

흰쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치*

계명대학교 의과대학 생화학교실

곽춘식 · 김여희 · 문교철

= Abstract =

Activities of Alcohol Metabolizing Enzymes in the Cholestatic Rat Liver

Chun Sik Kwak, PhD; You Hee Kim, MD; Kyo Cheol Mun, MD

*Department of Biochemistry, Keimyung Univeristy
Scool of Medicine, Taegu, Korea*

Changes in the activities of the following alcohol metabolizing enzymes have been studied over a period of forty two days after the ligation of common bile duct in rats: cytosolic alcohol dehydrogenase (ADH), microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) and catalase of cholestatic liver. The activities of aldehyde dehydrogenase (ALDH) in the cytosolic, microsomal and mitochondrial fractions of cholestatic liver were also measured.

The effect of common bile duct ligation on the liver ADH, MEOS, catalase and ALDH activities in ethanol ingested rats were studied. The animals were given 5%(v/v) ethanol solution for 74 days and these were ligated of common bile duct at 2 weeks prior to killings.

The cytosolic ADH activities in the cholestatic liver decreased significantly between the seventh and forty-second day after the ligation of common bile duct in rats. However, MEOS activities in cholestatic liver showed a substantial increase from three days to forty two days after the operation. The catalase activities in the cholestatic rat liver decreased significantly between third and forty-second day after the operation.

The activities of cytosolic and microsomal ALDH in the cholestatic liver increased drastically between the third and forty-second days after the operation, but the mitochondrial ALDH in the cholestatic liver had a significant diminution from twenty eight days to forty two days after the ligation of common bile duct.

The liver cytosolic ADH activities decreased in rats given ethanol with additional common bile duct ligation treatment (ethanol 74 days-CBDL 2 weeks group). However, the activities showed a far more degree than group of common bile duct ligation treatment at 2 weeks prior to killings (CBDL 2 weeks group).

The liver MEOS activities increased in rats given ethanol for 74 days (ethanol 74 days group) and ethanol 74 days-CBDL 2 weeks group. But the liver MEOS activities of ethanol 74 days-CBDL 2 weeks group remained within the limit of CBDL 2 weeks group.

The liver catalase activities decreased in ethanol 74 days-CBDL 2 weeks group. The activities were not significantly affected by common bile duct ligation.

The liver microsomal ALDH activities increased markedly in ethanol 74 days group and ethanol

*이 논문은 1987년도 계명대학교 생화학교실 특수과제 연구비로 이루어졌음.

74 days-CBDL 2 weeks group but cytosolic and mitochondrial ALDH activities did not increase in these groups.

서 론

체내에 흡수된 ethanol은 주로 간에서 대사되어 acetaldehyde을 거쳐 acetate로 산화되어 이용된다¹⁻⁵⁾. Ethanol로부터 acetaldehyde로 산화되는 과정에는 alcohol dehydrogenase(alcohol: NAD⁺ oxidoreductase, EC 1. 1. 1. 1, ADH), microsomal ethanol-oxidizing system(MEOS) 및 catalase(hydrogen peroxidase:hydrogen peroxide oxidoreductase, EC 1. 11. 1. 6)가 촉매를 하며¹⁻⁵⁾, acetaldehyde로부터 acetate로 산화되는 과정은 주로 aldehyde dehydrogenase (aldehyde: NAD⁺ oxidoreductase, EC 1. 2. 1. 3, ALDH)가 촉매하는 것으로 알려져 있다.

ADH는 nicotinamide adenine dinucleotide(NA D⁺)를 조효소로 사용하는 zinc metalloenzyme⁷⁻¹⁰⁾으로서 지방족, 지환족, 방향족의 일차 및 이차 alcohol을 산화시키는 효소¹¹⁻¹²⁾이며, 포유동물 간 조직의 세포질에 고농도로 편재되어 있다.^{1,13,14)}

MEOS는 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP⁺)를 조효소로 사용하는 산화효소계로서 ethanol, methanol, propanol, butanol, pentanol의 순서로 잘 산화시키며¹⁵⁻¹⁸⁾, 포유동물 간 조직의 endoplasmic reticulum에 편재되어 있다.^{1,18)}고 한다.

Catalase는 철 porphyrin enzyme^{19,20)}으로서 간 세포의 peroxisome에 많이 함유되어 있으며²¹⁾ 주로 과산화수소의 분해를 촉매^{19,20)}하고 있으나 ethanol의 산화과정에서도 촉매를 담당하고 있다.^{1,17)}

ALDH는 NAD⁺를 조효소로 사용하는 효소²²⁾로서 지방족, 지환족, 방향족 aldehyde의 산화를 촉매²³⁾하며 포유동물 간의 세포질, mitochondria 및 endoplasmic reticulum(microsome)에 많은 양이 발견된다²⁴⁻²⁸⁾고 한다.

이와같이 alcohol 대사효소들은 간조직에 주로 분포되어 있으므로 간담도 질환시에는 그 활성의 변동이 있을 것으로 예상된다. 그러나 이에 대한 연구는 많지 않으며 단지 간과 혈중의 ADH가 간담도질환시에 변동이 있다는 보고^{29,30)}가 있을 뿐이다. 그리고 간담도질환에 음주는 해로운 것으로 알려져 있으나 이에 대한 분명한 효소학적 뒷받침은 아직

없다.

이 연구는 이 문제의 일단을 밝히고자 시도된 것으로서 흰쥐의 총담관을 절찰한 후 경시적으로 담즙울체간에서 ADH, MEOS, catalase 및 ALDH의 활성도를 측정하는 한편 알콜중독 흰쥐에게 총담관을 절찰한 후 2주 경과한 담즙울체간에서도 이들 효소의 활성도를 측정하여 그 성적을 상호비교 검토한 것이다.

재료 및 방법

동물 및 처치: 동물은 4주이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~350g이 되는 Sprague-Dawley종의 수컷흰쥐를 사용하였으며 1군을 5마리 또는 8마리로 하며 다음과 같이 18군으로 나누었다.

- 1) 정상군: (1군, 5마리 사용)
- 2) 가수술군: 가수술 후 1일, 2일, 3일, 7일, 14일, 28일, 및 42일째 죽인 군(총 7군, 1일~7일군은 각 8마리, 14일~42일군은 각 5마리 사용)
- 3) 총담관결찰군: 총담관결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일, 14일, 28일 및 42일째 죽인 군(총 7군, 1일~7일군은 각 8마리, 14일~42일 군은 각 5마리 사용)
- 4) 5%(v/v) ethanol을 74일동안 먹인군: (1군, 5마리 사용)
- 5) 5%(v/v) ethanol을 74일 동안 먹이면서, ethanol투여 60일째에 가수술을 하고 2주 후에 죽인 군: (1군, 5마리 사용)
- 6) 5%(v/v) ethanol을 74일동안 먹이면서 ethanol투여, 60일째에 총담관을 절찰하고 2주 후에 죽인 군: (1군, 5마리 사용)

담관결찰 후 14일까지는 죽는 예가 없었으나 이후부터는 약 50%가 죽었다. 그러므로 28일 및 42일군은 총담관결찰 후 28일 및 42일까지 생존한 흰쥐 5마리씩을 사용하였다. 5%(v/v) ethanol을 74일동안 먹이면서 총담관을 절찰하여 2주 경과했을 때도 약 20%는 죽었으므로 생존한 흰쥐 5마리씩을 사용토록 하였다. 각 실험군은 개별분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 제일사료주식회사의 실험동물 사료를 사용하였으며 물과 함께 자유로이 먹도록 하였다. Ethanol투여군에서는 물 대신 5%(v/v) ethanol 용액³¹⁾을 자유로이 먹도록 하였다.

총담관 결찰수술은 가급적 간에서 근접한 부위의 총담관과 바로 아래쪽 약 1cm 되는 지점의 총담관을 선택하여 각각 결찰한 후 두 결찰부위의 중간지점을 절단해 두었다. 담관의 결찰은 이중으로 하였으며 채혈 및 간적출시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 가수술은 총담관의 결찰만 하지 않고 그 외 조작은 담관결찰군과 동일하게 하였다.

시약: β -Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺, from yeast, grade III), β -nicotinamide adenine dinucleotide reduced form (NADH, disodium salt, from yeast, grade III), β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺, monosodium salt, from yeast, Sigma-grade), glycine, pyrazole, propionaldehyde, sodium deoxycholic acid, nicotinamide, glucose-6-phosphate, semicarbazide-HCl, alcohol dehydrogenase (from equine liver), aldehyde dehydrogenase (from bakers yeast), catalase (from bovine liver c-3155) 및 표준단백액 (10g/ml, bovine albumin) 등은 Sigma 사의 제품을 사용하였으며 ethanol (99%~100%)은 E Merk 사의 제품을 사용하였다. 그리고 그 외 일반시약들은 시판되는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간적출 및 세포분획: 모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 약한 ether 마취하에서 시행하였으며 쥐의 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사시키고 이어 간문맥으로 catheter를 넣어 4°C의 0.25M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있는 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있는 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 이 간을 즉시 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 5g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer (Thomas 사 제품 chamber clearance 0.005~0.007 inch)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10 w/v%의 간균질액을 만들었다. 이 간균질액을 사용하여 sucrose density gradient 초원심분리법³²⁾으로 microsme, mitochondria 및 cytosol 분획을 분리하였다. 위의 세포분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall 사의 RC-5B refrigerated super-speed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 그리고 sucrose density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하여

제조하였다.

효소액의 조제: 분리한 microsome 및 mitochondria는 단백질당으로 5mg/ml가 되도록 0.25M sucrose액으로 현탁시켰으며 이 현탁액을 1% sodium deoxycholic acid가 포함된 1% sodium bicarbonate액으로 2배로 희석하여 ultrasonic dismembrator (Fisher model 300)로 20 ± 0.4 kcycle/sec의 조건으로 2분씩 5회 초음파마쇄하여 이것을 cytosol 분획과 더불어 ALDH 효소액으로 사용하였고, MEOS의 효소액은 위의 ALDH 측정용 microsome 효소액을 사용하였으며, ADH 효소액은 cytosol 분획을 아무 처리없이 그대로 사용하였다.

Catalase 효소액은 간을 5mM potassium phosphate 완충액 (pH 6.8)으로 10w/v% 마쇄균질액을 만들고 이 액을 2분씩 5회 초음파 마쇄하여 사용하였다.

효소활성도 측정: ADH 활성도의 측정은 ethanol과 NAD⁺를 기질로 사용하여 37°C에서 3분간 반응시키는 동안에 NAD⁺가 340nm 파장에서 최대흡수대를 갖는 NADH로 환원되는 양을 측정하는 Koivula 등의 방법³³⁾에 의하였으며 이 효소활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 NADH를 μ mole로 나타내었다.

ALDH 활성도의 측정은 propionaldehyde와 NAD⁺를 기질로 사용하여 37°C에서 3분간 반응시키는 동안에 NAD⁺가 NADH로 환원되는 양을 측정하는 Koivula 및 Koivusalo의 법³⁴⁾에 의하였다. 그리고 이 효소활성의 단위는 ADH활성의 단위와 동일하게 나타내었다.

MEOS 활성도의 측정은 Lieber과 Decali의 법³⁵⁾을 약간 변경하여 사용하였다. 즉 50ml 용량의 Erlenmeyer flask형의 반응용기는 out well과 center well이 나누어져 있다. Out well에는 2ml의 반응액을 넣게 되는데 이 반응액 중에는 0.3 μ mol NADP⁺, 5 μ mol MgCl₂, 20 μ mol nicotinamide, 8 μ mol glucose-6-phosphate, 50 μ moles ethanol 80 μ mol phosphate buffer (pH 7.4)가 포함되어 이 중에는 microsome 효소액 0.5ml와 cytosol액 0.5ml가 포함된다. 그리고 center well에는 0.16M potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 0.015mol semicarbazide-HCl이 함유된 액 0.6ml를 넣었으며 37°C에서 30분간 반응시킨 후 70% trichloroacetic acid를 out well에 넣어 반응을 종료시켰다. 그리고는 실온에서 5시간 반응시킨 후 생성된 acetaldehyde-semicarbazone을 22nm 파

장에서 그 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 그 활성도를 산출하였다. 효소활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 acetaldehyde를 nmole로 나타내었다.

Catalase 활성도 측정은 H₂O₂를 기질로 사용하여 25°C에서 30초 반응시키는 동안에 240nm 파장에서 최대흡수대를 갖는 H₂O₂가 환원되어 H₂O로 되면서 감소되는 흡광도로써 효소활성도를 정량하는 Nelson 및 Kiesow법³⁶⁾에 의하였다. 그리고 이 효소활성도의 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 환원시킨 H₂O₂를 μmol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 표준효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 각 효소활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varian Cary 210)였다.

단백정량 : 효소액 중의 단백질량은 시료를 0.5N perchloric acid로 침전시키고 같은 시약으로 3회 세척(마지막 1회는 가온한다)한 후 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 2회 세척하여 단백을 정제³⁷⁾한 다음 biuret³⁸⁾법으로 정량하였다.

얻어진 각종 성적들의 평균치 중 상호비교가 필요한 경우에는 Student의 t-검정법으로 검정하였다.

성 적

정상흰쥐간의 ADH, MEOS, catalase 및 ALDH의 활성도 : 정상흰쥐간의 ADH, MEOS, catalase 및 ALDH의 활성도는 표 1과 같다. 정상흰쥐간의 cytosolic ADH 활성도는 77.2±11.6nmol NADH/mg protein/min (이하 단위 생략함)이며 MEOS는 5.37±0.78nmol acetaldehyde/mg protein/min (이하 단위 생략함)이었고 catalase는 32.5±3.6

μmol H₂O₂ reduced/mg protein/min (이하 단위 생략함)이었다. 그리고 cytosolic ALDH는 58.9±6.7nmol NADH/mg protein/min (이하 단위 생략함)였으며 microsomal ALDH는 70.9±10.3이었고 mitochondrial ALDH는 95.3±12.8이었다.

흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 간의 cytosolic ADH 활성도의 변동 : 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 경시적으로 측정된 간의 cytosolic ADH 활성도의 변동은 표 2와 같다. 총담관결찰 후 간의 cytosolic ADH는 총담관결찰 후 7일부터 가수술군에 비해 약 21%(p<0.01)의 활성 감소를 보이기 시작하여 14일 후에는 약 63%(p<0.001), 28일 후에는 약 71%(p<0.001), 그리고 42일 후에는 약 79%(p<0.001)의 현저한 활성 감소를 나타내었다.

흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 간의 MEOS 활성도의 변동 : 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 경시적으로 측정된 간의 MEOS 활성도의 변동을 표 3에 정리하였다. 총담관결찰 후 간의 MEOS는 수술후 3일부터 가수술군에 비해 약 21%(p<0.05)의 활성 증가를 보였으며 7일 후에는 약 34%(p<0.01), 14일 후에는 약 43%(p<0.05), 28일 후에는 약 46%(p<0.05), 그리고 42일 후에는 약 51%(p<0.05)의 활성 증가를 나타내었다.

흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 간의 catalase 활성도의 변동 : 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 경시적으로 측정된 간의 catalase 활성도의 변동은 표 4와 같다. 총담관결찰 후 간의 catalase는 수술후 3일부터 가수술군에 비해 약 21%(p<0.05)의 활성 감소를 나타내었으며, 7일 후에는 약 30%(p<0.01), 14일 및 28일 후에는 약 28%(p<0.01) 그리고 42일 후에는 약 40%(p<0.01)의 활성 감소를 나타내었다.

흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 간의 ALDH 활성도의 변동 : 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 경시적으로 측정된 간의 cytosolic ALDH, microsomal

Table 1. Activities of alcohol dehydrogenase (ADH), microsomal ethanol oxidizing system (MEOS), aldehyde dehydrogenase (ALDH) and catalase in normal rat liver

Fractions	ADH (EC 1.1.1.1)	MEOS	Catalase(EC 1.11.1.6)	ALDH(EC 1.2.1.3)
	n mol NADH /mg protein/min	n mol acetaldehyde /mg protein/min	μ mol H ₂ O ₂ reduced /mg protein/min	n mol NADH /mg protein/min
Homogenate			32.5±3.6	
Cytosol	77.2±11.6			58.9±6.7
Microsome		5.37±0.78		70.9±10.3
Mitochondria				95.3±12.8

The values are mean+SD of 5 animals.

Table 2. Changes of liver cytosolic alcohol dehydrogenase (ADH) activity after ligation of common bile duct in rats

Day(s) following ligation	ADH activity (μ mol NADH/mg protein/min)			
	Sham (%)		CBDL (%)	
1(8)	78.2±11.8(100)		77.8±12.1 (99.5)	
2(8)	77.8±12.1(100)		76.5±10.3 (98.3)	
3(8)	76.9±11.2(100)		73.1± 9.3 (95.1)	
7(8)	77.5±10.9(100)		61.0± 7.2** (78.7)	
14(5)	77.6±12.2(100)		28.5± 5.9*** (36.7)	
28(5)	78.2±13.1(100)		22.7± 4.7*** (29.0)	
42(5)	78.4±13.4(100)		16.8± 2.8*** (21.4)	

The values are mean±SD with the number of animals in parenthesis; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals. Significant difference from sham operated animals (**; p<0.01, ***; p<0.001).

Table 3. Changes of liver microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) activity after ligation of common bile duct in rats

Day(s) following ligation	MEOS activity (μ mol acetaldehyde/mg protein/min)			
	Sham (%)		CBDL (%)	
1(8)	5.42±0.81(100)		5.63±0.83 (103.8)	
2(8)	5.48±0.84(100)		6.61±1.04* (120.6)	
3(8)	5.43±0.79(100)		7.27±1.12** (133.8)	
7(8)	5.45±0.80(100)		7.22±1.31** (132.5)	
14(5)	5.39±0.76(100)		7.71±1.45* (143.0)	
28(5)	5.41±0.83(100)		7.89±1.38* (145.8)	
42(5)	5.38±0.78(100)		8.12±1.57* (150.9)	

The values are mean±SD with the number of animals in parenthesis; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals. Significant difference from sham operated animals (*; p<0.05, **; p<0.01).

ALDH 및 mitochondrial ALDH 활성도의 변동은 표 5, 6 및 7에 정리하였다. 총담관결찰 후 간의 cytosolic ALDH는 수술후 3일부터 가수술군에 비해 약 31%(p<0.01)의 활성 증가를 나타내었으며 7일 후에는 약 40%(p<0.001), 14일 후에는 약 43%(p<0.01), 28일 후에는 약 50%(p<0.01), 그리고 42일 후에는 약 58%(p<0.01)의 현저한 활성 증가를 나타내었다. 간의 microsomal ALDH 활성도도 총담관결찰 후 3일부터 증가되었으며 7일 후에는 가수술군에 비해 약 34%(p<0.01), 14일 후에는 약 33%(p<0.05), 28일 후에는 약 49%(p<0.01), 42일 후에는 약 51%(p<0.05)의 활성 증가를 나타내

Table 4. Changes of liver catalase activity after ligation of common bile duct in rats

Day(s) following ligation	Catalase activity (μ mol H ₂ O ₂ reduced/mg protein/min)			
	Sham (%)		CBDL (%)	
1(8)	32.4±3.8(100)		31.8±4.1 (98)	
2(8)	33.7±3.4(100)		28.6±3.8 (85)	
3(8)	33.4±4.0(100)		26.5±3.0* (79)	
7(8)	32.8±3.7(100)		23.1±3.2** (70)	
14(5)	33.1±3.6(100)		23.8±4.2** (72)	
28(5)	32.7±3.9(100)		23.4±3.1** (72)	
42(5)	32.9±3.8(100)		19.6±6.5** (60)	

The values are mean±SD with the number of animals in parenthesis; Sham=sham operation, CBDL=Common bile duct ligated animals. Significant difference from sham operated animals (*; p<0.05, **; p<0.01).

Table 5. Changes of liver cytosolic aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity after ligation of common bile duct in rats

Day(s) following ligation	ALDH activity (μ mol NADH/mg protein/min)			
	Sham (%)		CBDL (%)	
1(8)	59.5±5.8(100)		60.6± 5.1 (101.8)	
2(8)	59.7±6.9(100)		61.8± 6.5 (103.5)	
3(8)	60.1±7.1(100)		78.7±10.1** (130.9)	
7(8)	59.4±7.3(100)		83.4±12.3*** (140.4)	
14(5)	59.2±8.1(100)		84.8±10.7** (143.2)	
28(5)	58.6±7.9(100)		87.9± 9.8** (150.0)	
42(5)	58.9±7.2(100)		93.0±14.5** (157.8)	

The values are mean±SD with the number of animals in parenthesis; Sham=sham operation, CBDL=Common bile duct ligated animals. Significant difference from sham operated animals (**; p<0.01, ***; p<0.001).

었다. 그러나 간의 mitochondrial ALDH는 총담관결찰 후 시간이 경과되면 오히려 활성이 감소되었다. 즉 간의 mitochondrial ALDH는 총담관결찰 28일 후에는 가수술군에 비해 약 36%(p<0.01)의 활성 감소를 나타내었으며 42일 후에도 약 41%(p<0.001)의 활성 감소를 나타내었다.

Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 ADH, MEOS 및 catalase 활성도에 미치는 영향: 74일간 5%(v/v) ethanol을 투여한 후 회생시킨 쥐(이하 ethanol 투여군이라 약함)와 74일간 ethanol을 투여하면서 60일만에 가수술을 시행하고 2주 후에 회생시킨 쥐(이하 ethanol 투여하면서 가수술한 군이

Table 6. Changes of liver microsomal aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity after ligation of common bile duct in rats

Day(s) following ligation	ALDH activity (n mol NADH/mg protein/min)	
	Sham (%)	CBDL (%)
1(8)	71.2±11.2(100)	72.4±10.4 (101.7)
2(8)	71.4±10.8(100)	76.1±12.5 (106.3)
3(8)	71.5±11.4(100)	88.2±14.4* (123.4)
7(8)	70.9±10.6(100)	95.0±16.1**(134.0)
14(5)	70.6±10.2(100)	94.2±14.8* (133.4)
28(5)	70.8±10.8(100)	105.5±17.6**(149.0)
42(5)	70.9±10.5(100)	106.9±19.2* (150.8)

The values are mean±SD with the number of animals in parenthesis; Sham=sham operation, CBDL=Common bile duct ligated animals. Significant difference from sham operated animals(*; p<0.05, **; p<0.01).

Table 7. Changes of liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity after ligation of common bile duct in rats

Day(s) following ligation	ALDH activity (n mol NADH/mg protein/min)	
	Sham (%)	CBDL (%)
1(8)	95.8±13.2(100)	96.3±14.1 (100.5)
2(8)	96.7±14.1(100)	97.4±13.4 (100.7)
3(8)	97.1±13.8(100)	98.5±15.4 (101.4)
7(8)	96.1±13.6(100)	103.4±14.8 (107.6)
14(5)	95.6±13.2(100)	82.9± 9.7 (86.7)
28(5)	95.3±12.6(100)	60.4±11.2** (63.4)
42(5)	95.4±12.2(100)	55.8± 7.2*** (58.5)

The values are mean±SD with the number of animals in parenthesis; Sham=sham operation, CBDL=common bile duct ligated animals. Significant difference from sham operated animals (**; p<0.01, ***; p<0.001).

Table 8. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic alcohol dehydrogenas (ADH), microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) and catalase activities in ethanol intoxicated rats

Groups	ADH	MEOS	Catalase
	n mol NADH /mg protein/min	n mol acetaldehyde /mg protein/min	μ mol H ₂ O ₂ reduced /mg protein/min
Normal	77.2±11.6	5.37±0.78	32.5±3.6
Sham 2 weeks	77.6±12.2	5.39±0.76	33.1±3.6
CBDL 2 weeks	28.5± 5.9	7.71±1.45	23.8±4.2
Ethanol 74 days	86.2±12.9	6.73±1.01 ^a	32.4±3.8
Ethanol 74 days -Sham 2 weeks	88.3±13.6	6.61±1.25	31.9±3.3
Ethanol 74 days -CBDL 2 weeks	38.7± 5.0 ^{b, d}	7.73±1.34	27.0±3.2 ^c

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group.

Sham and CBDL 2 weeks rats were sacrificed 2 weeks after sham operation and common bile duct ligation respectively. Ethanol 74 days rats were given 5%(v/v) ethanol solution for 74 days. Ethanol 74 day-Sham 2 weeks, and Ethanol 74 days-CBDL 2 weeks rats were given 5%(v/v) ethanol solution for 74 days and these were operated Sham, and CBDL respectively at 2 weeks prior to killings.

a; p<0.05 vs. Normal rats.

b; p<0.05 vs. CBDL 2 weeks rats.

c; p<0.05 vs. Ethanol 74 days-Sham 2 weeks rats.

d; p<0.001 vs. Ethanol 74 days-Sham 2 weeks rats.

라 약함), 그리고 74일간 ethanol을 투여하면서 ethanol투여 60일만에 총담관을 결찰하고 2주 후에 희생시킨 쥐(이하 ethanol 투여하면서 총담관결찰한 군이라 약함)의 간 ADH, MEOS 및 catalase의 활성도는 표 8에 제시한 바와 같다. 간의 cytosolic ADH는 ethanol 투여군이 정상군의 77.2±11.6에 비해 86.2±12.9로 약 12%의 활성 증가를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었으며 ethanol

투여하면서 총담관결찰한 군은 ethanol 투여하면서 가수술한 군보다 약 56%(p<0.001)의 현저한 활성 감소를 나타내었다. 그러나 그 감소 정도는 총담관결찰 후 2주 경과한 군(이하 총담관결찰한 군이라 약함)보다 현저하지 못하였다.

간의 MEOS는 ethanol 투여군이 정상군에 비해 약 25%(p<0.05)의 의의있는 활성 증가를 나타내었다. 그리고 ethanol 투여하면서 총담관결찰한 군

Table 9. Effect of common bile duct ligation on liver aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity in ethanol intoxicated rats

Groups	ALDH (<i>n</i> mol NADH/mg protein/min)		
	Cytosolic fraction	Microsomal fraction	Mitochondrial fraction
Normal	58.9± 6.7	70.9±10.3	95.3±12.8
Sham 2 weeks	59.2± 8.1	70.6±10.2	95.6±13.2
CBDL 2 weeks	84.8±10.7	94.2±14.8	82.9± 9.7
Ethanol 74 days	68.9± 7.2	84.9±12.9	102.3±13.3
Ethanol 74 days -Sham 2 weeks	67.2± 6.8	82.7±13.4	103.6±14.6
Ethanol 74 days -CBDL 2 weeks	78.4±11.7	131.3±17.2 ^{a, b}	90.2±12.8

All values are expressed as mean±SD with 5 animals in each group.

Animal groups are explained as described under table 8.

a; p<0.01 vs. CBDL 2 weeks rats.

b; p<0.001 vs. Ethanol 74 days-Sham 2 weeks rats.

은 ethanol 투여하면서 가수술한 군보다 약 17%의 활성 증가를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었으며 그 활성도를 총담관결찰한 한 군과 비교하였을 때 별 차이는 없었다.

간의 catalase 활성도는 ethanol 투여군과 정상군 사이에 별 차이가 없었으나 ethanol 투여하면서 총담관결찰한 군은 ethanol 투여하면서 가수술한 군보다 약 15%(p<0.05)의 활성 감소를 나타내었다. 그러나 그 감소 정도는 총담관결찰한 군보다는 덜하였다.

Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 ALDH 활성도에 미치는 영향: Ethanol 투여군과 ethanol 투여하면서 가수술한 군, 그리고 ethanol 투여하면서 총담관결찰한 군의 간 ALDH 활성도를 표 9에 정리하였다. 간의 cytosolic ALDH는 ethanol 투여군이 정상군 58.9±6.7에 비해 68.9±7.2로 약 17%의 활성 증가를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었다. 그리고 ethanol 투여하면서 총담관결찰한 군도 ethanol 투여하면서 가수술한 군에 비해 약 17%의 활성 증가를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었다. 간의 microsomal ALDH는 ethanol 투여군이 정상군에 비해 약 20%의 활성 증가를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었다. 그러나 ethanol을 투여하면서 총담관결찰한 군은 ethanol 투여하면서 가수술한 군보다 약 58%(p<0.001)의 현저한 활성 증가를 나타내었으며 그 증가 정도는 총담관결찰한 군보다 더 현저하였다. 간의 mitochondrial ALDH 활성도는 ethanol 투여군과 정상군 사이, ethanol 투여하면서 가수술한 군 사이, 그리고 ethanol 투여하면서 총담관결찰한 군과 총담관결찰한 한 군 사이에서 의의있는 차이는 없었다.

고 찰

간의 배설기능에 장애가 있으면 간조직의 5'-nucleotidase, γ -glutamyltranspeptidase, leucine aminopeptidase 및 alkaline phosphatase 등 간세포의 막결합효소들은 그 활성이 증가^{39,40}되며 alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase 등 간세포질에 주로 존재하는 효소들은 그 활성이 감소된다^{41,42}고 한다. 담즙울체간에서 5'-nucleotidase, γ -glutamyl transpeptidase, leucine aminopeptidase 및 alkaline phosphatase 등의 활성 증가는 주로 담즙울체시 간에서 그 합성이 증가되어 나타난 결과^{39,40}라 한다. 그러나 담즙울체간에서 alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase 및 lactate dehydrogenase 등의 활성 저하는 간세포막의 투과성 항진이 그 원인^{41,42}이라 한다. 이와 같이 간세포에 존재하는 효소들은 담즙울체가 있을 때 그 활성의 변동이 초래된다.

Alcohol 대사효소들은 간세포에 주로 존재하는 만큼 간조직에 담즙울체가 야기되면 그 활성에 변동이 있을 것이다. Alcohol 대사효소들 중 ADH는 간염, 간경변증, 담도폐쇄 등 간담도질환시 간에서 그 활성이 서하되고²⁹ 간세포의 피사가 수반될 때와 특히 간조직에 담즙울체가 있을 때는 혈중에 출현하는³⁰ 것으로 알려져 있다.

이 실험에서 흰쥐의 총담관을 결찰하고 심한 담즙울체를 야기시켰을 때 간의 cytosolic ADH 활성도는 총담관결찰 후 7일부터 그 이후의 실험기간을 통해서 현저한 감소를 나타내었다. 이 성적은 위의

문헌상의 결과와 일치되며 활성 감소의 원인은 효소의 혈중 누출의 결과가 아닌가 생각된다.

이 실험에서 담즙울체간의 MEOS 활성도는 총담관결찰 후 3일부터 증가되어 전실험기간을 통해 현저한 증가를 나타내었다. 팍등⁴³⁾은 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 경시적으로 담즙울체간의 microsomal 5'-nucleotidase, microsomal γ -glutamyl transpeptidase, microsomal alkaline phosphatase의 활성도를 측정했을 때 간의 microsomal 5'-nucleotidase는 총담관결찰 후 3일부터, 간의 microsomal γ -glutamyl transpeptidase는 총담관결찰 후 2일부터, 그리고 간의 microsomal alkaline phosphatase는 총담관결찰 후 1일부터 현저한 활성 증가를 보였다고 하며, 정 및 곽⁴⁴⁾은 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 경시적으로 담즙울체간의 microsomal particle-bound aminopeptidase 활성도를 측정하였을 때도 이 효소는 총담관결찰 후 7일부터 현저한 증가를 보였다고 한다. 팍등⁴³⁾과 정 및 곽⁴⁴⁾은 담즙울체간에서 이 microsome 효소들의 활성 증가는 이들 효소의 합성 증가가 그 원인인 것 같다고 했으며 담즙울체로 인한 담즙산들의 체내 증가가 이들 효소의 합성을 유도한 것이라 추론했다. MEOS도 이들 효소와 마찬가지로 microsome에 존재하는 효소이므로 담즙울체간에서 그 합성이 증가된 것이 아닌가 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 분명하게 단정하기는 어렵다. 그리고 담즙울체간에서 MEOS의 활성 증가는 담즙울체로 인한 간손상을 더욱 상승시키는 효과가 있지 않을까 생각된다. 왜냐하면 간세포내의 MEOS의 활성 증가는 간세포내의 산소 소비를 증가시켜 hypoxia를 조장할 수 있고⁴⁵⁾, 간독성물질의 대사를 활성화시켜 독성을 더욱 증가시킬 수 있으며⁴⁶⁾, smooth endoplasmic reticulum에서 대사되어 carcinogen이 되는 물질의 활성화가 촉진된다⁴⁵⁾는 실증이 있기 때문이다.

이 실험에서 담즙울체간의 catalase 활성도는 총담관결찰 후 3일부터 감소되었으며 이 후에도 계속 감소되는 치를 보였다. 그리고 담즙울체간의 cytosolic ALDH와 microsomal ALDH는 총담관결찰 후 3일부터 그 활성이 증가되어 42일까지 계속 높은 활성 증가를 나타내었다. 그러나 mitochondrial ALDH의 활성도는 총담관결찰 후 28일부터 감소되었다. 이 성적에서 담즙울체간의 microsomal ALDH의 활성 증가는 담즙울체간에서 MEOS와 함께 coordinate induction이된 결과가 아닌가 생각되며 mitochondrial ALDH 활성도는 심한 담즙

울체가 야기되는 담관결찰 후 28일째부터 그 활성이 감소되는 점으로 미루어 이 효소는 담즙울체가 심할 때 mitochondria 밖으로 누출되는 효소라 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 이들 효소가 간에 심한 담즙울체가 있을 때 그 활성에 변동이 있음을 알 수 있을 뿐 그 원인이 무엇인지는 알기가 어렵다.

이 실험에서 흰쥐에게 5%(v/v) ethanol을 74일간 투여했을 때 간의 cytosolic ADH는 의의있는 증가를 나타내지 않았다. 이 성적은 만성 alcohol 중독환자에서 간의 ADH 활성이 변동되지 않는다⁴⁷⁾는 성적과 일치된다. 이 실험에서 간의 cytosolic ADH는 ethanol을 투여하면서 총담관 결찰한 군이 ethanol을 투여하면서 가수술한 군보다 그 활성이 현저히 감소되었다. 그러나 그 감소 정도는 총담관결찰만 한 군보다 현저하지 못하였다. 이 성적은 만성 alcohol 중독시에는 담즙울체로 간손상이 야기되더라도 담즙울체에 관한 영향만 나타날 뿐이며 alcohol 중독에 관한 영향은 나타나지 않는다는 것을 반영해 주는 것이다. 그러나 이런 조건의 실험만으로써는 명확하게 단정할 수는 없다.

이 실험에서 간의 MEOS 활성도는 흰 쥐에게 5%(v/v) ethanol을 74일간 투여했을 때 의의있는 활성 증가를 나타내었다. 이 성적은 흰쥐에게 만성 alcohol 중독을 야기시키면 간의 MEOS의 활성이 증가한다는 Teschke 등⁴⁸⁾의 성적과 일치한다. 장기간 ethanol을 섭취하면 간세포의 smooth endoplasmic reticulum은 증식되고 MEOS를 통한 alcohol 산화가 활발해진다⁴⁹⁾고 하며 이 현상은 alcohol 섭취에 대한 적응현상이라 해석하고 있다. 이 실험에서 간의 MEOS나 catalase의 활성도는 ethanol을 투여하면서 총담관을 결찰한 군과 총담관결찰만 한 군 사이에 별 차이가 없었다. 이 성적도 역시 흰쥐에게 만성 alcohol 중독과 담즙울체가 병행했을 때는 담즙울체에 대한 영향만 나타낼 뿐이라는 것을 암시해 주는 것이다.

이 실험에서 간의 모든 ALDH는 ethanol을 투여했을 때 의의있는 활성 증가를 나타내지 않았다. 그리고 간의 cytosolic ALDH와 mitochondrial ALDH는 ethanol을 투여하면서 총담관을 결찰했을 때 의의있는 활성 증가가 없었다. 그러나 간의 microsomal ALDH는 ethanol을 투여하면서 총담관을 결찰했을 때 현저한 활성 증가를 나타내었으며 그 활성 증가의 정도는 총담관 결찰만 한 군보다 더 현저하였다. 간의 microsomal ALDH가 ethanol을 투여하면서 총담관을 결찰했을 때 그 활

성이 현저히 증가되는 것은 MEOS의 활성 증가와 밀접한 관련을 가지고 있다고 생각된다. 그것은 MEOS의 활성 증가로 microsomal ALDH의 기질 공급량이 증대되는 것이 하나의 원인이 될 수 있기 때문이다. 그러나 이 실험만으로는 이 효소의 합성 증가에 의한 것인지 촉매효율의 증가에 의한 것인지 확실치 않다.

이상 문헌상의 지견과 이 실험의 성적을 고찰해 볼 때 담즙울체간에서의 ADH의 활성 감소는 간세포 외로의 누출에 기인하는 것으로 생각되며, 담즙울체간에서 MEOS의 활성 증가는 합성증가가 원인이라 생각된다. 담즙울체간에서 catalase의 활성 감소는 그 원인을 알 수 없다. 담즙울체간에서 cytosolic ALDH와 microsomal ALDH는 활성이 증가되며 이 중 microsomal ALDH 활성증가는 MEOS와 함께 coordinate induction이 된 것이 아닌가 생각된다. 그리고 mitochondrial ALDH는 심한 담즙울체가 있을 때 mitochondria 외로 누출되어 활성이 감소되는 효소라 생각된다.

흰쥐에게 5%(v/v) ethanol을 74일간 투여하면서 총담관결찰한 군과 총담관결찰한 한 군 사이에 간 조직의 ADH, MEOS, catalase 및 총 ALDH의 활성을 비교해 볼 때 담즙울체에 관한 영향만 나타났으며 ethanol 중독에 관한 영향은 별로 나타나지 않았다. 그러나 이 문제는 이 실험만으로는 단정적으로 말할 수가 없으며 앞으로 실험조건을 달리하면서 계속 연구해야 할 것이다.

요 약

흰쥐 담즙울체간에서 ADH, MEOS, catalase 및 ALDH의 활성변동과 아울러 ethanol 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 이들 효소활성도에 어떤 영향을 미치는가를 알아 보기 위하여 흰쥐의 총담관을 결찰하고 1일부터 42일까지 경시적으로 담즙울체간에서 이들 효소의 활성도를 측정하는 한편 ethanol 중독을 야기시킨 흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 2주 경과된 간에서도 이들 효소의 활성도를 측정하였다.

정상 흰쥐 간의 cytosolic ADH 활성도는 77.2 ± 11.6 nmol NADH/mg protein/min이며 MEOS는 5.37 ± 0.78 nmol acetaldehyde/mg protein/min 이었고 catalase는 32.5 ± 3.6 μ mol H₂O₂ reduced/mg protein/min 이었다. 그리고 cytosolic ALDH는 58.9 ± 6.7 nmol NADH/mg protein/min, microsomal ALDH는 95.3 ± 12.8 이었다.

담즙울체간의 cytosolic ADH 활성도는 가수술군에 비해 총담관결찰군이 수술후 7일째부터 의의있는 감소를 나타내었으며 이 후 계속 감소되어 42일 후에는 약 79%의 현저한 감소를 나타내었다.

담즙울체간의 MEOS 활성도는 가수술군에 비해 총담관결찰군이 3일째부터 의의있는 증가를 나타내었으며 이 후 계속 증가되어 42일 후에는 약 51%의 증가를 나타내었다.

담즙울체간의 catalase 활성도는 가수술군에 비해 총담관결찰군이 3일째부터 의의있는 감소를 나타내었으며 이 후 계속 감소되어 42일 후에는 약 40%의 감소를 나타내었다.

담즙울체간의 cytosolic ALDH는 가수술군에 비해 총담관결찰군이 3일째부터 의의있는 활성 증가를 나타내었으며 이 후 계속 증가되어 42일 후에는 약 58%의 활성 증가를 나타내었다. 그리고 microsomal ALDH 활성도도 총담관결찰 후 3일째부터 증가되어 42일 후에는 약 51%의 활성 증가를 나타내었다. 그러나 mitochondrial ALDH 활성도는 총담관결찰 후 28일부터 감소되어 42일 후에는 약 41%의 감소를 나타내었다.

간의 cytosolic ADH 활성도는 흰쥐에게 5%(v/v) ethanol을 74일간 투여했을 때 의의있는 증가를 보이지 않았으며 ethanol을 투여하면서 총담관결찰한 군은 ethanol을 투여하면서 가수술한 군보다 약 50%의 활성 감소를 나타내었다. 그러나 그 감소 정도는 총담관 결찰한 한 군보다 현저하지 못하였다.

간의 MEOS 활성도는 쥐에게 5%(v/v) ethanol을 74일간 투여했을 때 의의있는 활성증가를 나타내었다. 그러나 ethanol을 투여하면서 총담관결찰한 군과 총담관결찰한 한 군 사이에는 별 차이가 없었다.

간의 catalase는 ethanol을 투여하면서 총담관결찰한 한 군이 ethanol을 투여하면서 가수술한 군보다 의의있는 활성감소를 나타내었으나 총담관결찰한 한 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다.

간의 cytosolic ALDH는 쥐에게 5%(v/v) ethanol을 74일간 투여했을 때 의의있는 활성 증가를 나타내지 않았으며 ethanol을 투여하면서 총담관결찰한 한 군에서도 의의있는 활성 증가는 나타나지 않았다. 간의 microsomal ALDH는 ethanol을 투여하면서 총담관결찰한 한 군이 현저한 활성 증가를 나타내었으며 그 활성도의 증가는 총담관결찰한 한 군보다는 현저하였다. 간의 mitochondrial ALDH 활성도는 흰쥐에게 5%(v/v) ethanol을 74일간 투

여했을 때나 ethanol을 투여하면서 총담관결찰했을 때나 모두 별동을 나타내지 않았다.

참 고 문 헌

1. Kai LT: Enzymology of human alcohol metabolism. *Adv Enzymol* 1977 ; 45 : 427.
2. Winkler K, Lundquist F, Tygstrup N: The hepatic metabolism of ethanol in patients with cirrhosis of the liver. *J Clin Lab Invest* 1969 ; 23 : 59.
3. Bosron WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase, in Jakoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, New York, Academic Press, 1980, Vol 1, p 231.
4. Roach M: Microsomal ethanol oxidation: Activity in vitro and in vivo, in Majchrowicz E (ed): *Biochemical Pharmacology of Ethanol*, New York, Plenum Press, 1975, p 33.
5. Chance B, Oshino N, Sugano T, Jamieson D: Role of catalase in ethanol metabolism, in Thurman RG, Yonetani T, Williamson JR, Chance B (eds): *Alcohol and Aldehyde Metabolizing System*, New York, Academic Press, 1974, p 169.
6. Svanas GW, Weiner H: Aldehyde dehydrogenase activity as the rate-limiting factor for acetaldehyde metabolism in rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1985 ; 236 : 36.
7. Akesson A: On the zinc content of horse liver alcohol dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun* 1964 ; 17 : 211.
8. Arslanian MJ, Pascoe E, Reinhold JG: Rat liver alcohol dehydrogenase Purification and properties. *Biochem J* 1971 ; 125 : 1039.
9. von Wartburg JP, Papenberg L, Aebi H: An atypical human alcohol dehydrogenase. *Can J Biochem* 1965 ; 43 : 889.
10. Kim BK: *Enzyme nomenclature*, IUB New York, Academic Press, 1979, p 29.
11. Tsai CS: Multifunctionality of liver alcohol dehydrogenase. *Adv Exp Med Biol* 1980 ; 132 : 163.
12. Pietruszko R: Alcohol and aldehyde dehydrogenase isozymes from mammalian liver their structural and functional differences. *Curr Top Biol Med Res* 1980 ; 4 : 107.

13. Moser K, Papenberg J, von Wartburg JP: Heterogenitet und Organverteilung der Alkoholdehydrogenase bei Verschiedenen Spezies. *Enzymol Biol Clin* 1969 ; 9 : 447.
14. Raskin NH, Sokoloff L: Enzymes catalyzing ethanol metabolism in neural and somatic tissues of the rat. *J Neurochem* 1972 ; 19 : 273.
15. Thurman RG, Ley HG, Scholz R: Hepatic microsomal ethanol oxidation. Hydrogen peroxide formation and the role of catalase. *Eur J Biochem* 1972 ; 25 : 420.
16. Teschke R, Hasumura Y, Lieber CS: Hepatic microsomal alcohol-oxidizing system. *J Biol Chem* 1975 ; 250 : 7397.
17. Teschke R, Hasumura Y, Lieber CS: Hepatic microsomal alcohol-oxidizing system in normal and acatalasemic mice: Its dissociation from the peroxidatic activity of catalase-H₂O₂. *Mol Pharmacol* 1975 ; 11 : 841.
18. Roach MK, Reese WN, Creaven PJ: Ethanol oxidation in microsome fraction of rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1969 ; 36 : 596.
19. Sumner JB, Dounce AL: Catalase II. *J Biol Chem* 1939 ; 127 : 439.
20. Deisseroth A, Dounce AL: Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiol Rev* 1970 ; 50 : 319.
21. De Duve C, Baudhuin P: Peroxisomes (Microbodies and related particles). *Physiol Rev* 1966 ; 46 : 323.
22. Kim BK: *Enzyme nomenclature*, IUB New York, Academic Press, 1979, p 63.
23. Jones GL, Teng YS: A chemical and enzymological account of the multiple form of human liver aldehyde dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta* 1983 ; 745 : 162.
24. Deitrich RA: Tissue and subcellular distribution of mammalian aldehyde oxidizing

- capacity. *Biochem Pharmacol* 1966 ; 15 : 1911.
25. Marjanen LA: Comparison of aldehyde dehydrogenase from cytosol and mitochondria of rat liver. *Biochem Biophys Acta* 1973 ; 327 : 238.
 26. Horton AA, Barrett MC: The subcellular localization of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1975 ; 167 : 426.
 27. Crow KE, Kitson TM, MacGibbon AKH, Batt RD: Intracellular localization and properties of aldehyde dehydrogenase from sheep liver. *Biochim Biophys Acta* 1974 ; 350 : 121.
 28. Koivula T: Subcellular distribution and characterization of human liver aldehyde dehydrogenase fractions. *Life Sci* (Oxford) 1975 ; 16 : 1563.
 29. Krasner DN, Goldberg A: Relation between hepatic alcohol dehydrogenase activity and the ascorbic acid in leucocytes of patients with liver disease. *Clin Sci Mol Med* 1975 ; 49 : 603.
 30. Mezey E, Cherrick GR, Holt PR: Serum alcohol dehydrogenase, an indicator of intrahepatic cholestasis. *N Engl J Med* 1968 ; 279 : 241.
 31. Eagon PK, Willett JE, Seguiti SM: Androgen responsive functions of male rat liver. Effect of chronic alcohol ingestion. *Gastroenterology* 1987 ; 93 : 1162.
 32. 박춘식, 박정식 : 흰쥐 간세포 분획법. I. Mitochondria 및 Microsome 의 분리. 계명의대논문집 1986 ; 5 : 45.
 33. Koivula T, Koivusalo M: Liver aldehyde and alcohol dehydrogenase activities in rat strains genetically selected for their ethanol preference. *Biochem Pharmacol* 1975 ; 24 : 1807.
 34. Koivula T, Koivusalo M: Different form of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem Biophys Acta* 1975 ; 397 : 9.
 35. Lieber CS, Decarli LM: Ethanol oxidation by hepatic microsomes: Adaptive increase after ethanol feeding. *Science* 1986 ; 162 : 917.
 36. Nelson DP, Kiesow LA: Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Anal Biochem* 1972 ; 49 : 474.
 37. Greenberg DM, Rothstein: Method for isolation and degradation of labeled protein, in Colowick SP, Kaplan NO(eds): *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1957, Vol 4, p 708.
 38. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949 ; 177 : 751.
 39. 박춘식, 장억규 : 흰쥐 담즙울체간장의 5'-Nucleotidase 와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase 의 활성치. 계명의대논문집 1985 ; 4 : 1.
 40. 박춘식 : 총수담관을 결찰한 흰쥐의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase 에 미치는 Actinomycin-D 의 영향. 경북의대잡지 1980 ; 21 : 126.
 41. Lind S: A comparison between the patterns (GOT, GPT, LDH) in serum and tissue extracts in cardiac hepatic disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1958 ; 10 : 303.
 42. 박춘식, 이상일 : 흰쥐 담즙울체간의 Malate Dehydrogenase 의 활성치. 계명의대논문집 1985 ; 4 : 131.
 43. 박춘식, 김여희, 문교철 : 흰쥐 담즙울체간의 Plasma Membrane, Mitochondria 및 Microsome 5'-Nucleotidase Gamma-Glutamyl Transpeptidase 의 활성치. 계명의대논문집 1987 ; 6 : 67.
 44. 정상호, 박춘식 : 흰쥐 담즙울체간의 Leucine Aminopeptidase 의 활성치. 계명의대논문집 1987 ; 6 : 210.
 45. Kamada T, Sato N: Recent progress in studies on alcoholic liver disease. *Clinic All-Round* (JPN) 1985 ; 34 : 247.
 46. Sato C, Matsuda Y, Lieber CS: Increased hepatotoxicity of acetoaminophen after chronic ethanol consumption in the rat.

- Gastroenterology* 1981 ; 80 : 140.
47. Mezey E, Tobon F: Rates of ethanol clearance and activities of the ethanol-oxidizing enzymes in chronic alcoholic patients. *Gastroenterology* 1971 ; 61 : 707.
48. Teschke R, Hasumura Y, Joly JG, Ishii H, Lieber CS: Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): Purification and properties of a rat liver system free of catalase. *Biochim Biophys Res Commun* 1972 ; 49 : 1187.