

CCl₄의 肝臟毒作用에 미치는 Thyroxine의 影響

高麗大學校 醫科大學 藥理學教室

洪 基 成 · 千 然 淑

= Abstract =

Influence of Thyroxine on the Hepatotoxicity of Carbon Tetrachloride

Ki Sung Hong, M.D. and Yun Sook Cheon, M.D., Ph.D.,

Department of Pharmacology, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

Calvert et al. formulated the hypothesis that carbon tetrachloride(CCl₄) acted on the central nervous system to produce and intensify sympathetic discharge which resulted in anoxic necrosis of the liver.

Recknagel suggested that the essential feature of CCl₄ hepatotoxicity depended on the cleavage of it to CCl₃(free radical) and the peroxidative decomposition of cytoplasmic membrane structural lipids.

And there are many reports which show the increase of adrenergic activity in hyperthyroidism.

In this paper, the influence of thyroxine on the hepatotoxicity of carbon tetrachloride was investigated in mice.

The results obtained were summarized as follows;

1) Hepatic total lipid and lipid peroxide contents were slightly decreased by L-sodium thyroxine injection(4 mg/kg/day for 4 days or 6 days), but hepatic glycogen content was significantly decreased.

2) Hepatic total lipid and lipid peroxide contents and serum lactic dehydrogenase activity were significantly increased by CCl₄(4 ml/kg single dose or triple dose: 4 ml/kg/day for 3 days), but hepatic glycogen content was significantly decreased.

3) The increase of hepatic total lipid and lipid peroxide contents and serum lactic dehydrogenase activity induced by CCl₄ were significantly inhibited by the pretreatment of thyroxine.

4) The decrease of hepatic glycogen induced by CCl₄ was not affected by the pretreatment of thyroxine.

緒 論

Carbon tetrachloride(CCl₄)는 肝 endoplasmic reticulum(ER)의 非特異性 oxidase 系에 依하여 CCl₃로 酸化되어 ER 膜의 polyenoic acid 를 酸化시켜서 過酸化脂質을 形成하므로 ER의 構造 및 機能을 減少^{1~6)}

시킨다.

따라서 triglyceride와 結合하여 血中으로 分泌되는 apoprotein이 減少하고 脂肪蓄積이 일어나며 細胞膜의 透過性 增加와 細胞內 Ca⁺⁺의 流入이 일어난다²⁾. 그러기 때문에 肝組織은 低酸素症 現象과 類似的한 經路를 거쳐서 肝細胞는 壞死에 이르게 된다고 한다³⁾. 그 때 細胞의 calcium 平衡調節機能이 麻痺되어 可逆性으

로 細胞가 破壞된다고 Farber 等⁷⁾은 報告하였다. Calvert 等^{8~10)}은 CCl₄의 肝臟毒作用이 中樞性 交感神經系 興奮으로 肝細胞에 低酸素症이 일어나므로 誘發된다고 하였으며 Larson^{11,12)}等은 그에 反論을 提起하였다. 또한 Larson 等¹³⁾은 CCl₄의 毒作用이 thyroxine에 依하여 더욱 惡化된다고 하였다. 實際 CCl₄中毒時에는 肝臟內에 triglyceride와 過酸化脂質이 蓄積되고 肝糖原은 減少하며 mitochondria의 oxidative phosphorylation의 uncoupling으로 ATP 形成이 低下되고 Ca⁺⁺의 增加와 K⁺의 減少가 나타난다고 한다^{2~7)}. 그리고 Moore 等¹⁴⁾은 CCl₄의 肝臟毒作用과 mitochondria의 Mg-ATPase 活性度 增加에는 뚜렷한 相關關係가 있음을 報告하였다. Thyroid hormone은 一般的으로 肝의 脂肪量을 減少시키며, mitochondria의 蛋白合成과 ATPase의 活性度 및 oxidative phosphorylation을 促進시킨다고 한다^{15~17)}. 따라서 著者는 CCl₄의 肝臟毒作用에 미치는 thyroid hormone의 影響을 實驗觀察하여 다음과 같은 興味로운 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

實驗動物로는 一定한 飼料로 一週日以上 同一場所에서 飼育한 體重 20g 內外의 健康한 雄性 mouse를 使用하였다. 實驗에 使用된 mouse 群은 다음과 같이 區分하였다.

- ① 正常群(N)
- ② 對照群(生理食鹽水 3日 또는 6日 注射群 C)
- ③ Thyroxine 3日 注射群(T₃)
- ④ Thyroxine 6日 注射群(T₆)
- ⑤ CCl₄ 1日 注射群(C₁)
- ⑥ CCl₄ 3日 注射群(C₃)
- ⑦ Thyroxine 3日 前處置後 CCl₄ 注射群(T₃C)
- ⑧ Thyroxine 3日 注射後 Thyroxine 과 CCl₄ 3日 併合注射群(T₆C₃)

藥物은 生理食鹽水(4 ml/kg)와 thyroxine(4mg/kg)은 腹腔內 注射하였고 CCl₄(4 ml/kg)는 皮下注射하였으며 各 群마다 10마리의 mouse를 使用하였다.

Mouse 肝에 對한 實驗

Mouse 頸部를 切斷하고 充分히 瀉血시킨 後 即時 開腹하고 肝을 摘出하여 20% homogenate를 만들어서

- ① 肝總脂質含量은 Frings-Dunn 方法¹⁸⁾
- ② 肝糖原含量은 Kemp-Kits 方法¹⁹⁾

③ 肝過酸化脂質含量은 大石方法²⁰⁾으로 各 各 測定하였다.

Mouse 血清에 對한 實驗

Mouse 頸部를 切斷하여 얻은 血液을 遠心分離하여 血清을 얻었으며 血清 lactic dehydrogenase(LDH)는 Cabaud-Wroblewski 方法²¹⁾으로 測定하였다.

本實驗에 使用된 藥物은 L-Thyroxine Sodium(東京化成工業株式會社), CCl₄(和光純藥工業株式會社)等이다.

實驗 成績

A) Mouse 肝에 對한 實驗

a. 肝總脂質含量에 對한 實驗

1. 正常群

正常 雄性 mouse의 肝總脂質含量은 39.5 ± 4.4 mg/gm 이었다(Table 1).

2. 對照群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 thyroxine 3日 注射群과 條件을 같게하기 위하여 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30분에 다시 生理食鹽水を 注射하여 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 37.9 ± 3.3 mg/gm 이고, thyroxine 6日 注射群과 條件을 맞추기 위하여 生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 30分 間隔으로 1日 2回 3日 注射하여 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 40.0 ± 3.2 mg/gm 로서 生理食鹽水 3日 注射群과 6日 注射群間의 肝總脂質含量에 別差異를 볼 수가 없어서 生理食鹽水 注射群들을 모두 합하여 나누어 對照群으로 하였다. 이 對照群의 總脂質含量은 38.9 ± 3.3 mg/gm 로서 正常群에 比하여 別變化가 없었다(Table 1, Fig 1).

3. Thyroxine 3日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30분에 다시 thyroxine 을 注射하여 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 30.4 ± 2.9 mg/gm 로서, 對照群에 比하여 21.9% 減少되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었다(Table 1, Fig 1).

4. Thyroxine 6日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 thyroxine 과 生理食鹽水を 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合注射하여 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 35.1 ± 2.1 mg/gm 로서 對照群에 比하여 9.8%

Table 1. Effect of thyroxine and carbon tetrachloride on the changes of hepatic total lipid, glycogen, and lipid peroxide contents and the serum LDH activity

| Experiment group | Liver | | | Serum |
|------------------------------------|------------------------------|------------------------------|--|-----------------------------------|
| | Total lipid (mg/gm) | Glycogen (gm%) | Lipid peroxide (A. of TBA ₅₅₂ /gm) | LDH activity (Wroblewski Unit) |
| Normal | 39.5±4.4 | 3.56±0.12 | 19.3±1.4 | 353.8±44.0 |
| Control | 38.9±3.3 -1.5% | 3.62±0.30 1.7% | 19.0±2.5 -1.6% | 368.5±52.3 4.2% |
| Thyroxine 3 day | 30.4±2.9 -21.9% | 0.74±0.08 -79.6%, p<0.001 | 15.9±2.4 -16.3% | 348.8±31.3 -5.4% |
| Thyroxine 6 day | 35.1±2.1 -9.8% | 0.28±0.06 -92.3%, p<0.001 | 14.9±1.7 -21.6% | 350.0±39.3 -5.0% |
| CCl ₄ 1day | 88.2±10.3 126.7%, p<0.001 | 0.45±0.12 -87.6%, p<0.001 | 64.3±13.3 248.4%, p<0.001 | 838.3±54.4 127.5%, p<0.001 |
| CCl ₄ 3day | 89.4±6.9 129.8%, p<0.001 | 0.67±0.24 -81.5%, p<0.001 | 51.0±4.9 168.4%, p<0.001 | 891.7±69.5 142.0%, p<0.05 |
| Thyroxine 3day+CCl ₄ | 45.2±4.4 16.2% | 0.26±0.04 -92.8%, p<0.001 | 25.1±2.8 32.1% | 631.7±35.6 71.4%, p<0.01 |
| Thyroxine 6day+CCl ₄ | 36.1±3.1 7.2% | 0.32±0.06 -91.2%, p<0.001 | 24.8±3.5 30.5% | 693.3±38.4 88.1%, p<0.001 |

These data indicate mean±standard error.

減少되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었다 (Table 1, Fig. 1).

5. CCl₄ 1日 注射群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 生理食鹽水 注射後 30分에 CCl₄를 注射하여 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 88.2±10.3 mg/gm 로서, 對照群에 比하여 126.7% 增加되어 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1, Fig. 1).

6. CCl₄ 3日 注射群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日부터는 生理食鹽水와 CCl₄를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合 注射하여 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 89.4±6.9 mg/gm 로서 對照群에 比하여 129.8% 增加되어 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1, Fig. 1).

7. Thyroxine 3日 前處置後 CCl₄注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 thyroxine 注射後 30分에 CCl₄를 注射하고 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 45.2±4.4 mg/gm 로서, 對照群에 比하여 16.2% 增加되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었고 thyroxine 3日 注射群에 比하여는 48.6% 增加되었고 CCl₄注射群에 比하여는 48.8% 減少되어 모두 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1~3, Fig. 1).

8. Thyroxine 3日 注射後 thyroxine 과 CCl₄ 3日 併合 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 thyroxine 과 CCl₄를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合 注射하여 24時間後에 測定한 肝總脂質含量은 36.1±3.1 mg/gm 로서 thyroxine 6日 注射群에 比하여는 2.8% 增加되어 統計學的인 有意性은 볼 수 없었지만 CCl₄ 3日 注射群에 比하여는 59.6% 減少되어 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1~3, Fig. 1).

b. 肝糖原含量에 對한 實驗

1. 正常群

正常 雄性 mouse 의 肝糖原含量은 3.56±0.12 gm% 이었다 (Table 1).

2. 對照群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 다시 生理食鹽水を 注射하여 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 3.63±0.33 gm% 이고, 生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日부터는 30分 間隔으로 1日 2回 3日 注射하여 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 3.60±0.23 gm% 로서 生理食鹽水 3日 注射群과 6日 注射群間의 肝糖原含量에 別 差異를 볼 수가 없어서 生理食鹽水 注射群들을 모두 합하여 나누어 對照群으로 하였다. 이 對照群의 肝糖原含量은 3.62±0.30 gm% 로서 正常群에 比하여 別 變化가 없었다 (Table 1, Fig 1).

Table 2. Effect of CCl₄ on the changes of hepatic total lipid, glycogen, and lipid peroxide contents and the serum LDH activity of mice treated with thyroxine

| Experiment group | Liver | | | Serum |
|---------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|--|--------------------------------|
| | Total lipid (mg/gm) | Glycogen (gm%) | Lipid peroxide (A.of TBA ₅₃₂ /gm) | LDH activity (Wroblewski unit) |
| Thyroxine 3day | 30.4±2.9 | 0.74±0.08 | 15.9±2.4 | 348.8±31.3 |
| Thyroxine 3day +CCl ₄ 1day | 45.2±4.4 48.6%, p<0.02 | 0.26±0.04 64.8%, p<0.001 | 25.1±2.8 57.9%, p<0.05 | 631.7±35.9 81.1%, p<0.001 |
| Thyroxine 6day | 35.1±2.1 | 0.28±0.06 | 14.9±1.7 | 350.0±39.3 |
| Thyroxine 6day +CCl ₄ 3day | 36.1±3.1 2.8% | 0.32±0.06 14.2% | 24.8±3.5 66.4%, p<0.05 | 693.3±38.4 98.1%, p<0.001 |

These data indicate mean±standard error.

Table 3. Influences of thyroxine on the changes of hepatic total lipid, glycogen, and lipid peroxide contents and the serum LDH activity induced by CCl₄ in mice

| Experiment group | Liver | | | Serum |
|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--|--------------------------------|
| | Total lipid (mg/gm) | Glycogen (gm%) | Lipid peroxide (A.of TBA ₅₃₂ /gm) | LDH activity (Wroblewski unit) |
| CCl ₄ 1day | 88.2±10.3 | 0.45±0.12 | 64.3±13.3 | 838.3±54.4 |
| Thyroxine 3day +CCl ₄ 1day | 45.2±4.4 48.8%, p<0.02 | 0.26±0.04 45.2% | 25.1±2.8 61.0%, p<0.02 | 631.7±35.6 24.6%, p<0.01 |
| CCl ₄ 3day | 89.4±6.9 | 0.67±0.24 | 51.0±4.9 | 891.7±69.5 |
| Thyroxine 6day +CCl ₄ 3day | 36.1±3.1 59.6%, p<0.001 | 0.32±0.06 52.2%, p<0.05 | 24.8±3.5 51.4%, p<0.01 | 693.3±38.4 22.2%, p<0.05 |

These data indicate mean±standard error.

3. Thyroxine 3日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 thyroxine 을 注射하여 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 0.74±0.08 gm%로서 對照群에 比하여 79.6% 減少되어 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1, Fig. 1).

4. Thyroxine 6日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 4日 부터는 thyroxine 과 生理食鹽水를 30分間隔으로 1日 1回 3日 併合注射한後 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 0.28±0.06 gm%로서 對照群에 比하여 92.3% 減少되어 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1, Fig. 1).

5. CCl₄ 1日 注射群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 生理食鹽水 注射後 30分에 CCl₄를 注射하여 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 0.45±0.12 gm%로서 對照群에 比하여 87.6% 減少되어 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1, Fig. 1).

6. CCl₄ 3日 注射群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 4日 부터는 生理食鹽水와 CCl₄를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合注射하고 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 0.67±0.24 gm%로서 對照群에 比하여 81.5% 減少되어 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1, Fig. 1).

7. Thyroxine 3日 前處置後 CCl₄注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 thyroxine 注射後 30分에 CCl₄를 注射하여 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 0.26±0.04 gm%로서, 對照群에 比하여 92.8% 減少되었고 thyroxine 3日 注射群에 比하여도 64.8% 減少되어 統計學的으로 有意義하였다. CCl₄注射群에 比하여는 45.2% 減少되었으나 統計學的인 有意성은 볼 수 없었다 (Table 1~3, Fig. 1).

8. Thyroxine 3日 注射後 thyroxine 과 CCl₄ 3日 併合 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 4日 부터는 thyroxine 과 CCl₄를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合 注射하여 24時間後에 測定한 肝糖原含量은 0.32±0.06 gm%로서 對照群에 比하여 91.2% 減少되

어 統計學的으로 有意義하였고 thyroxine 6日 注射群에 比하여는 14.2% 增加되어 統計學的인 有意性은 볼 수 없었지만 CCl_4 3日 注射群에 比하여는 52.2% 減少되어 統計學的으로 有意義하였다(Table 1~3, Fig. 1).

c. 肝過酸化脂質含量에 對한 實驗

1. 正常群

正常 雄性 mouse 의 肝過酸化脂質含量은 19.3 ± 1.4 absorption of TBA_{532}/gm (A. of T./gm) 이었다(Table 1).

2. 對照群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 다시 生理食鹽水を 注射하여 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 18.7 ± 2.8 A. of T./gm 이고 生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 30分 間隔으로 1日 2回 3日 注射하여 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 19.9 ± 2.3 A. of T./gm 로서 生理食鹽水 3日 注射群과 6日 注射群間의 肝過酸化脂質含量에 別 差異를 볼 수가 없어서 生理食鹽水 注射群들을 모두 合하여 나누어 對照群으로 하였다. 이 對照群의 肝過酸化脂質含量은 19.0 ± 2.5 A. of T./gm 로서 正常群에 比하여 別 變化가 없었다(Table 1, Fig. 1).

3. Thyroxine 3日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 thyroxine 을 注射하고 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 15.9 ± 2.4 A. of T./gm 로서 對照群에 比하여 16.3% 減少되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었다(Table 1, Fig. 1).

4. Thyroxine 6日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 thyroxine 과 生理食鹽水を 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合注射하여 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 14.9 ± 1.7 A. of T./gm 로서 對照群에 比하여 21.6% 減少되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었다(Table 1, Fig. 1).

5. CCl_4 1日 注射群

生理食鹽水 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 CCl_4 를 注射하여 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 64.3 ± 13.3 A. of T./gm 로서 對照群에 比하여 248.4% 增加되어 統計學的으로 有意義하였다(Table 1, Fig. 1).

6. CCl_4 3日 注射群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 生理食鹽水和 CCl_4 를 30分 間隔으로 1日 1回

3日 併合注射하여 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 51.0 ± 4.9 A. of T./gm 로서 對照群에 比하여 168.4% 增加되어 統計學的으로 有意義하였다(Table 1, Fig. 1).

7. Thyroxine 3日 前處置後 CCl_4 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 thyroxine 注射後 30分에 CCl_4 를 注射하여 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 25.1 ± 2.8 A. of T./gm 로서 對照群에 比하여 32.1% 增加되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었고 thyroxine 3日 注射群에 比하여는 57.9% 增加되고 生理食鹽水 3日 前處置後 CCl_4 注射群에 比하여는 61.0% 減少되어 모두 統計學的으로 有意義하였다(Table 1~3, Fig. 1).

8. Thyroxine 3日 注射後 thyroxine 과 CCl_4 3日 併合注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 thyroxine 과 CCl_4 를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合 注射하여 24時間後에 測定한 肝過酸化脂質含量은 24.8 ± 3.5 A. of T./gm 로서 對照群에 比하여 30.5% 增加되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었고 thyroxine 6日 注射群에 比하여는 66.4% 增加되고, CCl_4 3日 注射群에 比하여는 51.4% 增加되어 모두 統計學的으로 有意義하였다(Table 1~3, Fig. 1).

B) Mouse 血清 LDH 活性度에 對한 實驗

1. 正常群

正常 雄性 mouse 의 血清 LDH 活性度は 353.8 ± 44.0 Wroblewski unit (Wr.U) 이었다(Table 1).

2. 對照群

生理食鹽水 4 ml/kg 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 다시 生理食鹽水を 注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度は 346.3 ± 42.3 Wr.U 이고 生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 30分 間隔으로 1日 2回 3日 注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度は 421.7 ± 53.2 Wr.U 로서 生理食鹽水 3日 注射群과 6日 注射群間의 血清 LDH 活性度に 別 差異를 볼 수가 없어서 生理食鹽水 注射群들을 모두 合하여 나누어 對照群으로 하였다. 이 對照群의 血清 LDH 活性度は 368.5 ± 52.3 Wr.U 로서 正常群에 比하여 別 變化가 없었다(Table 1, Fig. 1).

3. Thyroxine 3日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 thyroxine 을 注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度は 348.8 ± 31.3 Wr.U 로서 對

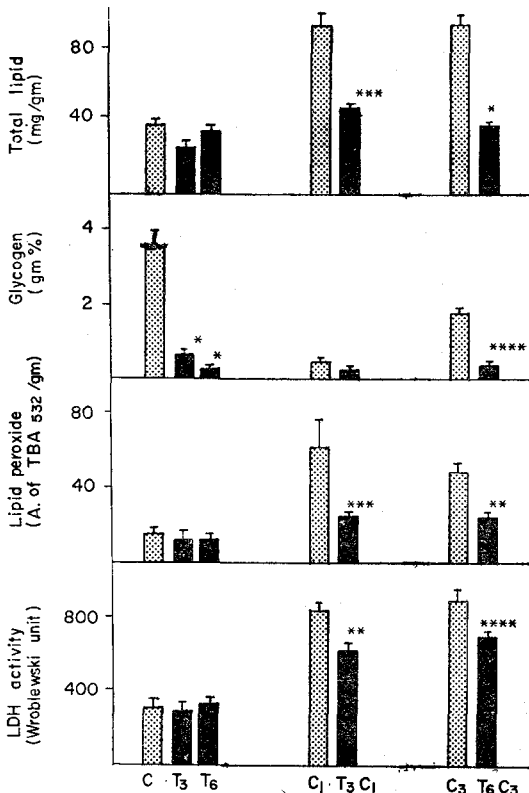


Fig. 1. Influences of thyroxine on the changes of total lipid, glycogen, lipid peroxide and the serum LDH activity induced by CCl₄ in mice.

* : p<0.001, ** : p<0.01, *** : p<0.02, **** : p<0.05

照群에 比하여 5.4% 減少되었으나 統計學的인 有意性은 볼 수 없었다(Table 1, Fig. 1).

4. Thyroxine 6日 注射群

Thyroxine 4 mg/kg 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 thyroxine 과 生理食鹽水를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度는 350.0±39.3 Wr.U로서 對照群에 比하여 5.0% 減少되어 統計學的인 有意性은 볼 수 없었다(Table 1, Fig. 1).

5. CCl₄ 1日 注射群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 注射後 30分에 CCl₄를 注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度는 838.3±54.4 Wr.U로서 對照群에 比하여 127.5% 增加되어 統計學的으로 有意義하였

다(Table 1, Fig. 1).

6. CCl₄ 3日 注射群

生理食鹽水 4 ml/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 生理食鹽水와 CCl₄를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度는 891.7±69.5 Wr.U로서 對照群에 比하여 142.0% 增加되어 統計學的으로 有意義하였다(Table 1, Fig. 1).

7. Thyroxine 3日 前處置後 CCl₄注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 마지막 thyroxine 注射後 30分에 CCl₄를 注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度는 631.7±35.6 Wr.U로서 對照群에 比하여 71.4% 增加되었고 thyroxine 3日 注射群에 比하여 81.1% 增加되었으며 CCl₄注射群에 比하여는 24.6% 減少되어 이들의 增減은 모두 統計學的으로 有意義하였다(Table 1~3, Fig. 1).

8. Thyroxine 3日 注射後 thyroxine 과 CCl₄ 3日 併合注射群

Thyroxine 4 mg/kg 를 1日 1回 3日 注射하고 第4日 부터는 thyroxine 과 CCl₄를 30分 間隔으로 1日 1回 3日 併合注射하여 24時間後에 測定한 血清 LDH 活性度는 693.3±38.4 Wr.U로서 對照群에 比하여 88.1% 增加되었고 thyroxine 6日 注射群에 比하여는 98.1% 增加되었으며 CCl₄ 3日 注射群에 比하여는 22.2% 減少되어 이들의 增減은 모두 統計學的으로 有意義하였다(Table 1~3, Fig. 1).

考 察

Thyroid hormone 은 蛋白質 合成을 促進^{22,23}시키고 mitochondria의 oxidative phosphorylation을 促進하며^{24,25} 過量에서는 oxidative phosphorylation의 uncoupling을 일으킨다고 한다. 또한 細胞膜에 作用하여 蛋白質合成과 關係없이 amino acid²⁷와 Ca⁺⁺의²⁸ 細胞內 流入을 促進시킨다고 한다. 그런데 CCl₄가 ER의 蛋白質 合成을 抑制시켜 apoprotein의 減少를 招來하므로 triglyceride가 血中으로 나가지 못하고 肝 細胞에 蓄積하게 된다²⁹. 그리고 CCl₄는 mitochondria의 Ca⁺⁺과 Na⁺增加 및 K⁺의 減少²⁹와 oxidative phosphorylation의 uncoupling 등을 일으킨다고 한다^{2~4}. CCl₄肝臟毒作用은 正常體溫時보다 體溫低下時에 顯著히 減少된다고 하며^{13,30}, 主로 中樞性 交感神經系 興奮에 依한 catecholamine 遊離에 依하여 나타난다고 한다^{10~12}. 그러나 thyroid hormone

은 投與後 數時間에서 數十時間의 潜伏期가 지난 後에 야 作用效果를 나타내기 始作하여 6~10일에 最高 效果를 보이고 그 後 점차 그 效果가 減少한다. 伏潛期가 긴 것은 組織內 mitochondria의 數의 增加와 組織 呼吸에 關係하는 酵素의 生産에 時間이 걸리기 때문이라고³¹⁾ 한다. 따라서 著者は 3日 또는 6日間 thyroxine을 注射하면 CCl₄의 毒作用이 顯著히 強化되리라 豫見하였으나 本實驗에서는 反對로 thyroxine을 注射한 mouse에서 CCl₄에 依한 肝總脂質과 過酸化脂質含量의 增加를 볼 수 없었으며 血清 LDH 活性度의 上昇亦是 顯著히 抑制되었고 肝 糖原含量만이 thyroxine과 CCl₄에 依하여 다같이 顯著히 減少되었다. 이같은 結果는 Larson 等의 引用報告¹⁹⁾와 反對되는 所見으로써 CCl₄의 肝臟毒作用에 對한 Calvert 等의 catecholamine 關聯說^{10~12)}, thyroxine의 adrenoceptor 數³²⁾에 關한 說, 銳敏度³³⁾ 및 組織 catecholamine 含量³⁴⁾의 增加作用에 對한 報告, 또는 低體溫狀態에서 CCl₄의 毒作用이 減弱된다는 報告³⁰⁾와 thyroid hormone의 熱生成 作用效果等^{15, 16, 17, 31)}에 미루어 생각할때 理解하기 어려운 것으로 思料되는 바 本實驗에서 나타난 CCl₄의 肝臟毒作用에 對한 thyroxine의 防禦效果의 成績은 매우 興味로운 所見으로써 앞으로 繼續 推究하여 할 問題로 생각된다.

結 論

雄性 mouse에 있어서 CCl₄에 依한 肝總脂質, 肝過酸化 脂質 및 肝糖原의 含量과 血清 LDH 活性度의 變動에 미치는 thyroxine의 影響을 實驗 觀察하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. Thyroxine(4 mg/kg)을 1日 1回 3日 또는 6日 注射로 肝總脂質 및 肝過酸化脂質含量은 減少되는 傾向을 보였으며 肝糖原含量은 顯著히 減少되었다. 그러나 血清 LDH 活性도는 影響을 받지 않았다.
2. CCl₄(4 ml/kg)를 1回 또는 1日 1回 3日 注射에 依하여 肝總脂質 및 過酸化脂質과 血清 LDH 活性도는 顯著히 增加되었으나 肝糖原含量은 顯著히 減少되었다.
3. CCl₄의 肝總脂質含量, 肝過酸化脂質含量 및 血清 LDH 活性度 增加作用은 thyroxine 前處置로 顯著히 抑制되었다.
4. CCl₄의 肝糖原含量 減少作用은 thyroxine 前處置로 別 影響을 받지 않았다.

參 考 文 獻

- 1) Klaassen, C.D.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6th ed., p. 1638, MacMillan Publishing Comp., 1980.
- 2) Robins, S.L.: *Cell injury and cell death, in: Pathology*, 5th ed., p. 22, W.B. Saunders Comp., 1977.
- 3) Recknagel, R.O.: *Carbon tetrachloride hepatotoxicity. Pharmacol.*, 19:145, 1967.
- 4) Recknagel, R.O., Anthony, D.D.: *Biochemical changes in carbon tetrachloride fatty liver: Separation of fatty changes from mitochondrial degeneration. J. Biol. Chem.*, 234:1052, 1959.
- 5) Tappel, A.L.: *Lipid peroxidation damage to cell components. Fed. Proc.*, 32:1870, 1973.
- 6) Plaa, G.L., Witschi, H.P.: *Chemicals, drugs and lipid peroxidation. Ann. Rev. Pharmacol.*, 16:125, 1976.
- 7) Farber, J.L., El-Mofty, S.K.: *The Biochemical Pathology of liver cell necrosis. Am. J. Pathol.*, 81:237, 1975.
- 8) Calvert, D.N., Brody, T.M.: *Role of Sympathetic nervous system in CCl₄ hepatotoxicity. Am. J. Physiol.*, 198:669, 1960.
- 9) Brody, T.M., Calvert, D.N.: *Release of catecholamine from adrenal medulla by CCl₄. Am. J. Physiol.*, 198:682, 1960.
- 10) Calvert, D.N., Brody, T.M.: *Further studies on CCl₄ hepatotoxicity. Fed. Proc.*, 20:434, 1961.
- 11) Larson, R.E., Plaa, G.L., Grews, L.W.: *Effect of spinal cord transection on carbon tetrachloride hepatotoxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 6:154, 1964.
- 12) Larson, R.E., Plaa G.L.: *Effect of spinal cord transection on carbon tetrachloride hepatotoxicity. Fed. Proc.*, 22:189, 1963.
- 13) Larson, R.E., Plaa, G.L.: *A correlation of the effects of cervical cordotomy, hypothermia, and catecholamines on carbon tetrachloride induced hepatic necrosis. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 147:103, 1965.

- 14) Moore, K.E., Brody, T.M.: *Functional changes in liver mitochondria following in situ anoxia. Am. J. Physiol.*, 198:677, 1960.
- 15) Haynes, R.C. Jr., Murad, F.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 6th ed., p.1397, MacMillan Pub. Comp. 1980.
- 16) Sterling, K.: *Thyroid hormone action at the cell level. New Engl. J. Med.*, 300:117, 1979.
- 17) Sterling, K.: *Thyroid hormone action at the cell level. New Engl. J. Med.*, 300:173, 1979.
- 18) Frings, C.S., Dunn, R.T.: *Colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. Am. J. Clin. Path.*, 53:89, 1970.
- 19) Kemp, A., Kits, van Heinjningen, A.J.M.: *A Colorimetric micro-method for the determination of glycogen in tissue. Biochem. J.*, 56:646, 1954.
- 20) 大石誠子: 過酸化脂質 測定法(日本). 最新醫學, 33:660, 1978.
- 21) Cabaud, P.G., Wroblewski, F.: *Colorimetric measurement of lactic dehydrogenase of body fluids. Am. J. Clin. Pathol.*, 30:234, 1958.
- 22) Buchanan, J.L., Primack, M.P., Tapley, D.F.: *Relationship of mitochondrial swelling to thyroxine-stimulated mitochondrial protein synthesis. Endocrinology*, 87:993, 1970.
- 23) Primack, M.P., Tapley, D.F., Buchanan, J.: *Stimulation of mitochondrial protein synthesis and oxygen consumption by thyroxine in vitro without deiodination to triiodothyronine. Biochem. Biophys. Acta.*, 244:349, 1971.
- 24) Bronk, J.R., Bronk, M.S.: *The influence of thyroxine on oxidative phosphorylation in mitochondria from thyroidectomized rats. J. Biol. Chem.*, 237:897, 1962.
- 25) Babior, B.M., Creagan, S., Ingbar, S.H. et al.: *Stimulation of mitochondrial adenosine diphosphate uptake by thyroid hormones. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70:98, 1973.
- 6) Tapley, D.F., Cooper, C.: *The effect of thyroxine and related compounds on oxidative phosphorylation. J. Biol. Chem.*, 222:341, 1956.
- 27) Goldfine, I.D., Simons, C.G., Smith, G.J. et al.: *Cycloleucine transport in isolated rat thymocytes: in vitro effects of triiodothyronine and thyroxine. Endocrinology*, 96:1030, 1975.
- 28) Segal, J., Ingbar, S.H.: *Effects of triiodothyronine on calcium metabolism in rat thymocytes and their relation to triiodothyronine stimulated uptake of 2-deoxy-glucose. Clin. Res.*, 26:312 A, 1978.
- 29) Reynolds, E.S., Theirs, R.E., Vallee, B.L.: *Mitochondrial function and metal content in carbon tetrachloride poisoning. S. Biol. Chem.*, 237:3546, 1962.
- 30) Chien, K.R., Abrams, J., Pfau, R.G., Farber, J.L.: *Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death. Am. J. Pathol.*, 88:539, 1977.
- 31) 강두희 등: 생리학, p.401, 成敎社, 1978.
- 32) Williams, L.T., Lefkowitz, R.J., Watanabe, A.M., et al: *Thyroid hormone regulation of β -adrenergic receptor number. J. Biol. Chem.*, 252:2787, 1977.
- 33) Levey, G.S.: *Catecholamine sensitivity, thyroid hormone and the heart. Am. J. Med.*, 50:413, 1971.
- 34) Tu, T., Nash, C.W.: *The influence of prolonged hyper- and hypothyroid-states and on the accumulation and efflux rates of tritiated noradrenaline. Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 53:74, 1975.