대한외과학회지 : 제 63 권 제 1 호
Vol. 63, No. 1, July, 2002

□ 원 저 □

담즙울체 쥐에서 간의 Thiol Methyltransferase 활성도에 미치는 Taurocholate의 정맥 내 투여의 영향

고신대학교 의과대학 외과학교실 및 [1]계명대학교 의과대학 생화학교실

이 병 욱 · 곽 춘 식[1]

Effects of Intravenous Administration of Taurocholate on Hepatic Thiol Methyltransferase Activity in Cholestatic Rat

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

Purpose: The possible mechanisms of increased thiol methyltransferase (TMT) activity in cholestatic rat livers and serum were studied.
Methods: Rats were divided into seven groups: rats receiving a sham operation, rats with a bile duct obstruction (BDO) alone (BDO group), rats with BDO plus taurocholic acid (TCA) injection (BDO plus TCA group), rats with BDO plus tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) injection (BDO plus TUDCA group), rats receiving a choledoco-caval shunt (CCS) operation (CCS groups), rats receiving a CCS operation plus TCA Injection (CCS plus TCA group), and rats receiving a CCS operation plus TUDCA injection (CCS plus TUDCA group). The TMT activities in the serum and in the hepatic subcellular fractions isolated from these experimental rats were determined. The values of Km and Vmax in this hepatic enzyme were measured.
Results: The activities of liver mitochondrial and microsomal TMTs as well as the Vmax values of TMT were found to be increased significantly in both the CCS plus TCA and the BDO plus TCA groups, compared with the CCS and BDO groups. On the other hand, the Km values of hepatic subcellular TMT were the same in all experimental groups. The serum TMT activity increased significantly in both the CCS plus TCA and the BDO plus TCA groups, compared with the control, CCS and BDO groups. However, these serum and hepatic enzyme activities were the same in the CCS plus TUDCA and the BDO plus TUDCA groups.
Conclusion: The above results suggest that TCA stimulates the biosynthesis of TMT in the liver. Also, the elevated TMT activity in the serum is thought to be caused by an increase in membrane permeability of hepatocytes from liver cell necrosis caused by TCA. **(J Korean Surg Soc 2002;63: 1-10)**

Key Words: Cholestasis, Methyltransferase, Taurocholic acid
중심 단어: 담즙울체, 메칠기전달효소, 타우로콜산

Department of Surgery, Kosin University College of Medicine, [1]Department of Biochemistry, Keimyung University School of Medicine, Busan, Korea

책임저자 : 이병욱, 부산시 서구 암남동 34번지
㉾ 602-702, 고신대학교 의과대학 외과학교실
Tel: 051-990-6278, 051-990-6114, Fax: 051-990-3082
E-mail: bwrhee@kosinmed.or.kr
접수일 : 2002년 1월 15일, 게재승인일 : 2002년 6월 19일

서 론

간은 대사기능, 생체이물 생체 변환 기능 및 재생 기능 등 수 많은 기능을 가진 장기이며 담즙울체로 간이 손상을 받으면 생체이물 생체 변환 효소의 한가지인 간의 thiol methyltransferase의 활성도가 변동이 되는 것(*1*)으로 알려져 있다. 따라서 담즙울체 간의 세포분획들에서 이 효소의 활성도 변동 기전을 파악해 봄으로써 담즙울체 간에서의 생체이물 생체 변환에 대한 새로운 지견을 얻을 수 있는 것으로 생각되며 또한 담즙울체로 간 손상이 야기되는 간담도 질환에 대한 생화학적 배경 특히 간의 해독기능의 일단이 밝혀질 것으로 생각된다.

Thiol methyltransferase (S-adenosyl-L-methionine: thiol S-methyltransferase, EC 2.1.1.9, TMT)(*2*)는 captopril, N-acetyl-cysteine, D- 및 L-penicillamine, spironolactone,(*3*) hydrogen sulfide,(*4*) diethyldithiocarbamate, 6-propyl-2-thiouracil, 2, 3-dimercaptopropanol,(*5*) mercaptoethanol, mercaptoacetic acid, methylmercaptan,(*5,6*) dithiothreitol,(*6*) 2-thiouracil,(*5,7*) 6-mercaptopurine,(*7*) dimercaprol,(*8*) thiourea, methimazole, thiamin tetrahydrofuryldisulfide,(*9*) 및 7α-thiospirolactone,(*10*) 등의 생체이물의 sulfhydryl기에 S-adenosyl-L-methionine의 methyl기를 전이시켜 이들의 배설을 촉진시키는 반응을 촉매하는 제2상 생체이물 생체 변환 효소들 중 해독 효소로서,(*4,5,11*)

포유 동물의 조직에 널리 분포되어 있으며 특히 간은 타조직보다 많은 양이 분포되어 있다.(*5,9*) 그리고 간세포에서는 이 효소가 세포질, 미토콘드리아, 내형질세망 및 핵에 국재되어 있다.(*9*)

이러한 TMT는 동물 실험에 의해 야기된 담즙울체 시 간과 혈청에서 그 활성도가 증가되는 것(*1*)으로 알려져 있다. 그러나 이 효소가 담즙울체간에서 어떤 기전에 의해 그 활성도가 증가되는지를 규명한 보고는 아직도 없다.

이 연구는 TMT 활성도가 담즙울체 간에서 왜 증가되었는지 그 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였으며 쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥 문합(choledocho-caval shunt)을 시킨 직후에 담즙울체 간에서 효소의 합성에 영향을 미친다(*12,13*)는 taurocholic acid를 정맥 내에 주입시켜 경시적으로 혈청과 간의 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜에서 이 효소의 활성도를 측정하였던 바 taurocholic acid가 간에서 이 효소의 합성을 유도하는 것으로 생각되는 결과를 얻었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

방 법

1) 시약

S-Adenosyl-L-methionine iodide, *4*-chlorothiophenol, ethylenediaminetetraacetic acid disodium: dihydrate, Triton X-100, potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic, taurocholic acid (from ox bile, sodium salt T0750, TCA), tauroursodeoxycholic acid (sodium salt, T0266, TUDCA) 및 단백질 표준액(10 g/100 ml bovine serum albumin) 등은 Sigma사(St, Louis, MO) 제품을 사용하였으며[methyl-^{3}H] S-adenosyl-L-methionine은 New England Nuclear사(Wilmington, DE)의 제품을, 그리고 PPO (2, 5-diphenyloxazole), Bis-MSB [ρ-bis-(O-methylstyryl benzene)], toluene (scintillation grade) 등은 Packard사(Downers Grove, IL)의 제품을 사용하였다. 그 외 일반 시약은 시판되는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

2) 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280 320 g이 되는 Sprague-Dawley 종의 숫쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 15군으로 나누었다. 즉 정상군(1군), 가수술군은 가수술 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였고 담관 폐쇄군(bile duct obstruction)군은 총담관 결찰 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였으며 담관 폐쇄와 함께 TCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa 등(*13*)의 방법에 따라 TCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였다. 담관폐쇄와 함께 TUDCA를 주입한 군은 총담관 결찰 직후 Ogawa 등(*13*)의 방법에 따라 TUDCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대 정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였고 총담관 대정맥 문합을 한 군은 총담관 대정맥 문합을 한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였으며 총담관 대정맥 문합과 함께 TCA를 주입한 군은 총담관 대정맥 문합 직후 Ogawa 등(*13*)의 방법에 따라 TCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 상대정맥 내에 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였다. 총담관 대정맥 문합과 함께 TUDCA를 주입한 군은 총담관 대정맥 문합 직후 Ogawa 등(*13*)의 방법에 따라 TUDCA (체중 100 g당 45 μmoles)를 주입한 후 1일 및 2일에 각각 희생시킨 군(총 2군)으로 하였다.

각 실험군의 쥐는 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다.

사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험 동물 사료를 먹도록 하였다.

총담관 결찰 수술, 총담관 대정맥 문합 수술 및 가수술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 오후 2시에서 5시 사이에 희생시킬 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 실시하였다. 총담관 결찰은 간 근위부와 약 1 cm 아래쪽의 원부위의 총담관을 각각 이중 결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출 시 담관의 폐쇄 상태를 확인하였다. 그리고 총담관 대정맥 문합은 상대정맥과 총담관을 medical grade sillicon tube을 사용하여 연결하였으며 가수술은 단순 개복술만 시행하였다. TCA 및 TUDCA 액의 상대정맥 내에 주입은 syringe pump (Sage instruments, model 341A)를 사용하여 15분간 주입하였다.

3) 간적출 및 세포분획

모든 실험군의 쥐에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간문맥에 삽관한 후 4°C의 0.25 M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 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°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose액을 넣은 다음 Teflon pestle glass homogenizer (Thomas사 제품, chamber clearance 0.005 0.007 inches)로 2 4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10% (w/v)의 간 조직균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법(*14*)으로 세포질, 미토콘드리아 및 마이

크로솜 분획을 분리하였다.

위의 세포분획법에서 모든 조작은 2 4°C에서 시행하였으며 이 때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 이 때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor였고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하였다.

4) TMT 활성도 측정용 효소 시료 조제

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

5) 효소 활성도 측정

혈청과 간세포 분획의 TMT 활성도 측정은 시료와 함께 4-chlorothiophenol과 [methyl-^{3}H] S-adenosyl-L-methionine을 기질로 사용하여 37°C에서 10분간 반응시키는 동안에 생성된 방사성 methyl 4-chlorophenyl sulfide를 toluene으로 추출한 후 그 방사능을 측정하여 효소의 활성도를 산출하는 Weisiger와 Jakoby(*15*)법에 의하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 ml의 혈청 또는 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 methyl 4-chlorophenyl sulfide를 pmol로 나타내었다. 이 실험에서는 채택한 효소 활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다.

이 실험에서 사용한 방사능 계측기는 Packard Tricarb 4530, luiquid scintillation spectrometer였다.

6) Km치 및 Vmax치의 측정

수술 후 2일 경과한 모든 실험군의 세포 분획 효소 시료들과 TMT의 2종 기질 중 4-chlorothiophenol를 선택하여 기질 원액과 기질 희석액을 제조한 후 이 기질액들과 S-adenosyl-L-methionine 및 [methyl-^{3}H] S-adenosyl-L-methionine 기질 원액을 사용하여 TMT의 활성도를 측정한 후 이 성적으로부터 초기반응속도의 역수(1/vi)치를 그리고 선택한 기질의 농도로부터 기질농도의 역수(1/[S])치를 계산하여 이중역수도(double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 Km치와 Vmax치를 산출하였다.

7) 단백질 정량

효소 시료 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3 : 1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg와 Rothstein(*16*)법으로 효소 시료 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법(*17*)으로 정량하였다.

8) 성적 검정

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

결 과

1) 쥐에서 간의 TMT 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 또는 담관폐쇄와 담즙 정체 시간의 영향

쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관폐쇄를 시켰을 때 간의 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥 문합 후 1일 경과시킨 군에서 미토콘드리아 분획의 TMT 활성도는 정상군보다 약 23% ($P<0.05$), 가수술군보다는 약 22% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었으며 총담관 대정맥 문합 후 2일 경과시킨 군에서 미토콘드리아 분획의 이 효소 활성도는 정상군보다는 약 31% ($P<0.05$), 가 수술군보다는 약 28% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 한편 담관 폐쇄 후 1일 경과시킨 군의 간 미토콘드리아 분획의 TMT 활성도는 정상군보다는 약 34% ($P<0.05$), 가수술군보다는 약 32% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었으며 담관폐쇄 후 2일 경과시킨 군의 미토콘드리아 분획의 이 효소 활성도는 정상군보다는 약 42% ($P<0.05$), 가수술군보다는 약 32% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 그리고 간 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 총담관 대정맥 문합 후 1일 경과시킨 군에서는 정상군보다는 약 23% ($P<0.05$) 가수술군보다는 약 20% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었고, 총담관 대정맥 문합 후 2일 경과시킨 군에서는 정상군보다는 약 38% ($P<0.01$), 가수술군보다는 약 36% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 한편 담관 폐쇄 후 1일 경과시킨 군에서 간 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 정상군보다는 약 28% ($P<0.05$), 가수술군보다는 약 25% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었고, 담관 폐쇄 후 2일 경과시킨 군에서 간 마이크로솜 분획의 이 효소 활성도는 정상군보다는 약 62% ($P<0.001$), 가수술군보다는 약 59% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다. 그리고 간의 미토콘드리아와 마이크로솜 분획의 TMT 활성도를 총담관 대정맥 문합을 시킨 군과 담관 폐쇄를 시킨 군 간에 상호 비교했을 때는 담관 폐쇄를 시킨 군이 총담관 대정맥 문합을 시킨 군보다 이 효소 활성도가 약간 더 증가하였으며 양 군 모두 수술 후 1일 경과시켰을 때보다 2일 경과시켰을 때 간의 이 효소의 활성도는 약간 더 증가하였다(Table 1).

2) 쥐에서 간의 TMT 활성도에 미치는 총담관 대정맥 문합 및 담관폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입의 영향

쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때의 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥 문합

Table 1. Effects of time and model of biliary retention on hepatic subcellular thiol methyltransferase activities in rats

Experimental groups	Thiol methyltransferase activities (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide $min^{-1}mg\ protein^{-1}$)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
Normal	6.30±0.61	5.09±0.66	5.02±0.50
Sham 1 day	6.14±0.55	5.15±0.70	5.14±0.58
Sham 2 days	6.18±0.49	5.21±0.75	5.11±0.54
CCS 1 day	6.19±0.52	6.28±0.78*§	6.17±0.66*§
CCS 2 days	6.24±0.65	6.69±0.87*‖	6.94±0.73†¶
BDO 1 day	6.11±0.63	6.82±0.95*§	6.42±0.64†§
BDO 2 days	6.15±0.57	7.24±0.81†¶	8.12±0.95‡**

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each groups. Sham 1 day or Sham 2 days, sacrificed on the 1st day or 2nd day after sham operation; CCS 1 day or CCS 2 days, sacrificed on the 1st day or 2nd day after choledocho-caval shunt; BDO 1 day or BDO 2 days, sacrificed on the 1st day or 2nd day after common bile duct ligation. *P<0.05 vs. Normal; † P<0.001 vs. Normal; ‡ P<0.001 vs. Normal; § P<0.05 vs. Sham 1 day; ‖ P<0.05 vs. Sham 2 days; ¶ P<0.01 vs. Sham 2 days; **P<0.01 vs. Sham 2 days.

Table 2. Effects of taurocholic acid (TCA), and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after choledocho-caval shunt (CCS) on hepatic subcellular thiol methyltransferase activities in rats

Experimental groups	Thiol methyltransferase activities (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide $min^{-1}mg\ protein^{-1}$)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
CCS 1 day	6.19±0.50	6.28±0.78	6.17±0.66
CCS 1 day+TCA	5.87±0.44	7.61±0.89*	8.42±0.98†
CCS 1 day+TUDCA	6.12±0.56	6.22±0.72	6.12±0.62
CCS 2 days	6.24±0.65	6.69±0.87	6.94±0.73
CCS 2 days+TCA	5.74±0.48	8.15±0.93‡	8.79±0.88§
CCS 2 days+TUDCA	6.28±0.62	6.53±0.76	6.82±0.69

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group; CCS 1 day+TCA or CCS 1 day+TUDCA, and CCS 2 days+TCA or CCS 2 days+TUDCA. One of the following bile acids were administered intravenously through the superior vena cava, TCA or TUDCA (45 μmoles/100 g body weight) at the time of CCS operation in rats. Then the rats were sacrificed 1 or 2 days after CCS operation. *P<0.05 vs. CCS 1 day; † P<0.01 vs. CCS 1 day; ‡ P<0.05 vs. CCS 2 days; § P<0.01 vs. CCS 2 days.

만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥 문합 직후 TCA를 주입시키고 1일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 분획의 TMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군보다 약 21% (P<0.05)의 증가를 나타내었으며 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때는 대조군보다 약 22% (P<0.05)의 증가를 나타내었다. 간 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 TCA를 주입시키고 1일 경과시켰을 때는 대조군보다 약 36% (P<0.01)의 증가를 나타내었으며 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때는 대조군보다 약 27% (P<0.01)의 증가를 나타내었다. 그러나 간의 세포질액에서는 총담관 대정맥 문합 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일을 경과시켜도 이 효소의 활성도는 유의한 변동이 없었다. 또한 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때도 간의 3종 세포분획에서 TMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 2).

쥐에게 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때의 간 미토콘드리아 분획과 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 대조군인 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 담관 폐쇄 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 분획의 TMT 활성도는 대조군인 담관 폐쇄만 시킨 군보다 각각 약 24% (P<0.05) 및 약 30% (P<0.01)의 증가를 나타내었고, 간 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 담관 폐쇄 직후 TCA를 주입시키고 1일 경과시켰을 때 약 38% (P<0.001)의 증가를 나타내었으며 TCA를 주입시키고

Table 3. Effects of taurocholic acid (TCA), and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after bile duct obstruction (BDO) on hepatic subcellular thiol methyltransferase activities in rats

Experimental groups	Thiol methyltransferase activities (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide $min^{-1}mg\ protein^{-1}$)		
	Cytosol	Mitochondria	Microsome
BDO 1 day	6.11±0.63	6.82±0.95	6.42±0.64
BDO 1 day+TCA	5.70±0.52	8.43±0.98*	8.78±0.74†
BDO 1 day+TUDCA	6.05±0.60	6.73±0.86	6.36±0.71
BDO 2 days	6.15±0.57	7.24±0.81	8.12±0.95
BDO 2 days+TCA	5.67±0.55	9.39±1.02§	9.96±1.06‡
BDO 2 days+TUDCA	6.12±0.63	7.08±0.91	8.02±0.82

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group; BDO 1 day+TCA or BDO 1 day+TUDCA, and BDO 2 days +TCA or BDO 2 days+TUDCA. One of the following bile acids were administered intravenously through the superior vena cava, TCA or TUDCA (45 μmoles/100 g body weight) at the time of common bile duct ligation in rats. Then the rats were sacrificed 1 or 2 days after common bile duct ligation. *$P<0.05$ vs. BDO 1 day; †$P<0.001$ vs. BDO 1 day; ‡$P<0.05$ vs. BDO 2 days; §$P<0.01$ vs. BDO 2 days.

Table 4. Effects of time and model of biliary retention on serum thiol methyltransferase activity in rats

Experimental groups	Thiol methyltransferase activities (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide $min^{-1}\ ml^{-1}$)
Normal	15.74±0.91
Sham 1 day	16.23±0.95
Sham 2 days	16.19±0.90
CCS 1 day	20.12±0.98*†
CCS 2 days	22.46±1.12*‡
BDO 1 day	23.94±1.24*†
BDO 2 days	25.61±1.29*‡

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 1 and text. *$P<0.001$ vs. Normal; †$P<0.001$ vs. Sham 1 day; ‡$P<0.001$ vs. Sham 2 days.

Table 5. Effects of taurocholic acid (TCA), and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) infusions after choledocho-caval shunt (CCS) on serum thiol methyltransferase activity in rats

Experimental groups	Thiol methyltransferase (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide $min^{-1}\ ml^{-1}$)
CCS 1 day	20.12±0.98
CCS 1 day+TCA	24.57±1.18*
CCS 1 day+TUDCA	19.76±0.09
CCS 2 days	22.46±1.12
CCS 2 days+TCA	27.63±1.25†
CCS 2 days+TUDCA	22.14±1.04

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 2 and text. *$P<0.001$ vs. CCS 1 day; †$P<0.001$ vs. CCS 2 days.

2일 경과시켰을 때는 약 23% ($P<0.05$)의 증가를 나타내었다. 그러나 담관 폐쇄 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때는 간의 3종 세포 분획에서 TMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 3).

3) 쥐에서 혈청의 TMT 활성도에 미치는 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄와 담즙 정체 시간의 영향

쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 통계학적으로 유의하게 증가하였다. 즉 총담관 대정맥 문합 후 1일 경과시킨 군에서 혈청의 TMT 활성도는 정상군보다는 약 28% ($P<0.001$), 가수술군보다는 약 24% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었으며 총담관 대정맥 문합 후 2일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군보다는 약 43% ($P<0.001$), 가수술군보다는 약 39% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다. 그리고 담관 폐쇄 후 1일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군보다는 약 52% ($P<0.001$), 가수술군보다는 약 48% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었으며 담관 폐쇄 후 2일 경과시킨 군에서 혈청의 이 효소 활성도는 정상군보다는 약 63% ($P<0.001$), 가수술군보다는 약 58% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다 (Table 4).

한편 혈청의 TMT 활성도를 총담관 대정맥 문합을 시킨 군과 담관 폐쇄를 시킨 군 간에 상호 비교했을 때는 담관 폐쇄를 시킨 군이 총담관 대정맥 문합을 시킨 군보다 이효

소의 활성도가 약간 더 증가하였다. 그러나 양 군 모두 날자 경과에 따른 변동은 없었다(Table 4).

4) 쥐에서 혈청의 TMT 활성도에 미치는 총담관 대정맥문합 및 담관폐쇄 시 TCA 또는 TUDCA 주입의 영향

쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 총담관 대정맥 문합 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군보다 각각 약 22% ($P<0.001$) 및 약 23% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다.

Table 6. Effects of taurocholic acid (TCA), and tauroursodeoxycholec acid (TUDCA) infusions after bile duct obstruction (BDO) on serum thiol methyltransferase activity in rats

Experimental groups	Thiol methyltransferase activities (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide min^{-1} ml^{-1})
BDO 1 day	23.94± 1.24
BDO 1 day+TCA	29.52± 1.36*
BDO 1 day+TUDCA	23.62± 1.27
BDO 2 days	25.61± 1.29
BDO 2 days+TCA	32.75± 1.43†
BDO 2 days+TUDCA	25.12± 1.22

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 3 and text. *$P<0.001$ vs. BDO 1 day; †$P<0.001$ vs. BDO 2 days.

그러나 총담관 대정맥문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 5).

쥐에 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 대조군인 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 즉 담관 폐쇄 직후 TCA를 주입시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 대조군보다 각각 약 23% ($P<0.001$) 및 약 28% ($P<0.001$)의 증가를 나타내었다. 그러나 담관 폐쇄 직 후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다(Table 6).

5) 총담관 대정맥문합 또는 담관폐쇄 후 2일 경과한 실험군에서 간 TMT의 Km치 및 Vmax치의 변동

수술 후 2일 경과시킨 모든 실험군에서 간의 TMT는 2종 기질 중 4-chlorothiophenol에 대해서 각각 Km치 및 Vmax치를 측정했을 때 Km치는 모두 변동이 없었다(Table 7, 8).

쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시킨 후 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 27% ($P<0.05$) 및 약 38% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다.

쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 55% ($P<0.001$) 및 약 80% ($P<0.001$), 총담관 대정맥 문합만 시킨 군보다는 각각 약 21% ($P<0.05$) 및 약 31% ($P<0.01$)의 증가를 나타내었다. 그리고 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax치는 가수술만 시킨

Table 7. Rat hepatic thiol methyltransferase kinetic parameters from 2 days after choledocho-caval shunt (CCS 2 days) determined with 4-chlorothiophenol

Experimental groups	Mitochondria		Microsome	
	Km (mM)	Vmax (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide min^{-1} mg $protein^{-1}$)	Km (mM)	Vmax
Sham 2 days	76.2±4.8	14.3± 1.8	70.3±5.9	13.7± 1.7
CCS 2 days	78.4±5.3	18.2±2.3*	72.6±7.2	18.9±2.1†
CCS 2 days+TCA	77.6±5.9	22.1±2.6‡§	71.8±6.9	24.7±2.4‡‖
CCS 2 days+TUDCA	76.9±5.2	17.7±2.1*	71.2±6.4	18.8± 1.9†

Michaelis-Menten constants for thiol methyltransferase were determined using 4-chlorothiophenol and [methyl-^{3}H] S-adenosyl-L-methionine at 37°C for mitochondrial and microsomal fractions of experimental rat livers at two days after CCS. The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group. Experimental groups are described in Table 1, 2 and text. *$P<0.05$ vs. Sham 2 days; †$P<0.01$ vs. Sham 2 days; ‡$P<0.001$ vs. Sham 2 days; §$P<0.05$ vs. CCS 2 days; ‖$P<0.01$ vs. CCS 2 days.

Table 8. Rat hepatic thiol methyltransferase kinetic parameters from 2 days after bile duct obstruction (BDO 2 days) determined with 4-chlorothiophenol

Experimental groups	Mitochondria		Microsome	
	Km (mM)	Vmax (pmol methyl 4-chlorophenyl sulfide $min^{-1}mg\ protein^{-1}$)	Km (mM)	Vmax
Sham 2 days	76.2±4.8	14.3±1.8	70.3±5.9	13.7±1.7
BDO 2 days	76.5±6.5	21.5±2.2†	72.6±7.6	24.5±3.5†
BDO 2 days+TCA	77.8±6.2	27.4±2.7†§	73.1±7.2	29.8±3.1†‡
BDO 2 days+TUDCA	77.2±5.6	20.6±2.5*	72.2±6.7	23.9±2.6†

Michaelis-Menten constants for thiol methyltransferase were determined using 4-chlorothiophenol and [methy-^{3}H] S-adenosyl-L-methionine at 37°C for mitochondrial and microsomal fractions of experimental rat livers at two days after BDO. The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group. Experimental groups are discribed in Table 1, 3 and text. *P<0.01 vs. Sham 2 days; † P<0.001 vs. Sham 2 days; ‡ P<0.05 vs. BDO 2 days; § P<0.01 vs. BDO 2 days.

군보다는 각각 약 24% (P<0.05) 및 약 37% (P<0.01)의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 대정맥 문합만 시킨 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다(Table 7).

쥐에게 담관 폐쇄를 시킨 후 2일 경과시켰을 때는 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 50% (P<0.001) 및 약 79% (P<0.001)의 증가를 나타내었다.

흰쥐에게 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 92% (P<0.001) 및 약 118% (P<0.001)), 담관 폐쇄만 시킨 군보다는 각각 약 27% (P<0.01) 및 약 22% (P<0.05)의 증가를 나타내었다. 그리고 담관 폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax치는 가수술만 시킨 군보다는 각각 약 44% (P<0.01) 및 약 74% (P<0.001)의 증가를 나타내었다. 그러나 담관폐쇄만 시킨 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다 (Table 8).

고 찰

간에 담즙울체가 야기되어 간이 손상을 받으면 간세포에서 합성되고, 간세포 외로 유리되는 효소들은 간 조직과 혈중에서 그 활성도의 변동이 심하게 나타난다는 사실은 잘 알려져 있다. 실험적으로 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체를 야기시키면 간에서 그 활성도가 변동되는 효소들은 많으며 그중에서도 특히 생체이물 생체 변환 효소들이 많다. 이들 중 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 세포질 xanthine oxidase,(*18*) 마이크로솜의 ethanol oxidizing system,(*19*) 세포질의 glyoxalase I,(*20*) 세포질의 aryl sulfotransferase,(*21*) 세포질 및 마이크로솜의 aldehyde dehydrogenase,(*19*) 마이크로솜 및 미토콘드리아의 benzoyltransferase, 마이크로솜 및 미토콘드리아의 phenylacetyltransferase,(*22*) 마이크로솜 및 미토콘드리아의 arylamine N-methyltransferase, 마이크로솜 및 미토콘드리아의 TMT(*1*) 등으로 알려져 있다. 그러나 담즙울체 간에서 생체이물 생체 변환 효소의 활성도 증가 기전에 대해서는 현재까지 어느 정도 밝혀져 있는 것은 마이크로솜의 ethanol oxidizing system, aldehyde dehydrogenase,(*23*) benzoyltransferase,(*24*) arylamine N-methyltransferase,(*25*) 등이다.

이 연구에서는 생체이물 생체 변환 효소인 TMT의 활성도가 담즙울체 간에서 왜 증가되었는지 그 기전의 일단을 알아보기 위하여 시행한 것이다. 주(*1*)의 보고에 의하면 쥐의 총담관을 결찰한 후 담즙울체 간에서 미토콘드리아 및 마이크로솜의 TMT 활성도는 총담관 결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일, 14일 및 28일에 유의한 증가를 나타내었다고 하였으며 세포질 분획에서는 별 변동이 없었다고 하였다. 이와 같은 TMT는 쥐 담즙울체 간의 미토콘드리아와 마이크로솜 분획에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소라고 하였으며 그 증가 기전에 대해서는 효소 단백질 합성의 증가에 의한 것 같다고만 추론하고 있다. 그리고 주(*1*)는 담즙울체 시 혈청에서 TMT의 활성도가 증가된 것은 담즙울체 간에서 나타나는 괴사와 아울러 간세포막의 투과성 항진이 이 효소의 활성도 증가와 관계가 있다고 하였으며 또한 담즙울체 간에서 TMT의 활성도 증가는 담즙울체 간에서 나타나는 담도세포의 증식과 유관하다고 하였다. 그러나 어떤 물질이 담즙울체 간에서 이 효소의 활성도를 증가시키는 데 기여하였는지는 분명하게 설명하고 있지 않다.

이 실험에서도 담즙울체 간에서 이 효소의 활성도가 증가됨을 확인하였다. 이 연구에서 규명하고자 하는 것은 이

들 효소 활성도가 담즙울체 간에서 어떤 물질의 매개에 의해 증가되었는가 하는 것이다. 이를 규명하기 위해 채택한 주요 동물모델은 4가지인데 Ogawa 등(*13*) 및 한과 김(*26*)의 방법에 의하였다.

즉 첫째, 모델은 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담관을 폐쇄시킨 모델이고, 둘째, 모델은 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시킨 모델이다. 이 두 모델은 시간이 경과될수록 간 내 담즙산의 농도가 점차 증가되는 점은 같으나 다른 점은 시간이 경과될수록 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 모델이 총담관 대정맥 문합을 시킨 모델보다 그 증가의 속도가 빠르다는 것이다.(*13,27*) 셋째, 모델을 흰쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TCA를 상대 정맥 내에 다량 주입하여 간 내에 담즙 울체를 심화시킨 모델이며, 넷째, 모델은 흰쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 TCA를 상대 정맥 내에 다량 주입하여 간 내에 담즙울체를 더욱 심화시킨 모델이다. 따라서 이 4가지 모델을 사용함으로써 시간 경과에 따른 간 내의 담즙산 농도 증가의 효과를 상호 비교할 수 있으며 아울러 총담관을 결찰하여 총담관을 폐쇄시킨 직후 TCA를 상대 정맥 내에 주입한 모델과 총담관 대정맥 문합 직후 TCA를 상대 정맥 내에 주입한 모델로는 간 내 TCA의 고부하에 따른 TCA의 효과를 알아 낼 수가 있는 것이다.(*13,26*)

이 연구에서 또 하나 규명해야 할 점은 부하시키는 담즙산의 종류가 다르면 이들 효소 활성도에 미치는 효과도 달라지는가 하는 것이다. 그래서 담즙울체 간에서 활성도가 증가되는 benzoyltransferase와 arylamine N-methyltransferase의 합성에 영향을 주지 않는다는 TUDCA(*24,25*)를 총담관 결찰로 담관 폐쇄를 시킨 직후 또는 총담관 대정맥 문합 직후 상대 정맥 내에 다량 주입시켜 TUDCA의 효과를 관찰하여 보았다.

이 실험에서 쥐에게 총담관 대정맥 문합을 시킨 후 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그리고 쥐에게 담관 폐쇄를 시킨 후 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 유의한 증가를 나타내었다. 한편 이 실험에서 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 총담관 대정맥 문합을 시킨 군보다 담관 폐쇄를 시킨 군에서 약간 더 증가되었다.

이 결과로 보아 간의 TMT은 간의 담즙울체의 정도가 경한 조건인 총담관 대정맥 문합(*13*)을 시켰을 때도 그 활성도가 증가되는 것을 알 수 있었다.

이 실험에서 쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군 또는 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 한편 이 실험에서 쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax치는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군 또는 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이 실험에서 측정한 4-chlorothiophenol에 대한 TMT의 Km치는 모든 실험군의 간세포 분획들에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

이 결과로 보아 TCA는 간의 TMT 합성을 유도한다고 추정할 수 있으며 특히 TCA를 주입한 실험군들에서 이 효소의 Km치는 변동이 없으면서 Vmax치가 증가된 것은 위의 추론을 한층 더 뒷받침 해주는 결과라고 생각한다.

쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획에서 이 효소의 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 이 결과로 볼 때 TUDCA는 간의 TMT의 합성을 유도하지는 않는다고 추정할 수 있다.

이 실험에서 쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시키고 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 통계학적으로 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이 때 이들 실험군의 간 세포질 분획에서는 이 효소의 활성도 변동은 없었다. 이 실험에서 혈청의 TMT 활성도를 총담관 대정맥 문합을 시킨 군과 담관 폐쇄를 시킨 군 간에서 상호 비교했을 때는 담관 폐쇄를 시킨 군이 총담관 대정맥 문합을 시킨 군보다 이 효소의 활성도가 약간 더 증가하였다. 그리고 이 실험에서 쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군 또는 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 이 실험군의 간 세포질 분획에서 이 효소의 활성도는 변동이 없었다. 이와 같이 이 실험에서 총담관 대정맥 문합이나 담관 폐쇄로 간에 담즙울체를 야기시키거나 총담관 대정맥 문합 직후 또는 담관 폐쇄 직후 TCA를 고부하시켰을 때 혈청의 TMT의 활성도는 유의하게 증가하였으나 이 때 이들 실험군의 간 세포질 분획에서 이 효소의 활성도는 변동이 없었다. 이 결과를 미루어 볼 때 담즙울체 시 혈중에서 이 효소의 활성도가 증가된 것은 담즙울체간의 세포질에 있던 이들 효소가 TCA에 의한 간의 괴사(*28,29*)로 간세포막의 투과성이 항진됨으로 해서 유출되어 나타난 결과로 생각된다.

이 실험에서 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청의 TMT 활성도는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 이 결과로 볼 때 TUDCA는 간세포의 투과성에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

이상 문헌상의 지견과 이 실험 결과를 볼 때 담즙울체 간에서 TMT의 활성도 증가는 담즙산 중 특히 TCA에 의해 이 효소의 합성이 유도되어 나타난 결과로 생각되며 아울

러 담즙울체 시 이 효소의 혈청 중 활성도 증가는 TCA에 의한 간의 괴사로 간세포막의 투과성이 항진되어 이 효소가 간에서 혈중으로 다량 유출되어 나타난 결과로 생각된다.

결 론

이 연구는 담즙울체간에서 활성도가 증가되는 TMT의 활성도 증가 기전의 일부를 알아내기 위하여 시행하였으며 쥐에게 총담관 결찰로 담관을 폐쇄시킨 직후 또는 총담관 대정맥 문합을 시킨 직후 TCA 또는 TUDCA를 정맥 내에 주입시킨 다음 경시적으로 TMT의 활성도를 측정하여 이 효소에 대한 이들 담즙산의 효과를 알아보았다.

쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청과 간의 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT 활성도는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군 또는 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 간 세포질 분획에서 TMT 활성도와 쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입시켜 1일 및 2일 경과시켰을 때 혈청과 간 세포질, 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획에서 TMT 활성도는 모두 대조군과 별차이가 없었다.

쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TCA를 주입시키고 2일 경과시켰을 때 간 미토콘드리아 및 마이크로솜 분획의 TMT의 Vmax 치는 각각의 대조군인 총담관 대정맥 문합만 시킨 군 또는 담관 폐쇄만 시킨 군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 그러나 쥐에게 총담관 대정맥 문합 또는 담관 폐쇄를 시킨 직후 TUDCA를 주입하고 2일 경과시켰을 때 TMT의 Vmax치는 모두 대조군과 별 차이가 없었다. 또한 이 실험에서 측정한 4-chlorothiophenol에 대한 TMT의 Km치는 모든 실험군의 간 세포 분획에서 유의한 변동을 나타내지 않았다.

이상의 결과로 보아 담즙울체간에서 TMT의 활성도 증가는 담즙산들 중 특히 TCA에 의해 이 효소의 합성이 유도되어 나타난 결과로 생각되며 아울러 담즙울체 시 이 효소의 혈청 중 활성도 증가는 TCA에 의한 간의 괴사로 간 세포막의 투과성이 항진되어 이 효소가 간에서 혈중으로 다량 유출되어 나타난 결과로 생각된다.

REFERENCES

1) Joo I. Arylamine N-methyltranferase and thiol methyltransferase activities from regenerating liver after partial hepatectomy and cholestatic liver after common bile duct ligation in rats. A Dissertation of the Graduate School of Keimyung University 1998. p.1-42.
2) Kim BK. Enzyme Nomenclature, IUB. New York: Academic Press; 1984.
3) Keith RA, Van Loon JV, Wussow LF, Weinshilboum RM. Thiol methylation pharmacogenetics: heritability of human erythrocyte thiol methyltransferase activity. Clin Pharmacol Ther 1983;34:521-8.
4) Tegtmeier F, Brunner G. Solubilization characteristics of pig liver S-methyltrans-ferase. Enzyme 1983;30:185-95.
5) Weisiger RA, Jakoby WB. Thiol S-methyltransferase from rat liver. Arch Biochem Biophys 1979;196:631-7.
6) Hiemke C, Ghraf R. Distribution and properties of thiol S-methyltransferase in rat brain. J Neurochem 1983;40:592-4.
7) Drummer OH, Miach P, Jarrott B. S-methylation of captopril. Demonstration of captopril thiol methyltransferase activity in human erythrocytes and enzyme distribution in rat tissues. Biochem Pharmacol 1983;32:1557-62.
8) Weinshilboum RM, Sladek S, Klumpp S. Human erythrocyte thiol methyltransferase: radiochemical microassay and biochemical properties. Clin Chim Acta 1979;97:59-71.
9) Borchardt RT, Cheng CF. Purification and characterization of rat liver microsomal thiol methyltransferase. Biochim Biophys Acta 1978;522:340-53.
10) Keith RA, Jardine I, Kerremans A, Weinshilboum RM. Human erythrocyte membrane thiol methyltransferase S-methylation of captopril, N-acetylcy-steine, and 7 α-thiospirolactone. Drug Metab Dispos 1984;12:717-24.
11) deBethizy JD, Hayes JR. Metabolism. A determinant of toxicity. In: Hayes AW, editor. Principles and Methods of Toxicology. 3rd ed. New York: Raven Press; 1994. p.59-100.
12) Kim SK, Kim YH. Induction of rat liver γ-glutamyl transpeptidase by bile acid load. Korean J Hepatol 1997;3:210-26.
13) Ogawa H, Mink J, Hardison WGM, Miyai K. Alkaline phosphatase activity in hepatic tissue and serum correlates with amount and type of bile acid load. Lab Invest 1990;62:87-95.
14) Kwak CS, Kwak JS. Cell fractionation method of the rat liver. 1. Isolations of mitochondria and microsomes. Keimyung Univ Med J 1986;5:45-53.
15) Weisiger RA, Jakoby WB. Thiol S-methyltransferase. In: Jakoby WB. editor. Method in Enzymology. Vol 77, New York: Academic Press; 1981. p.257-62.
16) Greenberg DM, Rothstein M. Method for isolation and degradation of labelled compounds. In: Colowick SP, Kaplan NO, editors. Method in Enzymology. Vol 4, New York: Academic Press; 1957. p.708-31.
17) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum protein by means of biuret reaction. J Biol Chem 1949; 177:751-66.
18) Kwak CS. Xanthine oxidase activity in the cholestetic rat liver. Keimyung Univ Med J 1985;4:125-30.
19) Kwak CS, Kim YH, Mun KC. Activities of alcohol metobolizing enzymes in the cholestatic rat liver. Keimyung Univ Med J 1988;7:64-75.

20) Byun YJ, Kim YH, Kwak CS. Effect of common bile duct ligation on liver and serum glyoxalase-I activities in ethanol intoxicated rats. Keimyung Univ Med J 1995;14:330-9.
21) Ihm JS, Kim YH, Kwak CS. Aryl sulfotransferase activity in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. Korean J Biochem 1995;27:141-7.
22) Kim YJ, Kim YH. Benzoyltransferase and phenylacetyltransferase activities in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. J Biochem Mol Biol 1999;32:67-71.
23) Shin MJ. Effect of high taurocholate load on activities of hepatic alcohol metabolizing enzymes in rats. A Dissertation of the Graduate School of Keimyung University 1998. p.1-50.
24) Kim IK, Kim YH, Kwak CS. Induction of hepatic benzoyltransferase by bile acid in rats. Keimyung Med J 2001;20:20-30.
25) Rhee BW, Kwak CS. Induction of hepatic arylamine N-methyltransferase by a taurocholate load in rats. J Korean Surg Soc 2000;59:141-53.
26) Han BH, Kim YH. Effect of high taurocholate load on activity of rat liver arylesterase. Korean J Hepatol 1997;3:154-69.
27) Toyota N, Miyai K, Hardison WG. Effect of biliary perssure versus high bile acid flux on the permeability of hepatocellular light junction. Lab Invest 1984;50:536-42.
28) Drew R, Priestly BG. Choleretic and cholestatic effects of infused bile salts in the rat. Experimentia 1979;35:809-11.
29) Kitani K, Kanai S, Obta M, Sato Y. Differing transport maxima values for taurine-conjugated bile salts in rats and hamsters. Am J Physiol 1986;251:G852-8.