

Taurocholate 부하에 의한 흰쥐 간의 Arylamine N-Methyltransferase의 유도

고신대학교 의과대학 일반외과학교실 및 *제명대학교 의과대학 생화학교실

이 병 육 · 곽 춘 식*

= Abstract =

Induction of Hepatic Arylamine N-Methyltransferase by a Taurocholate Load in Rats

Byung Wook Rhee, M.D. and Chun Sik Kwak, Ph.D.*

Department of General Surgery, Kosin University College of Medicine;

*Department of Biochemistry, Keimyung University School of Medicine

Purpose: The possible mechanisms of increased arylamine N-methyl-transferase (AMT) activity in cholestatic rat livers and serum were studied. **Methods:** Rats were divided into eight groups: rats receiving a sham operation, rats with a bile duct obstruction (BDO) alone (BDO group), rats with a BDO plus taurocholic acid (TCA) injection (BDO plus TCA group), rats with a BDO plus tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) injection (BDO plus TUDCA group), rats receiving a choledocho-caval shunt (CCS) operation (CCS groups), rats receiving a CCS operation plus TCA injection (CCS plus TCA group), and rats receiving a CCS operation plus TUDCA injection (CCS plus TUDCA group). The AMT activities in the serum and in the hepatic subcellular fractions isolated from the above experimental rats were determined. The values of Km and Vmax in this hepatic enzyme were measured. **Results:** The activities of liver mitochondrial and microsomal AMTs as well as the Vmax values of AMT, were found to be increased significantly in both the CCS plus TCA group and the BDO plus TCA group compared with the CCS and BDO groups. On the other hand, the values of Km of hepatic subcellular AMT was the same in all experimental groups. The serum AMT activity increased significantly in both the CCS plus TCA group and the BDO plus TCA group compared with control the CCS and BDO group. However, these serum and hepatic enzyme activities were the same in both the CCS plus TUDCA group and the BDO plus TUDCA group. **Conclusion:** The above results suggest that TCA stimulates the biosynthesis of AMT in the liver. Also, the elevated AMT activity in the serum is thought to be caused by an increase in the membrane permeability of hepatocytes from liver cell necrosis caused by TCA.

Key Words: Bile duct obstruction, extrahepatic, Methyltransferase, Tauro-cholic acid

중심 단어: 간외성 담도폐쇄, 메칠기전달효소, 타우로콜산

서 론

담즙을체형 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 담관염 등의 질환에 이환되었을 때나 선천성 담도폐쇄, 종양 및 담석에 의해 담도가 폐쇄되었을 때 간은 담즙을체가 야기되며,(1,2) 이러한 담즙을체가 수반되는 간은 형태학적 변화와 함께 기능장에도 야기된다.(2,3) 쥐를 사용한 실험적 담즙을체간을 모델로 하여 각종 효소들의 활성도 변동을 조사한 연구들이 많으며 현재도 이런 연구들이 행해져 오고 있다. 그러나 담즙을체간에서 효소 활성도의 변동기전에 대해서는 담도계 효소인 alkaline phosphatase,(4) 5'-nucleotidase 및 γ -glutamyl transpeptidase(5,6)와 생체이물 생체 변환(xenobiotic biotransformation) 효소인 arylesterase, carboxylesterase,(7,8) cholinesterase,(9) monoamine oxidase, catechol-O-methyltransferase,(10) alcohol dehydrogenase, catalase, microsomal ethanol oxidizing system, aldehyde dehydrogenase,(11) benzoyltransferase 및 phenylacetyltransferase(12)에 대해서만 그 기전의 일부가 알려져 있다.

즉 alkaline phosphatase, 5'-nucleotidase 및 γ -glutamyl transpeptidase는 담즙을체간에서 활성도가 증가되며,(13,14) 그 기전은 담즙을체로 간세포 내에 증가된 taurocholic acid가 이들 효소의 유전자 발현을 증가시켜 이들 효소의 합성을 증가시킨다(4-6)는 것이며 arylesterase, carboxylesterase, cholinesterase,(15) alcohol dehydrogenase, catalase,(16) monoamine oxidase, catechol-O-methyltransferase(17)는 담즙을체간에서 그 활성도가 감소되며 그 기전은 담즙을체로 간세포 내에 증가된 taurocholic acid가 이들 효소의 합성을 억제하여 이들 효소의 합성을 감소시킨다(7-11)는 것이다. 그리고 microsomal ethanol oxidizing system, aldehy-de dehydrogenase(16), benzoyltransferase, phenylacetyltransferase(12)는 담즙을체간에서 그 활성도가 증가되며 그 기전은 담즙을체로 간세포 내에 증가된 taurocholic acid가 이들 효소의 합성을 자극하여 이들 효소의 합성을 증가시킨다(11,18)는 것이다. 따라서 담즙을체간에서 그 활성도가 변동되는 효소들에 대해서 taurocholic acid가 어떤 효과를 나타내는지를 알아낸다면 담즙을체간에서 그 활성도가 변동되는 효소들의 활성도 변동 기전의 일부가

밝혀질 것으로 생각된다.

Arylamine N-methyltransferase (S-adenosyl-L-methionine: tryptamine N-methyl-transferase, EC 2.1.1.49, AMT)(19)는 tryptamine, melatonin, serotonin, histamine, L-tryptophan methylester, aniline, N-methylaniline, N- α -methyl-tryptamine, N, N- α -dimethyltryptamine, imidazole, pyrrole 및 N-methylserotonin 등의 생체이물(xenobiotics)의 고리 질소에 S-adenosyl-L-methionine의 methyl기를 전이시켜(20) 이들의 배설을 촉진케 하는 반응을 촉매하는 제2상 생체이물 생체 변환(phase 2 xenobiotic biotransformation) 효소들 중 해독 효소로서 포유동물의 간세포에 주로 분포되어 있으며(20, 21) 간세포에서는 cytosol, mitochondria 및 endoplasmic reticulum에 국재되어 있다.(22)

이러한 AMT는 동물실험에 의해 야기된 담즙을체 시 간과 혈청에서 그 활성도가 증가되는 것(22)으로 알려져 있다. 그러나 이 효소가 담즙을체간에서 어떤 기전에 의해 그 활성도가 증가되는지를 규명한 보고는 아직도 없다.

이 연구는 AMT 활성도가 담즙을체간에서 왜 증가되었는지 그 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였으며 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥문합(choledoco-caval shunt)을 시킨 직후에 담즙을체간에서 효소의 합성을 영향을 미친다는 taurocholic acid를 정맥 내에 주입시켜 경시적으로 혈청과 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome에서 이 효소의 활성도를 측정하였던 바 taurocholic acid가 간에서 이 효소의 합성을 유도하는 것으로 생각되는 결과를 얻었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

방 법

1) 시약

S-Adenosyl-L-methionine iodide, tryptamine hydrochloride, DL-dithiothreitol, sodium azide, potassium tetraborate: tetrahydrate, ethylenediaminetetraacetic acid disodium: dihydrate, Triton X-100, potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic, taurocholic acid (from ox bile, sodium salt T0750, TCA), tauro-ursodeoxycholic acid (sodium salt, T0266, TUDCA) 및 단백질 표준액(10 g/100 ml bovine serum albumin) 등

은 Sigma사(St, Louis, MO) 제품을 사용하였으며 [methyl^3H] S-adenosyl-L-methionine은 New England Nuclear사(Wilmington, DE)의 제품을, 그리고 PPO (2, 5-diphenyloxazole), Bis-MSB (p-bis-(O-methyls-tyrlyl benzene)), toluene (scintillation grade) 등은 Packard사 (Downers Grove, IL)의 제품을 사용하였다. 그 외 일 반 시약은 시판되는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

2) 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280~320 g이 되는 Sprague-Dawley종의 숫 흰쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 15군으로 나누었다. 즉 정상군(1군), 가수술군은 가수술 후 1일 및 2일에 각각 회생시킨 군(총 2군)으로 하였고 담관 폐쇄군(bile duct obstruction)군은 총담관 결찰 후 1일 및 2일에 각각 회생시킨 군(총 2군)으로 하였으며 담관 폐쇄와 함께 TCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa등(4) 방법에 따라 TCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 회생시킨 군(총 2군)으로 하였다. 담관 폐쇄와 함께 TUDCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa등(4)의 방법에 따라 TUDCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 회생시킨 군(총 2군)으로 하였고 총담관 대정맥문합을 한 군은 총담관 대정맥문합을 한 후 1일 및 2일에 각각 회생시킨 군(총 2군)으로 하였으며 총담관 대정맥문합과 함께 TCA를 주입한 군은 총담관 대정맥문합 직후 Ogawa등(4)의 방법에 따라 TCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 회생시킨 군(총 2군)으로 하였다. 총담관 대정맥문합과 함께 TUDCA를 주입한 군은 총담관 대정맥문합 직후 Ogawa등(4)의 방법에 따라 TUDCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 주입한 후 1일 및 2일에 각각 회생시킨 군(총 2군)으로 하였다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다.

사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실 험동물 사료를 먹도록 하였다.

총담관 결찰 수술, 총담관 대정맥문합 수술 및 가 수술은 효소 활성의 일종 변동을 고려하여 쥐를 오후 2시에서 5시 사이에 회생시킬 수 있도록 수술 시

간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 ether 마취 하에서 실시하였다. 총담관 결찰은 간 균위부와 약 1 cm 아래쪽의 원부위의 총담관을 각각 이중 결찰 한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 그리고 총담관 대정맥문합은 상대정맥과 총담관을 medical grade silicon tube 을 사용하여 연결하였으며 가수술은 단순 개복술만 시행하였다. TCA 및 TUDCA액의 상대정맥 내에 주입은 syringe pump (Sage instruments, model 341A)를 사용하여 15분간 주입하였다.

3) 간 적출 및 세포분획

모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether 마취 하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간문맥에 삼관한 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.

한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청은 얻고 골 효소 활성도를 측정하였다.

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2~4°C로 냉 각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 Teflon pestle glass homogenizer (Thomas사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inches)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10% (w/v)의 간 조직균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법(23)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome분획을 분리하였다.

위의 세포분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 이 때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 이 때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하였다.

4) AMT 활성도 측정용 효소 시료 조제

Cytosol 분획의 이 효소 시료의 조제는 cytosol 분획 일정량을 사용하여 200배의 0.1 M potassium

phosphate (pH 7.8) buffer로 12시간 투석한 후 단백질 양으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose 액으로 회석하여 사용하였다. Microsome과 mitochondria 분획의 이 효소 시료의 조제는 이들 분획을 단백질 양으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose 액으로 혼탁시킨 후 1% Triton X-100으로 바로 회석하여 잘 혼합한 다음 사용하였다.

5) 효소 활성도 측정

혈청과 간세포 분획들의 AMT 활성도 측정은 시료와 함께 tryptamine hydrochloride와 [methyl^3H] S-adenosyl-L-methionine이 함유된 S-adenosyl-L-methionine iodide를 기질로 사용하여 37°C에서 20분간 반응시키는 동안에 생성된 방사성 N-methyl tryptamine을 isoamyl alcohol이 포함된 toluene으로 추출한 후 그 방사능을 측정하여 효소의 활성도를 산출하는 Lyon과 Jakoby(24)법에 의하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 ml의 혈청 또는 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 N-methyl tryptamine을 pmol로 나타내었다.

이 실험에서는 채택한 효소 활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다.

이 실험에서 사용한 방사능 계측기는 Packard Tri-carb 4530, liquid scintillation spectrometer였다.

6) K_m 치 및 V_{max} 치의 측정

수술 후 2일 경과한 모든 실험군의 세포분획 효소 시료들과 2종의 기질 중 tryptamine hydrochloride를 선택하여 이 기질 원액과 기질 회석액을 제조한 후 이들 기질액과 S-adenosyl-L-methionine 및 [methyl^3H] S-adenosyl-L-methionine 기질 원액을 사용하여 AMT의 활성도를 측정한 후 이 성적으로부터 초기 반응 속도의 역수($1/v_i$)치를 그리고 선택한 기질의 농도로부터 기질농도의 역수($1/[S]$)치를 계산하여 이중역수도 (double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 K_m 치와 V_{max} 치를 산출(25)하였다.

7) 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3 : 1)으로 효소 시료 중의 단백질을 정제(26)한 다음 biuret법(27)으로 정량하였다.

8) 성적 검정

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

결 과

1) 흰쥐에서 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄와 담즙 정체 시간이 간의 AMT 활성도에 미치는 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시켰을 때 간의 microsome 분획과 흰쥐에게 담관폐쇄를 시켰을 때 간의 mitochondria와 microsome 분획에서 AMT 활성도는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥문합 후 1일 경과시킨 군에서 microsome 분획의 AMT 활성도는 정상군보다는 약 56% ($P < 0.001$), 가수술군보다는 약 54% ($P < 0.001$)의 증가를 나타내었으며 총담관 대정맥문합 후 2일 경과시킨 군에서 microsome 분획의 AMT 활성도는 정상군보다는 약 63% ($P < 0.001$), 가수술군보다는 약 59% ($P < 0.01$)의 증가를 나타내었다. 담관폐쇄를 시킨 후 1일 및 2일 경과시킨 군에서 간의 mitochondria 분획의 AMT 활성도는 정상군보다는 각각 약 35% ($P < 0.05$) 및 약 42% ($P < 0.05$), 가수술군보다는 각각 약 37% ($P < 0.05$) 및 약 42% ($P < 0.05$)의 증가를 나타내었으며 간의 microsome 분획의 AMT 활성도는 정상군보다는 각각 약 104% ($P < 0.001$) 및 약 69% ($P < 0.05$), 가수술군보다는 각각 약 102% ($P < 0.001$) 및 약 66% ($P < 0.001$)의 증가를 나타내었다. 그리고 간 mitochondria와 microsome 분획의 AMT 활성도를 총담관 대정맥문합을 시킨 군과 담관폐쇄를 시킨 군간에 상호 비교했을 때는 담관폐쇄를 시킨 군에서의 AMT 활성도가 총담관 대정맥문합을 시킨 군의 AMT 활성도보다 약간 더 증가되었으나 양군 모두 날자 경과에 따른 변동은 없었다(Table 1).

간의 cytosol 분획에서 AMT의 활성도는 모든 실험군에서 별 다른 변동을 나타내지 않았다(Table 1).

2) 흰쥐에서 총담관 대정맥문합 및 담관폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입이 간의 AMT 활성도에 미치는 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를

Table 1. Effects of time and model of biliary retention on hepatic subcellular arylamine N-methyl-transferase activities in rats

Experimental groups	Arylamine N-methyltransferase activities (pmol N-methyltryptamine min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
Normal	1.30±0.30	2.48±0.41	2.04±0.32
Sham 1 day	1.29±0.27	2.46±0.46	2.06±0.30
Sham 2 days	1.31±0.28	2.48±0.48	2.08±0.34
CCS 1 day	1.33±0.27	2.88±0.52	3.18±0.38 ^{c,f}
CCS 2 days	1.30±0.31	3.11±0.56	3.32±0.45 ^{c,h}
BDO 1 day	1.37±0.34	3.36±0.65 ^{a,d}	4.16±0.61 ^{c,f,j}
BDO 2 days	1.28±0.25	3.51±0.62 ^{a,g}	3.45±0.46 ^{c,i}

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 choledoco-caval shunt; BDO 1 day or BDO 2 days, sacrificed on the 1st day or 2nd day after common bile duct ligation. CCS, choledoco-caval shunt; BDO, bile duct obstruction.

a = P<0.05 vs. Normal; c = P<0.001 vs. Normal; d = P<0.05 vs. Sham 1 day; f = P<0.001 vs. Sham 1 day; g = P<0.05 vs. Sham 2 days; h = P<0.01 vs. Sham 2 days; i = P<0.001 vs. Sham 2 days; j = P<0.05 vs. CCS 1 day.

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

Experimental groups	Arylamine N-methyltransferase activities (pmol N-methyltryptamine min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
CCS 1 day	1.33±0.27	2.88±0.52	3.18±0.38
CCS 1 day + TCA	1.37±0.34	3.45±0.55	3.81±0.43 ^j
CCS 1 day + TUDCA	1.28±0.25	2.72±0.47	2.94±0.35
CCS 2 days	1.30±0.31	3.11±0.56	3.32±0.45
CCS 2 days + TCA	1.35±0.29	3.88±0.49 ^m	4.10±0.52 ^m
CCS 2 days + TUDCA	1.25±0.23	2.96±0.43	3.06±0.41

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 μ moles/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.

주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 AMT 활성도와 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 분획의 AMT 활성도는 대조군인 총담관 대

정맥문합만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥문합 직후 TCA 를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 micro-

some 분획의 AMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군보다 각각 약 20% ($P<0.05$) 및 약 23% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었으며 mitochondria 분획에서 이 효소의 활성도는 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때만 대조군보다 약 25% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 그러나 간의 cytosol 분획에서는 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 이 효소의 활성도는 유의한 변동이 없었다. 또한 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때도 간의 3종 세포분획에서 이 효소의 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 2).

흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 2일 경과시켰을 때 간의 mitochondria 및 microsome 분획의 AMT 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 담관폐쇄 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때 간의 mitochondria 분획의 AMT 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군보다 약 28% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었으며 간 microsome 분획의 AMT 활성도는 대조군보다 약 40% ($P<0.01$)의 증가를 나타

내었다. 그러나 간의 cytosol 분획에서는 담관폐쇄 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 이 효소의 활성도는 별 변동이 없었다. 또한 담관폐쇄 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때도 간의 3종 세포분획에서 이 효소 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 3).

3) 흰쥐에서 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄 와 담즙 정체 시간이 혈청의 AMT 활성도에 미치는 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 통계학적으로 유의하게 증가하였다. 즉 총담관 대정맥문합 후 1일 경과시킨 군에서 혈청의 AMT 활성도는 정상군보다는 약 25% ($P<0.01$), 가수술군보다는 약 21% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었으며, 총담관 대정맥문합 후 2일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군 및 가수술군보다는 각각 약 37% ($P<0.001$) 및 약 34% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 그리고 담관폐쇄 후 1일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군보다는 49% ($P<0.001$), 가수술군보다는 약 45% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었으며 담관폐쇄

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

Experimental groups	Arylamine N-methyltransferase activities (pmol N-methyltryptamine min ⁻¹ mg protein ⁻¹)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
BDO 1 day	1.37±0.34	3.36±0.65	4.16±0.61
BDO 1 day + TCA	1.26±0.28	4.23±0.72	4.93±0.64
BDO 1 day + TUDCA	1.35±0.22	3.41±0.58	3.97±0.54
BDO 2 days	1.28±0.25	3.51±0.62	3.45±0.46
BDO 2 days + TCA	1.18±0.26	4.50±0.68 ^s	4.82±0.54 ^t
BDO 2 days + TUDCA	1.31±0.23	3.46±0.55	3.32±0.49

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.

^s = $P<0.05$ vs. BDO 2 days; ^t = $P<0.01$ vs. BDO 2 days.

후 2일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군 및 가수술군보다는 각각 약 48% ($P < 0.001$) 및 약 45% ($P < 0.001$)의 증가를 나타내었다(Table 4).

Table 4. Effects of time and model of biliary retention on serum arylamine N-methyltransferase activity in rats

Experimental groups	Arylamine N-methyltransferase activities (pmol N-methyltryptamine min ⁻¹ ml ⁻¹)
Normal	9.21 ± 0.83
Sham 1 day	9.49 ± 0.91
Sham 2 days	9.42 ± 0.86
CCS 1 day	11.53 ± 1.08 ^{b,d}
CCS 2 days	12.65 ± 1.27 ^{c,h}
BDO 1 day	13.72 ± 1.47 ^{c,f}
BDO 2 days	13.67 ± 1.41 ^{c,i}

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

b = $P < 0.01$ vs. Normal; c = $P < 0.001$ vs. Normal; d = $P < 0.05$ vs. Sham 1 day; f = $P < 0.001$ vs. Sham 1 day; h = $P < 0.01$ vs. Sham 2 days; i = $P < 0.001$ vs. Sham 2 days.

한편 혈청의 AMT 활성도를 총담관 대정맥문합을 시킨 군과 담관폐쇄를 시킨 군 간에 상호 비교했을 때는 담관폐쇄를 시킨 군이 총담관 대정맥문합을 시킨 군보다 이 효소의 활성도가 약간 더 증가하였다. 그러나 양 군 모두 날자 경과에 따른 변동은 없었다 (Table 4).

4) 흰쥐에서 총담관 대정맥문합 및 담관폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입이 혈청의 AMT 활성도에 미치는 영향

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군보다 각각 약 28% ($P < 0.01$) 및 약 25% ($P < 0.01$)의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 5).

흰쥐에 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1

Table 5. Effects of taurocholic acid (TCA), and tauroursoodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after choledocho-caval shunt (CCS) on serum arylamine N-methyltransferase activity in rats

Experimental groups	Arylamine N-methyltransferase activities (pmol N-methyltryptamine min ⁻¹ ml ⁻¹)
CCS 1 day	11.53 ± 1.08
CCS 1 day + TCA	14.72 ± 1.41 ^k
CCS 1 day + TUDCA	11.32 ± 1.14
CCS 2 days	12.65 ± 1.27
CCS 2 days + TCA	15.84 ± 1.55 ⁿ
CCS 2 days + TUDCA	12.81 ± 1.20

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

k = $P < 0.01$ vs. CCS 1 day; n = $P < 0.01$ vs. CCS 2 days.

Table 6. Effects of taurocholic acid (TCA), and tauroursoodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after bile duct obstruction (BDO) on serum arylamine N-methyltransferase activity in rats

Experimental groups	Arylamine N-methyltransferase activities (pmol N-methyltryptamine min ⁻¹ ml ⁻¹)
BDO 1 day	13.72 ± 1.47
BDO 1 day + TCA	17.46 ± 1.64 ^q
BDO 1 day + TUDCA	13.58 ± 1.53
BDO 2 days	13.67 ± 1.41
BDO 2 days + TCA	18.23 ± 1.71 ^t
BDO 2 days + TUDCA	13.50 ± 1.45

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

q = $P < 0.01$ vs. BDO 1 day; t = $P < 0.01$ vs. BDO 2 days.

일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 담관폐쇄 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군보다 각각 약 32% ($P<0.01$) 및 약 33% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 그러나 담관폐쇄 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 6).

5) 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄 후 2일 경과한 실험군에서 간 AMT의 K_m 치 및 V_{max} 치의 변동

수술 후 2일 경과시킨 모든 실험군에서 간의 AMT는 2종 기질 중 tryptamine hydrochloride에 대해서 K_m 치 및 V_{max} 치를 측정했을 때 K_m 치는 모두 변동이 없었다(Table 7, 8).

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 분획의 AMT의 V_{max} 치는 가수술만 시킨 군보다는 약 64% ($P<0.01$), 총담관 대정맥문합만 시킨 군보다는 약 33% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 후 2일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 AMT의 V_{max} 치는 가수술만 시킨

군보다는 약 65% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 AMT의 V_{max} 치는 가수술만 시킨 군보다는 약 115% ($P<0.001$), 총담관 대정맥문합만 시킨 군보다는 약 30% ($P<0.05$) 증가를 나타내었다. 그리고 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 AMT의 V_{max} 치는 가수술만 시킨 군보다는 약 33% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 대정맥문합을 시킨 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다(Table 7).

흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 후 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획의 AMT의 V_{max} 치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 51% ($P<0.05$) 및 약 67% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획의 AMT의 V_{max} 치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 105% ($P<0.001$) 및 약 146% ($P<0.001$), 담관폐쇄만 시킨 군보다는 각각 약 36% ($P<0.05$) 및 약 47% ($P<0.01$) 증가를 나타내었다. 그러나 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획의 이 효소의 V_{max} 치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 47% ($P<$

Table 7. Rat hepatic arylamine N-methyltransferase kinetic parameters from 2 days after choledocho-caval shunt (CCS 2 days) determined with tryptamine hydrochloride

Experimental groups	Mitochondria		Microsome	
	K_m (mM)	V_{max} (pmol N-methyltryptamine min^{-1} mg protein^{-1})	K_m	V_{max}
Sham 2 days	33.6 ± 4.1	5.9 ± 1.2	36.1 ± 3.4	5.2 ± 1.0
CCS 2 days	34.1 ± 4.7	7.3 ± 1.7	37.2 ± 3.9	8.6 ± 1.5^h
CCS 2 days + TCA	34.4 ± 5.1	$9.7 \pm 1.4^{h,m}$	37.7 ± 4.3	$11.2 \pm 1.7^{i,m}$
CCS 2 days + TUDCA	33.9 ± 4.6	7.3 ± 1.2	36.5 ± 3.7	8.1 ± 1.3^h

Michaelis-Menten constants for arylamine N-methyltransferase were determined using tryptamine hydrochloride, S-adenosyl-L-methionine iodide and [$\text{methyl-}^3\text{H}$] S-adenosyl-L-methionine at 37°C for mitochondrial and microsomal fractions of experimental rat livers at two days after CCS.

The data are expressed as mean \pm 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; $m = P < 0.05$ vs. CCS 2 days.

Table 8. Rat hepatic arylamine N-methyltransferase kinetic parameters from 2 days after bile duct obstruction (BDO 2 days) determined with tryptamine hydrochloride

Experimental groups	Mitochondria		Microsome	
	Km (mM)	Vmax (pmol N-methyltrypta- mine min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	Km	Vmax
Sham 2 days	33.6±4.1	5.9±1.2	36.1±3.4	5.2±1.0
BDO 2 days	32.4±3.6	8.9±1.9 ^g	36.8±3.8	8.7±1.4 ^h
BDO 2 days + TCA	34.6±4.8	12.1±2.2 ^{i,s}	38.1±4.7	12.8±1.8 ^{i,t}
BDO 2 days + TUDCA	33.8±4.4	8.7±1.6 ^g	37.5±4.2	8.3±1.6 ^h

Michaelis-Menten constants for arylamine N-methyltransferase were determined using tryptamine hydrochloride, S-adenosyl-L-methionine iodide and [methyl-³H] S-adenosyl-L-methionine at 37°C for mitochondrial 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.

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. BDO 2 days; t = P<0.01 vs. BDO 2 days.

0.05) 및 약 60% (P<0.01)의 증가를 나타내었으나 담관폐쇄만 시킨 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다(Table 8).

고 칠

간은 생체 내 장기들 중 어느 장기보다도 그 생화학적 기능이 다양하고 활발하다. 간은 흡수된 영양소나 약물을 포함한 생체이물들이 반드시 거치는 기관으로 이를 물질을 이곳에서 대사시켜 그 대사물을 배설시키거나 간의 조직에 재분배해 주는 역할을 하며 다른 여러 장기들의 대사기능과 연계하여 이를 총괄하는 기능을 가진다. 또한 간은 그 고유의 기능으로 albumin을 비롯한 여러 단백질을 생합성하여 보급해 주고 아울러 생체 활성 물질들을 생성하고 처리하는 기능을 가질 뿐만 아니라 왕성한 재생 기능도 가진다. 이러한 간의 기능들 중 특히 생체이물 생체 변환 기능의 한 부분인 해독 기능은 생명 현상 유지에 필수적인 기능이다.

담즙울체로 간이 손상을 받으면 간의 AMT 활성도가 증가되는 것(22)으로 알려져 있다. 따라서 담즙울체간의 세포분획에서 이를 효소의 활성도 변동 기전을 파악해 봄으로써 담즙울체간에서의 생체이물

생체 변환에 대한 새로운 지견을 얻을 수 있을 것으로 생각되며 또한 담즙울체로 간 손상이 야기되는 간담도 질환에 대한 생화학적 배경 특히 간의 해독 기능의 일단이 밝혀질 것으로 생각된다.

담즙울체가 수반되는 간담도 질환에서 간세포는 기능장애(1,2)를 받을 뿐만 아니라 담즙울체의 시간이 경과함에 따라 간 조직은 피사, 지방변성, 담도증식, 섬유화, 경화성 변화 등 형태학적인 변화가 연속적으로 나타난다.(3)

흰쥐의 담즙울체간에서 조직 소견을 관찰한 Kountouras 등,(28) 장등(29) 및 김등(30)의 보고를 보면 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 12시간이 경과했을 때는 많은 간세포들이 피사 현상을 나타내었으며 동시에 담도 세포도 증식되기 시작한다고 하였다. 그리고 1일 후에는 간의 전 부위에 피사현상이 확산되고 피사 부위는 염증 세포의 침윤이 보인다고 하였으며 이후 2주경에는 피사현상이 약간 감소되는 반면에 담도세포의 증식이 증가되고 섬유화가 시작된다고 하였다. 그리고 이후 6주부터는 초기의 경화성 변화가 나타난다고 하였다.

간에 담즙울체가 야기되어 간이 손상을 받으면 간 세포에서 합성되고, 간세포 외로 유리되는 효소들은 간 조직과 혈중에서 그 활성도의 변동이 심하게 나

타난다는 사실은 잘 알려져 있다. 실험적으로 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체를 야기시키면 간에서 그 활성도가 변동되는 효소들은 많으며 그 중에서도 특히 생체이물 생체 변환 효소들이 많다. 이들 중 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 cytosolic xanthine oxidase,(31) microsomal ethanol oxidizing system,(16) cytosolic glyoxalase I,(32) cytosolic aryl sulfotransferase,(33) cytosolic 및 microsomal aldehyde dehydrogenase,(16) microsomal 및 mitochondrial benzoyltransferase, microsomal 및 mitochondrial phenylacetyltransferase,(12) microsomal 및 mitochondrial AMT, microsomal 및 mitochondrial thiol methyltransferase(22)이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소들은 microsomal 및 mitochondrial aryl sulfotransferase, microsomal UDP-glucuronosyltransferase, cytosolic, microsomal 및 mitochondrial rhodanese,(33, 34) microsomal glutathione S-transferase, cytosolic glutathione peroxidase,(35) microsomal 및 mitochondrial monoamine oxidase,(17,36) cytosolic, microsomal 및 mitochondrial catethol-O-methyltransferase,(36) cytosolic catalase, cytosolic alcohol dehydrogenase,(16) cytosolic, microsomal 및 mitochondrial arylesterase, cytosolic, microsomal 및 mitochondrial carboxylesterase, microsomal 및 mitochondrial cholinesterase(15) 등으로 알려져 있다. 그러나 담즙울체간에서 이들 생체이물 생체 변환 효소의 활성도 증감기전에 대해서는 현재까지 어느 정도 밝혀져 있는 것은 arylesterase, carboxylesterase,(7,8) cholinesterase,(7) monoamine oxidase, catethol-O-methyltransferase,(10) alcohol dehydrogenase, catalase, microsomal ethanol oxidizing system, aldehyde dehydrogenase,(11) benzoyltransferase, phenylacetyltransferase(18) 등이다.

이 연구에서는 생체이물 생체 변환 효소인 AMT의 활성도가 담즙울체간에서 왜 증가되었는지 그 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행한 것이다. 주(22)의 보고에 의하면 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 담즙울체간에서 mitochondrial AMT의 활성도는 총담관 결찰 후 1일, 2일, 3일 및 7일에 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다고 하였고 microsomal AMT의 활성도는 총담관 결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일, 14일 및 28일에 유의한 증가를 나타내었다고 하였으며 cytosol 분획에서는 별 변동이 없었다고 하였다. 이

와 같은 AMT는 흰쥐 담즙울체간의 mitochondria와 microsome 분획에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소라고 하였으며 그 증가 기전에 대해서는 효소단백질 합성의 증가에 의한 것 같다고만 추론하고 있다. 그리고 주(22)는 담즙울체 시 혈청에서 AMT의 활성도가 증가된 것은 담즙울체간에서 나타나는 괴사와 아울러 간세포막의 투과성 항진이 이 효소의 활성도 증가와 관계가 있다고 하였으며 또한 담즙울체간에서 AMT의 활성도 증가는 담즙울체간에서 나타나는 담도세포의 증식과 유관하다고 하였다. 그러나 어떤 물질이 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도를 증가시키는데 기여하였는지는 분명하게 설명하고 있지 않다.

이 실험에서도 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도가 증가됨을 확인하였다. 이 연구에서 규명하고자 하는 것은 이들 효소 활성도가 담즙울체간에서 어떤 물질의 매개에 의해 증가되었는가 하는 것이다. 이를 규명하기 위해 채택한 주요 동물모델은 4가지인데 Ogawa등(4) 및 한과 김(7)의 방법에 의하였다.

즉 첫째, 모델은 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담관을 폐쇄시킨 모델이고, 둘째, 모델은 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 모델이다. 이 두 모델은 시간이 경과될수록 간내 담즙산의 농도가 점차 증가되는 점은 같으나 다른 점은 시간이 경과될수록 총담관결찰로 담관을 폐쇄시킨 모델이 총담관 대정맥문합을 시킨 모델보다 그 증가의 속도가 빠르다는 것이다.(4,37) 셋째, 모델은 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 상대정맥 내에 다량 주입하여 간 내에 담즙울체를 심화시킨 모델이며 넷째 모델은 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 TCA를 상대정맥 내에 다량 주입하여 간 내에 담즙울체를 더욱 심화시킨 모델이다. 따라서 이 4가지 모델을 사용함으로써 시간 경과에 따른 간 내의 담즙산 농도 증가의 효과를 상호 비교할 수 있으며 아울러 총담관을 결찰하여 총담관을 폐쇄시킨 직후 TCA를 상대정맥 내에 주입한 모델과 총담관 대정맥문합 직후 TCA를 상대정맥 내에 주입한 모델로는 간 내 TCA의 고부하에 따른 TCA의 효과를 알아 볼 수가 있는 것이다.(4,7)

이 연구에서 또 하나 규명해야 할 점은 부하시키는 담즙산의 종류가 다르면 이들 효소 활성도에 미치는 효과도 달라지는가 하는 것이다. 그래서 담즙

울체간에서 활성도가 감소되는 arylesterase와 carboxylesterase의 합성에 영향을 주지 않는다는 TUDCA(7,8)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 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 AMT 활성도는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그리고 흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 후 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획의 AMT 활성도는 유의한 증가를 나타내었다. 한편 이 실험에서 간 mitochondria 및 microsome 분획의 AMT 활성도는 총담관 대정맥문합을 시킨 군보다 담관폐쇄를 시킨 군에서 약간 더 증가되었다.

이 결과로 보아 간의 AMT는 간의 담즙울체의 정도가 경한 조건인 총담관 대정맥문합(4)을 시켰을 때도 그 활성도가 증가되는 것을 알 수 있었다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 microsome 분획의 AMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 간 mitochondria 분획에서의 AMT 활성도는 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시켜 2일 경과시켰을 때만 유의한 증가를 나타내었다. 그리고 흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획에서 AMT 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 한편 이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획의 AMT의 V_{max}치는 각각의 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이 실험에서 측정한 tryptamine hydrochloride에 대한 AMT의 K_m치는 모든 실험군의 간세포 분획들에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

이 결과로 보아 TCA는 간의 AMT 합성을 유도한다고 추정할 수 있으며 특히 TCA를 주입한 실험군들에서 이 효소의 K_m치는 변동이 없으면서 V_{max}치가 증가된 것은 위의 추론을 한층 더 뒷받침 해주는 결과라고 생각한다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획에서 이 효소의 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 이 결과로 볼 때 TUDCA는 간 AMT의 합성을 유도하지는 않는다고 추정할 수 있다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이때 이들 실험군의 간 cytosol 분획에서는 이 효소의 활성도 변동은 없었다. 이 실험에서 혈청의 AMT 활성도를 총담관 대정맥문합을 시킨 군과 담관폐쇄를 시킨 군 간에서 상호 비교했을 때는 담관폐쇄를 시킨 군이 총담관 대정맥문합을 시킨 군보다 이 효소의 활성도가 약간 더 증가하였다. 그리고 이 실험에서 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이들 실험군의 간 cytosol 분획에서 이 효소의 활성도는 변동이 없었다. 즉 간 cytosol 분획의 AMT 활성도가 증가하지 않으면서 총담관 대정맥문합이나 담관폐쇄로 간에 담즙울체를 야기시키거나 총담관 대정맥문합 직후 또는 담관폐쇄 직후 TCA를 고부하시켰을 때 혈청 AMT의 활성도가 유의하게 증가되었다. 이 결과와 TCA 주입에 의해 간에 피사가 유발된다는 보고(38-40)를 볼 때 담즙울체 시 혈중에서 이 효소의 활성도가 증가된 것은 담즙울체간의 세포질에 있던 이 효소가 TCA에 의한 간의 피사로 간 세포막의 투과성이 항진되어 나타난 결과로 생각된다.

이 실험에서 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 AMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 이 결과로 볼 때 TUDCA는 간세포의 투과성에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

이상 문헌상의 지견과 이 실험 결과를 볼 때 담즙울체간에서 AMT의 활성도 증가는 담즙산 중 특히 TCA에 의해 이 효소의 합성이 유도되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙울체 시 이 효소의 혈청 중 활성도 증가는 TCA에 의한 간의 피사로 간세포막의 투과성이 항진되어 이 효소가 간에서 혈중으로

다양 유출되어 나타난 결과로 생각된다.

결 롬

이 연구는 담즙울체간에서 활성도가 증가되는 AMT의 활성도 증가 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였으며 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA 또는 TUDCA를 정맥 내에 주입시킨 다음 경시적으로 AMT의 활성도를 측정하여 이 효소에 대한 이 담즙산의 효과를 알아 보았다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청 및 간 microsome 분획의 AMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 간 mitochondria 분획에서의 AMT 활성도는 흰쥐에게 총담관 대정맥문합을 시켜 2일 경과시켰을 때만 유의한 증가를 나타내었다. 흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청에서, 그리고 흰쥐에게 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시킨 직후 TCA를 주입시켜 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획에서의 AMT 활성도는 대조군인 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 cytosol 분획에서의 AMT 활성도와 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청과 간 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획에서의 AMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다.

흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때 간 mitochondria 및 microsome 분획의 AMT의 Vmax치는 대조군인 총담관 대정맥문합만 시킨 군 또는 담관폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 흰쥐에게 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 AMT의 Vmax치는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 또한 이 실험에서 측정한 tryptamine hydrochloride에 대한 AMT의 Km치는 모든 실험군의 간

세포분획에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

이상의 결과로 보아 담즙울체간에서 AMT의 활성도 증가는 담즙산들 중 특히 TCA에 의해 이 효소의 합성이 유도되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙울체 시 이 효소의 혈청 중 활성도 증가는 TCA에 의한 간의 괴사로 간 세포막의 투과성이 항진되어 이 효소가 간에서 혈중으로 다양 유출되어 나타난 결과로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Halsted JA. The Laboratory in Clinical Medicine. Interpretation and Application. London: Saunders; 1976.
- 2) Sherlock S, Dooley J. Diseases of the Liver and Biliary System. Cambridge: Blackwell Scientific Publications; 1993.
- 3) MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC. Pathology of the Liver. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1994.
- 4) 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;62:87-95.
- 5) 김성국. 담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 5'-Nucleotidase 및 γ -Glutamyl Transpeptidase의 유도. 계명대학교 대학원 박사학위논문 1996. p.1-49.
- 6) 김성국, 김여희. 담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 γ -Glutamyl Transpeptidase의 유도. 대한간학회지 1997; 3:210-226.
- 7) 한병훈, 김여희. 흰쥐 간의 Arylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. 대한간학회지 1997;3: 154-169.
- 8) 한병훈, 김여희. 흰쥐 간의 Carboxylesterase 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. 계명의대논문집 1998; 17:487-503.
- 9) 박소경, 곽춘식. 담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 Cholinesterase의 합성 억제. 계명의대논문집 1999;18:204-217.
- 10) 도준영. Taurocholate부하에 의한 흰쥐 간의 MAO A 및 B와 COMT의 합성 억제. 계명대학교 대학원 박사학위논문 1998. p.1-51.
- 11) 신미정. 흰쥐 간의 알콜대사효소 활성에 미치는 고부하 Taurocholate의 영향. 계명대학교 대학원 박사학위논문 1998. p.1-50.
- 12) Kim YJ, Kim YH. Benzoyltransferase and phenylacetyltransferase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. J Biochem Mol

- Biol 1999;32:67-71.
- 13) 곽춘식, 장억규. 흰쥐 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase 와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의 대논문집 1985;4:1-27.
 - 14) 곽춘식, 김여희, 문교철. 흰쥐 담즙울체간의 Plasma Membrane, Mitochondria 및 Microsome의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987;6:67-76.
 - 15) 곽춘식, 이숙형. 흰쥐 담즙울체간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Choline-sterase의 활성도. 한국생화학회지 1992;25:251-261.
 - 16) 곽춘식, 김여희, 문교철. 흰쥐 담즙울체간에서의 일콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 1988;7:64-75.
 - 17) 문교철, 곽춘식. 흰쥐 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1989;8:69-77.
 - 18) 김일경. 담즙산 부하에 의한 흰쥐 간의 Benzoyltransferase 및 Phenylacetyl-transferase의 유도. 계명대학교 대학원 박사학위논문 1998. p.1-39.
 - 19) Kim BK. Enzyme Nomenclature, IUB. New York: Academic Press; 1984.
 - 20) Lyon ES, Jakoby WB. Arylamine N-methyltransferase. Methylation of the indole ring. J Biol Chem 1982; 257:7531-7535.
 - 21) deBethizy JD, Hayes JR. Metabolism: A determinant of toxicity. In: Hayes AW, editor. Principles and Methods of Toxicology. 3rd ed. New York: Raven Press; 1994. p.59-100.
 - 22) 주 일. 흰쥐 재생간과 담즙울체간에서의 Arylamine N-methyltransferase 및 Thiol methyltransferase의 활성도. 계명대학교 대학원 박사학위논문 1998. p. 1-42.
 - 23) 곽춘식, 곽정식. 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986;5:45-53.
 - 24) Jakoby WB. Method in Enzymology. Vol. 77, New York: Academic Press; 1981.
 - 25) Segel IH. Biochemical Calculations. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons; 1976.
 - 26) Colowick SP, Kaplan NO. Method in Enzymology. Vol. 4. New York: Academic Press; 1957.
 - 27) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum protein by means of biuret reaction. J Biol Chem 1949;177:751-766.
 - 28) 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: 305-311.
 - 29) 장대성, 곽정식, 손태중. 총담관 결찰에 의한 담관증식 성 변화의 초미형태학적 연구. 경북의대잡지 1987;28: 113-122.
 - 30) 김효석, 박재웅, 김은영, 곽규식, 최용환, 정준모. 총담관 결찰시 간세포의 초미형태학적 변화. 대한내과학회잡지 1989;36:459-470.
 - 31) 곽춘식. 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1985;4:125-130.
 - 32) 변용준, 김여희, 곽춘식. 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간 및 혈청의 Glyoxalase I 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1995;14:330-339.
 - 33) Ihm JS, Kim YH, Kwak CS. Aryl sulfotransferase activity in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. Korean J Biochem 1995;27:141-147.
 - 34) Ihm JS, Kim YH. Thiosulfate sulfurtransferase and UDP-glucuranosyl- transferase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. Exp Mol Med 1997;29:197-201.
 - 35) 권용철, 문교철, 곽춘식. 흰쥐 담즙울체간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성도. 계명의대논문집 1990;9:159-170.
 - 36) Mun KC. Catechol-O-methyltransferase activity in cholestatic rat's liver induced by bile duct ligation. J Biochem Mol Biol 1996;29:142-145.
 - 37) Toyota N, Miyai K, Hardison WG. Effect of biliary pressure versus high bile acid flux on the permeability of hepatocellular tight junction. Lab Invest 1984; 50:536-542.
 - 38) Palmer RH. Bile acids, liver injury, and liver disease. Arch Intern Med 1972;130:606-617.
 - 39) Drew R, Priestly BG. Choleretic and cholestatic effects of infused bile salts in the rat. Experimentia 1979;35:809-811.
 - 40) Kitani K, Kanai S, Obta M, Sato Y. Differing transport maxima values for taurine-conjugated bile salts in rats and hamsters. Am J Physiol 1986;251:G852-G858.