

주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 및 간의 α -D- 및 β -D-Glucosidase 활성에 미치는 영향*

계명대학교 의과대학 생화학교실

곽춘식 · 임종술 · 김여희

서 론

장기간 다량의 음주를 하면 지방간, 간염, 간경변증이 초래(Christoflerson과 Poulsen, 1979; Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b) 될 수 있고 이때 간세포는 심한 형태학적 변화를 받는다(Christoflerson과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987). 주정 중독시에는 간에서 형태학적 변화가 관찰될 뿐만 아니라 대사성 변화도 야기되는 것(Ritchie, 1980; Ellenhorn과 Barceloux, 1988)으로 알려져 있다.

간의 배설기능 장애로 간조직에 담즙울체가 야기되면 간조직은 형태학적 변화(Moritz와 Snodgrass, 1972; Desmet, 1979; 장대성 등, 1987, 김효석 등, 1989)가 나타남과 동시에 심한 물질대사의 변동도 초래된다(Sherlock, 1985a). 이때 간조직에서는 여러 효소의 활성이 변동되며 이들 효소 중에서도 심한 활성변동을 나타내는 효소들은 5'-nucleotidase(곽춘식과 장익규, 1985; 곽춘식 등, 1987), alkaline phosphatase(Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; Toda 등, 1980; 곽춘식 등, 1987), leucine aminopeptidase(곽춘식, 1980; 정상호와 곽춘식, 1987), γ -glutamyl transpeptidase(곽춘식과 장익규, 1985; 곽춘식 등, 1987), alanine aminotransferase(김여희 등, 1989), aspartate aminotransferase(김여희 등, 1990), lactate dehydrogenase(곽춘식과 이상일, 1985), malate dehydrogenase(곽춘식과 이상일, 1985), alcohol dehydrogenase(곽춘식 등, 1988), glutathione S-transferase(권용철 등, 1990), glutathione peroxidase(권용철 등, 1990), monoamine oxidase(문교철과 곽춘식, 1989), catalase(곽춘식 등 1988), xanthine oxidase

(곽춘식, 1985), glutathione reductase(권용철 등, 1990), microsomal ethanol oxidizing system(곽춘식 등, 1988), aldehyde dehydrogenase(곽춘식 등, 1988) 등과 glycosidase들인 α -D-mannosidase(박은미, 1990), β -D-mannosidase(박은미, 1990), β -D-glucuronidase(박은미, 1990), α -D-glucosidase(박은미, 1990) 및 β -D-glucosidase(박은미, 1990)를 들 수 있다. 특히 이 효소들 중 glycosidase의 한가지인 α -D-glucosidase(α -D-glucoside glucohydrolase, EC 3.2.1.20)는 포유동물 간의 lysosome에 주로 분포되어 있으며(Bruni 등, 1969; Jeffrey 등, 1970; Kim, 1979; Dissous 등, 1981; Tsuji와 Suzuki, 1987) maltose, glycogen 및 각종 oligosaccharide와 polysaccharide에서 말단 비환원 위치에 α -1, 4 결합으로 결합되어 있는 α -D-glucosyl기를 가수분해 시키는 반응을 촉매하는 효소(Bruni 등, 1969; Jeffrey 등, 1970; Kim, 1979; Dissous 등, 1981; Dahlqvist, 1984)이며 역시 glycosidase의 하나인 β -D-glucosidase(β -D-glucoside glucohydrolase, EC 3, 2, 1, 21)도 포유동물간의 세포질과 lysosome에 주로 존재하는 효소(Kim, 1979; Daniels 등, 1981; Daniels와 Glew, 1984; Fabbro 등, 1984)로서 glycoprotein에 결합된 oligosaccharide나 glucocerebroside에 결합되어 있는 ceramide에서 말단 비환원 위치에 β -1, 4 결합으로 결합된 β -D-glucosyl기를 가수분해 시키는 반응을 촉매하는 효소(Kim, 1979; Daniels와 Glew, 1984)이다. 이와같이 glycosidases는 간조직에 그 함유량이 많을 뿐만 아니라 특히 담즙울체간에서 그 함성이 증가된다(박은미, 1990). 따라서 α -D-glucosidase와 β -D-glucosidase는 주정 중독과 담즙울체로 인한 간손상이 병행되었을 때는 심한 활성변동이 있을 것으로 생각된다.

일반적으로 간담도 질환시 음주는 해롭다고 하며

* 이 연구는 1992년도 계명대학교 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어졌음.

이 사실은 주정 중독으로 인한 간질병의 유발(Christoffersen과 Poulsen, 1979; Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b)과 간세포의 형태 및 생화학적 변화로 미루어 볼 때 당연하다고 생각된다. 그러나 아직도 그 기전은 분명치 않다.

이 연구는 간담도 질환시 음주의 해로운 점에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 만성 및 급성 주정 중독을 시킨 흰쥐와 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 담즙울체를 야기시키거나 담즙울체가 진행되는 흰쥐에게 급성 주정 중독을 시킨 후 간의 lysosomal α -D-glucosidase, lysosomal acid β -D-glucosidase, cytosolic broad specificity β -D-glucosidase와 혈청의 lysosomal α -D-glucosidase, broad specificity β -D-glucosidase의 활성도를 측정하여 그 성적을 보고코자 한다.

재료 및 방법

동물 및 처치 : 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280-320g되는 Sprague-Dawley종의 수 흰쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 총 26군으로 나누었다(도 1). 즉 정상군(1군), 총담관결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 총담관 결찰군(총 5군), 단순 개복술 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 가수술군(총 5군), Eagon 등(1987)의 방법에 따라 5% (v/v) ethanol을

60일간 섭취시킨 만성 주정 중독군(1군), 5% (v/v) ethanol을 60일간 섭취시킨 후 계속 5% ethanol을 섭취시키면서 총담관결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군(총 5군), 5% (v/v) ethanol을 60일간 섭취시킨 후 가수술을 한 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군(총 5군), Liu 등(1975)의 방법에 따라 체중 kg당 4g의 ethanol을 투여하고 1.5시간 및 24시간 후에 죽인 급성 주정 중독군(총 2군), 총담관결찰 14일 후 체중 kg당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 죽인 총담관 결찰 후 급성 주정 중독을 시킨 군(총 2군) 등이다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양사료 주식회사의 실험동물사료를 먹게 하였다.

만성 주정 중독군, 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 및 만성 주정 중독 후 총담관 결찰을 한 군에서는 물대신 5% (v/v) ethanol 용액(Eagon 등, 1987)을 자유로이 먹게 하였다. 그리고 급성 주정 중독은 흰쥐 체중 kg당 4g의 ethanol이 투여되도록 25% (v/v) ethanol 용액을 조제(Liu 등, 1975)하여 1회 경구 투여하였다.

총담관 결찰술, 가수술 및 간적출술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 일정한 시간에 시행하였으며 쥐를 12시간 금식시킨 후 ether마취하에서 실시하

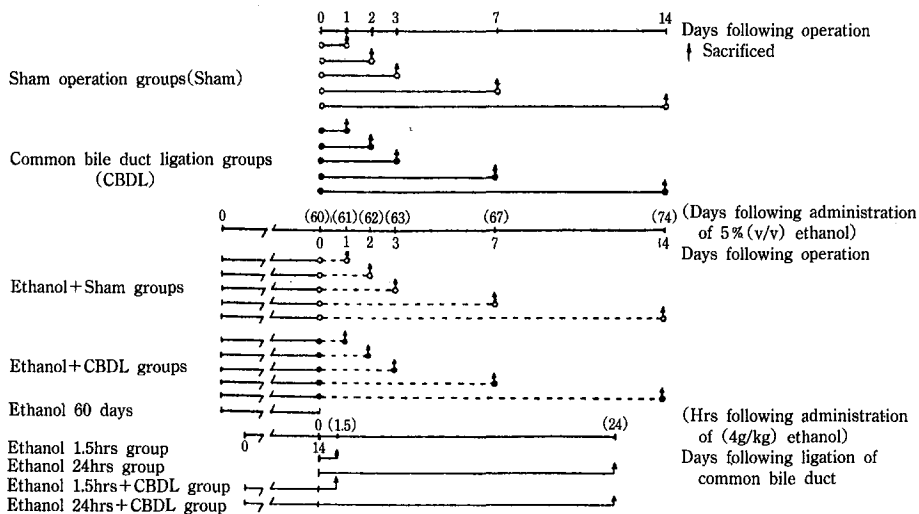


Fig. 1. Experimental design.

었다.

총담관 결찰은 간근위부와 약 1cm 아래쪽의 원 위부의 총담관을 각각 이중결찰한 후 그 중간부위를 절단하였으며 간 적출시 담관의 폐쇄상태를 확인 하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다.

모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사 시켰다. 그리고는 간 문맥에 삽관한 후 4℃의 0.25M sucrose액으로 관류 하여 간에 남아있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 채취한 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

시 약 : 4-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, 4-methylumbelliferyl- β -D-glucopyranoside, 4-nitrophenol, 4-methylumbelliferone, ethylenediaminetetraacetic acid, bovine serum albumin, glycine, α -D-glucosidase(type III, from yeast, G 7256), β -D-glucosidase(from almonds, G 0395) 및 단백질준액(10 g/100ml bovine albumin)등은 Sigma사의 제품을 사용하였으며 그의 시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

효소 시료 조제 : 적출한 간을 즉시 2~4℃로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 1g을 두번 취하여 각각 9배량의 증류수 또는 0.15M sodium chloride액을 넣어 teflon glass homogenizer(Thomas사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inch)로 2~4℃를 유지하면서 400 rpm의 속도로 5회 왕복 마쇄하여 각각 10w/v% 간 조직 균질액을 만들었다.

한편 간 절편 약 3g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 위와 같은 방법으로 10w/v%의 간 조직 균질액을 만들었으며 이 간조직 균질액 20ml를 취하여 sucrose linear density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 세포질 분획을 분리하였다. 세포 분획은 2~4℃에서 시행하였으며 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 OTD-65 B ultracentrifuge였다. Cytosol분획의 분리에 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 T865 rotor였다.

Lysosomal α -D-glucosidase와 lysosomal acid β -D-glucosidase활성도 측정용 시료는 0.15M sodium chloride액으로 제조한 10w/v% 간 조직 균질액을 105,000×g에서 1시간 원심분리한 후 얻어진 침사에

0.15M sodium chloride액 일정량을 넣고 재현탁시킨 후 ultrasonic dismembrator(Fisher model 300)로 2~4℃를 유지하면서 20±0.4 Kcycle/sec의 조건으로 2분씩 5회 초음파 마쇄를 하여(Ben Yosef와 Nadler, 1978) 사용하였다. 그리고 cytosolic broad-specificity β -D-glucosidase활성도 측정용 시료는 cytosol 분획을 아무 처리 없이 그대로 사용하였다.

효소 활성도 측정 : 혈청의 α -D-glucosidase와 간의 lysosomal α -D-glucosidase활성도 측정은 4-nitrophenyl α -D-glucopyranoside를 기질로 사용하여 pH 4.5(50mM acetate buffer, PH 4.5), 37℃ 조건에서 30분간 반응하여 생성된 4-nitrophenol을 비색정량하는 Dissous등(1981)의 방법에 의하였으며 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1mg의 단백 또는 1ml의 혈청이 반응하여 생성한 4-nitrophenol을 nmol로 나타내었다.

혈청과 간의 broad-specificity β -D-glucosidase와 간의 lysosomal acid β -D-glucosidase활성도 측정은 4-methylumbelliferyl β -D-glucopyranoside를 기질로 사용하여 pH 5.5(1M acetate buffer, pH 5.5), 37℃ 조건에서 1시간 반응하여 생성된 4-methylumbelliferone을 excitation파장 366nm와 emission 파장 445nm에서 형광을 비색하는 Ben Yosef와 Nadler (1978)법에 의하였으며 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1mg의 단백 또는 1ml 혈청이 반응하여 생성한 4-methylumbelliferone을 nmol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제 효소들을 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 β -D-glucosidase들의 활성도 측정에 사용한 분광형광계는 Farrand spectrofluorometer(MK2)였으며 그 외 효소활성 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varian cary 210)였다.

단백정량 : 효소 시료 중의 단백질량은 0.5M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백을 정제하는 Greenberg와 Rothstein(1957)법으로 효소 시료 중의 단백을 정제한 다음 biuret법(Gornall 등, 1949)으로 정량하였다.

성적검정 : 유의성 검정은 Student's t-test로 하였다.

성 적

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향 : 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 1과 같다.

쥐간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 만성 주정 중독군과 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에서는 별 변동을 나타내지 않았다. 정상쥐의 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가수술군에 비해 이 효소의 활성도가 수술 후 7일에는 약 135% ($P < 0.001$), 14일에는 약 163% ($P < 0.001$)의 현저한 증가를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서도 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비하여 이 효소의 활성도가 수술

후 7일에는 약 54% ($P < 0.05$), 14일에는 약 83% ($P < 0.001$)의 증가를 나타내었다. 그러나 이 군에서 이 효소의 활성도 변동을 총담관만 결찰한 군과 비교했을 때는 수술 후 7일 및 14일에 덜 현저한 활성도 증가를 나타내었다. 즉 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 수술 후 7일에는 약 39% ($P < 0.01$), 14일에는 약 41% ($P < 0.01$) 활성이 낮았다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향 : 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 2와 같다.

쥐간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 쥐간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 정상군이나 그 대

Table 1. Effect of common bile duct ligation on liver lysosomal α -D-glucosidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s)	α -D-Glucosidase activities (nmol 4-nitrophenol mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
following operation	(Normal; 0.27±0.06, Ethanol; 0.23±0.05)			
1	0.28±0.06	0.28±0.06	0.26±0.06	0.27±0.07
2	0.27±0.05	0.32±0.07	0.25±0.05	0.30±0.08
3	0.26±0.06	0.35±0.08	0.25±0.06	0.33±0.07
7	0.26±0.05	0.61±0.11 ^c	0.24±0.05	0.37±0.09 ^{d,h}
14	0.27±0.06	0.71±0.16 ^c	0.23±0.05	0.42±0.08 ^{fh}

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

Animal groups are described in Fig. 1.

c; $P < 0.001$ vs. Sham, d; $P < 0.05$ vs. Ethanol+Sham, f; $P < 0.001$ vs. Ethanol+Sham, h; $P < 0.01$ vs. CBDL

Table 2. Effect of common bile duct ligation on liver lysosomal α -D-glucosidase activities in acute ethanol intoxicated rats

Normal	α -D-Glucosidase activities (nmol 4-nitrophenol mg protein ⁻¹ min ⁻¹)				
	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs +CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs +CBDL
0.27	0.71	0.25	0.62	0.24	0.65
±0.06	±0.16 ^l	±0.05	±0.12 ^p	±0.06	±0.14 ^s

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

Animal groups are described in Fig. 1.

l; $P < 0.001$ vs. Normal, p; $P < 0.001$ vs. Ethanol 1.5 hrs, s; $P < 0.001$ vs. Ethanol 24 hrs

조근인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 현저한 증가를 나타내었다. 즉 이 효소의 활성도는 총담관 결찰 후 14일 경과한 군이 정상군보다 약 163% ($P < 0.001$)의 증가를 나타내었으며 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 다음 1.5시간 및 24시간에 죽인 군은 그 대조군보다 각각 약 148% ($P < 0.001$)와 약 171% ($P < 0.001$)의 증가를 나타내었다. 그러나 이 효소 활성도는 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관결찰 후 14일 경과한 군을 비교했을 때는 상호간에 별차이를 나타내지 않았다.

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 lysosomal α -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향 : 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 혈청 lysosomal α -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 3과 같다.

쥐 혈청의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는

만성 주정 중독군과 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에서는 별 변동을 나타내지 않았다. 그러나 총담관을 결찰한 군에서는 이 효소가 총담관 결찰 후 14일에 약 102% ($P < 0.01$) 현저한 활성증가를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 이 효소가 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비하여 총담관 결찰 후 3일에는 약 74% ($P < 0.01$), 7일에는 약 85% ($P < 0.01$), 14일에는 약 152% ($P < 0.001$)의 현저한 활성증가를 나타내었으며 아울러 총담관을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군을 비교했을 때도 이 군은 총담관을 결찰한 군보다 총담관 결찰 후 3일부터 14일까지 더 높은 활성도 증가를 나타내었다. 그러나 유의성은 없었다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 혈청 lysosomal α -glucosidase 활성도에 미치는 영향 : 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 혈청 lysosomal α -D-glucosidase

Table 3. Effect of common bile duct ligation on serum lysosomal α -D-glucosidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Das(s) following operation	α -D-Glucosidase activities (nmol 4-nitrophenol $ml^{-1} min^{-1}$)			
	Sham	(Normal; 5.48 ± 1.44 , Ethanol; 5.62 ± 1.50)		
		CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
1	5.53 ± 1.54	5.56 ± 1.59	5.74 ± 1.57	6.38 ± 1.63
2	5.46 ± 1.48	6.14 ± 1.84	5.77 ± 1.61	7.76 ± 1.78
3	5.49 ± 1.45	6.26 ± 1.96	5.69 ± 1.55	9.92 ± 1.92^e
7	5.44 ± 1.47	7.95 ± 2.16	5.66 ± 1.54	10.46 ± 2.27^e
14	5.47 ± 1.43	11.04 ± 2.97^b	5.61 ± 1.52	14.14 ± 2.78^f

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

b; $P < 0.01$ vs. Sham, e; $P < 0.01$ vs. Ethanol+Sham, f; $P < 0.001$ vs. Ethanol+Sham

Table 4. Effect of common bile duct ligation on serum lysosomal α -D-glucosidase activities in acute ethanol intoxicated rats

Normal	α -D-Glucosidase activities (nmol 4-nitrophenol $ml^{-1} min^{-1}$)				
	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs +CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs +CBDL
5.48	11.04	5.78	13.72	5.61	11.60
± 1.44	$\pm 2.97^k$	± 1.53	$\pm 3.43^o$	± 1.55	$\pm 3.12^r$

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

k; $P < 0.01$ vs. Normal, o; $P < 0.01$ vs. Ethanol 1.5 hrs, r; $P < 0.01$ vs. Ethanol 24 hrs

활성도의 변동은 표 4와 같다.

흰쥐의 혈청 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 혈청에서 이 효소의 활성도는 총담관 결찰 후 14일 경과한 군과 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 대조군인 정상군이나 급성 주정 중독군에 비해 현저히 증가되었다. 즉 이 효소의 활성도는 총담관 결찰 14일 경과한 군이 정상군보다 약 101% ($P < 0.01$)의 증가를 나타내었으며 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 다음 1.5시간 및 24시간에 죽인 군은 그 대조군보다 각각 약 137% ($P < 0.01$)와 약 107% ($P < 0.01$)의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 시킨 군과 그 대조군인 총담관 결찰 후 14일 경과한 군을 비교했을 때는 혈청에서 이 효소의 활성도는 별 차이가 없었다.

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향: 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 계속 5% (v/v)

ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 5와 같다.

쥐간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도는 만성 주정 중독군과 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에서는 별 변동을 나타내지 않았다. 이 효소의 활성도는 정상군의 총담관을 결찰한 군이나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 다같이 그 대조군인 가수술이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 총담관 결찰 후 7일 및 14일에 약간 증가되었으나 유의성은 없었다. 총담관을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군을 비교했을 때 이 효소 활성도는 별 차이가 없었다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향: 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 6과 같다.

쥐간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도는

Table 5. Effect of common bile duct ligation on liver lysosomal acid β -D-glucosidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Das(s) following operation	Acid β -D-Glucosidase activities (nmol 4-methylumbelliferone mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
1	1.48±0.78	1.44±0.80	1.45±0.72	1.38±0.66
2	1.47±0.80	1.45±0.88	1.46±0.70	1.42±0.69
3	1.49±0.82	1.50±0.77	1.43±0.73	1.45±0.75
7	1.50±0.79	1.99±0.75	1.42±0.74	1.72±0.80
14	1.48±0.83	2.04±0.79	1.43±0.72	1.92±0.78

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Animal groups are described in Fig. 1.

Table 6. Effect of common bile duct ligation on liver lysosomal β -D-glucosidase activities in acute ethanol intoxicated rats

Normal	Acid β -D-Glucosidase activities (nmol 4-methylumbelliferone mg protein ⁻¹ min ⁻¹)				
	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs +CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs +CBDL
1.49 ±0.81	2.04 ±0.79	1.47 ±0.76	1.88 ±0.78	1.45 ±0.75	1.96 ±0.81

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Animal groups are described in Fig. 1.

급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 간의 lysosomal β -D-glucosidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 정상군이나 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 약간의 활성도 증가를 나타내었으나 유의성은 없었으며 양 군간에도 그 활성도는 별 차이가 없었다.

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향 : 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 7과 같다.

쥐간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 만성 주정 중독 군과 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에서는 별 변동을 나타내지 않았다. 정상쥐의 총담관을 결찰한 군이나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 다같이 그 대조군인 가수술군이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한

군에 비해 실험 전기간 동안 약간 증가되었으나 유의성은 없었다. 총담관을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군간에도 이 효소의 활성도는 별 차이가 없었다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향 : 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 8과 같다.

쥐간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 쥐간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 쥐간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도 변동과 같은 경향으로 총담관 결찰 후 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 그 대조군인 정상군이나 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 약간 증가를 나타내었다. 그러나 유의성은 없었다. 또한 양

Table 7. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic broad specificity β -D-glucosidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Das(s) following operation	Broad specificity β -D-glucosidase activities (nmol 4-methylumbelliferone mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
1	2.70±1.12	2.96±1.63	2.52±1.04	2.90±1.52
2	2.69±1.15	2.96±1.58	2.54±1.08	2.97±1.57
3	2.71±1.16	2.94±1.49	2.49±1.06	2.95±1.55
7	2.72±1.09	2.95±1.70	2.51±1.11	2.96±1.66
14	2.68±1.13	3.67±1.98	2.48±1.09	3.06±2.13

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Animal groups are described in Fig. 1.

Table 8. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic broad specificity β -D-glucosidase activities in acute ethanol intoxicated rats

Normal	Broad specificity β -D-glucosidase activities (nmol 4-methylumbelliferone mg protein ⁻¹ min ⁻¹)				
	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs +CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs +CBDL
2.69	3.67	2.73	3.43	2.62	3.28
±1.14	±1.98	±1.21	±2.06	±1.14	±2.12

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Animal groups are described in Fig. 1.

군간에도 그 활성도는 별 차이가 없었다.

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향: 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 9와 같다.

쥐 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 만성 주정 중독 군이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군들에서 실험 전기간 동안 정상군이나 가수술을 한 군에 비해 약간 증가되었으나 유의성은 없었다. 총담관을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 이 효소의 활성도가 그 대조군인 가수술군이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 실험 전기간 동안 현저한 증가를 나타내었다. 즉 이 효소의 활성도가 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가수술군에 비해 수술 후 1일에는 약 70% ($P<0.05$), 2일에는 약 68% ($P<0.05$), 3일에는 약 77% ($P<0.05$), 7일에는 약 290% ($P<0.01$), 14일에는 약 332% ($P<0.01$) 증가를 나타내었으며 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서도 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군보다 수술 후 1일에는 약 115% ($P<0.05$), 2일에는 약 175% ($P<0.05$), 3일에는 약 298% ($P<0.01$), 7일에는 약 353% ($P<0.001$), 14일에는 약 319% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 총담관 결찰군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군을 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관을 결찰한 군보다 실험 전기간 동안 이 효소의 활성도가 더 높

았다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도에 미치는 영향: 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도의 변동은 표 10과 같다.

쥐 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 약간 증가 되었으나 유의성은 없었다. 쥐 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 총담관 결찰 후 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 그 대조군인 정상군이나 급성 주정 중독만 시킨군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 즉 이 효소의 활성도는 총담관결찰 후 14일 경과한 군이 정상군보다 약 332% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었으며 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 다음 1.5시간 및 24시간에 죽인 군은 그 대조군보다 각각 약 383% ($P<0.01$)와 약 318% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 총담관결찰 후 14일 경과한 군과 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군을 비교했을 때 혈청의 이 효소활성도는 총담관결찰 후 14일 경과한 군보다 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 약간 증가되었다. 그러나 유의성은 없었다.

고 찰

주정은 극성 유기 용매로서 음주 후 주로 간에서 대사되며 일정 농도 이상에서는 단백질을 변성시킬

Table 9. Effect of common bile duct ligation on serum broad specificity β -D-glucosidase activities in chronic ethanol intoxicated rats

Das(s) following operation	Broad specificity β -D-glucosidase activities (nmol 4-methylumbelliferone mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	(Normal; 0.044 ± 0.012 , Ethanol; 0.053 ± 0.014)		
		CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+ CBDL
1	0.043 ± 0.013	0.073 ± 0.019^a	0.052 ± 0.014	0.112 ± 0.048^d
2	0.044 ± 0.014	0.074 ± 0.018^a	0.051 ± 0.016	0.140 ± 0.063^d
3	0.043 ± 0.016	0.076 ± 0.023^a	0.053 ± 0.013	$0.211 \pm 0.082^{e,h}$
7	0.042 ± 0.018	0.164 ± 0.060^b	0.051 ± 0.015	0.231 ± 0.078^f
14	0.044 ± 0.015	0.190 ± 0.071^b	0.054 ± 0.012	0.226 ± 0.087^e

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

a; $P<0.05$ vs. Sham, b; $P<0.01$ vs. Sham, d; $P<0.05$ vs. Ethanol+Sham, e; $P<0.01$ vs. Ethanol+Sham, f; $P<0.001$ vs. Ethanol+Sham, h; $P<0.01$ vs. CBDL

Table 10. Effect of common bile duct ligation on serum broad specificity β -D-glucosidase activities in acute ethanol intoxicated rats

Broad specificity β -D-glucosidase activities (nmol 4-methylumbelliferone $ml^{-1} min^{-1}$)					
Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs +CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs +CBDL
0.044	0.190	0.053	0.256	0.056	0.234
± 0.012	$\pm 0.071^k$	± 0.015	$\pm 0.101^o$	± 0.014	$\pm 0.092^r$

All values are expressed as mean \pm SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

k; P < 0.01 vs. Normal, o; P < 0.01 vs. Ethanol 1.5 hrs, r; P < 0.01 vs. Ethanol 24 hrs

수 있다(Ellenhorn과 Braceloux, 1988). 장기간 음주를 했을 때는 지방간, 간염, 간경변증 등(Christoflersen과 Poulsen, 1979; Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b)의 병변이 야기될 수 있으며 이때 간세포는 심한 형태학적 변화를 받는다(Christoflersen과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987)고 한다. 이러한 변화는 주로 간세포의 mitochondria와 endoplasmic reticulum에서 관찰되며 mitochondria에서 나타나는 형태학적 변화는 종창, 변형 및 cristae의 배열문란(Christoflersen과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987) 등이고 endoplasmic reticulum에서 나타나는 변화는 smooth endoplasmic reticulum의 증식(Christoflersen과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987)이라 한다. 이외에도 Mallory 소체의 증식(Christoflersen과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987)과 간세포 괴사를 수반하는 형태학적 변화(Christoflersen과 Poulsen, 1979) 등이 관찰된다고 한다. 그리고 음주로 인한 간세포 손상시 나타나는 대사성 변화로는 lactate의 생산 증가, pyruvate의 생성 감소, 지방산의 합성 촉진, 구연산 회로의 활성저하 및 지방산의 산화 감소 등(Ritchie, 1980; Ellenhorn과 Braceloux, 1988)이라 한다.

간 조직에 담즙울체가 야기되는 경우는 원발성 담즙성 간경변증, 담관염, 담즙울체형 간염, 선천성 담도폐쇄, 종양이나 담석에 의한 담도폐쇄 등(Halsted, 1976)이며 이와같은 간담도 질환으로 간에 담즙울체가 야기되면 간조직은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화 등(Desmet, 1979)이 나타날 뿐만 아니라 심한 간기능의 장애도 나타난다(Halsted, 1976; Sherlock, 1985a).

흰쥐의 총담관을 결찰하면 간에 담즙울체가 야기되며 시간이 경과함에 따라 담즙울체간은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화가 연속적으로 나

타나며(Moritz와 Snodgrass, 1972; 장대성 등, 1987; 김효석 등, 1989) 동시에 간기능도 장애가 초래되는 것(Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; 광춘식, 1980; Toda 등, 1980; 광춘식과 장억규, 1985; 광춘식과 이상일, 1985; 광춘식 등, 1987; 정상호와 광춘식, 1987; 문교철과 광춘식, 1989)으로 알려져 있다. 간담도 질환의 생화학적 연구를 위한 실험적 방법으로 널리 이용하는 것이 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체간을 만드는 것이다(Kaplan과 Righetti, 1970; 광춘식, 1980; Toda 등, 1980; 광춘식과 장억규, 1985; 광춘식과, 이상일, 1985; 광춘식 등, 1987; 정상호와 광춘식, 1987; 문교철과 광춘식, 1989).

총담관결찰로 간에 담즙울체가 야기되면 담도계 효소인 alkaline phosphatase(Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; Toda 등, 1980; 광춘식 등, 1987), 5'-nucleotidase(광춘식과 장억규, 1985; 광춘식 등, 1987), γ -glutamyl transpeptidase(광춘식과 장억규, 1985; 광춘식 등, 1987) 및 leucine aminopeptidase(광춘식, 1980; 정상호와 광춘식, 1987)는 간세포에서 그 활성도가 증가되며, 세포막의 투과성 항진시 혈중으로 누출되는 alanine aminotransferase(광춘식과 장억규, 1985; 김여희 등, 1989), aspartate aminotransferase(광춘식과 장억규, 1985; 김여희 등, 1990) 및 lactate dehydrogenase(광춘식과 이상일 1985)등은 간 세포에서 그 활성도가 감소된다고 한다. Glycosidase인 α -D-glucosidase와 β -D-glucosidase는 담즙울체간에서 그 활성도가 증가하는 것(박은미, 1990)으로 알려져 있다. 이와같이 담즙울체간에서 그 활성도가 증가되는 효소들은 담즙울체시 주로 그 합성이 증가(Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; Toda 등, 1980; 문교철과 광춘식, 1989)되며 담즙울체간에서 그 활성

도가 감소되는 효소들은 주로 세포막의 투과성 항진으로 간 외로 누출되어 나타난 결과(곽춘식과 장억규, 1985; 곽춘식과 이상일, 1985)라고 한다.

체내에 흡수된 주정은 간에서 대부분 대사되며 이 대사과정은 ethanoli가 acetaldehyde로 산화되고 다시 acetate로 산화되어 이용(Bosron과 Li, 1980; Lieber, 1985)되는 것이다.

이러한 대사과정에서 생성된 acetaldehyde는 간 세포막의 손상과 간세포의 괴사를 초래하는 물질(Sherlock, 1985a)로 알려져 있고 또한 주정 중독시 심한 형태학적 변화가 초래(Chang, 1985; Chang, 1987)되는 만큼 담즙울체시 주정 중독이 야기된다면 간 손상의 정도는 더욱 심해질 것이며 간조직에서 α -D-glucosidase와 β -D-glucosidase의 활성도 변동도 심해질 것이다.

김여희 등(1989, 1990, 1991a, 1991b)은 흰쥐에게 급성 및 만성 주정 중독을 시키고 간에 담즙울체를 야기시켰을 때 간조직의 alanine aminotransferase, asparatate aminotransferase, alkaline phosphatase 및 leucine aminopeptidase가 혈중으로 다량 누출되었다고 하였으며, 급성 및 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 mitochondrial alanine aminotransferase 활성도가 높았다고 하였다. 또한 흰쥐에게 만성 주정 중독을 시키고 담즙울체를 야기시키면 cytosolic 및 mitochondrial leucine aminopeptidase 활성도는 담즙울체만 있을 때 보다 증가 되었으며 간의 alkaline phosphatase는 이 경우에 오히려 그 활성도가 감소되었다(김여희 등, 1991b)고 하였다. 이들 성적은 담즙울체로 인한 간손상이 주정 중독으로 증폭되어 나타난 결과라 하였다. 따라서 이 보고들은 위의 추론을 한층 더 뒷받침하는 자료라 할 수 있다.

이 실험에서 흰쥐에게 급성 또는 만성 주정 중독을 시켰을 때 혈청과 간의 lysosomal α -D-glucosidase, 간의 lysosomal acid β -D-glucosidase의 활성도는 변동이 없었다. 그러나 이들 군에서 혈청 broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 약간 증가되었다. 이 성적은 급성 및 만성 주정 중독시에는 간의 broad specificity β -D-glucosidase가 혈중으로 누출이 증가되는 것이 아닌가 생각된다.

이 실험에서 정상쥐나 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때 간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 총담관 결찰 후 7일부터 14일까지 현저한 증가를 나타내었다. 양군을 비교했을 때는 이 효소의

활성도가 총담관만 결찰한 군보다 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 덜 현저한 증가를 나타내었다. 쥐간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 활성도는 정상쥐의 총담관을 결찰한 군이나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 다같이 총담관 결찰 후 7일부터 14일까지 약간 증가되었다. 그러나 양군간에 이 효소의 활성도는 별 차이가 없었다. 쥐간의 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 정상쥐의 총담관을 결찰한 군이나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 다같이 실험 전기간 동안 약간 증가되었다. 그러나 양군간에 이 효소의 활성도는 별 차이가 없었다.

이 실험에서 흰쥐간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 차킨 군이 다같이 현저한 증가를 나타내었다. 그러나 양군간에 그 활성도를 비교했을 때는 별 차이가 없었다. 쥐간의 lysosomal acid β -D-glucosidase와 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 약간 증가되었다. 그러나 양군간에 그 활성도를 비교했을 때는 별 차이가 없었다.

이상의 성적으로 보아 이 실험에서 측정된 간의 glycosidase중에서 간의 lysosomal α -D-glucosidase만이 만성 주정 중독시 간에 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 그 합성이 감소되는 효소로 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 분명하게 설명하기는 어렵다.

이 실험에서 정상쥐의 총담관을 결찰했을 때 쥐 혈청의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 총담관결찰 후 14일에 현저한 활성증가를 나타내었다. 그러나 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때는 이 효소의 활성도가 총담관결찰 후 3일부터 14일까지 현저한 증가를 나타내었다. 이 효소의 활성도를 총담관을 결찰한 군과 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관을 결찰한 군보다 총담관 결찰 후 3일부터 14일까지 더 높은 활성증가를 나타내었다. 또한 혈청의 이 효소활성도는 총담관 결찰 후 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 현저히 증가되었다. 그러나 양군간에 그 활성도를 비교했을 때는 별차이가 없었다.

쥐 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활

성도는 정상위의 총담관을 결찰한 군이나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 다같이 실험 전기간 동안 현저한 증가를 나타내었다. 양군간에 그 활성도를 비교했을 때 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 실험 전기간 동안 이 효소의 활성도가 더 높았다. 또한 쥐 혈청의 이 효소는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 현저한 활성도 증가를 나타내었으며 양군간에 그 활성도를 비교했을 때는 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 총담관결찰 후 14일 경과한 군보다 그 활성도가 더 높았다.

이들 성적 중에서 쥐 혈청의 lysosomal α -D-glucosidase와 broad specificity β -D-glucosidase의 활성도는 총담관만 결찰했을 때 보다 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰했을 때 증가되며 또한 쥐 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도가 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때는 총담관만 결찰한 후 14일 경과했을 때 보다 그 활성도가 높았다. 이 결과는 만성 주정 중독 및 급성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때 보다 간손상이 증폭된다는 것을 나타낸 결과라 생각되며 이 성적은 간손상의 증폭으로 간에서 이들 효소의 누출이 증가된 것이라 할 수 있다. 따라서 이 성적은 담즙울체로 간손상이 있을 때는 음주를 해서는 안된다는 것을 뒷받침하는 자료라 하겠다.

요 약

이 연구는 간담도 질환시 음주의 해로움에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 급성 및 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 총담관결찰로 담즙울체를 야기시켜 혈청과 간의 α -D-glucosidase와 β -D-glucosidase의 활성도를 측정 한 것이다.

쥐간의 lysosomal α -D-glucosidase 활성도는 총담관만 결찰한 군보다 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관 결찰 후 7일부터 14일까지 덜 현저한 증가를 나타내었다.

총담관을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서 간의 lysosomal acid β -D-glucosidase 및 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase 활성도를 비교했을 때는 양군간에 별 차이가 없었다.

총담관을 결찰하고 14일 경과한 군과 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군에서 간의 lysosomal α -D-glucosidase, lysosomal acid β -D-glucosidase 및 cytosolic broad specificity β -D-glucosidase의 활성도를 비교했을 때는 양군간에 별 차이가 없었다.

쥐 혈청의 lysosomal α -D-glucosidase와 broad specificity β -D-glucosidase 활성도를 총담관을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군을 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 더 현저한 증가를 나타내었다. 그러나 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군과 총담관 결찰 후 급성 주정 중독을 시킨 군에서 혈청의 이들 효소의 활성도를 비교했을 때는 broad specificity β -D-glucosidase만 총담관 결찰 후 14일 경과한 군보다 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 그 활성도가 더 높았다.

이들 성적 중에서 혈청의 lysosomal α -D-glucosidase와 broad specificity β -D-glucosidase의 활성도가 총담관만 결찰했을 때 보다 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰했을 때 더 증가되고 아울러 혈청의 broad specificity β -D-glucosidase 활성도가 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때는 총담관만 결찰한 후 14일 경과했을 때보다 그 활성도가 높은 것은 만성 주정 중독 및 급성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때 보다 간손상이 증폭된다는 것을 나타낸 결과라 생각되며 이 성적은 간손상의 증폭으로 간에서 이들 효소의 누출이 증가된 것이라 할 수 있다. 따라서 이 성적은 담즙울체로 간손상이 있을 때는 음주를 해서는 안된다는 것을 뒷받침하는 자료라 하겠다.

참 고 문 헌

Ben Yosef Y, Nadler HL: Pitfalls in the use of artificial substrates for the diagnosis of Gaucher's disease. *J Clin Pathol* 1978; 31: 1091-1093.
 Bosron WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase, in Jakoby WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York, Academic Press, 1980, Vol. 1, pp 231-244.
 Bruni CB, Auricchio F, Covelli I: Acid α -D-glucosidase glucohydrolase from cattle liver. Isolation and properties. *J Biol Chem* 1969; 244: 4735-4742.

- 장대성, 곽정식, 손태중: 총담관결찰에 의한 담관 증식성 변화의 초미형태학적 연구. 경북의대잡지 1987; 28: 113-122.
- Chang ES: Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients. *J Clin Electron Microscopy* 1985; 18: 331-347.
- Chang ES: Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987; 37: 213-224.
- Christoflersen P, Poulsen H: Alcoholic liver disease, in MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ(eds): *Pathology of the Liver*. New York, Churchill Livingstone Inc, 1979, pp 232-244.
- 정상호, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Leucine Aminopeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 210-221.
- Dahlgvist A: α -Glucosidase(disaccharidases), in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M(eds): *Method of Enzymatic Analysis*, ed 3. Weinheim, Verlag Chemie GmbH, 1984, Vol. IV, pp 208-217.
- Daniels LB, Coyle P, Yu-Bin C, et al: Purification and characterization of cytosolic broad specificity β -glucosidase from human liver. *J Biol Chem* 1981; 256: 13004-13013.
- Daniels LB, Glew RH: β -D-Glucosidases in tissue, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M(eds): *Method of Enzymatic Analysis*, ed 3. Weinheim, Verlag Chemic GmbH, 1984, Vol. IV, pp 217-226.
- Desmet VJ: Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary billiary cirrhosis, in MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer, PJ(eds): *Pathology of the Liver*. New York, Churchill Livingstone Inc, 1979, pp 272-305.
- Dissous C, Ansart JF, Cheron A, et al: Purification of rat liver lysosomal α -glucosidase. *Anal Biochem* 1981; 116: 35-39.
- Eagon PK, Willet JE, Seguiti SM, et al: Androgen responsive functions of male rat liver. Effect of chronic alcohol ingestion, *Gastroenteology* 1987; 93: 1162-1169.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG: *Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. New York, Elsever Science Pubishing Co, Inc, 1988, pp 782-796.
- Fabbro D, Desnick RJ, Gatt S: Lysosomal β -glucosidase of rat liver. *Enzyme* 1984; 31: 122-127.
- Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reation. *J Biol Chem* 1949; 177: 751-766.
- Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan ND(eds): *Method in Enzymology*. New York, Academic Press, 1957, Vol. 4, pp 708-731.
- Halsted JA: *The Laboratory in Clinical Medicine. Interpretation and Application*. London, Saunders Co, 1976, pp 426-429.
- Jeffrey PL, Brown DH, Brown BI: Studies of lysosomal α -glucosidase. I. Purification and properties of the rat liver enzymes. *Biochemistry* 1970; 9: 1401-1415.
- Kaplan MM, Righetti A: Induction of rat liver alkaline phosphatase: The mechanism of serum elevation in bile duct obstruction. *J Clin Invest* 1970; 49: 508-516.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature, IUB*. New York, Academic Press, 1979, pp 278-279.
- 김효석, 박재웅, 김은영, 곽규식, 최용한, 정준모: 총담관결찰시 간세포의 초미형태학적 변화. 대한내과학회잡지 1989; 36: 459-470.
- 김여희, 곽춘식, 정성광: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1989; 8: 113-121.
- 김여희, 곽춘식, 정성광: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Aspartate Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1990; 9: 87-95.
- 김여희, 이숙형, 곽춘식, 문교철: 주정 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Alkaline Phosphatase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1991a; 10: 18-27.
- 김여희, 박은미, 곽춘식: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Leucine Aminopeptidase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1991b; 10: 196-207.
- 곽춘식: 총수담관을 결찰한 흰쥐의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 Actinomycin D의 영향. 경북의대잡지 1980; 21: 126-134.
- 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 125-130.
- 곽춘식, 장덕규: 흰쥐 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 1-27.
- 곽춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 1988; 7: 64-75.
- 곽춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙울체간의 Plasma

Membrane, Mitochondria 및 Microsome의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 67-76.

곽춘식, 곽정식 : 흰쥐 간세포 분획법. I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5: 45-53.

곽춘식, 이상일 : 흰쥐 담즙울체간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 131-137.

권용철, 문교철, 곽춘식 : 흰쥐 담즙울체간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성도. 계명의대논문집 1990; 9: 159-170.

Lieber CS: Alcohol metabolism, in Hall P(ed): *Alcoholic Liver Disease, Pathobiology, Epidemiology and Clinical Aspects*. Frome and London, Edward Arnold Ltd, 1985, pp 1-24.

Liu SJ, Ramsey RK, Fallon HJ: Effect of Ethanol on hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 369-378.

Moritz M, Snodgrass PJ: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology* 1972; 62: 93-100.

문교철, 곽춘식 : 흰쥐 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1989; 8: 69-77.

박은미 : 흰쥐 담즙울체간의 α -D- 및 β -D-Mannosidase, α -D- 및 β -D-Glucosidase와 β -D-Glucuronidase의 활성도. 계명대학교 대학원 박사학위논문, 1990, pp 1-55.

Righetti ABB, Kaplan MM: Effects of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 491-495.

Ritchie JM: The aliphatic alcohols, in Gilman AG, Goodman LS, Gilman A(eds): *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, ed 7. New York, Macmillan Publishing Co, Inc, 1980, pp 376-388.

Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985a, pp 79-80.

Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985b, pp 346-360.

Toda G, Ikeda Y, Kako M, et al: Mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction: An experimental study. *Clin Chim Acta* 1980; 107: 85-96.

Tsuji A, Suzuki Y: Biosynthesis of two components of human acid β -glucosidase. *Arch Biochem Biophys* 1987; 259: 234-240.

Wooddell WJ: Liver disease in alcohol addicted patients. in Davidson SV(ed); *Alcoholism and Health*. Century Boulevard, Aspen System Co, 1980, pp 125-134.

= Abstract =

Effect of Common Bile Duct Ligation on Serum and Liver α -D- and β -D-Glucosidase Activities in Ethanol Intoxicated Rats

Chun Sik Kwak, PhD; Jong Sool Ihm, MD; You Hee Kim, MD

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

The activities of the liver and serum α -D- and β -D-glucosidase were studied for cholestasis induced by common bile duct ligation and chronic ethanol intoxication developed, or cholestasis after acute ethanol intoxication for manifestation of the biochemical background of alcohol intoxication in hepatobiliary disease.

The groups that received common bile duct(CBD) ligation after being chronically intoxicated with ethanol showed a marked increase at the 7th and 14th day after the ligation in the liver lysosomal α -D-glucosidase activities. However, the activities showed a lower degree than groups of the CBD ligation.

The groups that received CBD ligation after being chronically intoxicated with ethanol showed a slight increase after the ligation in the liver lysosomal acid β -D-glucosidase and cytosolic broad specificity β -D-glucosidase activities, and the same was seen in the groups of the CBD ligation.

At the 1.5th and 24th hours after the acute intoxication with ethanol which was done after 14 days of the CBD ligation, the rats showed a considerable increase in the liver lysosomal α -D-glucosidase, lysosomal acid β -D-glucosidase and cytosolic broad specificity β -D-glucosidase activities, and the same was seen in the group sacrificed on the 14th day after the CBD ligation.

The groups that received CBD ligation after being chronically intoxicated with ethanol showed a marked increase after the ligation in the serum lysosomal α -D-glucosidase and broad specificity β -D-glucosidase activities. However, the activities showed a far higher degree than groups of the CBD ligation. For the groups of acute intoxication with ethanol done after 14 days of the CBD ligation, the serum broad specificity β -D-glucosidase activities increased markedly, but the activities showed a higher degree than the group with the 14th day after the CBD ligation.

In summary, especially, when the acute and chronic ethanol intoxication with cholestasis occurred, the serum lysosomal α -D-glucosidase and broad specificity β -D-glucosidase are higher than in cholestasis because of increased liver cell damage, which causes the enzyme to leak into the blood in great quantity. Accordingly, these results will be the data supporting the alcoholic drink is enzymologically harmful in hepatobiliary disease.

Key Words: Cholestasis, Ethanol intoxication, α -D- and β -D-Glucosidase