

## 흰쥐 재생간에서의 Aryl Sulfotransferase의 활성화도

계명대학교 의과대학 생화학교실

신미정 · 김여희 · 곽춘식

### 서 론

Aryl sulfotransferase (3'-phosphoadenylsulfate: phenol sulfotransferase, EC 2. 8. 2. 1)는 phenol 화합물들을 sulfate 포함하여 배설시키는 생체이물질의 생체변환(xenobiotic biotransformation) 과정을 촉매하는 효소로서 (Jakoby et al, 1980; Kim, 1984) 포유동물의 간에 주로 분포되어 있으며(Campbell et al, 1987; Falany et al, 1990; Khoo et al, 1990) 혈중에도 출현한다(Anderson et al, 1991). 이 효소는 사람에서 2종, 쥐에서는 4종의 isozyme (I, II, III 및 IV)이 존재하며(Jakoby et al, 1980; Sekura et al, 1981; Campbell et al, 1987; Falany et al, 1990), 간세포에서는 세포질(Sekura et al, 1981; Christ and Walle, 1989; Falany et al, 1990), mitochondria 및 endoplasmic reticulum(임종술, 1993)에 국재되어 있다.

간은 물질대사의 중추기관으로서 다양한 기능을 가진 장기이며 (Sherlock, 1985), 특히 간은 체외로부터 흡수되거나 체내에서 생성된 유해물질을 생체변환시켜 배설시키는 기구를 가짐으로써 생체를 보호하고 있다(Jakoby et al, 1982).

간에 손상이 야기되면 간은 손상을 수복하기 위해 재생이 활발해지는 것(Matsumoto and Nakamura, 1991; Tomiya et al, 1992)으로 알려져 있다. 그러나 간의 재생에 대한 생화학적 지견은 분명치 않은 점이 많다. 간재생이 활발한 재생간의 생화학적 연구를 위해서는 흰쥐의 간엽을 부분 절제하여 형성된 재생간을 실험적 model로 이용하고 있다. 흰쥐의 간엽을 부분 절제하면 잔류된 간엽은 급격히 재생되며(Becker, 1963; Tsukada and Lieberman, 1964; Lieberman and Kane, 1965), 재생이 왕성한 시기의 재생간에서는 대사의 속도를 조절하기 위해 여러 효소들의 활성화도가 변동된다. 특히 재생간에서 활

성도가 변동되는 효소들 중에서는 생체이물질의 생체변환 과정을 촉매하는 효소들의 활성화도가 변동이 심하다(Lamy et al, 1973; Principato et al, 1983; 김여희 외, 1987; 김여희 외, 1988; 문교철 외, 1988; 곽춘식 외, 1989; 김홍열과 곽춘식, 1991; 문교철 외, 1990) 고 한다.

Aryl sulfotransferase도 생체이물질의 생체변환 기구의 일원으로서 포유동물의 간에서 합성되고 (Jakoby et al, 1982; Falany et al, 1990; Khoo et al, 1990) 혈중에도 유리되기(Anderson et al, 1991) 때문에 간엽 절제 후의 재생간조직과 혈청에서 그 활성화도의 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 간엽 절제 후 혈청과 재생간에서 그 활성화도의 변동에 대한 보고는 찾아볼 수 없었다.

이 연구는 재생간에서 aryl sulfotransferase의 활성화도 변동과 그 변동 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행한 실험으로서 흰쥐간의 중엽과 좌측외엽을 절제한 후 12시간부터 10일까지의 혈청과 재생간의 세포질, mitochondria 및 microsome에서 이 효소의 활성화도를 측정하였으며 또한 흰쥐의 간엽을 절제한 후 2일 경과한 쥐의 재생간에서 이 효소의 Km치와 Vmax치도 함께 측정하여 이들 성적을 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

동물 및 처치 : 동물은 4주이상 같은 조건으로 사육한 체중 320~360 g이 되는 Sprague-Dawley종 수흰쥐를 사용하였으며 가수술과 간엽 절제 수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 쥐를 각각 5마리씩 죽여 실험에 제공하였다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전 후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양사료 주식회사 제품의 실험동물 사료를 먹도록 하였다.

간엽 절제 수술은 효소 활성화의 일종 변동을 고

려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 가능한 한 무균상태를 유지하면서 ether마취하에서 실시하였다. 흰쥐의 간엽 절제 수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2 cm 절개하여 간의 증엽과 좌측 외엽을 복강 밖으로 압출하고 인접 조직사이의 인대를 절단한 후 간엽의 기저부위를 결찰한 뒤 간엽을 절제하였다. 절제한 간엽은 전체 간의 약 70%가 되며 이것을 원래간(original liver)이라 부르기로 하였다. 그리고 절제한 원래간은 0.25 M sucrose액으로 잘 씻고 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있던 혈액을 가능한 한 모두 제거하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다.

시약 : 2-mercaptoethanol, 2-naphthol, 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate (PAPS), methylene blue,  $\alpha$ -naphthyl sulfate potassium 및 단백표준액(10 g/100 ml bovine albumin) 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며 그 외 시약들은 시판하는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간 적출 및 세포 분획 : 간엽 절제군에서 재생간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether마취하에서 시행하였으며 복부대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4°C의 0.25 M sucrose액으로 관류하여 간에 남아있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다.

한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

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 homognizer(Thomas사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inches)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 micosome 분획을 분리하였다.

위의 세포분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65 B ultracentrifuge였다. 이때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 ro-

tor였고 sucrose liner density gradient용액의 제조는 gradient former(ISCO model 570)를 사용하였다.

효소 시료 조제 : Aryl sulfotransferase 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 cytosol, mitochondria 및 microsome분획을 단백질량으로 5 mg/ml가 되도록 0.25 M sucrose액에 현탁시켜 사용하였다.

효소 활성도 측정 : 혈청과 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome분획의 aryl sulfotransferase의 활성도 측정은 시료와 함께 2-naphthol과 PAPS를 기질로 사용하여 37°C에서 10분간 반응을 시키는 동안에 생성된 1-naphthyl sulfate을 methylene blue와 반응시켜 생성된 ion pair pigment를 chloroform으로 추출한 후 651 nm 파장에서 비색하여 효소의 활성도를 산출하는 Sekura et al(1981)의 법에 의하였다. 그리고 이때 aryl sulfotransferase I, II isozyme 측정시에는 0.5 M sodium phosphate(pH 7.4) 완충액을 사용하였으며 aryl sulfotransferase III, IV isozyme 측정시에는 완충액으로서 0.5 M sodium acetate(pH 5.5) 완충액을 사용하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 ml의 혈청 또는 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 1-naphthyl sulfate를 nmol로 나타내었다. 이 실험에서 채택한 효소 활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 각 효소 활성도 측정에 사용한 분광 광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varian, Cary 210)였다.

Km치 및 Vmax치의 측정 : 간엽 절제술 후 2일 경과한 흰쥐의 간세포 분획 시료 및 원래간의 세포 분획시료와 효소 기질의 원액과 희석액들을 사용하여 각각 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성도를 측정한 후 이들 성적으로부터 1/vi치를 그리고 기질 농도로부터 1/(S)치를 계산하여 이중 역수도(double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출(Segel, 1976)하였다.

단백질 정량 : 효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg and Rothstein (1957)법으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법(Gornall et al, 1949)으로 정량하였다.

성적 검정 : 유의성 검정은 Student's t-test로 하였으며, 유의수준은 0.05이하로 하였다.

성 적

흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 cytosolic aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성화도 변동: 간엽 절제 후 재생간의 cytosolic aryl sulfotransferase I, II isozyme의 활성화도는 간엽 절제 후 2일부터 3일까지, III, IV isozyme의 활성화도는 간엽 절제 후 1일부터 2일까지 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다 (표 1).

흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 mitochondrial aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성화도 변동: 간엽 절제 후 재생간의 mitochondrial aryl sulfotransferase I, II isozyme의 활성화도는 간엽 절제 후 1일부터 3일까지, III, IV isozyme의 활성화도는 간엽 절제 후 2일부터 3일까지 유의한 증가를 나타내었다(표 2).

흰쥐에서 간엽 절제 후 재생간의 microsomal aryl

sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성화도 변동: 간엽 절제 후 재생간의 microsomal aryl sulfotransferase I, II isozyme의 활성화도는 간엽 절제 후 12시간부터 3일까지, III, IV isozyme의 활성화도는 간엽 절제 후 1일부터 2일까지 유의한 증가를 나타내었다(표 3).

흰쥐에서 간엽 절제 후 혈청의 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성화도 변동: 간엽 절제 후 혈청의 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme은 모두 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 유의한 증가를 나타내었다(표 4).

간엽 절제 후 2일의 흰쥐 재생간에서 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 Km치 및 Vmax치의 변동: 간엽 절제 후 2일의 재생간에서 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal aryl sulfotransferase의 I, II 및 III, IV isozyme을 adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate를 기질로 사용하여 Km치 및 Vmax치를 측정했을 때 Km치는 별 변동이

Table 1. Activities of cytosolic aryl sulfotransferase I, II and III, IV of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Aryl sulfotransferase activities			
	I, II Isozyme		III, IV Isozyme	
	(nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )			
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.5	0.28±0.04	0.30±0.03	0.21±0.03	0.23±0.04
1	0.28±0.03	0.30±0.04	0.20±0.02	0.29±0.06*
2	0.27±0.02	0.34±0.06*	0.19±0.03	0.27±0.05*
3	0.26±0.03	0.35±0.07*	0.18±0.02	0.22±0.04
6	0.27±0.03	0.31±0.05	0.19±0.02	0.18±0.03
10	0.27±0.04	0.29±0.03	0.18±0.03	0.18±0.04

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.  
Significant difference from original liver(\*; P<0.01).

Table 2. Activities of mitochondrial aryl sulfotransferase I, II and III, IV of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Aryl sulfotransferase activities			
	I, II Isozyme		III, IV Isozyme	
	(nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )			
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.5	0.58±0.04	0.63±0.03	0.66±0.07	0.67±0.06
1	0.57±0.05	0.67±0.06*	0.66±0.06	0.69±0.07
2	0.57±0.03	0.72±0.07**	0.66±0.05	0.83±0.09**
3	0.56±0.04	0.89±0.11***	0.65±0.05	1.22±0.12***
6	0.55±0.04	0.66±0.05	0.66±0.04	0.74±0.08
10	0.56±0.05	0.55±0.04	0.64±0.06	0.68±0.05

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.  
Significant difference from original liver(\*; P<0.05, \*\*; P<0.01, \*\*\*; P<0.001).

Table 3. Activities of microsomal aryl sulfotransferase I, II and III, IV of regenerating liver after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Aryl sulfotransferase activities			
	I, II Isozyme		III, IV Isozyme	
	(nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )			
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
0.5	0.73±0.05	0.93±0.09**	0.64±0.12	0.74±0.09
1	0.74±0.04	0.99±0.11**	0.62±0.10	0.79±0.12*
2	0.73±0.04	0.88±0.08**	0.61±0.11	0.76±0.08*
3	0.72±0.05	0.81±0.07*	0.62±0.09	0.64±0.07
6	0.73±0.04	0.72±0.05	0.62±0.08	0.61±0.06
10	0.73±0.05	0.70±0.04	0.60±0.07	0.60±0.06

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group. Significant difference from original liver(\*; P<0.05, \*\*; P<0.01).

Table 4. Activities of serum aryl sulfotransferase I, II and III, IV after partial hepatectomy in rats

post hepatectomy days	Aryl sulfotransferase activities			
	I, II Isozyme		III, IV Isozyme	
	(nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )			
	Sham	Hepatectomy	Sham	Hepatectomy
0.5	2.83±0.25	3.25±0.31*	2.62±0.23	3.28±0.30**
1	2.80±0.27	3.43±0.33*	2.59±0.21	3.52±0.31***
2	2.79±0.23	2.86±0.28	2.56±0.23	2.79±0.25
3	2.77±0.24	2.81±0.27	2.54±0.23	2.58±0.24
6	2.75±0.22	2.77±0.24	2.55±0.21	2.53±0.23
10	2.76±0.23	0.74±0.25	2.53±0.20	2.50±0.24

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group; Sham: sham operation, Hepatectomy: hepatectomized animals.

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

Table 5. Aryl sulfotransferase I, II kinetic parameters from regenerating rat liver determined with adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate

cell fractions	Km(mM)		Vmax(nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )	
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
	Cytosol	0.86±0.41	0.91±0.32	0.36±0.05
Mitochondria	1.67±0.32	1.63±0.46	0.68±0.08	0.86±0.10*
Microsome	3.10±0.42	2.98±0.50	0.91±0.07	1.10±0.08**

Michaelis-Menten constants for aryl sulfotransferase I, II were determined using adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate and 2-naphthol at 37°C for cytosolic, mitochondrial and microsomal fractions of original male rat livers(original liver) and of regenerating male ratlivers at the 2nd 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).

없었다. 그러나 이 효소의 I, II 및 III, IV isozyme 들의 Vmax치는 유의한 증가를 나타내었다(표 5 및 6).

고 찰

간 재생이 활발한 시기의 재생간에서 그 활성도가 변동되는 생체이물질의 생체 변환 효소들은 많으며

Table 6. Aryl sulfotransferase III, IV kinetic parameters from regenerating rat liver determined with adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate

cell fractions	Km(mM)		Vmax(nmol 1-naphthyl sulfate) min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )	
	Original liver	Regenerating liver	Original liver	Regenerating liver
Cytosol	0.82 ± 0.33	0.80 ± 0.26	0.25 ± 0.05	0.36 ± 0.07*
Mitochondria	2.30 ± 0.35	2.27 ± 0.41	1.02 ± 0.07	1.28 ± 0.09***
Microsome	2.27 ± 0.40	2.23 ± 0.45	1.14 ± 0.09	1.35 ± 0.12*

Michaelis-Menten constants for aryl sulfotransferase III, IV were determined using adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate and 2-naphthol at 37°C for cytosolic, mitochondrial and microsomal fractions of original male rat livers(original liver) and of regenerating male rat livers at the 2nd 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<0.001).

그 중에서 활성도가 증가되는 생체이물질의 생체 변환 효소들은 monoamine oxidase(문교철 외, 1988), alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, microsomal ethanol oxidizing system(김여희 외, 1988), glyoxalase I (Principato et al, 1983) 및 microsomal rhodanese(김여희 외 1993)이며 그 활성도가 감소되는 효소들은 glutathione S-transferase, glutathione peroxidase(박춘식 외, 1989), xanthine oxidase, superoxide dismutase(김여희 외, 1987), catalase(Lamy et al, 1973), cholinesterase(문교철 외, 1990), carboxylestrase, arylesterase(김홍열과 박춘식, 1991) 및 cytosolic rhodanese(김여희 외 1991) 등을 들 수 있으며, 이 효소들은 간의 재생기에 간조직에서 그 활성도가 변동된다. 따라서 이 실험에서 측정된 aryl sulfotransferase도 간세포에 주로 존재하는 만큼 간의 재생이 활발한 시기에는 그 활성도가 변동될 수 있을 것이다. 이 실험에서는 흰쥐의 중엽과 좌측외엽을 절제 한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일의 재생간에서 세포질, mitochondria 및 microsome의 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV의 활성도를 측정하여 그 변동을 알아내는 한편 혈청에서도 이 효소들의 활성도를 측정하였다. 또한 간에서 이 효소들의 활성도 변동기전의 일단을 알아보기 위하여 간엽절제 후 2일 경과한 쥐의 재생간에서 이 효소들의 Km치와 Vmax치를 측정하였다.

이 실험에서 흰쥐의 간엽을 절제한 후 재생간에서 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal aryl sulfotransferase I, II isozyme의 활성도는 각각 간엽 절제 후 2일부터 3일, 1일부터 3일 및 12시간부터 3일까지 유의한 증가를 나타내었으며, 재생간의 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal aryl sulfotransferase III, IV isozyme의 활성도는 각각 간엽 절제 후 1일부터 2일, 2일부터 3일 및 1일부터 2일 까지 유의한 증가를 나타내었다. 이상의 결과를 볼 때 재생간에서 aryl sulfotransferase isozyme들은 간세포가 왕성한 시기에 그 활성도가 증가되는 것으로 생각된다.

이 실험에서 흰쥐의 간엽을 절제한 후 2일의 재생간 세포분획에서 이 효소의 I, II 및 III, IV isozyme의 Km치는 별 변동이 없었다. 그러나 Vmax치는 모두 유의한 증가를 나타내었다. 이와 같이 재생간에서 이들 효소의 Km치가 변동이 없으면서도 그 활성도가 증가되고 또한 그 Vmax치가 증가된 것을 볼 때 재생간에서 이들 효소의 활성도가 증가된 것은 촉매효율의 증가로 나타난 결과라 보기는 어렵다. 따라서 이 실험에서 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성도가 증가된 것은 이들 효소의 합성이 증가되어 나타난 결과라 생각된다.

이 실험에서 흰쥐 혈청의 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 유의한 증가를 나타내었으며, 이후 정상 수준을 유지하였다. 이 결과를 볼 때 이 실험에서 혈청의 aryl sulfotransferase isozyme들의 활성도 증가는 재생간에서 유리되어 나타난 결과라 보기는 어렵다. 왜냐하면 재생간에서 이 효소의 isozyme들이 간엽 절제 후 2일 또는 3일까지 그 활성도가 증가되었음에도 불구하고 이때 혈청에서는 대조군의 수준을 유지하고 있었기 때문이다. 따라서 이 실험에서 혈청의 aryl sulfotransferase isozyme들의 활성도가 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 증가된 것은 간엽 절제 후 간절제 부위 아래쪽 즉 기저부에 조금 남아 있던 간엽 조각으로부터 이들

nsferase III, IV isozyme의 활성도는 각각 간엽 절제 후 1일부터 2일, 2일부터 3일 및 1일부터 2일 까지 유의한 증가를 나타내었다. 이상의 결과를 볼 때 재생간에서 aryl sulfotransferase isozyme들은 간세포가 왕성한 시기에 그 활성도가 증가되는 것으로 생각된다.

효소가 혈중으로 다량 유출되어 나타난 결과가 아닌가 생각된다.

재생기의 간에서는 간조직의 재생을 위해 우선적으로 핵산과 단백질 합성이 증가되고(Becker, 1963; 권기징과 유호열, 1969) 아울러 열량소 대사도 활발해진다 (Dzhivanian and Ter-Dganian, 1979; Srein et al, 1985; Schofield et al, 1987; Nagino et al, 1989; Dixit et al, 1992)고 한다. 바로 이 현상은 간재생을 위해 유리한 쪽으로 먼저 대사가 진행되는 것이라는 설이 있고(정기용 외, 1986; 문교철 외, 1988; 곽춘식 외, 1989) 보면 이 실험에서 측정 한 aryl sulfotransferase는 간재생과는 유관한 효소가 아닌가 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 재생간에서 이 효소의 활성도 변동이 어떤 원인에 의한 것인지는 분명치 않다. 따라서 재생간에서의 이 효소 활성도의 변동 원인과 기전을 분명히 알기 위해서는 앞으로 더욱 추구해 보아야 하겠다.

요 약

재생간에서 aryl sulfotransferase의 활성도 변동을 알아보기 위하여 흰쥐 간의 중엽과 좌측외엽을 절제한 후 12시간부터 10일까지의 혈청과 재생간의 세포분획에서 이 효소의 활성도를 측정하는 한편 재생간에서 이 효소의 Km치와 Vmax치도 측정하였다.

간엽 절제 후 흰쥐 재생간의 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal aryl sulfotransferase I, II isozyme의 활성도는 각각 간엽 절제 후 2일부터 3일, 1일부터 3일 및 12시간부터 3일까지 유의한 증가를 나타내었다. 간엽 절제 후 흰쥐 재생간의 cytosolic, mitochondrial 및 microsomal aryl sulfotransferase III, IV isozyme의 활성도는 각각 간엽 절제 후 1일부터 2일, 2일부터 3일 및 1일부터 2일까지 유의한 증가를 나타내었다.

간엽 절제 후 흰쥐 혈청의 aryl sulfotransferase I, II 및 III, IV isozyme의 활성도는 간엽 절제 후 12시간부터 1일까지 유의한 증가를 나타내었다.

간엽 절제 후 2일의 재생간 세포분획에서 이 효소의 I, II 및 III, IV isozyme의 Km치는 별 변동이 없었다. 그러나 Vmax치는 모두 유의한 증가를 나타내었다.

이상의 결과로 보아 간의 aryl sulfotransferase는 간엽 절제 후 간재생이 활발 한 시기의 재생간에서는

그 합성이 증가되어 그 활성도가 증가되는 효소로 생각된다.

참 고 문 헌

Anderson RJ, Garcia MJ, Liebenritt DK, Kay HO: Localization of human blood phenol sulfotransferase activities: novel detection of the thermostable enzyme in granulocytes. *J Lab Clin Med* 1991; 118(5): 500-509.

Becker FF: Restoration of liver mass following partial hepatectomy. I. Influence of blood flow. *Am J Pathol* 1963; 43(1): 497-510.

Campbell NR, Van Loon JA, Sundaram RS, Ames MM, Hansch C, Weinsilboum R: Human and rat liver phenol sulfotransferase: Structure-activity relationship for phenolic substrates. *Mol Pharmacol* 1987; 32(6): 813-819.

Christ DD, Walle T: Stereoselective sulfation of R, S-4'-hydroxypropranol by canine hepatic cytosol and partially purified phenolsulfotransferases. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 251(3): 949-955.

정기용, 김인산, 손건영, 조준승: 흰쥐의 간엽부분 절제 후 재생간에서의 산화적 손상에 대한 방어 기전. *경북의대잡지* 1986; 27(3): 263-269.

Dixit A, Baquer NZ, Rao AR: Inhibition of key enzymes of carbohydrate metabolism in regenerating mouse liver by ascorbic acid. *Biochem Int* 1992; 26(1): 143-151.

Dzhivanian KA, Ter-Dganian KS: Nonspecific esterase and alpha-glycerolphosphate dehydrogenase activity and the fat content in the regeneration chick liver. *Biull Eksp Bol Med* 1979; 87(6): 547-550.

Falany CN, Vazquez ME, Heroux JA, Roth JA: Purification and characterization of human liver phenol-sulfating phenol sulfotransferase. *Arch Biochem Biophys* 1990; 278(2): 312-318.

Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177(3): 751-766.

Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan NO(eds): *Method in Enzymology*. New York, Academic Press, 1957, Vol 4, pp. 708-731.

임종술: 흰쥐 담즙울체간의 Aryl Sulfotransferase 및 Thiosulfate Sulfotransferase의 활성도. 계명대

- 학교 대학원, 박사 학위 논문, 1993, pp. 1-43.
- Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J: *Metabolic Basis of Detoxication. Metabolism of Functional Groups*, New York, Academic Press, 1982, pp. 5-317.
- Jakoby WB, Sekura RD, Lyon ES, Marcus CJ, Wang JL: Sulfotransferases, in Jakoby WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, New York, Academic Press, 1980, Vol II, pp. 199-228.
- Khoo BY, Sit KH, Wong KP: An HPLC-ECD procedure for measuring total phenol sulfotransferase (PST) activity in human liver, platelets and blood. *Clin Chim Acta* 1990; 194(2-3): 219-228.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature*, IUB, New York, Academic Press, 1984, pp. 266-267.
- 김홍열, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Carboxylesterase 및 Arylesterase의 활성도. 계명의대논문집 1991; 10(2): 147-157.
- 김여희, 조경일, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Rhodanese의 활성도. 계명의대 논문집 1993; 12(4): 447-454.
- 김여희, 문교철, 곽춘식, 이상일 : 흰쥐 재생간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6(1): 95-101.
- 김여희, 문교철, 곽춘식, 정성광 : 흰쥐 재생간의 알콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 1988; 7(2): 280-287.
- 곽춘식, 김여희, 문교철, 이숙형 : 흰쥐 재생간의 Glutathione S-Transferase 및 Glutathione Reductase의 활성치. 계명의대논문집 1989; 8(1): 78-86.
- 곽춘식, 곽정식 : 흰쥐 간세포 분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5(1): 45-53.
- 권기정, 유호열 : Ethionine이 백서 재생간의 단백질 합성에 미치는 영향. 경북의대잡지 1969; 10(1): 183-188.
- Lamy J, Lamy JN, Schmitt M, Weill J: Effect d'une hepatectomie minimale sur l'activite de la catalase et des oxydases peroxysomales du foie du rat. *Biochimie* 1973; 55(11): 1,491-1,494.
- Lieberman I, Kane P: Synthesis of ribosome in the liver after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1965; 240(4): 1,737-1,741.
- Matsumoto K, Nakamura T: Molecular structure and function of hepatocyte growth factor. *Metabolism(Jpn)* 1991; 28(8): 599-618.
- 문교철, 김여희, 이숙형, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Cholinesterase의 활성도. 계명의대논문집 1990; 9(1): 98-102.
- 문교철, 박은미, 김여희, 곽춘식 : 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1988; 7(2): 258-265.
- Nagino M, Tanaka M, Nishikimi M, et al: Stimulated rat liver mitochondrial biogenesis after partial hepatectomy. *Cancer Res* 1989; 49(17): 4,913-4,918.
- 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* 1983; 6(2): 249-255.
- Schofield PS, Sugden MC, Corstorphine CG, Zammit VA: Altered interactions between lipogenesis and fatty acid oxidation in regenerating rat liver. *Biochem J* 1987; 241(2): 469-474.
- Segel IH: *Biochemical Calculations*. ed 2, New York, John Wiley and Sons, 1976, pp. 214-246.
- Sekura RD, Duffel MW, Jakoby WB: Aryl sulfotransferase, in Jakoby WB(ed): *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1981, Vol 77, pp. 197-206.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985, pp. 79-80.
- Stein TA, Burus GP, Tropp BE, Wise L; Hepatic fat accumulation during liver regeneration. *J Surg Res* 1985; 39(4): 338-343.
- Tomiya T, Tani M, Yamada S, Hayashi S, Umeda N, Fujiwara K: Serum hepatocyte growth factor levels in hepatectomized and nonhepatectomized surgical patients. *Gastroenterology*, 1992; 103(5): 1,621-1,624.
- Tsukada K, Lieberman I: Metabolism of ribonucleic acid after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1964; 239(5): 1,564-1,568.

= Abstract =

## **Aryl Sulfotransferase Activity in Regenerating Liver after Partial Hepatectomy in Rats**

**Mi Jeong Shin, M. D., You Hee Kim, M. D., and Chun Sik Kwak, Ph. D.**

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

This study was made to know the changes of aryl sulfotransferase activity in regenerating rat liver.

Cytosolic, mitochondrial and microsomal aryl sulfotransferase isozymes I, II and III, IV activities were determined in regenerating liver tissue following 70% (median and left lateral lobes) partial hepatectomy in rats for a period of ten days. The activities of these enzymes in serum were measured, the values of the  $K_m$  and  $V_{max}$  in these hepatic enzymes were also measured.

The activities of cytosolic, mitochondrial, and microsomal aryl sulfotransferase I, II in regenerating rat liver tissue showed a significant increase between the second and the third day, the first and the third day, and the twelfth hour and the third day, respectively, following partial hepatectomy.

The activities of aryl sulfotransferase isozymes I, II and III, IV in rat serum showed a significant increase between the twelfth hour and the first day following partial hepatectomy.

The values of  $V_{max}$  of cytosolic, mitochondrial and microsomal aryl sulfotransferase isozyme I, II and III, IV in the regenerating liver showed significant increases at the second day following partial hepatectomy. However, the values of  $K_m$  of the these hepatic enzymes did not change.

In view of the above results, aryl sulfotransferase isozymes in regenerating rat liver suggest that these are the enzymes increasing their biosyntheses in the regenerating stage.

**Key Words:** Regenerating liver, Aryl sulfotransferase.