

흰쥐 재생간에서 Benzoyltransferase 및 Phenylacetyltransferase의 활성도

계명대학교 의과대학 생화학과교실 및 의과학연구소

김영진 · 김여희

Benzoyltransferase and Phenylacetyltransferase Activities in Regenerating Liver after Partial Hepatectomy in Rats

Young Jin Kim, M.D. and You Hee Kim, M.D.

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

=Abstract=

We have investigated the effect of partial hepatectomy on the closely related acyl-CoA : amino acid N-acyltransferase, benzoyltransferase and phenylacetyltransferase activities in rat liver. Cytosolic, mitochondrial and microsomal benzoyltransferase and phenylacetyltransferase activities were determined in regenerating livers after 70% (median and left lateral lobes) partial hepatectomy in rats over a period of ten days. The activities of both benzoyltransferase and phenylacetyltransferase in microsome of regenerating rat liver showed a significant increase compared to the activities from the original liver from the first day to the third day after partial hepatectomy. The enzyme kinetic parameters of hepatic benzoyltransferase were analyzed using benzoyl coenzyme A as a substrate with microsomal preparations from the first day post-hepatectomy. And enzyme parameters of hepatic phenylacetyltransferase were also analyzed using phenylacetyl coenzyme A as a substrate with microsomal preparations from the first day post-hepatectomy. The results indicated that although the Km values of these enzymes were about the same as the control original liver, the Vmax values of both enzymes increased significantly. These results, therefore, suggest that the biosynthesis of hepatic microsomal benzoyltransferase and phenylacetyltransferase has been increased in the regenerating stage.

Key Words: Benzoyltransferase, Phenylacetyltransferase, Regenerating rat liver

서 론

간에 화학물질, 바이러스 또는 외과적인 손상이 야기되면 간세포는 이를 수복하기 위해 재생이 활발해짐 (Matsumoto & Nakamura, 1991; Tomiyama *et al.*, 1992; Fausto, 1994)이 알려져 있으나 아직도 간의 재생에 대한 생화학적 지견은 불충분하다. 재생간의 생화학적 연구를 위해서는 흰쥐의 간엽 중 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 잔여 간엽이 재생되어 비대된 재생간을 실험적 모델로 사용하고 있다. 이와 같이 흰쥐의 간엽 중 일부를 절제하면 남은 간엽은 급격히 재생되어 비대해지며 (Becker, 1963; Tsukada & Lieberman, 1964; Lieberman & Kane, 1965; Fausto, 1994), 재생이 완성한 시기의 재생간에서는 대사의 속도를 조절하기 위해 여러 효소의 활성도가 변동된다.

Benzoyltransferase (benzoyl coenzyme A: amino acid N-acetyltransferase)와 phenylacetyltransferase (phenylacetyl coenzyme A: amino acid N-acetyltransferase)는 제 2 상 생체이물 생체 변환 (phase 2 xenobiotic biotransformation) 효소의 일종이며 (Nandi *et al.*, 1979; Killenberg & Webster, 1980; Webster, 1981). 이 중에서 benzoyltransferase는 benzoylate, salicylate, acetate, propionate, n-butyrate, isobutyrate, isovalerate, 3-methylcrotonate, tiglate, methylmalonate (Nandi *et al.*, 1979), 2, 4-dichlorophenoxyacetate 및 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetate (Kelley & Vessey, 1986) 등에 L-glycine, L-asparagine 및 L-glutamine을 포함하는 반응을 촉매하는 효소로서 포유동물 간의 mitochondria에 많은 양 분포되어 있다 (Webster, 1976; Nandi *et al.*, 1979; Kelley & Vessey, 1986). 그리고 phenylacetyltransferase는 phenylacetate, indolacetate, phenoxyacetate, 2,4-dichlorophenoxyacetate와 같은 aryl acetate (Nandi *et al.*, 1979; Killenberg & Webster, 1980; Kelley & Vessey, 1986) 등에 L-glycine, L-asparagine 및 L-glutamine을 포함하는 반

응을 촉매하는 효소로서 역시 포유동물 간의 mitochondria에 주로 분포되어 있다 (Webster *et al.*, 1976; Nandi *et al.*, 1979; Kelley & Vessey, 1986). 이와 같이 이들 생체이물 생체 변환 효소는 간에 주로 존재하는 효소이며 간 손상으로 재생이 활발한 재생간에서는 이들 효소의 활성도 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 보고는 아직 없다. 따라서 재생간에서 이들 효소의 활성도 변동과 기전을 앎으로써 간담도 질환시 간의 생체이물 생체 변환 기능의 일단을 파악할 수 있을 것으로 생각된다.

이 연구는 재생간에서 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase의 활성도 변동과 그 변동 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행한 연구로서 흰쥐 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 12시간부터 10일까지 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획에서 이들 효소의 활성도를 측정하였으며 아울러 흰쥐의 간엽을 절제한 후 1일 경과한 쥐의 간 세포분획 시료에서 이들 효소의 기질에 대한 Km치 및 Vmax치를 측정하여 그 성격을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~350 g이 되는 Sprague-Dawley 종의 숫 흰쥐를 6군으로 나누어 간엽 부분 절제 수술을 시행하였으며 간엽 절제 수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 7일, 및 10일에 이들 쥐를 각각 5마리씩 회생시켜 실험에 사용하였다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험동물 사료를 사용하였다.

간엽 부분 절제 수술 및 간 적출 수술은 효소 활성의 일종 변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 실시하였다.

흰쥐 간엽의 부분 절제 수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2 cm 절개하여 간의 중엽과 좌측 외엽을 복강 밖으로 압출하고 인접 조직 사이의 인대를 절단한 후 간엽의 기저 부위를 결찰한 뒤 간엽을 절제하였다. 절제한 간엽은 전체 간의 약 70 %가 되며 이것은 원래간 (original liver)이라 부르기로 하였다.

2. 시약

Benzoyl coenzyme A lithium salt, phenylacetyl coenzyme A lithium salt, 5, 5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid), tris (hydroxymethyl) aminomethane, glycine 및 단백질 표준액 ($10\text{ g}/100\text{ ml}$ bovine albumin)은 Sigma 사 (미국)제품을 사용하였다. 그 외 일반시약은 시판되는 특급품을 사용하였다.

3. 간적출 및 세포분획

모든 실험군에서 간의 적출은 12 시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고 문맥에 삽관한 후 4°C 의 0.25 M sucrose 액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 또한 절제한 원래간은 4°C 의 0.25 M sucrose 액으로 충분히 씻어서 간에 남아 있던 혈액을 가능한 한 모두 제거하였다. 그리고 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose 액을 가능한 한 모두 제거하였다.

간의 세포분획을 얻기 위하여 적출한 간은 즉시 $2\sim4^{\circ}\text{C}$ 로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g 을 취하여 9 배량의 0.25 M sucrose 액을 넣은 다음 Teflon glass homogenizer (Thomas 사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inch)로 $2\sim4^{\circ}\text{C}$ 를 유지하면서 400 rpm 의 속도로 조심스럽게 5 회 왕복 마쇄하여 10% (w/v)의 간조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법 (곽준식과 곽정식, 1986)

으로 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄 균질액을 $571 \times g$ (average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10 분간 원심분리하여 조직의 미마쇄 부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 $7,796 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하여 pellet 와 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 $104,000 \times g$ 에서 1 시간 원심분리하여 pellet 와 상청액을 얻었다. 이때 얻은 상청액을 cytosol 분획으로 사용하였다. 그리고 위의 과정에서 얻은 pellet 를 0.25 M sucrose 액에 혼탁하고 이 액을 10~35% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하하여 $88,500 \times g$ 에서 15 분간 원심분리하여 얻은 원심분리관 중앙 부위와 상부에 형성된 pellet 를 모아서 $88,500 \times g$ 에서 1 시간 원심분리하여 pellet 를 얻고 이 pellet 를 다시 0.25 M sucrose 액에 재현탁하여 $88,500 \times g$ 에서 1 시간 재원심분리하여 pellet 를 얻었다. 이 pellet 를 microsome 분획으로 사용하였다.

한편 위의 $7,796 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet 를 0.25 M sucrose 액에 혼탁하고 이 액을 20~45% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 상부에 부하하여 $45,200 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25 M sucrose 액에 재현탁하고 $7,796 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하여 pellet 를 얻었으며 이것을 mitochondria 분획으로 사용하였다.

위의 세포분획법에서 모든 조작은 $2\sim4^{\circ}\text{C}$ 에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall 사 (미국)의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge 였다. 이때 사용한 rotor 는 Du Pont Sorvall 사의 SS-34 및 T865 rotor 였으며 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하였다.

4. Benzoyltransferase 및 phenylacetyltransferase 활성도 측정용 효소 시료 조제

Cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 benzoyltransferase 및 phenylacetyltransferase 시료 조제는 이들 분획을 단백질량으로 5 mg/ml 가 되도록 25 mM Tris-HCl (pH 8.0) 완충액으로 희석하여 사용하였다.

5. 효소 활성도 측정

각 간세포 분획의 benzoyltransferase 활성도 측정은 시료와 함께 benzoyl-coenzyme A 와 glycine을 기질로 사용하여 30°C 에서 반응시키면서 280 nm 파장에서 time scan으로 비색 정량하여 효소의 활성도를 산출하는 Webster (1981) 법에 의하였다. 간세포 분획의 phenylacetyltransferase 활성도 측정은 시료와 함께 phenylacetyl coenzyme A 와 glycine을 기질로 사용하여 30°C 에서 반응시키면서 236 nm 파장에서 time scan으로 비색 정량하여 효소의 활성도를 산출하는 Webster (1981) 법에 의하였다.

이들 효소의 활성도 단위는 1 분간에 1 mg 의 단백질이 반응하여 생성한 coenzyme A 를 nmol로 나타내었다.

이 실험에서는 채택한 효소 활성도 측정의 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

간엽 절제술 후 1 일 경과한 흰쥐 간의 세포분획 효소 시료와 각 효소 기질의 원액과 희석액을 사용하여 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase의 활성도를 측정한 후 이를 성적으로부터 $1/v_i$ 치를 구하고 기질 농도로부터 $1/[S]$ 치를 계산하여 이중 역수도 (double reci-

procial plot)를 작도한 다음 이것으로부터 K_m 치와 V_{max} 치를 산출 (Segel, 1976)하였다.

7. 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid 와 methanol-ether 혼합액 (3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg & Rothstein (1957) 법으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret 법 (Gornall *et al*, 1949)으로 정량하였다.

8. 성적 검정

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

성 적

1. 흰쥐 간 세포분획에서 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase의 국재소

쥐간 세포분획에서 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase의 국재소는 cytosol, mitochondria 및 microsome 이었고 이들 효소의 활성도가 가장 높은 분획은 mitochondria 분획이었으며 가장 활성도가 낮은 분획은 cytosol 분획이었다 (Table 1, 2).

2. 흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 benzoyltransferase의 활성도 변동

간엽 절제 후 재생간의 microsome 분획의 benzoyltransferase 활성도는 간엽 절제 후 1 일, 2 일 및 3 일에 통계학적으로 유의한 증가를 보였다. 즉 대조군인 원래간의 benzoyltransferase 활성도에 비해 간엽 절제 후 1 일의 재생간에서는 약 83% ($P<0.01$), 2 일의 재생간에서는 약 59% ($P<0.05$), 3 일의 재생간에서는 약 46% ($P<0.05$)의 증가를 보였다. 그러나 cytosole 및 mi-

Table 1. Activities of cytosolic, mitochondrial, and microsomal benzoyltransferase in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy days	Benzoyltransferase activities (nmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)							
	Cytosol		Mitochondria		Microsome			
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver		
0.5	7.2 ± 2.72	7.6 ± 3.10	48.8 ± 14.85	58.6 ± 18.62	28.4 ± 5.72	26.8 ± 5.84		
1	7.4 ± 2.64	6.4 ± 2.48	51.6 ± 12.78	68.2 ± 16.27	26.8 ± 6.28	49.2 ± 9.65**		
2	7.0 ± 2.47	6.5 ± 2.35	52.1 ± 12.58	56.6 ± 14.82	27.8 ± 5.93	44.2 ± 10.62*		
3	7.2 ± 2.68	6.8 ± 2.78	48.2 ± 13.12	54.7 ± 17.82	27.6 ± 5.86	40.4 ± 9.86*		
6	7.3 ± 2.53	6.7 ± 2.45	49.3 ± 14.88	53.5 ± 14.26	26.9 ± 6.22	31.4 ± 6.87		
10	7.1 ± 2.60	7.0 ± 2.27	50.7 ± 13.28	48.2 ± 15.60	27.9 ± 5.96	25.8 ± 7.63		

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

Significant difference from original livers (*;P<0.05, **;P<0.01).

Table 2. Activities of cytosolic, mitochondrial, and microsomal phenylacetyltransferase in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy days	Phenylacetyltransferase activities (nmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)							
	Cytosol		Mitochondria		Microsome			
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver		
0.5	10.2 ± 2.77	9.6 ± 3.02	63.4 ± 13.68	67.2 ± 16.24	38.0 ± 9.62	48.5 ± 15.46		
1	9.8 ± 2.92	9.1 ± 2.84	61.8 ± 12.87	64.8 ± 18.21	36.4 ± 9.92	107.2 ± 33.25**		
2	9.9 ± 2.78	9.4 ± 2.64	60.2 ± 12.65	65.6 ± 19.43	37.0 ± 9.66	63.4 ± 18.18*		
3	9.7 ± 2.54	9.6 ± 2.71	59.3 ± 13.12	66.8 ± 17.68	35.9 ± 9.48	57.2 ± 17.24*		
6	10.1 ± 2.49	8.8 ± 3.11	63.7 ± 12.86	55.8 ± 14.27	36.7 ± 9.92	42.4 ± 13.63		
10	9.6 ± 2.27	9.3 ± 2.37	62.8 ± 13.16	57.4 ± 12.66	36.3 ± 9.86	32.6 ± 9.65		

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

Significant difference from original livers (*;P<0.05, **;P<0.01).

tochondria 분획의 benzoyltransferase 활성도는 각각 실험 전기간 동안 변동이 없었다 (Table 1).

3. 흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 phenylacetyltransferase의 활성도 변동

간엽 절제 후 재생간의 microsome 분획의 phenylacetyltransferase 활성도는 간엽 절제 후 1일, 2일 및 3일에 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 대조군인 원래간의 phenylacetyltransferase 활성도에 비해 간엽 절제 후 1일의 재생간에서는 약 195% ($P<0.01$), 2일의

재생간에서는 약 71% ($P<0.05$), 3일의 재생간에서는 약 59% ($P<0.05$)의 증가를 보였다. 그러나 cytosole 분획 및 mitochondria 분획의 phenylacetyltransferase 활성도는 각각 실험 전기간 동안 변동이 없었다 (Table 2).

4. 간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간 microsome 분획에서 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase의 K_m 치 및 V_{max} 치의 변동

간엽 절제 후 1일의 재생간에서 microsome 분획의 benzoyltransferase 및 phenylacetyltransferase의 K_m 치에는 변동이 없었다. 그려

Table 3. Microsomal benzoyltransferase kinetic parameters from regenerating rat liver determined with benzoyl-coenzyme A

Km (mM)		V max (nmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	
Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.32 ± 0.07	0.29 ± 0.06	34.6 ± 6.58	56.4 ± 11.25 **

Michaelis-Menten constants for benzoyltransferase were determined using benzoyl-coenzyme A and glycine at 30°C for microsomal fraction of original male rat livers (original liver) and of regenerating male rat livers at 1st day after partial hepatectomy. The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group. Significant difference from original livers (** ; $P<0.01$).

Table 4. Microsomal phenylacetyltransferase kinetic parameters from regenerating rat liver determined with phenylacetyl-coenzyme A

Km (mM)		V max (nmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	
Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.31 ± 0.09	0.29 ± 0.07	49.6 ± 11.42	134.4 ± 37.36 **

Michaelis-Menten constants for phenylacetyltransferase were determined using phenylacetyl-coenzyme A and glycine at 30°C for microsomal fraction of original male rat livers (original liver) and of regenerating male rat livers at 1st day after partial hepatectomy.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group. Significant difference from original livers (** ; $P<0.01$).

나 이때 재생간의 microsome 분획에서 benzoyltransferase 의 Vmax 치는 대조군인 원래간의 Vmax 치보다 약 63% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 그리고 microsome 분획에서 phenylacetyltransferase 의 Vmax 치는 대조군인 원래간의 Vmax 치보다 약 171% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다 (Table 3, 4).

고 칠

간은 대사 기능, 생체이물 생체 변환 기능 및 재생 기능 등 수 많은 기능을 가진 장기이므로 간 손상으로 재생이 활발하면 간의 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase 는 활성도에 변동이 초래될 것이다. 따라서 재생간의 세포분획에서 이들 효소의 활성도 변동과 그 기전을 파악해봄으로써 재생간에서의 생체이물 생체 변환에 대한 새로운 지견을 얻을 수 있을 것으로 생각되며 또한 간재생이 왕성한 간담도 질환의 수복기에 대한 생화학적 배경 특히 간의 해독 기능의 일단이 밝혀질 것으로 생각된다. 흰쥐에서 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제하면 남은 간엽인 우측 외엽과 미상엽(尾狀葉)은 급격히 재생되어 비대해지며 (Becker, 1963; Tsukada & Lieberman, 1964; Lieberman & Kane, 1965; Fausto, 1994) 이 때 간세포는 재생을 위해 핵산과 단백질 합성이 활발해진다 (Becker, 1963; Lieberman & Kane, 1965; Bucher, 1967; 권기정과 유호열, 1969). 이와 같은 간의 재생기에는 각종 물질대사를 촉매하는 효소들의 활성도가 변동된다. 재생이 활발한 시기의 재생간에서 그 활성도가 변동되는 생체이물 생체 변환 효소는 여러 가지가 있으며 그 중에서도 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소는 monoamine oxidase (문교철 외, 1988), alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, microsomal ethanol oxidizing system (김여희 외, 1988), glyoxalase I (Principato *et al.*, 1983; 박재신, 1993) 및 aryl sulfotransferase (신미정 외, 1995)이며, 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소는 glutathione

S-transferase, glutathione peroxidase (곽춘식 외, 1989), xanthine oxidase, superoxide dismutase (김여희 외, 1987), catalase (Lamy *et al.*, 1973), cholinesterase (문교철 외, 1990), arylesterase, carboxylesterase (김홍열과 곽춘식, 1991) 및 rhodanese (김여희 외, 1993) 등을 들 수 있다.

이 실험에서 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase 의 활성이 측정된 쥐 간의 세포분획은 cytosol, microsome 및 mitochondria 이었다. 그리고 위 분획에서 이들 효소의 활성도가 가장 높은 분획은 mitochondria 분획이었으며 이들 효소의 활성도가 가장 낮은 분획은 cytosol 분획이었다. 위의 결과를 볼 때 간세포에서 benzoyltransferase 와 phenylacetyl transferase 의 국재소는 cytosol, endoplasmic reticulum 및 mitochondria 라 볼 수 있으며 주된 국재소는 mitochondria 라 생각된다.

이 실험에서는 흰쥐 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 12 시간, 1 일, 2 일, 3 일, 6 일 및 10 일의 재생간에서 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase 활성도를 측정하였다. 또한 간에서 이들 효소의 활성도 변동 기전의 일단을 알아보기 위하여 간엽 절제 후 1 일 경과한 쥐의 재생간에서 이들 효소의 기질에 대한 Km 치와 Vmax 치를 측정하였다.

이 실험에서 흰쥐의 간엽을 절제한 후 재생간의 microsome 분획의 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase 활성도는 간엽 절제 후 1 일, 2 일 및 3 일에 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 cytosol 과 mitochondria 분획에서 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase 활성도는 모두 실험 전기간 동안 변동을 나타내지 않았다.

이상의 성적으로 보아 benzoyltransferase 와 phenylacetyltransferase 는 간재생이 왕성한 시기에는 endoplasmic reticulum 에서 활성도가 증가되는 효소라는 것을 알 수 있었다.

이 실험에서 간엽 절제 후 1 일째의 흰쥐 재생

간에서 microsome의 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase의 Km치와 Vmax치를 측정 했을 때 Km치는 모두 변동이 없었으나 Vmax치는 유의한 증가를 나타내었다. 이와 같이 재생간의 microsome 분획에서 이들 효소의 Km치가 변동이 없으면서도 Vmax치가 증가되고 또한 그 활성도가 증가된 것은 촉매 효율 증가에 기인한 것이라 볼 수는 없다. 따라서 재생간의 endoplasmic reticulum에서 이들 효소의 활성도가 증가된 것은 그 합성이 증가되어 나타난 결과라 생각된다. 간 재생이 활발한 시기의 재생간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백 합성이 증가하고 (Becker, 1963; 권기징과 유호열, 1969) 아울러 열량소 대사도 활발해진다 (Dzhivanian & Ter-Dganian, 1979; Stein et al, 1985; Schofield et al, 1987; Nagino et al, 1989; Dixit et al, 1992)고 한다. 이런 현상과 함께 간 재생을 위해 유리한 쪽으로 먼저 대사가 진행될 것이라는 설 (정기용 외, 1986; 문교철 외, 1988; 곽춘식 외, 1989)도 있으므로 이 실험에서 측정한 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase는 간 재생과는 유관한 효소가 아닌가 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 재생간에서 이들 효소의 합성 증가가 어떤 원인에 의해 일어난 것인지는 분명하게 설명하기는 어렵다. 따라서 재생간의 endoplasmic reticulum에서 이들 효소 합성의 증가 원인과 기전을 분명히 알기 위해서는 더욱 연구해야 한다.

이상 문현상의 지견과 이 실험 결과를 볼 때 흰쥐 간의 microsome 분획의 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase는 재생이 활발한 시기의 재생간에서는 그 합성이 증가되는 효소로 생각된다.

요 약

재생간에서 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase의 활성도 변동을 알아보기 위하여 흰쥐의 간엽을 부분 절제한 후 각 시기의 재생간의 세포분획에서 이들 효소의 활성도를 측정

하는 한편 이들 효소의 Km치와 Vmax치도 함께 측정하였다. 흰쥐간 세포 분획에서 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase의 국재소는 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획이었다.

흰쥐 재생간의 활성도는 microsome 분획에서 만 간엽 절제 후 1,2 및 3일에 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다.

간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간에서 microsome 분획의 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase의 Km치에는 변동이 없었다. 그러나 이 분획에서 이들 효소의 Vmax치는 모두 유의한 증가를 나타내었다.

이상의 결과에서 흰쥐 간의 microsome 분획에서 benzoyltransferase와 phenylacetyltransferase는 간 재생이 활발한 시기의 재생간에서는 그 합성이 증가되는 효소로 생각된다.

참 고 문 헌

- 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.
 권기징, 유호열: Ethionine이 백서 재생간의 단백합성에 미치는 영향. *경북의대잡지* 1969;10(1):183-188.
 김여희, 문교철, 곽춘식, 이상일: 흰쥐 재생간의 Xanthine Oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1987;6(1):95-101.
 김여희, 문교철, 곽춘식, 정성광: 흰쥐 재생간의 알콜대사 효소들의 활성치. *계명의대논문집* 1988;7(2):280-287.
 김여희, 조경일, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 Rhodanese의 활성도. *계명의대논문집* 1993;12(4):447-454.
 김홍열, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 Carboxyle-

- sterase 및 Arylesterase의 활성도. *계명의대논문집* 1991;10(2):147-157.
- 문교철, 김여희, 이숙형, 곽준식: 흰쥐 재생간의 Cholinesterase의 활성도. *계명의대논문집* 1990;9(1):98-102.
- 문교철, 박은미, 김여희, 곽준식: 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1988;7(2):258-265.
- 박재신: 흰쥐 재생간과 담즙을체간의 Glyoxalase I 및 II와 Epoxide Hydratase의 활성도. *계명대학교 대학원 박사학위논문* 1993;1-58.
- 신미정, 김여희, 곽준식: 흰쥐 재생간에서의 Aryl Sulfotransferase의 활성도. *계명의대논문집* 1995;14(4):301-308.
- 정기용, 김인산, 손전영, 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.
- Bucher NL: Experimental aspects of hepatic regeneration. *N Engl J Med* 1967;277(14):738-746.
- 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 chick liver. *Biull Eksp Bol Med* 1979;87(6):547-550.
- Fausto N: Hepatic Regeneration in Zakim D, Boyer TD (eds): *Hepatology: a textbook of liver disease*, Philadelphia, WB Saunders, 1994, Vol I, pp 32-58.
- Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949;177(3):751-766.
- 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.
- Kelley M, Vessey DA: Interaction of 2,4 dichlorophenoxyacetate (2,4-D) and 2,4,5-trichlorophenoxyacetate (2,4,5-T) with the acyl-CoA: amino acid N-acetyltransferase enzymes of bovine liver mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1986;35(2):289-295.
- Killenberg PG, Webster, LJ Jr: Conjugation by peptide bond formation, in Jakoby WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxification*, New York, Academic Press, 1980, Vol II, pp 141-167.
- Lamy J, Lamy JN, Schmitt M, Weill J: Effect d'une hepatectomie sur l'activité de catalase et des oxydases peroxysolementales du foie du rat. *Biochimie* 1973;55(11):1491-1494.
- Lieberman I, Kane P: Synthesis of ribosome in the liver after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1965;240(4):1737-1741.
- Matsumoto K, Nakamura T: Molecular structure and function of hepatocyte growth factor. *Metabolism (Jpn)* 1991;28(8):599-618.
- Nandi DL, Lucas SV, Webster, LT Jr: Benzoyl-coenzyme A: glycine N-acetyltransferase and phenylacetyl coenzyme A: glycine N-acetyltransferase from bovine liver mitochondria. Purification and characterization. *J Biol Chem* 1979;254(15):7230-7237.
- Nagino M, Tanaka M, Nishikimi M, et al: Stimulated rat liver mitochondrial biogenesis after partial hepatectomy. *Cancer Res* 1989;49(17):4913-4918.

- Principato GB, Locci P, Rosi G, Talesa V, Giovannini E: Activity changes of glyoxalases I - II and glutathione reductase in regenerating rat liver. *Biochem Int* 1983;6(2):249-255.
- Schofield PS, Sugden MC, Corstorphine CG, Zammit VA: Altered interactions between lipogenesis and fatty acid oxidation in regenerating rat liver. *Biochem J* 1987;241 (2):469-474.
- Segel IH: *Biochemical Calculations*. 2 ed, New York, John Wiley and Sons, 1976, pp 214-246.
- Stein TA, Burus 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):1621-1624.
- Tsukada, Lieberman I: Metabolism of ribonucleic acid after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1964;239(5):1564-1568.
- Webster LJ Jr: Benzoyl-CoA: amino acid and phenylacetyl-CoA: amino acid N-acetyltransferase, in Jakoby WB (ed): *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1981, Vol 77, pp 301-307.
- Webster LT Jr, Siddiqui UA, Lucas SV, Strong JM, Mieyal JJ: Identification of separate acyl-CoA: glycine and acyl-CoA: L-glutamine N-acetyltransferase activities in mitochondrial fractions from liver of rhesus monkey and man. *J Biol Chem* 1976;251(11):3352-3358.