

흰쥐 재생간과 담즙울체간에서의 Arylamine Acetyltransferase의 활성도

고신대학교 의과대학 일반의과학교실 및 ¹계명대학교 의과대학 생화학교실

이 병 육 · 곽 춘 식¹

= Abstract =

Arylamine Acetyltransferase Activity from a Regenerating Liver after Partial Hepatectomy and from a Cholestatic Liver after Common Bile Duct Ligation in Rats

Byung Wook Rhee, M.D. and Chun Sik Kwak, Ph.D.¹

Department of General Surgery, Kosin University College of Medicine, and

¹Department of Biochemistry, Keimyung University School of Medicine

A study was made of the change in arylamine acetyltransferase(AAT) activity in regenerating and/or cholestatic rat livers.

Cytosolic, mitochondrial and microsomal AAT activities were determined over a period of 10 days in rat livers which were regenerating after 70%(median and left lateral lobes) partial hepatectomy and over a period of 42 days in rat livers with cholestasis induced by a common bile duct ligation. The values of Km and Vmax in these hepatic enzymes were measured. Both the cytosolic and the microsomal AAT activities in the regenerating rat livers showed significant increases from the first day to the third day after the partial hepatectomy. However, the mitochondrial AAT activity did not change. The cytosolic and the microsomal AAT activities in the cholestatic rat livers showed a significant increase on the first day and from the first day to the second day, respectively after the ligation; Both the cytosolic and the microsomal AAT activities showed significant decreases from the fourteenth day to the forty-second day after the ligation. However, the mitochondrial AAT activity did not change. The Vmax values of both the cytosolic and the microsomal AAT activity in the regenerating and/or cholestatic rat livers showed significant increases on the first day after the partial hepatectomy and/or the ligation. However, the Vmax values of both the cytosolic and the microsomal AAT activities in the cholestatic rat livers showed significant decreases on the twenty-eighth day after the ligation. On the other hand, the Km values of the above enzymes did not change. In view of the above results, the AAT activity in the regenerating rat liver appears to be due to the enzyme increasing its biosynthesis in the regenerating stage. The AAT activity in the cholestatic rat liver suggests that the enzymes is increasing its biosynthesis in the severe necrotizing stage, but decreasing its biosynthesis severe hepatic dysfunction stage.

Key Words: Arylamine acetyltransferase, Cholestatic rat liver, Regenerating rat liver

서 론

Arylamine acetyltransferase(acetyl-CoA: arylamine N-acetyltransferase, EC 2.3.1.5)는 제 2상 생체이물 생체 변화(phase II xenobiotic biotransformation) 효소의 일종^{31,43,48,49)}으로서 *p*-aminobenzoic acid, sulfamerazine,^{49,50)} benzidine,^{24,49)} sulfapyridine,^{40,49)} isoniazid,^{40,43,49,50)} histamine, hydralazine,^{45,49)} *p*-aminoantipyrine, aminofluorene, aminophenol, *p*-aminosalicylic acid, aniline, dapson, furfurylamide, methylene bis-*o*-chloroaniline, α -naphthylamine, β -naphthylamine, *p*-phenetidin, phenelzine, procainamide, serotonin, sulfadiazine, sulfamerazine, sulfanilamide 및 tryptamine⁴⁹⁾ 등 생체이물의 arylamino기, aliphatic amino기, α -amino기, hydroxino기, sulfonamido기 등에 acetyl-CoA의 acetyl기를 전이시켜 이들을 아세틸화시키는 반응을 촉매하는 효소이다.⁴⁹⁾ 이 효소는 포유동물의 장과 간에 많은 양 분포되어 있으며^{27,29,37,39,44)} 세포내의 주된 국재소는 세포질인 것^{26,27)}으로 알려져 있다.

간에 손상이 야기되면 간은 손상을 수복하기 위해 재생이 활발해짐이^{36,46)} 알려져 있으나 아직도 간의 재생에 대한 생화학적 지견은 분명치 않은 점이 많다. 한편 담즙울체가 수반되는 간담도 질환시에는 간세포가 기능장애를 받을 뿐만 아니라 심한 형태학적 변화도 초래된다.^{28,35,42)} 그러나 담즙울체간에 대한 생화학적 지견은 확실치 않은 것이 많으며 이를 해결하려는 노력은 현재도 계속되고 있다. 간 재생이 왕성한 시기의 재생간과 담즙울체간에서는 대사를 조절하기 위해 여러 효소들의 활성도가 변동되는 것으로 알려져 있으며, 특히 재생간과 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들 중에서는 생체이물 생체 변화 효소들의 활성도가 변동이 심하다^{1,3~5,7~10,12~18,33,38)}고 한다. Arylamine acetyltransferase(이하 AAT라 함)도 생체이물 생체 변화 효소이며 간에서 주로 합성되는 효소인 만큼 재생간과 담즙울체간에서는 그 활성도의 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 보고는 찾아볼 수 없었다. 따라서 재생간과 담즙울체간에서 이 효소의 활성도 변동을 알아봄으로써 간담도 질환시 간에서의 생체이물 생체 변화 기능의 일단을 파악할 수 있을 것으로 생각된다.

이 연구는 재생간과 담즙울체간에서 AAT의 활성도 변동과 그 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행한 연구로써 흰쥐간의 중엽과 좌측외엽을 절제한 후 12시간부터 10일까지, 그리고 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 12시간부터 42일까지의 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획에서 이 효소의 활성도를 측정하였으며 아울러 흰쥐의 간엽을 절제한 후 1일의 쥐간과 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 1일과 28일의 쥐간에서 이 효소의 Km치 및 Vmax도 함께 측정하여 이를 성적을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1) 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~350 g이 되는 Sprague-Dawley 종의 숫흰쥐를 사용하였으며 한군을 5마리씩으로 하여 다음과 같이 22군으로 나누었다.

- (1) 가수술군: 가수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 7일, 14일, 28일 및 42일에 회생시킨 군(총 8군)
- (2) 간엽 절제 수술군: 간엽 절제술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 회생시킨 군(총 6군)
- (3) 총담관 결찰군: 총담관 결찰 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 7일, 14일, 28일 및 42일에 회생시킨 군(총 8군)

총담관 결찰군에서는 담관 결찰 후 14일까지 죽은 예가 없었으나 그 후부터는 약 50%가 죽었다. 그래서 28일 및 42일군은 총담관 결찰 후 28일 및 42일까지 생존한 흰쥐 5마리씩을 사용하였다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험동물 사료를 먹도록 하였다.

간엽 절제 수술, 총담관 결찰 수술 및 가수술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 실시하였다.

흰쥐 간엽 절제 수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2 cm 절개하여 간의 중엽과 좌측 외엽을 복강 밖으로 압출하고 인접 조직 사이의 인대를 절단한 후 간엽의 기저 부위를 결찰한 뒤 간엽을 절제하였다. 절제한 간엽은 전체간의 약 70%가 되며 이것을 원래간(original liver)이라 부르기로 하였다.

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

2) 시 악

Acetyl-coenzyme A trisodium, *p*-aminobenzoic acid, N-(1-naphthyl) ethylene diamine dihydrochloride, trichloroacetic acid, sodium nitrite, ammonium sulfamate, potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic 및 단백질 표준액(10 g/100 ml bovine albumin) 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며 그 외 일반 시약은 시판되는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

3) 간적출 및 세포분획

모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 문맥에 삼관한 후 4°C의 0.25 M sucrose액으로 판류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 또한 절제한 원래간도 4°C의 0.25 M sucrose액으로 잘 씻어서 간에 남아 있던 혈액을 가능한 한 모두 제거하였다. 그리고 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다.

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 Teflon glass homogenizer (Thomas사, chamber clearance 0.005~0.007 inches)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10%(w/v)의 간조직 균질액을 만들었다. 이 간균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법²⁾으로 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 분리하였다.

이 세포분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall 사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 이때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient용액의 제조는 gradient former(ISCO

model 570)를 사용하였다.

4) AAT활성도 측정용 효소시료 조제

Cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 이 효소시료의 조제는 이들 분획을 단백질량으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose액으로 희석하여 사용하였다.

5) 효소 활성도 측정

간세포 분획들의 AAT 활성도 측정은 시료와 함께 acetyl-coenzyme A와 *p*-aminobenzoic acid를 기질로 사용하여 37°C에서 30분간 반응시키는 동안에 감소된 *p*-aminobenzoic acid를 diazo 반응을 시킨 후 비색정량하여 효소의 활성도를 산출하는 Weber 및 King³⁰⁾법에 의하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 coenzyme A를 pmol로 나타내었다.

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

6) Km치 및 Vmax치의 측정

간엽절제술 후 2일 경과, 또는 가수술이나 총담관 결찰술 후 1일 및 28일 경과한 흰쥐 간의 cytosol 및 microsome 분획 효소시료들과 AAT 기질의 원액과 희석액들을 사용하여 AAT의 활성도를 측정한 후 이들 성적으로부터 1/[S]치를, 그리고 기질농도로부터 1/[S]치를 계산하여 이중역수도(double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출⁴¹⁾하였다.

7) 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg 및 Rothstein²³⁾법으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법²⁵⁾으로 정량하였다.

8) 성적 검정

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

성 적

1) 흰쥐 간 세포분획에서 AAT의 국재소

쥐간 세포분획에서 AAT의 국재소는 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획이었고 이중 AAT활성도가 가장 높은 분획은 microsome 분획이었으며 가장 활성도가 낮은 분획은 mitochondria 분획이었다(Table 1).

2) 흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 AAT의 활성도 변동

간엽 절제 후 재생간의 cytosolic 및 microsomal

AAT 활성도는 간엽 절제 후 1일, 2일 및 3일에 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 mitochondrial AAT 활성도는 실험 전기간 동안 별 변동을 나타내지 않았다(Table 1).

3) 간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간에서 AAT의 Km치 및 Vmax치의 변동

간엽 절제 후 1일의 재생간에서 cytosolic 및 microsomal AAT의 Km치는 별 변동을 나타내지 않았다. 그러나 이들 분획에서 이 효소의 Vmax치는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다(Table 2).

Table 1. Activities of cytosolic, mitochondrial, and microsomal arylamine acetyltransferase in regenerating rat liver after partial hepatectomy

Post hepatectomy days	Arylamine acetyltransferase activities (pmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)					
	Cytosol		Mitochondria		Microsome	
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.5	34.3 ± 5.76	38.0 ± 6.64	12.3 ± 6.07	12.5 ± 6.67	38.3 ± 6.40	39.8 ± 6.86
1	35.4 ± 7.00	58.1 ± 7.87*	12.5 ± 6.56	14.6 ± 7.41	38.1 ± 7.39	50.1 ± 7.94*
2	35.6 ± 6.20	54.1 ± 8.42**	12.6 ± 6.86	17.3 ± 7.17	37.4 ± 7.08	54.6 ± 7.61**
3	34.5 ± 5.48	49.9 ± 7.87**	11.7 ± 6.64	13.4 ± 6.51	36.7 ± 7.17	48.8 ± 7.44*
6	34.9 ± 5.21	41.5 ± 7.13	12.2 ± 6.18	13.0 ± 6.43	37.1 ± 6.31	38.1 ± 6.42
10	34.7 ± 5.46	38.1 ± 6.40	12.4 ± 5.11	11.7 ± 5.61	37.4 ± 6.18	35.6 ± 6.05

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Significant difference from original livers(*; P < 0.05, **; P < 0.01).

Table 2. Arylamine acetyltransferase kinetic parameters from regenerating rat liver determined with acetyl-CoA

Cell fractions	Km (mM)		Vmax (pmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
Cytosol	8.3 ± 1.38	8.4 ± 1.33	49.9 ± 9.37	78.7 ± 11.26**
Microsome	7.8 ± 1.47	8.1 ± 1.38	55.6 ± 9.04	75.9 ± 10.75*

Michaelis-Menten constants for arylamine acetyltransferase were determined using acetyl-CoA and p-aminobenzoic acid at 37°C for cytosolic and microsomal fractions of original male rat livers(original liver) and of regenerating male rat livers at the 1st day after partial hepatectomy.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Significant difference from original livers(*; P < 0.05, **; P < 0.01).

4) 환위에서 총담관 결찰 후 담즙을체간의 AAT의 활성도 변동

총담관을 결찰한 후 담즙을체간의 cytosolic AAT 활성도는 총담관 결찰 후 1일에는 유의한 증가를

나타내었으나 총담관 결찰 후 14일, 28일 및 42일에는 유의한 감소를 나타내었다. 담즙을체간의 microsomal AAT도 cytosolic AAT와 같은 경향으로 총담관 결찰 후 1일과 2일에는 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 14일, 28일 및 42일에는 유의

Table 3. Activities of cytosolic, mitochondrial, and microsomal arylamine acetyltransferase in cholestatic rat liver after common bile duct ligation

Days following ligation	Arylamine acetyltransferase activities (pmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)					
	Cytosol		Mitochondria		Microsome	
	Liver of sham	Cholestatic liver	Liver of sham	Cholestatic liver	Liver of sham	Cholestatic liver
0.5	34.7 ± 5.76	36.7 ± 6.01	12.3 ± 6.20	12.7 ± 6.51	37.8 ± 6.22	45.1 ± 7.74
1	35.8 ± 6.95	47.9 ± 7.15*	12.5 ± 6.86	13.6 ± 7.13	38.3 ± 7.63	62.0 ± 8.44**
2	35.4 ± 6.24	41.3 ± 9.50	12.5 ± 6.69	14.1 ± 6.93	37.6 ± 7.28	53.7 ± 7.76**
3	34.3 ± 5.56	38.3 ± 8.44	11.4 ± 6.42	13.0 ± 6.73	36.9 ± 6.95	46.0 ± 7.17
7	33.7 ± 5.41	27.2 ± 8.09	11.0 ± 6.12	12.5 ± 6.38	35.8 ± 6.45	33.9 ± 5.98
14	33.4 ± 5.70	17.1 ± 6.29**	10.3 ± 4.93	11.6 ± 5.32	35.2 ± 6.03	19.1 ± 5.17**
28	32.3 ± 5.96	14.5 ± 5.01***	10.5 ± 4.77	9.2 ± 3.12	34.3 ± 5.85	14.9 ± 5.76***
42	32.5 ± 5.45	12.6 ± 5.32***	10.3 ± 4.71	7.5 ± 3.63	33.9 ± 5.76	13.6 ± 6.18***

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Liver of sham: Sham operated rat livers. Significant difference from sham operated rat livers(*; P < 0.05, **; P < 0.01, ***; P < 0.001).

Table 4. Arylamine acetyltransferase kinetic parameters from cholestatic rat liver determined with acetyl-CoA

Cell fractions	Km (mM)		Vmax (pmol coenzyme A min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	
	Liver of sham	Cholestatic liver	Liver of sham	Cholestatic liver
1st day after common bile duct ligation				
Cytosol	8.1 ± 1.34	8.3 ± 1.43	50.8 ± 9.52	71.9 ± 11.92*
Microsome	7.8 ± 1.37	8.0 ± 1.30	54.8 ± 9.99	84.9 ± 13.00**
28th day after common bile duct ligation				
Cytosol	8.2 ± 1.41	8.4 ± 1.45	50.1 ± 9.22	22.6 ± 5.10***
Microsome	7.9 ± 1.52	8.2 ± 1.46	55.0 ± 9.33	26.2 ± 4.77***

Michaelis-Menten constants for arylamine acetyltransferase were determined using acetyl-CoA and *p*-aminobenzoic acid at 37°C for cytosolic and microsomal fractions of sham operated male rat livers(Liver of sham) and of cholestatic male rat livers at the 1st day and/or 28th day after common bile duct ligation.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Significant difference from sham operated rat livers(*; P < 0.05, **; P < 0.01, ***; P < 0.001).

한 감소를 나타내었다. 그러나 mitochondrial AAT 활성도는 실험전기간 동안 별 변동을 나타내지 않았다(Table 3).

5) 총담관 결찰 후 1일 및 28일의 흰쥐 담즙을 체간에서 AAT의 Km치 및 Vmax치의 변동

총담관 결찰 후 1일 및 28일의 담즙율체간에서 cytosolic 및 microsomal AAT의 Km치는 별 변동을 나타내지 않았다. 그러나 이들 분획에서 이 효소의 Vmax치는 총담관 결찰 후 1일에는 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 28일에는 유의한 감소를 나타내었다(Table 4).

고 찰

흰쥐 간에서 간 무게의 70%에 달하는 중엽과 좌측 외엽을 절제하면 남은 간엽은 급격히 재생되어 비대해지며^{21,34,47)} 이때 간조직은 재생을 위해 혼산과 단백 합성이 활발해진다.^{6,21,22,34)} 이와 같은 재생간에서는 간재생이 활발한 시기에 활성도가 변동되는 생체이물 생체 변환 효소들은 많으며 그 중에서도 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 monoamine oxidase,¹⁵⁾ alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, microsomal ethanol oxidizing system,⁹⁾ glyoxalase I^{16,38)} 및 aryl sulfotransferase¹⁷⁾이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소들은 glutathione S-transferase, glutathione peroxidase,⁴⁾ xanthine oxidase, superoxide dismutase,⁸⁾ catalase,³³⁾ cholinesterase,¹⁴⁾ arylesterase, carboxylesterase¹²⁾ 및 rhodanese¹⁰⁾ 등을 들 수 있다.

간의 배설기능에 장애가 오면 간에는 담즙율체가 야기되며⁴²⁾ 이때 담즙율체간에서는 활성도가 변동되는 생체이물 생체 변환 효소들이 많다. 즉 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 xanthine oxidase,¹¹⁾ microsomal ethanol oxidizing system,³⁾ cytosolic aryl sulfotransferase,¹⁸⁾ aldehyde dehydrogenase³⁾이며 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소들은 microsomal 및 mitochondrial aryl sulfotran-sferase, UDP-glucuronosyltransferase, rhodanese,¹⁸⁾ glutathione S-transferase, glutathione peroxidase,⁷⁾ monoamine oxidase,¹³⁾ catalase, alcohol dehydrogenase,³⁾ arylesterase, carboxylesterase 및 cholinesterase⁹⁾ 등이다.

이와 같이 간세포에 분포하는 생체이물 생체 변환 효소들은 간의 재생이 활발한 시기나 간에 담즙율체가 있을 때 간세포에서 그 활성도가 변동된다. 따라서 이 실험에서 측정한 AAT도 간에서 합성이 활발한 만큼 간의 재생기나 간에 담즙율체가 있을 때는 간에서 그 활성도가 변동될 수 있을 것이다.

이 실험에서는 흰쥐 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일의 재생간과 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 7일, 14일, 28일 및 42일의 담즙율체간에서 cytosol, mitochondria 및 microsome의 AAT 활성도를 측정하여 그 변동을 알아내는 한편 이 효소의 활성도 변동 기전의 일단을 알아보기 위하여 간엽절제 후 1일 경과한 쥐의 재생간과 총담관 결찰 후 1일과 28일 경과한 담즙율체간에서 이 효소의 Km치와 Vmax치를 측정하였다.

이 실험에서 흰쥐의 간엽을 절제한 후의 재생간에서는 cytosol과 microsome 분획에서만 AAT활성도가 간엽 절제 후 1일, 2일 및 3일에 유의한 증가를 나타내었다. 이 성적으로 보아 AAT는 간재생이 왕성한 시기에 그 활성도가 증가되는 효소라는 것을 알 수 있었다.

이 실험에서 간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간에서 cytosol 및 microsome 분획의 AAT의 Km치와 Vmax치를 측정하였을 때 Km치는 모두 변동이 없었으나 Vmax치는 모두 유의한 증가를 나타내었다. 이와 같이 재생간에서 이들 효소의 Km치가 변동이 없으면서도 Vmax치가 증가되고 또한 그 활성도가 증가된 것은 촉매효율 증가에 기인한 것이라고는 볼 수 없다. 따라서 재생간에서 이들 효소의 활성도가 증가된 것은 그 합성이 증가되어 나타난 결과라 생각된다.

재생기의 흰쥐 간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 혼산과 단백 합성이 증가되며^{6,21)} 이런 현상과 함께 재생간에서의 대사 조절은 간 재생을 위해 유리한 쪽으로 대사가 진행되는 것이라는 설이 있고^{4,15,20)} 보면 이 실험에서 측정한 AAT는 간 재생과는 유관한 효소가 아닌가 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 재생간에서 이 효소의 합성 증가가 어떤 원인에 의한 것인지는 분명치 않다. 따라서 재생간에서 이 효소 합성의 증가 원인과 기전을 분명히 알기 위해서는 앞으로 더욱 추구해 보아야 하

겠다.

이 실험에서 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 담즙을 체간에서 AAT의 활성도는 cytosol 분획에서는 총담관 결찰 후 1일에는 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 14일, 28일 및 42일에는 유의한 감소를 나타내었다. Microsome 분획에서는 총담관 결찰 후 1일 및 2일에 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 14일, 28일 및 42일에는 유의한 감소를 나타내었다. 그리고 mitochondria 분획에서 이 효소의 활성도는 변동이 없었다. 한편 총담관 결찰 후 1일 및 28일의 담즙을 체간에서 cytosol과 microsome 분획의 AAT의 K_m 치는 별 변동이 없었다. 그러나 이들 분획에서 이 효소의 V_{max} 치는 총담관 결찰 후 1일에는 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 28일에는 유의한 감소를 나타내었다.

이상 이 실험의 성적과 담즙을 체간에서 활성도가 변동되는 생체이물 생체 변환 효소들이 많다는 보고가 있고 보면 이 실험에서 측정한 AAT도 담즙을 체간에서 그 활성도가 변동되는 생체이물 생체 변환 효소의 일종이라 하겠다.

담즙을 체가 수반되는 간담도 질환에서 간세포는 기능장애를 받을 뿐만 아니라 담즙을 체의 시간이 경과함에 따라 간조직은 괴사, 지방 변성, 담도 증식, 섬유화, 경화성 변화 등 형태학적 변화가 연속적으로 나타난다.³⁵⁾ 흰쥐의 담즙을 체간에서 조직 소견을 관찰한 Kountouras 등,³²⁾ 장대성 등¹⁹⁾ 및 김효석 등¹¹⁾의 보고를 보면 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 12시간이 경과했을 때는 많은 간세포들이 괴사 현상을 나타내었으며 동시에 담도세포도 증식되기 시작하였다고 하였다. 그리고 1일 후에서는 간의 전 부위에 괴사 현상이 확산되고 괴사 부위에는 염증세포의 침윤이 보였다고 하였으며, 이후 2주경에는 괴사 현상이 약간 감소되는 반면에 담도세포의 증식이 증가되고 섬유화가 시작되었다고 하였다. 그리고 이후 6주부터는 초기의 경화성 변화가 나타났다고 하였다. 그러므로 이 실험에서 담즙을 체간의 AAT 활성도가 담즙을 체 후 1일 및 2일에는 증가되고 담즙을 체 후 14일부터 감소된 것은 분명하게 설명하기는 어려우나 담즙을 체간에서 나타나는 괴사의 정도 및 간기능의 장애 정도와 유관한 것이 아닌가 생각된다. 따라서 문현상의 지견과 이 실험 성적으로 볼 때 흰쥐 담즙을 체간은 간의 괴사가 심한 담즙을 체

후 1일 및 2일경에는 이 효소의 합성이 증가되는 것으로 생각되며, 간기능이 심하게 저하되는 담즙을 체 후 14일부터 그 후는 이 효소의 합성이 감소되는 것으로 생각된다.

이 실험에서 AAT의 활성이 측정된 정상 쥐 간의 세포분획은 cytosol, microsome 및 mitochondria 였다. 그리고 이들 분획 중 AAT 활성도가 가장 높은 분획은 microsome 분획이었으며 활성도가 가장 낮은 분획은 mitochondria 분획이었다.

위의 결과를 볼 때 간세포에서 AAT의 국재소는 cytosol, endoplasmic reticulum 및 mitochondria라 볼 수 있으며 이들 중 주된 국재소는 endoplasmic reticulum 이라 생각된다.

요약

재생간과 담즙을 체간에서 arylamine acetyltransferase(AAT) 활성도 변동을 알아보기 위하여 흰쥐의 간엽을 부분 절제하거나 총담관을 결찰한 후 각 시기의 재생간과 담즙을 체간의 세포 분획에서 이 효소의 활성도를 측정하는 한편 재생간과 담즙을 체간의 세포 분획에서 이 효소의 K_m 치와 V_{max} 치도 측정하였다.

흰쥐 간 세포 분획에서 AAT의 국재소는 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획이었다.

흰쥐 재생간의 AAT 활성도는 cytosol과 microsome 분획에서는 간엽 절제 후 1일, 2일 및 3일에 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 mitochondria 분획에서 이 효소의 활성도는 변동이 없었다.

흰쥐 담즙을 체간의 AAT 활성도는 cytosol 분획에서는 총담관 결찰 후 1일에는 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 14일, 28일 및 42일에는 유의한 감소를 나타내었다. Microsome 분획에서는 총담관 결찰 후 1일 및 2일에 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 14일, 28일 및 42일에는 유의한 감소를 나타내었다. 그러나 mitochondria 분획에서 이 효소의 활성도는 변동이 없었다.

간엽 절제 후 1일의 흰쥐 재생간에서 cytosol과 microsome 분획의 AAT의 K_m 치는 별 변동이 없었다. 그러나 이들 분획에서 이 효소의 V_{max} 치는 유의한 증가를 나타내었다.

총담관 결찰 후 1일 및 28일의 담즙울체간에서 cytosol과 microsome 분획의 AAT의 Km치는 별 변동이 없었다. 그러나 이들 분획에서 이 효소의 Vmax치는 총담관 결찰 후 1일에는 유의한 증가를 나타내었으나 총담관 결찰 후 28일에는 유의한 감소를 나타내었다.

이상의 결과를 보아 흰쥐 간의 AAT는 재생이 활발한 시기인 1일에서 3일까지의 재생간에서는 그 합성이 증가되는 효소로 생각된다. 한편 흰쥐 담즙울체간은 간의 피사가 심한 담즙울체 후 1일 및 2일경에는 이 효소의 합성이 증가되는 것으로 생각되며 간기능이 심하게 저하되는 담즙울체 후 14일부터 그 후는 이 효소의 합성이 감소되는 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) 박춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 4: 125, 1985
- 2) 박춘식, 박정식: 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 5: 45, 1986
- 3) 박춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 7: 64, 1988
- 4) 박춘식, 김여희, 문교철, 이숙형: 흰쥐 재생간의 Glutathione S-Transferase 및 Glutathione Reductase의 활성치. 계명의대논문집 8: 78, 1989
- 5) 박춘식, 이숙형: 흰쥐 담즙울체간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Cholinesterase의 활성도. 한국생화학회지 25: 251, 1992
- 6) 권기정, 유호열: Ethionine이 뼈에서 재생간의 단백합성에 미치는 영향. 경북의대잡지 10: 183, 1969
- 7) 권용철, 문교철, 박춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성도. 계명의대논문집 9: 159, 1990
- 8) 김여희, 문교철, 박춘식, 이상일: 흰쥐 재생간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 6: 95, 1987
- 9) 김여희, 문교철, 박춘식, 정성광: 흰쥐 재생간의 알콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 7: 280, 1988
- 10) 김여희, 조경일, 박춘식: 흰쥐 재생간의 Rhodanese의 활성도. 계명의대논문집 12: 447, 1993
- 11) 김효석, 박재웅, 김은영, 곽규식, 최용한, 정준모: 총담관 결찰시 간세포의 초미형 태학적변화. 대한내과학회지 36: 459, 1989
- 12) 김홍열, 박춘식: 흰쥐 재생간의 Carboxylesterase 및 Arylesterase의 활성도. 계명의대논문집 10: 147, 1991
- 13) 문교철, 박춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성치, 계명의대논문집 8: 69, 1989
- 14) 문교철, 김여희, 이숙형, 박춘식: 흰쥐 재생간의 Cholinesterase의 활성도. 계명의대논문집 9: 98, 1990
- 15) 문교철, 박은미, 김여희, 박춘식: 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 7: 258, 1988
- 16) 박재신: 흰쥐 재생간과 담즙울체간의 Glyoxalase I 및 II와 Epoxide Hydratase의 활성도. 계명대학교 대학원 박사학위논문, 1993, pp 1-58
- 17) 신미정, 김여희, 박춘식: 흰쥐 재생간에서의 Aryl Sulphotransferase의 활성도. 계명의대논문집 14: 301, 1995
- 18) 임종술: 흰쥐 담즙울체간의 Aryl Sulfotransferase 및 Thiosulfate Sulfurtransferase의 활성도. 계명대학교 대학원 박사학위논문, 1993, pp 1-43
- 19) 장대성, 박정식, 손태중: 총담관 결찰에 의한 담관증식 성 변화의 초미형태학적 연구. 경북의대잡지 28: 113, 1987
- 20) 정기용, 김인산, 손건영, 조준승: 흰쥐의 간엽부분 절제 후 재생간에서의 산화적 손상에 대한 방어기전. 경북의대잡지 27: 263, 1986
- 21) Becker FF: Restoration of liver mass following partial hepatectomy. I. Influence of blood flow. Am J Pathol 43: 497, 1963
- 22) Bucher NL: Experimental aspects of hepatic regeneration. N Engl J Med 277: 738, 1967
- 23) Colowick SP, Kaplan NO: Method in Enzymology. Vol. 4, Academic Press, New York, 1957, pp 708-731
- 24) Glowinski IB, Radtke HE, Weber WW: Genetic variation in N-acetylation of carcinogenic arylamines by human and rabbit liver. Mol Pharmacol 14: 940, 1978
- 25) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. J Biol Chem 177: 751, 1949
- 26) Gram TE: Extrahepatic metabolism of drugs and other foreign compounds. Spectrum Publications, New York, 1980, pp 493-542
- 27) Grant DM, Lottspeich F, Meyer UA: Evidence for two closely related isozymes of arylamine N-acetyltransferase in human liver. FEBS Lett 244: 203, 1989
- 28) Halsted JA: The laboratory in clinical medicine. Interpretation and Application. Saunders, London, 1976, pp 426-429.
- 29) Hearse DJ, Weber WW: Multiple N-acetyltransferase and drug metabolism. Tissue distribution, characterization and significance of mammalian N-acetyl-transferase. Biochem J 132: 519, 1973
- 30) Jakoby WB: Method in Enzymology. Vol. 77, Academic Press, New York, 1981, pp 272-282
- 31) Kim BK: Enzyme nomenclature. IUB, Academic Press,

- New York, 1984, pp 162-163
- 32) Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ: Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rats. *Br J Exp Path* 65: 305, 1984
- 33) Lamy J, Lamy JN, Schmitt M, Weill J: Effect d'une hepatectomie minimale sur l' activité de catalase et des oxydases peroxysoniques du foie du rat. *Biochimie* 55: 1491, 1973
- 34) Lieberman I, Kane P: Synthesis of ribosome in the liver after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 240: 1737, 1965
- 35) MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC: *Pathology of Liver*. 3rd ed, Churchill Livingstone, New York, 1994, pp 415-474
- 36) Matsumoto K, Nakamura T: Molecular structure and function of hepatocyte growth factor. *Metabolism (Jpn)* 28: 599, 1991
- 37) Morland J, Olsen H: Metabolism of sulfadimidine, sulfanilamide, p-aminobenzoic acid, and isoniazid suspensions of parenchymal and nonparenchymal rat liver cells. *Drug Metab Dispos* 5: 511, 1977
- 38) Principato GB, Locci P, Rosi G, Talesa V, Giovannini E: Activity changes of glyoxalases I-II and glutathione reductase in regenerating rat liver. *Biochem Int* 6: 249, 1983
- 39) Reeves PT, Kinnear BF, Minchin RF, Ilett KF: Immunological evidence for N-acetyltransferase isozymes in the rabbit. *Mol Pharmacol* 39: 42, 1991
- 40) Schroder H, Evans DA: The polymorphic acetylation of sulphapyridine in man. *J Med Genet* 9: 168, 1972
- 41) Segel IH: *Biochemical Calculations*. 2nd ed, John Wiley and Sons, New York, 1976, pp 214-246
- 42) Sherlock DS: *Diseases of the liver and biliary system*. 7th ed, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1985, pp 79-80
- 43) Sim E, Hickman D, Coroneos E, Kelly SL: Arylamine N-acetyltransferase. *Biochem Soc Trans* 20: 304, 1992
- 44) Smith TJ, Hanna PE: N-acetyltransferase multiplicity and the bioactivation of N-arylhydroxamic acids by hamster hepatic and intestinal enzymes. *Carcinogenesis(Lond)* 7: 697, 1986
- 45) Timbrell JA, Harland SJ, Facchin V: Polymorphic acetylation of hydralazine. *Clin Pharmacol Ther* 28: 350, 1980
- 46) Tomiya T, Tani M, Yamada S, Hayashi S, Umeda N, Fujiwara K: Serum hepatocyte growth factor levels in hepatectomized and nonhepatectomized surgical patients. *Gastroenterology* 103: 1621, 1992
- 47) Tsukada K, Lieberman I: Metabolism of ribonucleic acid after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 239: 1564, 1964
- 48) Weber WW, Cohen SN: N-Acetylation of drugs: isolation and properties of an N-acetyltransferase from rabbit liver. *Mol Pharmacol* 3: 266, 1967
- 49) Weber WW, Glowinski IB: Acetylation, in Jakoby WB: *Enzymatic Basis of Detoxication*. Vol. II, Academic Press, New York, 1980, pp 169-186
- 50) Weber WW, Hein DW: N-Acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol Rev* 37: 25, 1985