

간외성 담즙울체 쥐에서 간의 Epoxide Hydratase활성에 미치는 급성주정중독의 영향

계명대학교 의과대학 생화학교실

곽춘식 · 최기석

Effect of Acute Ethanol Intoxication on Hepatic Epoxide Hydratase Activity in Rats with Extrahepatic Cholestasis

Chun Sik Kwak, Ph.D., Ki Suk Choi, M.D.

*Department of Biochemistry,
Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea*

Abstract : To elucidate the biochemical background of alcohol drinking hazard under the hepatobiliary disease, hepatic epoxide hydratase activity was determined in acute ethanol intoxicated rats with extrahepatic cholestasis induced by common bile duct ligation (CBD). Liver microsomal epoxide hydratase activity in CBD ligated rats combined with acute ethanol intoxication was lower than that in CBD ligation alone. On the other hand, the Vmax value of the enzyme in these rats was lower than that in CBD ligation alone, whereas the Km value of the above hepatic enzyme did not vary among all the experimental groups. This result indicates that biosynthesis of the hepatic epoxide hydratase decreases in acute ethanol intoxication combined with cholestasis than in cholestasis alone. Accordingly, the results support the observation that alcoholic drink is enzymologically harmful in hepatobiliary diseases.

Key Words : Alcohol intoxication, Cholestasis, Epoxide hydratase

서 론

최근 주류의 소비량이 늘어남에 따라 음주로 인해 야기되는 질병들이 관심의 대상이 되고 있으며, 그 중에서도 주정 대사의 주된 장기인 간에 미치는

주정의 영향이 주목을 받고 있다. 간은 물질 대사의 주된 기관으로서 대단히 복잡하고 다양한 기능을 가진 장기이며 [1] 체외로부터 흡수되거나 체내에서 생성된 물질 특히 유해한 물질을 생체변환시켜 배설케 하는 기구를 가짐으로써 생체를 보호하

고 있다[2]. 그러나 이러한 기능을 가진 간이라 하더라도 장기간 많은 양의 음주를 하면 지방간, 간염, 간경변증 등이 초래될 수 있다[3,4]. 간은 생체이물(xenobiotic)들을 생체변환시키는 주된 장기이므로 생체이물의 생체변환에 관련된 효소들이 다량 존재하며[2] 특히 담즙 울체로 간 손상이 있을 때에는 간에서 이 효소들의 활성도가 변동된다[5]. 따라서 간담도 질환 시 음주를 하거나 주정중독이 야기된다면 간 조직에서 생체이물 생체변환(xenobiotic biotransformation) 효소의 활성도는 변동이 있을 것으로 생각된다.

Epoxide hydratase(epoxide hydrolase, EC 3.3.2.3)는 epoxide를 가수분해하여 glycol을 생성케 하는 반응을 촉매하는 효소로서[6,7] 포유동물의 대부분의 조직에 분포되어 있으며[8,9] 간의 세포질, 내형질세망 및 미토콘드리아에 풍부히 존재한다[8,10]. 현재까지 알려져 있는 epoxide hydratase의 생화학적 기능은 변이원성 및 발암성 물질인 epoxide를 가수분해하여 독성을 약화시키는 기능을 가진다[7,11]는 것이다. 이 효소는 쥐에서 만성주정중독 시 담즙울체를 야기시켰을 때 간의 마이크로솜에서 그 활성도가 감소되는 것[12]으로 밝혀져 있다. 이와 같이 생체이물 생체변환 효소인 epoxide hydratase는 만성주정중독과 담즙울체를 병행시켰을 때 간조직에서 그 활성도가 감소되고, 또한 담즙울체 시 주정중독을 시키면 간 손상이 심해진다는 보고[13,14]가 있고 보면 담즙울체 시 급성주정중독을 야기시켰을 때에도 간에서 이 효소의 활성도는 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 보고는 찾아 볼 수 없었다.

이 연구는 간담도 질환 시 음주의 유해함에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 담즙울체가 진행되는 쥐에게 급성주정중독을 시킨 후 간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜에서 epoxide hydratase 활성도를 측정하였으며 아울러 총담관을 결찰한 후 14일에 급성주정중독을 시킨 쥐의 간 세포 분획에서 이 효소의 Km 값과 Vmax 값도 함께 측정하여 이들 성적을 비교하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시약

Trans-stilbene oxide, potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic 및 단백질 표준액(10 g/100 mL bovine albumin) 등은 Sigma사(미국) 제품을 사용하였으며 그 외 시약들은 시판하는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

2. 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280-320 g 되는 Sprague-Dawley종의 숫쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 총 6개군으로 나누었다. 즉 정상군(1군), 총담관 결찰 후 14일에 희생시킨 총담관 결찰군(1군), Liu 등[15]의 방법에 따라 체중 kg 당 4 g의 에탄올을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 희생시킨 급성주정중독군(총 2군), 총담관 결찰 14일 후 체중 kg 당 4 g의 에탄올을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 희생시킨 총담관 결찰 후 급성주정중독을 시킨 군(총 2군) 등이다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전 후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 삼양유지사료주식회사의 실험동물 사료를 먹게 하였다.

급성주정중독은 흰쥐 체중 kg 당 4 g의 에탄올이 투여되도록 25%(v/v) 에탄올 용액을 조제하여 단회 경구 투여하였다. 총담관 결찰술 및 간 적출술은 효소 활성의 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 이중 결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출 시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 이터 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4°C의 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 제거하였다.

3. 간세포의 분획

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2-4℃로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 7 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose 액을 넣은 다음 Teflon pestle glass homognizer (chamber clearance 0.005-0.007 inches, Thomas사, 미국)로 2-4℃를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10% (w/v)의 간 조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법[16]으로 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획을 분리하였다. 세포분획법에서 모든 조작은 2-4℃에서 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(model 570, ISCO, 미국)를 사용하였다.

4. 효소 시료 조제

Epoxide hydratase 활성도 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획을 단백질 양으로 5 mg/mL가 되도록 0.25 M sucrose 액에 현탁시켜 사용하였다.

5. 효소 활성도 측정

간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 epoxide hydratase의 활성도 측정은 시료와 함께 trans-stilbene oxide를 기질로 사용하여 37℃에서 20분간 반응시키는 동안에 소모된 trans-stilbene oxide를 229 nm 파장에서 비색

한 후 생성된 1,2-diphenyl-1,2-ethanediol 양으로 환산하여 효소의 활성도를 산출하는 Hasegawa와 Hammock[17]의 법에 의하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 1,2-diphenyl-1,2-ethanediol을 nmol로 나타내었다. 이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 효소 활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Cary 210, Varian, 미국)였다.

6. Km값 및 Vmax값의 측정

정상 쥐, 총담관 결찰술 후 14일 경과한 쥐, 급성주정중독 후 1.5 및 24시간 경과한 쥐 및 총담관 결찰술 후 14일에 급성주정중독을 시키고 1.5 및 24시간 경과한 쥐의 간세포 분획 시료들과 효소기질의 원액과 희석액들을 사용하여 epoxide hydratase 활성도를 측정한 후 이들 성적으로부터 $1/v_i$ 값을 그리고 이 효소 활성도 측정에 사용한 기질액의 기질 농도로부터 $1/[S]$ 값을 계산하여 이중역수도(double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km 값과 Vmax 값을 산출하였다.

7. 단백질 정량

효소액 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg와 Rothstein[18] 방법으로 효소액 중의 단백질을 정제한 다음 biuret 방법으로 정량하였다.

8. 성적 검정

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

성 적

1. 총담관 결찰 후 급성주정중독이 간의 epoxide hydratase 활성도에 미치는 영향

쥐 간의 세포질 및 미토콘드리아 epoxide hydratase의 활성도는 모든 실험군에서 통계학적으로 유의한 변동을 나타내지 않았다. 마이크로솜 epoxide hydratase 활성도는 급성주정중독만 시킨 군들에서도 유의한 변동을 나타내지 않았다 (Table 1).

총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시키고 24시간 후 희생시킨 군(성적 table에서 Ethanol 24 hr + CBDL)의 마이크로솜 epoxide hydratase 활성도는 대조군인 급성주정중독만 시킨 군(성적 table에서 Ethanol 24 hr)에 비해 약 47% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었다. 그리고 이 효소의 활성도를 총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시키고 24시간 후 희생시킨 군과 대조군인 총담관만 결찰한 군(성적 table에서 CBDL 14 days)을 비교했을 때는 총담관 결찰 후 급성주정중독을 시키고 24시간 후 희생시킨 군이 대조군인 총담관만 결찰한 군에 비해 약 55% ($P<0.01$) 감소를 나타내었다 (Table 1).

2. 총담관 결찰 후 급성주정중독이 간 마이크로솜의 epoxide hydratase의 Km값 및 Vmax 값에 미치는 영향

쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정중독을 시켰을 때 간 마이크로솜의 epoxide hydratase를 trans-stilbene oxide를 기질로 사용하여 측정한 Km값 및 Vmax 값의 변동은 Table 2와 같다.

쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성주정중독을 시키고 24시간 경과 후 희생시킨 군에서 간의 마이크로솜 epoxide hydratase의 Vmax값은 그 대조군인 급성주정중독만 시킨 군 또는 총담관만 결찰한 군에 비해 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 마이크로솜 epoxide hydratase의 Km값을 모든 실험군에서 변동이 없었다.

고 찰

흰쥐의 총담관을 결찰하면 간에 담즙울체가 야기되며 시간이 경과함에 따라 담즙울체간은 괴사, 담도 증식, 섬유화 및 경화성 변화가 연속적으로 나타나며[19,20] 동시에 간 기능도 장애가 초래되

Table 1. Effect of acute ethanol intoxication on liver cytosolic, mitochondrial and microsomal epoxide hydratase activities in common bile duct-ligated rats

	Epoxide hydratase activities (nmol 1, 2-diphenyl-1, 2-ethanediol min ⁻¹ mg protein ⁻¹)					
	Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hr	Ethanol 1.5 hr + CBDL	Ethanol 24 hr	Ethanol 24 hr + CBDL
Cytosol	1.78 ± 0.55	1.85 ± 0.73	1.96 ± 0.87	1.57 ± 0.62	1.93 ± 0.91	1.69 ± 0.71
Mitochondria	0.76 ± 0.24	0.48 ± 0.18	0.77 ± 0.26	0.46 ± 0.19	0.78 ± 0.28	0.47 ± 0.18
Microsome	2.20 ± 0.73	2.77 ± 0.75	2.42 ± 0.76	1.81 ± 0.61	2.39 ± 0.79	1.26 ± 0.44 ^{g,k}

All values are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; CBDL 14 days: the rats were sacrificed at 14th day after common bile duct ligation. Ethanol 1.5 hr or 24 hr: the rats were sacrificed at the 1.5 hours or 24 hours after acute ethanol intoxication [16 mL of 25% (v/v) ethanol solution per kg of body weight was oral administration]. g, $P<0.05$ vs. Ethanol 24 hr; k, $P<0.01$ vs. CBDL 14 days.

는 것[21-23]으로 알려져 있다. 간의 배설기능에 장애가 오면 간에는 담즙울체가 야기되며[1,23] 이때 담즙울체간과 혈청에서는 각종 효소들의 활성도가 증감되는 것으로 알려져 있다. 특히 생체이물 생체변환효소의 일종인 epoxide hydratase는 만성주정중독 시 담즙울체를 야기했을 때 간에서 그 활성도가 변동된다[12]. 체내에 흡수된 주정(에탄올)은 간에서 대부분 대사되며 이 대사 과정은 에탄올이 아세트알데하이드로 산화되고 다시 아세트산으로 산화되어 이용되는 것이다[24,25]. 이러한 대사 과정에서 생성된 아세트알데하이드는 간세포의 괴사를 초래하는 물질[26]로 알려져 있고 또한 주정중독 시 심한 형태학적 변화가 초래[27,28]되는 만큼 담즙울체와 주정중독이 병행된다면 간 손상의 정도는 더욱 심해질 것으로 생각된다. 특히 쥐에서는 급성주정중독과 담즙울체가 병행되었을 때는 생체이물 생체변환효소들의 활성도 변동이 심하다고 한다. 즉 쥐에서 급성주정중독 시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 간에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체변환효소들은 xanthine oxidase[29], catalase[30], 세포질 glutathione S-transferase[31], 세포질

glutathione peroxidase[31] 및 미토콘드리아 monoamine oxidase[13] 등을 들 수 있으며 간에서 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체변환 효소들은 마이크로솜 glutathione S-transferase[31], arylesterase[32] 및 carboxylesterase[33]를 들 수 있다. 따라서 이 실험에서 측정된 epoxide hydratase는 생체이물 생체변환 효소로서 간에서 그 합성이 활발하며, 만성주정중독 시 담즙울체가 야기되면 그 활성도가 변동됨으로[12] 담즙울체 시 급성주정중독이 야기되었을 때도 그 활성도의 변동은 있을 것으로 생각된다.

이 실험 성적에서 총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시킨 군과 총담관만 결찰한 군간에 간의 epoxide hydratase 활성도를 비교했을 때 간의 마이크로솜 분획에서는 총담관 결찰후 14일에 급성주정중독을 시킨 군이 총담관만 결찰한 군보다 이 효소의 활성도는 현저한 감소를 나타내었다. 이 성적을 볼 때 쥐 간의 마이크로솜 epoxide hydratase는 담즙울체 시 급성주정중독이 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 그 활성도가 감소되는 효소라 생각된다. 한편 이 실험 성적에서 총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시킨 군에서 간의

Table 2. Kinetic parameters of liver microsomal epoxide hydratase in cholestasis with acute ethanol - intoxicated rat determined with trans-stilbene oxide

Animal groups	Microsomal epoxide hydratase	
	Km (mM)	Vmax (nmol 1, 2-diphenyl-1, 2-ethanediol min ⁻¹ mg protein ⁻¹)
Normal	1.43 ± 0.23	2.86 ± 0.71
CBDL 14 days	1.45 ± 0.17	3.57 ± 0.75
Ethanol 1.5 hr	1.41 ± 0.25	3.15 ± 0.73
Ethanol 1.5 hr + CBDL	1.46 ± 0.19	2.36 ± 0.59
Ethanol 24 hr	1.39 ± 0.26	3.12 ± 0.76
Ethanol 24 hr + CBDL	1.48 ± 0.20	1.64 ± 0.42 ^{h,k}

Michaelis-Menten constants for epoxide hydratase were determined using trans-stilbene oxide at 37°C for microsomal fraction in male rat livers of acute intoxication with ethanol done after 14 days of the common bile duct ligation. The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group. Animal groups are described in Table 1. h, P<0.01 vs. Ethanol 24 hr; k, P<0.01 vs. CBDL 14 days.

마이크로솜 epoxide hydratase의 Km값을 총담관만 결찰한 군의 Km값과 비교했을 때는 상호간에 별 차이가 없었다. 그러나 총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시킨 군에서 간의 마이크로솜 epoxide hydratase의 Vmax값은 총담관만 결찰한 군의 Vmax값보다 유의하게 감소된 값을 나타내었다. 이와같이 담즙울체 시 급성주정중독을 야기시키면 이 효소의 Km값이 변동이 없으면서도 담즙울체만 시켰을 때보다 그 활성도가 감소되고 또한 Vmax값이 감소된 것은 이 효소의 활성도 감소가 촉매 효율의 감소라 보기는 어렵다. 따라서 담즙울체 시 급성주정중독이 야기되면 이 생체이물 생체변환 효소는 담즙울체만 있을 때보다 그 합성이 감소되는 것으로 생각된다.

이상 이 실험 성적과 문헌상의 지견으로 보아 간의 epoxide hydratase는 담즙울체 시 급성주정중독이 야기되면 그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 감소되는 효소로 생각된다. 따라서 이 성적은 담즙울체로 간 손상이 있을 때 음주를 하면 간 손상이 더욱 심해질 것이라는 것을 시사해준다.

요 약

이 연구는 간담도 질환 시 음주의 유해함에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 총담관 결찰을 시킨 쥐에게 급성주정중독을 야기시킨 후 간의 epoxide hydratase의 활성도를 측정하였으며 아울러 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 쥐의 간 마이크로솜에서 이 효소의 Km값과 Vmax값을 측정하였다.

총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시킨 군과 총담관만 결찰한 군 간에 간의 epoxide hydratase 활성도를 비교했을 때 간의 세포질 및 미토콘드리아에서는 이 효소 활성도가 별 차이가 없었다. 그러나 간의 마이크로솜에서 이 효소의 활성도는 총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시킨 군이 총담관만 결찰한 군보다 유의한 감소를 나타내었다. 총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시킨 군에서 간의 마이크로솜 epoxide hydratase

의 Km값을 총담관만 결찰한 군의 값과 비교했을 때는 별 차이가 없었다. 그러나 총담관 결찰 후 14일에 급성주정중독을 시킨 군에서 간의 마이크로솜 epoxide hydratase의 Vmax값은 총담관만 결찰한 군의 값보다 유의하게 감소되었다.

간의 epoxide hydratase는 담즙울체 시 급성주정중독이 야기되면 그 합성이 담즙울체만 있을 때보다 감소되는 효소로 생각된다. 따라서 이 성적은 담즙울체로 간 손상이 있을 때 음주를 하면 간 손상이 더욱 심해질 것을 시사해준다.

참 고 문 헌

1. Sherlock S, Dooley J. *Diseases of the Liver and Biliary System*. 11th ed. Oxford: Blackwell Scientific; 2002, p.1-35.
2. Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J. *Metabolic Basis of Detoxication, Metabolism of Functional Groups*. New York: Academic Press; 1982, p.5-317.
3. Wooddell WJ. Liver disease in alcohol addicted patients. In: Davidson SV, editor. *Alcoholism and Health*, Century Boulevard: Aspen System; 1980, p.125-34.
4. Hall PM. Alcoholic liver disease. In: MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC, editors. *Pathology of the Liver*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994, p.317-48.
5. 이병옥, 박춘식. 담즙울체 쥐에서 간의 Thiol Methyltransferase 활성도에 미치는 Taurocholate의 정맥 내 투여의 영향. *대한외과학회지* 2002;63(1):1-10.
6. Kim BK. *Enzyme Nomenclature*. New York: Academic Press; 1984, p.328-9.
7. Oesch F. Microsomal epoxide hydrolase. In: Jakoby WB, editor. *Metabolic Basis of Detoxication*. New York: Academic Press; 1980, Vol II, p.277-90.
8. Gill SS, Hammock BD. Distribution and properties of a mammalian soluble epoxide hydratase. *Biochem Pharmacol* 1980;29(3):389-95.

9. de Waziers I, Cugnenc PH, Yang CS, Leroux JP, Beaune PH. Cytochrome P 450 isoenzymes, epoxide hydrolase and glutathione transferase in rat and human hepatic and extrahepatic tissue. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;**253**(1):387-94.
10. Kaur S, Gill SS. Distribution and nature of epoxide hydrolase activity in subcellular organelles of mouse liver. *Biochem Pharmacol* 1986;**35**(8):1299-308.
11. Kizer DE, Clouse JA, Ringer DP, Hanson PO, Vaz AD, Palakodety RB, et al. Assessment of rat liver microsomal epoxide hydrolase as a marker of hepatocarcinogenesis. *Biochem Pharmacol* 1985;**34**(10):1795-800.
12. 박춘식, 최기석, 문교철, 김여희. 만성 주정 중독 쥐간의 Epoxide Hydratase 활성에 미치는 간외성 담즙울체의 영향. *계명의대학술지* 2003;**22**(1):96-103.
13. 정성광, 박춘식. Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Monoamine oxidase 활성에 미치는 영향. *한국생화학회지* 1992;**25**(3):210-8.
14. 김성수, 박성대, 박춘식. 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Cathepsin B, D, H 와 Acid Phosphatase 활성에 미치는 영향. *대한소화기병학회지* 1993;**25**(4):696-708.
15. Liu SJ, Pamsey RK, Fallon HJ. Effect of ethanol on hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol* 1975;**24**(3):396-78.
16. 박춘식, 박정식. 흰쥐 간세포분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. *계명의대논문집* 1986;**5**(1):45-53.
17. Hasegawa LS, Hammock BD. Spectrophotometric assay for mammalian cytosolic epoxide hydrolase using trans-stilbene oxide as the substrate. *Biochem Pharmacol* 1982;**31**(11):1979-84.
18. 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.
19. 김효석, 박재웅, 김은영, 박규식, 최용한, 정준모. 총담관 결찰시 간세포의 초미형태학적 변화. *대한내과학회지* 1989;**36**(4):459-70.
20. 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):305-11.
21. Kaplan MM, Righetti ABB. Induction of rat liver alkaline phosphatase: the mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction. *J Clin Invest* 1970;**49**(3):508-16.
22. Righetti ABB, Kaplan MM. Effects of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971;**136**(2):491-5.
23. Toda G, Ikeda Y, Kako M, Okah H, Ode T. Mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction: an experimental study. *Clin Chim Acta* 1980;**107**(12):85-96.
24. Bosron WF, Li TK. Alcohol dehydrogenase. In: Jakoby WB, editor. *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York: Academic Press; 1980, Vol 1, p.231-44.
25. Lieber CS. Alcohol metabolism. In: Hall P, editor. *Alcoholic Liver Disease, Pathobiology, Epidemiology and Clinical Aspects*. London: Edward Arnold; 1985, p.3-40.
26. Sherlock S, Dooley J. *Diseases of the Liver and Biliary System*. 11th ed. Oxford: Blackwell Scientific; 2002, p.381-98.
27. Chang ES. Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients. *J Clin Electron Microscopy* 1985;**18**(4):331-7.
28. Chang ES. Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987;**37**(2):213-24.
29. 정성광, 김여희, 박춘식. 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Xanthine Oxidase 활성에 미치는 영향. *계명의대논문집* 1994;**13**(1):64-72.
30. Mun KC, Kwak CS, Jo YH. Activities of hepatic

- engymes for ethanol metabolism in cholestatic rats with acute ethanol intoxication. *Kor J Gastroenterol* 1999;**34**(1):50-5.
31. 박춘식, 김여희, 조준승. Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Peroxidase 및 Glutathione Reductase 활성에 미치는 영향. *한국생화학회지* 1990;**23**(2):251-62.
32. Ahn KW, Kim YH. Effect of common bile duct ligation on serum and hepatic arylesterase activity in ethanol intoxicated rats. *Keimyung Med J* 1999;**18**(3):371-86.
33. Ahn KW, Kim YH. Effects of common bile duct ligation on serum and hepatic carboxylesterase activity in ethanol-intoxicated rats. *J Biochem Mol Biol* 1999;**32**(4):331-8.