啓明醫大學術誌 第21券 2號
Keimyung Med J
Vol. 21, No. 2, December, 2002

총담관을 결찰한 쥐에서 간의 Phenylacetyltransferase 활성도에 미치는 Taurocholate의 정맥 내 투여의 영향

계명대학교 의과대학 생화학교실

김일경 · 김여희 · 곽춘식

Effect of Intravenous Administration of Taurocholate on Hepatic Phenylacetyltransferase Activity in Common Bile Duct Ligated Rats

Il Kyung Kim, M.D., You Hee Kim, M.D., Chun Sik Kwak, Ph.D.

Department of Biohemistry,
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Abstract : The effect of intravenous administeration of high dose taurocholate on phenylacetyltransferase (PAT) activity was studied in rat liver. PAT activity, and it's Km and Vmax values were determined in the liver cytosolic, mitochondrial and microsomal fractions isolated from the common bile duct (CBD) ligated rats, which were injected with taurocholic acid (TCA), The activities of liver cytosolic, mitochondrial and microsomal PAT as well as their Vmax values were found to be significantly increased in the CBD ligation plus TCA injected group than in the control group, such as CBD ligation alone group. However, their Km values in the experimental group did not vary. On the other hand, these hepatic enzyme activities did not change in the CBD ligation plus tauroursodeoxycholic acid injected group. Therefore, the above results indicate that TCA stimulates biosynthesis of the PAT in the liver

Key Words : Common bile duct ligation, Phenylacetyltransferase, Taurocholic acid

서 론

Phenylacetyltransferase(phenylacetyl coenzyme A: amino acid N-acetyltransferase)는 제 2상 생체이물 생체 변환(phase II xenobiotic biotransformation) 효소의 일종이며[1,2] phenylacetate, indolacetate, phenoxyacetate, 2,4-dichlorophenoxyacetate와

같은 aryl acetate[1,3,4]들에게 L-glycine, L-asparagine 및 L-glutamine을 포합시키는 반응을 촉매하는 효소로서 포유동물 간의 세포질, 미토콘드리아 및 내형질세망에 주로 분포되어 있다[1,4,5].

이 효소는 동물실험에 의해 유도된 실험적 담즙울체간에서 그 활성도가 증가되는 것[5]으로 알려져 있다. 그러나 이 효소가 담즙울체간에서 어떤 기전에 의해 그 활성도가 증가되는 지를 규명한 보고는 아직도 없다. 현재까지는 생체이물 생체 변환 효소로서 담즙울체간에서 활성도의 변동 기전이 일부 알려져 있는 것은 arylesterase[6], carboxylesterase[7], cholinesterase[8], benzoyltransferase[9], arylamine N-methyltransferase[10] 등이며 그 기전은 taurocholic acid(TCA)가 이들 효소의 유전자 발현율을 변동시켜 이들 효소의 합성 속도를 변동시킨다는 것이다. 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들에 대해서 TCA가 어떤 효과를 나타내는지를 알아낸다면 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 생체이물 생체 변환 효소들의 활성도 변동기전의 일부가 밝혀 질 것으로 생각된다.

이 연구는 phenylacetyltransferase(PAT) 활성도가 담즙울간에서 증가되는 기전의 일부를 알아내기 위하여, 쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후에 TCA를 정맥 내 주입시켜 경시적으로 간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜에서 효소의 활성도를 측정하였던 바 TCA가 간에서 이 효소의 합성을 유도하는 것으로 생각되는 결과를 얻었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시약

Phenylacetyl coenzyme A lithium salt, 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid), tris (hydroxymethyl) aminomethane, glycine, taurocholic acid(from ox bile, sodium salt, T-0750, TCA), tauroursodeoxycholic acid(sodium salt, T-0266, TUDCA) 및 단백질 표준액(10 g/100 mL bovine serum albumin) 등은 Sigma사(미국) 제품을 사용하였다. 일반시약은 시판되는 특급품을 사용하였다.

2. 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280 320 g이 되는 Sprague-Dawley종의 숫컷을 사용하였으며 한 군을 5마리로 하여 9개군으로 나누었다. 정상군(1 군), 가수술군은 가수술 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였고 총담관 결찰(common bile duct ligation, CBDL)군은 총담관 결찰 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였으며 총담관 결찰과 함께 TCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa 등[11]의 방법에 따라 TCA(체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였다. 총담관 결찰과 함께 TUDCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa 등[11]의 방법에 따라 TUDCA(체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며, 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험동물 사료를 먹도록 하였다.

총담관 결찰 수술 및 가수술은 효소활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 희생시킬 수 있도록 수술시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 이터 마취하에서 실시하였다. 총담관 결찰은 간 근위부와 약 1 cm 아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다. TCA 및 TUDCA액의 상대정맥 내 주입은 syringe pump(model 341A, Sage instruments, 미국)를 사용하여 15분간 주입하였다.

3. 간적출 및 세포분획

실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 이터 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4℃의 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.

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2 4℃로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 Teflon pestle glass homogenizer(chamber clearance 0.005 0.007 inches, Thomas, 미국)로 2 4℃를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10%(w/v)의 간조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법[12]으로 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획을 분리하였다.

위의 세포분획법에서 모든 조작은 2 4℃에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사(미국)의 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(model 570, ISCO, 미국)를 사용하였다.

4. 효소시료 조제

세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT 시료 조제는 이들 분획을 단백질 양으로 5 mg/mL가 되도록 25 mM Tris-HCl(pH 8.0) 완충액으로 희석하여 사용하였다.

5. 효소 활성도 측정

간세포 분획들의 PAT 활성도 측정은 시료와 함께 phenylacetyl-CoA와 glycine을 기질로 사용하여 30℃에서 반응시키면서 236 nm 파장에서 time scan으로 비색 정량하여 효소의 활성도를 산출하는 Webster법[2]에 의하였다.

이들 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 coenzyme A를 nmol로 나타내었다.

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

6. Km치 및 Vmax치의 측정

수술 후 2일 경과한 모든 실험군의 세포분획 효소 시료들과 2종의 기질중 phenylacetyl-CoA를 선택하여 기질 원액과 기질 희석액을 제조한 후 이 기질액과 glycine 기질 원액을 사용하여 PAT 활성도를 측정한 후 이들 성적으로 부터 1/vi치를, 기질 농도로부터 1/[S]치를 계산하여 이중역수도(double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출하였다.

7. 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3 : 1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg와 Rothstein법[13]으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법으로 정량하였다.

8. 성적 검정

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

성 적

1. 간의 PAT 활성도에 미치는 담관폐쇄와 담즙 정체 시간의 영향

쥐에게 총담관 결찰로 담관폐쇄를 시켰을 때 간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT 활성도는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 결찰 후 1일 경과시킨 군의 간 세포질 분획의 PAT 활성도는 정상군보다 약 61%(P<0.01), 가수술군보다 약 56%(P<0.01)의 증가를 나타내었으며 총담관 결찰 후 2일 경과시킨 군의 간 세포질 분획의 이 효소 활성도는 정상군보다 약 53%(P<0.05), 가수술군보다는 약 46%(P<0.05)의 증가를 나타내었다. 간 미토콘드리아 분획의 PAT 활성도는 총담관 결찰 후 1일 경과시킨 군에서는 정상군보다 약 43%(P<0.05), 총담관 결찰 후 2일 경과시킨 군에서는 정상군보다 약 72%(P<0.05), 가수술군보다 약 59%(P<0.05)의 증가를 나타내었다. 총담관 결찰 후 1일 경과시킨 군에서 간 마이크로솜 분획의 이 효소 활성도는 정상군보다 약 115%(P<0.01), 가수술군보다 약 85%(P<0.01)의 증가를 나타내었으며 총담관결찰 후 2일 경과시킨 군에서 간 마이크로솜 분획의 이 효소 활성도는 정상군보다 약 94%(P<0.01), 가수술군보다 약 70%(P<0.05)의 증가를 나타내었다. 간의 3종 분획의 PAT 활성도는 모두 수술 후 1일 경과시켰을 때보다 2일 경과시켰을 때 약간 더 증가하였다(Table 1).

2. 간의 PAT 활성도에 미치는 담관폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입의 영향

쥐에게 총담관 결찰로 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때의 간 미토콘드리아 분획과 마이크로솜 분획 그리고 TCA를 주입시켜 2일 경과시켰을 때의 간의 세포질 분획의 PAT 활성도는 대조군인 총담관 결찰만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 결찰 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 분획의 PAT 활성도는 대조군인 총담관 결찰만 시킨 군보다 각각 약 41%(P<0.05) 및 약 39%(P<0.05)의 증가를 나타내었고, 간 마이크로솜 분획의 PAT 활성도는 총담관 결찰 직후 TCA를 주입시키고 1일 경과시켰을 때 약 41%(P<0.05)의 증

Table 1. Effects of biliary retention time on hepatic subcellular phenylacetyltransferase activities in rats

Experimental groups	Phenylacetyltransferase activity (nmol coenzyme A min^{-1} $mg\ protein^{-1}$)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
Normal	9.3 ±2.36	56.2 ±12.36	32.4 ±8.85
Sham 1 day	9.6 ±2.73	60.6 ±12.85	37.7 ±9.47
Sham 2 days	9.7 ±2.46	61.6 ±13.23	36.9 ±9.96
CBDL 1 day	15.0 ±2.97[b,d]	80.4 ±19.62[a]	69.6 ±17.43[b,e]
CBDL 2 days	14.2 ±2.76[a,g]	96.5 ±25.28[a,g]	62.7 ±16.96[b,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 CBDL 2 days: sacrificed on the 1st or 2nd day after common bile duct ligation. a, P<0.05 vs. Normal; b, P<0.01 vs. Normal; d, P<0.05 vs. Sham 1 day; e, P<0.01 vs. Sham 1 day; g, P<0.05 vs. Sham 2 days.

가를 나타내었으며 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때는 약 61%(P<0.05)의 증가를 나타내었다. 간 세포질 분획의 PAT 활성도는 총담관 결찰 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때 약 42%(P<0.05)의 증가를 나타내었다. 총담관 결찰 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때는 간의 3종 세포분획에서 PAT 활성도는 모두 대조군과 차이가 없었다(Table 2).

3. 담관폐쇄 후 2일 경과한 실험군에서 간 PAT의 Km치 및 Vmax치의 변동

수술후 2일 경과시킨 모든 실험군에서 간의 PAT를 phenylacetyl-CoA를 기질로 사용하여 Km치 및 Vmax치를 측정했을 때 Km치는 모두 변동이 없었다(Table 3).

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다 각각 약 109%(P<0.001), 약 125%(P<0.001) 및 약 179%(P<0.001), 총담관 결찰만 시킨 군보다 각각 약 45%(P<0.01), 약 40%(P<0.05) 및 약 63%(P<0.01)의 증가를 나타내었다. 총담관 결찰을 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다 각각 약 51%(P<0.01), 약 54%(P<0.05) 및 약 73%(P<0.001)의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 결찰만 시킨 군의 그것과 비교했을 때는 별 차이가 없었다(Table 3).

고 찰

간은 대사기능, 생체이물 생체 변환 기능 및 재생기능 등 수 많은 기능을 가진 장기이며 담즙울체로 간이 손상을 받으면 간의 PAT 활성도는 변동이 초래되는 것[5]으로 알려져 있다. 담즙울체간의 세포분획들에서 이 효소의 활성도 변동 기전을 파악해 봄으로써 담즙울체간에서의 생체이물 생체 변환에 대한 새로운 지견을 얻을 수 있을

Table 2. Effects of taurocholic acid (TCA), and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after common bile duct ligation (CBDL) on hepatic subcellular phenylacetyltransferase activities in rats

Experimental groups	Phenylacetyltransferase activity (nmol coenzyme A min^{-1} mg $protein^{-1}$)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
CBDL 1 day	15.1 ±2.97	80.4 ±19.62	69.6 ±17.43
CBDL 1 day + TCA	19.4 ±2.75	113.6 ±22.81[p]	98.3 ±19.75[p]
CBDL 1 day + TUDCA	14.7 ±2.58	82.6 ±20.35	63.2 ±16.52
CBDL 2 days	14.2 ±2.76	96.5 ±25.28	62.7 ±16.96
CBDL 2 days + TCA	20.1 ±3.07[s]	133.8 ±24.72[s]	100.9 ±19.24[s]
CBDL 2 days + TUDCA	14.6 ±2.64	91.7 ± 24.79	64.3 ±16.77

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; CBDL 1 day and 2 days, sacrificed 1 or 2 days after common bile duct ligation; One of the following bile acids, TCA and TUDCA (45 mol/100 g body weight) was intravenously administered through the superior vena cava. p, P<0.05 vs. CBDL 1 day; s, P<0.05 vs. CBDL 2 days.

Table 3. Rat hepatic cytosolic, mitochondrial and microsomal phenylacetyltransferase kinetic parameters from 2 days after common bile duct ligation (CBDL 2 days) determined with phenylacetyl-coenzyme A

Experimental groups	Cytosol		Mitochondria		Microsome	
	Km (mM)	(nmol coenzyme A min^{-1} mg $protein^{-1}$)	Km	Vmax	Km	Vmax
Sham 2 days	0.63 ± 0.13	12.2 ± 2.67	0.28 ± 0.07	73.3 ± 15.38	0.31 ± 0.08	46.7 ± 10.95
CBDL 2 days	0.65 ± 0.15	17.6 ± 3.28[g]	0.29 ± 0.06	117.6 ± 29.56[g]	0.30 ± 0.09	79.8 ± 20.48[g]
CBDL 2 days + TCA	0.63 ± 0.12	25.5 ± 3.63[i,t]	0.28 ± 0.06	165.2 ± 26.19[i,s]	0.30 ± 0.07	130.2 ± 23.09[i,t]
CBDL 2 days + TUDCA	0.62 ± 0.13	18.4 ± 2.94[h]	0.27 ± 0.07	112.8 ± 27.01[g]	0.29 ± 0.08	80.7 ± 19.34[h]

Michaelis-Menten constants for phenylacetyltransferase were determined using phenylacetyl-coenzyme A and glycine at 30℃ for cytosolic, mitochondrial and microsomal fractions of experimental rat livers at 2 days after CBDL. The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 1 and text. g, $P<0.05$ vs. Sham 2 days; h, $P<0.01$ vs. Sham 2 days; i, $P<0.001$ vs. Sham 2 days; s, $P<0.05$ vs. CBDL 2 days; t, $P<0.01$ vs. CBDL 2 days.

것으로 생각되며, 담즙울체로 간 손상이 야기되는 간담도 질환에 대한 생화학적 배경 특히 간의 해독기능의 일단이 밝혀질 것으로 생각된다.

실험적으로 쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체를 야기시키면 간에서 활성도가 변동되는 효소들은 많으며 그 중에서도 특히 생체이물 생체 변환 효소들이 많다. 이들 중 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 benzoyltransferase, PAT[5], microsomal ethanol oxidizing system, aldehyde dehydrogenase[14], ayrlamine N-methyltransferase[15], 세포질 aryl sulfotransferase[16]이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소들은 microsomal 및 mitochondrial aryl sulfotransferase[16], UDP-glucuronosyltransferase, rhodanese[17], glutathione S-transferase, glutathione peroxidase[18], monoamine oxidase[19], catalase, alcohol dehydrogenase[14], arylesterase, carboxylesterase 및 cholinesterase [20] 등으로 알려져 있다. 담즙울체간에서 이들 생체이물 생체 변환 효소의 활성도 증감기전에 대해서는 현재까지 어느 정도 밝혀져 있는 것은 arylesterase[6], carboxylesterase[7], cholinesferase[8], benzoyltransferase[9], arylamine N-methyltransferase[10] 등이다. 즉 arylesterase, carboxylesterase 및 cholinesterase는 TCA의 간내 농도 증가에 의해 그 합성이 억제를 받는다[6-8]는 것이며 benzoyltransferase 및 arylamine N-methyltransferase는 TCA의 간내 농도 증가에 의해 그 합성이 자극을 받는다[9,10] 는 것이다. Kim과 Kim의 보고[5]에 의하면 쥐의 총담관을 결찰한 후 담즙울체간에서 세포질의 PAT 활성도는 총담관 결찰 후 1일 및 2일에, 미토콘드리아 PAT 활성도는 총담관 결찰 후 2일, 3일 및 7일에, 마이크로솜 PAT 활성도는 총담관 결찰 후 1일, 2일, 3일 및 7일에 유의한 증가를 나타내었다고 하였다. 이와 같이 PAT는 담즙울체간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환효소라고 하였으며 그 증가 기전에 대해서는 효소 단백질 합성의 증가에 의한 것 같다고만 추론하고 있다. Kim과 Kim[5]은 담즙울체간에서 PAT의 활성도가 증가된 것은 담즙울체간에서 초기에 나타나

는 심한 괴사 현상과 아울러 담도의 증식이 이들 효소의 활성도 증가와 관계가 있다고 하였다. 그러나 어떤 물질이 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도를 증가시키는데 기여하였는지는 분명하게 설명하고 있지 않다.

이 실험에서도 담즙울체간에서 이 효소의 활성도가 증가됨을 확인하였다. 이 연구에서 해결해야 할 과제는 이 효소 활성도가 담즙울체간에서 어떤 기전에 의해 증가되었는가 하는 것이다.

이 실험에서 쥐에게 총담관 결찰을 시킨 후 2일 경과시켰을 때 간의 미토콘드리아 분획의 PAT 활성도, 총담관 결찰을 시킨 후 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 세포질 및 마이크로솜 분획의 PAT 활성도들은 유의한 증가를 나타내었다. 한편 이 실험에서 간 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT 활성도는 총담관 결찰 수술 후 1일 경과시켰을 때보다 2일 경과시켰을 때 더 증가되었다. 이 결과로 보아 간의 PAT는 담즙울체의 시간이 경과되어 간의 담즙울체가 점차 심해질수록 활성도가 더 증가된다는 사실을 알 수 있다.

이 실험에서 쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT 활성도는 대조군인 총담관 결찰만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 2일 경과시켰을 때 간 세포질 분획의 PAT 활성도는 총담관 결찰만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 한편 이 실험에서 쥐에게 총담관 결찰을 시키고 2일 경과시켰을 때와 쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때 간 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT의 Vmax치는 대조군인 가수술군 또는 총담관 결찰을 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이 실험에서 측정한 phenylacetyl-CoA 대한 PAT의 Km치는 모든 실험군의 간 세포분획들에서 유의한 변동을 나타내지 않았다. 이 결과로 보아 TCA는 간의 PAT 합성을 유도한다고 추정할 수 있으며 특히 TCA를 주입한 실험군에서 이 효소의 Km치는 변동이 없으면서 Vmax치가 증가된 것은 위의 추론을 한층 더 뒷받침 해주는 결과라고 생각한다.

쥐에게 총담관 결찰을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획에서 이 효소의 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 이 결과로 볼 때 TUDCA는 간의 PAT 합성을 유도하지는 않는다고 추정할 수 있다.

이 실험 결과들과 문헌상의 지견을 종합해 볼 때 담즙울체간에서 PAT의 활성도 증가는 담즙산들 중 특히 TCA에 의해 이들 효소의 합성이 유도되어 나타난 결과로 생각된다.

요 약

이 연구는 PAT 활성도가 담즙울체간에서 증가되는 기전을 알아내기 위하여 쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 TCA 또는 TUDCA를 정맥 내에 주입시킨 다음 경시적으로 PAT의 활성도 변동에 대한 이들 담즙산의 효과를 측정하였다.

간 세포질, 미토콘드리아, 및 마이크로솜 분획의 PAT 활성도는 모두 수술 후 1일 경과시켰을 때보다 2일 경과시켰을 때 더 증가되었다. 쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간의 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 2일 경과시켰을 때 간 세포질 분획의 PAT 활성도는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획에서 PAT 활성도는 대조군과 차이가 없었다. 쥐에게 담관폐쇄를 시키고 2일 경과시켰을 때와 쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때

간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 PAT의 Vmax치는 대조군인 가수술군 또는 담관 폐쇄를 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이 실험에서 측정한 PAT의 Km치는 모든 실험군의 간 세포분획들에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

이상의 결과로 담즙울체간에서 PAT의 활성도 증가는 담즙산들 중 특히 TCA에 의해 이들 효소의 합성이 유도되어 나타난 결과로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 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):7230-7.
2. Webster LJ Jr. Benzoyl-CoA: amino acid and phenylacetyl-CoA: amino acid N-acetyltransferase. In: Jakoby WB, editor. *Method in Enzymology*. New York: Academic Press; 1981, Vol. **77**, p.301-7.
3. Killenberg PG, Webster LJ Jr. Conjugation by peptide bond formation. In: Jakoby WB, editor. *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York: Academic Press; 1980, Vol. **II**, p.141-67.
4. 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):289-95.
5. Kim YJ, Kim YH. Benzoyltransferase and phenylacelyltransferase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *J Biochem Mol Biol* 1999;**32**(1):67-71.
6. 한병훈, 김여희. 흰쥐 간의 Arylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. *대한간학회지* 1997;**3**(2):154-69.
7. 한병훈, 김여희. 흰쥐 간의 Carboxylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. *계명의대논문집* 1998;**17**(4):487-503.
8. 박소경, 곽춘식. 담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 Cholinesterase의 합성 억제. *계명의대논문집* 1999;**18**(2):204-17.
9. 김일경, 김여희, 곽춘식. 담즙산 부하에 의한 쥐 간의 Benzoyltransferase의 유도. *계명의대학술지* 2001;**20**(1):20-30.
10. 이병욱, 곽춘식. Taurocholate 부하에 의한 흰쥐 간의 Arylamine N-Methyltransferase의 유도. *대한외과학회지* 2000;**59**(2):141-53.
11. 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.
12. 곽춘식, 곽정식. 쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. *계명의대논문집* 1986;**5**(1):45-53.
13. 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.
14. 곽춘식, 김여희, 문교철. 쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치. *계명의대논문집* 1988;**7**(1):64-75.
15. 주일. 흰쥐 재생간과 담즙울체간에서의 Arylmine N-Methyltransferase 및 Thiol Methyltransferase의 활성도. *계명대학교 대학원 박사학위논문* 1996; p.1-34.
16. 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):141-7.
17. Ihm JS, Kim YH. Thiosulfate sulfurtransferase and UDP-glucuronosytransferase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Exp*

Mol Med 1997;**29**(4):197-201.
18. 권용철, 문교철, 곽춘식. 쥐 담즙울체간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성도. *계명의대논문집* 1990;**9**(2):159-70.
19. 문교철, 곽춘식. 흰쥐 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1989;**8**(1):69-77.
20. 곽춘식, 이숙형. 쥐 담즙울체간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Cholinesterase의 활성도. *한국생화학회지* 1992;**25**(3):251-61.