

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 UDP-Glucuronosyltransferase 활성에 미치는 영향

계명대학교 의과대학 생화학교실 및 의과학 연구소

조경일 김여희

Effect of Common Bile Duct Ligation on Liver UDP-Glucuronosyltransferase Activity in Chronic Ethanol Intoxicated Rats

Kyung Il Jo, M.D. and You Hee Kim, M.D.

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

= Abstract =

The alcoholic hazard in hepatobiliary disease was studied by the assays of liver microsomal UDP-glucuronosyltransferase activity in cholestasis induced by common bile duct (CBD) ligation after chronic ethanol intoxication in rats.

The microsomal UDP-glucuronosyltransferase activity and the V_{max} value of the enzyme in the cholestatic rat liver combined with chronic ethanol intoxication showed further significant decrease compared to the activity from cholestasis alone. However, the K_m value of the enzyme did not change. The results indicate that the biosynthesis of the liver UDP-glucuronosyltransferase is decreasing in chronic ethanol intoxication with cholestasis than in cholestasis alone.

Key Words: Chronic ethanol intoxication, Common bile duct ligation, UDP-Glucuronosyltransferase

서 론

간은 물질대사의 주된 기관으로서 복잡하고 다양한 기능을 가진 장기이며 (Sherlock, 1985a) 체외로부터 흡수되거나 체내에서 생성된 유해물질을 생체 변환 (biotransformation)시켜 배설하는 기능을 가짐으로써 생체를

보호하고 있다 (Jakoby *et al*, 1982). 그러나 이런 기능을 가진 간이 하더라도 장기간 많은 양의 음주를 하면 지방간, 간염, 간경변증 등이 초래될 수도 있다 (Wooddell, 1980, Sherlock, 1985b, Hall, 1994).

일반적으로 간담도 질환에서 음주는 유해하다고 하며 이 사실은 음주로 인한 간질환의 유

발로 미루어 볼 때 당연하다고 생각된다 그러나 아직도 그 생화학적 뒷바침은 충분치 않다 간은 생체이물 (xenobiotic)을 생체 변환시키는 주된 장기이므로 생체이물 생체 변환 효소들이 다량 존재하며 (Jakoby *et al*, 1982) 특히 담즙울체로 간손상이 있을 때는 간에서 이 효소들의 활성도가 변동된다 (곽춘식, 1985; 곽춘식 외, 1988, 권용철 외, 1990; 곽춘식과 이숙형, 1992) 따라서 간담도 질환 시 음주를 하거나 주정 중독이 야기된다면 간조직에서 생체이물 생체 변환 효소의 활성도는 변동이 있을 것으로 생각된다

UDP-glucuronosyltransferase (UDP - glucuronate β -D-glucuronosyltransferase (acceptor-unspecific), EC 2. 4 1 17)는 phenol 화합물, 각종 alcohol, 각종 amine 및 지방산에게 glucuronate를 포함시켜 배설시키는 생체이물 생체 변환 효소로서 포유 동물 간의 endoplasmic reticulum (내형질세망)에 국재되어 있으며 (Webb, 1992, Kasper & Henton, 1980; Jakoby *et al*, 1982) 쥐에게 담즙울체를 야기시켰을 때 그 활성도가 감소되는 것 (Ihm & Kim, 1997)으로 밝혀져 있다 이와 같이 생체이물 생체변환 효소인 UDP-glucuronosyltransferase 가 담즙울체가 있을 때 간조직에서 그 활성도가 변동되고 또한 담즙울체에서 주정 중독을 일으키면 간손상이 심해진다는 보고(정성광과 곽춘식, 1992, 김성수 외, 1993)가 있으므로 만성 주정 중독에서 담즙울체가 야기되면 이 효소의 활성도는 심한 변동이 있을 것으로 생각된다

그러나 이에 대한 보고는 아직 찾아 볼 수 없었다. 이 연구는 간담도 질환 시 음주의 유해함에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 만성 주정 중독을 일으킨 쥐에게 총담관 결찰로 담즙울체를 야기하여 간의

microsome에서 UDP-glucuronosyltransferase 활성도를 측정하였으며 아울러 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰하여 14일 경과한 흰쥐의 간에서 이 효소의 Km치와 Vmax치도 함께 측정하여 이들 성적을 보고하고자 한다

재료 및 방법

1 시약

UDP-glucuronic acid sodium, p-nitrophenol, p-nitrophenyl- β -D-glucuronide, bovine albumin, Triton X-100, glycine, uridine 5'-diphosphoglucuronyltransferase (type III, from bovine liver) 및 단백질 표준액 (10 g/100 ml bovine serum albumin)등은 Sigma 사 (St. Louis, USA) 제품을 사용하였으며 그외 시약들은 시판하는 특급 또는 일급품을 사용하였다

2 동물 및 처치

동물은 4 주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280~320 g 되는 Sprague-Dawley종의 수컷을 사용하였으며 1 군을 5 마리로 하여 다음과 같이 총 22 군으로 나누었다 즉 정상군 (1 군), 총담관 결찰 후 1 일, 2 일, 3 일, 7 일 및 14 일에 각각 희생시킨 총담관 결찰군 (총 5 군), 단순 개복술 후 1 일, 2 일, 3 일, 7 일 및 14 일에 각각 희생시킨 개복술군 (총 5 군), Eagon *et al* (1987)의 방법에 따라 5% (v/v) ethanol을 60 일간 섭취시킨 만성 주정 중독군 (1 군), 5% (v/v) ethanol을 60 일간 섭취시킨 후 계속 5% (v/v) ethanol을 섭취시키면서 총담관 결찰 후 1 일, 2 일, 3 일, 7 일 및 14 일에 각각 희생시킨 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군 (총 5 군), 5% (v/v) ethanol을 60 일간 섭취시킨 후 계속 5% (v/v) ethanol을

섭취시키면서 가수술을 한 후 1 일, 2 일, 3 일, 7 일 및 14 일에 각각 희생시킨 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 (총 5 군) 등이다

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전 후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 삼양유지사료 주식회사의 실험 동물 사료를 먹게 하였다.

만성 주정 중독군, 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 및 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 물대신에 5% (v/v) ethanol 용액 (Eagon *et al*, 1987)을 자유로이 먹게 하였다

총담관 결찰술, 가수술 및 간 적출술은 효소활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 오후 2시에서 5시 사이에 희생시킬 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12 시간 금식시킨 후 ether마취하에서 실시하였다.

총담관 결찰은 간 근위부와 약 1 cm 아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출 시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다.

모든 실험군에서 간의 적출은 12 시간 금식시킨 후 ether마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사시켰다. 그 후 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.

3 간세포의 분획

간의 세포 분획은 적출한 간을 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 7g을 취하여 9 배량의 0.25M sucrose액을 넣은 다음 Teflon pestle glass

homognizer (Thomas사 [USA] 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 조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법 (곽춘식과 곽정식, 1986)으로 microsome 분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄 균질액을 $571 \times g$ (average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10 분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을 $7,796 \times g$ 에서 20 분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 pellet을 0.25 M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10~35% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 $88,500 \times g$ 에서 15 분간 원심분리하여 얻은 원심관 중앙 부위와 상부에 형성된 pellet을 모아서 $88,500 \times g$ 에서 1 시간 원심분리하여 pellet을 얻고 이 pellet을 다시 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜 $88,500 \times g$ 에서 1 시간 재원심분리하여 pellet을 얻었다. 이 pellet을 microsome 분획으로 사용하였다.

위의 세포 분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며, 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사 (USA)의 RC5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 이때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사(USA)의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570, USA)를 사용하였다.

4 효소 시료 조제

UDP-glucuronosyltransferase 측정용

효소 시료의 조제는 분리한 microsome 분획을 단백질량으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose액에 현탁시켜 사용하였다

5 효소 활성화도 측정

간의 microsome분획의 UDP-glucuronosyltransferase의 활성화도 측정은 시료와 함께 p-nitrophenol과 UDP-glucuronic acid를 기질로 사용하여 37°C에서 20 분간 반응시키는 동안에 생성된 p-nitrophenyl β-D-glucuronide를 413 nm파장에서 비색하여 효소의 활성화도를 산출하는 Reinke *et al* (1986)의 법에 의하였다 이 효소의 활성화도 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 p-nitrophenyl β-D-glucuronide를 nmol로 나타내었다

이 실험에서 채택한 효소 활성화도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제된 효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2 회 측정하여 그 평균치를 취하였다 그리고 이 실험에서 각 효소 활성화도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Cary 210, Varian, USA)였다.

6 Km치 및 Vmax치의 측정

가수술 또는 총담관 결찰술 후 14일 경과한 쥐, 만성 주정 중독을 시킨 다음 가수술 또는 총담관 결찰술 후 14일 경과된 쥐 간의 microsome 분획 시료와 효소기질 중 p-nitrophenol을 선택하여 기질원액과 기질 희석액을 제조한 후 이들 기질액과 UDP-glucuronic acid 기질 원액을 사용하여 UDP-glucuronosyltransferase 활성화도를 측정한 후 이들 성적으로부터 1/v_i치를 선택한 기질액의 기질 농도로부터 1/[S]치를 계산하여 이중 역수

도 (double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출 (Segel, 1976)하였다

7. 단백질 정량

효소액 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether혼합액 (3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg & Rothstein (1957)법으로 효소액 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법 (Gornall *et al*, 1949)으로 정량하였다

8 성적 검정

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

성 적

1 만성 주정 중독 쥐에서 총담관 결찰이 간의 microsomal UDP-glucuronosyltransferase 활성화도에 미치는 영향

쥐간의 microsomal UDP-glucuronosyltransferase의 활성화도는 만성 주정 중독군과 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에서는 변동을 나타내지 않았다 (Table 1) 쥐간의 microsomal UDP-glucuronosyltransferase활성도는 정상쥐의 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가수술을 한 군에 비해 총담관 결찰 후 3 일에는 약 46% (P<0.01), 7 일에는 약 48% (P<0.01), 14 일에는 약 53% (P<0.001)의 감소를 나타내었다 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 이 효소의 활성화도는 총담관 결찰 후 1 일에는 약 32% (P<0.05), 2 일 및 3 일에는 약 44% (P<0.01), 7 일에는 약 73% (P<0.001), 14 일에는 약 78% (P<0.001)

1)의 감소를 나타내었다 그리고 이 효소의 활성도를 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상쥐의 총담관만 결찰한 군을 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 총담관 결찰 후 14 일에는 약 52% ($P < 0.05$)의 감소를 나타내었다 (Table 1)

총담관만 결찰한 군과 각각 비교했을 때 차이가 없었다. 그러나 이들 세포 분획에서 이 효소의 V_{max} 치는 그 대조군인 총담관만 결찰한 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다 (Table 2).

고 찰

2 만성 주정 중독 쥐에서 총담관을 결찰한 후 14일에 간의 UDP-glucuronosyltransferase 의 K_m 치 및 V_{max} 치의 변동
만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰한 후 14일의 담즙울체간에서 microsomal UDP-glucuronosyltransferase의 K_m 치를 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 및

장기간 다량의 음주를 했을 때는 지방간, 간염 및 간경변증 (Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b; Hall, 1994)에 이환될 수 있으며, 주정 중독 간은 심한 형태학적 변화를 받는다 (Chang, 1985, Chang, 1987; Hall, 1994)고 한다. 주정 중독 간의 형태학적 변화는 주로 간 세포의 mitochondria 와 endoplasmic ret-

Table 1 Effect of common bile duct ligation on liver microsomal UDP-glucuronosyltransferase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	UDP-Glucuronosyltransferase activities (nmol p-nitrophenyl β -D-glucuronide $\text{min}^{-1}\text{mg protein}^{-1}$)			
	Sham	CBDL	Ethanol + Sham	Ethanol + CBDL
		(Normal, 21.6 ± 2.4)	(Ethanol; 21.8 ± 3.0)	
1	22.8 ± 3.1	19.2 ± 3.7	21.2 ± 3.2	14.4 ± 4.1^d
2	22.6 ± 3.0	18.5 ± 4.2	21.8 ± 3.4	12.1 ± 4.8^e
3	22.4 ± 2.6	12.2 ± 4.6^b	21.6 ± 3.7	12.1 ± 4.6^e
7	22.2 ± 2.9	11.6 ± 4.3^b	21.4 ± 3.3	5.8 ± 3.8^f
14	21.7 ± 2.6	10.3 ± 3.6^c	22.3 ± 3.5	$4.9 \pm 2.4^{f,g}$

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group; Sham . Sham operated rats,

CBDL : Common bile duct ligated rats, Ethanol : Rats were given 5% (v/v) ethanol solution for 60 days.

a, $P < 0.05$ vs. Sham, b; $P < 0.01$ vs. Sham, c; $P < 0.001$ vs Sham, d, $P < 0.05$ vs. Ehanol + Sham, e; $P < 0.01$ vs Ethanol + Sham, f, $P < 0.001$ vs Ethanol + Sham, g; $P < 0.05$ vs CBDL

Table 2 Microsomal UDP-glucuronosyltransferase kinetic parameters from cholestasis with chronic ethanol intoxicated rat liver determined with p-nitrophenol

Sham	CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
Km (mM)			
9.56±1.57	9.27±2.18	9.41±2.27	9.29±2.36
Vmax (nmol p-nitrophenyl β-D-glucuronide min ⁻¹ mg protein ⁻¹)			
28.8±2.4	11.8±2.2 ^c	31.3±2.6	6.4±2.9 ^{f,g}

Michaelis-Menten constants for UDP-glucuronosyltransferase were determined using p-nitrophenol and UDP-glucuronic acid at 37°C for microsomal fraction of male rat livers at the 14th day after operation

All values are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group, Sham · Sham operated rats, CBDL Common bile duct ligated rats, Ethanol : Rats were given 5% (v/v) ethanol solution for 60 days

a; P<0.05 vs Sham, b, P<0.01 vs Sham, c, P<0.001 vs Sham, d; P<0.05 vs Ethanol+Sham, e, P<0.01 vs Ethanol + Sham, f, P<0.001 vs Ethanol + Sham, g, P<0.05 vs.CBDL

iculum에서 관찰되며 mitochondria에서 나타나는 형태학적 변화는 종창, 변형 및 cristae의 배열문란 (Chang, 1987; Hall, 1994) 등이고 endoplasmic reticulum에서 나타나는 변화는 smooth endoplasmic reticulum의 증식 (Chang, 1985, Hall, 1994)을 들 수 있으며 이외에도 간세포 과사를 수반하는 형태학적 변화 (Hall, 1994)도 관찰된다. 음주로 인한 간세포 손상 시 나타나는 대사성 변화로는 lactate의 생산 증가, pyruvate의 생성 감소, 지방산의 합성 촉진, 구연산회로의 활성저하 및 지방산의 산화 감소 등 (Ellenhorn & Barceloux, 1988; Hall, 1994)을 들 수 있다.

간 조직에 담즙울체가 야기되는 경우는 원발성 담즙성 간경변증, 담관염, 담즙울체형 간염, 선천성 담도폐쇄, 종양이나 담석에 의한 담도

폐쇄 등 (Halsted, 1976)이며 이와 같은 간담도 질환으로 간에 담즙울체가 야기되면 간조직은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화 등 (Desmet, 1994)이 나타날 뿐만 아니라 심한 간기능 장애도 나타난다 (Halsted, 1976 ; Sherlock, 1985a)

쥐의 총담관을 결찰하면 간에 담즙울체가 야기되며 시간이 경과함에 따라 담즙울체간은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화가 연속적으로 나타나며 (Moritz & Snodgrass, 1972, Kountouras *et al*, 1984; 장대성 외, 1987 ; 김효석 외, 1989) 동시에 간기능도 장애가 초래되는 것 (Kaplan & Righetti, 1970, Righetti & Kaplan, 1971, Toda *et al*, 1980 ; 박춘식과 이숙형, 1992)으로 알려져 있다. 따라서 간담도 질환의 생화학적 연구를 위한 실험

적 방법으로 널리 이용하는 것이 쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체간을 만드는 것이다

간의 배설기능에 장애가 오면 간은 담즙울체가 야기되며 (Sherlock, 1985a) 이때 담즙울체간에서는 각종 생체이물 생체 변환 효소들의 활성도가 증감되는 것으로 알려져 있다 즉 담즙울체간에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소는 microsomal glutathione S-transferase (권용철 외, 1990), xanthine oxidase (곽춘식, 1985), microsomal ethanol oxidizing system, aldehyde dehydrogenase (곽춘식 외, 1988), mitochondrial 및 microsomal aryl sulfotransferase (Ihm & Kim, 1997)등이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소는 cytosolic 및 mitochondrial glutathione S-transferase, glutathione peroxidase (권용철 외, 1990), monoamine oxidase (문교철과 곽춘식, 1989), catalase, alcohol dehydrogenase (곽춘식 외, 1988), carboxylesterase, arylesterase, cholinesterase (곽춘식과 이숙형, 1992), cytosolic aryl sulfotransferase (Ihm & Kim, 1997)등으로서 이들 효소의 활성도 증감은 주로 담즙울체간에서 그 합성이 증감되므로써 나타난 결과 (곽춘식, 1985; 곽춘식 외, 1988; 문교철과 곽춘식, 1989; 권용철 외, 1990, 곽춘식과 이숙형, 1992; Ihm & Kim, 1997)라 한다

체내에 흡수된 주정은 간에서 대부분 대사되며 이 대사과정은 ethanol이 acetaldehyde로 산화되고 다시 acetate로 산화되어 이용되는 것 (Bosron & Li, 1980, Lieber, 1985)이다. 특히 이러한 대사과정에서 생성된 acetaldehyde는 간세포의 괴사를 초래하는 물질 (Sherlock, 1985b)로 알려져 있고 또한 주정 중독 시 심한 형태학적 변화가 초래되므로

(Chang, 1985, Chang, 1987) 담즙울체와 주정 중독이 병행된다면 간 손상의 정도는 더욱 심해질 것이며 또한 심하다는 보고도 있다 (정성광과 곽춘식, 1992; 김성수 외, 1993).

쥐에서 만성 주정 중독과 담즙울체로 간조직의 손상이 심해질 때는 생체이물 생체 변환 효소들의 활성도가 변동이 심하다 (곽춘식 외, 1990; 정성광과 곽춘식, 1992; 문교철, 1992; 정성광 외, 1994)고 한다. 즉 쥐에서 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 간에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소로는 xanthine oxidase (정성광 외, 1994), cytosolic glutathione S-transferase, cytosolic glutathione peroxidase (곽춘식 외, 1990), mitochondrial monoamine oxidase (정성광과 곽춘식, 1992) 및 microsomal aldehyde dehydrogenase (문교철, 1992)를 들 수 있으며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소는 microsomal glutathione S-transferase (곽춘식 외, 1990), alcohol dehydrogenase 및 cytosolic aldehyde dehydrogenase (문교철, 1992)를 들 수 있다. 그리고 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 혈청에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 alcohol dehydrogenase (문교철, 1992) 와 xanthine oxidase (정성광 외, 1994)등을 들 수 있고 그 활성도가 감소되는 효소는 carboxylesterase와 arylesterase (안광욱, 1993)를 들 수 있다. 따라서 이 실험에서 활성도를 측정 한 UDP-glucuronosyltransferase는 간에서 그 합성이 활발할 뿐만 아니라 생체이물 생체 변환 효소로서 담즙울체 시 간에서 활성도가 변동 (Ihm & Kim, 1997)되므로 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 그 활성도 변동은 더욱 심해질

것이다.

이 실험에서 쥐간의 microsomal UDP-glucuronosyltransferase 활성도는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 그 대조군인 총담관만 결찰한 군을 상호 비교했을 때 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 총담관 결찰 후 14 일에 유의하게 감소된 활성도를 나타내었다 이 성적을 볼 때 쥐 간의 microsomal UDP-glucuronosyltransferase는 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 그 활성도가 감소되는 효소라 생각된다 이 실험에서 만성 주정 중독쥐의 총담관을 결찰한 후 14 일군의 간에서 microsomal UDP-glucuronosyltransferase의 Km치는 변동이 없었다 그러나 만성 주정 중독쥐의 총담관을 결찰한 후 14 일군의 간에서 이 효소의 Vmax치는 총담관만 결찰한 군에 비해 유의하게 감소된치를 나타내었다 이와 같이 만성 주정 중독 시 담즙울체를 야기했을 때 이 효소의 Km치가 변동이 없으면서도 담즙울체만 시켰을 때보다 그 활성도가 감소되고 또한 Vmax치가 감소된 것은 이 효소의 활성도 감소가 촉매 효율의 감소라 보기는 어렵다 따라서 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 이 생체이물 생체 변환 효소는 담즙울체만 있을 때보다 그 합성이 감소되는 것으로 생각된다

이상 이 실험 성적과 문헌상의 지견으로 보아 간의 UDP-glucuronosyltransferase는 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 감소되는 효소로 생각되며, 또한 이 성적은 담즙울체로 간손상이 있을 때는 음주를 하면 간손상이 더욱 심해질 것이라는 것을 시사 해준다

요 약

간담도 질환 시 음주의 유해함에 대한 생화학적 배경의 일단을 알아보기 위하여 시행한 연구로서 쥐에게 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰하여 담즙울체를 야기시킨 군과 총담관만 결찰하여 담즙울체를 야기시킨 군에서 간의 UDP-glucuronosyltransferase 활성도를 측정하였으며, 한편 만성 주정 중독을 시킨 쥐에게 총담관을 결찰한 후 또는 총담관만 결찰한 후 14 일의 간에서 이들 효소의 Km치 및 Vmax치도 측정하여 이들 성적을 양군간에 상호 비교하여 보았다.

쥐간의 microsomal UDP-glucuronosyltransferase 활성도를 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 그 대조군인 총담관만 결찰한 군을 상호 비교 했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 총담관 결찰 후 14 일에 유의한 감소를 나타내었다 만성 주정 중독쥐의 총담관을 결찰한 후 14 일군의 간에서 microsomal UDP-glucuronosyltransferase의 Km치는 변동이 없었다 그러나 만성 주정 중독쥐의 총담관을 결찰한 후 14 일군의 간에서 이 효소의 Vmax치는 총담관만 결찰한 군에 비해 유의하게 감소된치를 나타내었다

이상의 성적으로 보아 간의 UDP-glucuronosyltransferase는 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 감소되는 효소로 생각되며, 또한 이 성적은 담즙울체로 간손상이 있을 때는 음주를 하면 간손상이 더욱 심해질 것이라는 것을 시사해준다

참고 문헌

- 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 xanthine oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1985;4(2):125-130.
- 곽춘식, 광정식: 흰쥐 간세포분획법 I. mitochondria 및 microsomes의 분리. *계명의대논문집* 1986;5(1):45-53.
- 곽춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치. *계명의대논문집* 1988;7(1):64-75.
- 곽춘식, 김여희, 조준승: Ethanol중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 glutathione S-transferase, glutathione peroxidase 및 glutathione reductase 활성에 미치는 영향. *한국생화학지* 1990;23(2):251-262
- 곽춘식, 이숙형: 흰쥐 담즙울체간의 carboxylesterase, arylesterase 및 cholinesterase의 활성도. *한국생화학지* 1992;25(3):251-261.
- 권용철, 문교철, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 glutathione S-transferase, glutathione reductase 및 glutathione peroxidase의 활성도. *계명의대논문집* 1990;9(2):159-170.
- 김성수, 박성대, 곽춘식: 주정 증독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 cathepsin B,D,H 와 acid phosphatase 활성에 미치는 영향. *대한소화기병학회지* 1993;25(4):696-708
- 김효석, 박재웅, 김은영, 곽규식, 최용한, 정준모: 총담관 결찰시 간세포의 초미형태학적 변화. *대한내과학회잡지* 1989;36(4):459-470.
- 문교철: Ethanol 증독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 alcohol 대사 효소들의 활성에 미치는 영향. *경희대학교대학원 박사학위 논문*, 1992, 1-62
- 문교철, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 monoamine oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1989;8(1):69-77.
- 안광욱: 주정 증독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 carboxylesterase 및 arylesterase 활성에 미치는 영향. *계명대학교대학원 박사학위 논문* 1993;1-59.
- 장대성, 광정식, 손태중: 총담관 결찰에 의한 담관증식성 변화의 초미형태학적 연구. *경북의대잡지* 1987;28(2):113-122
- 정성광, 곽춘식: Ethanol 증독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 monoamine oxidase 활성에 미치는 영향. *한국생화학회지* 1992;25(3):210-218
- 정성광, 김여희, 곽춘식: 주정 증독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. *계명의대논문집* 1994;13(1):64-72
- Bosron WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase. Jakoby WB: *Enzymatic Basis of Detoxication*, Vol 1, New York, Academic Press, 1980, pp 231-244.
- Chang ES: Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients. *J Clin Electron Microscopy* 1985;18(4):331-337.
- Chang ES: Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987;37(2):213-224
- Desmet VJ: Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis. MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ: *Pathology of the Liver* 3 ed, New York, Churchill Livingstone, 1994, pp 425-474.

- Eagon PK, Willet JE, Seguti SM: Androgen responsive functions of male rat liver. Effect of chronic alcohol ingestion. *Gastroenterology* 1987;93(6):1162-1169
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG. *Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. New York, Elsevier Science Publishing, 1988, pp 782-796
- 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. Colowick SP, Kaplan NO. *Method in Enzymology*, Vol 4, New York, Academic Press, 1957, pp 708-731
- Hall PM. Alcoholic liver disease. MacSween RNM, Anthony PA, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC: *Pathology of the Liver*, 3 ed, New York, Churchill Livingstone, 1994, pp 317-348
- Halsted JA. *The Laboratory in Clinical Medicine Interpretation and Application* London, Saunders, 1976, pp 426-429
- 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
- Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J. *Metabolic Basis of Detoxication. Metabolism of Functional Groups*. New York, Academic Press, 1982, pp 5-317
- 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(3): 508-516
- Kasper CB, Henton D: Glucuronidation. Jakoby WB. *Enzymatic Basis of Detoxication*, Vol II, New York, Academic Press, 1980, pp 3-36
- Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rats. *Br J Exp Pathol* 1984,65(3):305-311
- Lieber CS. Alcohol metabolism. Hall P: *Alcoholic Liver Disease, Pathobiology, Epidemiology and Clinical Aspects*, London, Edward Arnold, 1985, pp 1-24
- Moritz M, Snodgrass PJ. Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology* 1972,62(1) 93-100
- Reinke LA, Moyer MJ, Notley KA: Diminished rates of glucuronidation and sulfation in perfused rat liver after chronic ethanol administration. *Biochem Pharmacol* 1986;35(3):439-447
- Righetti A, Kaplan MM. Effect of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971;136(2) 491-495.
- Segel IH. *Biochemical Calculations*. 2 ed, New York, John Wiley and Sons, 1976, pp 214-246
- Sherlock DS. *Diseases of the Liver and Biliary System* 7 ed, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985a, pp 79-80
- Sherlock DS. *Diseases of the Liver and Biliary System* 7 ed, Oxford Blackwell Scientific

- ic Publications, 1985b, pp 346-360.
- 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
- Webb EC: *Enzyme Nomenclature*, San Diego, Academic Press, 1992, p 204.
- Wooddell WJ: Liver disease in alcohol addicted patients, Davidson SV: *Alcoholism and Health*, German town, Maryland, Aspen System, 1980, pp 125-134.