

Thiol Methyltransferase Activity in Cholestatic Rat Liver Induced by Common Bile Duct Ligation

Il Joo¹, Chun-Sik Kwak[†] and Chong-Guk Yoon²

¹Department of Biochemistry, Keimyung University School of Medicine, Taegu, 700-712, Korea,

²Department of Public Health, Keimyung University, Taegu, 704-701, Korea

Changes of thiol methyltransferase (TMT) activity in cholestatic rat liver were studied. Hepatic subcellular and serum TMT activities were determined in cholestatic rat induced by common bile duct (CBD) ligation over a period 28 days. The mitochondrial and microsomal TMT activities in cholestatic rat liver were found to be significantly increased between the 1st and the 28th day after CBD ligation. The TMT activity in serum was significantly increased throughout the experiments. The Vmax values of the above hepatic TMT in cholestatic rat were significantly increased at the 7th day after CBD ligation. However, the Km values of the above hepatic enzymes did not vary in all the experimental groups. Therefore, the results indicate that the biosynthesis of TMT was increased in cholestatic rat liver. The elevated serum TMT activity is most likely caused by increased hepatocytes membrane permeability due to cholestasis mediated liver cell necrosis.

Key Words: Cholestatic liver, Common bile duct ligation, Thiol methyltransferase

서 론

Thiol methyltransferase (S-adenosyl-L-methionine: thiol S-methyltransferase, EC 2.1.1.9)는¹⁴⁾ captopril, spironolactone^{12,13)}, D- 및 L-penicillamine^{13,24)}, hydrogen sulfide²⁶⁾, mercaptoethanol, mercaptoacetic acid, methylmercaptan^{9,28)}, dithiothreitol⁹⁾, 2-thiouracil^{4,28)}, N-acetylcysteine^{12,13,24)}, 6-mercaptopurine⁴⁾, dimercaptoprol²⁷⁾, diethyldithiocarbamate^{1,5,28)}, thiourea, methimazole, thiamin tetrahydrofuryl disulfide¹⁾, 7 α -thiospirolactone¹²⁾, 6-propyl-2-thiouracil, 2,3-dimercaptopropanol²⁸⁾ 등의 생체이물의 sulfhydryl기에 S-adenosyl-L-methionine의 methyl기를 전이시켜 이들의 배설을 촉진시키는 반응을 촉매하는 제 2상 생체이물 생체 변환 효소로서^{2,26,29)} 포유동물의 조직들에 널리 분포되어 있으며 특히 간은 타조직보다 많은 양이 분포되어 있다^{1,24,29)}. 그리고 간세포에서는 이 효소가 세포질, 미토콘드리아, 내형질세망 및 세포핵에 국재되어 있다¹⁾.

담즙울체 (cholestasis)가 수반되는 간담도 질환에서는 간 세포가 기능장애^{8,25)}를 받을 뿐만 아니라 심한 형태학적 변화

도 초래된다³⁾. 그러나 담즙울체간에 대한 생화학적 지견은 충분치 않으며 이를 해결하려는 노력은 현재도 계속되고 있다. 흰쥐의 총담관을 결찰하면 간은 담즙울체가 야기되므로 이 담즙울체간을 생화학적 연구에 주로 사용하고 있다. 흰쥐의 총담관을 결찰하여 시간을 경과시키면 간은 담즙울체가 심해지고 이때 간은 심한 대사속도의 변동이 초래됨과 아울러 대사에 관계하는 여러 효소들의 활성도가 변동된다. 특히 담즙울체간에서 활성도가 변동되는 효소들 중에서는 생체이물 생체 변환 효소들의 활성도가 변동이 심하다^{10,11,16,17,19,20,23)}고 한다. Thiol methyltransferase (TMT)도 생체이물 생체 변환 효소로서 간에 주로 존재하는 효소인 만큼 간손상이 야기된 담즙울체간에서는 이 효소의 활성도가 변동될 것으로 생각된다. 또한 담즙울체간에서 이 효소의 활성도 변동과 그 기전을 알아냄으로써 간담도 질환시 간에서의 생체이물 생체 변환 기능의 일단을 파악할 수 있을 것으로 생각된다.

이 연구는 담즙울체간에서의 TMT의 활성도 변동과 그 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행한 연구로써 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 12시간 부터 28일까지의 혈청과 간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜에서 이 효소의 활성도를 측정하였으며 아울러 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 7일 경과시킨 쥐간에서 이 효소의 Km값과 Vmax값도 함께 측정하여 이들 성적을 보고하고자 한다.

*논문 접수: 2004년 1월 20일

수정재접수: 2004년 2월 19일

[†]별책 요청 저자: kwakcs, (우) 700-712 대구광역시 중구 동산동 194번지, 계명대학교 의과대학 생화학교실

Tel: 053-250-7461, Fax: 053-250-7461

e-mail: kwak@dsmc.or.kr

재료 및 방법

1. 시 약

p-chlorothiopenol, ethylenediaminetetraacetic acid disodium dihydrate, Triton X-100, potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic 및 단백질 표준액 (10 g/100 ml bovine albumin) 등은 Sigma사 (미국) 제품을 사용하였으며 [methyl-³H] S-adenosyl-L-methionine은 New England Nuclear사 (미국)의 제품을 그리고 PPO N(2,5-diphenyloxazole), Bis-MSB (p-bis-(O-methylstyryl benzene)), toluene (scintillation grade) 등은 Packard사 (미국)의 제품을 사용하였다. 그 외 일반 시약은 시판되는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

2. 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~350 g이 되는 Sprague-Dawley종의 수컷쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 14개군으로 나누었다.

1) 가수술군

가수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 7일, 14일 및 28일에 희생시킨 군 (총 7 군).

2) 총담관 결찰군

총담관 결찰 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 7일, 14일 및 28일에 희생시킨 군 (총 7군).

총담관 결찰군에서는 담관 결찰 후 14일까지 사망한 예가 없었으나 그 후부터는 약 50%가 사망하였다. 그래서 28일 군은 총담관 결찰 후 28일까지 생존한 쥐 5마리를 사용하였다.

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

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

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

3. 간적출 및 세포분획

모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 이터 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사 시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4℃의 0.25 M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음

간을 적출하였다. 그리고 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청은 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 2~4℃로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9배 량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 Teflon pestle glass homogenizer (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 간조직 균질액을 만들었다. 이 간균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법¹⁸⁾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 gradient용액의 제조는 gradient former (model 570, ISCO사, 미국)를 사용하였다.

4. 시료 조제

마이크로솜과 미토콘드리아 분획의 효소 시료의 조제는 이들 분획을 단백질량으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose액으로 현탁시킨 후 1% Triton X-100으로 배로 희석하여 4℃에서 30분간 방치한 다음 사용하였다. 세포질 분획의 이 효소 시료의 조제는 이 분획을 단백질량으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose액으로 희석하여 사용하였다.

5. 효소 활성도 측정

혈청과 간세포 분획들의 TMT 활성도 측정은 시료와 함께 p-chlorothiopenol과 [methyl-³H] S-adenosyl-L-methionine을 기질로 사용하여 37℃에서 10분간 반응시키는 동안에 생성된 방사성 methyl 4-chlorophenyl sulfide를 toluene으로 추출한 후 그 방사능을 측정하여 효소의 활성도를 산출하는 Weisiger 및 Jakoby법³⁰⁾에 의하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 ml의 혈청 또는 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 methyl 4-chlorophenyl sulfide를 pmol로 나타내었다.

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

이 실험에서 사용한 방사능 계측기는 liquid scintillation spectrometer (Tricarb 4530, Packard사, 미국)였다.

6. Km값 및 Vmax값의 측정

가수술이나 총담관 결찰술 후 7일 경과한 흰쥐간의 세포

Table 1. Activities of cytosolic, mitochondrial and microsomal thiol methyltransferase in cholestatic rat liver after common bile duct ligation

Day(s) following operation	Thiol methyltransferase activities (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide 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	6.09±0.56	6.05±0.49	5.26±0.84	5.67±1.01	5.10±0.56	5.24±0.78
1	6.11±0.52	6.03±0.65	5.27±0.76	6.74±0.97 ^a	5.15±0.63	6.48±0.68 ^a
2	6.13±0.46	6.09±0.59	5.24±0.81	7.19±0.78 ^b	5.13±0.58	8.43±1.02 ^c
3	6.10±0.55	6.23±0.43	5.28±0.75	7.34±0.82 ^b	5.08±0.67	7.45±0.74 ^c
7	6.08±0.48	6.22±0.59	5.21±0.68	7.45±0.74 ^b	4.87±0.60	7.06±0.54 ^c
14	6.06±0.45	6.16±0.64	5.17±0.72	7.22±0.67 ^b	4.92±0.65	6.47±0.59 ^b
28	6.07±0.50	5.52±0.049	5.06±0.62	6.63±0.59 ^b	4.86±0.71	6.21±0.57 ^a

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Liver of sham: sham operated rat livers.

Significant difference from Liver of sham: a, $P<0.05$; b, $P<0.01$; c, $P<0.001$

분획 효소 시료들과 효소 기질 중 4-chlorothiophenol을 선택하여 기질원액과 기질 희석액을 제조한 후 이들 기질액과 [methyl-³H] S-adenosyl-L-methionine 기질원액을 사용하여 TMT의 활성도를 측정한 후 이들 성적으로부터 1/vi값을 그리고 기질농도로부터 1/[S]값을 계산하여 이중역수도 (double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km값과 Vmax값을 산출하였다.

7. 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액 (3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg 및 Rothstein법⁷⁾으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법⁶⁾으로 정량하였다.

8. 성적 검정

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

결 과

1. 흰쥐에서 총담관 결찰 후 담즙울체간의 TMT의 활성도 변동

총담관을 결찰한 후 담즙울체간 (결과 Table에서 Cholestatic liver)의 미토콘드리아 TMT 활성도는 가수술군의 간 (결과 Table에서 Liver of sham)에 비해 수술 후 1일에는 약 28% ($P<0.05$), 2일에는 약 37% ($P<0.01$), 3일에는 약 39% ($P<0.01$), 7일에는 약 43% ($P<0.01$), 14일에는 약 40% ($P<0.01$), 28일에는 약 31% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 총담관 결찰 후 담즙울체 간의 마이크로솜 TMT 활성도는 가수술군의 간에 비해 1일에는 약 26% ($P<0.05$), 2일에는 약 64% ($P<$

0.001), 3일에는 약 47% ($P<0.001$), 7일에는 약 45% ($P<0.001$), 14일에는 약 32% ($P<0.01$), 28일에는 약 28% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 그러나 세포질 TMT 활성도는 실험 전기간 동안 별 변동을 나타내지 않았다 (Table 1).

2. 총담관 결찰 후 7일의 흰쥐 담즙울체간에서 TMT의 Km값 및 Vmax값의 변동

총담관 결찰 후 7일의 담즙울체간에서 미토콘드리아 및 마이크로솜 TMT의 Km값은 별 변동이 없었다. 그러나 이 효소의 Vmax값은 통계학적으로 유의한 증가 ($P<0.001$)를 나타내었다 (Table 2).

3. 흰쥐에서 총담관 결찰 후 혈청의 TMT의 활성도 변동

총담관 결찰 (결과 Table에서 CBDL) 후 혈청의 TMT 활성도는 가수술 (결과 Table에서 Sham) 군의 혈청에 비해 수술 후 12시간에는 약 16% ($P<0.05$), 1일에는 약 48% ($P<0.001$), 2일에는 약 56% ($P<0.001$), 3일에는 약 58% ($P<0.001$), 7일에는 약 53% ($P<0.001$), 14일에는 약 55% ($P<0.001$), 28일에는 약 30% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다 (Table 3).

고 찰

간의 배설기능에 장애가 오면 간은 담즙울체가 야기되며 이때 담즙울체간에서 그 활성도가 변동되는 생체이물 생체 변환 효소들은 많다. 그 중에서도 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 xanthine oxidase¹⁶⁾, aldehyde dehydrogenase, microsomal ethanol oxidizing system¹⁷⁾, cytosolic aryl sulfotransferase¹¹⁾이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소들은 microsomal 및 mitochondrial aryl sulfotransferase, UDP-glucuronosyltransferase, rhodanese^{10,11)}, glutathione

Table 2. Thiol methyltransferase kinetic parameters from cholestatic rat livers determined with 4-chlorothiophenol

Cell fractions	Km (mM)		Vmax (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	
	Liver of sham	Cholestatic liver	Liver of sham	Cholestatic liver
Mitochondria	75.8±4.8	68.7±7.6	14.2±1.7	22.3±2.1 ^c
Microsome	71.4±7.7	76.5±6.3	13.1±1.9	20.6±2.7 ^c

Michaelis-Menten constants for thiol methyltransferase were determined using 4-chlorothiophenol and [methyl-³H] S-adenosyl-L-methionine at 37°C for mitochondrial and microsomal fractions of sham operated rat livers and cholestatic rat livers at 7th day after common bile duct ligation. The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Liver of sham: sham operated rat livers. Significant difference from Liver of sham: c, $P < 0.001$

Table 3. Activities of serum thiol methyltransferase after common bile duct ligation in rats

Day(s) following operation	Thiol methyltransferase activities (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide min ⁻¹ ml ⁻¹)	
	Sham	CBDL
0.5	16.23±0.89	18.87±1.93 ^a
1	16.27±0.97	24.10±1.27 ^c
2	16.25±0.93	25.42±1.26 ^c
3	16.18±0.95	25.58±1.74 ^c
7	16.20±0.86	24.78±1.86 ^c
14	16.02±0.89	24.82±1.77 ^c
28	15.83±0.94	20.60±1.01 ^c

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group; Sham: sham operated rats, CBDL: common bile duct ligated rats. Significant difference from Sham: a, $P < 0.05$, c, $P < 0.001$

S-transferase, glutathione peroxidase²⁰), monoamine oxidase²³), catalase, alcohol dehydrogenase¹⁷), arylesterase, carboxylesterase 및 cholinesterase²⁰) 등이다. 이와 같이 간세포에 존재하는 생체이물 생체 변환 효소들은 간에 담즙울체가 있을 때 간조직에서 그 활성도가 변동된다. 따라서 이 실험에서 측정된 TMT도 생체이물 생체 변환 효소이며 간세포에 주로 존재하는 만큼 간에 담즙울체가 있을 때는 간에서 그 활성도가 변동될 수 있을 것이다.

이 실험에서 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 담즙울체간에서 미토콘드리아 분획과 마이크로솜 분획의 TMT는 다같이 총담관 결찰 후 1일부터 28일까지 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 cytosol 분획에서는 변동이 없었다. 그리고 혈청에서 이 효소의 활성도는 총담관 결찰 후 실험 전기간 동안 유의한 증가를 나타내었다. 즉, TMT는 흰쥐 담즙울체간의 미토콘드리아와 마이크로솜 분획에서 그 활성도가 증가되었으며 아울러 담즙울체시 혈청에서도 이 효소의 활성도가 증가되었다.

이상 이 실험의 성적과 담즙울체간에서 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들이 있다는 보고가 있고 보면

이 실험에서 측정된 TMT도 담즙울체간에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소의 일종이라 하겠다.

담즙울체가 수반되는 간담도 질환에서 간세포는 기능장애를 받을 뿐만 아니라 담즙울체의 시간이 경과함에 따라 간조직은 괴사, 지방변성, 담도증식, 섬유화, 경화성 변화 등 형태학적 변화가 연속적으로 나타난다³). 흰쥐의 담즙울체 간에서 조직 소견을 관찰한 Moritz 및 Snodgrass²²)와 Kim 등¹⁵)의 보고를 보면 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 12시간이 경과했을 때는 많은 간세포들이 괴사 현상을 나타내었으며 동시에 담도세포도 증식되기 시작하였다고 하였다. 그리고 1일 후에는 간의 전부위에 괴사 현상이 확산되고 괴사 부위는 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. 따라서 이 실험에서 담즙울체간의 TMT의 활성도가 증가된 것은 분명하게 설명하기는 어려우나 담즙울체간에서 담도세포가 증식된다는 사실과 관련한 것으로 생각된다.

이 실험에서 총담관 결찰로 담즙울체를 시켰을 때 혈청의 TMT의 활성도가 증가되었으며 이때 담즙울체간의 세포질에서는 이 효소의 활성도가 변동이 없었다. 이런 점을 미루어 볼 때 담즙울체시 혈청에서 이 효소의 활성도가 증가된 것은 담즙울체간의 세포질에 있던 이들 효소가 간세포 외로 다량 누출되어 나타난 결과라 생각된다. 따라서 이 결과는 담즙울체로 인한 간의 괴사와 간세포막의 투과성 향진이 혈청에 출현하는 효소들의 누출을 촉진시킨다는 설^{17,21})을 더욱 뒷받침하는 자료라 생각된다.

이 실험에서 총담관 결찰 후 7일의 흰쥐 담즙울체간에서 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Km값은 변동이 없었다. 그러나 이들 분획에서 이 효소의 Vmax값은 유의한 증가를 나타내었다. 이상 담즙울체간에서의 효소 역동학적 척도인 Km값과 Vmax값의 변동을 볼 때 담즙울체간에서 TMT의 활성도 증가는 합성속도의 증가에 의한 것이라 생각된다.

이상 문헌상의 지견과 이 실험 결과를 볼 때 흰쥐 담즙울

체간의 미토콘드리아와 마이크로솜 분획에서 TMT의 활성도가 증가된 것은 이 효소의 합성이 증가되어 나타난 결과라 생각된다. 그리고 담즙울체시 혈청에서 이 효소의 활성도가 증가된 것은 간의 괴사로 간세포막의 투과성이 항진되어 이 효소가 혈중으로 다량 누출되어 나타난 결과라 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Borchardt RT and Cheng CF (1978): Purification and characterization of rat liver microsome thiol methyltransferase. *Biochim Biophys Acta*, **522(2)**: 340-353.
- 2) deBethizy JD and Hayes JR (1994): Metabolism; A determinant of toxicity, pp.59-100. In Hayes AW (ed.), "Principles and Methods of Toxicology", 3rd Ed., Raven Press, New York.
- 3) Desmet VJ (1994): Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis, pp.425-474. In MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC (eds.), "Pathology of Liver", Churchill Livingstone, New York.
- 4) Drummer OH, Jarrott B and Louis WH (1982): Demonstration of a S-methyl metabolite of captopril in patients undergoing chronic captopril therapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **7(suppl.)**: 81-86.
- 5) Glauser TA, Nelson AN, Zembower DE, Lipsky JJ and Weinshilboum RM (1993): Diethyldithiocarbamate S-methylation: Evidence for catalysis by human liver thiol methyltransferase and thiopurine methyltransferase. *J Pharmacol Exp Ther*, **266(1)**: 23-32.
- 6) Gornall AG, Bardawill CJ and David MM (1949): Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem*, **177(3)**: 751-766.
- 7) Greenberg DM and Rothstein M (1957): Method for isolation and degradation of labelled compounds, pp.708-731. In Colowick SP, Kaplan NO (eds.), "Method in Enzymology", Vol. 4. Academic Press, New York.
- 8) Halsted JA (1976): The Laboratory in Clinical Medicine. Interpretation and Application, pp.426-429. Saunders, London.
- 9) Hiemke C and Chraf R (1983): Distribution and properties of thiol S-methyltransferase in rat brain. *J Neurochem*, **40(2)**: 592-594.
- 10) Ihm JS and Kim YH (1997): Thiosulfate sulfurtransferase and UDP-glucuronosyltransferase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Exp Mol Med*, **29(4)**: 197-201.
- 11) Ihm JS, Kim YH and Kwak CS (1995): Aryl sulftransferase activity in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Korean J Biochem*, **27(3)**: 141-147.
- 12) Keith RA, Jardine I, Kerremans A and Weinshilboum RM (1984): Human erythrocyte membrane thiol methyltransferase S-methylation of captopril, N-acetylcysteine, and 7 α -thiospirolactone. *Drug Metab Dispos*, **12(6)**: 717-724.
- 13) Keith RA, Loon JV, Wussow LF and Weinshilboum RM (1983): Thio methylation pharmacogenetics: Heritability of human erythrocyte thiol methyltransferase activity. *Clin Pharmacol Ther*, **34(4)**: 521-528.
- 14) Kim BK (1984): Enzyme Nomenclature, IUB, pp.142-143. Academic Press, New York.
- 15) Kim HS, Park JY, Kim EY, Kwak KS, Choi YH and Chung JM (1989): Morphologic change of hepatocytes induced by common bile duct ligation. *Korean J Intern Med*, **36(4)**: 459-470.
- 16) Kwak CS (1985): Xanthine oxidase activity in the cholestatic rat liver. *The Keimyung Univ Med J*, **4(2)**: 125-130.
- 17) Kwak CS, Kim YH and Mun KC (1988): Activities of alcohol metabolizing enzymes in the cholestatic rat liver. *The Keimyung Univ Med J*, **7(1)**: 64-75.
- 18) Kwak CS and Kwak JS (1986): Cell fractionation method of the rat liver. I. Isolation of mitochondria and microsomes. *The Keimyung Univ Med J*, **5(1)**: 45-53.
- 19) Kwak CS and Lee SH (1992): Carboxylesterase, arylesterase and cholinesterase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Korean Biochem J*, **25(3)**: 251-261.
- 20) Kwon YC, Mun KC and Kwak CS (1990): Glutathione S-transferase, glutathione reductase and glutathione peroxidase activities in cholestatic rat liver. *The Keimyung Univ Med J*, **9(2)**: 159-170.
- 21) Lind S (1958): A comparison between the patterns (GOT, GPT, LDH) in serum and tissue extracts in cardiac hepatic disease. *Scand J Lab Invest*, **10(2)**: 303-307.
- 22) Moritz M and Snodgrass PJ (1972): Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Response to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology*, **62(1)**: 93-100.
- 23) Mun KC and Kwak CS (1989): Monoamine oxidase activity in cholestatic rat liver. *The Keimyung Univ Med J*, **8(1)**: 69-77.
- 24) Pacifici GM, Santerini S, Gluliani L and Rane A (1991): Thiol methyltransferase in humans: Development and tissue distribution. *Dev pharmacol Ther*, **17(1-2)**: 8-15.
- 25) Sherlock S and Dooley J (2002): "Diseases of the Liver and Biliary System", 11th Ed., pp.1-17. Blackwell Science, Oxford.
- 26) Tegtmeier F and Brunner G (1983): Solubilization character-

- istics of pig liver S-methyltransferase. *Enzyme*, **30(3)**: 185-195.
- 27) Weinshilboum RM, Sladek S and Klumpp S (1979): Human erythrocyte thiol methyltransferase: Radiochemical microassay and biochemical properties. *Clin Chim Acta*, **97(1)**: 59-71.
- 28) Weisiger RA and Jakoby WB (1979): Thiol S-methyltransferase from rat liver. *Arch Biochem Biophys*, **196(2)**: 631-637.
- 29) Weisiger RA and Jakoby WB (1980): S-Methylation: Thiol S-methyltransferase, pp.131-140. In Jakoby WB (ed.), "Enzymatic Basis of Detoxication", Vol. II. Academic Press, New York.
- 30) Weisiger RA and Jakoby WB (1981): Thiol S-methyltransferase, pp.257-262. In Jakoby WB (ed.), "Method in Enzymology", Vol. 77. Academic Press, New York.
-