

신장의 근위세뇨관에서 Renal Dipeptidase(RDPase)의 유도에 관한 키토산의 효과

김영호^{1,2} · 윤현중² · 박행순² · 이명렬³ · 김종세^{1*}

¹조선대학교 자연과학대학 생물학과

²전남대학교 약학대학 약품개발연구소

³조선대학교 자연과학대학 식품영양학과

Effects of Chitosan on the Induction of Renal Dipeptidase (RDPase) from the Proximal Tubules

Young Ho Kim^{1,2}, Hyun Joong Yoon², Haeng Soon Park², Myung Yul Lee³ and Jong Se Kim^{1*}

¹Dept. of Natural Science, Biology, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

²College of Pharmacy, Research Institute of Drug Development, Chonnam University, Gwangju 500-757, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of chitosan, which is deacetylated derivative of chitin, on the renal function. Renal dipeptidase (RDPase, membrane dipeptidase, dehydropeptidase 1, EC 3.4.13.19) is glycosyl phosphatidyl-inositol (GPI)-anchored ectoenzyme of renal proximal tubular microvilli and was related with renal disease including acute renal failure, pyelitis and nephritis. The released RDPase and Udpase activities were assayed by modified fluorometric method. *In vitro* experimental groups were consisted of group 1, the concentration ranges of 0, 0.01, 0.05 and 0.1% chitosan only, group 2, the concentration ranges of 1, 2 and 4 mM glycerol only, and group 3, the concentration ranges of 0, 0.01, 0.05 and 0.1% chitosan in the presence of glycerol (4 mM). *In vivo* experimental groups were consisted of group 1 in which rats were treated with glycerol for the purpose of glycerol-induced renal damage, and group 2 in which rats were treated with chitosan plus glycerol. The RDPase release of 0.01, 0.05, and 0.1% chitosan groups were increased in the concentration dependent manner. The RDPase release of 1, 2, and 4 mM glycerol groups were decreased in the concentration dependent manner. Chitosan in the presence of glycerol restored the released RDPase activity in the proximal tubules. *In vivo*, chitosan inhibited the decrease of RDPase release by glycerol in the kidney and blocked the decrease of Udpase activity by glycerol in urine. These results indicated that chitosan was possible as a functional food to control renal function and its diseases.

Key words: chitosan, RDPase, glycerol, proximal tubule, Udpase

서 론

키토산은 새우, 게, 크릴새우, 곤충 등 갑각류 껍질에서 추출한 자연적으로 생성된 중합체이다. 이러한 키토산을 강한 알칼리성 용액으로 탈아세틸화시켜 정제한 것이 키토산이다. 키토산은 키토산의 탈아세틸화 반응을 통해 유도된 물질로 2-amino-2-deoxy-D-glucose의 단위로 착화 특성을 가지고 있다(1,2). 키토산은 금속이온(3), 염색약(4), 단백질 흡수(5)에 대해 강한 전위를 가진다. 또한 생체에 대한 독성이 없고, 점막점착성 중합체이며 친수성, 생용화성, 생분해성, 항박테리아 등의 기능을 나타내기 때문에 생물의학, 화장품, 식품, 섬유산업 등 여러 가지 분야에 적용이 가능하다(6).

키토산은 음식에서 정화제(7), 산화방지제(8), 효소적 갈변 저해제로 사용되며(9), 체내 조직에서는 여러 가지 방어 기전을 활성화시키고(10), 수분 결합제 역할과 다양한 효소의 저해 역할을 한다(11). 또한 키토산은 그람 양성, 음성 박테리아뿐만 아니라 효소, 곰팡이 등에 대한 저해 작용도 있으며, 항 바이러스 활성을 통해 상처치유에 관계하는 것으로 보고되고 있다(12,13). 고효율 고분자 키토산은 체내에서 흡수되어 인체면역계(자연치유력)를 활성화시켜 면역력을 증강시키는 작용을 나타낸다. 키토산은 체액의 pH를 0.5 정도 약알칼리 쪽으로 변화시켜 림프구를 활성화시킨다. 뿐만 아니라 대식세포, 다핵구의 활성화와 축적, 암세포 성장 억제(14), 미생물에 의한 감염에 대한 저항성 항진, cytokine의

*Corresponding author. E-mail: kyh5656@korea.com
Phone: 82-62-230-6641, Fax: 82-62-230-7984

유도, 항체반응의 증가, 지연형 과민반응의 감소, 세포독성 T 림프구의 반응을 증가시키는 효과도 나타내고 있다(15). 키토산을 이용한 다양한 연구가 많은 분야에서 진행되고 있으나, 신장과 관련한 연구는 보고된 사례가 없다.

Renal dipeptidase(이하, RDPase라 함, membrane dipeptidase, dehydropeptidase 1, EC 3.4.13.19)는 최초로 돼지 신장 미세 용모막에서 정제된 이후 널리 연구되어 왔다(16,17). RDPase는 신장 근위 세뇨관의 미세 용모막에 위치한 zinc-metalloenzyme이다(18). 이것은 폐, 췌장, 정소, 장 점막 같은 다른 조직에서도 또한 높은 활성을 가지며 비장, 간 혈청, 심장에서는 낮은 활성을 가진다는 것이 발견되었다. Dipeptidase의 활성은 인간의 소변에서도 발견할 수 있는데, 이를 'urinary dipeptidase'(이하, Udpase라 함)라고 명명한다. 기질 특이성과 면역 반응성, 아미노산 서열에서의 동일성과 같은 다양한 생리 화학적 특징을 기초로 하여 볼 때, RDPase와 Udpase는 동일 효소임이 보고되었다. RDPase는 신장에서 재흡수를 위해 dipeptide를 가수 분해하고, glutathione과 leukotriene D₄(LTD₄) 등의 물질대사에 관여하는 것으로 보고되었다(19,20). RDPase는 사구체 여과액에 존재하는 L-dipeptide를 가수 분해시켜 그 결과 생성된 아미노산을 sodium ion의 농도 구배 현상을 통하여 미세 용모를 통해 재흡수된다. 급성 신부전증과 만성 신부전증 환자의 소변에서 Udpase는 감소하는 것으로 보고되었다. 신장 질환을 진단하는 한 방법인 혈중 크레아티닌의 측정은 환자의 혈액에서 측정하는 번거로움이 있으나, 실험동물을 모델로 하는 기초적인 비임상 신장 질환 실험에서, 손상된 신장 조직에서는 RDPase, 소변에서는 Udpase를 간단하게 측정이 가능하다는 장점이 있어 진단용 확인 효소로도 제안된 바 있다(21).

본 연구에서는 천연물로서 기능성 식품소재로 이용되고 있는 키토산을 이용하여 아직까지 연구되어진 바 없는 신장 근위세뇨관에서 유리되는 RDPase의 변화를 관찰하였으며, 급성신부전증, 급성세뇨관 괴사 등을 유발하는 glycerol을 처리하여 질병을 유도한 후(22), 키토산에 의한 RDPase 유리의 회복 정도를 관찰하였다.

재료 및 방법

재료

실험동물 : 실험동물로는 샘타코(한국)에서 생산, 공급하고 있는 ICR계 수컷 생쥐(체중 25~35 g, 8~10주령)와 쥐(체중 200~300 g, 8~10주령)를 사용하였다. 실험동물은 23±2°C, 습도는 45±5%로 유지된 사육실에서 폴리카보네이트로 제작된 사육장(40×25×17 cm)에서 사육하였으며, 사료(제일제당 제품)와 급수는 자유롭게 공급하였다.

시약 : 본 실험에서 사용한 키토산은 분자량 10,000 이하, cps 2 이하, 탈아세틸화도 90~95%인 제품을 (주)Ecobio Inc(한국)에서 구입하여 사용하였다. Ala-Ala, Alanin dehydrogenase, β-NAD⁺, diaphorase, resazurin, glycerol 등은 Sig-

ma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, USA)에서 구입하였다.

신장 근위 세뇨관 : 신장에 KRH(Krebs-Ringer-Hepes) 완충액을 관류하여 혈액을 제거하고 cortex부위를 잘게 썰었다. 각각의 시료를 낮은 속도(25~30 rpm)로 polytron tissue homogenizer와 teflon-glass homogenizer(Glascol, terre haute, IN, USA)를 이용하여 한번씩 균질화 하였다. 균질화된 피질은 나일론 거즈(pore size 60 μm)를 통해 여과시켰다. 살아있는 근위세뇨관을 다른 재료로부터 isopycnic centrifugation으로 분리하였다.

실험군 설정 및 처리방법

In vitro 실험군 : 적정량(500 μL)의 근위세뇨관을 취하여 다음과 같이 실험하였다. 실험군 1은 chitosan 용액(0.01, 0.05, 0.1%)을 각각 농도별로 처리한 군, 실험군 2는 glycerol을 각각 농도별(1, 2, 4 mM)로 처리한 군, 실험군 3은 glycerol(4 mM)과 키토산(0.01, 0.05, 0.1%)을 농도별로 동시 처리한 군 등이다. 각각의 약물에 의해 처리된 근위세뇨관은 37°C에서 30분간 배양한 후, 13,000 rpm, 4°C의 조건으로 5분간 원심분리 하여 상층액을 취하였으며 이것을 이용하여 RDPase 활성을 측정하였다.

In vivo 실험군 : 총 3개의 군으로 나누어 실험을 진행하였다. 실험군 1은 일반 식이만을 공급한 정상군, 실험군 2는 50% glycerol(50%, 8 mg/kg, in saline)을 구강 투여한 후, 일반 식이를 공급한 군, 실험군 3은 glycerol과 0.1% chitosan 용액을 구강으로 동시 투여한 군으로 각 군당 10마리의 쥐를 사용하였다. 시간(0, 24, 48, 72h)의 경과에 따라 배출되는 소변을 metabolic cage(210×210×500 mm, 명진기계상사, 한국)를 이용하여 Udpase의 시료로 수집하였고, 동시에 시간에 따라 쥐를 도살하여 신장을 취하였다. 소변은 단백질 정량을 한 후, Udpase 활성을 측정하였으며, 신장은 PBS를 이용하여 관류를 시행, 혈액을 제거하고, 균질기와 초음파 분쇄기를 이용하여 균질화 하였다. 균질화된 시료를 3,000 g에서 10분간 원심분리를 하여 상층액만을 취하였다. 상층액은 단백질 정량을 한 후, RDPase 활성을 측정하였다. RDPase와 Udpase의 활성은 일정한 단백질량(100 μg)을 기준으로 표현하였다.

RDPase와 Udpase의 활성도 측정 : 유리된 RDPase와 소변에서의 Udpase의 효소 활성 측정은 동일한 효소이므로 동일형광분석 방법에 따라 실행하였다(23). Na₂CO₃완충액(pH9.0) 2.5 mL에 1.5 μmol L-Ala-L-Ala, 0.4 U L-Ala DHase, 1.5 mM β-NAD⁺, 0.06 U diaphorase, 0.1 mM resazurin sodium 혼합물 50 μL와 sample enzyme 20 μL를 합하여 총 부피는 2.75 mL로 하였다. 반응 혼합물은 25°C에서 2분 동안 전배양한 후, 효소를 포함하고 있는 배양 상층액 20 mL를 첨가하였다. Excitation과 Emission 최대파장이 각각 568 nm와 589 nm로 조절된 JASCO 형광 분광 광도계를 사용하여 이 반응의 형광 산물인 resorufin의 생성을 시간의 함수로 2분 동안 측정하였다. 이와 같이 유리된 각각의 효소

활성을 임의의 형광 광도로서 표시하였다. 소변에서의 Udpase 활성과 신장에서의 RDPase 활성은 일정 단백질량(100 µg)을 기준으로 하여 관찰하였다.

단백 정량: 시료(25 µL)를 96-well microplate의 각 well에 분주하고, reagent A와 reagent B(50:1)로 구성된 Bicinchoninic acid(BCA) assay kit(PIERCE, USA) 용액 200 µL씩을 가했다. Bovine serum albumin을 표준물질로 사용하였으며, 37°C에서 1시간 동안 배양한 후 micro plate reader를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 단백질량을 구하였다.

통계처리: 각 실험군 별 통계학적 유의성은 개인용 컴퓨터 프로그램인 SAS를 이용한 Anova test에 의하여 검정하였으며, 각 p값은 0.05 미만의 것을 유의한 수준으로 고려하였다.

결과 및 고찰

RDPase 유리·활성에 미치는 효과

신장의 근위세뇨관에 존재하는 효소인 RDPase의 유리·활성에 대하여 키토산이 미치는 영향에 대한 실험 결과는 Fig. 1과 같다. 키토산의 처리 농도는 세포 독성을 가지지 않는 0.1% 이하를 근위세뇨관에 처리하였다. Fig. 1에서 볼 수 있듯이 키토산의 농도가 증가함에 따라 RDPase의 유리·활성이 증가함을 알 수 있었다. 이 결과는 Park(24)이 돼지 신장을 적출한 후, 신장 근위세뇨관에 인슐린을 1 nM에서 100 nM의 농도로 처리하였을 때 농도 의존적으로 RDPase의 유리가 증가된다는 결과와 비슷한 경향이 나타났다. 특히 0.05%와 0.1%의 키토산 농도에서 그 효과가 높은 것을 확인하였다. 위의 결과를 보면, 키토산이 근위세뇨관에서의 RDPase의 유리를 증가시키는 것으로 보아 신장 재흡수 능력의 향상에

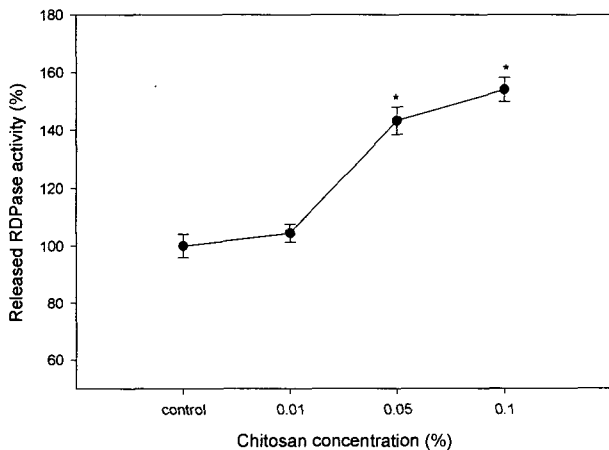


Fig. 1. Effects of chitosan on the release of RDPase from proximal tubules as a function of concentration. Proximal tubules were incubated at 37°C in the concentration-dependent manner of chitosan. The RDPase released into supernatant was assayed as described on the methods. The results are expressed as percentage compared with the arbitrary intensity of control (3 determinations, mean ± SD, *p < 0.05 vs. control).

기여하는 것으로 보여진다.

글리세롤에 의한 RDPase 유리·활성 억제효과

급성신부전증, 급성세뇨관 괴사 등을 일으키는 물질인 글리세롤을 이용하여 근위세뇨관에 손상을 유도하였으며, 근위세뇨관에서 유리되는 RDPase의 활성을 측정하여 그 변화를 관찰하였다(Fig. 2). Fig. 2에서 볼 수 있듯이 글리세롤의 농도 증가에 따라 RDPase는 근위세뇨관에서의 유리·활성이 감소하는 것을 확인할 수 있다. 특히, 4 mM의 글리세롤을 처리한 경우, RDPase의 유리·활성이 70% 이하로 감소되는 것을 알 수 있다. 이는 글리세롤이 근위세뇨관 세포의 괴사를 유도하여 세포막으로부터의 RDPase 유리를 방해하는 것으로 생각된다.

글리세롤에 의해 유도된 RDPase 유리·활성 감소에 대한 키토산의 효과

손상된 근위세뇨관에서 유리·활성이 감소는 것으로 확인된 RDPase에 대하여 키토산의 회복력을 확인한 결과는 Fig. 3과 같다. 글리세롤(4 mM)에 의해서 감소되었던 RDPase의 유리·활성이 키토산을 글리세롤과 동시에 처리한 실험군에서 키토산의 농도가 증가함에 따라서 다시 정상에 가깝게 회복되는 것을 보여주고 있다. 특히 0.1% 키토산을 처리한 경우, 약 93%까지 회복되었다. 앞서서도 언급하였듯이 RDPase는 신장의 기능 감소와 질환 등에 의해 민감하게 변화하는 효소이다(21). 이러한 내용을 전체하에서, Fig. 3에서 보여주는 결과는 키토산이 신장질환에 대하여 예방 소재 혹은 치료 소재로서의 가능성이 높다는 것을 확인해주고 있다.

쥐에게 유도된 신장질환에 대한 키토산의 효과

생체에서의 키토산의 효과를 확인하기 위하여 글리세롤을

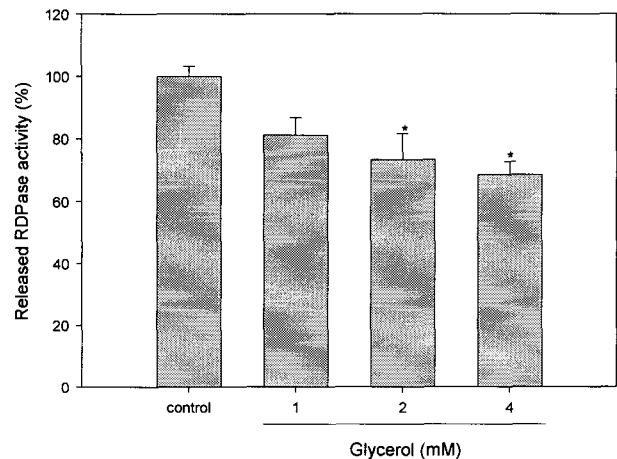


Fig. 2. Effects of glycerol on the release of RDPase from proximal tubules as a function of concentration. Proximal tubules were incubated at 37°C in the concentration-dependent manner of glycerol. The RDPase released into supernatant was assayed as described on the methods. The results are expressed as percentage compared with the arbitrary intensity of control (3 determinations, mean ± SD, *p < 0.05 vs. control).

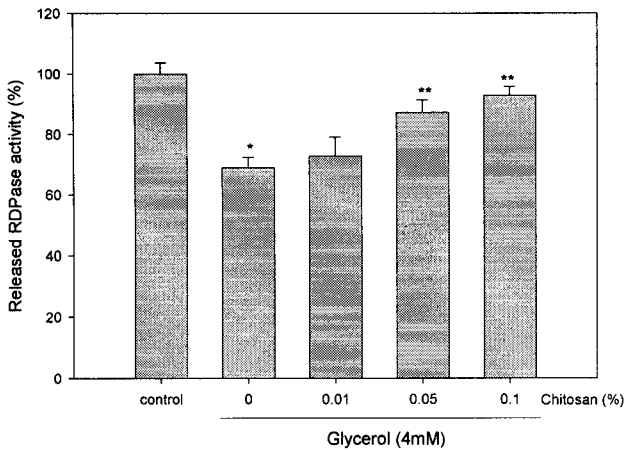


Fig. 3. Effects of chitosan in the presence of glycerol on the release of RDPase from proximal tubules. Proximal tubules were incubated at 37°C in KRH buffer alone (control) and chitosan (0, 0.01, 0.05, and 0.1%) with glycerol (4 mM). The RDPase released into supernatant was assayed as described on the methods. The results are expressed as percentage compared with the arbitrary intensity of control (3~6 determinations, mean ± SD, *p<0.01 vs. control, **p<0.05 vs. glycerol only).

이용하여 쥐에게 신장 질환을 유도하면서 키토산을 공급하여 신장 질환에 효과가 있는지를 확인하기 위하여 쥐의 신장 근위세뇨관에 남아 있는 RDPase(Fig. 4)와 RDPase가 유리되어 소변에 섞여 나온 Udpase(Fig. 5)를 측정하였다. Fig. 4에서 볼 수 있듯이, 글리세롤을 단독으로 처리한 군에서는 신장 근위세뇨관에서 유리되지 않고 남아 있으면서 효소로서의 기능을 하지 않는 RDPase의 활성도가 글리세롤 투여 후 시간이 증가함에 따라 증가되어지는 것을 확인할 수 있었다. 특히, 처리 후 48시간에는 대조군과 비교하여 약 260% 이상 증가하는 것을 알 수 있었다. 반면에 키토산을 동시 투

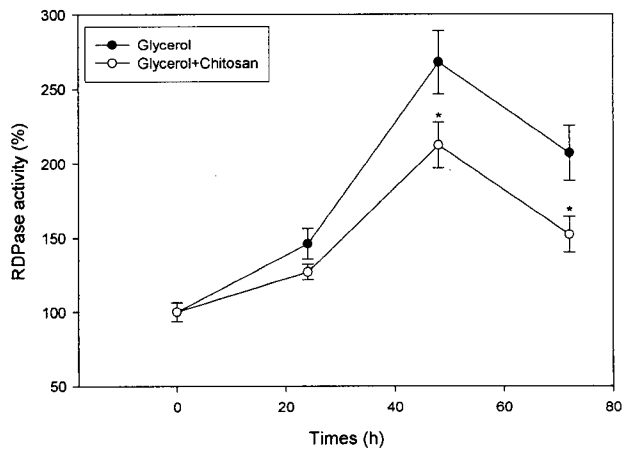


Fig. 4. In vivo effects of chitosan on the glycerol-induced RDPase in the kidney of rats. Glycerol (50%, 8 mL/kg) solution was introduced by oral administration in rats. 0.1% of chitosan solution was introduced by oral administration in rats. Each group was used to 10 rats (10 determinations, mean ± SD, *p<0.05 vs. glycerol at each time).

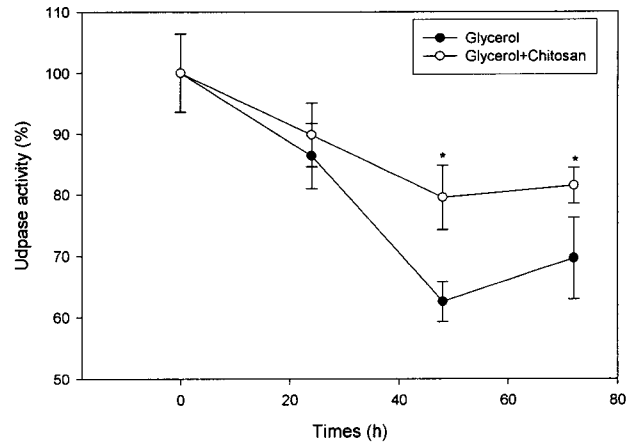


Fig. 5. In vivo effects of chitosan on the glycerol-induced Udpase in the urine of rats. Glycerol (50%, 8 mL/kg) solution was introduced by oral administration in rats. 0.1% of chitosan solution was introduced by oral administration in rats. Each group was used to 10 rats (10 determinations, mean ± SD, *p<0.05 vs. glycerol at each time).

여한 군은 글리세롤 단독 투여군에 비하여 신장 근위세뇨관에 남아있는 RDPase의 활성도가 눈에 띄게 감소되어짐을 확인할 수 있었다. Fig. 5는 소변에 유리 되어져 나오는 효소인 Udpase의 활성도를 측정한 결과이다. 글리세롤을 단독으로 처리한 군에서는 소변에서의 Udpase 활성도가 시간이 증가함에 따라 급격히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 특히 처리 후 48시간에는 그 활성도가 약 60% 정도로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 반면에 키토산을 글리세롤과 동시 투여한 군은 활성도의 감소량이 현저히 줄어드는 것을 알 수 있었다. 또한 키토산 단독처리군에서도 소변에서의 Udpase 활성도가 증가되었다(결과미발표).

체외·체내 실험에서 키토산이 신장 질환의 예방과 치료에 효과가 있음을 관찰할 수 있었다. 이는 키토산을 첨가한 식품이나 키토산을 이용한 건강보조식품 등의 꾸준한 복용이 신장 질환을 예방하는 효과와 기능 향상을 유도할 수 있는 가능성을 보여준 결과라고 생각되어진다. 하지만, 효소 하나만으로 이러한 결론을 내리기에는 아직 무리가 있다고 생각되어진다. 따라서 키토산을 이용한 신장 관련 기능성 식품이나 의약품 소재로서 이용하고자 한다면, 신장 기능과 관련이 있는 여러 가지 요인 및 생화학적 인자들과 연관된 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되어진다.

요 약

기능성 식품 소재로서 이미 많이 알려진 키토산이 신장과 관련하여 식품이나 의약품 소재로서 활용이 가능한지를 알아보기 위하여 신장 기능과 민감하게 관련이 있는 효소인 RDPase, Udpase의 활성을 체내·체외 실험을 통하여 관찰하였다. 체외 실험에서 글리세롤에 의해 유도된 RDPase의 유리·활성 감소를 다시 회복시키는 것을 관찰하였다. 체내

실험에서 글리세롤 투여에 의하여 손상된 신장의 근위세뇨관에서 급격히 증가한 RDPase의 활성을 키토산이 확실하게 감소시키는 것을 관찰할 수 있었다. 키토산을 공급한 쥐의 소변에서의 Udpase의 활성이 증가하는 것을 관찰하였다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 전통식품 첨단화 인력양성 사업단 산학협력연구비(NURI)의 지원을 받아 연구되었음.

문헌

- Riccardo AA, Muzzarelli PI, Tomasetti M. 1993. Preparation and characteristic properties of 5-methyl pyrrolidinone chitosan. *Carbohydrate Polymers* 20: 99-105.
- Hall LD, Yalpani M. 1980. Enhancement of the metal chelating properties of chitin and chitosan. *Carbohydrate Res* 83: 15-17.
- Ghani SA, Hoon LL. 2002. Comparative adsorption of lead (II) on flake and bead-types of chitosan. *J Chin Chem Soc* 49: 625-628.
- Li HY. 2002. Equilibrium and kinetic modelling of adsorption of reactive dye on crosslinked chitosan beads. *J Hazard Mater* B93: 233-248.
- Ruckenstein E. 1998. Cross-linked macroporous chitosan anion-exchange membranes for protein separations. *J Membr Sci* 148: 195-205.
- Skjak G, Anthonsen T, Sandford P. 1988. *Chitin and chitosan: sources, chemistry, biochemistry, physical properties and application*. Elsevier. Applied. Sci, New York.
- Boguslawski S, Bunzeit M, Knorr D. 1990. Effects of chitosan treatment on clarity and microbial counts of apple juice. *Z Lebensm Technol* 41: 42-44.
- Xie WM, Xu PX, Liu Q. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 11: 1699-1701.
- Sapers GM. 1992. Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. *J Food Sci* 57: 1192-1193.
- El-Ghaouth A, Ponnampalam R, Castaigne F, Arul J. 1992. Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. *Hortscience* 27: 1016-1018.
- Young DH, Kohle H, Kauss H. 1982. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultured *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris* cells. *Plant Physiol* 70: 1449-1454.
- Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Oh SJ, Choi JH, Kim CY. 2001. In vitro antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. *Int J Antimicrob Agents* 18: 553-557.
- No HK, Park NY, Lee SH, Meyers SP. 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int J Food Microbiol* 74: 65-72.
- Suzuki K, Mikami T, Okawa Y, Tokoro A, Suzuki S, Suzuki M. 1986. Antitumor effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose. *Carbohydr Res* 151: 403-408.
- Sugano M, Yoshida K, Hashimoto M, Enomoto K, Hirano S. 1992. Hypocholesterolemic activity of partially hydrolyzed chitosan in rats. In *Advances in Chitin and Chitosan*. Elsevier, London. Vol 13, p 472-478.
- Adachi H, Tawaragi Y, Inuzuka C, Kubota I, Tsujimoto M, Nishihara T, Nakazato H. 1990. Primary structure of human microsomal dipeptidase deduced from molecular cloning. *J Biol Chem* 265: 3992-3995.
- Campbell BJ, Lin YC, Davis RV, Ballew E. 1966. The purification and properties of a particulate renal dipeptidase. *Biochim Biophys Acta* 118: 371-386.
- Littlewood GM, Hooper NM, Turner AJ. 1989. Ectoenzymes of the kidney microvillar membrane. *Biochem J* 257: 361-367.
- Kahan FM, Kropp H, Sundelof JG, Birnbaum J. 1983. Thienamycin: development of imipenem/cilastatin. *J Antimicrob Chemother* 12: 1-35.
- Kropp H, Sundelof JG, Hajdu R, Kahan FM. 1982. Metabolism of thienamycin and related carbapenem antibiotics by the renal dipeptidase, dehydropeptidase. *Antimicrob Agents Chemother* 22: 62-70.
- Fukumura Y, Kera Y, Oshitani S, Ushijima Y, Kobayashi I, Liu Z, Watanabe T, Yamada R, Kikuchi H, Kawazu S, Yabuuchi M. 1999. Behaviour of urinary dipeptidase in patients with chronic renal failure. *Ann Clin Biochem* 36: 221-225.
- Finckh ES. 1957. Experimental acute tubular necrosis following subcutaneous injection of glycerol. *J Pathol Bacteriol* 73: 69-85.
- We JS, Kang BY, Lee JC, Lee HB, Park HS. 1997. Identification of urinary dipeptidase as the released form of renal dipeptidase. *Kidney Blood Press Res* 20: 411-415.
- Park SW. 2001. Release mechanism of renal dipeptidase from kidney proximal tubules: a possible involvement of glycosylphosphatidylinositol (GPI)-phospholipase C. *PhD Dissertation*. Chonnam National University. p 76-84.

(2005년 4월 18일 접수; 2005년 7월 28일 채택)