

잡종 2세대(Fischer 계: Wistar-Kyoto 계) 흰쥐에서 Arylamine N-acetyltransferase 2의 다형성과 Dapsone의 대사능과의 연관성에 대한 연구

신인철* · 강주섭 · 고현철 · 이창호 · 안동춘³ · 백두진¹ · 심성한² · 조윤희²
한양대학교 의과대학 약리학교실 및 의과학연구소, ¹해부학교실, ²유전학교실
³강원대학교 동물자원과학대학 수의학과

Relationships between Dapsone Metabolic Activity and Polymorphism of Arylamine N-acetyltransferase 2 in the F2 Hybrid Rats

In Chul SHIN*, Ju Seop KANG, Hyun Chul KOH, Chang Ho LEE, Dong Choon AHN³,
Doo Jin PAIK¹, Sung Han SHIM², Youl Hee CHO²

Department of Pharmacology and Institute of Biomedical Science

¹*Anatomy and Cell Biology*

²*Medical Genetics, Hanyang University College of Medicine, Seoul 133-791*

³*Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University College of Animal Resources Sciences,
Chuncheon 200-701, Korea*

(Received September 2, 2002 ; accepted 19, 2002)

Abstract – The arylamine N-acetyltransferases (NATs) are a family of enzymes that N-acetylate arylhydrazines and arylamines through transfer of an acetyl group from acetyl coenzyme A. This activity was found to vary among individuals as a Mendelian trait and the basis of the genetic differences in human NAT activity is one of the best of the genetic studied examples of pharmacogenetic variation. The classical N-acetylation polymorphism is regulated at the NAT2 locus, which segregates individuals into rapid, intermediate, and slow acetylator phenotypes. In this study, the relationship between NAT2 activity phenotype using HPLC:UV assay for the determination of dapsone and monoacetyldapsone in plasma and NAT2 genotype by PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) was investigated in the F2 hybrid (Fischer 344 vs Wistar-Kyoto) rats. Three common mutant alleles at the NAT2 gene locus have been identified in the F2 generation progeny of Fischer 344 rats as rapid acetylator and Wistar-Kyoto rats as slow acetylator segregated into three modes (low, intermediates, and high) with simple Mendelian inheritance. The metabolic activity of NAT2 of the intermediate and rapid acetylators is significantly greater than slow acetylator, but the metabolic activity of rapid acetylator is not significantly different from intermediate type. Therefore, we could observe that complete trimodal NAT2 genotypic alleles and incomplete trimodal NAT2 metabolic phenotypic distribution in the F2 hybrid rats. These observations suggest that the relationships between NAT2 genotype and metabolic phenotype exists and F2 hybrid (Fischer 344: Wistar-Kyoto) animal models about NAT2 polymorphism might be applied in the toxicity and pharmacogenetic studies of arylamine drugs and carcinogens.

Keywords □ Fischer 344 rat, Wistar-Kyoto rat, F2 hybrids, N-acetyltransferase(NAT), arylamine, dapsone, monoacetyldapsone, acetylators

N-아세틸화 반응은 방향족 아민(R-NH₂)이나 hydrazine 기(R-NH-NH₂)를 지니는 이형화합물(xenobiotics)을 방향족 amides나 hydrazides로 대사시키는 생체내 반응과정(biotransformations)으로 arylamine N-acetyltransferase

(NAT) 라는 효소가 관여하며 주로 간조직에서 발현되며 간외기관 조직에서도 일부가 발현되는 것으로 알려져 있다. 인간과 여러 척추동물 중에서 N-아세틸화 활성에는 유전적 다형성이 존재하며 rapid(RA), intermediate(RSA), slow acetylator(SA)로 3분성(trimodal) 분포로 구분된다고 보고되었다(Hein 과 Weber, 1984). 사람에서는 서로 다른

*To whom correspondence should be addressed.

2 개의 NAT 유전자인 NAT1과 NAT2는 두 개의 간장 arylamine NAT 동위효소를 발현시키며 이중에서 NAT2 유전자에 생긴 다양한 돌연변이가 NAT의 유전적 다형성의 원인이 된다. N-아세틸화의 다형성은 arylamine 계 약물들에 의한 치료반응과 독성발생에 영향을 주기 때문에 임상적으로나 독성학적으로 매우 중요한 의미를 지닌다고 할 수 있다. NAT는 약물대사과정에서 개체 다형성을 보이는 Phase-II 대사효소로서 약물대사 활성도에서 개인적 다형성의 원인 중의 하나로 알려졌다. NAT에 의하여 대사되는 대표적인 약물에는 isoniazid, dapsone, caffeine, 수종의 sulfonamide계 약물, hydrazine 등이 있으며 혈중 농도는 각 표현형에 따라 상당한 차이를 보인다. 또한 N-아세틸화 다형성과 관련된 약물의 효과와 유해작용의 발현과의 관계도 많이 연구되고 있다. 그리고 NAT는 발암물질 대사에도 중요한 역할을 하므로 NAT 활성도의 다형성은 직업과 흡연에 관련된 방광암에 대한 개인적 감수성과도 관련성이 보고되고 있으며 이로 인하여 여러 질병에 대한 감수성과 NAT 활성도의 다형성과의 관련성이 있다고 할 수 있다. 일반적으로 흰쥐, 특히 순종 Fischer 344(F-344) 계 흰쥐는 arylamine계 발암물질의 발암성과 독성 연구에 많이 사용되어 왔다(McDonald 와 Boorman, 1989). 그러나 N-아세틸 반응 다형성에 대한 흰쥐 모델 연구는 1991년 Hein 등에 의하여 보고된 정도였다. 특히 흰쥐의 동종교배종에서는 흰쥐 procainamide N-아세틸화 활성은 일봉성(unimodal) 분포를 보이는 것이 특징이라고 보고되었다(Schneck 등, 1978; Roberts 등, 1985). 그리고 ABP NAT 활성은 일봉성 분포를 보였지만 19개 순종계 흰쥐에서 PABA NAT 활성은 이봉성 분포를 보인다고 하였다(Weber 와 Hein, 1985). 이런 이봉성 분포를 보이는 흰쥐계에서 F-344계는 RA 군으로 알려졌고 SA 군으로는 Wistar-Kyoto 계가 알려져 있다. 그러므로 본 연구는 NAT 활성도가 높은(RA 표현형) F-344 계 흰쥐와 NAT 활성도가 낮은(SA 표현형) Wistar-Kyoto 계 흰쥐로부터 생긴 잡종 2세대(F-2) 흰쥐를 이용하여 간장 NAT2의 유전형과 표현형의 다형성을 확인하고 유전형과 표현형의 상관성을 규명하여 이에 대한 결과를 제시함으로써 앞으로 NAT2 효소의 유전형과 표현형의 다형성에 대한 모델을 제공하여 NAT2에 대한 개체의 다형성과 NAT2 대사약물의 독성 유발과의 관련성에 대한 지견을 제공하려고 시도하였다.

실험방법

실험동물 사육

웅성 순종 Fischer-344(F-344, Charles River Lab. Wilmington, MA) 흰쥐와 자성 순종 Wistar-Kyoto 계

(WKY, Charles River Lab. Wilmington, MA) 흰쥐를 교배하여 잡종 1세대(F1)를 얻고 10주 성숙시킨 후 잡종 1세대끼리 교배하여 잡종 2세대(F2)를 얻어 10주령때 실험에 사용하였다. 각각 흰쥐의 꼬리편을 이용하여 NAT2의 유전형을 결정하였고 동일한 개체에서 Queiroz 등(1997)의 방법을 이용하여 NAT2의 표현형을 결정하였다.

NAT의 유전자 유형 결정방법

DNA 추출

흰쥐의 꼬리 끝 부분 3 mm 정도를 절단하여 얻은 꼬리편에서 DNA를 추출하였다. DNA 추출은 QIAamp Tissue Kits(Qiagen, Hilden Co. Germany)를 이용하였다. 추출된 DNA를 1:50으로 희석하여 자외선 분광계에서 파장 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 DNA농도와 A260/A280의 비를 측정하였다. A260/A280비가 1.7이상인 경우를 사용하였으며 1.7이하인 경우에는 DNA 추출과정을 다시 하여 정제하였다. 위 과정에서 얻은 DNA 농도를 0.1 µg/µl로 표본의 DNA 농도를 일정하게 맞추어 사용하였다.

PCR에 의한 NAT2 유전자 증폭

Doll과 Hein(1995)의 염기 서열을 이용하여 primer를 합성하였다 (NAT2 forward: 5'-CTG CTG TAC TGG GCT CTG AC-3', NAT2 reverse: 5'-AAA TCG ATC ACC ATG TTT AGG C-3'). PCR은 각 개체당 100ng의 genomic DNA에 10 mM Tris-HCl(pH 7.5), 50 mM KCl, dNTP 각 0.2 mM, primer 각 1 µM 및 0.5 U Taq DNA polymerase (Takara, Tokyo, Japan)를 포함하여 최종 20 µl 용량이 되게 하여 수행되었다. PCR 반응 조건은 최초 95°C에서 3분간 denaturation, 95°C에서 1분간, 62°C에서 1분간, 72°C에서 1분간을 35회 반복한 후 마지막으로 72°C에서 10분간 extension 반응을 시켰다. PCR 산물(5 µl)은 1.5% agarose 겔에서 전기영동시킴으로써 확인하였다.

유전자 유형 결정을 위한 제한 효소 처리

Slow acetylator에 존재하는 4가지 돌연변이(Hein 등, 1997) 중 NAT2 유전자의 522번째 염기의 변이를 검출할 수 있는 Tsp509I 제한 효소를 이용하여 PCR-RFLP 법으로 유전자 유형을 결정하였다(Fig. 1). 각각의 PCR 산물 5 µl를 20 U의 Tsp509I 제한 효소로 65°C에서 4시간 동안 반응하여 절단시켰고, 그 반응물을 2% agarose에서 전기영동하였다.

NAT의 표현형 유형 결정방법

Dapsone을 이용한 N-아세틸화 표현형 결정법은 dapsone을 투여하고 일정시간이 경과한 후에 측정된 혈장내 monoacetyldapsone/dapsone(MADDS/DDS) 농도비를

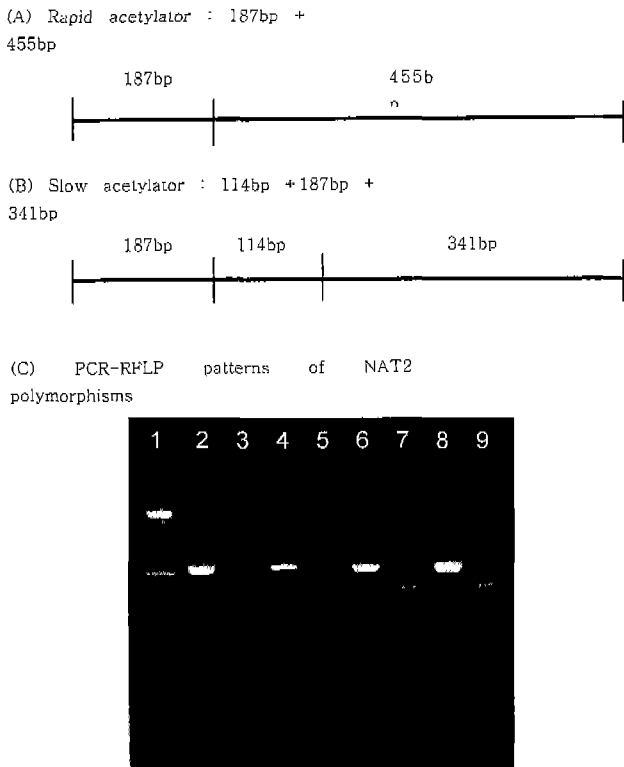


Fig 1. Schematic representations of PCR-RFLP patterns by Tsp509I restriction enzyme of NAT2 rapid form gene(A) and NAT2 slow from gene(B). (C) PCR-RFLPs of NAT2 genotyping. Lane 1, size marker; Lane 2, 4, 6 and 8; PCR products showing 642 bp band; Lane 3 and 5, homozygous slow acetylators showing 114 bp, 187 bp and 341 bp bands; Lane 7, homozygous rapid acetylator showing 187 bp and 455 bp bands; Lane 9, heterozygote.

이용하여 구분하였다. 각 유전형군의 흰쥐 7마리에 dapsone(25 mg/kg)을 복강내로 투여한 다음 8시간 경과 후에 심장 천자로 혈액을 채취하여 HPLC 법을 이용하여 DDS와 그 대사물인 MADDS 양을 측정하여 그 비율로 NAT 효소의 활성도를 측정하였다.

시약

Dapsone (DDS, Sigma Co, St. Louis, MO)와 monoacetyldapsone (MADDS, Kotobuki Co, Japan)은 methanol (Sigma Co, St. Louis, Mo)에 각각 250, 625, 1250, 2500 ng/ml과 100, 250, 500, 1000 ng/ml 농도로 각각 표준용액을 제조하고 내부표준물질인 phenacetin (PHEN)을 methanol에 녹여 50 mg/ml 농도가 되게 하였다. 약물추출에 사용하는 모든 용매는 HPLC-분석용 시약으로 Sigma 사에서 구입하였다.

고속액체크로마토그래피(HPLC) 구성과 조건

HPLC 펌프(Model 515, Waters Co, Milford, MA),

Rheodyne 주입기(Model 7725i, Waters Co, Milford, MA), 자외선측정기(Model 486, Waters Co, Milford, MA)로 구성되어 있고 크로마토그램의 피크-면적비율을 이용한 정량은 Data Module (Waters 746, Waters Co, Milford, MA)을 사용하였다. 약물분석에 사용한 HPLC 컬럼은 Lichrospher 100 RP-8 (Merck, 4×125 mm, 5 μm)였으며 이동상은 증류수와 methanol을 70:30 비율로 혼합하고 사용 전에 탈기하여 사용하였고 유동상의 유속은 분당 1.0 ml로 고정하였다. 자외선 측정기의 파장은 286 nm로 하였고 Data Module 의 AT는 16으로 하고 Chart Speed 는 0.25 cm/min으로 고정하였다.

시료전처리

흰쥐 혈장 1 ml에 NaCl 200 mg와 1.5 M NaOH 200 μl 및 ethyl ether 7 ml를 혼합한 후에 내부표준물질 용액인 phenacetin용액을 50 μl 첨가하였다. 자동 진탕기에서 분당 200회 정도의 속도로 30분 동안 진탕시키고 10분 동안 1000×g 속도로 원심분리하고 이때 생긴 5 ml 정도의 유기층을 10 ml의 원추시험관에 옮겼다. 실온에서 유기용액 층을 건조시킨 뒤 남은 잔사를 50 μl의 n-헥산과 50 μl의 유동상에 녹인 후 10초 동안 진탕시킨 후 하층 20 μl를 HPLC에 주입하였다.

혈중 DDS와 MADDS의 정량

정상 흰쥐 혈장 7 ml에 DDS 표준액(250, 625, 1250, 2500 ng/ml)과 MADDS 표준액(100, 250, 500, 1000 ng/ml)을 농도별로 각각 25 μl를 첨가하여 샘플 시료 전처리와 동일한 과정을 거친 후 분석하여 내부표준물질과의 피크 면적 비율을 구하고 농도별 면적비에 대한 단순회귀분석으로 표준농도곡선을 구한 후에 샘플에 존재하는 DDS와 MADDS의 농도를 산출하였다.

실험결과

NAT의 유전자 유형 결정

흰쥐의 NAT2 rapid form의 유전자 염기서열은 Doll과 Hein (1995)이 보고한 것과 같으며, slow form은 361, 399, 522, 796 염기위치에서 G대신에 A로 대체된 것이다. NAT2 유전자는 tgctgtactg ggctctgacc와 cctaaacatg gtgatcgatt를 primer로 사용하여 642 염기의 길이로 증폭하였으며, Tsp509I 제한 효소로 처리하였을 때 rapid form은 187 bp+455 bp로 절단되며, slow form은 187 bp +114 bp+341 bp로 이루어져 있음을 알 수 있었다(Fig. 1).

흰쥐 혈중 dapsone과 monoacetyldapsone의 크로마토그램과 혈중 농도

Hetero-type 흰쥐에 25 mg/kg의 dapsone을 투여하고 8

Table 1. NAT2 유전형에 따른 DDS 와 MADDS 농도 및 DDS:MADDS 농도 비율

군	DDS 농도 (ng/ml)	MADDS 농도 (ng/ml)	MADDS/DDS	MEAN±SD	p-Value vs Slow
Slow Acetylator	1086.4	227.7	0.21	0.22 ± 0.09	
	1140.7	329.4	0.29		
	871.9	205.3	0.24		
	1210.2	221.1	0.18		
	1507.1	264.6	0.18		
	1697.9	331.5	0.20		
	1119.8	294.3	0.26		
Hetero-type	810.4	406.1	0.50	0.44 ± 0.20	< 0.05
	1243.5	393.6	0.32		
	1253.1	325.9	0.26		
	1096.4	248.7	0.23		
	947.7	556.8	0.59		
	908.8	718.7	0.79		
	1300.0	533.4	0.41		
Rapid Acetylator	564.8	151.0	0.27	0.49 ± 0.21	< 0.05
	441.5	147.3	0.33		
	289.2	152.1	0.53		
	564.3	242.6	0.43		
	149.9	132.7	0.88		
	211.0	129.1	0.61		
	248.3	90.5	0.36		

DDS : C=39.62R+0.0315(r=0.989), MADDS: C=64.56R+0.0271(r=0.992).

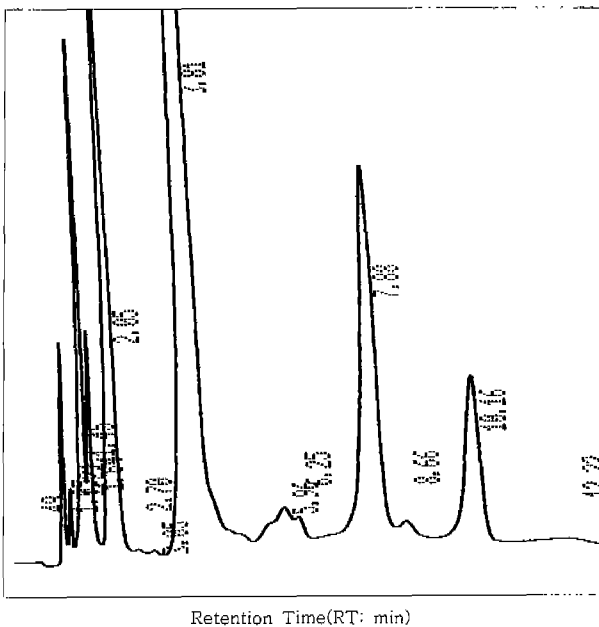


Fig. 2. HPLC chromatogram of a 20µL sample injection obtained from 1 ml plasma of hetero type of rat at 8hour after intraperitoneal administration of 25mg/kg of dapsone: Peaks 1. Dapsone (DDS, RT=3.81 min), 2. Monoacetyldapsone (MA-DDS, RT=7.88), 3: Phenacetin (PHN, internal standard; RT = 10.16).

시간 후에 채취한 혈액에서 측정된 크로마토그램은 그림 2와 같으며 dapsone의 RT는 3.8분이고 monoacetyl-dapsone의 RT는 7.88분으로 뚜렷하게 구분되어 측정되었다. 세가지 유전형에서 측정된 dapsone과 대사물인 monoacetyldapsone의 농도비율에서는 slow type은 0.22±0.09이며 hetero-type과 rapid type은 각각 0.44±0.20와 0.49±0.21로 slow type에서 hetero-type과 rapid type보다 유의하게(p<0.05) 증가함을 알 수 있었다. 하지만 hetero-type과 rapid type사이에는 유의한 차이가 없었다(Table I).

고 찰

40년전에 N-아세틸화 반응의 다형성(polymorphism)은 결핵환자에서 관찰된 isoniazid 독성의 차이점을 야기한다는 가설이 처음 제시되었는데 결론적으로 isoniazid 독성발생에는 isoniazid의 대사에 일차적으로 관여하는 세포질 Phase II 포합반응 효소인 N-acetyltransferase(EC 2.3.1.5)에 대한 유전적 차이점 때문에 기인한다는 것이 이 후에 알려지게 되었다. 이런 다형성은 최근까지도 "isoniazid acetylation polymorphism"으로 알려졌으나 이 효소는 다른 약물과 화학발암물질 등의 대사에도 광범위하게 관여한다고 알려지고 그 효소활성도의 다형성에는

대사속도가 빠른 군인 rapid acetylator(RA)와 대사속도가 느린 군인 slow acetylator(SA)로 구분되었지만 최근 여러 연구에서 삼봉성 분포(RA: Intermediate: SA)를 보이는 것으로 알려져 있으며, 이런 대사군의 다형성은 procainamide(PA)와 같은 arylamine 계 약물들의 치료반응과 독성에 영향을 줄 수 있기 때문에 임상적으로나 독성학적으로 매우 중요한 의미를 지닌다고 할 수 있다(Hein, 1988). 사람에서 아세틸화 반응의 다형성은 arylamine 계 화합물과 연관성이 있는 고품양의 발생빈도와 위중도에 연관이 있다고 하며(Weber 및 Hein, 1985; Hein, 1988), 이러한 탄소환 arylamine 계 발암물질들은 흰쥐에서 여러 장기에 암을 유발시킨다고 알려져 있다. 특히 F-344 계 흰쥐에서 DMABP(3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl)는 결장과 전립선에 암을 유발한다고 하며(Fiala 등, 1981; Shirai 등, 1991), 2-amino-3-methylimi-dazole quinoline과 같은 복소환 arylamine이 여러 장기에 종양을 유발시킨다고 하였다(Takayama 등, 1984). 사람 N-아세틸화 반응의 다형성에 대한 몇 가지 동물모델이 작성되었는데 생쥐와 햄스터 및 토끼를 이용하여 N-아세틸화 반응의 다형성에 대한 유전적 생화학적 토대를 세우는데 매우 유용하게 사용되고 있다. 이들 동물종에서 보면 N-아세틸화 반응도는 하나의 유전자 좌위에 두개의 codominant 대립인자들이 모여있는 단순한 상염색체 멘델 유전방식에 의하여 유전된다고 하며(Tannen 및 Weber, 1980) 일반적으로 흰쥐 중에 F-344 계 흰쥐가 arylamine 발암물질의 독성과 발암성 연구에 많이 쓰여 왔었다. 그리고 N-아세틸화 반응의 다형성에 대한 햄스터 모델은 Ogolla 등(1990)에 의하여 보고되었으며, 흰쥐의 PA NAT의 단백질 합성을 측정하는 연구에서는 단봉성(unimodal) 분포를 보였다고 한다(Schneck 등, 1978; Roberts 등, 1985). 또한 19개 순종 흰쥐에서 ABP NAT 활성도는 단봉성 분포를 보였지만 PABA NAT 활성도는 이봉성 분포를 보였으며(Weber 및 Hein, 1985), Wick 과 Hanna(1990) 와 Martell 과 Weber(1993) 등이 흰쥐 간세포와 췌장세포에서 PABA NAT 활성도의 다형성 분포를 확인하였다. 본 연구에서도 RA 형으로 알려진 F-344 계 흰쥐와 SA 형으로 알려진 Wistar-Kyoto 계 흰쥐에서 NAT의 유전형을 PCR 기법으로 말초조직에서 얻은 샘플에서 확인하였고 이들 두 종간의 잡종 2세대를 얻어 NAT의 유전형을 확인하여 RA 형과 SA 형은 물론 중간 잡종인 RSA 형을 얻어서 흰쥐에서 새로운 삼봉성 NAT의 유전적 다형성 모델을 작성할 수 있었다. 그림 1은 PCR-RFLP 방법을 이용한 NAT2 유전자형 분석법을 보여주고 있는데 Rapid form과 Slow form 및 Hetero-type의 3가지 형태로 멘델식 유전법칙에 따라 나타남을 알 수 있었다. 그러나 dapsone을 이용한 N-아세틸화 반응의 표현형에서 RA 군

과 잡종군인 RSA 군에서는 dapsone을 N-아세틸화시키는 NAT 활성도에서는 차이가 보이지 않았다. RA 형과 SA 형 토끼(Hein 등, 1982), 생쥐(Hein 등, 1985) 및 햄스터(Hein 등, 1991) 등은 다수의 NAT 동위효소가 존재하기 때문에 기질에 따라서 아세틸화 반응의 다형성을 보이는데 p-aminobenzoic acid, p-amino-salicylic acid 및 2-aminofluorene 등과 같은 물질들은 acetylator 표현형(즉, RA, RSA, SA)에 따라서 활성이 차이가 있지만 procainamide와 같은 기질에 대해서는 아세틸화 반응에 대한 다형성이 보이지 않는다고 하였다(Hein 등, 1991). 그러므로 이런 사실은 임상적으로나 독성학적으로 중요한 arylamine 계 물질의 아세틸화 반응에 대한 NAT의 아세틸화 다형성의 영향을 연구하는데 매우 중요한 의미를 지닌다. 한편 F-344 계 흰쥐가 다른 종보다 acetaminophen이나 aminophenol 신독성에 매우 민감한 것은 aminophenol을 N-아세틸화시키는 능력이 낮기 때문이라고 생각하였는데(Newton 등, 1983) 신장과 간장의 세포질내의 p-aminophenol NAT 활성이 RA 수준까지 발현되는 것을 알 수 있었다(Hein 등, 1991). 흰쥐 간세포질에서 발현되는 acetylator 표현형에 관련있는 것과 관련없는 NAT 동위효소들은 사람(Blum 등, 1990)과 생쥐(Hein 등, 1997) 및 햄스터(Hein 등, 1985; Hein 등, 1986)의 NAT 동위효소들과 유사한 것이다. 사람에서는 acetylator 표현형과 무관한 NAT 동위효소(일봉성)는 NAT-1으로 표시하고 acetylator 표현형과 관련있는 NAT 동위효소(다봉성)은 NAT-2로 표시하였다(Blum 등, 1990; Grant 등, 1991). 하지만 흰쥐에서는 acetylator 표현형과 관련없는 것을 NAT II로 표시하고 관련있는 것을 NAT I으로 표시하였다(Wick 및 Hanna, 1990). Ozawa 등(1990)도 햄스터 간세포질에서 2개의 NAT 동위효소를 발견하여 AT-I과 AT-II로 표시하였는데 이것들은 Hein 등(1985; 1986)이 연구한 햄스터 간장 MAT(단봉성 acetyltransferase)와 PAT(다봉성 acetyltransferase)와 동일한 것이다. 또한 전립선에서 NAT의 다형성에 대한 보고는 Hein 등(1991)에 의하여 최초로 이루어졌으며 F-344 계 흰쥐가 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl에 의한 전립선암 발생에 대한 적당한 동물모델이라고 보고되었다(Shirai 등, 1990; Ito 등, 1988).

앞으로 본 연구에서 작성한 모델을 이용하여 NAT2 대사약물의 독작용이나 발암물질을 이용한 연구가 더 이루어져 본 연구에서 작성된 모델과 NAT2의 유전적 다형성과의 관련성을 입증할 필요성이 있다고 사료된다.

결 론

N-acetyltransferase(NAT)의 유전형과 표현형의 다형성

은 서로 밀접하게 연관되어 있고 NAT 효소에 의하여 대사되는 각종 약물과 발암물질들에 의한 독작용 및 발암성 때문에 임상적으로나 독성학적으로 매우 중요한 의미를 지니며 이런 NAT 효소의 유전형과 표현형 다형성에 대한 동물모델은 NAT 효소 연구에 매우 유용성이 있다고 생각되었고 본 연구에서 작성된 흰쥐모델에서는 NAT2 유전형은 뚜렷한 삼봉성(RA:RSA:SA)으로 구분되었으나 NAT2 활성도의 표현형 분포에서는 2봉성 모양(RA=RSA:SA)으로 관찰되어 RA군과 RSA 군사이에서 NAT2 활성도에는 뚜렷한 차이를 발견하지 못하였다. 앞으로 본 연구에서 작성한 모델을 이용하여 NAT2 대사약물의 독작용이나 발암물질을 이용한 연구가 더 이루어져 본 연구에서 작성된 모델과 NAT2의 유전적 다형성과의 관련성을 입증할 필요성이 있다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 한양대학교 의과대학연구소 1998년도 정책연구비의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Blum, M., Grant, D.M., McBride, W., Hein, M. and Meyer, U.A. (1990). Human arylamine N-acetyltransferase genes; isolation, chromosomal localization, and functional expression. *DNA Cell Biol.*, **9**, 193-203.
- Doll, M.A. and Hein, D.W. (1995). Cloning, sequencing and expression of NAAT1 and NAT2 encoding genes from rapid and slow acetylator inbred rats. *Pharmacogenetics*, **5**, 247-251.
- Fiala, E.S., Weisburger, J.H., Katayama, S., Chandrasekaran, V. and Williams, G.M. (1981). The effect of disulfiram on the carcinogenicity of 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl in Syrian golden hamsters and rats. *Carcinogenesis*, **2**, 965-969.
- Grant, D.M., Blum, M., Beer, M. and Meyer, U.A. (1991). Monomorphic and polymorphic human arylamine N-acetyltransferases: a comparison of liver isozymes and expressed products of two cloned genes. *Mol. Pharmacol.*, **39**, 184-191.
- Hein, D.W. (1988). Acetylator genotype and arylamine-induced carcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.*, **948**, 37-66.
- Hein, D.W., Doll, M.A., Fretland, A.J., Gray, K., Deitz, A.C., Feng, Y., Jiang, W., Rustan, T.D., Satran, S.L. and Wilkie, T.R. Jr. (1997). Rodent models of the human acetylation polymorphism: comparisons of recombinant acetyltransferases. *Mutat. Res.*, **376**, 101-106.
- Hein, D.W., Kirilin, W.G., Ferguson, R.J., Thompson, L.K. and Ogolla, F. (1986). Identification and inheritance of inbred hamster N-acetyltransferase isozyme in peripheral blood. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **239**, 823-828.
- Hein, D.W., Kirilin, W.G., Ferguson, R.J. and Weber, W.W. (1985). Inheritance of liver N-acetyltransferase activity in the rapid and slow acetylator inbred hamster. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **233**, 584-587.
- Hein, D.W., Rustan, T.D., Bucher, K.D. and Miller, L. S. (1991). Polymorphic and monomorphic expression of arylamine carcinogen N-acetyltransferase isozymes in tumor target organ cytosols of Syrian hamsters congenic at the polymorphic acetyltransferase locus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **259**, 699-704.
- Hein, D.W., Smolen, T.N., Fox, R.R. and Weber, W.W. (1982). Identification of genetically homozygous rapid and slow acetylators of drugs and environmental carcinogens among established inbred rabbit strains. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **223**, 40-44.
- Hein, D.W. and Weber, W.W. (1984). Relationship between N-acetylator phenotype and susceptibility toward hydrazine-induced lethal central nervous system toxicity in the rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **228**, 588-592.
- Ito, N., Shirai, T., Tagawa, Y., Nakamura, A. and Fukushima, S. (1988). Variation in tumor yield in the prostate and other target organs of the rat in response to varied dosage and duration of administration of 3,2'-dimethyl-4-aminophenol. *Cancer Res.*, **48**, 4629-4632.
- Martell, R.T. and Weber, W.W. (1993). N-acetylation polymorphism in liver and pancreas of inbred rats. *Drug Metab. Dispos.*, **21**, 965-966.
- McDonald, M.M. and Boorman, G.A. (1989). Pancreatic hepatocytes associated with chronic 2,6-dichloro-p-phenylenediamine administrations in Fischer 344 rats. *Toxicol. Pathol.*, **17**, 1-6.
- Newton, J.F., Yoshimoto, M., Bernstein, J., Rush, G.F. and Hook, J.B. (1983). Acetaminophen nephrotoxicity in the rat. II. Strain differences in nephrotoxicity and metabolism of p-aminophenol, a metabolite of acetaminophen. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **69**, 307-318.
- Ogolla, F., Ferguson, R.J., Kirilin, W.G., Trinidad, A., Andrews, A.F., Mpezo, M. and Hein, D.W. (1990). Acetylator genotype-dependent expression of arylamine N-acetyltransferase and N-hydroxylamine O-acetyltransferase in Syrian inbred hamster intestine and colon. Identity with the hepatic acetylation polymorphism. *Drug Metab. Dispos.*, **18**, 680-685.
- Ozawa, S., Abu-Zeid, M., Kawakubo, Y., Toyama, S., Yamazoe, Y. and Kato, R. (1990). Monomorphic and polymorphic isozymes of arylamine N-acetyltransferases in hamster liver: purification of the isozymes and genetic basis of N-acetylation polymorphism. *Carcinogenesis*, **11**, 2137-2144.
- Queiroz, R.H., Dreossi, S.A. and Carvalho, D. (1997). A rapid, specific, and sensitive method for the determination of acetylation phenotype using dapsone. *J. Anal. Toxicol.*, **21**, 203-207.
- Roberts, S.M., Budinsky, R.A., Adams, L.E., Litwin, A. and Hess, E. V. (1985). Procainamide acetylation in strains of rat and mouse. *Drug. Metab. Dispos.*, **13**, 517-519.
- Schneck, D.W., Grove, K., Dewitt, F.O., Shiroff, R.A. and Hayes, A.H. Jr. (1978). The quantitative disposition of procainamide and N-acetylprocainamide in the rat. *J.*

- Pharmacol. Exp. Ther.*, **204**, 219-225.
- Shirai, T., Nakamura, A., Fukushima, S., Wang, C.Y., Yamada, H. and Ito, N. (1990). Selective induction of prostate carcinoma in F344 rats treated with intraperitoneal injections of N-hydroxy-3, 2'-dimethyl-4-aminobiphenyl. *Jpn. J. Cancer Res.*, **81**, 320-323.
- Shirai, T., Tamano, S., Kato, T., Iwasaki, S., Takahashi, S. and Ito, N. (1991). Induction of invasive carcinoma in the accessory sex organs other than the ventral prostate of rats given 3,2'-dimethyl biphenyl-4-aminobiphenyl and testosterone propionate. *Cancer Res.*, **51**, 1264-1269, 1991.
- Takayama, S., Nakatsuru, Y., Masuda, M., Ohgaki, H., Sato, S. and Sugimura, T. (1984). Demonstration of carcinogenicity in Fischer 344 rats of 2-amino-3-methyl-imidazole [4,5-F] quinoline from broiled sardine, fried beef and beef extract. *Gann.*, **75**, 467-470.
- Tannen, R.H., Weber, W.W. (1980). Inheritance of acetylator phenotype in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **213**, 480-484.
- Weber, W.W. and Hein, D.W. (1985). N-acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol. Rev.* **37**, 25-79.
- Wick, M.J. and Hanna, P.E. (1990). Bioactivation of N-arylhydroxamic acids by rat hepatic N-acetyltransferase: Detection of multiple enzymes forms by mechanism-based inactivation. *Biochem. Pharmacol.*, **39**, 991-1003.