啓明醫大學術誌 第21券 1號
Keimyung Med J
Vol. 21, No. 1, June, 2002

담즙울체 쥐에서 간 라이소솜의 αD-Glucosidase와 βD-Glucuronidase 활성도에 미치는 Taurocholate의 정맥 내 투여의 영향

경동정보대학 간호과*, 계명대학교 의과대학 생화학교실

박소경* · 김여희 · 곽춘식

Effect of Intravenous Administration of Taurocholate on Liver Lysosomal αD-Glucosidase and βD-Glucuronidase Activities in Rats with Extrahepatic Cholestasis

So Kyung Park, M.D.*, You Hee Kim, M.D., Chun Sik Kwak, Ph.D.

Department of Nursing, Kyungdong College of Techno-Information, Kyungsan;*
Department of Biochemistry, Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Abstract : The effects of intravenously administered of high concentration of taurocholic acid (TCA) on αD-glucosidase and βD-glucuronidase activities in rat liver lysosomes were studied. These liver lysosomal enzymes, and serum lysosomal αD-glucosidase and total βD-glucuronidase activities were also determined in experimental rats with common bile duct ligation (CBDL). The activities of liver lysosomal αD-glucosidase and βD-glucuronidase as well as the activities of serum αD-glucosidase and total βD-glucuronidase were found to be significantly increased in the CBDL plus TCA injected group than in the control group such as CBDL alone group. On the other hand, these serum and hepatic enzymes activities did not change in the CBDL plus tauroursodeoxycholic acid injected group. The above results suggest that TCA induces biosynthesis of the lysosomal αD-glucosidase and βD-glucuronidase in the liver and that the elevated lysosomal αD-glucosidase and total βD-glucuronidase activities in the serum are most likely due to increased hepatocyte membrane permeability caused by TCA mediated liver cell necrosis.

Key Words : Common bile duct ligation, αD-Glucosidase, βD-Glucuronidase, Taurocholic acid.

서 론

담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들 중 그 기전의 일부가 밝혀져 있는 효소는 alkaline phosphatase[1], γ-glutamyl transpeptidase[2],arylesterase[3],carboxylesterase[4], cholinesterase[5], benzoyltransferase[6], arylamine N-methyltransferase[7] 등이며 그 기전은 taurocholic acid가 이들 효소의 유전자 발현률을 변동시켜 이들 효소의 합성 속도를 변동시킨다는 것이다. 따라서 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들에 대해서 taurocholic acid가 어떤 효과를 나타내는지를 알아낸다면 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들 중 그 기전이 밝혀져 있지 않은 효소들의 활성도 변동 기전의 일부가 밝혀질 것으로 생각된다.

α-D-Glucosidase (α-D-glucoside glucohydrolase, EC 3. 2. 1. 20)는 말토스, 글리코겐 및 각종 과당질과 다당질에서 말단 비환원 위치에 α1,4 결합으로 결합되어 있는 α-D-glucosyl 기를 가수분해시키는 반응을 촉매하는 효소이며[8-10], β-D-glucuronidase (β-D-glucuronoside glucuronosohydrolase, EC 3. 2. 1. 31)는 당아미노글라이칸의 비말단의 β-D-glucuronosyl 기를 가수분해 하거나 β-D-glucuronide를 가수분해하여 β-D-glucuronic acid를 유리시키는 반응을 촉매하는 효소이다[10-12]. 이 두가지의 효소는 간의 라이소솜에 풍부히 국재되어 있는 효소이며[8,13] 담즙울체간에서는 이들 라이소솜 효소들은 그 활성도가 증가되는 것[14,15]으로 알려져 있다. 그러나 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도 변동에 대한 기전을 규명한 보고는 아직도 없다. 따라서 쥐에게 총담관 결찰을 시켜 담즙울체를 야기하고 아울러 taurocholic acid (TCA)와 간의 효소 합성에 영향을 미치지 않는다는 tauroursodeoxycholic acid[1-4] (TUDCA)를 각각 정맥 내에 주사함으로써 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도 변동 기전의 일부가 밝혀질 것이다. 또한 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도 변동기전을 알아냄으로써 간담도 질환 시 라이소솜에 국재되어 있는 효소들의 동태가 일부 파악될 것으로 생각된다. 이 연구는 간 세포의 라이소솜에 풍부히 분포되어 있으면서 담즙울체 시 간 라이소솜에서 활성도가 증가되는 α-D-glucosidase와 β-D-glucuronidase가 담즙울체간에서 활성도가 왜 증가되는지 그 기전을 알아내기 위하여 시행하였으며, 쥐에게 총담관 결찰로 총담관을 폐쇄시킨 직후 TCA와 TUDCA를 각각 상대정맥 내에 주입한 후 경시적으로 혈청과 간에서 이들 효소의 활성도를 측정하여 이들 효소의 활성도 변동 기전의 일부를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1.시약

4-nitrophenyl α-D-glucopyranoside, 4-nitrophenol, phenolphthalein glucuronide sodium, phenolphthalein, ethylenediamineteteraacetic acid, sodium dodecyl sulfate, bovine serum albumin, glycine, Tritox X-100, TCA (from ox bile, sodium salt), TUDCA (sodium salt), α-D-glucosidase (type I, from bakers yeast, G 5003), β-D-glucuronidase (from bovine liver, G 0501) 및 단백질 표준액(10 g/100 mL, bovine serum albumin) 등은 Sigma사(St. Louis, 미국)의 제품을 사용하였으며 그외 일반 시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

2.동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280~320 g이 되는 Sprague-Dawley 종의 숫쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 9군으로 나누었다. 즉 정상군 1군, 가수술군(Sham operation)은 가수술 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 2군으로 하였고, 총담관 결찰(common bile duct ligation)군은 총담관 결찰

후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 2군, 총담관 결찰과 함께 TCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa 등[1]의 방법에 따라 TCA (체중 100 g당 45 μmol)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 2군, 총담관 결찰과 함께 TUDCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa 등[1]의 방법에 따라 TUDCA (체중 100 g당 45 μmol)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 2군으로 나누었다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다.

총담관 결찰 수술 및 가수술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 오후 2시에서 5시 사이에 희생시킬 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 ether 마취 하에서 실시하였다. 총담관 결찰은 간 근위부와 약 1 ㎝ 아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중 결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출 시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다. TCA 및 TUDCA 액의 상대정맥 내 주입은 syringe pump (model 341A, Sage instruments, 미국)를 사용하여 15분 동안 주입하였다.

3. 간 적출 및 시료 조제

모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether 마취 하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4℃의 0.25 M sucrose 액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose 액을 가능한 한 모두 제거하였다.

간 라이소솜 효소 시료의 조제를 위하여서는 적출하여 0.25 M sucrose 액으로 관류한 간을 즉시 2~4℃로 냉각시킨 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 잘 혼합하여 사용하였다. 간 절편의 마쇄를 위해서는 Teflon pestle galss homogenizer (chamber clearance 0.005~0.007 inches, Thomas사, 미국)를 사용하였으며 간 절편의 마쇄는 2~4℃를 유지하면서 400 rpm 속도로 마쇄를 하였다.

간 라이소솜의 αD-glucosidase 활성도 측정용 시료는 0.15 M sodium chloride 액으로 제조한 10% (w/v) 간 마쇄액을 105,000 × g에서 1시간 원심분리한 후 얻어진 침사를 0.15 M sodium chloride 액으로 현탁시키고 다시 105,000 × g에서 1시간 원심분리하여 얻은 침사에 0.15 M sodium chloride 액 일정량을 넣고 재현탁시킨 후 ultrasonic dismembrator (model 300, Fisher, 미국)로 2~4℃를 유지하면서 20 ± 4 kcycle/sec의 조건으로 2분씩 5회 초음파 마쇄를 하여[16] 사용하였다. 간 라이소솜의 βD-glucuronidase 활성도 측정용 시료의 조제는 먼저 Graham법[17]으로 라이소솜을 분리한 후 Triton X-100을 처리한 다음 사용하였다. 즉 0.25 M sucrose 액으로 만든 10% (w/v) 간 마쇄균질액 약 10 mL을 취하여 1,000 × g에서 20분간 원심분리하여 침사를 얻었으며 이 침사를 10% (w/v) sucrose 액에 현탁시켜 그 일정량을 37~72% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 관저에 부하시켰다. 그리고는 이 원심분리관을 95,000 × g에서 2시간 원심분리하여 51~57%(1.23~1.26g/㎤) sucrose 액층 부위에 형성된 pellet을 취한 후 이 pellet을 0.25 M sucrose 액으로 1회 세척한 것을 0.1% Triton X-100으로 2배 희석하여 진탕한 액[18]을 사용하였다. 위의 효소 시료 조제 과정에서 모든 조작은 2~4℃에서 시행하였으며 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사(미국)의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge 였다. 그리고 sucrose density gradient 용액의 제조는 gradient former (model 570, ISCO, 미국)를 사용하여 제조하였다. 한편 채혈한 혈액은 곧 원심분리하여 혈청을 얻은 후 효소 활성도 측정용 시료로 사용하였다.

4. 효소 활성도 측정

혈청과 간의 라이소솜 αD-glucosidase 활성도 측정은 4-nitrophenyl αD-glucopyrnoside를 기질로 사용하여 pH 4.5 (50 mM acetate buffer, pH 4.5), 37℃ 조건에서 30분간 반응하여 생성된 4-nitrophenol을 비색정량하는 Dissous 등[9]의 방법에 의하였으며 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1 mg의 단백질 또는 1 mL의 혈청이 반응하여 생성한 4-nitrophenol을 nmol로 나타내었다.

간의 라이소솜 βD-glucuronidase 활성도 측정은 phenolphthalein glucuronide를 기질로 사용하여 pH 4.5 (0.1 M acetate buffer, pH 4.5), 38℃ 조건에서 1시간 반응하여 생성된 phenolphthalein을 540 nm 파장에서 비색정량하는 Stahl과 Fishman 법[11]에 의하였으며 혈청의 총 βD-glucuronidase 활성도의 측정도 phenophthalein glucuronide를 기질로 사용하여 pH 4.5 (1M acetate buffer, pH 4.5), 38℃ 조건에서 4시간 반응하는 동안에 생성된 phenolphthalein을 비색정량하는 Fishman 등[19]의 법에 의하였다. 이들 βD-glucuronidase 활성도의 단위는 1분간에 1 mg의 단백질 또는 1 mL의 혈청이 반응하여 생성한 phenolphthalein을 nmol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제 효소들을 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 효소 활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Cary 210, Variam, 미국)였다.

5. 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액 (3 : 1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg와 Rothstein법[20]으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법으로 정량 하였다.

6. 성적 검정

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

성 적

1. 쥐에서 총담관 결찰과 담즙정체 시간이 간 라이소솜의 αD-glucosidase와 βD-glucuronidase 활성도에 미치는 영향

쥐에게 총담관 결찰을 시켰을 때 간 라이소솜의 βD-glucuronidase 활성도는 2일 경과시킨 군에서만 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 결찰을 시킨 후 2일 경과시킨 군에서 간 라이소솜의 이 효소 활성도는 정상군보다는 약 30% ($P<0.05$), 가수술군보다는 약 31% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 그리고 간 라이소솜의 이 효소 활성도를 총담관 결찰 후 1일 경과시킨 군과 2일 경과시킨 군간에 비교했을 때는 양군간에 차이가 없었다(Table 1).

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 후 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 αD -glucosidase 활성도는 변동을 나타내지 않았다(Table 1).

2. 쥐에서 총담관 결찰 시 TCA 또는 TUDCA 주입이 간 라이소솜의 αD-glucosidase와 βD-glucuronidase 활성도에 미치는 영향

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 α-D-glucosidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 결찰 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 αD-glucosidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군보다 각각 약 118% ($P<0.001$) 및 약 97% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다(Table 2).

Table 1. Effects of time of biliary retention on liver lysosomal α-D-glucosidase and β-D-glucuronidase activities in rats

Experimental groups	α-D-Glucosidase (nmol 4-nitrophenol min^{-1} $mg\ protein^{-1}$)	β-D-Glucuronidase (nmol phenolphthalein min^{-1} $mg\ protein^{-1}$)
Normal	0.26 ± 0.06	5.20 ± 0.87
Sham 1 day	0.27 ± 0.06	5.17 ± 0.85
Sham 2 days	0.27 ± 0.05	5.19 ± 0.88
CBDL 1 day	0.28 ± 0.06	6.23 ± 1.21
CBDL 2 days	0.33 ± 0.07	6.78 ± 0.88[a, g]

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Sham 1 day or Sham 2 days: sacrificed on the 1st or 2nd day after sham operation; CBDL 1 day or 2 days: sacrificed on the 1st or 2nd day after common bile duct ligation. a, P<0.05 vs. Normal; g, P<0.05 vs. Sham 2 days.

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 βD-glucuronidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 결찰 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 βD-glucuronidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군보다 각각 약 50% (P<0.05) 및 약 69% (P<0.01)의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 결찰을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 αD-glucosidase와 βD-glucuronidase 활성도는 대조군과 차이가 없었다(Table 2).

Table 2. Effects of taurocholic acid (TCA) and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after common bile duct ligation (CBDL) on liver lysosomal α-D-glucosidase and β-D-glucuronidase activities in rats

Experimental groups	α-D-Glucosidase (nmol 4-nitrophenol min^{-1} $mg\ protein^{-1}$)	β-D-Glucuronidase (nmol phenolphthalein min^{-1} $mg\ protein^{-1}$)
CBDL 1 day	0.28 ± 0.06	6.23 ± 1.21
CBDL 1 day + TCA	0.61 ± 0.12[l]	9.36 ± 1.78[j]
CBDL 1 day + TUDCA	0.29 ± 0.05	6.16 ± 1.10
CBDL 2 days	0.33 ± 0.07	6.78 ± 0.88
CBDL 2 days + TCA	0.65 ± 0.11[o]	11.49 ± 2.08[n]
CBDL 2 days + TUDCA	0.32 ± 0.06	6.67 ± 0.82

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; CBDL 1 day or CBDL 2 days, sacrificed 1st or 2nd day after common bile duct ligation; One of the following bile acids, TCA and TUDCA (45 μmol/100 g body weight) was intravenously administered through the superior vena cava.

j, P<0.05 vs. CBDL 1 day; l, P<0.001 vs. CBDL 1 day; n, P<0.01 vs. CBDL 2 days; o, P<0.001 vs. CBDL 2 days.

3. 쥐에서 총담관 결찰 시 TCA 또는 TUDCA 주입이 혈청의 라이소솜 αD-glucosidase와 총 βD-glucuronidase 활성도에 미치는 영향

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 후 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 라이소솜 αD-glucosidase와 총 βD-glucuronidase의 활성도는 별 변동을 나타내지 않았다(Table 3).

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 라이소솜 αD-glucosidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 결찰 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 라이소솜 αD-glucosidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군보다 각각 약 62% ($P<0.05$) 및 약 85% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다(Table 4).

Table 3. Effects of time of biliary retention on serum lysosomal α-D-glucosidase and Total β-D-glucuronidase activities in rats

Experimental groups	Lysosomal α-D-glucosidase (nmol 4-nitrophenol $min^{-1}mL^{-1}$)	Total β-D-glucuronidase (nmol phenolphthalein min^{-1} mL^{-1})
Normal	5.46 ± 1.38	1.25 ± 0.27
Sham 1 day	5.50 ± 1.46	1.27 ± 0.28
Sham 2 days	5.48 ± 1.41	1.30 ± 0.25
CBDL 1 day	5.62 ± 1.52	1.50 ± 0.31
CBDL 2 days	6.11 ± 1.75	1.53 ± 0.47

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

Table 4. Effects of taurocholic acid (TCA) and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after common bile duct ligation (CBDL) on serum lysosomal α-D-glucosidase and total β-D-glucuronidase activities in rats

Experimental groups	Lysosomal α-D-glucosidase (nmol 4-nitrophenol min^{-1} mL^{-1})	Total β-D-glucuronidase (nmol phenolphthalein min^{-1} mL^{-1})
CBDL 1 day	5.62 ± 1.52	1.50 ± 0.31
CBDL 1 day + TCA	9.12 ± 2.23^{j}	2.23 ± 0.38^{j}
CBDL 1 day + TUDCA	5.57 ± 1.48	1.48 ± 0.28
CBDL 2 days	6.11 ± 1.75	1.53 ± 0.47
CBDL 2 days + TCA	11.28 ± 2.64^{n}	3.93 ± 0.73^{o}
CBDL 2 days + TUDCA	6.08 ± 1.67	1.51 ± 0.38

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. CBDL 1 day; n, $P<0.01$ vs. CBDL 2 days; o, $P<0.001$ vs. CBDL 2 days.

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 총 βD-glucuronidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 결찰 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 총 βD-glucuronidase 활성도는 총담관 결찰만 시킨군보다 각각 약 49% ($P<0.05$) 및 약 157% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 결찰을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 양 효소 활성도는 모두 대조군과 차이가 없었다 (Table 4).

고 찰

임상적 및 병리학적으로 담즙울체를 주소견으로 하는 간담도 질환으로는 원발성 담즙성 간경변증, 담즙울체형 간염, 원발성 경화성 담관염으로 인한 담관협착증, 담석에 의한 담관폐쇄증, 담관수술 후 및 담낭절제 후의 총담관 협착증, 간외 담도 폐쇄증, 담관암 및 간세포암의 총담관 침범으로 인한 담관폐쇄증, 췌장 질환 및 총담관 주변 림프절의 종대로 인한 총담관의 외압성 폐쇄증, 기생충으로 인한 담관폐쇄증, 약물 또는 임신으로 인한 담관폐쇄증, 양성 재발성 담즙울체 등을 들 수 있다[21-23]. 이러한 담즙울체성 간담도 질환 시 담즙울체의 시간이 경과하면 간조직은 괴사, 지방변성, 담도 증식, 섬유화, 경화성 변화 등 형태학적인 변화가 연속적으로 나타남[24]과 동시에 간세포는 기능 장애가 초래되며[21,23], 이때 담즙울체간과 혈청에서는 각종 효소들의 활성도가 변동되는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. 그러나 그 변동 기전에 대해서는 아직도 밝혀져 있지 않은 것이 많다.

박은미와 곽춘식[14]은 쥐를 모델로 한 실험에서 라이소솜 αD-glucosidase 활성도가 담즙울체 시 담즙울체간과 혈청에서 모두 증가되었다고 하였으며, 김여희 등[15]은 쥐를 모델로 한 동물실험에서 담즙울체간에서는 라이소솜 βD-glucuronidase 활성도가 증가되었다고 하였으며 혈청에서는 총 βD-glucuronidase 활성도가 증가되었다고 하였다. 이 실험에서도 대조하기 위하여 쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체만 야기시켰을 때 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도 증가가 위 문헌상의 결과와 일치하였다. 이 연구에서는 이런 결과가 어떤 기전에 의해 나타난 현상인지를 알고자 하였다.

이 실험에서 쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 유전자 발현률을 변동시킨다는 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 αD-glucosidase, βD-glucuronidase 활성도와 혈청의 라이소솜 αD-glucosidase 및 혈청의 총 β-D-glucuronidase 활성도는 대조군인 총담관 결찰만 시킨 군보다 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다.

이 결과로 보아 담즙울체 시 TCA는 간 라이소솜의 αD-glucosidase, βD-glucuronidase의 합성을 자극한다고 추정할 수 있었으며 이런 현상은 담즙울체로 손상을 받은 간세포를 자가 분해시키기 위해 일어난 하나의 현상이라 생각된다. 또한 이 결과로 보아 담즙울체 시 간세포 내에 TCA가 부하되면 혈청에서는 간의 라이소솜에서 유래된 αD-glucosidase와 βD-glucuronidase의 활성도가 증가된다는 것을 알 수 있었으며 그 증가의 원인은 담즙울체 시 TCA가 간 세포막을 용해시켜 간 세포의 라이소솜 내에 있던 이들 효소를 혈중으로 다량 유출시킨 것이 아닌가 생각된다.

이 실험에서 쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간의 라이소솜과 혈청에서 이 실험에서 측정한 효소들의 활성도는 모두 대조군과 차이가 없었다. 이 결과를 볼 때 TUDCA는 이 실험에서 관찰한 라이소솜 효소들의 합성과정 즉 유전자 발현에는 관여하지 않는다고 추정할 수가 있었다.

이상 이 실험의 결과들과 문헌상의 지견을 볼 때 담즙울체간에서 활성도가 증가되는 라이소솜의 αD-glucosidase, βD-glucuronidase의 활성도 증가는 담즙산 중 TCA에 의해 이들 효소의 합

성이 유도되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙울체 시 라이소솜 αD-glucosidase와 총 βD-glucuronidase의 혈중 활성도 증가는 TCA에 의한 간의 괴사로 간 세포막의 투과성이 항진되어 이들 효소가 혈중으로 다량 유출되어 나타난 결과로 생각된다.

요 약

이 연구는 담즙울체간에서 라이소솜의 αD-glucosidase와 βD-glucuronidase의 활성도 증가 기전의 일부를 알아내기 위하여 쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 TCA 또는 TUDCA를 정맥 내에 주입시킨 다음 경시적으로 간 라이소솜의 αD-glucosidase 및 βD-glucuronidase와 혈청의 라이소솜 αD-glucosidase, 혈청의 총 βD-glucuronidase의 활성도를 측정하여 이 효소들의 활성도 변동에 대한 이들 담즙산의 효과를 알아 보았다. 쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 라이소솜의 αD-glucosidase 및 βD-glucuronidase 활성도와 혈청의 라이소솜 αD-glucosidase 및 혈청의 총 βD-glucuronidase 활성도는 대조군인 총담관 결찰만 시킨 군보다 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 이상의 결과로 보아 담즙울체간에서 활성도가 증가되는 라이소솜의 αD-glucosidase 및 βD-glucuronidase 활성도 증가는 담즙산 중 TCA에 의해 이들 효소의 합성이 증가되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙울체시 라이소솜 αD-glucosidase 및 총 βD-glucuronidase의 혈중 활성도 증가는 TCA에 의한 간의 괴사로 간 세포막의 투과성이 항진되어 나타난 결과로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 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.
2. 김성국, 김여희. 담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 γGlutamyl Transpeptidase의 유도. *대한간학회지* 1997; **3**(3): 210-26.
3. 한병훈, 김여희. 흰쥐 간의 Arylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. *대한간학회지* 1997; **3**(12): 154-69.
4. 한병훈, 김여희. 흰쥐 간의 Carboxylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. *계명의대논문집* 1998; **17**(4): 487-503.
5. 박소경, 곽춘식. 담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 Cholinesterase의 합성 억제. *계명의대논문집* 1999; **18**(2): 204-17.
6. 김일경, 김여희, 곽춘식. 담즙산 부하에 의한 쥐 간의 Benzoyltransferase의 유도. *계명의대학술지* 2001; **20**(1): 20-30.
7. 이병욱, 곽춘식. Taurocholate 부하에 의한 흰쥐 간의 Arylamine N-Methyltransferase의 유도. *대한외과학회지* 2000; **59**(2): 141-53.
8. Jeffrey PL, Brown DH, Brown BI. Studies of lysosomal αD-glucosidase. I. Purification and properties of the rat liver enzymes. *Biochemistry* 1970; **9**(6): 1401-15.
9. Dissous C, Ansart JF, Cheron A, Kremble J. Purification of rat liver lysosomal αglucosidase. *Anal Biochem* 1981; **116**(1): 35-9.
10. Webb EC. *Enzyme Nomenclature.* IUBMB, New York: Academic Press; 1992, p.348-50.
11. Stahl PD, Fishman WH. βD-Glucuronidase. In: Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Gra-βl M, editors. *Method of Enzymatic Analysis.* 3rd ed. Weinheim: Verlag Chime GmbH; 1984, Vol Ⅳ, p.246-56.
12. Takagaki K, Nakamura T, Majima M, Endo M. Isolation and characterization of a chondroitin sulfate-degrading endo-βglucuronidase from rabbit liver. *J Biol Chem* 1988; **263**(15): 7000-6.
13. Contractor SF, Shane B. Purification and characterization of lysosomal βglucuronidase from human placenta. *Biochem J* 1972; **128**(1): 11-8.

14. 박은미, 곽춘식. 흰쥐 담즙울체간의 αD- 및 βD-Glucosidase와 βD-Glucuronidase의 활성도. *계명의대논문집* 1992; **11**(1): 59-71.
15. 김여희, 임종술, 곽춘식. 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 βD-Glucuronidase 활성에 미치는 영향. *계명의대논문집* 1992; **11**(3): 405-17.
16. Ben-Yoseph Y, Nadler HL. Pitfalls in the use of artificial substrates for the diagnosis of Gaucher's disease. *J Clin Pathol* 1978; **31**(11): 1091-93.
17. Graham J. Isolation of subcellular organelles and membranes. In: Rickwood D, editor. *Centrifugation (a practical approch)*. 2nd ed. Oxford: IRL Press; 1984, p.161-82.
18. Musa BU, Doe RP, Seal US. Purification and properties of human liver βglucuronidase. *J Biol Chem* 1965; **240**(7): 2811-16.
19. Fishman WH, Kato K, Anstiss CL, Green S. Human serum beta-glucuronidase: its measurement and some of its properties. *Clin Chim Acta* 1967; **15**(3): 435-47.
20. Greenberg DM, Rothstein M. Method for isolation and degradation of labelled compounds. In: Colowick SP, Kaplan NO, editors. *Method in Enzymology*. New York: Academic Press; 1957, Vol **4**, p.708-31.
21. Halsted JA. *The Laboratory in Clinical Medicine. Interpretation and Application*. London: Saunders; 1976, p.426-9.
22. 박찬일, 김호근, 이유복. *간질환의 병리*. 서울: *고려의학*; 1992, p.85-100.
23. Sherlock S, Dooley J. *Diseases of the Liver and Biliary System*. Cambridge: Blackwell Scientific Publications; 1993, p.370-89.
24. Desmet VJ. Cholestasis: extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis. In: MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC, editors. *Pathology of the Liver*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994, p.425-74.