

## Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 간장 및 폐조직에서의 Microsomal Mixed Function Oxidase System과 과산화지질 생성

이순재<sup>†</sup> · 김관유

대구효성카톨릭대학교 식품영양학과

### Microsomal Mixed Function Oxidase and Lipid Peroxidation in Liver and Lung of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Soon-Jae Rhee<sup>†</sup> and Kwan-You Kim

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungsan 713-702, Korea

#### Abstract

This study was carried out to investigate the microsomal mixed function oxidase(MFO) system and lipid peroxidation in liver and lung of streptozotocin(STZ) induced diabetic rats. Sprague-Dawley male rats weighing about 140g were randomly assigned to control and STZ-diabetic groups. Diabetes was experimentally induced by intravenous administration of 55mg/kg body weight of STZ in 0.1M citrate buffer (pH 4.3) after feeding for 4 weeks and sacrificed at the 6th days of diabetic state. Body weight and FER were decreased in STZ-diabetic group compared with that of control group. The contents of cytochrome P<sub>450</sub> of liver and lung in diabetic rats were increased to 150% and 75% respectively, compared with control group. The contents of cytochrome b<sub>5</sub> in liver and lung also were increased 53% and 116% higher in diabetic group than control group, respectively. The activities of NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase in liver of diabetic rats were higher than those of control group, and the activities of NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase in lung also were similar to its activity in liver. The lipid peroxide values of liver and lung in diabetic rats were increased 95% and 73%, respectively, compared with those of control group. The present results indicate that STZ-induced diabetic rats are increased in the activity of MFO system, leading to the acceleration of lipid peroxidation process.

**Key words** : diabetic rats, cytochrome P<sub>450</sub>, cytochrome b<sub>5</sub>, NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase, lipid peroxidation

#### 서 론

생체내에 흡수되는 환경오염 물질, 약물 등과 같은 지용성 이물질들은 수용성으로 전환되어 체외로 배설된다(1). 그러므로 이러한 물질들은 간에서 약물대사계를 통해 산화, 환원, 결합 등의 변형과 해독과정을 통해 수용성으로 전환되어 신장으로 배설되거나 약물이 불활성화되며, 여기에 관여하는 약물대사 및 기타 독성물질의 대사는 크게 2상 반응으로 나누어진다고 알려져 있다(2).

1상 과정에서는 약물 및 독성물질 등 지용성 물질을 산화, 환원, 가수분해를 통하여 2상에서 처리되기 쉽게 만들며, 2상에서는 UDP-glucuronic acid, glutathione,

sulfate 등과 결합시켜 수용성을 증가시킴으로써 배설을 용이하게 한다(3).

1상 변형과정에 관여하는 효소로는 간세포의 소포체막에 지방산, steroid 등의 내인성 물질과 약물이나 발암물질 등 외부로부터 유입된 물질들을 대사시키는 cytochrome P<sub>450</sub> 의존성 mixed function oxidase system(MFO계)이란 일련의 전자전달계 효소군이 존재하는 것으로 알려져 있다. 이 효소계는 membrane bound enzyme들인 cytochrome P<sub>450</sub>, cytochrome b<sub>5</sub>, NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase로 구성되어 있으며, cytochrome p<sub>450</sub>에 의하여 촉매되는 이 산화반응에서 산소 분자 중의 하나만 기질에 이용되고 다른 하나는 H<sub>2</sub>O로

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

<sup>§</sup>본 연구는 대구효성가톨릭대학교의 연구비에 의하여 연구되었음.

환원되기 때문에 MFO 또는 monooxygenase reaction 이라 한다(4). 이들 효소들의 상호 협조적인 반응은 세포체막의 유동성과 안전성이 클 때 잘 일어나고 또 이러한 MFO계의 기질은 매우 다양해서 약물, 스테로이드, 지방, 생화학적 합성물 등의 체내 물질과 외부의 환경물질 등을 기질로 이들 물질을 산화시키며 동일한 물질에 반복 노출되면 효소의 활성이 증가된다(5-7). 이와 같이 MFO계의 활성 변화는 기질이 다양하고 나이나 영양상태 등의 여러가지 생체 조건에 따라 달라지므로 여기에 대한 여러 연구보고가 있다(7-9).

또한 MFO계에 의한 생성물질은 대부분 생물학적으로 비활성이므로 이 효소계는 체내에서 매우 중요한 해독기전이라 생각된다. 그러나 많은 약물이나 독소, 발암물질 등이 cytochrome P<sub>450</sub> 촉매에 의한 변형 과정 동안 활성화되어 원래의 물질 보다 더 활성적인 물질이 되기도 한다. 또 MFO 효소계는 독성물질을 해독하는 과정에서 O<sub>2</sub><sup>-</sup>나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 생성이 가능하고 조직은 과산화 반응이 초래될 수 있다(10).

한편 생체는 정상적인 대사 과정 중에서도 free radical이 생성되고 지질과산화이 일어나지만, 이러한 free radical을 제거하는 제거계가 있어 생체를 조직의 과산화로부터 보호한다(11,12). 그러나 조직은 free radical 제거계의 활성이 저하되거나 free radical 생성계의 촉진으로 이들간의 균형이 깨어졌을 때 과산화적 손상을 입게 되어 노화나 염증반응 및 성인병을 촉진하고 나아가 암과 같은 퇴행성 질환을 유발케 된다. 당뇨병과 같은 대사성 질환에서는 산화적 stress에 감수성이 큰 당뇨병에 있어서는 더욱 불안정하며 free radical 생성이 더욱 촉진된다(13).

따라서 당뇨병에서는 free radical에 의한 세포막 지질의 과산화가 더욱 가속화되어 조직은 과산화적 손상을 쉽게 입게 된다(14). 그러나 당뇨병에서의 이러한 free radical 생성 기전과 지질과산화 기전에 대한 구체적인 연구는 물론 주요 free radical 생성계인 MFO계와 지질과산화에 대한 연구는 결여되어 있다.

그러므로 본 연구에서는 streptozotocin 유발 당뇨 쥐에 있어서의 MFO계 활성 변화와 이에 따른 지질과산화물 약물이나 free radical 등에 의해 과산화적 손상을 받기 쉬운 조직인 간과 폐조직에서 관찰하고자 본 연구를 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 식이

실험동물은 체중 140g 내외의 Sprague-Dawley 중수컷을 사용하였으며, 환경에 적응시키기 위해 일주일

간 예비 사육한 후 당뇨를 유발하지 않은 대조군과 당뇨 유발 실험군 등 10마리씩 2군으로 나누어 4주간 사육하였다. 기본 실험 식이 조성은 일반 기본 식이로(15) 조제하여 매일 일정시간에 공급하여 자유로이 섭취케 하였다. 당뇨 유발은 당뇨 유발군 동물을 희생시키기 6일 전에 streptozotocin(STZ)를 55mg/kg body weight을 신선한 0.1M citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사하였다. STZ을 주사한 후 6일째 혈당량이 300mg/dl 이상인 동물만 실험에 사용하였다.

### 체중 증가 및 식이효율

체중은 전 실험기간을 통하여 이틀에 한번씩 일정한 시간에 측정하였으며 식이효율은 전 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이 섭취량을 나누어 줌으로써 계산하였다.

### 시료채취

실험 종료 후 12시간 절식시킨 후 쥐를 희생시켰다. 간장과 폐를 적출하고 0.9% NaCl로 세척한 후 액체 질소로 급속 냉동시킨 후 -80°C에 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다.

### 효소원의 조제

간장과 폐조직의 microsome 분획은 0.25M sucrose로 일정량의 간조직과 폐조직을 균질화시킨 후 8000×g에서 원심분리하였다. 이때 얻어진 상층액을 다시 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 상층액인 cytosol 분획과 침전물(pellet) microsome 분획을 분리한다. 다시 pellet층에 0.25M sucrose를 넣어 105,000×g에서 60분간 원심분리한 후 pellet에 0.25M sucrose로 부유시켜 -80°C에서 보관하였다가 본 실험에 사용하였다.

### 간조직과 폐조직 중의 cytochrome P<sub>450</sub> 함량 측정

간 및 폐조직 microsome 중의 cytochrome P<sub>450</sub> 함량은 Omura와 Sato(16)의 방법으로 환원형 일산화탄소 결합물을 450nm와 490nm에서 spectrophotometer로 측정하였다. 즉 냉동 보관한 microsome용액을 0.1M phosphate buffer (pH 7.4)로 희석시켜 1mg/ml의 단백질 농도로 만든 다음 sodium dithionite를 넣고 CO gas로 bubbling 시킨 후 450nm와 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 91mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>로 하였다.

간조직과 폐조직 중의 cytochrome b<sub>5</sub> 함량

Omura와 Sato(17)의 방법으로 cytochrome b<sub>5</sub>의 환원형과 산화형 사이의 흡광도를 측정하였다. 보관된 microsome-용액을 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)로 희석시킨 다음 NADH 용액을 넣어 NADH 최종 농도가 0.2mM이 되도록 한 다음 424nm와 409nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 185mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>로 하였다.

간조직과 폐조직 중의 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 활성 측정

Master 등의 방법 (18)으로 dichlorophenolindophenol (DCIP)의 흡광도 감소를 600nm에서 1분간 관찰하여 활성도를 측정하였다. 보관된 microsome 용액을 0.05M phosphate buffer (pH 7.7, 10<sup>-4</sup>M EDTA 포함)로 희석시켜 1mg/ml의 단백질 농도로 만든 다음 semimicro cell 내에 희석용액이 DCIP 96×10<sup>-9</sup>moles이 함유되도록 하고 10<sup>-3</sup>M NADPH 용액을 가하여 최종 부피가 1.1ml 되도록 하였다. 이때 NADPH 용액을 넣은 후 30°C에서 1분간 흡광도의 감소를 측정하였고 molar extinction coefficient는 21mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>로 하였다.

간조직과 폐조직 중의 지질과산화물 함량 측정

조직의 과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 물질을 n-butanol로 추출하는 Satoh (19) 방법을 이용하였다.

단백질 측정

간과 폐조직의 단백질 농도는 bovine serum albumin을 표준용액으로 하여 Lowry방법(20)에 의해 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 Tukey's HDS

test에 의해 처리하였다.

결과 및 고찰

체중증가, 식이 섭취량 및 식이 효율

체중증가는 STZ 투여 전까지는 실험군간 차이가 없었으나 STZ 투여 후는 대조군에 비해 당뇨병군이 현저하게 감소하였다(Table 1).

식이 섭취량은 실험군간의 차이가 없었으나 식이 효율은 STZ 투여 후 당뇨병군에서 현저하게 감소하였다.

각 조직의 무게

간장 및 폐조직의 무게는 Table 2와 같다. 체중 100g 당 간조직의 무게는 대조군과 당뇨병군간의 유의적인 차이가 없었으며 폐조직의 무게 역시 차이가 없었다.

간조직 및 폐조직의 cytochrome P<sub>450</sub> 측정.

Hemoprotein으로 MFO계의 중심이며 여러 형태로 존재하여 기질에 대한 특이성의 폭이 넓어 체내 물질과 외부의 여러가지 환경물질을 기질로 하여 산화 환원 반응에 관여하는 cytochrome P<sub>450</sub> 함량을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 간조직의 cytochrome P<sub>450</sub>은 대조군에 비해 당뇨병군에서 150% 증가하였다. 폐조직에서의 cytochrome P<sub>450</sub> 함량은 당뇨병군이 대조군에 비해 약 175% 증가함으로써 간조직 보다 그 함량은 낮았지만 유의성 있는 증가를 보였다.

Table 2. Organ weights of experimental rats

Group	Liver weight	Lung weight
	(g/100g B.W.)	(g/100g B.W.)
Control	3.449±0.064 <sup>NS</sup>	0.631±0.060 <sup>NS</sup>
Diabetic	3.324±0.080	0.604±0.038

Values are mean±SE(n=10)

<sup>NS</sup>Not significant

Table 1. Body weight gain, food intake, and food efficiency ratio(FER) of rats

Groups	Before STZ injection		FER	After STZ injection		FER
	Body weight gain (g/4wks)	Food intake (g/4wks)		Body weight (g/4wks)	Food intake (g/4wks)	
Control	120.0±0.21 <sup>NS</sup>	322.73±14.15 <sup>NS</sup>	0.372±0.045 <sup>NS</sup>	20.0±1.15	80.82±14.35 <sup>NS</sup>	0.248±0.018
Diabetic	115.0±9.52	306.01±22.60	0.376±0.043	-65.0±-5.24 <sup>a</sup>	71.46±9.70	-0.910±-0.088 <sup>a</sup>

Values are mean±S.E.(n=10)

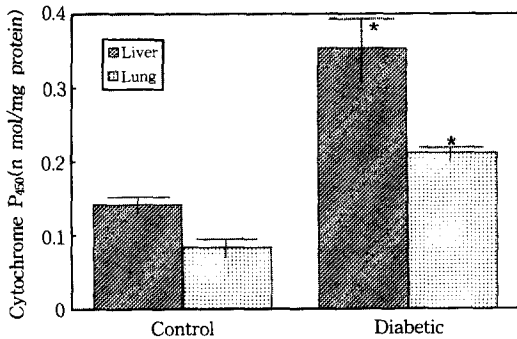
<sup>a</sup>Significantly different from control group (p<0.05) by Tukey's HDS test

**간조직 및 폐조직의 cytochrome b<sub>5</sub> 함량**

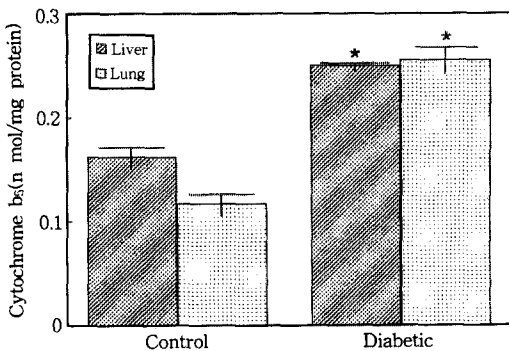
Microsome 내에 cytochrome P<sub>450</sub>과 함께 존재하면서 이물질대사 및 지방산, 호르몬 등의 대사시 여러가지 산화환원 반응에 관여하는 전자를 전달하는 물질로 알려진 cytochrome b<sub>5</sub> 함량을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 간조직에서 cytochrome b<sub>5</sub>는 대조군에 비해 당뇨군이 53% 증가하였다. 폐조직에서는 대조군 보다 당뇨군이 116% 증가하였으며 간조직에서 보다 증가 비율이 높았다.

**간조직 및 폐 조직의 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 활성**

Flavoprotein으로 FAD와 FMN을 각각 한분자씩 갖고 있으며 전자를 NADPH에서 cytochrome P<sub>450</sub>으



**Fig. 1. Microsomal cytochrome P<sub>450</sub> content in liver and lung of STZ-induced diabetic rats.**  
All values are mean ± SE (n=10).  
\*Significantly different from control group (p<0.05) by Tukey's HSD test.



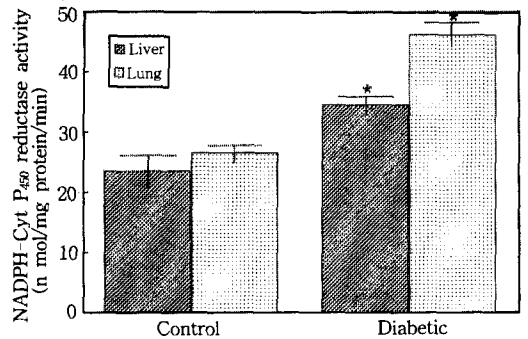
**Fig. 2. Microsomal cytochrome b<sub>5</sub> contents in liver and lung of STZ-induced diabetic rats.**  
All values are mean ± SE (n=10).  
\*Significantly different from control group (p<0.05) by Tukey's HSD test.

로 전달하는 촉매 역할을 하는 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 활성을 측정한 결과 간조직에서는 대조군에 비해 당뇨군은 47% 증가하였으며 폐조직에서는 75% 증가하였다 (Fig. 3).

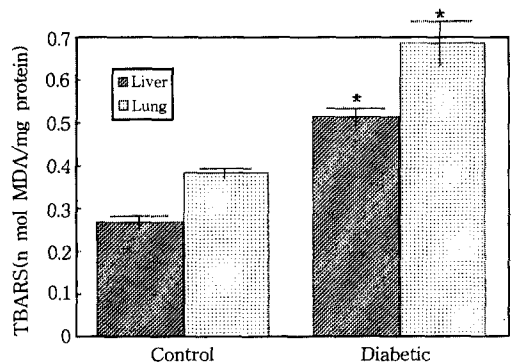
**간조직과 폐조직의 지질과산화물**

생체조직의 과산화적 손상의 지표로 알려진 지질과산화물을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 간조직 지질과산화는 대조군에 비해 당뇨군은 95% 높았다. 폐조직에서는 대조군에 비해 73% 증가하였다.

본 연구는 STZ 유발 당뇨쥐의 간조직 및 폐조직에서의 microsomal MFO계 및 조직의 과산화적 손상에 관하여 관찰하였다.



**Fig. 3. Microsomal NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase activity in liver and lung of STZ-induced diabetic rats.**  
All values are mean ± SE (n=10).  
\*Significantly different from control group (p<0.05) by Tukey's HSD test.



**Fig. 4. Microsomal TBARS in liver and lung of STZ-induced diabetic rat.**  
All values are mean ± SE (n=10).  
\*Significantly different from control group (p<0.05) by Tukey's HSD test.

본 연구에서 체중 증가량을 관찰한 결과 대조군에 있어서는 실험 전기간 동안 체중 증가가 계속된 반면 STZ 유발 당뇨군은 STZ 주사 후 현저히 체중이 감소하였는데 이는 여러 연구에서의 많은 당뇨실험에서의 일치하였다. 식이 섭취량은 차이가 없었으나, 식이 효율은 STZ 유발 당뇨군에서 감소되었다. 이는 STZ 유발 당뇨군에서 식이 효율이 감소한다는 최(21)의 보고와 유사하였다.

본 실험에서 STZ 유발 당뇨쥐에서 약물대사 효소계가 존재하는 간조직과 폐조직에서의 활성을 보고 이러한 변화가 지질과산화 반응에 어떠한 영향을 주었는지 검토하였다.

1상의 약물대사 효소계인 cytochrome P<sub>450</sub>은 간조직과 폐조직에서 당뇨군이 대조군에 비해 각각 150%, 175%씩 증가하였는데 Choi 등(22)도 실험 당뇨군에서 cytochrome P<sub>450</sub>이 증가되었다고 하였으며 또 발암물질을 투여한 군에서 cytochrome P<sub>450</sub>의 함량이 증가하였다는 보고(6,23)와도 유사한 경향이였다. 이는 생체내의 steroid, hormone의 변화나 외부의 독소 및 발암물질 등이 들어오면 cytochrome P<sub>450</sub>이 이들을 기질로 해서 결합하고 NADPH와 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase에 의해 전자를 공여받아 환원되기 때문으로 생각된다.

Cytochrome b<sub>5</sub>는 cytochrome P<sub>450</sub>과 함께 microsome 내에 존재하는 분자량이 비교적 작은 단백질로서 이물질 대사 및 fatty acids, hormone 등의 대사시 여러 가지 산화 환원 반응에 관여하여 전자를 전달하는 물질로 알려져 있다(24). 또 Lu 등(25)에서도 cytochrome b<sub>5</sub>는 결정적인 요소는 아니지만, NADPH-dependent hydroxylation 과정에서 조절효과가 있다고 한다.

본 실험에서의 STZ 유발 당뇨쥐에서의 cytochrome b<sub>5</sub> 함량 변화는 간조직 및 폐조직에서 당뇨군이 대조군에 비해 53%, 116%씩 증가하였다. 이러한 결과는 STZ와 같은 외부 환경오염물질의 유입에 따른 약물대사 효소계의 활성화로 볼 수 있다.

NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase는 MFO에 존재하고 있으며 endogeneous substance와 이물질 대사에 많은 작용을 하고 분자내 산화, 환원 반응에 있어서 요구되는 두개의 전자중 하나를 운반하며, flavoprotein component로서 전자를 terminal oxidase인 cytochrome P<sub>450</sub>로 전달하는데 촉매 역할을 담당하고 있다(26). 본 실험에서 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 활성을 대조군과 비교했을 때 당뇨군에서는 간조직에서 47%, 폐조직에서 75% 증가하였다. 이러한 결과는 발암물질인 2-acetylaminofluorene(2-AAF)를 투여했을시 NADPH-

cytochrome P<sub>450</sub> reductase 활성도가 증가하였다는 보고(27)와 같이 STZ의 이물질 대사를 위해 그 활성이 증가된 것으로 생각된다.

이와 같이 STZ 유발 당뇨쥐에서는 cytochrome P<sub>450</sub>, cytochrome b<sub>5</sub>, NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 등의 활성이 증가하였는데, 이러한 MFO계의 활성 증가는 체내기질인 steroid, hormone 등의 체내물질과 외부의 환경물질 등이 들어왔을 때 증가된다는 여러 연구 결과(22-28)에서와 같이 STZ투여에 의한 당뇨유발에 따른 여러가지 독성을 해독하기 위한 생체조절기능으로써 그 합성이 유도되었다고 볼 수 있다. 또한 폐조직에서는 cytochrome P<sub>450</sub>를 비롯한 MFO계 활성이 간조직 보다 다소 높았으나 비슷한 경향이었는데 이러한 결과는 간장, 폐, 신장, 뇌, 태반 및 피부 등의 소포체에서 이러한 MFO계 효소가 많이 존재한다는 김과 송(8)의 보고와 유사하였다.

체내 과산화적 손상의 지표인 지질과산화가를 간조직 및 폐조직 microsome에서 측정된 결과 당뇨유발군에서 95% 및 73%씩 각각 높았다. 이와같이 당뇨 유발군에서 MFO계의 활성이 증가되면서 지질과산화물 생성이 증가되었다. 이러한 결과는 MFO효소계가 STZ와 같은 독성물질을 해독하는 과정에서 생성된 O<sub>2</sub>나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 지질과산화가 촉진되었기 때문으로 생각되며 또 광(27)의 2-AAF나 박 및 조(28) 등의 caffeine의 투여시 이들 MFO계의 활성 증가와 더불어 지질과산화물이 증가되었다는 보고와도 일맥상통한다고 본다.

이상과 같이 당뇨유발군에서는 cytochrome P<sub>450</sub>, cytochrome b<sub>5</sub>와 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 등의 MFO계의 활성이 증가되고 지질과산화물의 증가도 같은 양상으로 나타난 것으로 보아 STZ 유발 당뇨쥐에서의 지질과산화물의 축적은 MFO계의 활성에 따른 free radical 생성의 증가에 기인하는 것 같다.

## 요 약

본 연구는 streptozotocin 유발 당뇨쥐에서의 MFO계 활성 변화 및 이에 따른 지질과산화를 관찰하고자 체중이 140g 내외의 Sprague-Dawley종 흰쥐 수컷을 대조군과 당뇨 유발 실험군으로 나누어 4주간 사육하였다. 당뇨군은 STZ로 당뇨를 유발시켰으며 당뇨 유발 6일 후 쥐를 희생시켜 간조직 및 폐조직 microsome 중의 cytochrome P<sub>450</sub> 및 cytochrome b<sub>5</sub> 함량과 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 활성도를 측정하고 아울러 microsome내의 지질과산화물을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 실험기간에 식이 섭취량은 차이가

없었으나, 체중 증가량과 식이 효율은 당뇨군이 STZ 군에 비해 현저하게 감소하였다. 간장 및 폐조직의 무게는 대조군과 당뇨군간에 유의적인 차이는 없었다. 간조직 및 폐조직 중의 cytochrome P<sub>450</sub> 함량은 대조군에 비해 당뇨군이 150%, 175%씩 증가하였다. 간조직 및 폐조직 중의 cytochrome b<sub>5</sub>은 대조군에 비해 당뇨군이 53%, 116%씩 각각 증가하였다. 간조직에서의 NADPH-cytochrome P<sub>450</sub> reductase 활성은 당뇨군이 대조군에 비해 47% 증가하였으며, 폐조직에서는 75% 증가하였다. 지질과산화물가는 당뇨군이 대조군에 비해 간조직에서는 약 95% 높았으며 폐조직에서는 73% 높았다. 이상의 결과에서 STZ 유발 당뇨쥐에서는 MFO system의 활성도가 대조군에 비해 현저하게 증가되고 지질과산화반응이 같은 경향으로 촉진되었으며 폐조직에서도 간조직에서와 비슷한 경향이였다. 이러한 것은 당뇨군에서는 MFO system의 활성증가로 free radical 생성이 증가되고 그결과 지질과산화가 촉진되었다고 볼 수 있다.

## 문 헌

1. Remmer, H. : The role of the liver in drug metabolism. *Am. J. Med.*, **49**, 617(1970)
2. Miller, J. A. : Carcinogenesis by chemicals : An overview-GHA Clowes memorial lecture. *Cancer Res.*, **30**, 559(1970)
3. Astrom, A. and Depierre, J. W. : Characterization of the induction of drug-metabolizing enzymes by 2-acetylaminofluorene. *Biochem Biophys. Acta*, **673**, 225(1981)
4. Chow, C. K. : Cellular antioxidant defense mechanisms. Volume I, CRC Press, In C., USA, p.4(1988)
5. Matsumura, T. and Thurman, R. G. : Measuring rates of O<sub>2</sub> uptake in periportal and pericentral regions of liver lobules : stop-flow experiments with perfused liver. *Am. J. Physiol.*, **244**, G656(1983)
6. Astrom, A. and Depierre, J. W. : Rat liver microsomal cytochrome P<sub>450</sub> purification, characterization, multiplicity and induction. *Biochemical et Biophysica Acta*, **853**, 1(1986)
7. Anderson, K. E., Conney, A. H. and Kappas, A. : Nutritional influences on chemical biotransformations in humans. *Nutr. Rev.*, **40**, 161(1982)
8. 김기웅, 송용범 : 급성 납중독된 흰쥐의 이물질 대사효소의 활성도에 관한 연구. *한국생화학회지*, **27**, 87(1994)
9. Chen, J., Mabel, P., Goetchirs, T., Campbell, C. and Getald, F. C. jr. : Effects of dietary selenium and vitamin E on hepatic mixed-function oxidase activities and *in vivo* covalent binding of aflatoxin B<sub>1</sub> in rats. *J. Nutr.*, **112**, 324(1982)
10. Bidlack, W. T. and Tappel, A. L. : Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids*, **8**, 177(1973)
11. Roubal, W. T. and Tappel, A. L. : Polymerization of proteins induced by free radical lipid peroxidant. *Arch. Biochem. Biophys.*, **113**, 150(1966)
12. Tappel, A. L. : Free radical lipid peroxidation damage and its inhibition by vit. E and selenium. *Fed. Proc.*, **32**, 73(1965)
13. Urano, S., Midori, H. H., Tochihi, N., Matsuo, M., Shiraki, M. and Ito, H. : Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids*, **26**, 58(1991)
14. Hoguchi, Y. : Lipid peroxides and  $\alpha$ -tocopherol in rat STZ-induced diabetes mellitus. *Acta Med. Okayama.*, **36**, 165(1982)
15. 백태홍, 전세열, 김정호 : 영양학 실험. 수학사, p.137(1988)
16. Omura, T. and Sato, R. : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2379(1964)
17. Omura, T. and Sato, R. : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370(1964)
18. Masters, B. S. S., Williams, C. H. and Karmin, H. : The preparation and properties of microsomal TPNH-cytochrome C reductase from pig liver. *Meth. Enzymol.*, **10**, 551(1967)
19. Satoh, K. : Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica. Chemica. Acta*, **90**, 37(1978)
20. Lowry, O. H., Rosenbrouth, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Boil. Chem.*, **193**, 265(1951)
21. 최원경 : Streptozotocin 유발 당뇨쥐에 있어서 항산화적 방어기구 및 metallothionein 합성에 미치는 비타민 E의 영향. 효성여자대학교 박사학위논문(1994)
22. Choi, J. W., Sohn, K. H. and Kim, S. H. : Effect of pretreatment with nicotinamide on changes in the hepatic metabolizing enzyme system induced by streptozotocin. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **20** (1991)
23. Astrom, A., Meijer, J. and Depierre, J. W. : Characterization of the microsomal cytochrome P<sub>450</sub> species induced in rat liver by 2-acetylaminofluorene. *Cancer Res.*, **43**, 342(1983)
24. 임경숙 : 식이지방과 butylated hydroxytoluene이 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐간의 지질과산화도 및 과산화물대사 효소에 미치는 영향. 서울대학교 이학박사학위논문(1988)
25. Lu, A. Y. H., West, S. B., Vore, M., Ryan, D. and Levin, W. : Role of cytochrome b<sub>5</sub> in hydroxylation by a reconstituted cytochrome P-450-containing system. *J. Bio. Chem.*, **249**, 6701(1974)
26. Lu, A. Y. H. : Liver microsomal drug-metabolizing enzyme system : functional components and their properties. *Fed. Proc.*, **35**, 2460(1976)
27. 광충실 : 식이 지방이 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐간에서 지질과산화물, 약물대사 효소 및 eicosanoid 생성에 미치는 영향. 서울대학교 박사학위논문(1991)
28. 박미리, 조수열 : 흰쥐 간에 있어 지질과산화에 미치는 식이성 비타민 E의 수준 및 케페인의 영향. *한국영양식량학회지*, **23**, 561(1994)