

마우스 간세포 transaminase 활성 분포에 관한 연구

A Study on the Intracellular Distribution of Transaminases in the Liver of Mouse

서울대학교 의과대학 생화학교실

趙 壽 貞 · 金 昇 元

포유동물의 간조직을 이용하여 glutamic pyruvic transaminase (GPT)와 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)의 세포내 활성분포를 전기영동으로 연구한 바에 의하면,^{1,2)} 전자나 후자 공히 두개의 isoenzyme 이 있다는 것이며, 이러한 isoenzyme 의 하나는 cytoplasm 에, 다른 하나는 mitochondria 에 그 활성이 분포 되었다고 한다.

뿐만 아니라 혈청에서 발견되는 GOT 의 활성은 간질 환의 중증도(重症度)에 비례하여 나타난다고 하는 바 이는 특히 mitochondrial isoenzyme 활성을 주로 반영한다고 한다는 것이 보고 되었다.³⁾ 이밖에도 보문에 의하면^{4,7)} GOT 의 두가지 isoenzyme 은 전기영동상(像)으로 보면 mitochondrial isoenzyme 이 cathode 쪽에, cytoplasmic isoenzyme 이 anode 쪽에 있다는 것이다. 그러면서도 이 양자의 kinetic constant 는 거의 같다는 것이 알려져 있다.⁸⁾

이러한 세포내의 효소 활성 분포상(像)은 GOT 나 GPT 이외에 histidine pyruvate transaminase (HPT)의 경우가 그러할 뿐 아니라⁹⁾ 돼지나 소의 골격근에 있어서도 GOT 는 isoenzyme 적(的) 특성을 지니고 있다고 한다.¹⁰⁾

한편 Wang¹¹⁾ 이 송아지 흉선(胸腺)을 sucrose-CaCl₂ 법¹²⁾에 의하여 분석한 결과를 보면 유리(遊離) 아미노산(酸)이 핵(核) 성분에서 많이 함유되어 있으며 이 유리 아미노산 중에서도 glutamic acid 가 전체의 약 40%라는 것이다. 이와같이 비교지 많은 량의 glutamic acid 가 핵분획(分劃)속에 있다는 사실은 핵내에서도 transamination 으로 말미암아 glutamic acid 의 대사 활성이 높다는 것을 암시하고 있다.

근년에 이르러 이러한 세포내, 특히 핵내의 효소활성 분포에 대한 연구가 활발하여졌는바 대부분의 경우 mitochondria 분획에 효소활성이 가장 높다는 것이다.¹³⁾

그러나 더욱 관심을 모으는 것은 핵 분획내에 효소활성이 있다는 사실이며^{12,13)} 姜²⁾의 보고에서 보는바와 같이 GOT 가 세포내에서 2종 이상의 isoenzyme 적 분포를 한다는 사실일 것이다.

저자는 본 논문에서 상기한 바와 같은 제 보문에 관심을 갖고 GOT 및 GPT 에 대하여 더욱 종합적인 그들의 세포내 활성분포를 규명하고 gluconeogenesis 를 가저오는 것으로 알려져 있는 cortisone¹⁴⁾을 투여하거나 또는 이와같은 상태를 유발하는 것으로 알려져 있는 고단백식(高蛋白食) 및 굶성 기아(饑餓) 상태하에서의 세포내 transaminase 활성 분포를 관찰코저한 것이다. 즉 cortisone 과 같은 glucocorticosteroid 의 gluconeogenic action 이나, 이로 인하여 발생하는 negative nitrogen balance 는 단백질로부터 합수탄소로의 전환(轉換)을 가저오는 것이고, 그러기 위하여 transaminase 활성이 증가함으로¹⁵⁾ 저자가 시도한 세포내의 transaminase 활성 분포 규명에 도움이 될 것으로 예기 했기 때문에 cortisone 투여로 인한 이들 활성분포의 변화를 아울러 관찰한 것이다.

실제로 Gavosto 등¹⁶⁾에 의하면 흰 쥐에 있어서는 3일간 체중 kg 당 120mg 의 cortisone 투여만으로 간(肝) GOT 는 67%, GPT 는 81%나 증가한다는 것이다. 이러한 사실은 오래전에 보고된 바 있는 Beaton 등¹⁷⁾의 관찰에 의해서도 분명하듯이 간조직의 transaminase, 특히 GPT 의 활성이 단백질의 대사활성을 반영함을 뜻하는 것이다. 이들의 결론에 의하면 GPT 의 활성은 생체가 anabolic state 에 있을 때에 낮고 catabolic state 에 있을 때는 높다는 것이다. 물론 이러한 관계는 GOT 의 경우는 뚜렷한 것이 아니라 세포내 활성분포 연구에는 매우 효과적인 사실이라 하겠다. 왜냐하면 cortisone 처리로 인하여 체(體) 단백질해가 증가되고 동시에 transaminase 활성도 높아지기 때문이다.

본 논문에 있어서 저자는 마우스의 간 조직에서 GOT 및 GTP의 세포내 활성분포를 규명하고, 핵분획 안에 도 이러한 transaminase 활성이 있음을 밝혔으며, 이들 세포내 각 분획의 GOT 및 GPT가 cortisone 투여로써 어떠한 태도를 보이는가를 관찰한 것이다.

실 험 방 법

1. 사용동물 및 간조직 처리

본 실험에 사용한 동물은 체중 15g 내외의 마우스로서 성별(性別) 없이 선택한 것이다. transaminase의 세포내 활성분포를 보기 위하여 동물을 후두부 강타로써 희생시키고, 즉시 간장을 절취하여 생리적 식염수로 세척하였다.

이 간장을 0.25 M sucrose 용액으로 마쇄(磨粹)하여 10%(W/V)의 조직마쇄액(磨粹液)을 얻었다. 실험과정에서 있어서는 효소의 변성(變性)을 방지하기 위하여 모든 조직처리를 신속히 하였을 뿐더러, 빙수조(氷水槽)를 사용하였다.

2. 세포성분 분획

전기(前記)한 10% 조직마쇄액을 600×g에 10분간 원심분리하여 얻은 핵 분획을 다시 0.1M phosphate buffer (pH 9.0) 용액에 부유하여 세척하고 이를 핵분획 transaminase 활성측정에 사용하였다.

한편 그 상청액을 다시 8,000×g로 10분간 원심분리하여 상기와 같은 요령으로 세척하고 mitochondrial transaminase 활성측정에 사용하였으며, 나머지 상청액은 그대로 supernatant transaminase 활성측정에 사용하

였다. 상기분획 과정은 냉동 초원심분리기(International)로써 시행한 것이다.

3. 단백질 정량

효소의 비활성(比活性)를 구하기 위하여 각 세포분획에서 단백질을 정량하였는바, 분석방법은 phenol 시약을 이용하는 Lowry 등¹⁸⁾의 방법을 따랐다.

4. GOT 및 GPT 활성 측정

세포 각분획의 GOT 및 GPT는 2,4, dinitrophenylhydrazine을 이용하는 Reitman 과 Frankel¹⁹⁾의 방법을 따랐다.

5. Cortisone 처리

시판(市販) cortisone acetate를 1 mg/ml로 생리적 식염수에 희석하여 체중 10g 당 0.5~3.0 mg을 복강내로 주사하여 실험군으로 삼고, 대조군은 역시 체중 10g 당 1 ml의 생리적 식염수를 복강내로 sham 주사하였다. (상세(詳細)는 각 도표 참조)

한편 cortisone에 의한 체중 및 간중량 변화를 평량(秤量) 기록하였다.

실 험 결 과

1. 마우스세포내 transaminase 활성분포

제 I 및 제 II 표에서 보는 바와같이 정상 마우스간조직에 있어서는 GPT 보다 GOT의 활성이 높았으며 이는 Wang(13) 및 Rosen 등(20)의 실험결과와 흡사한 것이었다. 즉 GOT는 핵 mitochondria, 및 supernatant 분

Table I. Intracellular distribution of GOT activity in the liver of normal mouse.

Nuclear			Mitochondrial			Supernatant		
Enzyme	Protein	Specific activity	Enzyme	Protein	Specific activity	Enzyme	Protein	Specific activity
280*	1.86	151	1580	3.83	413	500	1.14	439
450	1.18	381	1130	3.43	331	300	0.72	429
200	0.97	211	1800	2.18	981	350	0.68	530
700	1.18	594	1130	3.41	331	180	0.70	257
250	0.95	263	2120	2.16	981	300	0.66	455
220	1.86	118	1580	3.85	413	820	1.15	719
260	1.43	182	1540	1.93	798	340	0.61	557
300	1.36	221	1400	2.71	517	360	0.68	529
260	1.44	182	1540	1.95	798	260	0.62	426
490	1.36	360	1790	2.51	661	360	0.68	529
341±158	1.36±0.32	266±143	1561±302	2.81±0.76	622±320	377±176	0.76±0.20	4.87±104

* Figures denote unit/ml homogenate for enzyme, mg/ml for protein and unit/mg protein for specific activity.

Table II. Intracellular distribution of GPT activity in the liver of normal mouse.

Enzyme	Nuclear		Mitochondrial			Supernatant		
	Protein	Specific activity	Enzyme	Protein	Specific activity	Enzyme	Protein	Specific activity
30.0*	1.87	16.6	166.0	3.83	43.3	51.0	1.14	44.7
20.0	1.18	17.0	190.0	3.41	55.7	46.0	0.70	65.7
10.0	0.95	15.3	78.0	1.16	67.2	30.0	0.66	45.4
19.0	1.19	16.1	172.0	3.40	50.4	32.0	0.70	45.7
18.0	0.95	18.2	78.0	1.18	67.2	30.0	0.66	45.4
30.8	1.88	16.5	135.0	3.83	35.2	68.0	1.14	59.6
35.0	1.43	15.2	160.0	1.93	98.4	40.0	0.61	65.6
22.0	1.36	16.2	157.0	2.71	57.8	35.0	0.68	51.5
30.0	1.43	29.8	145.0	1.93	75.2	38.0	0.61	62.3
22.0	1.35	16.2	149.0	2.71	54.1	50.0	0.68	58.8
23.7±6.8	1.36±0.67	16.9±7.2	146.0±36.0	2.61±1.02	60.5±17.5	41.0±15.4	0.76±0.20	54.5±8.8

* Figures denote unit/ml homogenate for enzyme, mg/ml for protein and unit/mg protein for specific activity.

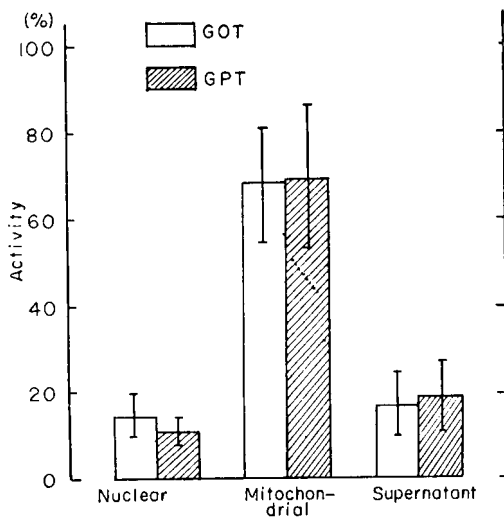


Fig. 1. Comparison of percentage distribution of intracellular transaminase activities in the liver of normal mouse.

획에서 각각 341 ± 158 , 1561 ± 302 및 377 ± 176 units/ml homogenate 이었으며, 한편 GPT는 상기 각성분에 있어서 각각 23.7 ± 6.8 , 136 ± 36 , 41.0 ± 15.4 units/ml homogenate 이었다. 따라서 GPT 보다 GOT는 그 총활성에 있어서 약 10배에 달하고 있었다.

그러나 양(兩) transaminase 공히 가장 많은 활성이 mitochondria 분획에서 관찰되었으며 다음은 supernatant 분획이고 핵분획에서는 활성이 가장 낮았다. 이 세포내 활성 분포의 비율을 보면 GOT는 mitochondria 분획에서 $68.5 \pm 13.3\%$ 이었고 GPT는 $19.3 \pm 17.1\%$ 이었으므로 총활성의 2/3 이상이 이 분획에서 관찰되었다. super-

natant 분획의 GOT는 총활성의 $35.5 \pm 7.6\%$ 이었고 GPT 경우는 $41.0 \pm 7.0\%$ 이었으며, 가장 낮은 핵성분에 있어서는 GOT가 $19.3 \pm 10.4\%$, GPT가 $11.2 \pm 3.2\%$ 이었다.

즉, 양 transaminase의 활성에는 큰 차이가 있으나 제도에 비교한 바와 같이 세포내 활성 분포율(率)은 양자간(兩者間)에 큰 차이가 발견되지 아니하였다.

그러나 제 2도에서 보는 바와 같이 이들의 비활성은 매우 그 변화 영역(領域)이 넓어서, mitochondria 및 supernatant 분획 간(間)에는 의의 있는 차이를 보기 힘들다, 평균치만으로 볼 때 GOT가 mitochondria에 있어서 622 ± 320 units/mg protein ($45.2 \pm 23.3\%$)이고, GPT가 60.5 ± 17.5 units/mg protein ($46.0 \pm 13.0\%$)이었으며 supernatant 분획에서는 GOT가 487 ± 104 units/mg protein ($35.5 \pm 7.6\%$)이고 GPT가 54.5 ± 8.8 units/mg protein ($41.0 \pm 7.0\%$)이었다.

그리고 핵분획에 있어서는 GOT가 266 ± 143 units/mg protein ($19.3 \pm 10.4\%$)이고 GPT가 16.9 ± 7.2 units/mg protein ($13.0 \pm 5.0\%$)이었다.

그러므로 이들 비활성의 백분율분포 역시 효소활성의 그것과 흡사한 세포내 분포를 보였으며 GPT, GOT간에는 의의있는 차이를 발견 못하였다.(제 2도)

2. Cortisone 처리와 체중 및 간중량

체중 10g 당 1일 $0.5 \sim 3.0$ mg의 cortisone을 복강내 주사로 마우스에 2일간 투여하여 24시간 후에 체중과 간중량을 관찰하였던 바 제 3도에서 보는 바와 같이 체중의 감소가 이러났었다. 즉 체중은 cortisone 처리 전

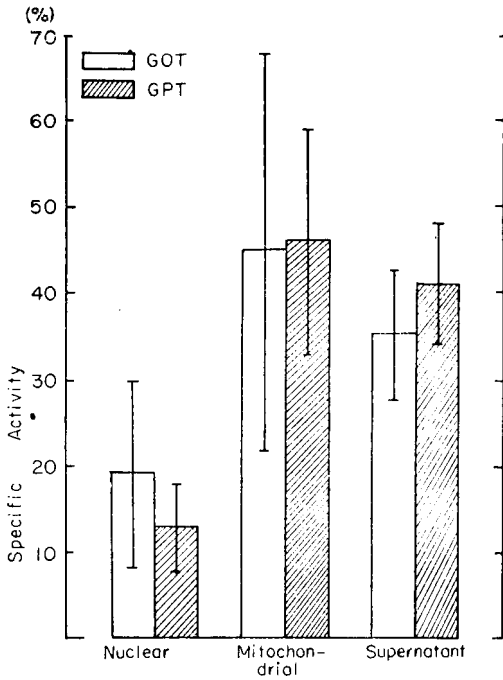


Fig. 2. Comparison of percentage distribution of the specific activities of GOT and GPT in the intracellular fractions of normal mouse liver

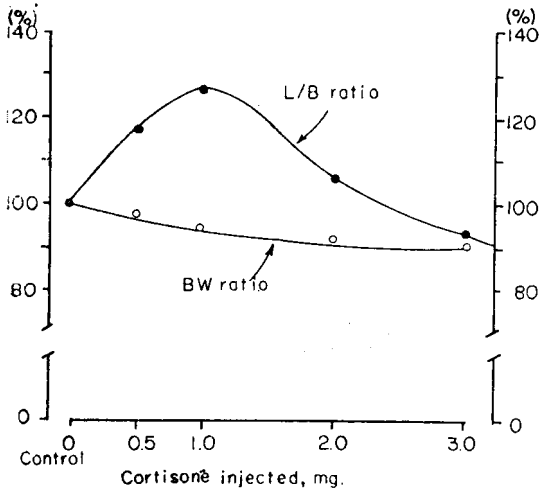


Fig. 3. Variations in the body and liver weight of mouse following intra-peritoneal injection of cortisone. Cortisone was injected intra-peritoneally into the mouse, 1.0 mg/10 g body weight per day, for 2 days and cortisone treated animals were sacrificed 24 hours after injection.

과 후의 비율(BW ratio=cortisone 처리후 체중/전체중 $\times 100$)은 대조군(100%)에 비해서 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mg의 cortisone 투여로써 각각 97.8 ± 2.1 , 94.8 ± 3.9 , 92.8 ± 4.1 그리고 90.7 ± 4.5 로 감소하여 약 10%의 감소를 보였다.

한편 체중에 대한 간중량 변화율(LB ratio=간중량/체중 $\times 100$)은 역시 상기 각 농도의 cortisone 투여로써 대조군(100%)에 비해 각각 111.7, 127.1, 106.1 그리고 93.8%로서 1.0 mg의 cortisone 투여로써 가장 높은 증가율이 나타났었다. 이는 체중에 비해 간중량은 오히려 변화가 없거나 아니면 극히 증가를 보이다가 2.0~3.0 mg의 cortisone 으로서는 감소함을 나타낸다고 보겠다.

3. Cortisone 투여와 세포내 transaminase 활성

마우스에 cortisone 을 1일 체중 17g 당 0.5~3.0 mg 로 2일간 투여하고 24시간 후에 동물을 희생하여 그 간조직의 GOT 및 GPT 를 측정 한 결과는 제 III, IV 표 및 제 4, 5 도와 같다.

GOT 의 경우는 대조군에 있어서 핵분획, mitochondrial 분획, supernatant 분획에서 각각 235 ± 72 , 1160 ± 232 , 282 ± 91 units/ml homogenate 이었던 것이 cortisone 처리로써 모든 분획의 GOT 가 상승하였고 그중 뚜렷한 증가는 mitochondrial GOT 에서 볼 수 있었다.

즉 제 4 도에서 보는 바와 같이 이 분획에서는 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mg cortisone 으로서 각각 1300 ± 302 , 1770 ± 310 , 1650 ± 410 , 2061 ± 370 units/ml homogenate 로 증가하였으므로 cortisone 투여량에 비례하여 활성이

Table III. Comparison of the intracellular GOT activities in the liver of mouse as affected by cortisone. cortisone was intra-peritoneally injected into the animals for 2 days, 1.0 mg/10 g body weight/day, and the animals were sacrificed 24 hours later.

Cortisone treatment mg/animal/day	Number of animals	Nuclear	Mitochondrial	Supernatant
Control (sham)	16	*235 \pm 72	*1160 \pm 232	*282 \pm 91
0.5	16	253 \pm 80	1300 \pm 302	321 \pm 105
1.0	21	289 \pm 95	1770 \pm 310	425 \pm 85
2.0	11	325 \pm 105	1650 \pm 410	370 \pm 113
3.0	21	333 \pm 112	2061 \pm 370	380 \pm 188

* Figures denote units/ml homogenate.

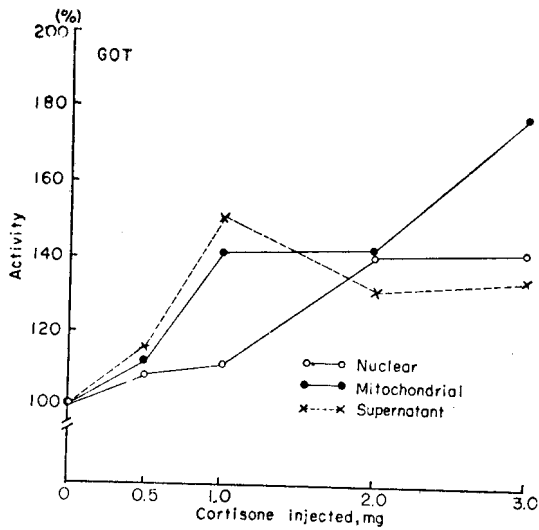


Fig. 4. Percentage variations in the intracellular GOT activity of the cortisone treated mouse liver. (See Table III)

증가함을 보았다.

다음은 핵분획과 supernatant 분획의 GOT가 비슷한 증가율을 보였다. 즉 전자에 있어서 3.0mg cortisone 으로 가장 높은 활성, 333 ± 112 units/ml homogenate 로서 대조군에 비하여 $141 \pm 41\%$ 의 활성을 보였고, 한편 후자에 있어서는 역시 같은 cortisone 양으로 380 ± 188 units/ml homogenate 로 증가하여 대조군에 비할 때 $134 \pm 67\%$ 의 활성 증가를 보인 것이다. (제 4 도)

또한 GPT의 경우에도 제 IV 포 및 제 5 도와 같이 cortisone 초리로써 세포내 각 분획에서 마다 그 활성이 증가하였었다. 그러나 그 증가정도는 GOT에 비하여 훨씬 현저하였었다. 역시 가장 높은 증가율이 mitochondrial GPT 였던 것은 GOT와 같다. 이 분획에서는 대조군이 125.4 ± 2.54 units/ml homogenate 이던 것이 0.5,

1.0, 2.0, 3.0 mg의 cortisone 투여로써 각각 284.0 ± 46.0 , 328.0 ± 48.6 , 576.0 ± 125.0 , 730.7 ± 140.3 units/ml homogenate 로 증가하여 각각 226 ± 37 , 262 ± 37 , 459 ± 00 , $583 \pm 112\%$ 의 증가율을 보이고 있었다. 그러므로 3mg cortisone 으로서는 거의 6배에 달하는 활성 증가를 초래한 것이며 GOT의 경우 약 2배였던 것에 비하면 놀라울 증가라 하겠다.

다음은 핵분획과 supernatant 분획의 GPT가 거의 비슷한 태도를 보였으며, 이는 GOT의 경우와 흡사하였다. 즉 핵분획 GPT 3mg cortisone 으로 1.58 ± 3.5 units/ml homogenate 에서 48.0 ± 20.3 units/ml homogenate 로 증가하였으니 이는 대조군에 비하여 $304 \pm 128\%$ 에 해당하는 것이었으며, supernatant 분획 GPT는 대조군이 38.6 ± 13.2 units/ml homogenate 이던 것이 3.0 mg cortisone 투여로써 170.6 ± 34.1 units/ml

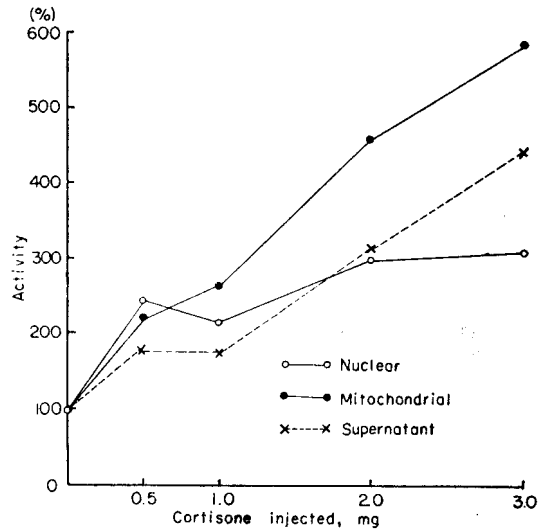


Fig. 5. Variations in the intracellular GPT activity of the cortisone treated mouse liver. (See Table IV)

Table IV. Comparison of the intracellular GPT activities in the liver of mouse as affected by cortisone. Cortisone was intra-peritoneally injected into the animals for 2 days, 1.0 mg/10 g body weight/day, and the animals were sacrificed 24 hours later.

Cortisone treatment mg/animal/day	Number of animals	Nuclear	Mitochondrial	Supernatant
Control(Sham)	16	$15.8 \pm 3.5^*$	125.4 ± 25.4	38.6 ± 13.2
0.5	16	38.5 ± 7.8	284.0 ± 46.0	70.0 ± 25.7
1.0	21	34.0 ± 15.2	328.0 ± 48.6	67.0 ± 39.0
2.0	11	47.2 ± 17.8	576.0 ± 125.0	120.0 ± 45.9
3.0	21	48.0 ± 20.3	730.7 ± 140.3	170.6 ± 34.1

* Figures denote units/ml homogenate.

Table V. Changes of intracellular GPT activity in the liver of mouse during 15 days after cortisone injection. Cortisone was administered intra-peritoneally for 2 days. 1.0 mg/10 g body weight/day. Sham injected animals with physiological saline solution served as control.

Intracellular fractions	2nd day		5th day		15th day	
	Control	Cortisone	Control	Cortisone	Control	Cortisone
Nuclear	27.7 ± 5.6*	31.4 ± 10.1	23.7 ± 7.5	47.2 ± 9.4	34.0 ± 12.5	40.2 ± 10.0
Mitochondrial	164.5 ± 30.0	208.0 ± 69.5	172.0 ± 36.0	608.7 ± 150.2	157.0 ± 36.4	340.3 ± 105.7
Supernatant	46.0 ± 15.4	58.3 ± 16.2	32.4 ± 17.5	160.0 ± 54.5	38.6 ± 12.8	142.5 ± 48.6

* Units/ml homogenate.

homogenate 로 증가하였으므로 이는 442 ± 83%의 증가에 해당하는 것이었다.

그리고 cortisone 을 1일 체중 10 g 당 1.0 mg 를 복용내로 2일간 마우스에 투여하고 15일간의 간 GPT 활성 변화를 관찰한 결과는 제 V 표 및 제 6 도와 같다. 각 분획 GPT 는 공허 주사를 중단한 5일 후에 가장 활성이 높았으며 그후 점차 감소하였다. 가장 높은 5일만에는 핵분획 GPT 는 47.2 ± 9.4 units/ml homogenate 로서 대조군에 비하여 199.1 ± 39.7% 이었고 mitochondrial GPT 는 대조군이 172.0 ± 36.0 units/ml homogenate 이던 것이 5일만에는 608.7 ± 150.2 units/ml homogenate 로서 353.0 ± 87.3%의 증가를 보였다. 한편 supernatant 분획에서는 같은 시기의 대조군이 32.4 ± 17.5 units/ml homogenate 이던 것이 cortisone 처리군에서는 160.0 ± 54.5 units/ml homogenate 로서 493.8 ± 168.2%의 증가율을 보였다. 세포내 핵분획 GPT 는 한결같이 그 변동영역이 매

우 넓어서 양자간에 통계적 의의를 보일만한 차는 없었지만 그 변화 경향은 흡사하였다. (제 6 도)

4. 단백질 투여 및 기아와 간세포내 GPT 활성

마우스를 그 식이(食餌)에 각각 30%, 60%의 단백질을 함유케하여 실험전 5일간을 사육한 다음 간세포내 GPT 를 관찰한 결과는 제 6 표에 요약한바와 같다.

즉 대조군에 비하여 어느 세포내 분획에서도 GPT 는 한결같이 증가하였으나 30%에서보다 60% 식이 단백질로 더 많은 활성 증가를 보였다. 즉 핵분획, mitochondria 분획, supernatant 분획 GPT 는 30% dietary protein 으로서 각각 129%, 123%, 119%의 증가를 보였고 60% dietary protein 으로서 각각 179%, 206%, 그리고 177%의 증가율을 보였다.

또한 마우스를 실험전에 2일간 금식(禁食)하고 관찰한 결과 역시 제 VI 표에 기록한바와 같다. 즉 분획, mitochondria 분획 그리고 supernatant 분획에서 각각 62.5, 603.0, 121.0 units/ml homogenate 로 증가하여 264%, 413%, 295%의 증가율을 보였다.

Table VI. Effect of dietary protein and fasting on the intracellular GPT activity in the liver of mouse

Intracellular fraction	Control*	Dietary protein**		※ Fasting
		30%	60%	
Nuclear	23.7 ± 6.8	30.5(5)***	42.3(6)	62.5(5)
Mitochondrial	146.0 ± 36.0	180.4(5)	300.5(6)	603.0(5)
Supernatant	41.0 ± 15.4	48.8(5)	72.6(6)	121.0(5)

* Protein content lower than 10%.

** Protein diets were fed for 5 days prior to experiment.

*** Figures in the parenthesis denote number of animals.

※ Fasted for 2 days

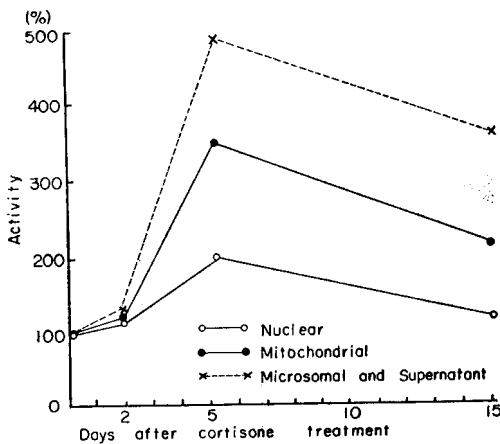


Fig 6. Percentage variations in the intracellular GPT activity in the liver of mouse after cortisone injection. (See Table V for details)

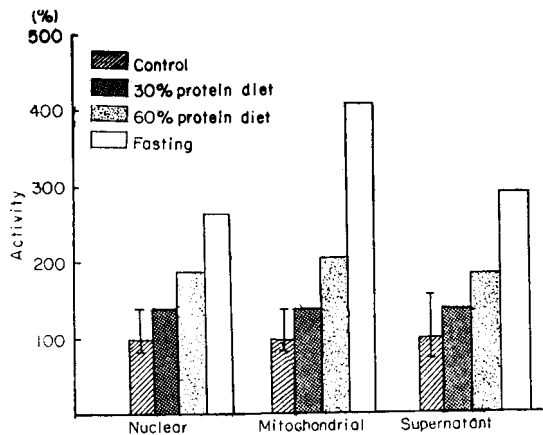


Fig. 7. Comparison of intracellular GPT activities in the liver of mouse as affected by dietary protein and fasting.

이와같은 증가는 어느군에 있어서나 mitochondria 분획에서 제일 높았고 제 7 도에 비교한 바와 같이 2일간 금식군이 가장 현저한 증가를 보였고 다음이 단백질의 정도에 비례하였다.

고 찰

1. 마우스 간세포내 transaminase 활성분포에 대하여

Transaminase의 세포내 활성 분포에 관한 연구는 주로 chromatography¹⁾나 전기영동²⁾에 의한 것으로서 GOT, GPT 공히 mitochondria와 cytoplasm에 분포된 것으로 알려져있다. 뿐만 아니라 GOT의 경우는 그 분포 부위에 따라서 약간의 특성 차이를 보이며 oxaloacetic acid에 의하여 mitochondrial GOT가 더욱 현저히 억제됨을 받는다는 보문까지도 있다.^{21), 22)}

Ziegenbein¹⁾은 GPT에 대하여도 DEAE-cellulose의 column chromatography를 이용하여 이와 비슷한 결과를 보고한 바 있다.

그러나 핵분획내에도 GOT나 GPT 활성이 존재하여 핵내에서도 glutamic acid의 왕성한 대사가 이루어지고 있음이 본 논문에서 다시 확인되었다. 이와같은 결과는 Wang¹¹⁾이 보고한 바와 같이 핵분획내에 있는 총질소의 19.77%에 해당하는 아미노질소가 존재하며 이 아미노질소중 glutamic acid가 8.5%로서 가장 많은 양을 점유하고 있다는 사실이 이를 뒷받침한다고 보겠다. 물론 이 결과는 송아지 흉선에서 얻은 것이지만 본 논문

에서 보는 바와 같이 간조직의 핵분획내에도 GOT 및 GPT 활성이 존재하는 것으로 보아 핵내에서의 glutamic acid 대사가 왕성한 분명하다할 것이다. 이와 같은 사실은 타 조직, 예컨대 근육과 상피조직²³⁾같은 데에서도 확인된 바 있다.

핵분획내의 이와 같은 유리(遊離) 아미노 산은 물론 핵단백질의 생합성에 주로 이용되었거니와 본 연구의 결과로 보건데 분명히 glutamic acid가 transamination을 입어 keto 산이 되는것은 물론이요 이로 인하여 상당량(0.54%)¹¹⁾ 함유 되어 있는 alanine을 pyruvate로 전환케하여 합수탄소 대사와의 연결되어 있음이 분명하다.

그러나 본 연구의 결과에서 보듯이 GPT의 활성은 GOT에 비할 때 거의 그 10%에 불과하다. 그러므로 전기(前記)한 바와 같이 alanine으로 부터보다 aspartic acid로 부터 oxaloacetic acid를 거쳐서 pyruvic acid로 전환되는 transamination 및 decarboxylation이 왕성한 암시하고 있다. 실제로 핵분획내에는 alanine의 약 3배에 달하는 aspartic acid가 있다는 것을 볼때¹¹⁾ 이와 같은 사실은 더욱 분명한 듯하다.

그러나 핵내에서는 GPT 활성보다 GOT 활성이 더 높다는 사실은 mitochondria나 supernatant 분획에서도 공통된 사실이지만 본 실험결과에 의하면 주로 mitochondria 분획에 총활성의 2/3가 있으며, 핵분획에는 총활성의 10% 내외만이 있는 것을 볼 때 전혀 무시할 수 있는 활성이라고는 볼 수 없다.

May 등²⁴⁾도 세포내 총 GOT 활성의 33%가 핵분획에 있다고 보고하였다. 그러나 이들의 33%는 저자의 10%에 비할 때 매우 높은 활성임으로, 핵분획을 얻는 과정에서 불충분한 세척에 기인한 mitochondria 분획등의 오염을 의심할 수도 있겠다. 한편 Eichel과 Bukovsky²⁵⁾나 Gaull과 Villee²⁶⁾는 GOT의 활성이 세포의 용해성 분획에 가장 많다고 보고한데 반하여, May²⁴⁾는 반대로 이와 상반하는 결과를 보고하였다. 그러나 저자의 결과로 보건데 후자의 결과가 합당한 것으로 사료된다. 왜냐하면 mitochondria는 그 분획과정에서 약간의 손상이라고 그 구조에 미치게 되면 mitochondria내의 효소는 cytoplasm으로 유출될 가능성이 있기 때문이다.²⁵⁾

본 실험으로 미루어 보건데 mitochondria 분획에 가장 효소활성이 높기 때문에 핵분획내의 GOT나 GPT 역시 nuclear particulate에 주로 존재하리라 짐작된다. 일찍이 Wang과 Wang²⁷⁾은 nuclear ribosome에 많은 종류의 효소가 있음을 지적한 바 있거니와, nuclear

ribosome에 각종 dehydrogenase를 비롯하여 ATPase, RNase, β -glucuronidase 등과 함께 GOT, GPT 활성이 있음을 볼때¹³⁾ nuclear ribosome이 cytoplasmic ribosome처럼 단백질 생합성의 장소임이 분명한 것 같다.

뿐만 아니라 이러한 nuclear ribosomal enzyme은 아무리 세척을 거듭하여도 대부분이 그대로 활성을 유지함을 본다.²⁷⁾ 그러므로 ribosome과 enzyme 간의 강한 결합을 짐작케 한다.

2. 간세포내의 transaminase 활성과 cortisone의 영향

Cortisone은 glucocorticosteroid로서 gluconeogenesis를 가져올뿐만 아니라 Kröger와 Greuer²⁸⁾에 의하면 흰 쥐 간조직에서의 효소 활성에 대한 기질유도(基質誘導)는 공존하는 소량의 cortisone에 좌우된다고 한다. 그들은 이러한 사실을 부신각출 흰쥐의 간조직 triptophan pyrrolase와 tyrosine α -keto-glutarate transaminase에 대하여 관찰하였거니와 cortisone은 여타의 hormone도 그러하듯이 messenger RNA의 생합성을 자극하는 것임으로 기질유도를 결과하는 것으로 되어 있다. 따라서 기질유도인가 hormone 유도인가의 문제는 차지하고도, 본 실험결과에서도 보듯이 모든 세포내 분획에서 GOT, GPT의 활성이 증가한 것은 이 hormone의 gluconeogenic potency를 옹변하고 있다.

특히 GOT보다 GPT가 본 연구 결과 현격하게 이 hormone으로 그 활성이 증가하였을 뿐만 아니라, mitochondria분획 GPT가 현저한 증가를 보이고 있다. 본 연구에서는 gluconeogenesis의 정도를 가속(加速)하는 것으로 알려져있는 상태증에서 고단백식(高蛋白食) 및 금식(禁食)을 택하여 실험한 결과, 역시 간조직세포의 GOT, GPT 활성 증가는 cortisone투여와 같은 결과를 초래하였다. 다만 그 증가율에 있어서 GPT는 현저하였으나 GOT는 이에 비해 미미한 것이었다. 이는 Rosen 등¹⁴⁾의 연구결과와 흡사한 것으로서, gluconeogenesis에 있어서는 GPT가 rate limiting 이리라는 사실을 시사(示唆)한다 하겠다.

뿐만 아니라 상기 각 조건하에서 GPT에 세포내 활성이 현저히 증가한다는 사실은 steroid와의 결합으로 인하여 효소 활성이 단순히 부활(賦活)되는 정도를 넘어서 새로운 효소 생합성이 일어난리라는 사실도 짐작된다. gluconeogenesis를 자극하는 상기 각 조건은 처음에는 아미노 산의 수송에 영향을 미치거나, 또는 단백질 생합성 내지는 핵산대사의 어떤 단계에 영향을 미쳐서 아미노 산의 metabolic pool을 증가케하여, 증내는 기질유도로 말미암은 GPT의 생합성 증가를 가져오는

것으로 보인다.

상기 각 조건이 같은 정도로 간 GPT 활성을 증가케 함을 볼 때, 이와같은 조건에 공통된 영향, 즉 stress에 대한 대사적 반응으로써 로세로운 효소 생합성이 일어나리라 짐작된다.

실제로 Beaton 등¹⁷⁾에 의하면 GPT 활성은 단백질 대사와 직결되는 것으로서 vitamine B₆결핍에 의하여 영향되지 않는한 간조직의 GPT 활성은 이조직에서의 단백질 이화작용(異化作用)과 병행한다고 한다. 이들은 저자가 실험한 금식, 고단백식 그리고 cortisone투여 아닌 조건, 즉 X-선 조사나 질소 mustard의 복강내 주사로써도 GPT 활성증가가 있음을 보고하였다. 말할것 없이 이러한 실험조건 역시 간조직 단백질의 이화대사를 증가시키는 것이다.

한편 본 연구 결과에서 보듯이 cortisone투여를 중단한지 15일이 경과하여도 상당 정도의 GOT, GPT 활성이 간조직세포내 각 분획에서 대조군 이상으로 남아있는 사실은 간조직내에서의 GPT의 정상적 전환율(轉換率)에 기인한 것인지 아니면, cortisone의 장기(長期) 체내저류에 기인하는 것인지 혹은 또 어떤 활성 중간대사 산물이 존재하는 까닭인지에 대해서는, 본 실험결과로서는 알 수 없다. 다만 분명한것은 이와같이 증가한 세포내 각 분획의 GPT 활성은 아미노산 대사의 불균형에 기인하는 것으로서, 단백질 이화작용 내지는 negative nitrogen balance를 가져온다는 사실이라 하겠다. 더욱이 Cushing's syndrome에 있어서나 glucocorticosteroid로 치료를 받고 있는 환자의 혈액내에 pyruvic acid나 lactic acid와 같은 transamination을 거쳐 산성된 대사 산물이 축적한다는²⁸⁾ 사실을 아울러 보건데, GPT의 glucocorticosteroid에 의한 조절은 매우 중요한 대사기전(代謝機轉)의 하나로서 그것이 바로 gluconeogenic activity임을 증명하고 있다.

결 론

마우스의 간조직을 원심분획하여 핵분획, mitochondria분획, supernatant분획을 얻고 이들 분획 중에 분포되어 있는 GOT와 GPT의 활성을 검색하였다. 한편 cortisone을 투여하여 이들 분획의 해당(該) 효소활성 변동도 아울러 관찰하는 한편, 고단백식과 금식으로서 gluconeogenesis를 유발하여 이들 분획중의 이들 효소 활성변동을 검색하고, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. GOT, GPT 공히 마우스 간조직세포내 각분획에 존재하고 있으며, 특히 mitochondria분획에 가장 많이 핵분획에 가장 적게 분포되어 있다.

2. 각 분획에서 공히 GPT 보다 GOT 활성이 훨씬 높다.
3. cortisone 은 이러한 세포내 각 분획의 GOT, GPT 활성을 증가케 하며 특히 GPT 에 대하여 그 영향이 더욱 높다.

4. 고담백식과 금식 역시 cortisone 투여 처럼 이와같은 GOT, GPT 의 활성증가를 가져오며 GPT 가 GOT 보다 더욱 현저하게 증가한다.

5. 상기한 실험조건하에서는 cortisone 투여와 같이 세포내 mitochondria 분획의 GPT 활성을 가장 많이 증가케 한다.

상기 결과, 특히 핵분획의 GOT, GPT 활성 존재와 gluconeogenesis 에 따르는 세포내 각 분획 GOT, GPT 활성 변동에 대하여 약간의 고찰을 시도하였다.

ABSTRACT

A Study on the Intracellular Distribution of Transaminases in the Liver of Mouse

Su-Jung Cho, M. D. and Sung-Wun Kimm M. D.

*Department of Biochemistry, College of Medicine
Seoul National University*

Intracellular fractionation was carried out by ultracentrifugal analysis in order to obtain the nuclear, mitochondrial, and supernatant fractions in the liver of mouse. Colorimetric analysis was performed to estimate the distribution patterns of GOT and GPT levels among the fractions.

Cortisone was administered intraperitoneally to study the response of the transaminase activities among the three intracellular fractions.

Along with study on the influence of cortisone, the effects of dietary protein and fasting were investigated to observe their effects of gluconeogenic activity exerted upon the transaminase activity in the liver of mouse, with the following conclusions.

1. The distributions of GOT and GPT are common to all fractions, the activities in mitochondrial fractions being the highest and the nuclear the lowest.

2. GOT level is higher than GPT in every intracellular fractions.

3. Cortisone administration causes an increase in

the activities of both transaminases in all intracellular fractions, and its magnitude exerted upon GPT being more stronger than GOT.

4. Conditions known to display gluconeogenic action, such as high protein intake and fasting, cause increased levels of GOT and GPT in all intracellular fractions, the magnitude of which is far higher in GPT than in GOT level, as observed with cortisone administration.

5. In the conditions mentioned above, as cortisone administration, increased level of mitochondrial GPT is most pronounced among the three intracellular fractions.

A brief discussion was made on the results, especially on the significance of nuclear GOT and GPT as well as variations of these enzymes in the intracellular fractions resulting from gluconeogenesis.

REFERENCES

1. Ziegenbein, R.; *Nature*, 89, 935 (1966)
2. Kang, S. Y.; *Korean cent. J. Med.*, 13, 1 (1967)
3. Villa, L., Dioguardi, N. and Agostoni, A.; *Klin. Wschr.*, 45, 44 (1967)
4. Fleiser, G. A., Porter, C. S., Wakim, K. G., Parkow, M. and Osborne, D.; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 103, 229 (1960)
5. Boyd, J. W.; *Biochem. J.*, 80, 18p (1961)
6. Boyd, J. W.; *Biochem. J.*, 81, 43p (1961)
7. Nisselbaum, J. S. and Bodauskay, O.; *J. Biol. chem.*, 239 4232 (1964)
8. Hong, C. N. H.; *In Wolstenholme, C. W. E. and Freeman, J. S. (editors), Ciba Foundation, Colloquia on Endocrinology, Vol. 6. Little Broron & Co., Boston, (1963) p. 1136.*
9. Spolter, H. and Baldrige, R. C.; *Biochim. Biophys. Acta.* 90, 287 (1964)
10. Kormandy, K., Gantner, G. and Hamm, R.; *Biochem. Z.*, 342, 31 (1965)
11. Wang, T. -Y.; *Nature*, 195, 1099 (1962)
12. Allfrey, V. G., Mirsky, A. E. and Osawa, S.; *J. Gen. Physiol.*, 40, 451 (1957)
13. Wang, F. Y.; *Nature*, 204, 880 (1964)
14. Rosen, F., Roberts, N. R. and Nichol, C. A.;

- J. Biol. Chem.*, 234, 476 (1959)
15. Long, C.N.H in C. W.E Wolstenholme and J.S. Freeman(editors) *Ciba Formdation Colloquia on Endocrinology*, vol. 6, Little Brown & Co., Boston (1953), p. 136
 16. Gavosto, F., Piler, A. and Brusca, A.; *Biochim. Biophys. Acta.* 24, 250 (1957)
 17. Beaton, g.H., Currey, D.M. & Veen, M.J.; *Arch. Biochem. et Biophys.*, 70, 288 (1957)
 18. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.T.; *J. Biol. Cheum.*, 193, 265 (1951)
 19. Reitman, S. and Frankel, S.; *Amer. J. Clin. Paihol.*, 28, 56 (1957)
 20. Rosen, F., Roberts, N.R., Budnick, L.E., and Nichol; C.A.; *Science*, 127, 287 (1958)
 21. Eichel, H.J. and Bukowsky, J.; *Nature*, 191, 248 (1961)
 22. Borst, P. and Peeters, E.M; *Biochim. Biophys Acta*; 54, 188 (1961)
 23. Roberts, E. and Frankel, S.; *Cancer Res.*, 9, 645 (1965)
 24. May, L., Mlyazaki, M., and Prenell, R.B., *J. Neuroehem.*, 4, 269 (1959)
 25. Eichel, H.G. and Bukovsky, T.; *Nature.* 191, 143 (1961)
 26. Gaull, G. and Villee, C.A; *Biochim. Biophys. Acta*, 39, 560 (1960)
 27. Wang. F.Y. and Wang K.M.; *Biochim. Biophys. Acta*, 55, 392 (1962)
 28. Frawley, T.F.; *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 61, 464 (1955)
-