

흰쥐 간의 Carboxylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향

고신대학교 의과대학 내과학교실, 계명대학교 의과대학 생화학교실 및 의과학 연구소 *

한병훈 · 김여희 *

Effect of High Taurocholate Load on Activity of Rat Liver Carboxylesterase

Byung Hoon Han, M.D. and You Hee Kim, M.D.*

Department of Internal Medicine, College of Medicine Kosin University, Pusan,
Department of Biochemistry, Keimyung University School of Medicine and Institute for
Medical Science, Taegu, Korea *

= Abstract =

Background/Aims: We have investigated the effect of bile acid load on the carboxylesterase activity in cholestatic rat liver and serum in order to elucidate the possible mechanism of decrease of carboxylesterase activity under cholestasis.

Methods: Rats were divided into eight groups: Normal, sham operated control, bile duct obstruction (BDO) alone (BDO group), BDO plus taurocholic acid (TCA) injection (BDO plus TCA group), BDO plus taurooursodeoxycholic acid (TUDCA) injection (BDO plus TUDCA group), choledochocaval shunt (CCS) operation alone (CCS group), CCS plus TCA injection (CCS plus TCA group), and CCS plus TUDCA injection (CCS plus TUDCA group). Carboxylesterase activity was determined in the serum and liver cytosolic, mitochondrial and microsomal preparations from above experimental rats. The values of K_m and V_{max} in this hepatic enzyme were measured.

Results: The activity of liver microsomal carboxylesterase showed a significant decrease in both CCS and BDO group. And the activity of serum carboxylesterase showed a marked decrease in both CCS and BDO group. However, carboxylesterase activity in the serum and liver microsomal preparation fell more rapidly in the BDO group than CCS. Carboxylesterase activity in liver cytosolic, mitochondrial and microsomal preparations, and its V_{max} value decreased significantly in both CCS plus TCA group, and BDO plus TCA group than each control group. On the other hand, the values of K_m of the hepatic subcellular carboxylesterase did not change in all the experimental group. Serum

carboxylesterase activity decreased significantly in both CCS plus TCA group and BDO plus TCA group than each control group. However, these serum and hepatic enzyme activity did not change in both CCS plus TUDCA group and BDO plus TUDCA group. Summary: The above results suggest that TCA repress biosynthesis of the carboxylesterase in the liver. And the lowering of the serum enzyme activity thought to be caused by decrease of biosynthesis of this hepatic enzyme, which cause the enzyme to leak into the blood in small quantities.

Key Words: Bile duct obstruction, Carboxylesterase, Choledoco-caval shunt, Taurocholic acid, Tauroursodeoxycholic acid

서 론

최근 실험적 담즙울체 간을 모델로 사용하여 각종 효소의 활성도 변동을 조사하는 연구가 많이 행해져 오고 있으며, 이러한 연구를 통해서 생체이물 생체 변환 (xenobiotic biotransformation) 효소인 glutathione S-transferase, glutathione peroxidase (권용철 외, 1990), microsomal ethanol oxidizing system, alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, catalase (곽춘식 외, 1988), xanthine oxidase (곽춘식, 1985), monoamine oxidase (문교철과 곽춘식, 1989), rhodanese (임종술, 1993), aryl sulfotransferase (Ihm *et al*, 1995), cholinesterase, arylesterase 및 carboxylesterase (곽춘식과 이숙형, 1992)가 담즙울체로 손상된 담즙울체 간에서 그 활성도가 변동되는 것이 밝혀졌으며 특히 carboxylesterase는 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체를 야기시켰을 때 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획과 혈청에서 현저한 활성도 감소를 나타낸다는 것 (곽춘식과 이숙형, 1992)이 밝혀졌다.

Carboxylesterase (carboxylic-ester hydrolase, EC 3.1.1.1)는 carboxylester, thioester 및 arylamide를 가수분해 (Heymann, 1980; Heymann, 1982; Webb, 1992)

하는 효소로서 동물의 간, 폐, 비, 신, 장, 뇌, 지방 조직 및 혈청에 분포되어 있는 효소이며 (Junge *et al*, 1974; Junge & Krisch, 1975; Stoops *et al*, 1975; Højring & Svenmark, 1976; Højring & Svenmark, 1977; Raftell *et al*, 1977; Hashinotsume *et al*, 1978; Heymann, 1980; Main & Rush, 1980; Tsujita *et al*, 1982; Cain *et al*, 1983; Kaur & Ali, 1983; Tsujita & Okuda, 1983; Junge, 1984; Johnsen *et al*, 1986) 이 효소의 세포내 국재소는 endoplasmic reticulum (Junge *et al*, 1974; Heymann, 1980; Nousiainen & Hänninen, 1981; Johnsen *et al*, 1986), 세포질 (Ecobichon, 1972; Heymann, 1980; Nousiainen & Hänninen, 1981; Johnsen *et al*, 1986), mitochondria (Junge & Krisch, 1975) 및 lysosome (Tanaka *et al*, 1987)으로 알려져 있다. 이러한 carboxylesterase는 생체이물 생체 변환 효소 중 해독 효소의 한 종류 (Holmes & Masters, 1967; Junge & Krisch, 1975; Heymann, 1980; Heymann, 1982; Cain *et al*, 1983)로서 제초제, 해충제, 살충제 및 의약품 중에서 방향족 ester 화합물을 가수분해하여 무독화하는 기능을 가진다 (Junge *et al*, 1974; Junge & Krisch, 1975; Stoops *et al*, 1975; Højring & Svenmark, 1977; Raftell *et al*, 1977;

Hashinotsume *et al.*, 1978; Heymann, 1980; Main & Rush, 1980; Heymann, 1982; Tsujita *et al.*, 1982; Cain *et al.*, 1983; Kaur & Ali, 1983; Tsujita & Okuda, 1983; Junge, 1984; Johnsen *et al.*, 1986). 이와 같은 성상과 기능을 가진 이 효소는 흰쥐의 담즙울체 간과 담즙 울체 시 혈청에서 그 활성도가 감소된다고는 하나 아직도 그 감소의 기전은 규명되어 있지 않다.

이 연구는 carboxylesterase 활성도가 담즙 울체 시 간의 세포분획과 혈청에서 왜 감소되었는지 그 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였으며, 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥 문합 (choledoco-caval shunt)을 시행한 직후에 간괴사를 유발한다 (Palmer, 1972; Drew & Priestly, 1979; Kitani *et al.*, 1986)는 taurocholic acid를 정맥 내에 주입하여 경시적으로 간의 세포질, mitochondria 및 microsome과 혈청에서 활성도를 측하였던 바 taurocholic acid가 이 효소의 합성을 억제하는 것으로 생각되는 결과를 얻었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

연구 대상 및 방법

1. 동물 및 처치

동물은 4 주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280~320 g^o 되는 Sprague-Dawley 종의 숫 흰쥐를 사용하였으며 1 군을 5 마리로하여 다음과 같이 15 군으로 나누었다.

- 1) 정상군 (1 군): 아무런 처치를 하지 않은 군
- 2) 가수술군: 가수술 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)
- 3) 담관 폐쇄 (bile duct obstruction)군: 총담관 결찰 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)
- 4) 담관 폐쇄와 함께 taurocholic acid를 주입한 군: 총담관 결찰 직후 Ogawa 등 (1990)의 방법에 따라 taurocholic acid (체중 100 g 당 45 μmoles)를 우경정맥 내에 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)

45 μmoles)를 우경정맥 내에 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)

5) 담관 폐쇄와 함께 tauroursodeoxycholic acid를 주입한 군: 총담관 결찰 직후 Ogawa 등 (1990)의 방법에 따라 tauroursodeoxycholic acid (체중 100 g 당 45 μmoles)를 우경정맥 내에 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)

6) 총담관 대정맥 문합 (choledoco-caval shunt)을 한 군: 총담관 대정맥 문합을 한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)

7) 총담관 대정맥 문합과 함께 taurocholic acid를 주입한 군: 총담관 대정맥 문합 직후 Ogawa 등 (1990)의 방법에 따라 taurocholic acid (체중 100 g 당 45 μmoles)를 우경정맥 내에 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)

8) 총담관 대정맥 문합과 함께 tauroursodeoxycholic acid를 주입한 군: 총담관 대정맥 문합 직후 Ogawa 등 (1990)의 방법에 따라 tauroursodeoxycholic acid (체중 100 g 당 45 μmoles)를 우경정맥 내에 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군) 등이다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다.

사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험동물 사료를 먹도록 하였다.

총담관 결찰 수술, 총담관 대정맥 문합 수술 및 가수술은 효소 활성의 일종 변동을 고려하여 흰쥐를 일정한 시간에 처치할 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12 시간 금식시킨 후 에테르 마취하에서 실시하였다. 총담관 결찰은 간 근위부와 약 1 cm 아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출 시 담관의 폐쇄 상태를 확인하였다. 그리고 총담관 대정맥문합은 상대정맥과 총담관을 medical grade silicon tube을 사용하여 연결하였으며 가수술은 단순 개복술만 시행하였다. Taurocholic acid 및 tauroursodeoxycholic

acid액의 외경정맥 내 주입은 syringe pump (Sage Instruments, model 341A)를 사용하여 15 분 동안 주입하였다.

2. 시약

Sodium pyrophosphate, semicarbazide-HCl, eserine hemisulfate, ethyl valerate, glycine, NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide; grade III), NADH (reduced nicotinamide adenine dinucleotide; grade III, disodium salt), Triton X-100, taurocholic acid (from ox bile, sodium salt, T-0750, 이하 TCA로 함), taurooursodeoxycholic acid (sodium salt, T-0266, 이하 TUDCA로 함), alcohol dehydrogenase (from bakers yeast, A-3263), carboxylesterase (from rabbit liver E-0887) 및 단백질 표준액 (10 g/100 ml bovine albumin) 등은 Sigma사 (미국) 제품을 사용하였으며 그 외 일반 시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

3. 간적출 및 세포분획

모든 실험군에서 간의 적출은 12 시간 급식시킨 후 에테르 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4°C의 0.25 M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다.

한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청은 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

간의 세포분획은 적출한 간을 즉시 2~4°C로 냉각한 후 질계 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9 배량의 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 5 회

왕복 마쇄하여 10% (w/v)의 간 조직균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법 (곽춘식과 곽정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 분리하였다. 이 세포분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge 와 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.

4. 효소 시료 조제

Carboxylesterase 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 mitochondria 및 microsome 분획을 단백질량으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose액에 혼탁하였으며 이 혼탁액을 1% Triton X-100 액으로 바로 희석한 후 잘 혼합하여 사용 (Junge, 1984)하였다. 그리고 cytosol 분획은 아무런 처리없이 원액 그대로 사용하였다.

5. 효소 활성도 측정

혈청과 간의 세포질, mitochondria 및 microsome 분획의 carboxylesterase의 활성도 측정은 ethyl valerate를 기질로 사용하여 25°C에서 5 분간 반응시키는 동안에 생성된 에탄올과 NAD⁺ 및 alcohol dehydrogenase 공존 하에서 acetaldehyde로 산화될 때 NAD⁺가 환원되어 NADH로 되면서 증가되는 흡광도를 339 nm 파장에서 측정하여 효소 활성도를 산출하는 Junge (1984)의 법에 의하였다. 그리고 이 효소의 활성도 단위는 1 분간에 1 ml의 혈청 또는 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 NADH를 nmol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 같은 시료에 대하여 2 회

측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 각 효소 활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varian, Cary 210)였다.

6. Km치 및 Vmax치의 측정

수술 후 2 일 경과한 모든 실험군의 세포분획 효소 시료들과 각 효소 기질의 원액과 회석액을 사용하여 carboxylesterase의 활성도를 측정한 후 이를 성적으로부터 $1/v_i$ 치를, 그리고 기질 농도로부터 $1/(S)$ 치를 계산하여 이중역수도 (double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출 (Segel, 1976)하였다.

7. 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액 (3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg 및 Rothstein (1957)법으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법 (1949)으로 정량하였다.

8. 성적 검정

유의성 검정은 Student's t-test로 하였으며 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

1. 흰쥐에서 간의 carboxylesterase 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄와 담즙 정체 시간의 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시켰을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도는 통계학적으로 유의하게 감소하였다. 즉 총담관 대정맥 문합 후 2 일 경과한 군에서 간 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도는 정상군이나 가수술군의 활성도보다 약 35% ($P<0.01$)의 감소를 나타내었다. 담관 폐쇄 후 1 일 및 2 일 경과한 군의 간

microsome 분획의 carboxylesterase 활성도도 정상군이나 가수술군의 활성도보다 약 28% ($P<0.01$) 및 약 44% ($P<0.001$)의 감소를 나타내었다. 그리고 간 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도를 총담관 대정맥 문합을 한 군과 담관 폐쇄를 한 군 간에 상호 비교했을 때는 담관 폐쇄를 한 군이 총담관 대정맥 문합을 한 군보다 약간 더 감소하였으며, 양군 모두 수술 후 1 일 경과했을 때보다 2 일 경과했을 때가 더 감소하였다. 그러나 간의 cytosol과 mitochondria 분획에서 carboxylesterase의 활성도는 모든 실험군에서 변동을 나타내지 않았다 (Table 1).

2. 흰쥐에서 간의 carboxylesterase 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 및 담관 폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입의 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시행한 직후 TCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥 문합 직후 TCA를 주입하고 1 일 및 2 일 경과했을 때 간 cytosol 분획의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군보다 약 31% ($P<0.01$) 및 약 37% ($P<0.01$)의 감소를 나타내었고, 간 mitochondria 분획의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군보다 약 44% ($P<0.05$) 및 약 63% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었으며, 간 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군보다 42% ($P<0.01$) 및 약 32% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었다. 그러나 총담관 대정맥 문합을 한 직후 TUDCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때는 간의 3 종 세포 분획에서 carboxylesterase 활성도는 모두 실험 대조군과 차이가 없었다 (Table 2).

흰쥐에게 담관 폐쇄를 시행한 직후 TCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때 간의 cytosol,

mitochondria 및 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군인 담관 폐쇄만 한 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 담관 폐쇄 직후 TCA를 주입하고 1 일 및 2 일 경과했을 때 36% ($P<0.01$) 및 약 47% ($P<0.001$)의 감소를 나타내었고, 간 mitochondria 분획의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군보다 약 50% ($P<0.05$) 및 약 62% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었으며, 간 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군보다 약 49% ($P<0.01$) 및 약 56% ($P<0.01$)의 감소를 나타내었다. 그러나 담관 폐쇄 직후 TUDCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때는 간의 3 종 세포 분획에서 carboxylesterase 활성도는 모두 실험 대조군과 차이가 없었다 (Table 3).

3. 흰쥐에서 혈청의 carboxylesterase의 활

성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄와 담즙 정체 시간의 영향

흰쥐에게 담관 폐쇄를 시켰을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도는 통계학적으로 유의하게 감소하였다. 즉 담관 폐쇄 후 2 일 경과한 군에서 혈청의 carboxylesterase 활성도는 정상군 및 가수술군의 활성도보다 약 41% ($P<0.05$) 및 약 40% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었다. 그러나 담관 폐쇄 후 1 일 경과했을 때나 총담관 대정맥 문합 후 1 일 및 2 일 경과했을 때는 혈청에서 이 효소의 활성도는 변동이 없었다 (Table 4).

또한 혈청의 carboxylesterase 활성도를 총담관 대정맥 문합을 한 군과 담관 폐쇄를 한 군간에 상호 비교했을 때는 담관 폐쇄를 한 군이 총담관 대정맥 문합을 한 군보다 약간 더 감소하였으며, 양군 모두 수술 후 1 일 경과했을 때보다 2

Table 1. Effects of time and model of biliary retention on hepatic subcellular carboxylesterase activities in rats

Experimental groups	Carboxylesterase activities (nmol NADH min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
Normal	197.6 ± 28.5	70.7 ± 18.6	281.7 ± 37.5
Sham 1 day	198.4 ± 27.6	70.5 ± 18.9	280.2 ± 36.9
Sham 2 days	196.6 ± 28.3	70.2 ± 19.3	281.3 ± 35.6
CCS 1 day	189.3 ± 27.8	63.3 ± 20.6	248.4 ± 33.2
CCS 2 days	171.2 ± 24.8	54.8 ± 15.9	183.5 ± 35.8 ^{b,h,j}
BDO 1 day	182.9 ± 25.5	58.1 ± 22.0	202.9 ± 31.6 ^{b,e}
BDO 2 days	165.2 ± 28.2	48.7 ± 20.7	157.5 ± 38.7 ^{c,i}

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group: Sham 1 day or Sham 2 days: Sacrificed on the 1st day or 2nd day after sham operation, CCS 1 day or CCS 2 days: Sacrificed on the 1st day or 2nd day after choledocho-caval shunt, BDO 1 day or BDO 2 days: Sacrificed on the 1st day or 2nd day after common bile duct ligation.

b: $P<0.01$ vs. Normal, c: $P<0.001$ vs. Normal, e: $P<0.01$ vs. Sham 1 day, h: $P<0.01$ vs. Sham 2 days, i: $P<0.001$ vs. Sham 2 days, j: $P<0.05$ vs. CCS 1 day

Table 2. Effects of taurocholic acid(TCA), and taurooursodeoxycholic acid(TUDCA) infusions after choledoco-caval shunt(CCS) on hepatic subcellular carboxylesterase activities in rats

Experimental groups	Carboxylesterase activities (nmol NADH min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
CCS 1 day	189.3 ± 27.8	63.3 ± 20.6	248.9 ± 33.2
CCS 1 day + TCA	130.7 ± 26.3 ^k	35.2 ± 14.2 ^j	144.6 ± 39.7 ^k
CCS 1 day + TUDCA	190.7 ± 26.8	65.6 ± 18.7	239.7 ± 32.8
CCS 2 days	171.2 ± 24.8	54.8 ± 15.9	183.5 ± 35.8
CCS 2 days + TCA	108.2 ± 21.7 ^a	20.2 ± 8.8 ^m	124.8 ± 36.1 ^m
CCS 2 days + TUDCA	173.6 ± 21.6	55.9 ± 16.3	187.6 ± 35.5

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group: CCS 1 day + TCA or CCS 1 day + TUDCA, and CCS 2 days + TCA or CCS 2 days + TUDCA: One of the following bile acids were administered intravenously through the superior vena cava: TCA or TUDCA(45 μmoles/100 g body weight) at the time of CCS operation in rats. Then the rats were sacrificed 1 or 2 days after CCS operation.

j: P<0.05 vs. CCS 1 day, k: P<0.01 vs. CCS 1 day, m: P<0.05 vs. CCS 2 days, n: P<0.01 vs. CCS 2 days

일 경과했을 때 이들 효소의 활성도가 약간 더 감소하였다 (Table 4).

4. 흰쥐에서 혈청의 carboxylesterase의 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 및 담관 폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입의 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시행한 직후 TCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥 문합 직후 TCA를 주입하고 1 일 및 2 일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도는 대조

군인 총담관 대정맥 문합만 한 군보다 각각 약 40% (P<0.05) 및 약 45% (P<0.05)의 감소를 나타내었다. 또한 총담관 대정맥 문합을 한 직후 TUDCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때는 혈청의 carboxylesterase 활성도는 모두 실험 대조군과 차이가 없었다 (Table 5).

흰쥐에게 담관 폐쇄를 시행한 직후 TCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군인 담관 폐쇄만 한 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 담관 폐쇄 직후 TCA를 주입하고 1 일 및 2 일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도는 실험 대조군인 담관 폐쇄만 한 군보다 각각 약 42% (P<0.05) 및 약 52%

Table 3. Effects of taurocholic acid(TCA), and tauroursodeoxycholic acid(TUDCA) infusions after bile duct obstruction(BDO) on hepatic subcellular carboxylesterase activities in rats

Experimental groups	Carboxylesterase activities (nmol NADH min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
BDO 1 day	182.9 ± 25.5	58.1 ± 22.0	202.9 ± 31.6
BDO 1 day + TCA	116.6 ± 22.7 ^a	28.8 ± 16.2 ^p	102.8 ± 32.2 ^q
BDO 1 day + TUDCA	185.6 ± 24.7	62.3 ± 19.4	205.8 ± 28.3
BDO 2 days	165.2 ± 28.2	48.7 ± 20.7	157.5 ± 38.7
BDO 2 days + TCA	86.8 ± 15.4 ^u	18.6 ± 7.2 ^s	69.2 ± 27.6 ^t
BDO 2 days + TUDCA	169.8 ± 19.8	46.7 ± 14.9	166.2 ± 33.4

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; BDO 1 day + TCA or BDO 1 day + TUDCA, and BDO 2 days + TCA or BDO 2 days + TUDCA: One of the following bile acids were administered intravenously through the superior vena cava: TCA or TUDCA (45 μmoles/100 g body weight) at the time of common bile duct ligation in rats. Then the rats were sacrificed 1 or 2 days after common bile duct ligation.

p: P<0.05 vs. BDO 1 day, q: P<0.01 vs. BDO 1 day, s: P<0.05 vs. BDO 2 days, t: P<0.01 vs. BDO 2 days, u: P<0.001 vs. BDO 2 days

(P<0.05)의 감소를 나타내었다.

그러나 담관 폐쇄 직후 TUDCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때는 혈청의 carboxylesterase 활성도는 모두 실험 대조군과 차이가 없었다 (Table 6).

5. 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄 후 2 일 경과한 실험군에서 간의 carboxylesterase 의 Km치 및 Vmax치의 변동

수술 후 2 일 경과한 모든 실험군에서 간의 carboxylesterase를 ethyl valerate를 기질로 사용하여 Km치 및 Vmax치를 측정했을 때 Km 치는 모두 변동이 없었다 (Table 7, 8).

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시행한 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 cytosol 및 mitochondria 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군의 Vmax치보다는 각각 약 42% (P<0.001) 및 약 64% (P<0.001), 총담관 대정맥 문합만 한 군의 Vmax치보다는 각각 약 37% (P<0.001) 및 약 56% (P<0.01)의 감소를 나타내었다. 그러나 총담관 대정맥 문합을 한 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과했을 때는 이 효소의 Vmax치가 변동을 나타내지 않았다 (Table 7).

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 micro-

Table 4. Effects of time and model of biliary retention on serum carboxylesterase activities in rats

Experimental groups	Carboxylesterase activities
	(nmol NADH min ⁻¹ ml ⁻¹)
Normal	87.8 ± 22.6
Sham 1 day	87.1 ± 20.8
Sham 2 days	86.3 ± 23.2
CCS 1 day	70.4 ± 15.7
CCS 2 days	61.8 ± 17.3
BDO 1 day	65.7 ± 15.9
BDO 2 days	52.2 ± 16.4 ^{a,g}

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 1 and text.

a: P<0.05 vs. Normal, g: P<0.05 vs. Sham 2 days

Table 5. Effects of taurocholic acid(TCA), and taouroursodeoxycholic acid(TUDCA) infusions after choledoco-caval shunt(CCS) on serum carboxylesterase activities in rats

Experimental groups	Carboxylesterase activities
	(nmol NADH min ⁻¹ ml ⁻¹)
CCS 1 day	70.4 ± 15.7
CCS 1 day + TCA	42.1 ± 14.5 ^j
CCS 1 day + TUDCA	72.0 ± 14.9
CCS 2 days	61.8 ± 17.3
CCS 2 days + TCA	33.9 ± 11.8 ^m
CCS 2 days + TUDCA	63.3 ± 18.6

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Experimental groups are described in Table 2 and text.

j: P<0.05 vs. CCS 1 day, m: P<0.05 vs. CCS 2 days

Table 6. Effects of taurocholic acid(TCA), and tauroursodeoxycholic acid(TUDCA) infusions after bile duct obstruction(BDO) on serum carboxylesterase arylesterase activities in rats

Experimental groups	Carboxylesterase activities	
	(nmol NADH min ⁻¹ ml ⁻¹)	
BDO 1 day	65.7 ± 15.9	
BDO 1 day + TCA	38.4 ± 12.5 ^p	
BDO 1 day + TUDCA	66.2 ± 14.5	
BDO 2 days	52.2 ± 16.4	
BDO 2 days + TCA	25.3 ± 7.3 ^s	
BDO 2 days + TUDCA	47.4 ± 10.2	

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Experimental groups are described in Table 3 and text.

p: P<0.05 vs. BDO 1 day, s: P<0.05 vs. BDO 2 days

Table 7. Rat hepatic carboxylesterase kinetic parameters from 2 days after choledocho-caval shunt (CCS 2 days) determined with ethyl valerate

Experimental groups	Cytosol		Mitochondria		Microsome	
	Km (mM)	Vmax (nmol NADH min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	Km	Vmax	Km	Vmax
Sham 2 days	1.40 ± 0.24	303.4 ± 36.3	6.31 ± 1.20	82.5 ± 16.7	1.28 ± 0.24	998.2 ± 123.7
CCS 2 days	1.45 ± 0.22	273.7 ± 29.8	6.46 ± 1.12	66.0 ± 13.4	1.34 ± 0.20	668.7 ± 134.2 ^b
CCS 2 days + TCA	1.48 ± 0.27	171.5 ± 25.4 ^{i,o}	6.63 ± 1.06	29.3 ± 9.6 ^{i,n}	1.38 ± 0.25	472.3 ± 91.6 ^{i,m}
CCS 2 days + TUDCA	1.42 ± 0.25	287.5 ± 22.5	6.38 ± 1.16	70.3 ± 11.9	1.32 ± 0.17	691.0 ± 129.7 ^b

Michaelis-Menten constants carboxylesterase were determined using ethyl valerate and NAD⁺ at 25 °C for cytosolic, mitochondrial and microsomal fractions of experimental rat livers at two days after CCS.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 1, 2 and text.

h: P<0.01 vs. Sham 2 days, i: P<0.001 vs. Sham 2 days, m: P<0.05 vs. CCS 2 days, n: P<0.01 vs. CCS 2 days, o: P<0.001 vs. CCS 2 days

Table 8. Rat hepatic carboxylesterase kinetic parameters from 2 days after bile duct obstruction (BDO 2 days) determined with ethyl valerate

Experimental groups	Cytosol		Mitochondria		Microsome	
	Km (mM)	Vmax (nmol NADH min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	Km	Vmax	Km	Vmax
Sham 2 days	1.41 ± 0.24	303.4 ± 36.3	6.31 ± 1.20	82.5 ± 16.7	1.28 ± 0.24	998.2 ± 123.7
BDO 2 days	1.44 ± 0.28	250.6 ± 38.3	6.43 ± 0.98	62.8 ± 15.2	1.30 ± 0.15	572.5 ± 114.7
BDO 2 days + TCA	1.47 ± 0.23	136.5 ± 27.8 ^{i,u}	6.56 ± 1.09	23.3 ± 6.8 ^{i,u}	1.33 ± 0.23	276.2 ± 67.4 ^{i,t}
BDO 2 days + TUDCA	1.40 ± 0.25	259.7 ± 23.6	6.51 ± 1.16	60.7 ± 12.7	1.29 ± 0.17	592.7 ± 107.8 ⁱ

Michaelis-Menten constants carboxylesterase were determined using ethyl valerate and NAD⁺ at 25 °C for cytosolic, mitochondrial and microsomal fractions of experimental rat livers at two days after BDO.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 1, 3 and text.

i: P<0.001 vs. Sham 2 days, t: P<0.01 vs. BDO 2 days, u: P<0.001 vs. BDO 2 days

some 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군의 Vmax치보다는 약 53% (P<0.001), 총담관 대정맥 문합만 한 군의 Vmax치보다는 약 29% (P<0.05)의 감소를 나타내었다. 그리고 총담관 대정맥 문합을 하고 2 일 경과한 군에서도 간 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해 약 33% (P<0.01)의 감소를 나타내었다. 으며, 총담관 대정맥 문합을 한 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과한 군에서도 이 microsome 효소의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해 약 31% (P<0.01)의 감소를 나타내었다. 그러나 총담관 대정맥 문합을 시행하고 2 일 경과한 군과 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과한 군 사이에 이 microsome 효소의 Vmax치를 상호 비교 했을 때는 차이가 없었다 (Table 7).

흰쥐에게 담관 폐쇄를 시행한 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 cytosol 및 mitochondria 분획의 carboxylesterase의 Vmax

치는 가수술만 한 군의 Vmax치보다는 각각 약 55% (P<0.001) 및 약 72% (P<0.001), 담관 폐쇄만 한 군의 Vmax치보다는 각각 약 46% (P<0.001) 및 약 63% (P<0.001)의 감소를 나타내었다. 그러나 담관 폐쇄를 한 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과했을 때는 이 효소의 Vmax치가 유의한 변동을 나타내지 않았다 (Table 8).

흰쥐에게 담관 폐쇄를 시행한 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군의 Vmax치보다는 약 72% (P<0.001), 담관 폐쇄만 한 군의 Vmax치보다는 약 52% (P<0.01)의 감소를 나타내었다. 그리고 담관을 폐쇄하고 2 일 경과한 군에서도 간 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해 약 43% (P<0.001)의 감소를 나타내었으며, 담관 폐쇄를 한 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과한 군에서도 이 microsome 효소의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해 약 41%

($P<0.001$)의 감소를 나타내었다. 그러나 담관 폐쇄를 시행한 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과한 군 사이에 이 microsome 효소의 Vmax 차를 상호 비교 했을 때는 차이가 없었다 (Table 8).

고 찰

간은 물질대사의 주된 기관으로서 다양한 기능을 가진 장기이며 간에 담즙울체가 야기되어 간이 손상을 받으면 간세포에서 합성되고, 간세포 외로 유리되는 효소들은 간조직과 혈중에서 그 활성도의 변동이 심하게 나타난다 (Kaplan & Righetti, 1970; Righetti & Kaplan, 1971; Toda *et al.*, 1980; Toyota *et al.*, 1984; 꽈춘식과 이상일, 1985; 꽈춘식과 장억규, 1985; 정상호와 꽈춘식, 1987; 김여희 외, 1989; 김여희 외, 1990; 박은미와 꽈춘식, 1992; 꽈춘식과 이숙형, 1992; Park *et al.*, 1994)고 한다.

실험적으로 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체를 야기하면 간에서 그 활성도가 변동되는 효소들은 많으며 그 중에서도 특히 생체이물 생체변환 효소들이 많다. 이들 중 활성도가 증가되는 생체이물 생체변환 효소들은 xanthine oxidase (꽈춘식, 1985), microsomal ethanol oxidizing system (꽈춘식 외, 1988), cytosolic aryl sulfotransferase (임종술, 1993; Ihm *et al.*, 1995), aldehyde dehydrogenase (꽈춘식, 1985)이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체변환 효소들은 microsomal 및 mitochondrial aryl sulfotransferase, UDP-glucuronosyltransferase, rhodanese (임종술, 1993; Ihm *et al.*, 1995), glutathione S-transferase, glutathione peroxidase (권용철 외, 1990), monoamine oxidase (문교철과 꽈춘식, 1989), catalase, alcohol dehydrogenase (꽈춘식 외, 1988), arylesterase, carboxylesterase 및 choinesterase (꽈춘식과 이숙형, 1992) 등으로 알려져 있다. 그러나 담즙울체 시

간과 혈청에서 이들 생체이물 생체변환 효소의 활성도 증감 기전에 대해서는 현재까지 명확하게 알려진 것은 없으며 단지 arylesterase 와 carboxylesterase가 담즙울체 간에서 그 합성이 저하된다 (곽춘식과 이숙형, 1992)는 추론만 있을 뿐이다. 그리고 담즙울체 간에서 활성도의 증가 기전이 어느 정도 밝혀져 있는 효소는 alkaline phosphatase 오직 하나이다. 즉 간의 alkaline phosphatase가 TCA의 간 내 농도 증가에 의해 그 합성이 자극을 받는다 (Ogawa *et al.*, 1990)는 것이다.

이 연구는 생체이물 생체변환 효소인 carboxylesterase의 활성도가 담즙울체 시 간과 혈청에서 왜 감소되었는지 그 기전의 일단을 알아 보기 위하여 시행한 것이다.

이 연구에서 해결해야 할 과제는 이들 효소 활성도가 어떤 기전에 의해 감소되었는가 하는 것이다. 이 문제를 해명하기 위해 만든 모델이 4 가지인데, 첫째는 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시켜 담즙울체 간을 만든 것이고, 둘째는 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시행하여 담즙울체 간을 만든 것이며, 세째는 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄한 직후 TCA를 외경정맥 내에 다량 주입하여 간에 담즙울체를 더욱 심화시킨 것이다. 그리고 네째는 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시행한 직후 TCA를 외경정맥 내에 다량 주입하여 간에 담즙울체를 심화시킨 것이다. 이 4 가지 모델 중 총담관 결찰로 담관 폐쇄를 시행한 모델과 총담관 대정맥문합을 시행한 모델은 시간이 경과될수록 간 내 담즙산의 농도가 점차 증가되는 점은 동일하나 다른 점은 그 증가 속도가 총담관 결찰로 담관 폐쇄를 시행한 모델이 총담관 대정맥 문합을 시행한 모델보다 빠르다 (Ogawa *et al.*, 1990)는 것이다. 이와 같이 총담관 결찰로 담관 폐쇄를 시행한 모델이 총담관 대정맥 문합을 시행한 모델보다 시간이 경과될수록 간 내 담즙산의 농도가 빠르게 증가되는 것은 담관 폐쇄로 담관 내 수압이 증가됨으로써 담관 내 담즙산이 간세포 내로 강제 역류되고 아울러 간 내의 담

즙산이 간 의로의 배출이 억제되기 때문에 나타난 현상 (Toyota *et al.*, 1984)이라고 한다. 그러나 총담관 대정맥 문합을 시행한 모델에서는 담관 내 수압이 증가되지 않기 때문에 담즙산의 간 세포 내로의 역류가 그리 심하지 않다 (Toyota *et al.*, 1984)고 한다. 따라서 이 4 가지 모델을 사용함으로써 시간 경과에 따른 간 내의 담즙산 농도 증가의 효과를 상호 비교할 수 있으며 아울러 총담관을 결찰하여 담관을 폐쇄한 직후 TCA를 외경정맥 내에 주입한 모델과 총담관 대정맥 문합 직후 TCA를 외경정맥 내에 주입한 모델로는 간 내 TCA의 고부하에 따른 TCA의 효과를 알아 볼 수가 있는 것이다.

이 연구에서 또 하나의 문제는 담즙산의 종류가 다르면 이들 효소 활성도에 미치는 효과도 달라지는가 하는 것이다. 그래서 담즙울체 간에서 활성도가 증가되는 alkaline phosphatase의 합성에 영향을 주지 않는다는 TUDCA (Toyota *et al.*, 1984; Ogawa *et al.*, 1990)를 총담관 결찰로 담관 폐쇄를 시행한 직후 또는 총담관 대정맥 문합 직후 외경정맥 내에 다량 주입하여 TUDCA의 효과를 관찰하였다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 한 후 2 일 경과했을 때와 담관 폐쇄를 한 후 1 일 및 2 일 경과했을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도 및 담관 폐쇄 후 2 일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도 등은 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 그리고 간 microsome 분획 및 혈청의 carboxylesterase 활성도는 총담관 대정맥 문합을 시행한 군보다 담관 폐쇄를 시행한 군에서 더 감소되었으며 양군 모두 수술 후 1 일 경과했을 때보다 2 일 경과했을 때 간과 혈청에서 이들 효소의 활성도가 더 감소되었다.

이 결과와 실험 내용으로 보아 간의 carboxylesterase는 간의 담즙울체의 정도가 경한 조건인 총담관 대정맥 문합 (Ogawa *et al.*, 1990)을 했을 때도 그 활성도가 감소되는 것을 알 수 있었으며 아울러 담즙울체의 시간이 경과되어 간의

담즙울체가 점차 심해질수록 간에서 이 효소의 활성도가 더 감소된다는 사실을 알 수 있었다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행한 직후 TCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 carboxylesterase의 활성도는 각각의 실험 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군 또는 담관 폐쇄만 한 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다.

한편 이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행하고 2 일 경과했을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다.

그리고 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행한 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군 또는 담관 폐쇄만 한 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다. 그러나 이 효소의 Km치는 모든 실험군의 간세포 분획에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

이 결과와 실험 내용으로 보아 TCA는 간의 carboxylesterase의 합성을 억제한다고 추정할 수 있으며 특히 TCA를 주입한 실험군에서 이 효소의 Km치는 변동이 없으면서 Vmax치가 감소된 것은 위의 추론을 한층 더 명확히 해주는 결과라고 생각한다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행한 직후 TUDCA를 주입하여 1 일 및 2 일 경과했을 때 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획과 혈청에서 이 효소의 활성도는 모두 실험 대조군의 활성도와 유의한 차이가 없었다. 그리고 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행한 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해서만 유의한 감소를 나

타내었다.

이 결과와 실험 내용으로 볼 때 TUDCA는 간의 carboxylesterase의 합성을 억제하지 않는다고 추정할 수 있다.

이상의 결과는 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획에서 얻어진 결과로서 담즙물체를 시킨 각 실험 모델에서 간 세포분획의 carboxylesterase의 활성도가 세포분획에 따라 감소되거나 또는 변동은 없었다. 이런 현상이 왜 일어났는지는 이 실험만으로는 명확하게 추론하기는 어렵다. 따라서 이 문제는 앞으로 더욱 추구해 보아야 하겠다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 한 직후 TCA를 주입하여 1일 및 2일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군 또는 담관폐쇄만 한 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다.

이 결과와 실험 내용으로 보아 담즙물체 시 TCA가 간 내에 고부하되면 혈청의 carboxylesterase의 활성도는 감소된다는 것을 알 수 있으며 그 감소의 원인은 TCA가 간에서 이 효소의 합성을 저지하는 억제함으로써 간에서 혈중으로 이 효소의 유출량이 감소되어 나타난 결과로 생각된다.

이상의 실험 결과와 문헌상의 지견을 종합해 볼 때 담즙물체 간에서 carboxylesterase의 활성도 감소는 담즙산 중 특히 TCA에 의해 이 효소의 합성이 억제되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙물체 시 이 효소의 혈청 중 활성도 감소는 간에서 이 효소의 합성 감소로 혈중으로의 유출이 감소되어 나타난 결과로 생각된다.

요 약

목적: 이 연구는 담즙물체 시 간과 혈청에서 활성도가 감소되는 carboxylesterase 활성도 감소 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였다.

대상 및 방법: 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥 문합을 시

행한 직후 TCA 또는 TUDCA를 정맥 내에 주입한 다음 경시적으로 간과 혈청에서 carboxylesterase 활성도의 변동에 대한 이들 담즙산의 효과를 측정하였다.

결과: 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 한 후 2일 경과했을 때와 담관 폐쇄를 한 후 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase 활성도와 담관 폐쇄 후 2일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도 등은 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 간 microsome 분획 및 혈청의 carboxylesterase 활성도는 총담관 대정맥 문합을 한 군보다 담관 폐쇄를 한 군에서 더 감소되었으며 양군 모두 수술 후 1일 경과했을 때보다 2일 경과했을 때 간과 혈청에서 이 효소의 활성도가 더 감소되었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 한 직후 TCA를 주입하여 1일 및 2일 경과했을 때 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 carboxylesterase의 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군 또는 담관 폐쇄만 한 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 한 직후 TCA를 주입하여 1일 및 2일 경과했을 때 혈청의 carboxylesterase 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군 또는 담관 폐쇄만 한 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행한 직후 TUDCA를 주입하여 1일 및 2일 경과했을 때 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획과 혈청에서 이 효소의 활성도는 모두 대조군과 유의한 차이가 없었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행하고 2일 경과했을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄

를 시행한 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 각각 대조군인 총담관 대정맥 문합만 한 군 또는 담관 폐쇄만 한 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시행한 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과했을 때 간 microsome 분획의 carboxylesterase의 Vmax치는 가수술만 한 군에 비해서만 유의한 감소를 나타내었다. 그러나 이 효소의 Km치는 모든 실험군의 간세포 분획에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

요약: 이상의 결과로 보아 담즙울체 간에서 carboxylesterase의 활성도 감소는 담즙산 중 특히 TCA에 의해 이 효소의 합성이 억제되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙울체 시 이 효소의 혈청 중 활성도 감소는 간에서 이 효소의 합성 감소로 혈중으로의 유출이 감소되어 나타난 결과로 생각된다.

색인단어: 담도 폐쇄, Carboxylesterase, 총 담관 대정맥문합, Taurocholic acid, Tauroursodeoxycholic acid

참 고 문 헌

곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1985;4:125-136.
곽춘식, 곽정식: 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986;5:45-53.

곽춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 1988;7:64-75.

곽춘식, 이상일: 흰쥐 담즙울체간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. 계명의대논문집 1985;4:131-137.

곽춘식, 이숙형: 흰쥐 담즙울체간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Cholinesterase

의 활성도. 한국생화학회지 1992;25:251-261.
곽춘식, 장억규: 흰쥐 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase 와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1985;4:1-27.

권용철, 문교철, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성도. 계명의대논문집 1990;9:159-170.

김여희, 곽춘식, 정성광: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1989;8:113-121.

김여희, 곽춘식, 정성광: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 및 간의 Aspartate Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1990;9:87-95.

문교철, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1989;8:69-77.

박은미, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 α -D- 및 β -D-Glucosidase와 β -D-Glucuronidase의 활성도. 계명의대논문집 1992;11:59-71.

임종술: 흰쥐 담즙울체간의 Aryl Sulfotransferase 및 Thiosulfate Sulfurtransferase의 활성도. 계명대학교 대학원 박사학위논문 1993.

정상호, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Leucine Aminopeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987;6:210-221.

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

Drew R, Priestly BG: Choleretic and cholestatic effects of infused bile salts in the rat. *Experientia* 1979;35:809-811.

Ecobichon DJ: Cytoplasmic carboxyle-

- sterases of human and domestic animal liver: Aggregation, dissociation and molecular weight estimation. *Can J Biochem* 1972;50:9-15.
- 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 NO, (eds) *Method in Enzymology* 1957;4: 708-731.
- Hashinotsume M, Higashino K, Hada T, Yamamura Y: Purification and enzymatic properties of rat serum carboxylesterase. *J Biochem* 1978;84:1325-1333.
- Heymann E: Carboxylesterase and amidases. In : Jacoby WB ed. *Enzymatic Basis of Detoxication*. Volume II. New York , Academic Press, 1980, 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.
- Holmes RS, Masters CJ. The developmental multiplicity and isozyme status of rat esterases. *Biochim Biophys Acta* 1967; 146(1):138-50.
- Høring N, Svenmark D: Carboxylesterases with different substrate specificity in human brain extracts. *J Neurochem* 1976;27:523-528.
- Høring N, Svenmark D: Carboxylesterase of human brain extract, purification and properties of a butyryl-esterase. *Biochim Biophys Acta* 1977;481: 500-514.
- Ihm JS, Kim YH, Kwak CS: Aryl sulfotransferase activity in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Korean J Biochem* 1995;27:141-147.
- Johnsen H, Odden E, Lie O, Johnsen BA, Fonnum F: Metabolism of T-2 toxin by rat liver carboxylesterase. *Biochem Pharmacol* 1986;35:1469-1473.
- Junge W: Carboxylesterase. In : Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graβ1Meds. *Method of Enzymatic Analysis*, Volume IV 3rd ed. Weinheim, Verlag Chemie, GmbH, 1984, 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, Krisch K: The carboxylesterase /amidases of mammalian liver and their possible significance. *Crit Rev Toxicol* 1975;3:371-434.
- 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.
- Kaur S, Ali B: The effects of phenobarbital, 3-methylcholanthrene and benzo(a)pyrene on the hydrolysis of xenobiotics on the rat. *Biochem Pharmacol* 1983;32:3479-3480.
- Kitani K, Kanai S, Ohta M, Sato Y: Differing transport maxima values for taurine-conjugated bile salts in rats and hamsters. *Am J physiol* 1986;251: G852-G858.
- Main AR, Rush RS: Hydrolysis of choline esters by rabbit liver oligomeric and

- monomeric carboxylesterases(EC 3.1.1.1). *J Biol Chem* 1980;255:7168-7173.
- Nousiainen U, Hänninen O: On the inducibility of cytosolic and microsomal carboxylesterase by phenobarbital on rat tissues. *Acta Pharmacol Toxicol* 1981; 49:77-80.
- Ogawa H, Mink J, Hardison WGM, Miyai K: Alkaline phosphatase activity in hepatic tissue and serum correlates with amount and type of bile acid load. *Lab Invest* 1990;62:87-95.
- Palmer RH: Bile acids, liver injury, and liver disease. *Arch Intern Med* 1972;130: 606-617.
- Park EM, Mun KC, Kwak CS: α -D-Mannosidase and β -D-Mannosidase activities in cholestatic rat liver induced by bile duct ligation. *Korean J Biochem* 1994;26:197-201.
- Rafstell M, Berzins K, Blomberg F: Immunochemical studies of a phenobarbital inducible esterase in a rat liver microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1977; 181:534-541.
- Righetti ABB, Kaplan MM: Effect of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Med* 1971;136: 491-495.
- Segel IH: *Biochemical Calculations*. 2nd ed. New York, John Wiley and Sons, 1976.
- 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;101:619-624.
- Toda G, Ikeda Y, Kako M, Oka H, Oda T: Mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction: An experimental study. *Clin Chim Acta* 1980;107:85-96.
- Toyota N, Miyai K, Hardison WGM: Effect of biliary pressure versus high bile acid flux on the permeability of hepatocellular tight junction. *Lab Invest* 1984;50:536-542.
- Tsujita T, Okuda H: Human liver carboxylesterase, properties and comparison with human serum carboxylesterase. *J Biochem* 1983;94:793-797.
- Tsujita T, Okuda H, Yamasaki N: Purification and some properties of carboxylesterase of rat adipose tissue. *Biochem Biophys Acta* 1982;715:181-188.
- Webb EC: Enzyme Nomenclature. San Diego, California, Academic Press, 1992, p 306.