

사염화탄소 중독이 백서 악하선 Ribonuclease
활성에 미치는 영향에 관한 연구

서울대학교 치과대학 교정학교실

(지도교수 조 희 원)

김 일 봉

THE EFFECTS OF CARBONTETRACHLORIDE INTOXICATION ON
THE RIBONUCLEASE ACTIVITY OF SUBMAXILLARY
GLAND IN THE RAT.

Kim Il Bong, D.D.S.

(Directed by Prof. Cho Hi-Won., D.D.S., M.S.D., Ph.D.)

Department of Orthodontics, Graduate School, Seoul National University

.....> Abstract <.....

Adult male rats were subjected to investigate the changes of ribonuclease activity in various tissue by carbontetrachloride inhalation and Ginseng-extract administration. Twenty rats were divided into four groups as followings:

Group I; Control, 5 rats

II; Ginseng-extract administered, 5 rats

III; Carbontetrachloride inhaled, 5 rats

IV; Carbontetrachloride inhaled after Ginseng-extract administration, 5 rats

Each rats of above four groups were depleted blood by cardiac puncture. Then they were sacrificed immediately and submaxillary gland, liver, pancreas, and serum were collected for the assay of ribonuclease, amylase, acid phosphatase and alkaline phosphatase. And then the tissues were homogenized with 20 Vol. of 0.02 M phosphate buffer or saline solution, previously chilled, in Potter-Elevenjem glass homogenizer. The supernatant obtained after centrifuging the homogenate was used as enzyme source. Ribonuclease activity was determined as described by Roth with certain modification. Amylase activity was determined by the method of Bernfeld. Phosphatase activity was

determined after modified Bodansky's method.

The summary of obtained results were as follows;

1. In the submaxillary gland, level of amylase, active alkaline ribonuclease and acid phosphatase were slightly decreased by CCl_4 inhalation.
2. In the liver tissue, levels of amylase and active alkaline ribonuclease were remarkably decreased by CCl_4 inhalation.
3. In the pancreas tissue, no significant changes were detected on the levels of ribonuclease, amylase, acid phosphatase and alkaline phosphatase by CCl_4 inhalation or Ginseng-extract administration.
4. By CCl_4 inhalation serum level of active alkaline ribonuclease and amylase were surprisingly increased while alkaline phosphatase was decreased.
5. In Ginseng-extract administered group, no significant changes were observed except the increased level of serum amylase.

— 목 차 —

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 고 찰
- V. 결 론
- VI. 참고문헌

I. 서 론

사염화탄소는 일종의 할로젠 화합물로서 이를 흡입하면 폐종창을 수반하는 기관지 폐염과 뇌출혈뿐 아니라 간장 신장 부신 및 신경계등의 손상을 일으키게 된다. 사염화탄소 중독의 생화학적 및 병리조직학적 연구는 많은 학자에 의해 이루어져 왔다.

사염화탄소는 경구적으로 섭취 되거나 흡입되면 급성적으로 중독현상을 나타내며 간 조직내의 형태학적인 병변을 발현할 수 있고, 나아가서 간 조직내의 각종 지방성분의 증가를 초래한다고 보고 하였다^{1,2)}.

중독후 수시간 내에 endoplasmic membrane의 종창과 파괴가 일어나며³⁾, 이때 간장내의 효소가 유리되고 세포주성분의 괴사가 일어나는 세포내 병변이 온다.

RNA는 DNA의 유전정보에 전사되어 단백질 합성에 관여하고 있어 RNA 합성이 왕성한조직일수록 단백질 합성도 크다는 것은 주지의 사실이다. RNA 배사의

조절기능에는 여러가지 있겠지만 RNA분해 효소인 ribonuclease가(이하 RNase라 칭함) 지배적 영향을 준다. 따라서 RNase가 생리적 또는 병적상태내에서 수행하는 기능은 실로 큰 바 있어, RNase에 관한 연구는 많은 학자에 의해 행하여지고 있다.

1920년에 처음으로 쥐장에서 효모 RNA를 분해하는 내열성인 효소가 존재함이 보고 되었다⁴⁾. 그후 1940년에 결정화 되었으며 Ribonuclease라 명명되었다⁵⁾. 이에 따라 RNase는 많은 동식물조직에서 발견되었다^{6,7)}. 혈청 RNase 활성에 관하여는 많은 연구가 된 바 있으며, 백서, guinea pig의 혈청 RNase의 pH 활성곡선, 내열성 및 heparin에 의한 억제작용 등으로 보아 결정화하면 쥐장 RNase와 비슷한것 이라고 보고 하였다⁸⁾. 간조직 RNase에 관하여서도 연구가 있었으며⁹⁾ 간의 alkaline RNase는 RNA를 pyrimidine cyclic nucleotide로 분해하고 acid RNase는 purine과 pyrimidine의 internucleotide bond를 분해한다. 비조직 RNase에 대해서도 연구된 바¹⁰⁾ 최적 pH가 약간 다르긴 하지만 그 작용은 쥐장 RNase와 비슷함을 보고하였다. 포유동물 조직에는 여러 RNase가 있으나 그 활성을 최적 pH로 구별하고 있다. 즉 최적 pH가 5.8 인 것이 acid RNase, 7.8 인 것이 alkaline RNase 가 된다. 이상과 같이 RNA배사에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되는 활성에 대해 검색하였으며 또한 사염화탄소 흡입 혹은 인삼추출물 섭취시의 RNase 활성변화를 관찰하였으며 아울러 amylase와 phosphatase의 활성도를 측정 비교 하였다.

II. 실험재료 및 방법

[1] 실험재료

1) 실험동물; 체중 125~145g의 백서를 각군마다 5마리씩 사용하였다.

2) 사염화탄소; *시판 사염화탄소를 제증류하여 사용하였다. (*Kanto Chemical Co. Inc.)

3) 인삼추출액; 인삼 30g을 100ml 증류수와 함께 냉각기가 달린 플라스크에 넣고 5시간동안 비등추출한 후 최종용량을 100ml로 하였다.

[2] 실험방법

실험동물을 다음과 같이 4군으로 나누어 각군에 5마리씩 분배하였다.

1) 인삼추출액섭취군; 인삼추출액을 매일 2 ml씩 7일간 카테타(catheter)를 사용하여 섭취시켰다.

2) 사염화탄소흡입군; 사염화탄소가 들어 있는 밀폐 가능한 용기에 백서를 넣고 의식이 없을까까지 흡입시켰다. 이 과정을 3회 반복 시행 하였다.

3) 인삼추출액섭취후 사염화탄소흡입군; 인삼을 위의 방법으로 7일간 섭취시킨 후 사염화탄소를 ?)의 방법으로 흡입시켰다.

4) 대조군; 인삼투여군과 같은 방법으로 인삼추출액 대신 물을 카테타를 통하여 섭취 시켰다.

위의 처리후 24시간만에 각군의 실험동물로부터 검체를 채취하였다.

[3] 효소액의 조제

위의 각군의 백서로부터 경동맥의 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였으며 악하선, 간조직과 췌장조직을 적출하여 200 mg씩 평량한후 냉 0.02M phosphate buffer 혹은 냉생리식염수를 $\times 20$ Vol으로 가한후 Potter-Elvehjem homogenizer로 잘 마쇄하여 10.300×g로 10분간 원침하였다. 여기서 얻은 상등액을 적절히 희석하여 각효소의 활성을 중복측정하였다.

[4] 측정방법

1) Ribonuclease 활성 측정 :

a) 측정시약의 조제

① *p*-chloromercuribenzoic acid (PCMB); N NaOH로 용해후 최종농도와 pH가 2 mM과 8이 되도록 조제하였다.

② Tris-maleate buffer; 0.04 M의 pH 5 와 8을 준비하였다.

③ 기질; 기질 RNA를 다음과 같은 방법으로 정제하였다¹¹⁾. 즉 yeast RNA를 증류수에 넣어 잘 혼합하고 N KOH로 주의하면서 적가하여 pH 7.0로 만들어 녹

인 후 증류수를 가하여 최종농도가 10% RNA 용액이 되도록 하였다. 이것은 동량의 acid-ethanol을 가하여 RNA를 침전시킨후 acid-ethanol로 2회 0.25% HClO₄로 3회 각각 세척한 다음 증류수에 RNA를 넣어 N KOH로 다시 pH 7.0로 조정하여 용해 시킨 후 증류수를 가하여 정확하게 0.25% RNA 용액을 제조하였다.

b) Ribonuclease 활성측정; 대부분 Roth¹²⁾의 방법에 의하여 측정하였다. 즉 상기 0.25% RNA 0.5 ml, alkaline ribonuclease 활성측정용으로는 pH 8.0의 Tris buffer 0.5ml (acid ribonuclease 활성 측정용으로는 pH 5.0의 Tris buffer를), 시료(효소액) 0.1 ml를 각각 혼합후 37°C에서 1시간 작용시켜 acid-ethanol 용액 2ml를 가한후 0°C에서 18시간 방치하여 원심분리 하였다. 상정액을 5배로 희석하여 acid soluble nucleotide를 Beckman DU spectrophotometer를 이용하여 260m μ 의 파장에서의 optical density의 증가를 측정 하였다.

각 경우에서 total ribonuclease의 측정은 위의 작용 혼합액에 2mM의 PCMB 0.2ml를 첨가하였고 active ribonuclease 측정시에는 PCMB 대신 0.2ml의 증류수를 첨가하여 작용시켰다.

2) Amylase활성측정; Bernfeld¹³⁾의 방법에 의하여 측정 하였다.

3) Phosphatase활성측정; alkaline phosphatase와 acid phosphatase의 활성은 Bodansky¹⁴⁾의 방법에 의하여 측정하였다.

4) 단백질정량; 각 시료(효소액)는 microkjeldahlometry에 의해 질소정량을 하였으며 단백질로 환산하였다.

III. 실험성적

[I] Ribonuclease활성에 미치는 영향

사염화탄소 흡입과 인삼추출액섭취시의 백서의 혈청, 간조직, 췌장조직 및 악하선의 ribonuclease [Polynucleotide; 2-oligonucleotidotransferase (cyclizing), EC 2, 7, 7, 1, 6] 활성의 측정 비교 결과는 Table I과 Fig. 1에서와 같다.

효소 ribonuclease는 활성의 최적 pH로 acid ribonuclease와 alkaline ribonuclease로 구별하고 있다. acid ribonuclease는 주로 lysosome 분획속에 다른 acid hydrolase와 같이 들어있고, alkaline ribonuclease는 cytoplasmic RNA와 밀접한 관계가 있다고 보고하고 있다. 본 실험에서 악하선의 acid ribonuclease는 *p*-chloromercuribenzoate의 pH 관계로 active ribonuclease 만 측정할 것이다.

Table I. The effects of CCl₄ inhalation and Ginseng extract administration on the ribonuclease activities of submaxillary gland, liver, pancreas and serum in rats (Ribonuclease activities were represented as optical density difference between the final diluted samples from incubated and control reaction mixtures, Each value is mean optical density $\times 10^{-3} \pm$ standard deviation/100mg protein or 100ml serum).

** Group	SUBMAXILLARY GLAND			LIVER		PANCREAS		SERUM	
	Acid	Alkaline		Alkaline		Alkaline		Alkaline	
	active	total	active	total	active	total	active	total	active
I (5)	96+11	185+34	106+21	77+20	33+6	288+68	192+42	93+38	132+2
II (5)	76+29	156+62	75+35	76+16	36+8	218+91	204+30	69+26	125+18
III (5)	*62+14	143+45	90+28	66+8	*6+2	253+45	180+97	85+31	*58+11
IV (5)	*72+21	144+32	82+36	*46+5	*13+4	266+39	202+61	116+66	74+29

* Indicates $p < 0.05$

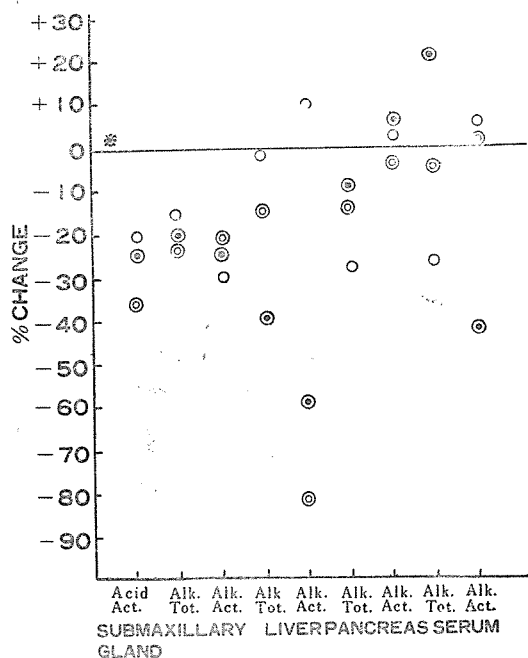
** Group I. Control

II. Ginseng-extract administered

III. CCl₄ inhaled

IV. CCl₄ inhaled after Ginseng-extract administration.

*** Figures in parentheses denote number of samples represented by experimental animals.



○ : Ginseng-extract administered

◐ : CCl₄ inhaled

● : CCl₄ inhaled after Ginseng-extract administration.

Fig. 1. The effects of CCl₄ inhalation and Ginseng extract administration on the ribonuclease activities of submaxillary gland, liver, Pancreas and sera in rat (* horizontal line represents the value of control group)

1) Alkaline ribonuclease

악하신에서 alkaline ribonuclease의 활성이 약간

의 변화를 보이고 있으나 특징적으로 나타난 것은 alkaline ribonuclease 보다는 acid ribonuclease의 활성변화가 뚜렷함을 Table I 과 Fig. 1에서 볼수있다.

간조직에서는 사염화 탄소의 손상에 의해서 뚜렷한 변화를 보이고 있다. 즉 사염화탄소 흡입군(6±2)이 대조군(33+6)에 비해 훨씬 활성저감을 나타낸다.

이 조직에서도 마찬가지로 total ribonuclease 보다는 active ribonuclease의 활성도가 민감히 변화 함을 볼수 있다.

취장조직에서는 alkaline ribonuclease의 활성변화를 크게 나타내고 있지 않다.

혈청 alkaline ribonuclease는 사염화탄소 흡입시에 active ribonuclease의 급격한 활성감소를 나타냈다.

사염화탄소 증독시에 alkaline ribonuclease의 활성 변화가 일어나지만 이는 대부분 active ribonuclease의 변화에 의한 것이다. 모든 조직중 간장조직이 사염화탄소 증독에 의해 제일먼저 크게 손상을 받는 것으로 추측된다. 또한 인삼추출액양을보다 많이 섭취 시킴으로써 효과를 기대해 볼수도 있다.

2) Acid ribonuclease; Table I 과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 타액선에서는 alkaline ribonuclease는 acid ribonuclease 보다 사염화탄소 증독에 대해 안정을 보인다. 즉 대조군(96±11)에 비해 사염화탄소흡입군과 인삼추출액섭취-사염화탄소흡입군(62±14와 72±21)의 활성이 감소되었다($p < 0.05$).

【II】 Amylase활성에 미치는 영향

사염화탄소증독과 인삼추출액섭취가 백서의 혈청, 간조직, 취장조직 및 악하신의 amylase활성에 미치는 결

Table II The effects of CCl₄ inhalation and Ginseng-extract administration on amylase activities of submaxillary gland, liver, pancreas and serum in rats (each value is mean unit \pm standard deviation /100mg. protein or 100ml. serum)

	SUBMAXILLARY GLAND	LIVER	PANCREAS	SERUM
Group I ** ***	426 \pm 63	673 \pm 142	1133 \pm 379	3114 \pm 312
II (5)	406 \pm 112	772 \pm 186	1246 \pm 412	*4025 \pm 285
III (5)	326 \pm 34	*273 \pm 61	966 \pm 407	*2240 \pm 260
IV (5)	340 \pm 56	*250 \pm 55	1031 \pm 108	*2450 \pm 290

*, **, *** are same as Table I

파는 Table II와 Fig. 2에서 보는바와 같다.

악하선에 있어서 네조군(426 \pm 63)에 비해 사염화탄소 흡입군(326 \pm 34)과 인삼추출액섭취-사염화탄소 흡입군(340 \pm 56)의 amylase 활성이 감소되었다(p < 0.05). 인삼추출액을 섭취시켰을 때에는 악하선 amylase의 활성에 영향을 미치지 못했다.

그러므로 인삼추출액섭취가 사염화탄소흡입에 의한 손상에 대해 감각적 역할을 기대할 수는 없다.

특징적으로 간조직에서는 타액선에 비해 amylase의 활성도가 사염화탄소흡입으로 인하여 훨씬 크게 감소하였다. 즉 네조군(673 \pm 142)에 비해 사염화탄소 흡입군(273 \pm 61)과 사염화탄소흡입전인삼추출액섭취군(250 \pm 55)의 amylase 활성이 크게 저감하였다(p < 0.05). 즉 사염화탄소흡입에 대해 간조직이 타액선 조직보다는 크게 손상받는다는 사실을 추론해볼 수 있다. 혈청 amylase 활성도는 인삼추출액섭취나 사염화탄소흡입시에 크게 변화하였다. 즉 인삼추출액섭취시(4025 \pm 285)가 네조군(3114 \pm 312)보다 증가하였다. 반면에 사염화탄소흡입시(2240 \pm 260과 2450 \pm 290)에는 약간 감소하였다.

취장조직에서는 별로 큰 변화를 보이고 있지 않다. 요약하면 사염화탄소 흡입시에는 간조직이 제일 민감하게

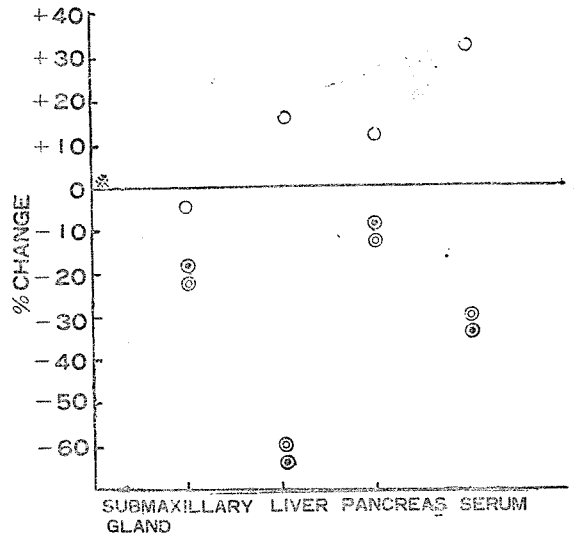


Fig. 2. The effects of CCl₄ inhalation and Ginseng-extract administration on the amylase activities of submaxillary gland, liver, pancreas and serum in rats (* horizontal line represents the value of control group)

변화하며, 본 실험에서 섭취시킨 인삼추출액량이 이런 사염화탄소에 의한 손상에 대해 해독력 내지는 예방력을 갖고 있지 못하다.

[III] Acid and Alkaline Phosphatase에 활성에 미치는 영향

사염화탄소흡입과 인삼추출액섭취시의 백서의 혈청, 간조직, 취장조직 및 악하선의 acid phosphatase와 alkaline phosphatase의 활성 측정비교 결과는 Table III와 Fig. 3에서 보는바와 같다.

Acid phosphatase 활성의 변화는 악하선과 간조직에서만 나타났다. 즉 사염화탄소흡입시에 악하선(3.1 \pm 0.3)과 간조직(0.3 \pm 0.1과 1.3 \pm 0.3)에서 각 개의 네조군(5.4 \pm 1.3과 3.1 \pm 0.6)보다 모두 감소했다. Alkaline phosphatase의 활성은 취장조직과 혈청에서 사염화탄소흡입시에 증가하였다. 즉 취장(14.8 \pm 4.6과 16.4

Table III. The effects of CCl₄ inhalation and Ginseng-extract administration on the acid and alkaline phosphatase activities of submaxillary gland, liver, pancreas and serum in rats (each value is mean mg. of liberated phosphorus \pm standard deviation/100mg. protein or 100ml. serum)

	SUBMAXILLARY GLAND		LIVER		PANCREAS		SERUM	
	acid	alkaline	acid	alkaline	acid	alkaline	acid	alkaline
Group I ** ***	5.4 \pm 1.3	3.6 \pm 0.9	3.1 \pm 0.6	3.2 \pm 0.7	4.0 \pm 1.5	2.0 \pm 0.6	3.2 \pm 1.3	5.0 \pm 2.1
II (5)	5.9 \pm 1.6	5.4 \pm 2.7	4.8 \pm 0.9	3.1 \pm 0.4	2.1 \pm 0.5	3.1 \pm 1.8	4.5 \pm 1.5	4.5 \pm 1.4
III (5)	*3.1 \pm 0.3	4.6 \pm 2.8	*0.3 \pm 0.1	2.0 \pm 1.1	8.3 \pm 4.6	14.8 \pm 6.6	5.7 \pm 2.9	17.8 \pm 8.5
IV (5)	6.1 \pm 2.9	6.0 \pm 3.6	*1.3 \pm 0.3	5.6 \pm 4.9	1.8 \pm 1.1	16.3 \pm 7.3	4.8 \pm 3.6	9.4 \pm 4.8

*, **, *** are same as Table I

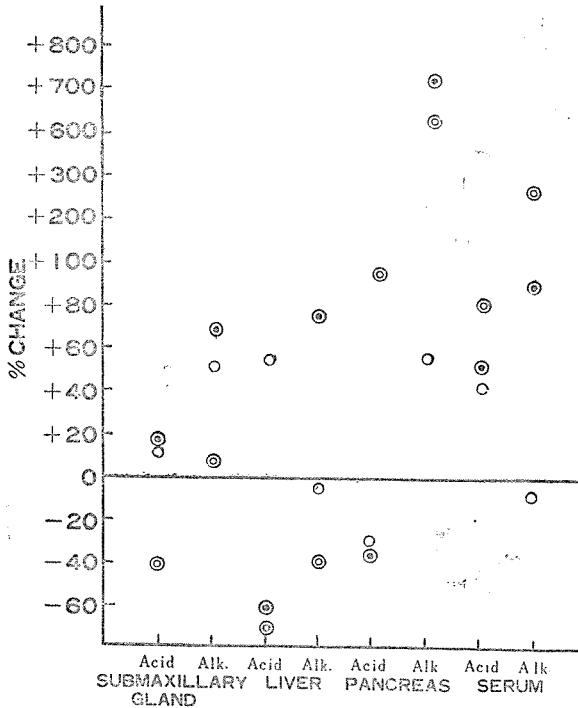


Fig. 3 The effects of CCl_4 inhalation and Ginseng-extract administration on the acid and alkaline phosphatase activities of submaxillary gland, liver, pancreas and sera in rats (* horizontal line represents the value of control group)

± 5.3)과 혈청(17.8 ± 3.5)의 alkaline phosphatase 활성이 각 대조군(2.0 ± 0.6 과 5.0 ± 2.1)보다 많이 증가되었다. 인삼추출액섭취에 의한 활성변화는 뚜렷하지 않았다.

IV. 고 찰

동식물을 막론하고 생체조직에 기계적, 물리적 화학적 그리고 생물학적 손상이 가해지면 손상된 조직에서 퇴행성 변화가 일어나고 또한 동시에 보상성 재생 과정이 일어난다.

특히 모든 물질대사의 중추조직이며 주요물질들의 분해 및 합성의 주창기인 간조직이 사염화탄소 중독에 의해 손상을 받는다는 것도 주지의 사실이다.

이러한 손상, 즉 사염화탄소중독이 간조직이외의 다른 장기에도 손상을 줄 수가 있는 것은 당연하다 하겠다. 그 중에서 타액선에 대해 손상을 주는지의 여부는 아직 보고된 바 없으므로 타액선의 하나인 악하선의 여러 효소의 활성도를 사염화탄소흡입시에 검색하였으며 다른 조직 즉 위장 및 간조직과 혈청등의 효소활성도와 검색비교하였다. 또한 지금까지 화학적 구성 성분과 그

의 효능에 대해 아직 세밀히 구명되지는 않았으나 인삼이 손상에 대해 어떤 효능의 여부를 규명하기 위해 백서에 인삼추출액을 섭취시켜 관찰하였다.

사염화탄소에 의해 중독된 간조직의 생화학적 및 조직학적 관찰은 많이 행하여져 왔다. 즉 간조직내의 사염화탄소 농도가 최고에 달하는 1시간 30분 이내에 triglyceride의 농도도 역시 최고에 달한다고 보고한 바 있다¹⁵⁾. 그리고 간세포의 형태학적 변화는 endoplasmic membrane의 종창과 이에 따른 파괴가 가장 빠르게 일어난다¹⁶⁾ 사염화탄소중독에 의한 간 손상시에 혈청내의 glutamic-oxaloacetic transaminase와 glutamic-pyruvic transaminase의 활성을 관찰하여¹⁷⁾ 본 결과 혈청내의 transaminase가 중독 후 48시간만에 급격히 상승하여 1주일 후 정상으로 회복되었다. 또한 branched chain amino acid transferase활성도에 대해서도 비슷한 보고를 하였다¹⁸⁾. 이들은 간조직 손상으로 말미암아 혈액내로 효소가 유출되므로 혈청내의 활성도가 증가된다고 하였다.

그러나 이와 상반된 견해로서 세포의 변동으로 인해 세포에서 효소가 유출된다는 보고도 있다^{19,20)}. 사염화탄소중독 후에 간조직효소는 투과율이 각각 다르고 효소의 분비시간도 세포파괴 후 세포의 위치에 따라 다르다고 하였다. 즉 cytoplasm 혹은 각 특징적인 분획, 손상의 심도, 용해도의 차이 및 분자량의 차이등에 의해 다르다고 하였다.

Tricarboxylic acid (TCA)의 중간 대사도 중독 후 15시간 이내 역제가 일어난다¹⁹⁾. 사염화탄소중독후 간장 취장 혈청에서 amylase의 활성이 현저히 감소된다²¹⁾.

그러나 타액선에 관한 보고는 거의 찾아 볼 수 없다. 본 실험에서 사염화탄소중독시 타액선, 간장조직 및 혈청에서 amylase 활성이 감소되었음은 일치하나 취장만이 큰 감소가 있지 않음은 주의할만하며 상반된다. 백서의 치아상아질은 사염화탄소중독에 의해 hypomineralized band와 상아세관의 증창을 일으켰으나 범람질에서는 현저한 변화를 볼 수 없다²²⁾.

본 실험의 결과로서 사염화탄소흡입에 의해 악하선의 amylase 뿐 아니라 acid phosphatase와 active acid ribonuclease의 활성도 역시 감소하였음은 큰 의의가 있다 하겠다. 사염화탄소는 non-polar solvent로서 간세포 mitochondria의 막과 cristae mitochondria의 지질, 지질인 및 단백질의 단분자층을 용해하여 이들 세포구조 자체의 물리화학적 상태에 직접적으로 변형을 일으킨다고 추론한바²³⁾ 있는데 타액선에서도 유사한 기전으로 손상이 일어난다고 사료된다.

그러나 이러한 타액선 내의 효소의 감소는 선자체의

세포막의 퇴행성 변화 혹은 세포내의 구성 성분의 피사로 인한 선효소들의 유출에 기인 된다고 추측할수도 있다.

본 실험에서의 또한 큰 성과는 약하선의 RNase와 RNase inhibitor의 존재를 확인한 것이다. 아직 이들 inhibitor의 생물학적인 기능은 잘 알려지지 않고 있다. 의분비선인 췌장과 같은 선에서는 최소한 일종의 RNase가 합성되고 소화효소로서 배설되고 있다. 타액선도 RNase의 활성을 갖고 있으며²⁴⁾, 분비관내에서도 존재를 확인하였으며²⁵⁾ 백서의 이하선 균등액과 타액에서도 존재를 인정하였다²⁶⁾.

RNase의 cytoplasmic inhibitor는 많은 포유동물조직에서 발견되었음을 보고하고 있다^{27, 28)}. 이와 같은 inhibitor의 존재는 1) SH-group reactants 즉 Pb⁺⁺ ions, p-chloromercuribenzenesulfonic acid, arsenobenzene과 iodoacetate.

2) 24시간동안 0°C에서 0.25N H₂SO₄와의 작용

3) 65°C이상 온도

4) potassium periodate로 산화 등으로 inhibitor의 작용을 억제하여 RNase활성의 증가를 검색함으로써 알 수 있다. 이런 방법으로 관찰한 바 백서 이하선 균등액이 pH 5.6~8.0 사이에서 RNase inhibitor의 활성을 띄고 있다고 하였으며 타액에서는 검출되지 않는다고 하였다.

다른 조직에서와 같이 백서타액선의 RNase inhibitor의 기능은 잘 알려지지 않았으나 lysosomal 혹은 cytoplasmic RNase로부터 cell organelles와 구성 성분을 보호한다고 추측되어 왔으며^{12,29,30)} 혹은 RNA 대사의 조절에 중요한 역할을 한다고 보고한바 있다³¹⁾.

Table I과 Fig. 1에서 보는바와 같이 약하선의 alkaline total RNase와 alkaline active RNase를 비교해 보면 약하선 내의 RNase inhibitor의 존재를 알 수 있다.

인삼의 화학적 구성 성분 연구에 관하여는 몇 가지 구명된바 있으나^{32,33,34,35)} 아직도 효능과 가치를 대표할만한 약리작용이 구명되지 않고 있다. 사염화 탄소에 의한 간장 조직의 핵산과 비타민등의 대사 장애를 인삼이 방어할 수 있다고 보고한 바도 있다. ^{36,37,38)}.

본 실험에서 사염화탄소중독에 대한 인삼의 방어적 효과를 관찰하였으나 만족할 만한 결과는 얻지 못했다. 즉 인삼추출액 섭취군에서 혈청 amylase의 활성만 약간 상승하였을 뿐 다른 조직의 또는 다른 효소들의 변동이 크지 않았다.

본 실험에서의 phosphatase 활성검색결과 모든 군의 조직이나 혈청에서 각기 활성도의 변화 범위가 무척 넓은 상태였다.

V. 결 론

백서에 있어서 사염화탄소흡입과 인삼추출액섭취시에 타액선, 간, 췌장 및 혈청의 RNase, amylase, acid phosphatase 및 alkaline phosphatase의 각 활성도를 검색비교 관찰한 실험결과는 다음과 같았다.

1. 사염화탄소흡입시에 약하선의 amylase, active alkaline ribonuclease, acid phosphatase의 활성이 약간 감소하였다.
2. 간조직의 amylase, active alkaline ribonuclease의 활성은 사염화탄소 흡입에 의해 감소하였다.
3. 췌장 조직의 효소들은 인삼투여 혹은 사염화탄소흡입에 의한 큰변동을 보이지 않았다.
4. 사염화탄소흡입시의 혈청의 active alkaline ribonuclease와 amylase는 급격히 증가하는 반면 alkaline phosphatase는 감소하였다.
5. 인삼추출액섭취한 군에서는 혈청 amylase 활성 증가를 제외하고 다른 변화를 볼수 없었다.

—Acknowledgement—

본논문을 완성함에 있어서 지도 편달을 아끼지 않은 조희원 교수와 교정과 교실원 및 경태영교수 그리고 생화학 교실원에게 감사드린다.

VI. 참고 문헌

- 1) Hogeboom, G. H. ; J. Biol. Chem. 177; 847, 1950
- 2) Hogeboom, G. H. : Cytochemical studies of mammalian tissues III. Isocitric dehydrogenase and triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase of mouse liver. Ibid, 186:417, 1950
- 3) Roth, J. S. : Ribonuclease VIII. Studies on the inactive ribonuclease in the supernatant fraction of rat liver. J. Biol. Chem. 231 : 1097, 1958
- 4) Jones. W. : Amer. J. Physiol., 52 : 203, 1920
- 5) Kunitz, M. : J. Gen. Physiol., 24 : 15, 1940
- 6) Khorana, H. O. : The enzymes(2nd edition) 1961, vol. 5, p.79 (Booyer P. D., Lardy H. and Nyrvack K. Eds) New York Academic Press.
- 7) Anfinsen, C. B. and White, F. H. : Ibid. vol. 5, p 96. 1961
- 8) Rabinowitch, M and Dohi, S. R. : Characteristics of rat and guinea pig serum ribonuclease.

- Arch. Biochem. Biophys. 70 : 239, 1955
- 9) Zykto, J., De Lamirande, G., Allard, C. and Cantero, A. : Ribonuclease of rat liver I. Partial purification and properties. Biochem. Biophys. Acta 27 : 495, 1958,
 - 10) Kaplan, H. S. and Heppel, L. A. : Purification and properties of spleen ribonuclease. J. Biol. Chem. 222 : 907, 1956.
 - 11) Tsukada, K. : Biochem. J. 186 : 21, 1969
 - 12) Roth, J. S. : Ribonuclease III. Ribonuclease activity in rat liver and kidney. J. Biol. Chem. 208 : 181, 1954.
 - 13) Bernfeld, P. : in sp. Colowick and N. O. Kaplan : Method in Enzymology vol.1 p 149 Academic press 1935
 - 14) Bodansky, O. : J. Biol. Chem. 99 : 197, 1932
 - 15) Recknagel, R. O. and Litteria, M. : Amer. J. Pathol. 36 : 521, 1960
 - 16) Bassi, M. : Exp. Cell Research 20: 313, 1960
 - 17) Molander, D., Wroblewski, F. and La Kue, J. S. : Serum glutamic oxalacetic transaminase as an index of hepatocellular integrity. J. Lab. Clin. Med. 46 : 831, 1955.
 - 18) 이응주: Effects of carbontetrachloride administration on the branched-chain amino acid aminotransferase activity in rat liver. 한국생화학회지 3 : 47, 1970,
 - 19) Strecker, R. L. Spencer, J. A., Wolfson, S. K. and Williams Ashman, H. G. : J. Lab. Clin. Med. 52 : 1706, 1956.
 - 20) Zelman, S., Wang, Oh. and Appelhanz, T. C. : Am. J. Med. Sci. 237:333, 1959
 - 21) McGeachin, R.L. and Potler, B.A. : Amylase in isolated liver cell, J. Biol. Chem. 235 : 1354, 1960
 - 22) Hales, E., Björlin, G. and Jacobsen, K. : J. Dent. Res. 50 : 716, 1971
 - 23) Ledue, R.H. and Wilson, J.W. : Amer. Med. Asso. Arch. Pathol. 65 : 147, 1958
 - 24) Eichel, H.J., Conger, N., and Chernick, W. S. : Arch. Biochem. Biophys. 107: 197, 1964.
 - 25) Schramm, M., in L. M. Sreedny and J. Meyer (editors.), Salivary glands and their secretion, The McMillian Co., New York., 1964, p. 315.
 - 26) Robinovitch, M. R., Sreebny, L. M. and Smuckler, E. A. : Ribonuclease and ribonuclease inhibitor of the rat parotid gland and its secretion J. Biol. Chem. 243 : 3441, 1968
 - 27) Roth, J.S. : Ribonuclease V. Studies on the properties and distribution of ribonuclease inhibitor in the rat. Biochem. Biophys. Acta 21 : 34, 1956.
 - 28) Shorman K. : Studies on cellular inhibitors of ribonuclease II. Some properties of the inhibitor from rat liver. Biochem. Biophys. Acta 55 : 88, 1962
 - 29) Roth, J.S. : Ribonuclease VIII. Studies on the inactive ribonuclease in the supernatant fraction of rat liver. J. Biol. Chem. 231 : 1097, 1958.
 - 30) De Lamirande, G., Allard, C., Da Costa, H. C. and Cantero, A. : Intracellular distribution of acid and alkaline ribonuclease in normal rat liver. Science 119 : 351, 1954.
 - 31) Imrie, R.C., and Hutchinson, W.C. : Changes in the activity of rat adrenal ribonuclease and ribonuclease inhibitor after administration of corticotropin Biochem. Biophys. Acta. 190 : 106, 1965.
 - 32) 朝比奈泰彦, 田中文太 : 人蔘の成分に付て 藥學雜誌 No. 292: 549. 1936
 33. 近藤平三郎, 中申儀一 : 朝鮮人蔘の成分報告 藥學雜誌 No. 401: 779. 1915.
 - 34) 임정규 : 人蔘 各 fraction 이 histamine, serotonin 遊離에 미치는 影響, 서울醫大雜誌 4(1): 1963.
 - 35) 김태봉, 한상현, 이근배, 이희성, 김자권 : 인삼의 유효 성분에 관한 생화학적연구 (II) 인삼의 유효 성분의 정량, 한국생화학회지 3(6). 35. 1970.
 - 36) 안제용, 성낙응, 남궁은, 권영소 : CCl₄를 투여한 가토에 있어서 인삼추출물이 지질 대사에 미치는 영향 중양의학 14(5) 417, 1968.
 - 37) 이기녕, 김한섭, 전형원, 안형진, 최영조: Alterations in the nucleic acid content and RNase activity in the course of germination of Co-irradiated soybeans 한국생화학회지 2(1). 19. 1969.
 - 38) 이우주, 장운섭, 이세규 : 人蔘의 histamine 遊離作用에 관한 研究, 최신의학 3. 137. 1960.