

담도폐색과 부신피질에서 Hydrocortisone 투여시 Cytochrome P-450 Apoprotein의 변화

이화여자대학교 의과대학 의학과

이 명 숙

=ABSTRACT =

Effect of Hydrocortisone on Cytochrome P-450 Apoproteins in Bile Duct Ligated and Adrenalectomized Rats

Lee, Myong Sook

Dept. of Biochemistry, College of Medicine, Ewha Womans University

This study is concerned with cytochrome P-450 contents and different forms of cytochrome P-450 after administration of hydrocortisone in common bile duct ligated and adrenalectomized rats. Content of total hepatic cytochrome P-450 is decreased after either common bile duct ligation or adrenalectomy. In contrast, hydrocortisone increases content of hepatic cytochrome P-450.

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis was used to examine the polypeptide pattern of rat liver endoplasmic reticulum membrane fraction. This report describes the chromatographic separation of four forms of microsomal cytochrome P-450 apoproteins, whose molecular weights ranging from 50,000 to 58,000, identified in a sodium dodecyl sulfate (SDS)-6M urea-polyacrylamide gel electrophoresis system. Bile duct ligation was associated with a marked reduction in band III and slight reduction in band I while band I, III and IV decreased with adrenalectomy. Bile duct ligation plus adrenalectomy was associated with a reduction in band I, II, III and IV. And administration of hydrocortisone after bile duct ligation plus adrenalectomy demonstrated a return of band II and III. Hydrocortisone administrated alone increased band III, while band I was decreased.

논문개요

Hemoprotein인 Cytochrome P-450은 기질의 생체내 합성 및 분해 과정에 관여할 뿐 아니라 발암

물질의 활성화 과정에도 관여하며 간조직내에는 microsomal cytochrome P-450의 여러가지 분자형태가 존재한다는 보고가 있다. 본 연구에서는 hydrocortisone이 cytochrome P-450 apoprotein에 미

치는 영향을 관찰하기 위하여 아래와 같이 실험을 하였다.

체중 150gm 내외의 숫컷 흰쥐 (Wistar strain)를 사용하였으며 담도폐색군, 부신피질제군, 담도폐색과 부신피질제를 동시에 시행한 군, 담도폐색과 부신피질제를 동시에 시행하고 hydrocortisone을 투여한 군 및 hydrocortisone만을 투여한 군으로 분류하였다. 그리고 흰쥐의 간조직 microsome내 cytochrome P-450의 함량과 cytochrome P-450 apoprotein의 변화를 관찰하기 위하여 7.5% polyarylamide 1% sodium dodecyl sulfate (S D S)-6M urea slab gel 상에서 전기영동을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 담도폐색군과 부신피질제군 hepatic microsomal cytochrome P-450의 함량은 대조군에 비하여 각각 32%, 45%가 감소하였고 담도폐색과 부신피질제를 동시에 시행한 군은 58% 감소하였다.

2. Hydrocortisone를 투여한 군에서는 hepatic microsomal cytochrome P-450의 함량은 10% 증가하였으며 담도폐색과 부신피질제후 hydrocortisone을 투여한 군에서는 56% 감소되었다.

3. 7.5% polyacrylamide-1% SDS-6M urea slab gel electrophoresis system에서 분자량이 50,000~58,000 범위에서 cytochrome P-450 apoprotein의 4가지 band를 관찰하였으며 담도폐색군, 부신피질제군, 담도폐색과 부신피질제를 동시에 시행한 군, 담도폐색과 부신피질제를 하고 hydrocortisone를 투여한 군 및 hydrocortisone을 투여한 군에서 이들 apoprotein이 서로 다르게 변화함을 관찰하였다.

이러한 형태를 관찰할 수 있는 것은 cytochrome P-450의 multiple form이 liver microsomal membrane에 존재한다는 것을 의미하며 specific apoprotein의 변화는 cytochrome P-450의 기능면을 증가시키거나 감소시킨다는 것을 제시해 주는 것이다.

서 론

Hepatic microsomal mixed function terminal oxidase인 cytochrome P-450은 많은 내인적 물질, 지방산, 스테로이드 많은 종류의 발암물질 및 그의 다른 화합물을 포함하는 외인적 물질의 대사 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다. (Newick and

Norman 1972; Bickers, Harber, Kappas, and Alvarez 1972; Benthe, Schmoldt, Schmidt 1972; Echichon and Comeau 1974; Vanio 1974). 한편 어떤 경우에는 대사결과 독성으로 작용하거나 carcinogenic 특성을 나타내는 경우도 있고 때로 해독 작용을 하기도 한다. (Miller 1970). 그러므로 각종 간경변은 mixed function oxidase system의 각종 기질, 스테로이드 및 지방산등의 대사장애를 초래하기도 한다 (Mackinnon and Simon 1975). Mackinnon과 Simon (1974)은 extrahepatic biliary obstruction과 ethinyl estradiol의 약리적 용량을 투여했을 때 담즙량이 감소한다고 하였으며 이러한 감소는 hepatic microsomal cytochrome P-450의 양을 의의있게 감소시킨다고 보고하였다 (Mackinnon and Simon 1975). 또한 Mackinnon 등(1978)은 담도폐색후에 나타나는 약물대사와 cytochrome P-450의 감소는 효소합성 자체의 감소이외에도 담즙산의 간내 축적과 같은 부수적인 요인들이 약물 대사 반응에 억제 영향을 줄 수 있다고 시사하였다. 최근의 문헌에 의하면 microsomal cytochrome p-450은 여러가지 분자형태로 간장내에 존재한다고 보고한 바 있다 (Comai and Gaylar 1973; Welton and Aust 1974; Welton, O'Neal, Chaney and Aust 1975; Haugen, Coon, and Nebert 1976; Haug, West and Lu 1976).

한편 강력한 발암물질인 2-acetyl amino-fluorene (AAF)의 acetyl 유도체와 N-acetamido-AAF에 의한 간종양 발생율이 대조군 흰쥐보다 부신피질제군에서 훨씬 낮다는 보고가 있다 (Firminger and Reuber 1961; Perry 1961; Reuber and Firminger 1962; Reuber 1969). 또한 Lotlikar 등 (1964)은 부신피질제한 어린 숫컷 흰쥐에 N-acetamido-AAF와 AAF의 검사량을 투여한 후에 뇨로 배설한 N-hydroxy-AAF의 양을 측정하되 대조군에 비하여 부신피질제군에서 약 60% 감소한다고 하였다. 반면에 부신피질제 흰쥐에 cortisone을 투여하였을 때는 N-hydroxy-AAF의 배설량이 대조군 만큼 회복되었다는 것을 보고하였으며 홍등 (1981)도 부신피질호르몬인 hydrocortisone을 투여하였을 때 N-hydroxy-AAF의 양이 증가됨을 보고하였다.

본 연구에서도 담도폐색술로 담즙분비 이상과 담즙저류(cholestasis)를 일으킨 군, 부신피질제군 담도폐색과 부신피질제군에서 hydrocortisone의 직접적인 영향 및 cytochrome P-450 분자형태의 변화를 규

명하려고 한 바 흥미있는 결과를 얻어 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

A. 실험에 사용한 시약

Hydrocortisone 은 Han - Dok Remedia Industrial Co., bovine serum albumin, catalase, ovalbumin chymotrypsinogen 및 myoglobin 은 Sigma Co. 의 것을 사용하였으며 그 외에 시약들은 reagent grade 를 사용하였다.

B. 실험동물 및 실험군

전 실험을 통하여 체중 150g 내외의 숫컷 흰쥐 (Wistar strain) 를 사용하였으며 각 실험군은 5 마리의 흰쥐를 사용하였다.

제 1 실험군 ; 대조군으로 체중 kg 당 10ml 의 생리적 식염수를 1 일 1 회 피하주사하고 5 일간 정상 사육하였다.

제 2 실험군 ; 상복부 정중 절개에 의하여 담도를 이중 결찰한 후 5 일간 정상 사육하였다.

제 3 실험군 ; 부신피질제술을 하고 생리적 식염수를 음료수로 주면서 12 일간 정상 사육하였다.

제 4 실험군 ; 상복부 정중 절개후 담도를 이중 결찰하고 부신피질제술을 한 후 생리적 식염수를 음료수로 주면서 12 일간 정상 사육하였다.

제 5 실험군 ; 상복부 정중 절개에 의하여 담도를 이중 결찰한 후 부신피질을 하고 체중 kg 당 10mg 의 hydrocortisone 을 1 일 1 회 피하로 12 일간 주사하였으며 생리적 식염수를 음료수로 주면서 정상 사육하였다.

제 6 실험군 ; 체중 kg 당 10mg 의 hydrocortisone 을 1 일 1 회 12 일간 피하주사하였다. 이상의 실험 동물들을 12 시간 금식시킨후 가벼운 ether 마취하에서 간을 절제하여 실험에 사용하였다.

C. 실험방법

1. Microsome 의 분리방법

이들 실험동물에서 절제한 간조직을 Petter Elvehjem homogenizer 를 사용하여 0.25M ice-cold isotonic sucrose 용액으로 25 % 균질용액을 만들었다. 이 간균질용액을 냉동원침기 (Damon / Model ice B 20A) 로 9,000g 에서 30 분간 원심분리하여 핵과 mitochondria 층을 제거하고 이 상층액을 다시 초원심분리기 (Beckman / Model L₅ - 50) 로 105,000g 에서 1 시간동안 원심분리하여 microsome 을

분리하여 1gm/ml 가 되게 0.25M sucrose 로 균질 용액을 만들었다.

2. Cytochrome P - 450 의 측정방법

Microsomal cytochrome P - 450 의 측정은 Omura 와 Sato (1964) 의 방법으로 하였으며, CO와 결합된 복합물질의 흡광도를 Varian - Sp - 624 spectrophotometer 를 사용하여 490nm 와 450nm 사이에서 읽었다. 이때 molar extinction coefficient는 91 mM⁻¹ Cm⁻¹ 로 하였다.

3. 단백질 측정방법

단백질 함량은 Lowry 등의 방법 (Lowry, Rosebrough, Farr and Randall 1951) 으로 발색하여 spectronic 20 (Bauch and Lomb) 을 사용하여 700 nm 에서 흡광도를 측정하여 비색정량 하였다.

4. Polyacrylamide gel electrophoresis 방법

대조군과 실험군의 실험동물에서 분리한 microsomal fraction 은 Laemmli 방법으로 (1964) polyacrylamide vertical slab gel 에서 전기영동을 하였다. Microsomal protein 은 1 % sodium dodecyl sulfate (SDS), 20 % glycerol, 5 % β-mercaptoethanol 과 6M urea 용액에서 용해시킨후 100 °C 에서 2 분간 가열하였다. Tracking dye 로는 0.003 % bromphenol blue 를 사용하였다. 대조군과 실험군의 microsome 들은 7.5 % polyacrylamide - 1 % sodium dodecyl sulfate - 6M urea slab gel 6mm / gel 에서 전기영동하였다. Gel 은 25 % isopropyl alcohol, 10 % acetic acid 및 0.05 % coomassie blue 로 17 ~ 20 시간 고정 및 염색하고 다시 10 % acetic acid 및 0.003 % coomassie blue 로 6 ~ 9 시간 고정 및 염색하였다. 탈색용액으로는 10 % acetic acid 와 10 % isopropyl alcohol 을 사용하였다. 각 전기영동의 표준물질로는 bovine serum albumin (68000 dalton), catalase (60000 dalton), ovalbumin (45000 dalton), chymotrypsinogen (23240 dalton) 및 myoglobin (17000 dalton) 을 분자량의 표시로 사용하였으며 coomassie blue 로 염색된 polyacrylamide gel 들은 단백질의 Band 측정을 위해 Densitometer (Beckman model R - 112) 를 사용하여 550nm 에서 scan 하였다.

실험 성적

A. 담도폐색과 부신피질 흰쥐에서 hydrocortisone 투여가 hepatic microsomal cytochrome P - 450 의

함량에 미치는 영향

담도폐색과 부신척제 원위에서 간조직 microsome 내 cytochrome P-450의 함량은 표 1과 같다.

Table 1. The level of hepatic microsomal cytochrome P-450 in common bile duct ligated and adrenalectomized rats

Group	Cytochrome P-450 (nmoles / mg protein)
I Control	9.76 ± 1.24
II Common bile duct ligation (CBDL)	6.46 ± 0.42
III Adrenalectomy (Ad)	5.36 ± 0.41
IV CBDL + Ad	4.12 ± 0.00

Each value represents mean ± S. D. of 5 experiments.

대조군의 cytochrome P-450이 9.76 ± 1.24 nmoles 인데 비하여 담도폐색군에서는 6.46 ± 0.42 nmoles로 32% 감소하였고 부신척제군에서는 5.36 ± 0.41 nmoles로 45% 감소하였다. 담도폐색과 부신척제를 동시에 시행한 군에서는 4.12 ± 0.00으로 58% 감소하였다. 이런 결과는 담도폐색으로 인하여 담즙저류(cholestasis)가 유발되어 hemo-protein 합성의 저해가 생긴 결과라고 생각된다(Mackinnon and Simon 1974; Mackinnon, Sutherland and Simon 1978). 한편 담도폐색과 부신척제 원위에 hydrocortisone 투여후 간조직 microsome내 cytochrome P-450의 함량은 표 2와 같다.

Table 2. The level of hepatic microsomal cytochrome P-450 in hydrocortisone treated rats.

Group	Cytochrome P-450 (nmoles / mg protein)
I Control	9.76 ± 1.24
II CBDL + Ad + Hydrocortisone	5.46 ± 0.14
III Hydrocortisone	10.69 ± 1.17

Each value represents mean ± S. D. of 5 experiments.

담도폐색과 부신척제를 한 후 hydrocortisone을 투여한 경우는 5.46 ± 0.14 nmoles로 대조군에 비하여 56%의 감소를 보였다. 이는 부신척제로 부

신피질 호르몬의 결핍과 담즙저류에 의한 hemoprotein 합성저해로 기인된다고 사료된다. 그러나 hydrocortisone만을 투여한 군에서는 10.69 ± 1.17 nmoles로 약 10% 증가되었다.

B. 담도폐색과 부신척제 원위에서 hydrocortisone 투여가 hepatic microsomal cytochrome P-450의 apoprotein에 미치는 영향

담도폐색군, 부신척제군, 담도폐색과 부신척제를 동시에 시행한군, 담도폐색과 부신척제후에 hydrocortisone 투여군과 hydrocortisone만을 투여한 군에서 microsomal protein을 7.5% polyacrylamide-SDS-6M urea slab gel electrophoresis를 한후에 densitometer로 scanning한 결과는 그림 1과 같으며 주요한 단백질의 분자량이 50000 ~ 58000 부위에 위치해 있다. densitometer에 나타난 peak의 이동거리를 측정하였고 scanning된 거리 이동비율에 따른 단백질의 R. f.는 0.51 ~ 0.60 사이에 있었다. 7.5% polyacrylamide-SDS-6M urea slab gel에서 microsomal fraction의 분리는 그림 2 및 3에서 보는 바와 같다. 저자는 이들 cytochrome p-450 apoprotein을 4개의 protein band로 구별하였고 Shapiro 등(1967)의 방법에 의한 각 단백질은 band I은 58000 dalton band II는 55000 dalton band III는 53000 dalton 그리고 band IV는 50000 dalton이다.

그림 2에서 보는 바와 같이 담도폐색과 부신척제를 했을 때 cytochrome P-450 apoprotein이 서로 다르게 변화함을 관찰할 수 있었다. 즉 담도폐색을 했을 때는 cytochrome P-450 apoprotein band 중에서 band I은 약간 감소하였고 band III가 현저히 감소하였으며 부신척제를 했을 때는 담도폐색과 마찬가지로 band III가 현저히 감소되었으며 band I과 IV는 약간 감소하였다. 담도폐색과 부신척제를 동시에 시행한군과 hydrocortisone 투여군에서 이들 apoprotein의 변화는 그림 3에서 보는 바와 같다. 담도폐색과 부신척제를 동시에 시행한 군에서는 band I, II, III 및 IV 4개의 band가 모두 감소하였으며 담도폐색과 부신척제후 hydrocortisone을 투여한 군에서는 band I과 IV만이 현저히 감소했다. 그리고 hydrocortisone만을 투여하였을 때는 band I은 감소하고 band II와 IV는 같은 양을 나타냈으며 특히 band III는 다른 군에서 볼 수 없을 정도로 현저히 증가하였다.

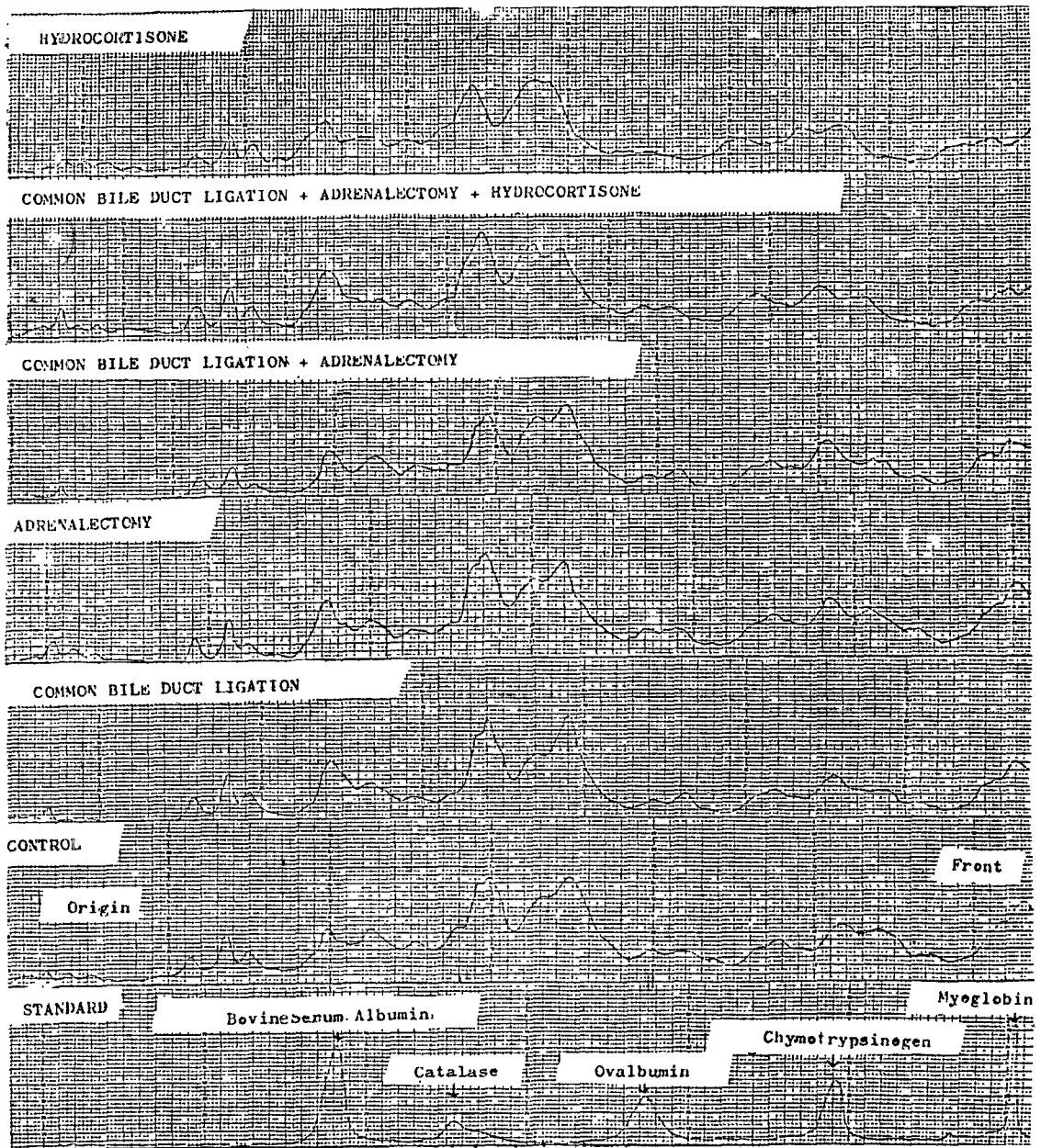


Fig. 1. Scan of 7.5% polyacrylamide-SDS-6M urea vertical slab gel electrophoresis of hepatic microsomal proteins from control, common bile duct ligation, adrenalectomy, common bile duct ligation plus adrenalectomy, common bile duct ligation with adrenalectomy and hydrocortisone, and hydrocortisone treated rats. Coomassie blue-staining and scanning were performed as described in materials and methods. Molecular weight markers for bovine serum albumin (68,000 daltons), catalase (60,000 daltons), ovalbumin (45,000 daltons), chymotrypsinogen (23,240 daltons), and myoglobin (17,000 daltons) are shown by arrows.

고 찰

A. 담도폐색과 부신피질제 흰쥐에서 hydrocortisone 투여가 hepatic microsomal cytochrome P-450의 함량에 미치는 영향

표 1에서 보는 바와 같이 흰쥐에서 담도폐색으로 담즙저류가 생겼을 때 cytochrome P-450의 함량은 32% 감소한 바 이는 Mackinnon 등 (1978)이 보고한 담도폐색시에 36%, Estradiol 투여시에 20%의 감소가 있었음과 큰 차이가 없었다. 이와같이 담즙이 저류되었을 때 이 효소계의 활성이 감소하는 것은 hemoprotein의 파괴가 증가한다기 보다는 합성율의 저하에 기인하는 것이라고 생각된다. (Mackinnon and Simon 1974; Mackinnon, sutherland and Simon 1978). 한편 부신피질제를 시행한 군에서는 대조군에 비하여 45%가 감소하여 담도폐색을 했을 때보다 더욱 많은 감소를 관찰할 수 있었으나 이는 부신피질제의 결핍으로 cytochrome P-450 합성에 영향을 미치는 것이라고 볼 수 있다. 담도폐색과 부신피질제를 동시에 시행한 군에 hydrocortisone를 투여한 군에 56% 감소되었으며 이로써 담즙저류와 부신피질제의 손상으로 hemoprotein인 cytochrome P-450의 합성이 저해되었을 때 부신피질 호르몬의 투여는 큰 영향이 없음을 알 수 있었다. 또한 hydrocortisone만을 투여하였을 때는 약 10%가 증가하였으며 부신피질 호르몬인 hydrocortisone이 hemoprotein의 합성에 기여하는 것을 알았다.

B. 담도폐색과 부신피질제 흰쥐에서 hydrocortisone 투여가 hepatic microsomal cytochrome P-450의 apoprotein에 미치는 영향

최근 많은 보고에 의하면 hepatic microsomal cytochrome P-450의 multiple form의 존재와 기질 특이성 및 기질 유발성에 대하여 보고된 바 있다 (Comai and Gaylar 1973; Welton and Aust 1974; Welton, O' Neal, Chaney and Aust 1975; Haugen, Coon and Nebert 1976; Huang, West and Lu 1976). 즉 hepatic microsomal cytochrome P-450의 각 subunit는 분자량이 47,000 ~ 59,000이라는 것은 알려진 바 있다 (Comai and Gaylar 1973; Welton and Aust 1974; Welton, O' Neal, Chaney and Aust 1975; Haugen, Coon and Nebert 1976). 저자도 7.5% polyacrylamide-SDS-

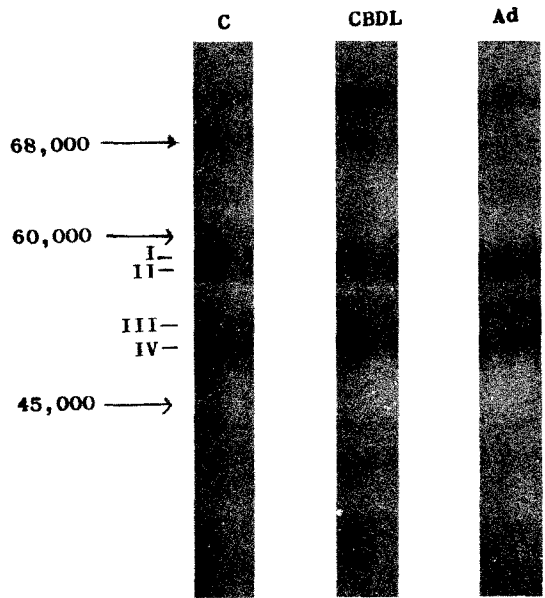


Fig. 2. Electrophoretic pattern of microsomal proteins from control (c), common bile duct ligated (CBDL), and Adrenalectomized (Ad) rats. Identical amounts of microsomal protein (60 μ g) were co-electrophoresed on 7.5% polyacrylamide-SDS-6M urea slab gel, stained coomassie blue. Migration of the molecular weight markers bovine serum albumin (68,000), catalase (60,000) and ovalbumin (45,000) are indicated.

6M urea slab gel electrophoresis system에 의하여 50,000 ~ 58,000 dalton의 단백질들로 이때 4개의 band를 확인하였으며 이는 Mackinnon 등 (1978)도 같은 보고를 한바 있다. 한편 담도폐색군, 부신피질제군, 담도폐색과 부신피질제를 동시에 실시한 군 그리고 hydrocortisone만을 투여한 군에서 cytochrome P-450 apoprotein에 선택적인 변화를 slab gel electrophoresis에 의하여 관찰한 바 담도폐색군은 band I보다는 band III가 현저한 감소를 보였다. 이점에 대하여 Mackinnon 등 (1978)의 보고에 의하면 estradiol을 투여했을 때에는 band II, III가 증가되었고 phenobarbital을 투여했을 때에는 band IV가 증가되었다고 하였으며 담도폐색시에는 band I, II, III이 감소하였다고 하였다. 성 등 (1980)도 담도폐색군에 있어서 band III이 현저히 감소하

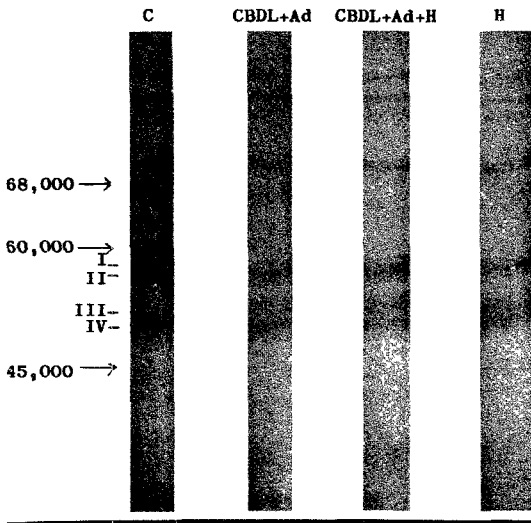


Fig. 3. Identical amounts of protein (60 μ g) from microsomal fractions collected from control (c), common bile duct ligated plus adrenalectomized (CBDL + Ad), common bile duct ligated plus adrenalectomized plus hydrocortisone treated (CBDL + Ad + H), and hydrocortisone treated (H) rats electrophoresed on 7.5 % polyacrylamide-SDS-6M urea slab gel and stained with coomassie blue. The migration of molecular weight markers bovine serum albumin (68,000), catalase (60,000) and ovalbumin (45,000) are indicated.

였으며 estradiol 투여군에서는 band II, III 이 감소하고 cholic acid 만 투여했을 때에는 band I, II 가 약간 증가하고 band IV 는 많은 량이 증가함을 보여 주었다고 보고한 바 있다. 또한 부신피질을 하였을 때는 band III 가 현저하게 감소하고 band I 과 IV 도 약간씩 감소하였다. 담도폐색과 부신피질을 동시에 시행한 군에서는 band I, II, III 및 IV 가 모두 감소하였으며 담도폐색과 부신피질 후에 hydrocortisone 을 투여한 군에서는 band II, III 이 정상으로 복귀되고 band I 과 IV 가 크게 감소되었다. hydrocortisone 만을 투여했을 때는 대조군에 비하여 band III 가 현저히 증가되고 band I 은 감소되었고 band II 와 IV 는 같은 량을 나타내는 것이 다른군에서 볼 수 없는 현상이었다 (그림 1, 2 및 3).

이러한 결과로 미루어 hydrocortisone 은 cytochrome P-450 apoprotein 중에서 band III (53000 dalton) 에만 특이하게 유도작용이 있다고 생각되나 이 분자형태만이 약물, 스테로이드, 지방산 그리고 발암물질의 활성화과정에 작용하는지에 관한 것은 더욱 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

결 론

담도폐색군, 부신피질군, 담도폐색과 부신피질을 동시에 시행한 군 및 hydrocortisone 만을 투여한 군에서 간조직 microsomal cytochrome P-450 의 함량과 이들 apoprotein 의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 담도폐색군, 부신피질군에서 hepatic microsomal cytochrome P-450 은 대조군에 비하여 각각 32 %, 45 % 감소하였고 담도폐색과 부신피질을 동시에 시행한 군은 58 %로 현저히 감소하였다.

2) Hydrocortisone 을 투여한 군에서는 hepatic microsomal cytochrome p-450 이 대조군에 비하여 10 % 증가하였으며 담도폐색과 부신피질 후 hydrocortisone 을 투여한 군에서는 56 % 감소하였다.

3) 7.5 % polyacrylamide-1 % -sodium dodecyl sulfate-6M urea gel electrophoresis system 분자량이 50000 ~ 58000 dalton 의 범위에서 cytochrome P-450 apoprotein 의 4 가지 band를 관찰하였다.

4) slab gel electrophoresis 에 대한 cytochrome P-450 apoprotein 의 변화는 담도폐색군은 band III 가 감소되었고 부신피질군은 역시 band III 가 현저히 감소하였고 담도폐색과 부신피질을 동시에 시행한 군에서는 band I, II, III, IV 모두가 감소하였고 담도폐색과 부신피질을 한 후 hydrocortisone 을 투여했을 때는 band II 와 III 이 회복되었고 hydrocortisone 만을 투여했을 때는 특히 band III 가 현저히 증가되었다.

- References -

- 1) 성낙응, 김복희, 홍영숙, 최금자 (1980) 담도폐색 흰쥐에서 Cholic acid 와 Phenobarbital 투여에 대한 hepatic microsomal cytochrome P-450 apoprotein 의 변화, "이화의대지," 제 3 권, 제 4 호, pp. 157-162.

- 2) 홍영숙, 성낙응 (1981) : 담도 폐색과 부신축제 백서에서 Hydrocortisone 투여가 2-acetylaminofluorene 의 hydroxylation 에 미치는 영향, "생물과학연구원 논총" 제 27 권 (이화여자대학교 출판부), pp. 164-174.
- 3) Bente, H.F., A. Schmoldt, H. Schmidt (1972): Induction microsomal Leberenzyme nach einmaliger Gabe von polychlorierten Biphenylen (PCB) und anschließender stress-situation, Arch. Toxikol., 29: 97-106.
- 4) Bickers, D.R., L.C. Harber, A. Kappas and A.P. Alvares (1972) : polychlorinated biphenyls : comparative effects of high and low chlorine containing Aroclors on hepatic mixed function oxidase, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 3: 505-517.
- 5) Comai, K. and J.L. Gaylar (1973) : Existence and separation of three forms of cytochrome P-450 from rat liver microsomes, J. Biol. Chem., 248-4947.
- 6) Ecobichon, D.J., and A.M. Corneau (1974): Comparative effects of commercial Arochlors on rat liver enzyme activities, Chem. Biol. Interact., 9 (5): 341-50.
- 7) Firminger, H.I., and M.D. Reuber (1961) : Influence of adrenocortical androgenic and anabolic hormones on the development of carcinoma and cirrhosis of the liver in AXC rats fed N-2-fluorenyldiacetamide, J. Natn. Cancer Inst., 27: 559-595.
- 8) Haugen, D.A. and Coon M.J. (1976) : Properties of electrophoretically homogeneous phenobarbital-inducible and β -naphthoflavone inducible forms of liver microsomal cytochrome P-450 J. Biol. Chem., 251: 7929-7939.
- 9) Haugen, D.A., M.D. Coon and D.W. Nebert (1976) : Induction of multiple forms of mouse liver cytochrome P-450, J. Biol. Chem., 251-1817.
- 10) Huang, M.T., S.B. West, and A.Y.H. Lu (1976) : Separation, purification and properties of multiple forms of cytochrome P 450 from the liver microsomes phenobarbital treated mice, J. Biol. Chem., 251-4659.
- 11) Laemmli, U.K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, Nature, 227 680.
- 12) Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall (1951) : Protein measurement with the folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- 13) Lotlikar, P.D., M. Enomoto, E.C. Miller and J.A. Miller (1964) : The effects of adrenalectomy, hypophysectomy and castration on the urinary metabolites of 2-acetylaminofluorene in the rat, Cancer Res., 24: 1835.
- 14) Mackinnon, A.M. and F.R. Simon (1974) : Reduced synthesis of hepatic microsomal cytochrome P-450 in the bile duct ligated rat, Biochem. Biophys. Res. Commun. 56: 437-443.
- 15) Mackinnon, A.M. and F.R. Simon (1975) : Pharmacological reversal of Cholestasis-associated decrease in hepatic cytochrome P-450, Biochem. Pharmacol., 24: 748-749.
- 16) Mackinnon, A.M., E. Sutherland and F.R. Simon (1978) : Qualitative alteration in hepatic microsomal cytochrome P-450 apoproteins associated with bile duct ligation, and the administration of Ethinyl Estradiol and phenobarbital, Biochem. Pharmacol., 27: 29-35.
- 17) Miller, J.A. (1960) : Carcinogenesis by chemicals Cancer Res, 30: 559-576.
- 18) Nowicki, H.G., and A.W. Norman (1972) : Enhanced hepatic metabolism of testosterone, 4-androsterone-3, 17-dione, and estradiol-17 in chickens pretreated with DDT or PCB, Steroids, 19: 85-99.
- 19) Omura, T. and R. Sato (1964) : The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes, J. Biol. Chem. 239: 2370-2378.
- 20) Perry, D.J. (1961) : The effect of adrenalectomy on the development of tumors induced by 2-acetylaminofluorene., Br. J. Cancer, 15: 284.
- 21) Reuber, M.D. (1969) : Influence of hormones on N-2-fluorenyldiacetamide induced hyperplastic hepatic nodules in rats, J. Natn. Ca-

- ncer Inst., 43 : 445 -452.
- 22) Reuber, M.D. and H.I. Firminger (1962) :
Effect of progesterone and diethylstilbesterol
on hepatic carcinogenesis and cirrhosis in
AXC rats fed N-2-fluorenyldiacetamide, J.
Natu, Cancer Inst. 29 : 933 -742.
- 23) Ryan, D.E., P.E. Thomas, D. Korzeniowski,
W. Levin (1979) : Seperation and characteriz-
ation of highly purified forms of liver micro-
somal cytochrome P-450 from rats treated
with polychlorinated biphenyls, phenobarbital,
and 3-methylcholanthrene. J. Biol. Chem.,
254: 1365 -1374.
- 24) Shapiro, A. L., E. Vinuels, and J. V. Maizel
Jr.(1967) : Molecular weight estimation of po-
lypeptide chains by electrophoresis in SDS -
Polyacrylamide gels. Biochem., Biophys. Res.
Commun. 28 : 815.
- 25) Vainio H. (1974) : Enhancement of microsomal
drug oxidation and glucuronidation in rat li-
ver by an enviromental chemical, polychloriz-
ated biphenyl, Chem, Biol. Interact 9(5) : 379
-87
- 26) Welton, A. F. and S.D. Aust(1974) : Multipli-
city of cytochromè P-450 hemoproteins in
rat liver microsomes, Biochem. Biophys. Res.
Commun. 56 : 898 -906.
- 27) Welton, A. F., F. O. O'Neal, L. C. Chaney and
S.D. Aust (1975) : Multiplicity of cytochrome
P-450 hemoproteins in rat liver microsomes,
J. Biol. Chem., 250 : 5631.
-