

담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 Cholinesterase의 합성 억제

경동정보대학 간호과, 계명대학교 의과대학 생화학교실 및 의과학 연구소*

박소경 · 곽춘식*

Repression of Rat Hepatic Cholinesterase by Bile Acid Load

So Kyung Park, M.D. and Chun Sik Kwak, Ph.D.*

*Department of Nursing, Kyungdong College of Techno-Information, Kyoungsan,
Department of Biochemistry, Keimyung University School of Medicine and Institute for Medical
Science,* Taegu, Korea*

=Abstract=

The possible mechanism of decrease of cholinesterase activity in cholestatic liver and serum was studied. 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 tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) injection (BDO plus TUDCA group), choledoco-caval shunt (CCS) operation (CCS group), CCS plus TCA injection (CCS plus TCA group), and CCS plus TUDCA injection (CCS plus TUDCA group). Cholinesterase activity was determined in the serum and liver cytosolic, mitochondrial and microsomal preparations isolated from the above experimental rats. The values of Km and Vmax in this hepatic enzyme were measured. The activity of liver microsomal cholinesterase showed a significant decrease in both the CCS and the BDO groups. And the activity of serum cholinesterase showed a marked decrease in both the CCS and the BDO groups. However, the cholinesterase activity in the serum and liver microsomal preparation fell more rapidly in the BDO group than the CCS group. Cholinesterase activities in liver cytosolic and microsomal preparations, and its Vmax values decreased significantly in both the CCS plus TCA group, and the BDO plus TCA group than that of each control group, such as CCS and BDO groups. On the other hand, the values of Km of the liver cytosolic and microsomal cholinesterase did not change in all the experimental groups. Serum cholinesterase activity decreased significantly in both the CCS plus TCA group and the BDO plus TCA group than that of each control group. However, these serum and hepatic enzymes activities did not change in both the CCS plus TUDCA group and the BDO plus TUDCA group. The above results suggest that TCA repress biosynthesis of cholinesterase in the liver. And the lowering of the serum enzyme activity is thought to be caused by a decrease of biosynthesis of this hepatic enzyme,

which causes the enzyme to leak into the blood in small quantity.

Key Words: Bile duct obstruction, Cholinesterase, Choledocho-caval shunt, Taurocholic acid, Tauroursodeoxycholic acid

서 론

Cholinesterase (acylcholine acylhydrolase, EC 3.1.1.8)는 주로 acylcholine들을 가수분해하여 choline과 carboxylic acid 음이온을 생성하게 하는 효소이며 (Kim, 1979) 동물의 거의 모든 조직과 체액중에 분포되어 있다 (Dixon & Webb, 1979; Atak *et al*, 1979).

이 효소는 조직과 체액중에 성상이 서로 다른 isozyme으로 존재하고 (Massoulié & Bon, 1982), 포유동물과 간세포에서는 endoplasmic reticulum과 세포질 분획에 주로 존재하며 mitochondria 분획에서도 발견된다 (Schwark & Ecobichon, 1968). 그리고 간조직에서는 이 효소의 합성이 왕성하여 그 함유량이 많을 뿐만 아니라 타조직과 달리 혈중으로 이 효소를 유리 (King, 1987)시키기도 한다. 또한 이 효소는 제 1 상 생체이물 생체 변환 (phase 1 xenobiotic biotransformation) 효소의 한 종류로서 주로 간세포에서 근이 완체인 succinylcholine, 국소마취제인 procaine, 마약성 진통제인 diacetylmorphine 등을 가수분해시키는 역할을 담당 (Heymann, 1980; Edwards & Brimijoin, 1983)하기도 한다.

이와 같은 cholinesterase는 급성 간염, 중증 폐쇄성 황달, 간암 등의 질환 시 환자의 혈청에서 그 활성도가 감소되고 (Wilkinson, 1976), 동물 실험에 의해 유도된 실험적 담즙울체 시 간과 혈청에서 그 활성도가 감소되는 것 (곽춘식과 이숙형, 1992)으로 알려져 있다. 그러나 이 효소가 담즙울체간에서 어떤 기전에 의해 그 활성도가 감소되는지는 아직도 분명치 않다. 현재까지는 생체이물 생체 변환 효소로서 담즙울체간에서 활성도의 변동 기전이 일부 알려져 있는 것은 단지 arylesterase와 carboxylesterase뿐이다 (한병훈, 1996; 한병훈과 김여희, 1997). 즉 이들 효소

는 담즙울체간에서 활성도가 현저히 감소되고 그 감소의 기전은 담즙울체로 간세포 내에 증가된 taurocholic acid가 이들 효소의 유전자 발현을 억제시켜 이들 효소의 합성을 감소시킨다는 것이다. 따라서 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들에 대해서 taurocholic acid가 어떤 효과를 나타내는지 알아낸다면 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들의 활성도 변동 기전의 일부가 밝혀 질 것으로 생각된다.

이 연구는 cholinesterase 활성도가 담즙울체 시 간과 혈청에서 왜 감소되었는지 그 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였으며, 흰쥐에게 총 담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥문합 (choledocho-caval shunt)을 시킨 직후에 간 괴사를 유발시킨다 (Palmer, 1972; Drew & Priestly, 1979; Kitani *et al*, 1986)는 taurocholic acid를 정맥 내에 주입시켜 경시적으로 간의 세포질, mitochondria 및 microsome과 혈청에서 cholinesterase의 활성도를 측정하였다니 taurocholic acid가 간에서 이 효소의 합성을 억제하는 것으로 생각되는 결과를 나타내었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시약

5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid), butyrylthiocoline iodide, Triton X-100, butyrylcholinesterase (from human serum, C5386), taurocholic acid (from ox bile, sodium salt, T0750), tauroursodeoxycholic acid (sodium salt, T0266) 및 단백질 표준액 (10 g/100 ml bovine albumin) 등은 Sigma사 (St. Louis, MO) 제품을 사용하였으며 그외 일

반시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

2. 동물 및 처치

동물은 4 주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280~320 g이 되는 Sprague-Dawley 종의 숫 흰쥐를 사용하였으며 1 군을 5 마리로 하여 다음과 같이 15 군으로 나누었다. 즉 정상군 (1 군), 가수술군은 가수술 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)으로 하였고 담관폐쇄 (bile duct obstruction)군은 총담관 결찰 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)으로 하였으며 담관폐쇄와 함께 taurocholic acid를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa *et al.* (1990)의 방법에 따라 taurocholic acid (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥내 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)으로 하였다. 담관폐쇄와 함께 taurooursodeoxycholic acid를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa *et al.* (1990)의 방법에 따라 taurooursodeoxycholic acid (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)으로 하였고 총담관 대정맥문합을 한 군은 총담관 대정맥문합을 한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)으로 하였으며 총담관 대정맥문합과 함께 taurocholic acid를 주입한 군은 총담관 대정맥문합 직후 Ogawa *et al.* (1990)의 방법에 따라 taurocholic acid (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)으로 하였다. 총담관 대정맥문합과 함께 taurooursodeoxycholic acid를 주입한 군은 총담관 대정맥문합 직후 Ogawa *et al.* (1990)의 방법에 따라 taurooursodeoxycholic acid (체중 100 g당 45 μmoles)를 주입한 후 1 일 및 2 일에 각각 희생시킨 군 (총 2 군)으로 하였다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다.

사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험동물 사료를 먹도록 하였다.

총담관 결찰 수술, 총담관 대정맥문합 수술 및 가수술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 희생시킬 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12 시간 금식시킨 후 ether마취하에서 실시하였다. 총담관 결찰은 간 근위부와 약 1 cm 아래쪽의 원부위의 총담관을 각각 이중 결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 그리고 총담관 대정맥문합은 상대정맥과 총담관을 medical grade silicon tube를 사용하여 연결하였으며 가수술은 단순 개복술만 시행하였다. Taurocholic acid (이하 TCA로 함) 및 taurooursodeoxycholic acid (이하 TUDCA로 함)액의 상대정맥 내에 주입은 syringe pump (Sage instruments, model 341A)를 사용하여 15 분간 주입하였다.

3. 간적출 및 세포분획

모든 실험군에서 간의 적출은 12 시간 금식시킨 후 ether마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간 문맥에 삽관한 후 4°C의 0.25 M sucrose액으로 판류하여 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 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9 배량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 Teflon pestle glass homogenizer (Thomas 사 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 microsome분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄균질액을 571 × g (average rela-

tive centrifugal force, 이하 생략함)에서 10 분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, 핵 및 원형 질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 $7,796 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하여 pellet와 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 $104,400 \times g$ 에서 1 시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었다. 이때 얻은 상청액을 cytosol 분획으로 사용하였다. 그리고 위의 과정에서 얻은 pellet를 0.25 M sucrose액으로 혼탁시키고 이 액을 10~35% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 $88,500 \times g$ 에서 15 분간 원심분리하여 얻은 원심분리관 중앙 부위와 상부에 형성된 pellet를 모아서 $88,500 \times g$ 에서 1 시간 원심분리하여 pellet를 얻고 이 pellet를 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜 $88,500 \times g$ 에서 1 시간 재원심분리하여 pellet를 얻었다. 이 pellet를 microsome 분획으로 사용하였다. 한편 위의 $7,796 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet를 0.25 M sucrose액에 혼탁시키고 이 액을 20~45% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 $45,200 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25 M sucrose 액에 재현탁시켜 $7,796 \times g$ 에서 20 분간 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. 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

분리한 microsome과 mitochondria는 단백질 양으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose 액에 혼탁시켰으며 이 혼탁액을 1% Triton X

-100액으로 배로 희석한 후 잘 혼합하여 사용 (Junge, 1984)하였다. 그리고 cytosol 분획은 아무런 처리 없이 원액 그대로 사용하였다.

5. 효소 활성도 측정

혈청과 간의 세포질, mitochondria 및 microsome 분획의 cholinesterase 활성도 측정은 butyrylthiocholine을 기질로 하여 37°C에서 2 분간 반응시키는 동안에 생성된 thiocholine이 5, 5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)와 다시 반응하여 생성된 5-thio-2-nitrobenzoate의 분자 흡광 계수 $E_{1\text{cm}}^{\text{mM}} = 1.36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 를 이용하여 효소활성도를 산출하는 방법인 Whitaker (1984)의 방법에 의하였다.

이 효소의 활성도 단위는 1 분간에 1 ml의 혈청 또는 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 5-thio-2-nitrobenzoate를 nmol로 나타내었다. 이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제된 효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2 회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 효소 활성도 측정에 사용한 분광 광도계는 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 희석액을 사용하여 cholinesterase의 활성도를 측정한 후 이를 성적으로부터 $1/v_i$ 치를, 그리고 기질 농도로부터 $1/[S]$ 치를 계산하여 이중역수도 (double reciprocal plot)를 작성한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출 (Segel, 1976)하였다.

7. 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M per-

chloric acid와 methanol-ether 혼합액 (3 : 1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg & Rothstein (1957)법으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법 (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. 흰쥐에서 간의 cholinesterase 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 또는 담관폐쇄와 담즙 정체 시간의 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시켰을 때 간의 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥문합 후 2 일 경과시킨 군에서 간 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 가수술군보다 약 23% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었다. 담관폐쇄 후 1 일 경과시

킨 군의 간 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 정상군보다 약 42% ($P<0.01$), 가수술 군보다도 약 42% ($P<0.001$)의 감소를 나타내었으며 담관폐쇄 후 2 일 경과시킨 군의 간 microsome 분획의 이 효소 활성도는 정상군보다 약 51% ($P<0.001$), 가수술군보다 약 52% ($P<0.01$)의 감소를 나타내었다. 그리고 간 microsome 분획의 cholinesterase 활성도를 총담관 대정맥 문합을 시킨 군과 담관폐쇄를 시킨 군 간에 상호 비교했을 때는 담관폐쇄 후 1 일 경과시킨 군의 간 microsome 분획의 이 효소 활성도는 총담관 대정맥문합 후 1 일 경과시킨 군보다 약 33% ($P<0.01$) 감소를 나타내었으며 담관폐쇄 후 2 일 경과시킨 군의 간 microsome 분획의 이 효소 활성도는 총담관 대정맥문합 후 2 일 경과시킨 군보다 약 37% ($P<0.01$)의 감소를 나타내었다 (Table 1). 간의 cytosol 및 mitochondria 분획에서 cholinesterase의 활성도는 모든 실험군에서 별 변동을 나타내지 않았다 (Table 1).

2. 흰쥐에서 간의 cholinesterase 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 및 담관폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입의 영향

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

Experimental groups	Cholinesterase activities (nmol 5-thio-2-nitrobenzoate min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
Normal	34.5 ± 4.1	8.8 ± 2.1	34.8 ± 6.2
Sham 1 day	34.3 ± 4.3	8.6 ± 1.9	35.0 ± 5.4
Sham 2 days	34.8 ± 4.5	8.7 ± 2.3	35.5 ± 6.4
CCS 1 day	35.1 ± 4.8	8.6 ± 2.4	30.2 ± 5.6
CCS 2 days	34.5 ± 5.2	8.4 ± 2.6	27.3 ± 4.7 ^g
BDO 1 day	34.7 ± 5.1	8.5 ± 1.2	20.3 ± 3.4 ^{b,f,k}
BDO 2 days	34.1 ± 4.7	8.3 ± 1.5	17.2 ± 3.1 ^{c,i,n}

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, f; $P<0.001$ vs. Sham 1 day, g; $P<0.05$ vs. Sham 2 days, i; $P<0.001$ vs. Sham 2 days, k; $P<0.01$ vs. CCS 1 day, n; $P<0.01$ vs. CCS 2 days.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간의 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 주입시키고 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 분획의 cholinesterase 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군보다 각각 약 17% ($P<0.05$) 및 약 21% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었으며 간 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 대조군보다 각각 약 25% ($P<0.05$) 및 약 29% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었다. 그러나 간의 mitochondria 분획에서는 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 이 효소의 활성도는 유의한 변동이 없었다. 또한 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때도 간의 3 종 세포 분획에서 cholinesterase 활성도는 모두 대조군과 통계학적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 3).

2).

흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간의 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 담관폐쇄 직후 TCA를 주입시키고 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 분획의 cholinesterase 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군보다 다 같이 약 24% ($P<0.05$) 감소를 나타내었으며 간 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 대조군보다 각각 약 30% ($P<0.05$) 및 약 29% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었다. 그러나 간의 mitochondria 분획에서는 담관폐쇄 직후 TCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 이 효소의 활성도는 별 변동이 없었다. 또한 담관폐쇄 직후 TUDCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때도 간의 3 종 세포분획에서 cholinesterase 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다 (Table 3).

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

Experimental groups	Cholinesterase activities (nmol 5-thio-2-nitrobenzoate min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
CCS 1 day	35.1 ± 4.8	8.6 ± 2.4	30.2 ± 5.6
CCS 1 day + TCA	29.3 ± 4.2 ^j	8.1 ± 2.2	22.6 ± 4.7 ^j
CCS 1 day + TUDCA	36.2 ± 4.4	8.8 ± 2.1	29.4 ± 6.1
CCS 2 days	34.5 ± 5.2	8.4 ± 2.6	27.3 ± 4.7
CCS 2 days + TCA	27.3 ± 4.6 ^m	7.8 ± 2.3	19.4 ± 5.9 ^m
CCS 2 days + TUDCA	35.2 ± 5.2	8.6 ± 2.8	27.6 ± 4.9

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, m; $P<0.05$ vs. CCS 2 days

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

Experimental groups	Cholinesterase activities (nmol 5-thio-2-nitrobenzoate min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
BDO 1 day	34.7 ± 5.1	8.5 ± 1.2	20.3 ± 3.4
BDO 1 day + TCA	26.3 ± 4.5 ^p	7.1 ± 0.8	14.2 ± 2.4 ^p
BDO 1 day + TUDCA	35.1 ± 5.4	8.4 ± 1.6	21.5 ± 3.7
BDO 2 days	34.1 ± 4.7	8.3 ± 1.5	17.2 ± 3.1
BDO 2 days + TCA	25.8 ± 5.1 ^s	6.8 ± 1.1	12.2 ± 1.6 ^s
BDO 2 days + TUDCA	34.8 ± 5.3	8.5 ± 1.8	22.3 ± 3.6

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, s; P<0.05 vs. BDO 2 day

3. 흰쥐에서 혈청의 cholinesterase 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 또는 담관폐쇄와 담즙 정체 시간의 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시켰을 때 혈청의 cholinesterase 활성도는 유의하게 감소하였다. 즉 총담관 대정맥문합 후 2 일 경과시킨 군에서 혈청의 cholinesterase 활성도는 정상군보다 약 30% (P<0.05), 가수술군보다 약 31% (P<0.05)의 감소를 나타내었고 담관폐쇄 후 1 일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군보다 약 30% (P<0.05), 가수술군보다 약 31% (P<0.05)의 감소를 나타내었으며 담관폐쇄 후 2 일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군보다 약 36% (P<0.05), 가수술군보다 약 37% (P<0.05)의 감소를 나타내었다 (Table 4).

한편 혈청의 cholinesterase 활성도를 총담관 대정맥문합을 시킨 군과 담관폐쇄를 시킨 군간에 상호 비교했을 때는 담관폐쇄를 시킨 군이 총담관

대정맥문합을 시킨 군보다 이 효소의 활성도가 약간 더 감소하였다. 그리고 양 군 모두에서 혈청의 이 효소를 수술 후 1 일 경과시켰을 때와 2 일 경과시켰을 때의 비교 즉, 일차 변동을 비교했을 때는 수술 후 2 일 경과시킨 군이 1 일 경과시킨 군보다 약간 더 감소 하였다 (Table 4).

4. 흰쥐에서 혈청의 cholinesterase 활성도에 미치는 총담관 대정맥문합 및 담관폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입의 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입시키고 1 일 및 2 일 경과시켰을 때의 혈청 cholinesterase 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 주입시키고 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 혈청의 cholinesterase 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군보다 약 32% (P<0.05) 및 35% (P<0.05)의 감소를 나타내었다 (Table

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

Experimental groups	Cholinesterase activities (nmol 5-thio-2-nitrobenzoate min ⁻¹ ml ⁻¹)
Normal	648.6 ± 132.4
Sham 1 day	653.4 ± 126.5
Sham 2 days	656.7 ± 132.6
CCS 1 day	494.9 ± 116.8
CCS 2 days	453.4 ± 123.7 ^{a,g}
BDO 1 day	452.3 ± 127.3 ^{a,d}
BDO 2 days	416.2 ± 112.8 ^{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, d; P<0.05 vs. Sham 1 day, g; P<0.05 vs. Sham 2 days

Table 5. Effects of taurocholic acid (TCA), and taurooursodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after choledocho-caval shunt (CCS) or bile duct obstruction (BDO) on serum cholinesterase activities in rats

Cholinesterase activities (nmol 5-thio-2-nitrobenzoate min ⁻¹ ml ⁻¹)	
Experimental groups	Experimental groups
CCS 1 day	494.9 ± 116.8
CCS 1 day + TCA	334.6 ± 93.3 ^j
CCS 1 day + TUDCA	486.5 ± 127.2
CCS 2 days	453.4 ± 123.7
CCS 2 days + TCA	293.5 ± 87.5 ^m
CCS 2 days + TUDCA	447.2 ± 115.6
BDO 1 day	452.3 ± 127.3
BDO 1 day + TCA	287.4 ± 86.2 ^p
BDO 1 day + TUDCA	467.2 ± 116.4
BDO 2 days	416.2 ± 112.8
BDO 2 days + TCA	252.5 ± 76.3 ^s
BDO 2 days + TUDCA	406.7 ± 106.5

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Experimental groups are described in Table 2, 3 and text.

j; P<0.05 vs. CCS 1 days, m; P<0.05 vs. CCS 2 days, p; P<0.05 vs. BDO 1 days, s; P<0.05 vs. BDO 2 days

5).

혈청에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시키고 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 혈청의 cholinesterase 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 즉 담관폐쇄 직후 TCA를 주입시키고 1 일 및 2 일 경과 시켰을 때 혈청의 cholinesterase 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군보다 각각 약 36% (P<0.05) 및 약 39% (P<0.05)의 감소를 나

타내었다.

그러나 총담관 대정맥문합 직후 또는 담관폐쇄 직후 TUDCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 혈청의 cholinesterase 활성도는 대조군과 별 차이가 없었다 (Table 5).

5. 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄 후 2 일 경과한 실험군에서 간의 cholinesterase의 km 치 및 Vmax치의 변동

수술 후 2 일 경과시킨 실험군에서 간의 cholinesterase를 butyrylthiocholine을 기질로 사용하여 Km치 및 Vmax치를 측정했을 때 Km치는 모두 별 변동이 없었다 (Table 6, 7).

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 후 2 일 경과했을 때 간 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다 약 30% ($P < 0.01$)의 감소를 나타내었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를

Table 6. Rat hepatic cholinesterase kinetic parameters from 2 days after choledocho-caval shunt (CCS 2 days) determined with butyrylthiocholine

Experimental groups	Cytosol		Microsome	
	Km (mM)	Vmax (nmol 5-thio-2-nitrobenzoate min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	Km	Vmax
Sham 2 days	3.32 ± 0.30	54.2 ± 6.4	3.47 ± 0.32	62.4 ± 7.5
CCS 2 days	3.16 ± 0.27	50.6 ± 5.6	3.41 ± 0.35	43.9 ± 5.8 ^b
CCS 2 days + TCA	3.24 ± 0.24	38.2 ± 4.2 ^{b,u}	3.44 ± 0.33	30.2 ± 4.1 ^{i,n}
CCS 2 days + TUDCA	3.28 ± 0.26	53.1 ± 5.8	3.48 ± 0.30	59.6 ± 6.8

Michaelis-Menten constants for cholinesterase were determined using butyrylthiocholine at 37°C for cytosolic 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, n; $P < 0.01$ vs. CCS 2 days

Table 7. Rat hepatic cholinesterase kinetic parameters from 2 days after bile duct obstruction (BDO 2 days) determined with butyrylthiocholine

Experimental groups	Cytosol		Microsome	
	Km (mM)	Vmax (nmol 5-thio-2-nitrobenzoate min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	Km	Vmax
Sham 2 days	3.32 ± 0.30	54.2 ± 6.4	3.47 ± 0.32	62.4 ± 7.5
BDO 2 days	3.21 ± 0.25	52.1 ± 5.9	3.43 ± 0.37	31.9 ± 4.2 ⁱ
BDO 2 days + TCA	3.34 ± 0.27	36.4 ± 3.6 ^{i,u}	3.49 ± 0.34	21.2 ± 3.1 ^{i,t}
BDO 2 days + TUDCA	3.35 ± 0.31	53.2 ± 5.8	3.46 ± 0.37	59.6 ± 6.8

Michaelis-Menten constants for cholinesterase were determined using butyrylthiocholine at 37°C for cytosolic 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

주입하고 2 일 경과시켰을 때 간의 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다 각각 약 30% ($P<0.01$) 및 약 52% ($P<0.001$), 총담관 대정맥문합만 시킨 군보다 각각 약 25% ($P<0.01$) 및 약 31% ($P<0.01$)의 감소를 나타내었다. 그러나 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치를 가수술만 시킨 군 또는 대정맥문합을 시킨 군과 비교했을 때 상호간에 별 차이가 없었다 (Table 6).

흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 후 2 일 경과했을 때 간 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다 약 50% ($P<0.001$)의 감소를 나타내었다.

흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 33% ($P<0.001$) 및 66% ($P<0.001$), 담관폐쇄만 시킨 군보다 각각 약 30% ($P<0.01$) 및 약 32% ($P<0.001$) 감소를 나타내었다. 그러나 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획의 이 효소의 Vmax치를 가수술만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군과 비교했을 때는 상호간에 별 차이가 없었다 (Table 7).

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; 곽춘식과 장억규, 1985; 곽춘식과 이상일, 1985; 정상호와 곽춘식, 1987; 김여희 외, 1989; 김여희 외, 1990; 박은미와 곽춘식, 1992; 곽춘식과 이숙형, 1992; Park *et al.*, 1994).

실험적으로 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙을

체를 야기시키면 간에서 그 활성도가 변동되는 효소들은 많으며 그 중에서도 특히 생체이물 생체변환 효소들이 많다. 이들 중 활성도가 증가되는 생체이물 생체변환 효소들은 xanthine oxidase (곽춘식, 1985), microsomal ethanol oxidizing system (곽춘식 외, 1988), cytosolic arylsulfotransferase (Ihm *et al.*, 1995) aldehyde dehydrogenase (곽춘식 외, 1988)이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체변환 효소들은 microsomal 및 mitochondrial aryl sulfotransferase, UDP-glucuronosyltransferase, rhodanese (Ihm *et al.*, 1995; Ihm and Kim., 1997), arylesterase, carboxylesterase, cholinesterase (곽춘식과 이숙형, 1992) 등으로 알려져 있다. 그러나 담즙울체 시 간과 혈청에서 이들 생체이물 생체변환 효소의 활성도 증감기전에 대해서는 현재까지 어느정도 밝혀져 있는 것은 arylesterase와 carboxylesterase뿐이다 (한병훈, 1996; 한병훈과 김여희, 1997). 즉 arylesterase와 carboxylesterase가 TCA의 간내 농도 증가에 의해 그 합성이 억제를 받는다는 것이다.

이 연구는 생체이물 생체변환 효소인 cholinesterase의 활성도가 담즙울체 시 간과 혈청에서 왜 감소되었는지 그 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행하였다. 이 연구에서의 과제는 이 효소 활성도가 어떤 기전에 의해 감소되었는가 하는 것이다. 이 연구에서는 이를 해결하기 위해 Ogawa *et al.* (1990) 및 한병훈과 김여희(1997)의 방법에 준하여 동물 모델 4 가지를 만들었는데, 첫째는 흰쥐에게 총담관절찰로 담관을 폐쇄시켜 담즙울체간을 만든 것이고, 두번째는 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시켜 담즙울체간을 만든 것이며, 셋째는 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 TCA를 상대정맥 내에 다량 주입하여 간 내에 담즙울체를 더욱 심화시킨 것이다. 그리고 넷째는 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 상대정맥 내에 다량 주입하여 간 내에 담즙울체를 심화시킨 것이다. 이 4 가지 모델 중 총담관 결찰로 담관폐쇄를 시킨 모델과 총담관 대정맥문합을

시킨 모델은 시간이 경과될수록 간 내 담즙산의 농도가 점차 증가되는 점은 동일하나 다른 점은 그 증가 속도가 총담관 결찰로 담관폐쇄를 시킨 모델이 총담관 대정맥문합을 시킨 모델보다 빠르다 (Ogawa *et al.*, 1990)는 것이다. 이와 같이 총담관 결찰로 담관폐쇄를 시킨 모델이 총담관 대정맥문합을 시킨 모델보다 시간이 경과될수록 간 내의 담즙산 농도가 빠르게 증가되는 것은 담관폐쇄로 담관 내 수압이 증가됨으로 인해 담관 내 담즙산이 간세포 속으로 강제 역류되고 아울러 간 내의 담즙산이 간 바깥으로 배출이 억제되기 때문에 나타난 현상인 것 (Toyota *et al.*, 1984)이다. 그러나 총담관 대정맥문합을 시킨 모델에서는 담관 내 수압이 증가되지 않기 때문에 담즙산의 간 세포 내로의 역류가 심하지는 않다 (Toyota *et al.*, 1984)고 한다. 따라서 이 4 가지 모델을 사용함으로써 시간경과에 따른 간 내의 담즙산 농도 증가의 효과를 상호 비교할 수 있으며 아울러 총담관을 결찰하여 담관을 폐쇄시킨 직후 TCA를 상대정맥 내에 주입한 모델과 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 상대정맥 내에 주입한 모델로는 간 내 TCA의 고부하에 따른 TCA의 효과를 알아 낼 수가 있다. 이 연구에서 또 하나의 문제점은 담즙산의 종류가 다르면 이를 효소 활성도에 미치는 효과도 달라지는가 하는 점이다. 그래서 담즙울체간에서 활성도가 감소되는 arylesterase와 carboxylesterase의 합성에 영향을 주지 않는다는 TUDCA (한병훈, 1996; 한병훈과 김여희, 1997)를 총담관 결찰로 담관폐쇄를 시킨 직후 또는 총담관 대정맥문합 직후 상대정맥 내에 다량 주입시켜 TUDCA의 효과를 관찰하여 보았다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 후 2일 경과시켰을 때와 담관폐쇄를 시킨 후 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 cholinesterase 활성도 및 혈청의 cholinesterase 활성도는 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 그리고 간 microsome 분획 및 혈청의 cholinesterase 활성도는 총담관 대정맥문합을 시킨 군보다 담관 폐쇄를 시킨 군에서 더 감소되었으며 양군 모두 수술 후 1 일 경과시켰을 때보

다 2 일 경과시켰을 때 간 microsome 분획과 혈청에서 이 효소의 활성도가 더 감소되었다. 이 결과로 보아 간과 혈청 cholinesterase는 간의 담즙울체의 정도가 경한 조건인 총담관 대정맥문합 (Ogawa *et al.*, 1990)을 시켰을 때도 그 활성도가 감소되는 것을 알 수 있었으며 아울러 담즙울체의 시간이 경과되어 간의 담즙울체가 점차 심해질수록 간에서 이 효소의 활성도가 더 감소 된다는 사실을 알 수 있었다. 이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 한편 이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시키고 2 일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치는 가수술만 시킨 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다. 그리고 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax 치는 각각 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다. 그러나 이 효소의 Km치는 이들 실험 군의 간 세포분획에서 유의한 변동을 나타내지 않았다. 이 결과로 보아 TCA는 간의 cholinesterase의 합성을 억제한다고 추정할 수 있으며 특히 TCA를 주입한 실험군들에서 이 효소의 Km치는 변동이 없으면서 Vmax치가 감소된 것은 위의 추론을 한층 더 뒷받침 해주는 결과라고 생각한다. 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획과 혈청에서 이 효소의 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 이 결과로 볼 때 TUDCA는 간과 혈청 cholinesterase의 합성을 억제하지 않는다고 추정할 수 있다. 이상의 결과들은 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획에서 얻어진 결과로서 담즙울체를 시킨 각 실험모델에서 간 세

포분획의 cholinesterase의 활성도가 세포분획에 따라 감소되거나 또는 변동이 없었다. 이런 현상이 왜 일어났는지 이 실험만으로는 추론하기는 어렵다. 따라서 이 문제는 앞으로 더욱 추구해 보아야 하겠다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 혈청의 cholinesterase 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다. 이 결과로 보아 담즙울체 시 TCA가 간 내에 고부화되면 혈청 cholinesterase의 활성도는 감소된다는 것을 알 수 있으며 그 감소의 원인은 TCA가 간에서 이 효소의 합성을 현저히 억제시킴으로 인해 간에서 혈중으로 이 효소의 유출량이 감소되어 나타난 결과로 생각된다.

이상 이 실험 결과들과 문현상의 지경을 종합해 볼 때 담즙울체간에서 cholinesterase의 활성도 감소는 담즙산 중 특히 TCA에 의해 이 효소의 합성이 억제되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙울체 시 이 효소의 혈청 중 활성도 감소는 간에서 합성 감소로 혈중으로의 유출이 감소되어 나타난 결과로 생각된다.

요 약

이 연구는 담즙울체 시 간에서 활성도가 감소되는 cholinesterase 활성도 감소 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였으며, 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA 또는 TUDCA를 정맥내에 주입시킨 다음 경시적으로 간과 혈청에서 cholinesterase 활성도의 변동에 대한 이들 담즙산의 효과를 측정하였다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 후 2 일 경과시켰을 때와 담관폐쇄를 시킨 후 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 cholinesterase 활성도 및 혈청의 cholinesterase 활성도는 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 간 microsome 분획 및 혈청의 cholinesterase 활

성도는 총담관 대정맥문합을 시킨 군보다 담관폐쇄를 시킨 군에서 더 감소되었으며 양군 모두 수술 후 1 일 경과시켰을 때보다 2 일 경과시켰을 때 간 microsome 분획과 혈청에서 이 효소의 활성도가 더 감소되었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획과 혈청의 cholinesterase 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 감소를 나타내었다. 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1 일 및 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획과 혈청에서 이 효소의 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시키고 2 일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치는 가수술만 시킨 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다. 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입하고 2 일 경과시켰을 때 간 cytosol 및 microsome 분획의 cholinesterase의 Vmax치는 각각 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다. 그러나 이 효소의 Km치는 이들 실험군의 간 세포분획에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

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

참고문헌

- 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1985;4(2):125-130.
곽춘식, 곽정식: 흰쥐 간세포 분획법 I. Mito-

- chondria 및 Microsome의 분리. *계명의대논문집* 1986;5(1):45-53.
- 곽춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치. *계명의대논문집* 1988; 7(1):64-75.
- 곽춘식, 이상일: 흰쥐 담즙울체간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. *계명의대논문집* 1985; 4(2):131-137.
- 곽춘식, 이숙형: 흰쥐 담즙울체간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Cholinesterase의 활성도. *한국생화학회지* 1992;25(3):251-261.
- 곽춘식, 장억규: 흰쥐 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. *계명의대논문집* 1985;4(1): 1-27.
- 김여희, 곽춘식, 정성광: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향. *계명의대논문집* 1989;8(1):113-121.
- 김여희, 곽춘식, 정성광: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 및 간의 Aspartate Aminotransferase 활성에 미치는 영향. *계명의대논문집* 1990;9(1):87-95.
- 박은미, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 α -D- 및 β -D-Glucosidase와 β -D-Glucuronidase의 활성도. *계명의대논문집* 1992;11(1): 59-71.
- 정상호, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Leucine Aminopeptidase의 활성치. *계명의대논문집* 1987;6(2):210-221.
- 한병훈: 흰쥐 간의 Arylesterase와 Carboxylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. *계명대학교 대학원 박사학위논문* 1996;1-46.
- 한병훈, 김여희: 흰쥐 간의 Arylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. *대한간학회지* 1997;3(2):154-169.
- Atak JR, Perry EK, Bonham JR, Perry RH: Molecular forms of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in human plasma and cerebrospinal fluid. *J Neurochem* 1987;48(6):1845-1850.
- Dixon M, Webb EC: *Enzymes*. London, Longman Group, 1979, pp 634-636.
- Drew R, Priestly BG: Choleretic and cholestatic effects of infused bile salts in the rat. *Experientia* 1979;35(6):809-811.
- Edward JA, Brimijoin S: Effects of hypophysectomy on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the rat. *Biochem Pharmacol* 1983;32(7):1183-1189.
- 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.
- Heymann E: Carboxylesterase and amidases, in Jacoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, New York, Academic Press, 1980, Vol II, pp 291-323.
- Ihm JS, Kim YH: Thiosulfate sulfurtransferase and UDP-glucuronosyltransferase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Exp Mol Med* 1997;29(4):197-201.
- Ihm JS, Kim YH, Kwak CS: Aryl sulfotransferase activity in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Korean J Biochem* 1995;27(3):141-147.
- Junge W: Carboxylesterase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M (eds): *Method of Enzymatic Analysis*, ed 3, Weinheim, Verlag Chemie GmbH 1984, Vol IV, pp 2-7.
- Kaplan MM, Righetti A: Induction of rat liver alkaline phosphatase: The mecha-

- nism of the serum elevation in bile duct obstruction. *J Clin Invest* 1970;49(3):508-516.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature*. IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 234-235.
- King ME: Cholinesterase, in Pesce AJ, Kaplan LA (eds): *Methods in Clinical Chemistry*, ST Louis, The CV Mosby, 1987, pp 161-168.
- 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(6 pt 1): G852-G858.
- Massoulié J, Bon S: The molecular forms of cholinesterase and acetylcholinesterase in vertebrates. *Annu Rev Neurosci* 1982;5:57-106.
- 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(1):87-95.
- Palmer RH: Bile acids, liver injury, and liver disease. *Arch Intern Med* 1972;130(4): 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(4):197-201.
- Righetti ABB, Kaplan MM: Effect of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Med* 1971;136(2):491-495.
- Schwarz WS, Ecobichon DJ: Subcellular localization and drug-induced changes of rat liver and kidney esterases. *Can J Physiol Pharmacol* 1968;46(2):207-212.
- Segel IH: *Biochemical Calculations*. 2 ed, New York, John Wiley and Sons, 1976, pp 214-246.
- 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(1-2):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(5): 536-542.
- Whittaker M: Cholinesterase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Gra β 1 M (eds): *Method of Enzymatic Analysis*, ed 3, Weinheim, Verlag Chemie GmbH 1984, Vol IV, pp 52-74.
- Wilkinson JH: *The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology*. London, Edward Arnold, 1976, pp 119-128.