

急性 饑餓마우스의 肝蛋白質, 核酸 및 Guanine Deaminase 活性에 關한 研究

首都女子師範大學 大學院 家政學科

朴 勝 熙

서울大學校 醫科大學 生化學教室

金 昇 元

A Study on The Content of Liver Protein, Nucleic Acids, and Guanine Deaminase Activity of Mouse During Acute Starvation

Seung Hee Park, B.S.

Department of Nutrition Soodo Women's Teachers College

Seung Won Kim, M.D.

*Department of Biochemistry, College of Medicine
Seoul National University*

=Abstract=

Number of aspects, not only nutritional but social as well as political involved in human starvation pose nowadays global problems. In order to help establish the minimum nutritional requirements in the daily life of a man and to free people as well from either undernourishment, malnutrition or even starvation many workers have devoted themselves so far on the research programs to know what and how number of metabolic events take place in animals *in vivo*.

It is the purpose of the present paper to examine in effect to what extent both of the protein and nucleic acids (DNA & RNA) together with an enzyme, guanine deaminase, which converts guanine into xanthine and in turn ends up to uric acid as an end product, undergo changes, quantitatively during acute starvation, using the mouse as an experimental animal. The mouse was strictly inhibited from taking foods except drinking water *ad libitum* and was sacrificed 24, 48, and 72 hours following starvation thus acutely induced. The animals consisted of two experimental groups, one control and another starvation groups, each being consisted of 6-24 mice of whose body weights ranged in the vicinity of 10 g.

The animals were sacrificed by a blow on the head, followed by immediate excision of their livers into ice-cold distilled water, washing adherent blood and other contaminant tissues. The liver was minced foramin. by an all-glass homogenizer immersing it in an ice-bath, followed by subsequent fractionation of the homogenate (10% W/V in 0.25M sucrose solution made up with 0.05M phosphate buffer of pH 7.4).

For the liver protein and guanine deaminase assay, the 10% homogenate was centrifuged at 600 x g for 10 minutes to eliminate the nuclear fraction; and for the estimation of DNA and RNA, the homogenate was prepared by the addition of 10% trichloroacetic acid in order to free the homogenate from the acid-soluble fraction, the remaining residue being delipidated by the addition of alcohol and dried *in vacuo* for later KOH (IN) hydrolysis.

The changes in body and liver weights during acute starvation were checked gravimetrically. Protein contents in the liver were monitored by the method of Lowry *et al*; and guanine deaminase activities were followed by the assay of liberated ammonia from the substrate utiliz-

ing the Caraway's colorimetry. The extraction of both DNA and RNA was performed by the Schmidt-Thannhauser's method, which was followed by Marmur's method of purification for DNA and by Chargaff's method of purification for RNA. The determinations of both DNA and RNA were carried out by the diphenylamine reaction for the former and by the orcinol reaction for the latter. The following resume was the results of the present work.

1. It was observed that the body as well as liver weights fall abruptly during starvation, and that the loss of body weight showed no statistical correlation with the decreases in the content of liver protein.

2. The content of liver protein and activity of liver guanine deaminase activity as well decline dramatically, and the specific activities of the enzyme (activity/protein), however, decreased gradually as starvation proceeded.

3. Both of the nucleic acids, DNA and RNA, showed decrements in the liver of mouse during acute starvation; the latter, however, being more striking in the decline as compared to the former.

4. The decreases in the liver protein content as resulted from the acute starvation had no statistically significant correlation with the decrements of DNA in the same tissue, but had regressed with a significant statistical correlation with the fall of RNA in the tissue.

5. The decrease in the activity of guanine deaminase in the liver of mouse during acute starvation was functionally more proportional to the decrease in RNA than DNA, and moreover correlated with the changes in the content of the liver protein.

6. The possible mechanisms involved during in this acute starvation as to bring the decreases in the contents of DNA, protein, and guanine deaminase were discussed briefly.

饑餓는 現今 營養學의 興味의 對象임은 勿論이려니와 經濟的 與件의 未洽으로 말미암은 貧困에 因果하여 있으므로 全世界의 政治社會의 問題로 되고 있다. 한편 戰鬪中인 軍人의 境遇에 水分攝取만으로도 두철된 補給을 克服하여 果然精神의으로 그 所任遂行에 얼마나 實効를 거둘 것인가 하는 것은 軍略的 要因마저 띄게 되는 바 이 饑餓問題의 營養學의 檢討는 어느 나라를 莫論코 時急을 要하는 難題中의 하나라 할 것이다. 그러므로 個體의 精神의 肉體의 健康管理에서 나아가서는 社會集團의 복지를 圖謀하는데 理論的인 資料를 얻기 爲해 饑餓의 營養學의 研究는 이루어져야 하겠다는 點에 着眼하여 著者는 本論文에서 急性饑餓를 實驗動物을 利用하여 研究하였다.

饑餓 乃至는 準饑餓狀態가 長期間 繼續되면 갖가지의 異狀이 生體에 惹起되는 것인 바 世界第二次大戰中에 싱가포르와 홍콩의 收容所에서 매우 制限된 給食만 長期間 받았던 캐나다 捕虜들을 相對로 研究한 結果¹⁾를 보면 석방 後 10년에 이르도록 많은 共通된 症狀이 남아 있었으니, 예컨대 別理由 없이 땀이

나고 쉽게 피로하며, 大대근육이 無感覺해지거나 경련이 오며 意慾이 줄고 視力이 減退하며 浮腫이 수반하며 若干의 運動後에도 呼吸困難이 뒤따르며 心氣充進과 아울러 食慾不振은 勿論이고 不安하고 不眠症이 빈번하다는 것 등이었다.

生體의 組成에도 커다란 變化가 隨伴되고 있어 特別히 脂質損失의 data 分析에는 깊은 注意가 必要한 것이다. Taylor 等²⁾의 研究에 依하면 4.5日間의 急性饑餓期間中 人體의 境遇 plasma volume이 18%나 減少하고 thiocyanate space는 8%가까이 減少하는 것이다. 그들에 依하면 이와같은 液體成分의 損失은 全體重減少의 37%를 가져오는 要因이 된다는 것이다.

急性기아이거나 準急性기아에 있어서 血中鎳物質 Na^+ , K^+ , Mg^{++} 그리고 Cl^- 등은 別로 變動은 없으나³⁻⁶⁾ 그 反面 血中 Ca^{++} 은 減少하는 것으로 알려져 있다.^{3,4)} 血清蛋白質과 아미노酸은 大概變化가 없거나 있어도 僅少한 것이다^{4,5,7)}. 한편 血中의 尿酸은 기아중에 急激한 上昇을 보이는 것이며^{4,8)} 도리어

血中の尿素나 血糖은 Ht 値와 Hb 値와 더불어 減少하는 것이 또한 報告된 바 있다⁵⁾. 그러나 이와같은 報文들의 增減値는 結局生體의 hypohydration 과 이에 따라 惹起되는 血液量의 減少에 函數的 關聯이 있는 것으로 생각되는 것이다.

急性이나 準急性기아狀態下에서는 尿中으로 排泄되는 Na^+ , K^+ 그리고 Cl^- ⁶⁾ 뿐만 아니라 질소¹⁰⁾ 라는 가尿酸⁹⁾ 그리고 尿素¹⁰⁾ 등도 매우 減少되는 것이지만 creatinine 排泄만은 變化가 없다⁴⁾. Ca^{++} 排泄 또한 2.5에서 8배에 가깝도록 增加하고 있다. 물론 이것은 기아期間中에 骨組織의 脫Ca 變化가 있기 때문에 오는 것으로⁹⁾ 解釋되고 있다.

또한 過去 數年間的 報文을 살피건대 急性기아로 말미암은 비타민欠乏은 觀察되지 못하고 있다³⁾. 그러나 最近에 Gellene¹¹⁾ 은 기아中에 尿中の B 群 비타민의 減少와 RBC 의 transketolase 活性減少를 報告하였고 또한 Stevenson¹²⁾ 亦是 尿中の thiamine 이 거의 零에 가깝고 그 代身에 riboflavin 이 增加한다는 것을 報告하고 있다.

두말할 것도 없이 이와같은 報文의 結論들은 人體가 기아상태에 놓였을 때 적어도 얼마만큼의 caloric requirement 를 要求하게 되는가를 規定짓는 營養學的 根據를 이루게 되지만 실제로 營養학의 見地에서 본다면 기아에 關聯된 問題로서 時急히 解決되어야 할 것은 이때의 질소나 水分 그리고 礦物要求量에 있고 또한 아울러서 體組織組成變化와 cardiovascular change 등이 큰 問題이겠고 血中이나 尿中の 各種成分變動은 오히려 二次的인 것이라 볼 것이다.

따라서 著者は 本論文中에서 이와같은 문제를 處理하는 근본적 요인을 살피려 하였다.

생체의 central lab.라고 할 수 있는 간조직의 蛋白質량 증감을 관찰하는 한편 蛋白質 生合成에 직접 關여하는 ribonucleic acid (RNA) 등태도 아울러 살폈으며 한걸을 더 나아가 모든 變化에 根本的인 要因이 되어주는 즉 유전적 要因이 되는 deoxyribonucleic acid (DNA)의 變動까지 觀察하는 한편 핵산변동에 영향을 준다고 생각되는 guanine deaminase (GDA)의 活性까지 본 논문에서 究明하였다 이 모든 上記의 分子들이 急性기아로 말미암은 마우스 간조직에서 意義있게 감소하고 있었으며 이와 같은 現象을 마우스 體重이나 또는 간 重量등과 상호 關連지어 高찰하고 또한 급성기아에 기인하는 마우스 肝·蛋白質의 감소는 간 RNA 및 GDA 와 그 증감이 意義있는 含蓄적 關係를 갖는 사실도 高찰하여 흥미있는 몇가지 事實을 발견하였기 때문에 發表하는 바이다.

實驗方法

本實驗에 使用한 動物은 體重 10g 內外의 雄마우스로서 아무런 營養障得가 없는 건강한 것들 中에서 選取하였으며 對照와 急性기아의 兩群으로 나누어 觀察하였다. 기아群은 水分공급에만 그치고 外 一切의 食餌는 公급치 아니하고 24時間, 72時間當 그리고 72時間間에 各各 其 肝臟을 切取分析한 것이다.

各群은 6~24마리로써 于先 體重變動을 記錄하는 한편 sacrificed 한 다음 其 全肝重量도 아울러 記錄한 것이다.

1. 肝組織처리法

後頭部를 타격하여 sacrificed 한 然後에 直刻 開腹하고 全肝臟을 切取하고 附着되어 있는 組織液이나 血液을 寒冷의 증류수로써 세척하고 여과지로써 닦고 나서 먼저 肝重量을 秤量하였다. 다음 0.25M의 sucrose용액을 0.05M의 phosphate buffer (pH 7.4) 로써 만들어 냉장해 두었던 것을 使用해서 肝組織을 一定量 切取하고 10% (W/V)의 homogenate를 만들었다. 이때 all-glass의 homogenizer는 물론 氷水槽에 넣어둔 채로 使用하였으며 上下로 運動을 數次하고 約 1分間 homogenize 한 것이다.

homogenate가 준비되면 3점의 guaze에 여과시킴으로써 組織殘渣를 除去하고 곧 이어서 亦是 냉장해 두었던 head를 사용하여 600×g의 速度로 10分間 遠心分離하여 細胞核劃分을 除去하고 其 上清液을 利用해서 guanine deaminase와 蛋白質을 分析하는 試料로 삼았다.

한편 DNA와 RNA의 分析을 위해서는 미리 肝組織을 따로 처리함이 없이 다음 項에 記錄한 바와 같이 抽出한 然後에 核酸을 定量分析한 것이다.

2. 肝蛋白質定量法

蛋白質定量은 enzymologist에 依해 널리 應用되고 또 가장 銳敏한 方法인 Lowry等¹³⁾의 方法을 擇하였다. 即 試液 1.0ml에 알카리성 銅熔液 5.0ml를 加하고 充分히 混合하고 正確히 10分後에 Folin-Ciocalteu 試藥¹³⁾을 加하여 30分 室溫에 放置하였다가 發色하는 靑色調를 Spectronic 20 光電比色計를 使用하여 750 μ 의 波長에서 optical density를 測定하여 比色定量한 것이다.

이때에 使用한 알카리성 銅용액은 0.1N NaOH 용액으로 만든 2%의 Na_2CO_3 용액 50ml에다 1% sodium tartarate 용액으로 만든 0.5% $CuSO_4$ 용액 1.0ml를 混合하여 만든 것이며 Folin-Ciocalteu 시

약은 Folin 의 phenol 시약으로서 Lowry 의 原法¹³ 대로 만든 것이다.

한편 蛋白質定量的 規準용액은 bovine serum albumin (Sigma Co. 製)을 使用하였으며 稀알칼리 용액으로 一晝夜溶解하여 이를 Kieldahl 法에 의거하여 N 含量을 미리 分析해두고 이에다 6.25배하여 蛋白質含量을 算出해 두고 肝組織의 蛋白質을 分析할 때 마다 組織과 同一한 順序와 方法으로 처리하여 그 optical density를 求하고 比色定量에서의 標準蛋白質로 삼은 것이다.

이와같이 얻은 mg 單位の 濕組織 1g 當의 含量으로 換算하여 結果에 提示하였으며 他分析值와의 關係係數計算에 使用하였다.

3. 肝GDA 活性測定法

GDA활성은 基質인 guanine 이 가지는 245m μ 에서의 최고 optical density 低下로써, 또는 guanine 에서 유리되어 나오는 NH₃를 定量함으로써 측정할 수도 있겠고 또는 xanthine oxidase 에 의한 反應과 couple하여 生成되는 尿酸에 起因하는 290m μ 에서의 O.D. 증가로써도 定量이 가능한 것이다.

그러나 위 方法처럼 UV분광분석에 依하지 아니하고도 간편히 測定할 수 있는 點과 正確性を 고려하여 Caraway 의 方法¹⁴을 利用하였다.

즉 試料를 미리 37°C에서 加温한 다음 guanine 基質용액을 첨가하여 역시 같은 溫度에서 30分間 incubate 하고 2/3 N H₂SO₄로써 反應을 中止시킨다. 그 다음 sodium tungstate 를 다시 첨가하여 除蛋白質液을 얻었다. 이 여액에 phenol color 시약과 알칼리性 hypochlorite 용액을 加하여 잘 混合한 後 亦是 37°C에서 15分間 incubate 하여 나타나는 色調의 optical density를 630m μ 의 波長에서 測定하고 比色定量한 것인데 이 反應은 基質과 함께 incubate 하는 동안에 guanine에서 유리되어 나오는 NH₃를 측정하는 것으로서 매우 예민한 Berthelot 의 phenate hypochlorite 反應을 利用한 것이다. 한편 GDA 의 活性表示는 試料를 1分間 guanine 과 incubate 하여 유리되어 나오는 NH₃의 μ mole數를 活性의 unit로 삼고 다시 이를 肝組織 g 當 unit 數로 換算하여 表示하였다.

따라서 이 酵素의 比活性은 試料의 單位 蛋白質當 GDA 活性이 될 것이므로 分析值에 依해 各各 算出하고 結果에 記錄하였다.

4. 肝核酸(DNA, RNA)의 抽出 및 그 精製法

마우스肝조직 一定量에다 그 數倍量의 10% TCA (trichloro-acetic acid)를 加하여 前記 homogenizer

로 처리하여 만든 homogenate에다 다시 氷冷下에서 10% TCA 를 加해서 遠心分離해서 酸溶解性分離인 上清液을 除去하고 殘渣에다가 70%, 98%, absolute ethanol, 그리고 ether 의 順으로 有機溶媒를 첨가해서 脂肪成分을 除去한 다음 이 脫脂된 조직을 室溫에서 乾燥시킨後 粉末을 만들고 이 粉末 50mg 를 正確히 秤量하여 DNA와 RNA를 抽出한 것이다. 核酸의 抽出은 대개 Chargaff 法¹⁵에 準하였다. 즉 上記의 먼저 脫脂粉末組織 50mg에 IN KOH 2.5 ml 를 加하여 37°C에서 20時間程度 加水分解하였다.

이를 水水槽에서 冷却시킨 다음 acetic acid 로써 pH를 4.0으로 조정하여 DNA 의 沈澱을 얻고 이 DNA를 다시 IN KOH로써 洗滌해서 上清液을 흡하여 一定量(3.5ml)가 되도록 해두어 RNA 分析試料로 삼는 一方 前記 DNA沈澱物은 5% TCA 2.0ml에 浮遊시켜 90°C의 水槽上에서 15分間 反復 抽出하고 DNA 分析試料로 삼은 것이다.

한편 標準核酸은 市販의 Merck 製 yeast RNA 를 使用해서 Sevag 法¹⁶의 chloroform gel 으로 除蛋白質 精製한 것인 바 정제한 RNA 를 역시 IN KOH 로써 30°C에서 20時間 加水分解하고 水水槽上에서 60% perchloric acid 로 中和하고 이때 생기는 potassium perchlorate 를 遠心으로 除去하고 난 다음 그 上清液을 標準 RNA 로서 使用한 것이다.

標準 DNA 역시 市販의 것을 marmar 의 phenol 法¹⁷으로 抽出하고 前記 Sevag 法¹⁶으로 精製한 것인 바 이 RNA 및 DNA 標準용액의 N 및 P 分析值은 各各 前者가 N=15%, P=8.5% Nip=1.76이었고 後者는 N=16.6%, P=9.3% 그리고 그 Nip=1.78이었다.

5. 核酸定量法

前項과 같이 抽出精製한 기아마스의 肝 DNA 및 RNA 는 다음과 같이 比色定量하였다¹⁸.

즉 上記 RNA의 劃分 1.0ml를 取하여 0.5ml의 증류수를 加한 然後에 0.2g의 orcinol, 20ml의 濃 HCl 및 0.1g의 FeCl₃를 混合하여 만든 orcinol시약을 1.5ml 加하여 100°C 끓는 水槽上에서 5分間 加熱하여 冷却後 Beckman B type 의 Spectro photometer 을 使用하여 660m μ 의 波長에서 그 色調의 optical density 를 測定 比色定量한 것이다.

DNA는 그 劃分 0.5ml를 取하여 적당량의 증류물 加하여 攪拌한 後 여기에 1g의 diphenylamine 과 100ml의 Acetic acid 그리고 2.75ml의 濃 H₂SO₄를 混合하여 만든 Dische 시약 2.0ml 를 넣고 亦是 100°C 의 끓는 水槽上에서 10分間 加熱한 다음 發色하는 靑

綠色調量 595m μ 의 波長에서 같은 要領으로 比色定量的한 것이다.

實驗 結果

1. 急性기아마우스의 體重 및 肝重量變動에 對하여

體重 10g 內外의 마우스는 急性으로 기아상태에 놓으면 급격히 그 體重과 肝重量이 減少하는 바 第1表에서 보는바와 같이 體重은 對照值의 12.47 \pm 1.8g에서 기아 3日에 이르러서는 9.76 \pm 1.83g로 감소되는 바 對照에 비해 약 75%에 해당한다. 따라서 近 25%나 體重在 減少하고 있고 一方 기아마우스의 肝重量은 580 \pm 90.7mg이던 것이 기아 3日— 이르러서는 366 \pm 23.0mg로 減少하였으나 對照의 63%에 해당한다.

Table 1: 急性기아 마우스의 體重 및 肝重量減少

	0 (24)	1 (18)	2 (12)	3 (6)
Body Weight (g)	12.47 \pm 1.80 (100.0%)	10.37 \pm 1.52 (83.41 \pm 5.26)%	10.05 \pm 1.00 (77.76 \pm 2.76)%	9.76 \pm 1.83 (74.42 \pm 1.87)%
Liver Weight (mg)	580 \pm 90.7 (100 \pm 15.67)	482 \pm 60.5 (83.10 \pm 10.43)	380 \pm 60.0 (65.52 \pm 10.34)	366 \pm 23.0 (63.10 \pm 3.97)

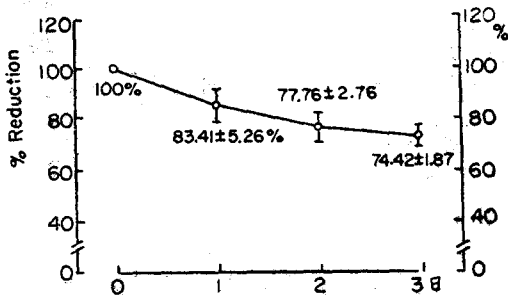


Fig. 1: 急性기아마우스의 體重減少率

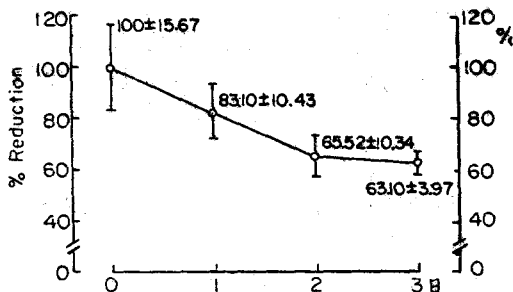


Fig. 2: 急性기아마우스의 肝重量 감소율

따라서 약 37%나 減少하고 있어 第1圖 및 第2圖에서 보는 바와 같이 體重減少에 비해 肝重量減少率이 약간 더 甚한 減少率을 보여주고 있다.

2. 急性기아 마우스의 肝蛋白質變動에 對하여

마우스의 肝蛋白質은 正常的으로 第1表에서 보는 바와 같이 83.1 \pm 2.5mg/g이던 것이 기아 3日만에는 55.2 \pm 10.02mg/g로 急激히 減少하게 되어 66.4 \pm 12.05%로까지 下降하고 있으니 거의 半減하는 셈이나 第3圖에서 分明하듯이 기아 後 1日까지는 거의 減少를 遏할 수 없다가 2日만에 急減하고 기아로 인한 死亡에 이르기까지 약 65%를 유지하고 있다.

Table 2: 急性기아마우스 肝蛋白質含量 및 肝 GDA 活性的 變動

	0	1	2	3
Protein Content (mg/g. +issue)	83.1 \pm 2.50 (100.0 \pm 3.00)%	82.8 \pm 2.82 (99.6 \pm 3.39)%	51.4 \pm 6.84 (61.8 \pm 8.23)%	55.2 \pm 10.02 (66.4 \pm 12.05)%
GDA activity (unit*/g. tissue)	21.49 \pm 5.00 (100.0 \pm 23.26)%	14.30 \pm 3.28 (66.5 \pm 15.26)%	5.27 \pm 1.05 (24.5 \pm 4.88)%	5.47 \pm 0.95 (25.4 \pm 4.42)%
Specific activity (GDA/Prot.)	26.1 (100.0)%	16.7 (63.9)%	10.5 (40.2)%	9.7 (37.1)%

* 1 unit = 1 μ mole NH liberated per 30' incubation.

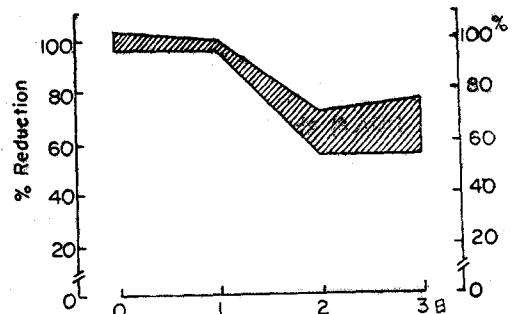


Fig. 3: 急性기아마우스 肝蛋白質의 減率率

3. 急性기아마우스의 肝 GDA 活性的에 對하여

第2表에서 보는 바와 같이 肝 g當의 活性的이 21.49 \pm 5.00 unit—던 것이 漸次 減少하여 기아 3日에 이르러서는 g當 5.47 \pm 0.95 unit라는 극적인 감소를 보이고 있었다. 즉 100%의 正常活性的에서 기아 1日만에 66.5 \pm 15.26%, 2日만에는 24.5 \pm 4.88% 그리고 3日만에는 25.4 \pm 4.42%로 감소한 것이니 元來의 正常活性的의 약 1/4로 墜러지고 있는 것이다.

第4圖에서 明確하듯이 기아直後부터 急激히 減少하여 기아 2日에 이르고 2日에서 死亡에 이르도록은 別로 變動이 없는 점으로 보아 이 GDA의 감소는 기아와 더불어 바로 일어나서 極에 達하는 듯하였다. 그러나 그 比活性變化를 볼 것 같으면 活性 減少보다는 若干 그 減少率이 漸減的이기는 하나 역시 減少率은 總體적으로 的의 있을만큼 크다. 즉 正常에서 26.1이던 것이 날을 거듭함에 따라 16.7에서 10.5, 그리고 9.7에 이르렀으니(第2表) 이는 正常의 37.1%에 해당하는 것으로써 약 63%는 減少하고 마는 것을 알 수가 있었다.

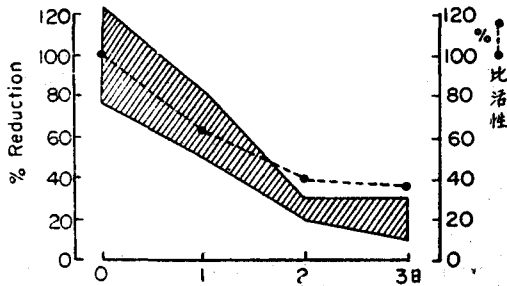


Fig. 4: 급성기아마우스의 肝 GDA 活性 감소율 및 그 比活性 감소율

4. 급성기아마우스의 肝核酸(DNA, RNA)의 變動에 對하여

第3表에서 보는 바와 같이 正常마우스는 肝의 DNA가 肝의 脫脂粉末 50mg 當 3.86 ± 0.90 mg 이고 RNA는 8.54 ± 0.49 mg이고 그 RNA/DNA 即 DNA 一定量에 對한 RNA 含量率은 2.21로서 약 2배를 넘는 것이다. 그러나 급성기아와 더불어 核酸의 감소는 蛋白質과 같이 일어났다.

그러나 DNA의 감소는 RNA에 比하여 微微하여 正常的으로는 前期 粉末 50mg 當 3.86 ± 0.90 mg 이

Table 3: 급성기아마우스의 肝核酸(DNA, RNA)의 變動

	0	1	2	3
DNA (mg/50mg dry powder)	3.86 ± 0.90 (100.0 ± 2.3) %	3.29 ± 0.03 (85.2 ± 0.8) %	3.16 ± 0.03 (81.9 ± 0.8) %	3.08 ± 0.07 (79.8 ± 1.8) %
RNA (mg $\times 10$ /50mg dry powder)	8.54 ± 0.49 (100.0 ± 5.7) %	5.48 ± 0.17 (64.2 ± 2.0) %	5.01 ± 0.07 (58.7 ± 0.8) %	4.32 ± 0.23 (50.6 ± 2.7) %
RNA/DNA	2.21	2.67	1.59	1.40

던 것이 기아 1, 2, 3日에는 各各 3.27 ± 0.03 , 3.16 ± 0.03 그리고 3.08 ± 0.07 mg이므로 그 감소된 含量은 各各 100%에서 85.2 ± 0.8 , 81.9 ± 0.8 그리고 79.8 ± 1.8 %로서 3日만에는 약 20%가 減少하고 있었다.

여기에 反해 RNA의 減少는 매우 劇적이어서 當初의 8.54 ± 0.49 mg에서 各各 5.48 ± 0.17 , 5.01 ± 0.07 그리고 4.32 ± 0.23 mg로 격감해서 3日에는 50.6 ± 27 %에 不過하므로 半減하고 만 것을 알 수가 있었다.

(第5, 6圖)

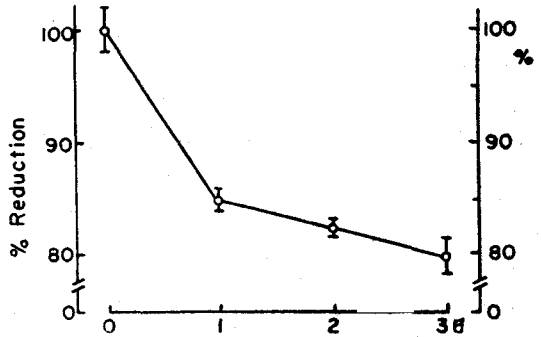


Fig. 5: 급성기아마우스 肝 DNA의 감소율

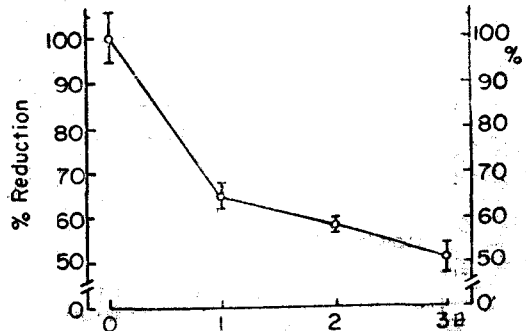


Fig. 6: 급성기아마우스 肝 RNA 감소율

그러므로 第3表의 RNA/DNA比의 減少 즉 2.21에서 1.4에 이르는 감소율을 보아도 分明하듯이 DNA보다 RNA의 감소가 더욱 현저하며 이는 肝蛋白質의 감소와 그 樣相이 흡사하다 할 것이다. 何如間 生體內에서 매우 安定한 分子의 代表的인 것으로 볼 수 있는 DNA마저 감소한다는 것은 급성기아가 最大限 生化學的 變動을 초래하는 根本要因의 하나로 간주할 수 있어 매우 重要한 사실이라 보겠다.

5. 肝蛋白質 GDA, 및 酸減少와 기아마우스의 體重 肝重, 量 減少의 核相關關係에 對하여

먼저 기아로 말미암은 體重減少는 마우스의 肝蛋白質減少와는 別로 相關이 없는 것 같으며 第7圖의

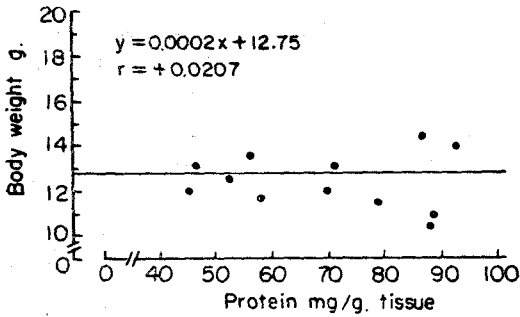


Fig. 7: 급성기아마우스 肝蛋白質減少와 體重감소의 相關關係.

regression line에서 보듯이 $r = +0.02$ 로서 相關關係가 희박하다. 그러므로 肝蛋白質의 減少가 직접 體重감소를 結果하는 것은 아닌 것이며 肝蛋白質減少 아닌 餘他の 要因에 起因하여 體重의 減少함을 보여주고 있다.

그러나 一方 肝核酸의 減少는 DNA에서는 第8圖에서 보듯이 $r = +0.323$ 으로서 역시 相互關聯性은 희박하나 第9圖에서 分明한 것은 RNA減少와의 關係이다. 즉 肝 RNA는 相關係數 $r = +0.6$ 으로써 매우 強한 函數的 變動을 肝蛋白質과 더불어 보여주고 있다. 그러므로 急性기아로 因한 마우스의 肝蛋白質은

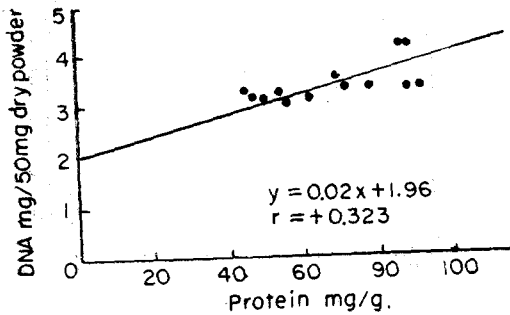


Fig. 8: 급성기아마우스의 肝蛋白質減少와 肝 DNA 감소와의 相關關係.

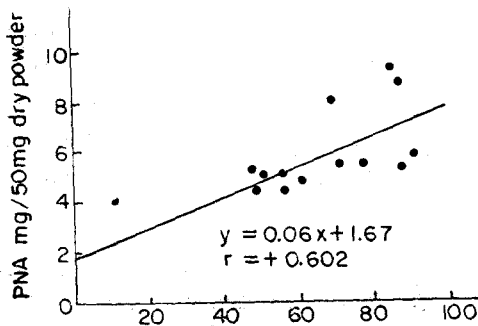


Fig. 9: 급성기아마우스 肝蛋白質 肝 RNA 감소와 감소의 相關關係.

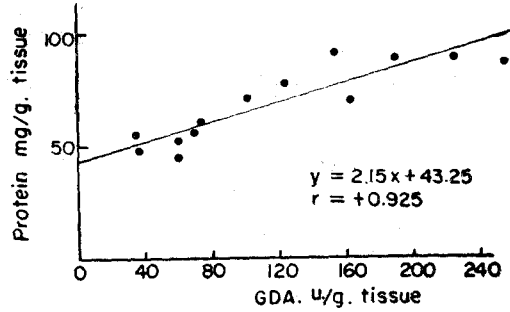


Fig. 10: 급성기아마우스 肝蛋白質 및 GDA 活性變動의 相關關係.

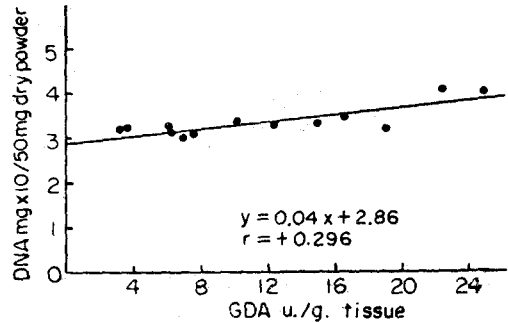


Fig. 11: 급성기아마우스 肝 DNA 와 GDA 活性變動의 相關關係.

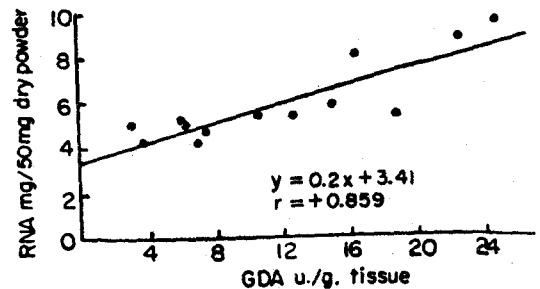


Fig. 12: 급성기아마우스 肝 RNA 및 RNA 變動의 相關關係

DNA보다 오히려 RNA와 比例하여 일어나고 있으며 이는 蛋白質合成의 過程에 直接 關與하고 있는 RNA로서 宜當 該할 것이 豫상되고 유전 因子로서의 DNA와는 그 감소가 別無關임을 立證한 것이라고 볼 수 있겠다.

한편 기아마우스의 肝 GDA 活性變動과 肝蛋白質 및 核酸과의 關係를 살피면 各各 第 10, 11, 12, 圖와 같다.

蛋白質과 核酸變化에서와 흡사한 樣相으로서 DNA와 GDA 活性은 역시 稀薄한 相關關係이며 (第11圖, $r = +0.296$) RNA와 더욱 密接한 關係下에 있고 RNA보다는 蛋白質含量減少와는 더욱 큰 函數的 相關關係下에 그 肝活性이 減少하고 있다.

즉 第10圖에서 보듯이 肝蛋白質과는 $r=+0.925$ 로서 가장 큰 의의있는 相關性을 보이고 있고 다음이 第12圖에서 보듯이 $r=+0.925$ 로서 相當히 의의깊은 相關係數를 나타내고 있으니 이는 蛋白質로서의 효소 活性變動을 如實히 말해주고 있다. 즉 유전정보의 保存에 그치고 蛋白質合成의 유전정보만을 간직한 DNA 보다 RNA 나 蛋白質의 減少에 효소活性減少는 直結됨을 알 수가 있다.

考 察

生體가 기아에 빠지면 영향을 크게 미치는 代謝上의 stress에 빠지게 되는바 이윅고는 重大한 abnormality를 초래하게 마련이다. 즉 그 一例를 든다면 體脂肪質이나 蛋白質의 生體貯藏成分이 energy 源으로서 산화되어 결국은 지질대사가 항진되고 acidosis나 ketosis를 초래하기에 이른다. 왜냐하면 血中の 含水炭素量은 正常으로 유지되어야 하고 이는 體脂肪質이나 蛋白質의 分解를 의미하기 때문이다. 따라서 本論文의 結果에서 뒷받침되고 있듯이 肝蛋白質의 減少는 切忌하게 일어날 것이 分明하다.

體重減少가 여태까지는 edema 등이 수반되지 아니하는 限 營養失調의 가장 좋은 指標가 되어왔다. 그러므로 體重減少가 切忌할수록 이는 營養失調가 甚한 것을 端的으로 表現하는 것이다. 本實驗의 結果도 이를 雄辯히 立證해주고 있으며 급성기아에서는 마우스에 있어서 3日만에 막대한 減소를 結果하고 있다. 가장 오랜 人體기아의 연구로는 Benedict의 報告¹⁰를 들 수가 있다. 그는 1919년에 一例의 31日間 觀察한 結果 正常 때의 20.5%에까지 減少하는 것을 보고하고 있으면 Keys等³은 24주일간 準기아상태로 두면 體重이 24.3%로 減소한다고 하고 있다. 그밖에도 비만한 人體는 기아로써 1日 平均 1~3kg의 體重減소를 보는 것이며^{9,11} 正常人에 있어서도 3~5日間의 기아상태만 계속되면 1日 약 1.2kg의 體重減少가 수반하는 것으로 알려져 있다^{4,12}. 그러나 마우스의 경우 급성기아 下에서는 本研究에서 뚜렷하듯이 더욱이 보다도 切忌한 減소를 가져오고 있으며 이는 간重量에서도 같은 現象임을 알 수가 있다.

過去 數年間 Bloom¹³等 여러 學者들에 依하면 體重減少의 方便으로 (肥滿人의 境遇)기아를 권장하여 왔으나 이에 反하여 Benoit²⁰等과 Spencer와 Laszlo⁶는 기아期間中에 生體組織을 이루는 成分 減소한다고 하여 이에 찬성치 않고 있다. 이를 則면 平均해서 各 10日間의 7.25kg 體重減少는 10日間의 Calorie 섭취량을 훨씬 上廻하고 있다. 말

하자면 10日間의 기아기간중 1日 平均 2,500K Cal를 小모한다면 7,700K Cal의 小모가 體組織 1kg에 해당하는 量이 된다. 그러므로 體蛋白質이나 脂質에 起因하는 體重減少는 3.3kg에 不過한 것이므로 결국 남아지는 體水分의 감소에 起因한다고 하겠다. 이는 Keys等³의 研究를 기다릴 것도 없이 틀림없는 사실이고 또한 일반적으로 기아하에서는 細胞外液이 감소하는 것이고 따라서 그 結果 이에 比例하여 plasma water成分이나 blood volume全體가 감소하는 등 여러 要因이 것드려 體重減少가 오기는 하겠지만 著者는 本論文의 結果에서 이미 확실히 지적되었듯이 肝蛋白質의 극적인 감소에 영양학적인 問題만이 아닌 커다란 의미를 生化學的 要因으로까지 생각지 않을 수 없는 것이다. 왜냐하면 이미 分明하듯이 급성기아로서 유전인자이면 蛋白質合成의 정보를 간직한 DNA마저 減少하므로 體組織의 構成成分으로서의 蛋白質은 물론이려니와 대사조절의 커다란 要因인 hormone 또는 효소로서의 蛋白質도 격감하게 될 것이니 生體의 모든 대사面에 異狀狀態를 유발하게 되는 것이고 그 原因은 實로 RNA 減少로서 要約된다 는 것을 本實驗에서 확인한 點을 重視하는 것이다.

이미 成書에도 알려져 있는바와 같이 효소나 hormone 할 것 없이 모든 蛋白質의 生體內合成 기전을 볼 때 DNA의 유전정보 없이는 當初에 蛋白質은 合成되지 아니하는 것이며 또한 이 DNA의 유전정보를 messenger-RNA가 핵으로부터 세포질의 Ribosome으로 전달하고 또한 蛋白質合成의 材料라고 할 수 있는 아미노酸을 세포질에서 ribosomal RNA로 Soluble-RNA가 운반하는 등을 想起할 때 DNA여 근소한 減소는 그것이 아무리 근소하다고 하더라도 生成되는 蛋白質에 定量的으로는 물론이고 定性的인 變化까지도 가져올 수 있다는 것으로 된다. 그렇다면 급성기아로서 유발된 肝 DNA의 감소는 단순히 體重 減소나 肝重量減소에 그 의의를 찾을 것보다, 오히려 變形된 異狀蛋白質의 出現마저 想定하게 할 수도 있을 것이다. 실제로 本論文에서 보듯이 肝는 體重 減소나 肝重量減소 乃至는 肝蛋白質의 減소와는 통계적으로 볼 때 相關性이 없는 점으로 充分 짐작되는 문제이고 이는 다른 生化學的 角度에서 論議되어야 하겠거니와 오히려 肝 RNA의 감소는 肝蛋白質의 減소와 아울러 肝 GDA라는 효소 蛋白質의 減소와 直接 函數的인 相關性을 드러내고 있는 點은 前記한바와 같은 蛋白質의 生合成機轉上으로 볼때 당연한 결과라 할 것이다. 그러나 本論文의 結果만으로는 messenger, ribosomal, 또는 soluble RNA의 그 어느 것의 減소가 더욱 더 關聯되고 있는 것인지 或은 三者

共に 相互關聯된 것인지의 如否를 가리기 힘들다 하겠다.

한편 肝 GDA 活性마저도 著しい 減少를 보이고 있는 바 이는 purine 의 異化作用의 著しい 變化를 말해주고 있다. 즉 purine 異化作用은 各 purines 의 monophosphate 또는 그 riboside 또는 free base 等 여러 分子 相互間의 interconversion 을 말하는 것인데 purine 代사의 終産物인 uric acid 生成에 이바지하는 효소이다. 이것은 주로 肝이나 腦에만 있고 餘地의 장기에는 없으며 그 活性이 있어도 매우 極微한 것으로 알려져 있는 것이다²¹⁾. 뿐만 아니라 근자 이를 精査 分析한 結果 이 효소에는 isozyme 이 存在하며²²⁾ 또한 이 활성의 低下 간조직의 病的狀態를 가려내는 指標도 될 수 있는 것으로 알려졌다.²³⁾

그러한 GDA 활성이 肝에서 弱화된 것은 여러가지 要因을 생각할 수 있겠으나 그 하나로서 DNA 나 RNA 감소로 말미암은 合成기전의 기능저하로 결과한 것일 것이다.

말하자면 核酸의 減少가 甚해 짐으로 生體는 대상성인 control mechanism 을 갖게 되어 오히려 核酸이 異化되어 없어지는 것만이라도 저지해 보려는 방어기전의 일환으로 GDA 활성의 저하를 가져온다고 추정해도 무방할 것이나 본 論文의 結果만으로 確定할 수는 없고 이는 더욱 더 연구해야 될 과제라고 생각된다.

以上 論한 바와 같이 完全한 급성기아는 本論文의 結果로 보아 아무리 비타민이나 礦物質 또는 水分을 공급한다고 하더라도 核酸 level 에서 減少가 오고 따라서 肝의 蛋白質뿐만 아니라 효소 활성에마저 著しい 減少를 가져오므로 營養學的으로 control 하기가 困難한 程度에까지 이르게 될 것이므로 효소나 호르몬 치료등 巨分子 投與마저 아울러 고려해야 될 實로 重大한 問題를 切感하는 것이다.

結 論

(1) 急性飢餓下에서는 마우스의 體重 및 肝重量은 急激히 下降하나 體重減少와 肝蛋白質減少에는 의의 있는 相關이 없는 것 같다.

(2) 急性飢餓마우스의 肝蛋白質 및 guanase 活性亦是 減少하나 그 減少樣相이 서로 다르다. 그러나 이 효소의 比活性 즉 活性/蛋白質은 飢餓의 進行과 더불어 漸減한다.

(3) 급성기아 마우스의 肝 DNA 및 RNA 는 共に 減少하나 RNA가 더욱 현저한 減少를 보인다.

(4) 肝蛋白質의 飢餓에 因한 減少는 DNA 와는 의의 있는 相關이 없으나 RNA와는 函數的 關聯下에 減

少하는 것이다.

(5) 肝 guanine deaminase 活性은 기아의 進行과 더불어 減少하기는 하나 DNA의 減少보다도 RNA의 減少에 더욱 의의 있는 相關性을 띠고 變化한다. 그중 肝蛋白質과 가장 큰 相關性을 가지고 減少한다.

(6) 急性飢餓가 惹起하는 現象中 핵산代사의 효소인 GDA 의 活性을 감소시킨다거나 핵산 특히 RNA 의 減少가 있는 것이 肝蛋白質 감소나 아가서는 體重減少를 가져오는 한 要因이 될 수 있으며 僅少하기는 하나 유전인자로서의 重要性을 띠고 있는 DNA의 減소마저 일으키는 點等은 營養學的으로는 물론이려니와 커다란 生物學的 意義를 가지는 것인 바 이와 같은 點에 對하여 考察을 試圖하였다.

References

- 1) *Nutr. Rev.* 20, 40, 1962
- 2) Tailor, H. L. et al. *J. Appl. Physiol.* 6, 613, 1954
- 3) Keys, A. et al, *Human Starvation, U. of Minnesota Press; 1951*
- 4) Johnson, R.E., *U.S. Army Medical Report, D A Contract 49-194-MD-222, 1965*
- 5) Van Riet, H. G. et al., *Metab. Clin. Exptl.*, 13, 291, 1964
- 6) Spenset, H. et al. *Fed. Proc.*, 22, 597, 1965
- 7) Kekwick, A, & Pawan, G. L. S., *Metab. Clin. Exptl*, 6, 447, 1965
- 8) Cristofori, C. & Duncan, G. G., *Metab. Clin. Exptl.*, 13, 303, 1964
- 9) Stevenson, J. A. F., *Survey of Survival feeding. Defense Res. Board Rept. No. DR 125, 1958*
- 10) Benedict, F. G., *Carnegie Inst. Washington Publ. No. 280, 1915*
- 11) Gellene, R. et al., *Fed. Pro.*, 24, 1021, 1965
- 12) Lowry, O. H. et. al., *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951
- 13) *Biochem. Data, Academic Press, 1962.*
- 14) Caraway, W. T., *Clin. Chem.*, 12, 187, 1966
- 15) Vischer, E. & Chargaff, E., *J. Biol. Chem.*, 176, 715, 1948
- 16) Sevag, M. et al., *J. Biol. Chem.*, 124, 425, 1938
- 17) Marmur, A., *J. Mol. Biol.*, 2, 1962
- 18) Chargaff, E., *Nucleic Acid vol. 1, Academic Press*
- 19) Bloom, W. L., *Metab. Clin. Exptl.*, 8, 214, 1959
- 20) Benoit, F., L., et. al., *Ann. Internal Med.*, 63, 604, 1965
- 21) Levine, P. et. al., *Cancer*, 16, 269, 1963
- 22) 金昇元: 中央醫學, 12, 5, 1967
- 23) 金昇元: 小兒科 10, 325, 1967