ± 16.7	118.7 ± 28.1 <sup>a</sup> (47)	16.1 ± 3.1	21.5 ± 3.6 <sup>a</sup> (34)	90.6 ± 14.4	141.2 ± 25.2 <sup>b</sup> (56)
3	81.8 ± 16.3	106.2 ± 20.5 (30)	15.6 ± 2.8	18.8 ± 3.3 (21)	91.2 ± 15.1	116.3 ± 22.7 (28)
6	83.5 ± 15.8	98.6 ± 19.0 (18)	15.5 ± 2.5	14.8 ± 2.4	92.3 ± 14.7	103.2 ± 18.6 (19)
10	84.9 ± 14.9	81.3 ± 21.2	16.3 ± 3.0	15.6 ± 2.7	91.7 ± 14.2	98.5 ± 15.5

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

Significant difference from original livers(a : P<0.05, b : P<0.01)

\* Value in the parentheses indicate same as Table 1

Table 3. Activities of serum glucose-6-phosphate isomerase after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Glucose-6-phosphate isomerase activities (nmol NADPH min <sup>-1</sup> ml <sup>-1</sup> )	
	Sham	Hepatectomy
0.5	221.3 ± 50.3	2,542.1 ± 713.8 <sup>a</sup> (1,049)*
1	218.4 ± 47.8	1,022.7 ± 435.4 <sup>b</sup> (368)
2	216.6 ± 52.6	556.3 ± 219.7 <sup>b</sup> (157)
3	212.4 ± 51.4	544.2 ± 233.2 <sup>a</sup> (156)
6	214.2 ± 48.3	311.9 ± 112.8 (46)
10	211.7 ± 48.7	282.8 ± 70.9 (34)

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

Significant difference from sham(a : P<0.05, b : P<0.01, c : P<0.001).

\* Value in the parentheses indicate same as Table 1.

12시간부터 3일까지 유의한 증가를 나타내었다(표 3).

환우에서 간엽 절제 후 혈청의 ALS의 활성도 변동 : 간엽 절제 후 혈청의 ALS 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 3일까지 유의한 증가를 나타내었다(표 4).

Table 4. Activities of serum fructose-1,6-bisphosphate aldolase after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Fructose-1,6-bisphosphate aldolase activities (nmol fructose 1,6-bisphosphate reduced min <sup>-1</sup> ml <sup>-1</sup> )	
	Sham	Hepatectomy
0.5	7.9 ± 1.2	12.3 ± 2.6 <sup>b</sup> (56)
1	7.7 ± 1.4	12.8 ± 3.0 <sup>b</sup> (66)
2	7.6 ± 1.7	17.2 ± 3.4 <sup>c</sup> (126)
3	7.4 ± 1.9	14.8 ± 4.6 <sup>a</sup> (100)
6	7.4 ± 1.5	8.4 ± 2.9 (14)
10	7.5 ± 1.4	7.6 ± 2.2

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

Significant difference from sham(a : P<0.05, b : P<0.01, c : P<0.001).

\* Value in the parentheses indicate same as Table 1.

## 고 칠

재생간에서 활성도가 증가되는 열량소 대사 효소들은 많으며 그 중에서도 활성도가 증가되는 당대사 효소들은 hexokinase, phosphofructokinase, pyruvate kinase 및 lactate dehydrogenase 등을 들 수

있다(Dixit et al, 1992) 이들 효소는 당분해 과정을 촉매하며 간의 재생이 활발한 시기의 간조직에서 그 활성도가 증가된다(Dixit et al, 1992 ; Mayes, 1993a). 따라서 이 실험에서 측정한 GPI와 ALS도 간 세포에 다양 존재하는 당분해 효소(Dixon and Webb, 1978 ; Mayes, 1993a & b)인만큼 간재생이 활발한 시기의 재생간에서는 그 활성도가 증가될 수 있을 것이다

이 실험에서는 흰쥐의 중엽과 좌측외엽을 절제한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일의 재생간에서 세포질, mitochondria 및 microsome의 GPI와 ALS의 활성도를 측정하여 그 변동을 알아내는 한편 혈청에서도 이들 효소의 활성도를 측정하였다

이 실험에서 흰쥐의 간엽을 절제한 후 재생간에서 cytosolic 및 microsomal GPI의 활성도는 각각 간엽 절제 후 12시간부터 6일 및 12시간부터 1일까지 유의한 증가를 나타내었다 그러나 mitochondrial GPI의 활성도는 재생간에서 변동을 나타내지 않았다 또한 이 실험에서 재생간의 cytosolic 및 mitochondrial ALS의 활성도는 다같이 간엽 절제 후 1일부터 2일까지 유의한 증가를 나타내었으며 재생간의 microsomal ALS의 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 2일까지 유의한 증가를 나타내었다

이상의 결과를 볼 때 재생간에서 GPI와 ALS는 간재생이 왕성한 시기에 그 합성이 증가되어 그 활성도가 증가된 것으로 생각된다 이 추론은 이 실험에서 효소들을 합성시켜 세포내로 유리시키는 장소인 endoplasmic reticulum(microsome)에서 GPI와 ALS 활성도가 간재생이 활발한 시기에 증가된 점과 아울러 당분해 과정의 조절 효소인 hexokinase, phosphofructokinase 및 pyruvate kinase가 간재생이 활발한 시기의 재생간에서 유도되어 그 활성도가 증가된다는 보고(Dixit et al, 1992)가 있고 보면 당연한 것이라 생각된다 그러나 재생간에서 mitochondrial GPI의 활성도가 변동을 나타내지 않는 것은 무엇이라 분명하게 추론하기는 어렵다 한편 재생간의 총 ALS활성도가 간엽 절제 후 3일 및 4일(Weber and Schapira, 1972) 또는 10일 및 20일(Menache et al, 1980)에 증가된다는 보고가 있다. 그러나 이들 연구자는 전체간의 가용성분획만을 사용하여 총 ALS활성도를 측정했기 때문에 이 실험 성적과는 비교 설명하기가 힘들다 그리고 Weber and Schapira(1972)가 간엽 절제 후 10일 및 20일된 재생간에서 총 ALS활성도가 증가되었다고 한 것은 도저히 이해하기가 어렵다 왜냐하면 이 시기의 재생간은

거의 정상간과 같기 때문이다 따라서 이러한 보고들에 대해서는 논평하기 어려우며 단지 이러한 보고들이 있다는 것만을 소개 할 뿐이다.

이 실험에서 GPI의 활성이 측정된 정상 쥐간의 세포분획은 세포질, microsome 및 mitochondria였다 그리고 이들 분획 중 GPI활성도가 가장 높은 분획은 세포질 분획이었으며 GPI활성도가 가장 낮은 분획은 mitochondria 분획이었다.

위의 결과를 볼 때 간세포에서 GPI의 국재소는 세포질, endoplasmic reticulum 및 mitochondria라 볼 수 있으며 이들 중 주된 국재소는 세포질이라 생각된다

이 실험에서 흰쥐 혈청의 GPI와 ALS활성도는 양 효소 모두 간엽 절제 후 12시간부터 3일까지 유의한 증가를 나타내었으며 이후 정상 수준으로 회복되었다 이 결과를 볼 때 이 실험에서 혈청의 GPI 및 ALS의 활성도 증가는 전적으로 재생간에서 다양 유리되어 나타낸 결과라 보기는 어렵다 왜냐하면 재생간에서 cytosolic GPI가 간엽 절제 후 12시간부터 6일까지 그리고 cytosolic 및 mitochondrial ALS는 간엽 절제 후 1일부터 2일까지 그 활성도가 증가되었음에도 불구하고 혈청에서 양 효소 활성도의 증가 시기는 간엽 절제 후 12시간부터 3일까지였기 때문이다 즉 재생간과 혈청에서 이들 효소의 증가 시기가 일치되지 않았기 때문이다. 따라서 이 실험에서 혈청의 GPI와 ALS의 활성도가 간엽 절제 후 12시간부터 3일까지 증가된 것은 주로 간엽 절제 후 간절제 부위 즉 기저부에 조금 남아 있던 간엽 조직으로부터 이들 효소가 혈중으로 다양 유출되어 나타낸 결과라 생각된다.

재생기의 간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백 합성이 증가 되고(Becker, 1963 ; 권기징과 유효열, 1969) 아울러 당대사가 활발해진다(Dixit et al, 1992)고 하며, 또한 세포분열이 왕성한 세포의 주에너지원이 당분해에 의한 에너지라는 보고(Dixit et al, 1992)가 있고 보면 바로 이 현상은 간재생을 위해 필수적인 것으로 생각된다 특히 이러한 현상과 함께 재생간에서의 대사는 간재생을 위해 유리한 쪽으로 먼저 대사가 진행된다 는 설도 있고(정기용 외, 1986 ; 문교철 외, 1988 ; 곽춘식 외, 1989) 보면 이 실험에서 측정한 GPI와 ALS도 간재생과는 유관한 효소로 생각된다 그러나 이 실험만으로는 재생간에서 이들 효소의 활성도 증가가 어떤 원인에 의한 것인지는 명확치 않다 따라서 재생 간에서 이 효소들의 활성도 변동

의 원인과 기전을 분명히 알기 위해서는 앞으로 더욱 추구해 보아야 하겠다

## 요 약

재생간에서 glucose-6-phosphate isomerase(GPI)와 fructose-1,6-bisphosphate aldolase(ALS)의 활성도 변동을 알아보기 위하여 흰쥐 간의 간엽과 좌측의 염을 절제한 후 12시간부터 10일까지의 혈청과 재생간의 세포분획에서 이를 효소의 활성도를 측정하였다.

흰쥐간 세포분획에서 GPI의 국재소는 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획이었다.

간엽 절제 후 흰쥐 재생간의 cytosolic 및 microsomal GPI의 활성도는 각각 간엽 절제 후 12시간부터 6일 및 12시간부터 1일까지 유의한 증가를 나타내었다 그러나 mitochondrial GPI는 재생간에서 변동을 나타내지 않았다.

간엽 절제 후 흰쥐 재생간의 cytosolic 및 mitochondrial ALS의 활성도는 나같이 간엽 절제 후 1일부터 2일까지 유의한 증가를 나타내었다 재생간의 microsomal ALS의 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 2일까지 유의한 증가를 나타내었다

간엽 절제 후 흰쥐 혈청의 GPI와 ALS 활성도는 양 효소 모두 간엽 절제 후 12시간부터 3일까지 유의한 증가를 나타내었다.

이상의 결과로 보아 간의 GPI와 ALS는 간엽 절제 후 간재생이 활발한 시기의 재생간에서는 그 합성이 증가되어 그 활성도가 증가되는 효소로 생각된다.

## 참고문헌

곽춘식, 곽정식 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5(1) : 45-53

곽춘식, 김여희, 문교철, 이숙형 : 흰쥐 재생간의 Glutathione S-Transferase 및 Glutathione Reductase의 활성치 계명의대논문집 1989; 8(1) : 78-86.

권기정, 유후열 . Ethionine이 백서 재생간의 단백합성에 미치는 영향 경북의대잡지 1969; 10(1) : 183-188

김여희, 문교철, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Malate Dehydrogenase의 활성치 계명의대논문집 1986; 5

(2) : 124-131.

류동수 . 흰쥐 재생간에서의 Isocitrate Dehydrogenase 및 Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase의 활성도. 계명대학교 대학원 석사학위논문, 1993, pp 1-28.

문교철, 박은미, 김여희, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성치 계명의대논문집 1988 ; 7(2) . 258-265

정기용, 김인산, 손건영, 조준승 : 흰쥐의 간엽부분 절제 후 재생간에서의 산화적 손상에 대한 방어 기전. 경북의대잡지 1986 ; 27(3) : 263-269.

Becker FF . Restoration of liver mass following partial hepatectomy. I. Influence of blood flow. *Am J Pathol* 1963 ; 43(1) : 497-510.

Bueding E, MacKinnon JA : Studies of the phosphoglucone isomerase of *Schistosoma mansoni* *J Biol Chem* 1955 ; 215(1) . 507-513.

Dixon M, Webb EC . Enzymes. London, Longman Group, 1979, pp 634-636.

Dixit A, Baquer NZ, Rao AR . Inhibition of Key enzymes of carbohydrate metabolism in regenerating mouse liver by ascorbic acid. *Biochem Int* 1992 ; 26(1) : 143-151.

Dzhivianian KA, Ter-Dganian KS . Nonspecific esterase and alpha-glycerolphosphate dehydrogenase activity and the fat content in the regenerating chicken liver. *Bull Eksp Biol Med* 1979 ; 87(6) . 547-550

Foemmel RS, Gray RH, Bernstein IA : Intracellular localization of fructose-1,6-bisphosphate aldolase *J Biol Chem* 1975 ; 250(5) : 1,892-1,897

Gear ARL . Some features of mitochondria and fluffy layer in regenerating rat liver. *Biochem J* 1965 ; 95(1) : 118-137.

Gornall AG, Bardawill CJ, David MM . Determination of serum protein by means of biuret reaction *J Biol Chem* 1949 ; 177(3) . 751-766.

Gracy RW . Glucosephosphate isomerase from catfish muscle and liver and from mammalian tissues, in Colowick SP, Kaplan NO(eds) : *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1982, Vol 89, pp 550-558

Greenberg DM, Rothstein M . Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan NO(eds) . *Method in Enzymology*,

- New York, Academic Press, 1957, Vol 4,  
pp 708-731
- Kim BK . *Enzyme Nomenclature*. IUB, New York,  
Academic Press, 1984a, pp 404-405
- Kim BK . *Enzyme Nomenclature* IUB, New York,  
Academic Press, 1984b pp 442-443.
- Lieberman I, Kane P : Synthesis of ribosome in the  
liver after partial hepatectomy *J Biol Chem* 196  
5 ; 240(4) 1,737-1,741
- Matsumoto K, Nakamura T . Molecular structure and  
function of hepatocyte growth factor *Metabolism*  
(Jpn) 1991 ; 28(8) . 599-618.
- Mayes PA Glycolysis and the oxidation of pyruvate, in Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW(eds) *Harper's Biochemistry*, East Norwalk, Appleton & Lange, 1993a, pp 172-180
- Mayes PA : The pentose phosphate pathway and other  
pathway of hexose metabolism, in Murray RK,  
Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW(eds) *Harper's Biochemistry*, East Norwalk, Appleton & Lange,  
1993b, pp 201-211.
- Menache R, Feller N, Halberech I, Djaldetti M Enzyme activities in regenerating liver of rats *Res Exp Med Berl* 1980 ; 177(1) . 53-55
- Nagino M, Tanaka M, Nishikimi M, et al. Stimulated rat liver mitochondrial biogenesis after partial hepatectomy *Cancer Res* 1989 ; 49(17) . 4,913-4,918.
- Pai ML . Some observation on the study on serum  
phosphoglucose isomerase in health and in diseases  
of liver *Indian J Physiol Pharmacol* 1969 ; 13(1)  
77-78
- Penhoet EE, Kochman M, Rutter WJ Isolation of  
fructose diphosphate aldolase A, B and C. *Biochemistry* 1969 ; 8(11) . 4,391-4,395
- Rutter WJ, Rajkumar T, Penhoet E, Kochman M, Valentine R Aldolase variants : structure and physiological significance. *Ann NY Acad Sci* 1968 ; 151(1) : 102-117
- Siebly JA, Lehninger AL : Determination of aldolase  
in animal tissue. *J Biol Chem* 1949 ; 177(1) . 859-872
- Stein TA, Burns GP, Tropp BE, Wise L . Hepatic fat  
accumulation during liver regeneration *J Surg Res* 1985 ; 39(4) . 338-343.
- Tomiya T, Tani M, Yamada S, Hayashi S, Umeda N, Fujiwara K . Serum hepatocyte growth factor  
levels in hepatectomized and nonhepatectomized  
surgical patients. *Gastroenterology*, 1992 ; 103(5) .  
1,621-1,624
- Tsukada K, Lieberman I : Metabolism of ribonucleic  
acid after partial hepatectomy *J Biol Chem* 1964 ;  
239(5) : 1,564-1,568
- Visnapuu LA, Karlson LK, Dubinsky EH, Szer IS,  
Hirsch CA : Pediatric reference range for serum  
aldolase *Am J Clin Pathol* 1989 ; 91(4) 476-477
- Weber A, Schapira F Les isozymes de l'aldolase du  
foie en régénération *CR Soc Biol Paris* 1972 ;  
166(12) . 312-316
- Weiss TL, Zieske JD, Bernstein IA . Reversible mi-  
croosomal binding of hepatic aldolase *Biochim Bio-  
phys Acta* 1981 ; 661(2) 221-229
- Wilkinson JH *The Principles and Practice of Diagnostic  
Enzymology* London, Edward Arnold, 1976, pp  
187-198