

알콜과 스트레스가 Cytochrome P450 발현에 미치는 영향에 관한 면역학적 연구

경희대학교 치과대학 구강내과학 교실

전 양 현 · 홍 정 표

목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록
- 사진부도

I. 서 론

구강 점막은 다양한 인자에 의해 영향을 받는 조직으로써, 헤르페스성 구내염(herpetic stomatitis), 아프타성 구내염(aphthous stomatitis) 및 구강암 등 원인이 불분명한 병소가 다발하는 조직이다. 또한 술, 담배 및 스트레스 등은 불분명한 발생기전에 의해 상기 질환들을 유발시킨다고 알려져 있다.

주로 ADH(alcohol dehydrogenase)의 경로를 통해 대사되며 기타 MEOS(microsomal ethanol oxidizing system)과 catalase 경로를 통해서 대사되는^{1,2,3)} 알콜(ethyl alcohol)은 인체에서 중추 신경계뿐만 아니라 순환기계나 간장, 위장등의 소화기계에도 영향을 미치고, 이노작용과 약물 작용도 가지고 있으며, 특히 구강 점막에도 영향

을 미치는 것으로 알려져 있다⁴⁾.

또한 외부로부터의 모든 요구에 대한 생체의 비특이적 반응으로 정의되는 스트레스는 생체에 반응하여 놀람기(alarm), 저항기(resistance) 및 탈진기(exhaustion)를 거치게 되며⁵⁾, 생리적으로 자율신경계, 홀몬 또는 내분비계 및 면역계 등에 영향을 미치게 된다⁶⁾. 따라서 스트레스는 면역을 약화시키기도 하고^{7,8,9)}, 구강내의 다양한 병소를 유발시키기도 한다¹⁰⁾.

동물과 식물 조직에 존재하며 전자전달에 관여하는 철단백질인 Cytochrome¹¹⁾은 주로 소포체에서는 히드록시화 반응에 관여한다. 특히 간장 미소체의 20%를 차지하는 Cytochrome P450은 지방산, prostaglandin 및 steroid와 같은 내인성 물질의 대사에 관여할 뿐만 아니라, 약물이나 발암물질 및 주변의 화합물질과 같은 다양한 외부 물질에 대한 일차 대사과정에도 관여하는 산화제이다¹²⁾.

Cytochrome P450 IIE은 1982년에 Koop등¹³⁾에 의해 순수 분리되었고 기질의 특이성과 유도 대사과정에 대해서도 이미 밝혀진 바 있는데¹⁴⁾ 이중 Cytochrome P450 IIE1(CYP2E1)은 내인성 화합물과 acetone, ether, CCl₄, benzen, pyrazole 및 pyridine과 같은 외인성 화합물^{15,16,17,18,19)}, 그리고 nitrosamine과 같은 수용성 발암물질의 대사과정에 중요한 역할을 하며^{20,21,22)}, 특히 알콜 섭취시에는 암 발생을 높이고²³⁾, 간독성을 증가

시키는 것²⁴⁾으로 알려져 있어, 질병의 원인이나 진행과정을 추적하는데 중요한 인식자로 사용되어지고 있다²⁵⁾.

또한 Cytochrome P450 대사에 관여하며^{26,27)}, 강력한 환원제로서 열과 공기에는 약하지만 산성으로부터 보호되는 비타민 C(ascorbic acid)는 생체내에서 조직에 해로운 영향을 미치는 산소유리기의 청소부로서 작용하며 스트레스를 받게 되면 혈장 내에서 감소되는 것이 관찰되었다^{28,29,30)}. 따라서 비타민 C는 생체내에 많은 산소유리기를 생산하게되는 스트레스나 알콜섭취에 대한 중요 길항자로서 작용하리라고 생각되는데, 이는 일반적으로 모든 식물과 대부분의 동물에서 자체 생산되거나 사람이나 해명(guinea pig), 원숭이 등에서는 자체 생산되지 못하기 때문에³¹⁾ 비타민 C의 기능을 관찰하기 위한 실험이나 결핍상태를 유도하기 위해서는 해명을 실험동물로 많이 사용하고 있다.

이에 저자는 선학들의 연구에 기초하여 구강 점막에 다양한 병소를 나타내게하는 알콜과 스트레스를 부여하여 이들이 구강내 병소 발현과 상호관련성이 있는지의 여부를 관찰하기 위하여, 알콜대사시 유도되며, 발암전구물질을 활성화시키는 것으로 알려진 Cytochrome P450이 해명의 간장과 구강 협점막에서 발현되는지의 여부와 그 발현 상황을 면역학적으로 비교 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1) 실험재료

실험동물로는 생후 6주된 웅성 해명(guinea pig) 48마리를 사용하였으며, 전군의 실험동물에는 비타민 C가 함유되지 않은 고품사료를 주며 비타민 C 결핍상태를 만들었고, 알콜 투여군과 스트레스 부여군으로 각각 16마리씩 배정하여 실험하였다. 알콜 투여군에는 물대신 알콜 15% (v/v)을 실험 전기간에 걸쳐 음료시켰으며, 스트레스 부여군은 역시 실험 전기간 동안 0°C 냉수

에 일일 연속 30초간 잠수시켜 한냉 스트레스를 부여하였다.

2) 실험방법

실험동물은 각군 공히 4마리씩 실험후 1주, 2주, 3주, 4주에 각각 희생시켜 간장과 구강 협점막을 적출하였으며, 적출된 간장은 적출후 즉시 -70°C에 냉동보관하여 미국 NIH(국립보건연구원), NIAAA(알콜남용, 알콜중독자 연구소)에서 면역전기영동을 실시하였고, 구강 협점막은 10% 중성 formalin에 고정한 후 통법에 의하여 면역형광검사를 실시하였다.

가) 면역전기영동법

간 조직은 Western blot에 의한 면역전기영동법을 사용하여 전기영동후 흡착지에 옮겨서 항체와 결합시킨 후 Cytochrome P450의 유무를 확인하였으며 sodium dodecylsulfate(SDS)-전기영동 겔(separating gel 45ml, stocking gel 10ml), 겔 부하 완충액(1M tris 5ml, 1M dithiothreitol 10ml, 20% SDS 10ml, bromphenol blue 0.1%, glycerol 10ml, 및 deionized water 15ml) 50ml, 전기영동 완충액(tris 15g, glycine 94g, 20% SDS 25ml, 및 deionized water, pH8.3) 1000ml, 전기이동 완충액(tris 9.45g, glycine 43.2g, methanol 600ml, 및 deionized water, pH8.3) 3,000ml, tris buffered saline(TBS, tris 120g, NaCl 300g, 및 deionized water, pH7.5) 1,000ml, tris tween buffered saline(TTBS, tris 12g, NaCl 30g, tween-20 0.5ml, 및 deionized water, pH7.5) 1,000ml, 기타 차단용액(3% gelatin in TBS), 항체 완충액(1% gelatin in TTBS) 및 발색용액(hydrogen peroxide, diaminobenzidine) 등의 시약을 사용하였다.

나) 면역형광검사법

구강 협점막 조직은 6 μ m 두께로 냉동절편후 ProbeOn™ slide(FisherBiotech^R)에서 건조시킨 다음 탈파라핀과정을 거쳐서 PBS(phosphate buffered saline, 0.01M, pH7.4)로 10분씩 3회 수

세하였고, 일차 항체(Cytochrome P450 IIE1, PBS희석 1:250)로 실내온도에서 4시간 동안 부란(incubate)하였으며, PBS로 10분씩 3회 세척한 후 다시 이차 항체(fluorescesin isothiocyanate-conjugated Goat anti-rabbit IgG, PBS희석 1:50, Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.)로 실내온도의 암실에서 30분 동안 부란하였고, PBS로 10분씩 3회 세척하였으며, 90% glycerol의 universal mount(CRYSTAL/MOUNT™, Biomedica Corp.)로 봉입하여 면역형광현미경(Immunofluorescence microscope)으로 관찰하였다.

III. 실험성적

1) 면역전기영동성적

간 조직에 대한 면역전기영동에서 알콜 투여군과 스트레스 부여군에서는 대조군에 비해 각각 Cytochrome P450 IIB(CYP2B), Cytochrome P450 IIE(CYP2E), Cytochrome P450 IA2(CYP1A2) 및 NADPH-P450 reductase가 관찰되었으며 실험 3주후에 가장 뚜렷하였다.

2) 면역형광검사성적

기저층, 유극세포층, 중간세포층 및 표면세포층으로 구분된 비각화상피상을 보이며 대체로 평탄한 상피와 고유층 경계를 지니고 고유층은 불규칙하며 적은 양의 교원섬유가 관찰되는 소견을 보이는 구강 협점막에 대한 면역형광검사에서 Cytochrome P450 IIE1의 항체에 염색되는 소견이 전군에서 관찰되지 않아 음성반응을 보였다.

IV. 총괄 및 고안

알콜(ethyl alcohol)의 어원은 고대 동양여인의 눈 화장품인 안티모니 가루를 일컫는 아랍어 [al-kohl]로써 모든 정제된 가루나 고도로 정제된 용액을 의미하다가 발효주, 곡물주 및 증류주가 개발되면서 인간과 더욱 밀접하게 되었다⁴⁾.

알콜과 인간과의 관계는 최초로 창세기에서 언급된 이래³²⁾, 그리이스 로마신화(Dionysus,

Bacchus)에서뿐만 아니라 우리나라에서도 단군 신화, 삼국사기 동명성왕 건국담 및 위지동이전 등에서 쉽게 찾아볼 수 있다³³⁾.

알콜은 인체에서 모든 중추신경계를 억제시키고, 말초피부혈관을 확장시켜 안면홍조와 피부 온화감을 느끼게 하며 간장의 지방합성을 증가시켜 지방간을 만들기도 한다. 또한 알콜은 함량에 따라서도 상이한 결과를 나타내는데, 10% 정도의 알콜은 위산분비를 촉진시키나 20%에서는 억제시키며, 그 이상의 농도에서는 위점막을 손상시켜 점막울혈 및 염증을 동반한 위산의 역확산을 초래하기도 한다. 이 밖에도 신장 세뇨관에서는 수분 재흡수가 저하되어 이뇨효과가 나타나며, 중추신경계에 작용하는 각종 향정신성 약물, 항 경련제, 수면진정제, 아편계 진통제 등과 병용시 그 효과가 상승되기도 한다⁴⁾.

알콜의 독성은 ethanol 자체에 의한 효과, acetaldehyde에 의한 효과 및 세포내 NAD/NADH 비율의 변화에 의한 2차적 효과가 있다.

ethanol은 세포막을 쉽게 통과할 뿐만 아니라, 세포막의 인지질과 지방산을 변형시키고, phospholipase C의 활성을 촉진시키며, Ca²⁺ 및 Cl 통로에 영향을 미치고, cAMP를 비롯한 세포의 신호전달체계와 신경전도 물질등의 방출에도 영향을 준다^{34,35)}. 그러나 대사적 측면에서 볼 때, 알콜이 세포에 미치는 효과는 ethanol 자체에 의해서 보다는 acetaldehyde 또는 NAD/NADH의 세포내 비율이 변화되어 초래되는 것이 더 크다.

ADH(alcohol dehydrogenase)와 MEOS(microsomal ethanol oxidizing system)에 의해서 생성된 acetaldehyde는 독성이 강한 물질로서, 인지질, 아미노산 잔기 및 sulfhydryl group 등과 결합하여 세포막 단백질의 탈중합반응을 초래하며, 세포막 표면의 항원을 변화시킬 수도 있다³⁶⁾. 또한 tubulin과 결합함으로써 미세소관의 기능 장애를 일으켜 간에서 합성된 당단백과 albumin의 분비를 방해하는데, 이 결과로 간세포에 삼투압이 상승되어 간종대의 주요 요인이 되기도 한다³⁷⁾. acetaldehyde는 serotonin, dopamine, noradrenaline 등과도 반응하여 활성화된 물질을 증가시키며, Ito cell로부터 procollagen type I과

fibronectin을 왕성하게 합성하게 하여 간섬유화를 초래시킬 수 있다³⁸⁾.

세포내 NAD/NADH 비율은 정상적으로 약 1,000을 유지하고 있으나, ethanol의 산화는 그 비율을 1/10 이상으로 감소시켜, 결과적으로는 세포내 젖산 함량을 증가시키고 대사성 산증을 유발하며, porphobilinogen 합성을 증가시키고, 구연산 회로의 효소계의 활성을 저하시키며, glycerol 3 phosphate 생성을 증가시키고, pyruvate carboxylase 활성을 저하시키며, testosterone의 생합성과 estrogen의 대사처리를 억제시킨다^{39,40)}.

알코올의 대사는 주로 ADH 경로를 통해서 80-85%가 이루어지는데³⁹⁾ 초기에는 ADH 경로에 의해서만 대사된다고 생각하였으나⁴¹⁾, 점차 비 ADH 경로도 알려지게 되었다⁴²⁾. 비 ADH 경로에는 MEOS와 catalase 경로가 있는데, 혈중 알콜농도(blood alcohol concentration: BAC)가 70mM 이상일 때는 Cytochrome P450이 포함된 MEOS에 의해서 알코올이 대사되며⁴³⁾, 이 세 가지 경로 모두에서 NAD(nicotinamide adenine dinucleotide)는 필수적으로 작용하는 것으로 알려져 있다.

스트레스(stress)는 외부로부터의 모든 요구에 대한 생체의 비특이적 반응으로, 스트레스원(stressor)은 어떤 경우에도 스트레스를 일으킬 수 있는 것으로 정의되는데⁴⁴⁾, 일반적으로 스트레스를 받게되면 생체는 놀람기(alarm), 저항기(resistance) 및 탈진기(exhaustion)를 거치게 되며, 이것을 일반적 적응 증후군(general adaptation system: GAS)이라고 한다⁵⁾.

스트레스는 생리적으로 자율신경계, 홀몬 또는 내분비계 및 면역계 등에 영향을 미치게 되는데⁶⁾, 갑자기 닥친 심한 스트레스가 정신기능에 장애를 일으키면 해리장애(dissociative disorders)가 일어나고, 운동신경기능에 장애를 일으키면 전환장애(conversion disorders)가 일어나며, 자율신경이나 말초신경에 장애를 일으키면 심신장애(psychosomatic disorders)를 초래하게 된다⁴⁵⁾.

현재 중추신경계에서 신경전달물질이라고 확

실시되고 있는 물질들 중에서, 스트레스 부여시 관찰되는 화학물질로는 구속 스트레스를 부여했을 때 증가되는 noradrenaline⁴⁶⁾, 경골(tibia)과 비골(fibula)에 골절을 일으킨 후에 증가되는 ACTH⁴⁷⁾, 급성 스트레스와 만성 스트레스를 교대로 부여했을 때와 항 우울약 투여시에 증가되는 adrenaline⁴⁸⁾, 구속 스트레스시에 증가되는 acetylcholine⁴⁹⁾과 GABA⁵⁰⁾, 급성 스트레스시에 증가되는 substance P⁵¹⁾, 전기충격 스트레스시의 opioid⁵²⁾, 한냉 스트레스시의 갑상선자극호르몬 방출인자(TRH)⁵³⁾ 등이 보고된 바 있다.

스트레스의 인지과정은 신경내분비계(neuroendocrine system)의 조절로 생리적 및 정서적 반응을 나타낸다⁵⁴⁾. 즉, 인체의 비 특이적 반응인 교감신경성 부신수질계(sympathetic adrenal-medullary system: SAM system)와 뇌하수체성 부신피질계(pituitary adrenal-cortical system: PAC system)를 중계하여 나타나는 것이다^{55,56)}.

교감신경성 부신수질계는 육체적 또는 정신적 노력과 정서적 자극에 의해서 epinephrine, norepinephrine 및 catecholamines을 유리시키며^{57,58,59,60)}, 뇌하수체성 부신피질계는 고뇌, 분노, 우울 및 무절제 등에 의해서 corticosteroid와 cortisol^{61,62,63,64,65)}을 분비시키게 된다.

교감신경성 스트레스반응은 부신수질 추출물을 생체에 주사하였을 경우에도 동일하게 나타나며⁶⁶⁾, 그 증상으로는 관상동맥 확장, 근육수축, 수의근의 혈관확장, 위장계의 혈관수축 등이 있다⁶⁷⁾.

일반적으로 심리적 스트레스에서는 혈장 norepinephrine 보다는 epinephrine 분비량이 증가되고^{68,69,70,71)}, 물리적 스트레스에서는 혈장 norepinephrine이 더 증가된다고 보고되어 있으나^{72,73,74)}, 이와 같지 않은 경우가 관찰되기도 한다^{75,76)}.

사람이나 실험동물에게 짧은 한냉 스트레스를 계속적으로 부여하면 생체내에서는 열을 발생시키는 유일한 사립체 단백질인 brown adipose tissue(BAT)가 분비되어 교감신경계에 전달됨으로써 발열과 떨림의 현상은 없어지게 된다^{77,78,79)}.

한냉 스트레스를 흰쥐에게 부여했을 때에는

혈장 norepinephrine 수치가 증가되었고⁸⁰⁾ 개의 경우에는는 혈장 17-hydroxycorticoid와 norepinephrine의 양이 증가되었으며⁸¹⁾, 흰쥐의 뇨중 catecholamine의 분비량도 변화되었다⁷⁵⁾.

사람에게서 손을 냉수에 넣는 한냉 스트레스를 부여한 경우에는 혈중 β -endorphin, cortisol, prolactin, growth hormone(GH)과 opioid 작용의 변화가 나타났다⁸²⁾. 한냉 부여 초기에는 남자의 경우 혈압이 상승되었고 맥박은 늦어졌으며, 피부 온도는 남녀 모두에서 하강되었으나, 후기에는 여자에서 피부 온도가 현저히 저하되었고 남녀 모두에서 β -endorphine, ACTH, cortisol, 및 GH가 상승하였으나 여자에서 더욱 현저하였는데⁸³⁾, 한냉 환경하에서의 이와 같은 피부 온도 변화 등의 현상은 혈장 norepinephrine의 농도 상승과 깊은 관계가 있는 것으로 알려져 있다⁸⁴⁾.

이에 대해 Calabrese 등⁷⁾은 스트레스, 별거 및 우울은 면역학적 기능을 취약하게 한다는 명백한 증거를 보고하였고, Kiecolt-Glaser 등⁸⁾은 고독, 스트레스, 뇨중 cortisol치 및 면역기능과의 상호관계에 대해서 언급하였으며, Kiecolt-Glaser 등⁹⁾은 일상적으로 일어나는 스트레스에 의해서도 면역기능의 저하가 초래된다고 보고한 바 있다.

스트레스와 구강질환과의 관계는 최근에 발표된 홍과 전¹⁰⁾의 연구에서 잘 나타나 있는데 스트레스는 이제 더 이상 형이상학적 차원이 아니라 구체적인 가지적인 증상과 징후를 동반하며, 이러한 증상과 징후는 특히 정동 스트레스(emotional stress)시에 구강에서도 다양하게 나타난다고 하였다.

구체적으로 스트레스가 주원인인 병소로는 편평태선(lichen planus)과 아프타 구내염(aphthous stomatitis)이 있으며^{85,86,87)}, 스트레스가 관여된 병소로는 다형홍반(erythema multiforme), 양성점막유천포창(benign mucous membrane pemphigoid) 및 지도상설(geographic tongue)이 있고^{88,89,90)}, 스트레스가 소인인 병소로는 재발성 단순포진 구내염(recurrent herpes simplex stomatitis)과 급성 괴사성 궤양성 치은염(acute necrotizing ulcerative gingivitis)이 있으며^{91,92,93)}, 스트레스성 습관인 병소로는 못물기 등에 의한

외상(physical trauma with foreign objects), 흡연에 의한 백반증(leukoplakia due to smoking), 구강조직 깨물기(biting of oral tissue) 및 이갈이(bruxism)와 이악물기(clenching)가 있고^{94,95,96)}, 스트레스성 구강 징후로는 설통(glossodynia)과 설열감(glossopyrosis), 미각변화(altered taste perception)와 미각소실(loss of taste) 또는 미각이상(foul taste) 그리고 조직변화없는 동통이나 불편감(pain or discomfort with no tissue change) 등이 있다^{97,98,99)}.

동물과 식물 조직에 존재하며 전자전달에 관여하는 철단백질인 Cytochrome¹¹⁾은 유핵세포에 존재하여 사립체에서 ATP(adenosine triphosphate) 생성과 관련된 호흡사슬의 전자전달계에 관여하는 산화-환원 운반체 단백질 역할을 하며, 특히 세포체에서는 히드록시화 반응에 관여한다. 포유동물의 전자전달계에는 7종류가 알려져 있는데, 이들은 α 흡수띠에 따라서 a, b, c로 분류하기도 한다.

간장 미소체 효소(hepatic microsomal enzyme)는 활면내형질세망(smooth surface endoplasmic reticulum)에 존재하면서 약물의 산화 반응을 비롯하여 glucuronid 포함, 일부 가수분해반응 그리고 스테로이드 호르몬과 지질 대사에 관여한다. 간장 미소체의 20%를 차지하는 환원상태의 Cytochrome P450은 450nm에서 최고의 흡광도를 나타내며, 약물과 산소의 결합부위를 제공해 준다. 따라서 일반적으로 약물의 대사 속도는 Cytochrome P450의 양 즉, Cytochrome P450과 약물의 결합능력 그리고 세포막을 통과하기 위한 약물의 지방용해도에 의해 영향을 받게 된다.

Cytochrome P450은 지방산, prostaglandin 및 steroid와 같은 내인성 물질의 대사과정과 마찬가지로 약물, 발암물질 및 주변 화합물질과 같은 다양한 외인성 물질에 대한 일차 대사과정에 관여하는 산화제이다¹²⁾. Cytochrome P450은 크게 TCDD(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)군¹⁰⁰⁾,^{101,102)}과 Phenobarbital-inducible군^{103,104)} 그리고 PCN(pregnenolone 16 α -carbonitrile)군¹⁰⁵⁾으로 분류된다.

Cytochrome P450은 간장과 뇌에 다량 존재하고 신장과 폐에서도 관찰되는데, 비간장조직에서의 기능은 아직 명확치 않으나 Cytochrome P450 유도체를 만성이나 급성으로 투약할 경우 비간장조직중에서 다량으로 관찰 된다는 보고가 있다^{106,107}.

Cytochrome P450 IIE1(CYP2E1)은 1982년 Koop 등¹³에 의해 토끼에서 최초로 균일하게 순수 분리되었고, 그 후 쥐에서도 분리되었으며^{108,109}, 토끼¹¹⁰에서 뿐만 아니라 사람과 쥐의 cDNA와 상보적인 아미노산의 배열이 송 등¹⁰⁶에 의해서 밝혀지면서 본격적으로 연구되기 시작하였다.

Cytochrome P450 IIE1은 내인성 화합물과 acetone, ether, CCl₄, benzen, pyrazole 및 pyridine과 같은 외인성 화합물^{15,16,17,18,19}에 의해서 유도되며, 이의 특이성과 유도 대사과정에 대해서도 이미 밝혀졌다¹⁴. 또한 testosterone¹¹¹이나, 항결핵 및 항나병제인 isoniazid¹¹³ 등의 투여나, 고지방식이¹¹², 기아^{114,115} 상태에서 증가되며, 실험적으로 streptozotocin으로 유도된 당뇨 쥐^{116,117}에서도 증가된다는 보고가 있다. 또한 이는 N-diethylnitrosamine과 같은 수용성 발암물질의 대사과정에도 중요한 영향을 미치는데^{20,21,22}, acetaminophen(TylenolTM)이나^{118,119} 특히 알콜 섭취시에 활성화되어 암 발생을 높여주게 된다²³. 뿐만 아니라 Cytochrome P450은 간독성을 증가시키는²⁴ 만성적인 알콜섭취시에도 뇌에서 다량 검출되는 것¹²⁰으로 보아 Cytochrome P450의 각 장기에 대한 영향과 그 효과에 대해서는 향후 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

강력한 환원제로 열과 공기에 약하고, 산성에서 보호되는 비타민 C(ascorbic acid)는 6탄화합물인 포도당의 유도체인 Lactone으로 좌성(L-) 이성체만이 활성물질로써, 주로 교원질합성, steroid 합성, 엽산변환, tyrosine의 대사 그리고 세포간질 합성에 관여하며, 암¹²¹, 류마티드 관절염, 및 골질환¹²²의 치료목적으로도 다량의 용량이 사용되기도 한다. 더우기 비타민 C는 Cytochrome P450 대사에도 중요한 역할을 하는데, 특히 ascorbic acid 결핍시에는 Cytochrome b₅

와 Cytochrome c 환원제(EC 1.6.99.3)에 영향을 미치며^{26,27}, 기질의 수산화와 탈메틸화에도 영향을 미친다^{123,124}.

혈장내 ascorbic acid는 사람과 동물에서 생화학적 스트레스나 신체이상기능시에 백혈구 감소와 함께 현저하게 감소되며^{28,29,30}, 생약 섭취에 의해 간에서 생합성이 자극되고 이와 관련된 효소의 활성화에 의해 노배출과 조직내의 농도가 뚜렷이 증가된다^{125,126,127}.

일반적으로 모든 식물과 대부분의 동물은 Cytochrome P450 분자의 Fe²⁺ 이온자리를 보호하는^{133,134} ascorbic acid를 자체 생산하지만, 사람이나 해명(guinea pig) 및 원숭이 등은 자체 생산하지 못하기 때문에³¹, 간의 약물대사와 ascorbic acid 사이의 연관성에 관한 연구는 해명(guinea pig)을 주로 사용하며, 이들을 이용하여 ascorbic acid를 결핍시킨 실험에서, 약물 대사효소의 간내 활동의 감소나 Cytochrome P450의 간내 함유량이 감소된 것을 관찰할 수 있다^{128,129,130,131,132}.

이에 본 실험에서는 비타민 C를 결핍시킨 해명을 이용하여 알콜 및 스트레스를 부여해 줌으로써 간조직 및 구강 협점막조직에서의 Cytochrome P450의 발현 유무를 관찰하기 위하여 실험한 결과, 간조직내에서는 알콜 투여군과 스트레스 부여군 모두에서 Cytochrome P450이 다량 검출되었고, 구강 협점막에서는 음성반응을 보였는데, 알콜 투여군에서 간조직에 Cytochrome P450이 발현된 것은 선학들의 연구결과와 큰 차이를 보이지 않으나 스트레스 부여군에서 비슷한 정도의 Cytochrome P450이 발현된 것은 매우 흥미로우며, 향후 그 원인과 발현기전을 구명함이 중요하리라 생각되고 구강 협점막에서 음성으로 나타난 것은 발현 정도가 매우 미미할 경우도 있으리라고 생각되어 향후 Cytochrome P450을 잘 보존하여 표현시킬 수 있는 동결표본에 의한 면역조직화학검사법이나 구강 협점막에 대한 면역전기영동법 등을 이용하여 이를 구명함이 중요하리라 생각한다.

V. 결 론

저자는 알콜과 스트레스가 간장과 구강협점막에 미치는 영향을 관찰하고자 알콜대사시 유도되며, 발암전구물질을 활성화시킨다고 알려진 Cytochrome P450을 이용하여 물대신 알콜(15%)을 투여하고 한냉(0°C) 스트레스를 부여한 해명을 각각 1, 2, 3, 4주의 기간별로 희생시켜 간장조직은 면역전기영동법으로, 구강협점막조직은 면역형광검사법으로 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 알콜 투여군과 스트레스 부여군 모두에서 간장조직으로 면역전기영동법을 실시한 결과 Cytochrome P450은 실험후 3주부터 뚜렷하게 양성으로 관찰되었다.
2. 알콜 투여군과 스트레스 부여군 모두에서 구강협점막조직으로 면역형광검사법을 실시한 결과 Cytochrome P450은 실험 전기간에서 음성으로 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. Lieber, C.S. : New pathway of ethanol metabolism in the liver. *Gastroenterology*, 59:930, 1970.
2. Ryan, D.E., Koop, D.R., Thomas, P.E., Coon, M.J. and Levin, W. : Evidence that isoniazid and ethanol induce the same microsomal cytochrome P450 in rat liver as isozyme homologous to rabbit liver cytochrome P450 isozyme 3a. *Arch. Biochem. Biophys.* 246:633-644, 1986.
3. Lasker, J.M., Raucy, J., Kubota, S., Bloswick, B.P., Black, M. and Lieber, C.S. : Purification and characterization of human liver cytochrome P450 ALC. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 148:232-238, 1987.
4. 이우주 : 약리학강의. 초판, 선일문화사, 서울, 1974, pp 208-214
5. Seley, H. : The general adaptation syndrome and the disease of adaptation. *J. Clin. Endocrinol.* 6:117, 1946.
6. Milsum, J.H. : A model of the eustress system for health/illness. *Behavioral Science*, 30:179-186, 1985.
7. Calabrese, J.R., Kling, M.A., and Gold, P.W. :

Alteration in immunocompetence during stress, bereavement and depression: Focus on neuro-endocrine regulation. *Am. J. Psychiatry*, 149(9): 1123-1134, 1987.

8. Kiecolt-Glaser, J.K., Garner, W., Speicher, C., Ricker, D., George, J., Missick, G. and Glaser, R. : Urinary cortisol levels cellular immunocompetency and Loneliness in Psychiatric Inpatients. *Psychosomatic Medicine*, 46(1):15-30, 1984a.
9. Kiecolt-Glaser, J.K., Garner, W., Speicher, C., Penn, G.M., Holliday, J. and Glaser, R. : Psychosocial modifiers of immunocompetence in medical students. *Psychosomatic Medicine*, 46(1):7-14, 1984b.
10. 홍정표, 전양현 : 스트레스와 구강질환. *대한심신스트레스학회지*, 3(1): 57-72, 1995.
11. Dorland : *Illustrated Medical Dictionary*. 25th ed., pp.403, Saunders, 1974.
12. Yun, Y.P., Casazza, J.P., Sohn, D.H., Veech, R.L. and Song, B.J. : Pretranslational activation of cytochrome P450_{III} during ketosis induced by a high fat diet. *Molecular Pharmacology*, 41:474-478, 1991.
13. Koop, D.R., Morgan, E.T., Tarr, G.E. and Coon, M.J. : Purification and characterization of a unique isozyme of cytochrome P450 from liver microsomes of ethanol-treated rabbits. *J. Biol. Chem.*, 257: 8472-8480, 1982.
14. Koop, D.R., Crump, B.L., Nordblom, G.D. and Coon, M.J. : Immunochemical evidence for induction of the alcohol-oxidizing cytochrome P450 of rabbit liver microsomes by diverse agents: ethanol, imidazole, trichloroethylene, acetone, pyrazole, and isoniazid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:4065-4069, 1985.
15. Koop, D.R. and Casazza, J.P. : Identification of ethanol-inducible P450 isozyme 3a as the acetone and acetol monooxygenase of rabbit microsomes. *J. Biol. Chem.* 260:13607-13612, 1985.
16. Lieber, C.S., and DeCarli, L.M. : Ethanol oxidation by hepatic microsomes: adaptive increase after ethanol feeding. *Science(Washington D.C.)*, 162: 917-918, 1968.
17. Johansson, I., and Ingelman-Sundburg, M. : Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation dependent on an ethanol inducible form of rabbit liver microsomal cytochrome P450. *FEBS Lett.*, 183: 265-269, 1985.

18. Johansson, I., and Ingelman-Sundburg, M. : Benzene metabolism by ethanol-, acetone-, and benzene-inducible cytochrome P450(IIE1) in rat and rabbit liver microsomes. *Cancer Res.*, 48: 5387-5390, 1988.
19. Kim, S.G., Williams, D.E., Schuetz, E.G., Guzelian, P.S. and Novak, R.F. : Pyridine induction of cytochrome P450j(alcohol-inducible form) in pyridine N-oxidation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 246:1175-1182, 1988.
20. Yang, C.S., Tu, Y.Y., Koop, D.R. and Coon, M.J. : Metabolism of nitrosamines by purified rabbit liver cytochrome P450 isozymes. *Cancer Res.* 45:1140-1145, 1985.
21. Tu, Y., and Yang, C. : Dimethylation and dinitrosation of nitrosamines by cytochrome P450 isozymes. *Arch. Biochem. Biophys.* 242:32-40, 1985.
22. Thomas, P., Bandiera, S., Maines, S., Ryan, D.E. and Levin, W. : Regulation of cytochrome P450j, a high-affinity N-nitrosodimethylamine demethylase, in rat hepatic microsomes. *Biochemistry*, 26:2280-2289, 1987.
23. Leiber, C., Garro, A., Leo, M., Mak, K.M. and Wornner, T. : Alcohol and Cancer. *Hepatology*, 6:1005-1019, 1986.
24. Seeff, L., Cuccherini, B., Zimmerman, H., Adler, E. and Levin, W. : Acetaminophen hepatotoxicity in alcoholism. *Ann. Int. Med.*, 104:399-404, 1986.
25. Buchmann, A., Wannemacher, R., Kulzer, E., Buhler, D.R. and Bock, K.W. : Immunohistochemical Localization of the Cytochrome P450 Isozymes LMC2 and LMB(P4501A1) in 2,3,7,8 - Tetrachlorodibenzo - p - dioxin Treated Zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Toxicol. App. Pharmacol.* 123:160-169, 1993.
26. Leber, H., Degkwitz, E. and Staudinger, H. : Studies on the effect of ascorbic acid on the activity and biosynthesis of mixed function oxy genases, as well as the concentration of hemoproteins in the microsome fraction of guinea pig. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 350:4 39, 1969.
27. Degkwitz, E. and Kim, K.S. : Comparative studies on the influence of L-ascorbate, D-avabino-ascorbate and 5-oxo-D-gluconate on the amounts of cytochromes P450 and b5 in liver microsomes of guinea pig. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 354: 555, 1973.
28. Rinehart, J.F., Greenberg, L.D. and Baker, F. : *Proc. Soc. Expl. Biol.*, 35:347, 1936.
29. Kakar, S.C., Wilson C.W.M. and Bell, J.N. : Plasma and leucocytely mphoblastic leukaemia. *Irish J. Med. Sci.*, 44:227, 1975.
30. Wilson, C.W.M. : Clinical pharmacological aspects of ascorbic acid. *Ann. N.T. Acad.*, 258:355, 1975.
31. Horio, F., Ozaki, K., Kohmura, M., Yoshida, A., Makino, S. and Hayashi, Y. : Ascorbic acid requirement for the induction of microsomal drug-metabolizing enzymes in a rat mutant unable to synthesize ascorbic acid. *J. Nutr.* 116:2278-2289, 1986.
32. 창세기 9장 20-26절
33. 백기청 : Psychiatric Aspect of Alcohol and Alcoholism. *Alcohol and Health*, pp.45~69, 1993.
34. Isselbacher, K.J. : Metabolic and hepatic effects of alcohol. *New Eng. J. Med.*, 296:612-615, 1977.
35. Teschke, R., Hasumura, Y. and Lieber, C.S. : Hepatic ethanol metabolism: respective roles of alcohol dehydrogenase, the microsomal ethanol oxidizing system and catalase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 175:635-643, 1976.
36. Lauterburg, B.H. and Bilzer, M. : Mechanisms of acetaldehyde hepatotoxicity. *J. Hepatol.*, 7:384, 1988.
37. Jennett, R.B., Sorrell, M.F., Saffari-Fard, A. and Okener, J.R. : Preferential covalent binding of acetaldehyde to the alpha-chain of purified rat liver tubulin. *Hepatology*. 9:57, 1989.
38. Casini, A., Cunningham, M., Rojkind, M. and Lieber, C.S. : Acetaldehyde increases procollagen type I and fibronectin gene transcription in cultured rat fat-storing cells through a protein synthesis-dependent mechanism. *Hepatology*, 13:758, 1991.
39. Goldman, D. and Ennoch, M.A. : Genetic epidemiology of ethanol metabolic enzymes: a role for selection Simopoulos AP, Childs B(ed), *World Rev. Nutr. Diet.* vol 63. pp.143-160, 1990.
40. Basel, K. and Park, S.C. : Ethanol oxidation is facilitated by augmentation of aspartate/malate shuttle with aspartate. *Kor. J. Biochem.*, 1993.
41. Berry, M.N., Fanning, D.C., Grivell, A.R. and Wallace, P.G. : Ethanol matabolism in isolated hepatocytes from fed, starved, phenobarbital, ethanol and 3-aminotriazole treated rets: Lack of evidence

- for microsomal ethanol metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, 29:2161-2168, 1980.
42. Tesche, R. and Gellert, J. : Hepatic microsomal ethanol metabolism (MEOS): Metabolic and clinical aspects. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 10:21 s-32s, 1986.
 43. Song, B.J., Soh, Y., Jeng, D., Goldman, D. and Lee, I.J. : Biochemical properties and multiple regulation of the ethanol-inducible cytochrome P450III1 subfamily. *Alcohol and Health*, pp.19-29, 1993.
 44. Selye, H. : Fourty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. *Canad. Med. Ass. J.*, 115:53-56, 1976.
 45. 김영준 : 스트레스와 정신의학, 대한신심스트레스학회지, 1(1):97-102, 1993.
 46. Tanaka, M., Kohno, Y., Nakagawa, R., Ida, Y., Takeda, S. and Nagasaki, N. : Time-related differences in noradrenaling turnover in rat brain regions by stress. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 16: 315-319, 1982.
 47. Guyton : *Textbook of medical physiology*. 8th ed., pp.848, Philadelphia, WB Saunders Co., 1991.
 48. Nukina, I., Glavin, G.B. and Labella, F.S. : Acute cold-resistant stress affects alpha 2- adrenoreceptors in specific brain regions of the rat. *Brain Res.* 401:30-33, 1987.
 49. Finkelstein, Y., Koffler, B., Rabey, J.M. and Gilad, G.M. : Dynamics of cholinergic sympathetic mechanisms in Rat Hippocampus after stress. *Brain Res.* 343:314-319, 1985.
 50. Yoneda, Y., Kanmori, K., Ida, S. and Kuriyama, Y. : Stress-induced alteration in metabolism of r-aminobutyric acid in rat brain. *J. Neurochem.* 20: 350, 1983.
 51. Dudar, J.D. : The effect of septal nucleus stimulation on the release of acetylcholin from the rabbit hippocampus. *Brain Res.*, 83:123-133, 1975.
 52. Rossier, J., Guillemin, R. and Bloom, F. : Foot shock induced stress decrease leu-enkephalin immunoreactivity in rat hypothalamus. *Eur. J. Pharmacol.*, 48:465-466, 1978.
 53. Arancibia, S., Tapia-Arancibia, L., Assenmacher, I. and Astier, H. : Direct evidence of short-term cold-induced TRH release in the median eminence of unanesthetized rats. *Neuroendocrinology* 37:225-228, 1983.
 54. Shires, G.T. : Important factors in the maintance of homeostasis in the surgical patient. *Acta. Chir. Scand. (Suppl)*, 550:29-35, 1988.
 55. Cannon, W.B. : The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions. *Am. J. Physiology*, 33:356-372, 1914.
 56. Selye, H. : *Stress without distress*. J.B. Lippincott Comp., Philadelphia, 1974.
 57. Frankenhaeuser, M. : Psychoneuroendocrine approaches to the study of the emotion as related to stress and coping. In H.E. Howe & R. A. Dienstbier (eds.), *Nebraska symposium on motivation 1978*. Lincon: University of Nebraska Press: 123-161, 1979.
 58. Levi, L. : Stess and distress in responce to psychosocial stimuli. *Acta. Med. Scand.(Supple)*, 528, 1972.
 59. Lundberg, U. : *Human psychology in Scandinavvia: II Psychoneuroendocrinology-human stress and coping processes*. *Scand. J. Psych.*, 25:214-226, 1984.
 60. Usdin, E., Kvetmansky, R. and Irwin, J.K.(eds.) : *Catecholamines and stress: Recent advances*. Preceedings of the second international symposium on catecholamines and stress, Smolenice castle, Czechoslovakia, New York: Elsevier North Holland, 1979.
 61. Frankenhaeuser, M., Lundberg, U. and Chesney, M. (eds) : *Women, work, and health. Sress and opportunities*. New York: Plenum Press, 1991.
 62. Frankenhaeuser, M. and Lundberg, U. : Sympathetic-adrenal and pituitary-adrenal response to challenge. In P. Pichot, P. Berner, R. Wolf & K. Thau(Eds.), *Psychiatry*, Vol. 2, London: Plenum, pp.699-704, 1985.
 63. Gunnar, M.R. : *The psychobiology of stress in early development: R ractivity and regulation*. Paper presented at meetings of the international society for the study of behavioral development. Minneapolis, Minnesota, 1991.
 64. Henry, J.P. and Stephens, P.M. : *Stress, Health and the social enviro nment. A sociobiologic approach to Medicine*. Nwe York, Heidelberg & Berlin: Springer-Verlag, 1977.
 65. Levine, S., Coe, C. and Wiener, S.G. : *Psycho-neuroendocrinology of stress: A psychobiological perspective*. In *Psychoendocrinology*. Academic

- Press, pp.341-377, 1989.
66. Oliver, G. and Schaefer, E.A. : The physiological effects of the suprarenal capsules. *J. Physiol.* 18: 230, 1985.
 67. Scott, D.W., Oberst, M.T. and Dokin, M.T. : A stress-coping model. *ANS.*, 3(1):9-23, 1980.
 68. Eliasson, K., Hjemdahl, P. and Kahan, T. : Circulatory and sympatho adrenal responses to stress in broderline and established hypertension. *J. Hypertens.*, 1:131, 1983.
 69. LeBlanc, J., Cote, J., Jobin, M. and Labrie, A. : Plasma catecholamines and cardiovascular responses to cold and mental captivity. *J. Appl. Physiol.*, 47:1207, 1979.
 70. Lenders, J.W.M. : Disparate effects of mental stress on plasma noradrenaline in young normotensive and hypertensive subjects. *J. Hypertens.* 7:317, 1989.
 71. Ward, M.M. : Epinephrine and norepinephrine responses in continuously collected human plasma to a series of stressors. *Psychosom Med.*, 45: 471, 1983.
 72. Johnson, D.G. : Plasma norepinephrine responses of man in cold water. *J. Appl. Physiol.*, 43:216, 1977.
 73. Kopin, I.J., Lake, R.C. and Ziegler, M. : Plasma levels of norepinephrine. *Ann. Intern. Med.*, 88:671, 1978.
 74. Palmer, G.J., Ziegler, M.G. and Lake, C.R. : Response of norepinephrine and blood pressure to stress increases with age. *J. Gerontol.* 33:482, 1978.
 75. 김형석, 안재성 : 한냉스트레스하에서의 흰쥐 뇨중 Catecholamine의 분비량 변화에 관한연구. *대한신심스트레스학회*, 1:17-26, 1993.
 76. 민병일, 한승호, 윤상협, 조영욱, 김창주, 정순동 : 처수 자극에 의하여 유발된 혈압 상승 및 혈중 카테콜아민 농도의 변화에 대한 전침 자극의 영향. *대한신심스트레스학회지*, 2(1):55-62, 1994.
 77. Cannon, W.B. : *The wisdom of the body*. 2nd ed., pp.134, N.Y., Norton Co., 1939.
 78. Cassale, G. : Beta-endorphine and cold pressor test in the aged. *Gerontology*, 31:101, 1985.
 79. Champigny, O. and Ricquier, D. : Effect of fasting and refeeding on the level of uncoupling protein mRNA in rat brown adipose tissue: Evidence for diet-induced and cold-induced responses. *J. Nutr.*, 120:12, 1990.
 80. Hata, T. : Catecholamine levels in the brain of specific alternation of rhythm in temperature(repeated cold)-stressed rats. *J. Auton. Pharmacol.*, 7:257, 1987.
 81. Sadowski, J., Kurkus, J. and Chwalbinska, J. : Plasma hormone and renal function change in unrestrained dogs exposed to cold. *Am. J. Physiol.* 228:376, 1975.
 82. Bullinger, M., Naber, D., Pickar, D., Cohen, R.M., Kaln, N.H. and Pert, A. : Endocrine effects of the cold pressor test: Relationships to subjective pain appraisal and coping. *Psychiatry Res.*, 12:227, 1984.
 83. Gerra, G., Volpi, R., Delsignore R., Maninetti, L., Caccavari, R., Vourna, S., Maestri, D., Chiodeva, P., Vgolotti, G. and Coiro, V. : Sex-related responses of beta-endocrine, ACTH, GH and PRL to cold exposure in humans. *Acta. Endocrin.(Copenh.)*, 126:1, 1992.
 84. Graham, T.E., Sathasivam, P. and MacNaughton, K.W. : Influence of cold, exercise and caffeine on catecholamines and metabolism in men. *J. Appl. Physiol.*, 70:5, 1991.
 85. Macleod, R.I. : Psychologic factors in oral lichen planus. *Br. Dent. J.*, 173(3):88, 1992.
 86. Lowenthal, U. and Pisanti, S. : Oral lichen planus according to the modern medical model. *J. Oral Med.*, 39:224-226, 1984.
 87. Hampf, G., Vikkula, J., Ylipaavalniemi, P. and Aalberg, V. : Psychiatric disorders in orofacial dysaesthesia. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 16:402-407, 1987.
 88. Redman, R.S., Vance, F.L., Gorlin, R.J., Peagler, F.D. and Meskin, L.H. : Psychological component in the etiology of geographic tongue. *J. Dent. Res.*, 45:1403-1408, 1966.
 89. Waldron, C.A. : Psoriasisform lesions of the oral mucosa. *Oral Surg.*, 37:872-888, 1974.
 90. Wysocki, G.P., Daley, T.D. : Benign migratory glossitis in patients with juvenile diabetes. *Oral Surg.* 63:68-70, 1987.
 91. Bierman, S.M. : A retrospective study of 375 patients with genital herpes simplex infections seen between 1973 and 1980. *Cutis.*, 31:548-565, 1983.
 92. Cogen, R.B., Stevens, A.W. Jr. and Cohen-Cole, S.A. : Stressed whites especially prone to "trench mouth" study finds. *Med. News JAMA.*, 249: 157-158, 1983.

93. Longo, D. and Koehn, K. : Psychosocial factors and recurrent genital herpes: A review of prediction and psychiatric treatment studies. *Int's Psychi. Med.*, 23:99-117, 1993.
94. Shapiro, S. and Shanon, J. : Bruxism as an emotional reactive disturbance. *Ariz. Dent. J.*, 12:13-18, 1966.
95. Vernallis, F.F. : Teeth-grinding; some relationships to anxiety, hostility and hyperactivity. *J. Clin. Psychol.*, 11:389-391, 1955.
96. Pingitore, G., Chrobak, V. and Petrie, J. : The social and psychologic factors of bruxism. *J. Prosthet. Dent.*, 65:443-6, 1991.
97. Browning, S., Hislop, S. Scully, C. and Shirlaw, P. : The association between burning mouth syndrome and psychosocial disorders. *Oral Surg.*, 64:171-174, 1987.
98. Lamb, A.B., Lamey, P.J. and Reeve, P.E. : Burning mouth syndrome: Psychological aspects. *Oral Surg.*, 56:521-536, 1983.
99. Kleinhaus, I.E.M., Baht, R. and Littner, M. : Antecedents of Burning Mouth Syndrome - recent life event vs. psychologic aspects. *J. Dent. Res.*, 73:567-572, 1994.
100. Gonzalez, F.J., Tukey, R.T., and Nebert, D.W. : Structural gene products of the Ah locus: Transcriptional regulation of Cytochrome P1-450 and P3-450 mRNA levels by 3-methylcholanthrene. *Mol. Pharmacol.* 26:117-121, 1984.
101. Sogawa, K., Gotoh, O., Kawajiri, K. and Harada, T. : Complete nucleotide sequence of a methylcholanthrene-inducible Cytochrome P450(P 450d) gene in the rat. *J. Biol. Chem.* 260:5026-5032, 1985.
102. Okino, S.T., Quattrochi, L.C., Barnes, H.J., Osanto, S., Griffin, K.J., Johnson, E.F. and Tukey, R.H. : Cloning and characterization of cDNAs encoding 2,3,7,8 - tetrachlorodibenzo - p - dioxin - inducible rabbit mRNAs for Cytochrome P450 isozymes 4 and 6. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:5310-5314, 1985.
103. Atchison, M., and Adesnik, M. : A Cytochrome P450 multigene family: Characterization of a gene activated by phenobarbital administration. *J. Biol. Chem.* 258:11285-11295, 1983.
104. Mizukami, Y., Fujii-Kuriyama, Y., and Muramatsu, M. : Multiplicity of deoxyribonucleic acid sequences with homology to a cloned complementary deoxyribonucleic acid coding for rat phenobarbital-inducible Cytochrome P450. *Biochemistry.* 22:1223-1229, 1983.
105. Gonzalez, F.J., Nebert, D.W., Hardwick, J.P. and Kasper, C.B. : Complete cDNA and protein sequence of a pregnenolone 16 α -carbonitrile- induced Cytochrome P450: A representative of a new gene family. *J. Biol. Chem.* 260:7435-7441, 1985b.
106. Song, B.J., Gelboin, H.V., Park, S.S., Yang, C.S. and Gonzalez, F.J. : Complementary DNA and protein sequences of ethanol-inducible rat and human Cytochrome P450s: Transcriptional and post-transcriptional regulation of the rat enzyme. *J. Biol. Chem.* 261:16689-16697, 1986.
107. Song, B.J., Matsunaga, T., Hardwick, J.P., Park, S.S., Veech, R.L., Yang, C.S., Gelboin, H.V. and Gonzalez, F.J. : Stabilization of Cytochrome P450 messenger ribonucleic acid in the diabetic rat. *Mol. Endocrinol.* 1:542-547, 1987.
108. Ryan, D.E., Ramanathan, L., Iida, S., Thomas, P.E., Haniu, M., Shively, J.E., Lieber, C.S. and Levin, W. : Characterization of a major form of rat hepatic microsomal Cytochrome P450 induced by isoniazid. *J. Biol. Chem.* 260:6385-6393, 1985.
109. Patten, C.J., Ning, S.M., Lu, A.Y.H. and Yang, C.S. : Acetone-inducible Cytochrome P450: purification, catalytic activity & interaction with Cytochrome b5. *Arch. Biochem. Biophys.* 251:629-638, 1986.
110. Khani, S.C., Zaphiropoulos, P.G., Fujita, V.S., Porter, T.D., Koop, D.R. and Coon, M.J. : cDNA & derived amino acid sequence of ethanol-inducible rabbit liver Cytochrome P450 isozyme 3a(P-450ACC). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84:638-642, 1987.
111. Pan, J., Hong, J.Y., and Yang, C.S. : Post-transcriptional regulation of mouse renal Cytochrome P450 2E1 by testosterone. *Arch. Biochem. Biophys.* 299:110-115, 1992.
112. Yun, Y.P., Casazza, J.P., Sohn, D.H., Veech, R.L. and Song, B.J. : Pretranslational activation of Cytochrome P450III_E during ketosis induced by a high fat diet. *Mol. Pharm.* 41:474-478, 1992.
113. Park, K.S., Sohn, D.H. and Song, B.J. : Translational activation of ethanol-inducible Cytochrome P450(Cyp2E1) by isoniazid. *Europ. J. Pharma.* 248:7

- 14, 1993.
114. Hong, J.Y., Pan, J., Gonzalez, J.F., Gelboin, H.V. and Yang, C.S. : The induction of specific form of Cytochrome P450(P-450j) by fasting. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 142:1077-1083, 1987.
 115. Tu, Y.Y., and Yang, C.S. : High-affinity nitrosamine dealkylase system in rat liver microsomes and its induction by fasting. *Cancer Res.* 42:623-629, 1983.
 116. Past, M.R. and Cook, D.E. : Effect of diabetes on rat liver Cytochrome P450, Evidence for a unique diabetes-dependent rat liver Cytochrome P450. *Biochem. Pharmacol.* 31:3329-3334, 1982.
 117. Peng, R., Tennant, P., Lorr, N.A. and Yang, C.S. : Alteration of microsomal monooxygenase system & carcinogenic metabolism by streptozotocin-induced diabetes in rats. *Carcinogenesis(Lond.)*. 4:703-708, 1983.
 118. Morgan, E., Koop, D., and Coon, M. : Comparison of rabbit liver Cytochrome P450 isozymes in formation of a reactive metabolite of acetaminophen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 112:8-13, 1983.
 119. Raucy, J., Lasker, J., Lieber, C. and Black, M. : Acetaminophen activation by human liver Cytochrome P450 IIE1 & P450 IA2. *Arch. Biochem. Biophys.* 271:270-283, 1989.
 120. Anadatheerthavarada, H.K., Shankar, S.K., Song, B.J., Bramre, S., Boyd, M.R. and Ravindranath, V. : Induction of brain Cytochrome P450 IIE1 by chronic ethanol treatment. *Brain Res.* 601:279-285, 1992.
 121. Cameron, E., Pauling, L., and Leibovitz, B. : Ascorbic acid and cancer. *Cancer Res.* 39:663, 1979.
 122. Basu, T.K., Smethurst, M., Gillett, M., Donaldson, D., Jordan, S.J., Williams, D.C. and Hicklin, J.A. : Ascorbic acid therapy for the relief of bone pain in Paget's disease. *Acta Vitam. Enzymol. (Milano)*. 32:45, 1978.
 123. Kato, R., Takanaka, A., and Ohshima, T. : Effect of Vitamin C deficiency on the metabolism of drug and NADPH-linked electron transport system in liver microsomes. *Jap. J. Pharmac.* 19:25, 1969.
 124. Zannoni, V.G., Flynn, E.J., and Lynch, M. : Ascorbic acid and drug metabolism. *Biochem. Pharmac.* 21:1377, 1972.
 125. Conney, A.H., Bray, G.A., Evans, C. and Bruns, J.J. : Metabolic interactions between L-ascorbic acid and drugs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 92:115-127, 1961.
 126. Hori, F. and Yoshida, A. : Effect of some xenobiotics on ascorbic acid metabolism in rats. *J. Nutr.* 112:416-425, 1982.
 127. Horio, F., Kimura, M. and Yoshida, A. : Effect of several xenobiotics on the activities of enzymes affecting ascorbic acid synthesis in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 29:233-247, 1983.
 128. Chadwick, R., Peoples, A. and Cranmar, M. : The effect of protein quality and ascorbic acid deficiency on stimulation of hepatic microsomal enzymes in guinea pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 24: 603-611, 1973.
 129. Sato, P.H., and Zannoni, V.G. : Stimulation of drug metabolism by ascorbic acid in weaning guinea pigs. *Biochem. Pharmacol.* 23:3121-3128, 1974.
 130. Sikk, B.I., Mimnaugh, E.G., Litterst, C.L. and Gram, T.E. : The effects of ascorbic acid deficiency and repletion on pulmonary, renal, and hepatic drug metabolism in guinea pigs. *Arch. Biochem. Biophys.* 179:663-671, 1977.
 131. Sutton, J.L., Basu, T.K., and Dickerson, J.W.T. : Effect of pharmacological doses of ascorbic acid on the hepatic microsomal haemoproteins in the guinea pigs. *Br. J. Nutr.* 49:27-33, 1983.
 132. Ginter, E., Kosinova, A., Hudecova, A., et al : Paebolic response of hepatic microsomal hydroxylating system and lipids to graded doses of ascorbic acid in guinea pigs on low and high α -tocopherol intake. *J. Nutr.* 114:485-492, 1984.
 133. Sato, P.H., and Zannoni, V.G. : Ascorbic acid and hepatic drug metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 198:295-307, 1976.
 134. Omaye, S., and Turnbull, J.D. : Heme oxygenase activity, drug metabolism, and ascorbic acid distribution in the livers of ascorbic acid deficient guinea pigs. *Biochem. Pharmacol.* 28:1415-1419, 1979.

ABSTRACT

IMMUNOLOGICAL EFFECT OF THE CYTOCHROME P450 TO ALCOHOL AND STRESS IN GUINEA PIG

Yang-Hyun Chun, D.M.D., Jung-Pyo Hong, D.M.D., M.S.D., Ph.D.

Dept. of Oral Diagnosis & Oral Medicine, College of Dentistry, Kyung Hee University.

The purpose of this study was to investigate the effect of alcohol and stress on liver and buccal mucosa in guinea pig by immunological methods. Especially, Cytochrome P450(CYP) which is oxidase during alcohol metabolism and bioactivator to carcinogen was used as an indicator in this study.

48 guinea pigs were used in this study.

The experimental guinea pig were divided into three groups: The first was a group with giving alcohol-15%(v/v) ethyl alcohol, the second group was a with giving stress in the 0°C water and the third was a control group.

Every 4 guinea pigs of each group were sacrificed weekly- first, second, third, fourth week after experiment and extracted liver tissues and buccal mucosa. The liver tissues were observed by using immunoblotting technique(Western blot) and buccal mucosa were observed by immunofluorescence technique.

The results were as follows ;

1. By the alcohol and stress, Cytochrome P450 was amplified positive in the liver tissues at third week.
2. By the alcohol and stress, Cytochrome P450 was not detected in the buccal mucosa at any period.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1.** Photograph shows immunoblot analysis of Cytochrome P450 II_B(CYP2B) in guinea pig liver.
(Group 1, 2; 3 weeks after experiment)
- Fig. 2.** Photograph shows immunoblot analysis of Cytochrome P450 II_E(CYP2E) in guinea pig liver.
(Group 1, 2; 3 weeks after experiment)
- Fig. 3.** Photograph shows immunoblot analysis of Cytochrome P450 I A₂(CYP1A₂) in guinea pig liver.
(Group 1, 2; 3 weeks after experiment)
- Fig. 4.** Photograph shows immunoblot analysis of NADPH-P450 reductase in guinea pig liver.
(Group 1, 2; 3 weeks after experiment)
- Fig. 5.** Photograph shows immunofluorescence microscopic view of Cytochrome P450(CYP) in guinea pig buccal mucosa.

논문사진부도

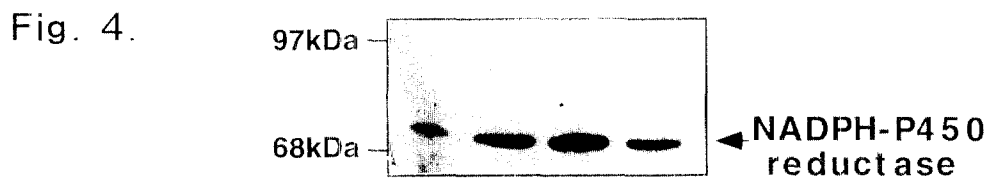
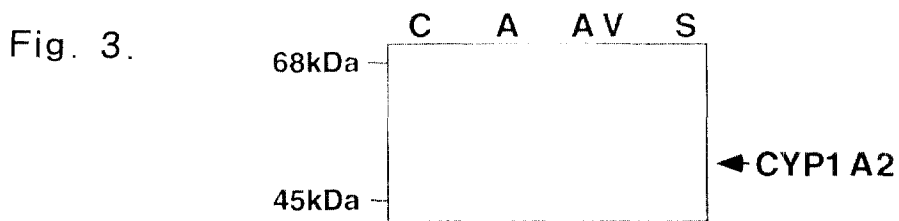
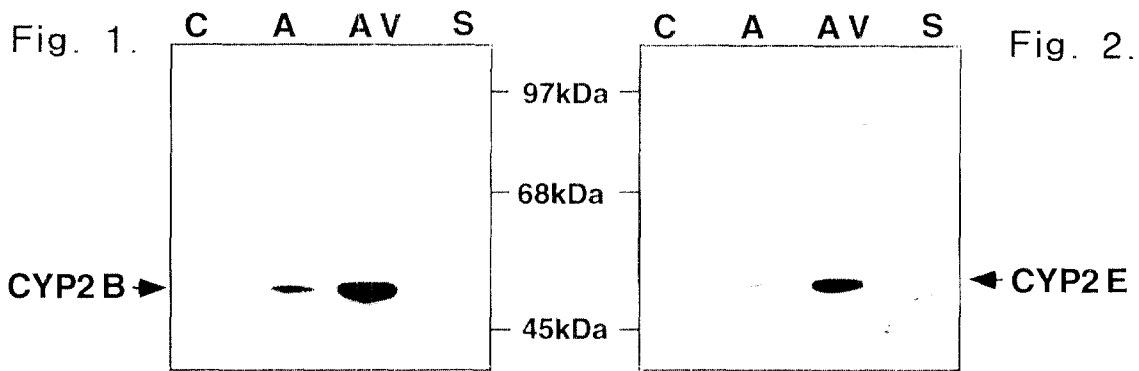


Fig. 5.

