

숫컷 생쥐에서 타우린 투여에 의한 간내 글루타치온의 감소

이선영 · 광혜은 · 김영철[#]

서울대학교 약학대학

(Received June 13, 2003; Revised August 2, 2003)

Reduction of Hepatic Glutathione by Acute Taurine Treatment in Male Mice

Sun Young Lee, Hye Eun Kwak and Young Chul Kim[#]

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract — Effect of taurine treatment on metabolism of glutathione (GSH) was studied in adult male ICR mice. An acute injection of taurine (250 mg/kg, ip) resulted in a significant decline of hepatic GSH level at $t = 6$ hr, but plasma GSH level was not altered. The activity of GSH-related enzyme in liver, such as GSH peroxidase, GSSG reductase, GSH S-transferases, γ -glutamylcysteine synthetase or γ -glutamyltranspeptidase, was not affected by taurine at $t = 2.5$ or 6 hr. Plasma cysteine and cystine levels were elevated rapidly following taurine treatment. Hepatic cysteine level was decreased by taurine, reaching a level approximately 70% of control at $t = 4$ and 6 hr. In conclusion, the results indicate that an acute dose of taurine decreases hepatic GSH level by reducing the availability of cysteine, an essential substrate for synthesis of this tripeptide in liver. It is also suggested that taurine may decrease the cysteine uptake by competing with this S-amino acid for a non-specific amino acid transporter.

Keywords □ taurine, glutathione, cysteine, liver

타우린(taurine; 2-aminoethanesulfonic acid)은 β -amino acid이며 일반적인 아미노산과 달리 sulfonic acid이다. 대부분 간에서 합성되는 타우린은 황함유아미노산의 최종대사 산물로 오랫동안 배설형 물질로 간주되었으나 근래에 들어와 bile acid conjugation, central nervous tissue regulation, 칼슘농도조절, 삼투압 유지, 항산화작용 등 다양한 생리학적, 약물학적 활성이 보고되고 있다.¹⁾

글루타치온(glutathione; GSH)은 glycine, cysteine, glutamate로 이루어진 내인성 tripeptide이다. Cysteine은 혈액으로부터 흡수되거나 transsulfuration pathway를 통해 methionine으로부터 생성되어 GSH 합성에 사용된다.²⁾ Cysteine으로부터 GSH의 합성은 두 단계의 반응을 거쳐 이루어지며 속도결정단계는 cysteine과 glutamate가 결합하여 γ -glutamylcysteine을 생성하는 첫번째 반응으로 γ -glutamylcysteine synthetase(GCS)에 의해 매개된다. 다른 두 기질보다 저농도로 존재하는 cysteine에 대한 γ -glutamylcysteine synthetase의 K_m 값은 0.1~0.3 mM로 간내

cysteine 농도(0.2~0.5 mM)와 유사한 범위 내에 존재한다.³⁾ 따라서 cysteine의 유용성은 GSH 합성조절의 가장 중요한 인자가 된다. 실제로 24 시간의 절식으로 cysteine의 농도가 대조군보다 감소하며, 이것이 GSH 농도 변화의 요인으로 작용했다는 연구 결과가 보고된 바 있다.^{4,5)} 환원형 GSH는 산화형인 glutathione disulfide(GSSG)와 일정한 비율을 유지하고 있으며 정상상태에서는 약 99%가 환원형으로 존재한다. 그러나 GSSG reductase, GSH peroxidase 등의 활성이 변화하거나, 조직내 활성산소가 급격히 증가하는 경우 GSH와 GSSG의 비율은 정상범위에서 벗어나게 된다.⁶⁾

타우린은 cysteine에서 oxidation과 decarboxylation을 거쳐 합성된다. 따라서 cysteine은 황함유아미노산대사에서 타우린과 GSH 생성의 branch point에 위치한다. Cysteine의 농도가 감소하면 GSH의 합성이 우세하고, 반대로 cysteine의 농도가 상승하면 타우린의 합성을 통한 cysteine의 catabolism이 증가하게 된다.⁷⁾ 또한 GSH는 cysteine의 reservoir로 작용한다.⁴⁾ 따라서 타우린, GSH과 cysteine의 간내 농도는 서로 밀접한 관계를 갖고 있다고 할 수 있다.

Cysteine을 포함한 황함유아미노산이 타우린과 GSH의 대사에 미치는 영향은 잘 알려져 있으나, 반대로 타우린이 GSH 및

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-880-7852 (팩스) 02-872-1795
(E-mail) youckim@snu.ac.kr

cysteine 조직내 농도에 주는 영향에 대해 지금까지 연구된 결과들은 결반 없으며, 또 서로 일치하지 않는다. Yan과 Huxtable은⁸⁾ 타우린을 식수에 녹여 4주간 흰쥐에게 공급한 결과 간의 GSH나 cysteine이 감소되었다고 보고했으나, Hwang 등은⁹⁾ 타우린을 식이에 첨가해 2개월간 흰쥐에 공급했을때 간 GSH가 증가함을 관찰하였다. 또한 각각의 연구자들 모두 자신의 연구결과에서 타우린의 작용기전을 명확히 제시하지 못하였다. 따라서 본 연구에서는 타우린의 급성투여가 황함유아미노산 및 GSH의 대사에 주는 영향을 측정하고 그 기전을 밝히고자 하였다.

실험방법

실험동물

숫컷 ICR 생쥐를 서울대학교 실험동물 사육장에서 구입하여 체중 30~40 g에 도달하였을 때 사용하였다. 동물은 2주 이상 55±5%의 습도, 22±2°C의 온도 및 환기, 조명이 조절된 동물실에서 적용시켰다. 전 실험기간 동안 실험동물은 자유롭게 사료와 물을 섭취하였다. 타우린(250 mg/kg)은 탈이온수에 용해시켜 오전 9시와 10시 사이에 복강으로 투여하였으며 대조군은 동일한 양의 탈이온수를 투여하였다.

시약

본 연구실험에 사용된 타우린, β-NADPH, 5,5-dithio-bis(2-nitro)benzoic acid (DTNB), GSH, β-NADH, 1,2-epoxy-3-(p-nitro)phenoxy)propane (ENPP), trichloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), GSSG, GSH reductase, 1,2-dichloro-4-nitrobenzene (DCNB)은 Sigma사(St. Louis, MO, USA), HPLC 분석에 사용한 용매는 Burdick and Jackson사(Muskegon, MI, USA)에서 구입하였다. 그외 실험에 사용한 모든 시약은 reagent grade나 그 이상의 품질이었다.

타우린 측정

간과 혈장의 타우린은 Stipanuk 등의¹⁰⁾ 방법으로 측정하였다. 간을 cold methanol 내에서 polytron(T-25, IKA-Labortechnik, Germany)으로 분쇄하고 원심분리하여 상등액을 사용하였다. 혈장은 cold methanol 을 가하고 원심분리하여 상등액을 취하여 사용하였다. 동량의 o-phthaldialdehyde와 반응시켜 유도체화하고 fluorescence detector(FP-920, Jasco, Tokyo, Japan)를 장착한 HPLC로 측정하였다. 이동상은 3%의 tetrahydrofuran을 함유한 0.1M potassium phosphate buffer와 acetonitrile을 85:15의 비율로 혼합하여 사용하였다.

Cysteine과 Cystine 측정

간과 혈장의 cysteine과 cystine의 측정은 각각 Gaitonde¹¹⁾ 및

States와 Segal의¹²⁾ 방법을 사용하였다. 10분간 100°C에서 산성 ninhydrin 용액, acetic acid, 시료를 반응시키고 95% ethanol을 가한 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈장의 cysteine은 0.5 M tris buffer(pH 8.0)와 2N NaOH로 중화시키고 0.1 M의 dithiothreitol을 가하여 환원시킨 후 측정에 사용하였다.

GSH 측정

간과 혈장의 GSH는 enzymatic recycling method를 이용하여 측정하였다.¹³⁾ 동물을 단두하여 채혈하고 10% sulfosalicylic acid 를 가하여 단백질을 응고시켰다. 간은 2 mM EDTA가 함유된 1 M HClO₄를 가해 polytron으로 분쇄하였다. 원심분리한 상등액을 취하여 인산완충액(phosphate 0.125 M, EDTA 6.3 mM, pH 7.5)으로 희석하고 0.3 mM NADPH 및 6 mM DTNB를 섞은 후, 간의 GSH 측정시에는 GSH reductase(12.5 units/ml), 혈장의 GSH 측정을 위해서는 GSH reductase(10 units/ml) 60 μl 를 가해 412 nm에서 1분간 흡광도 변화를 측정하였다. GSSG는 2-vinyl pyridine을 가하여 GSH를 제거하고 60 μl GSH reductase(10 units/ml) 를 가한 후에 GSH와 동일한 방법으로 측정하였다.

효소활성측정

GSH reductase 활성은 Smith 등의¹⁴⁾ 방법에 따라 DTNB의 환원속도를 412 nm에서의 흡광도증가로 측정하였다. 반응액에 0.75 mM DTNB, 0.1 mM NADPH, 약 0.1 mg의 cytosolic protein을 섞고 1 mM의 GSSG 0.1 ml을 가하여 반응을 시작하였다. Protein량은 Lowry 등의¹⁵⁾ 방법으로 측정하였다.

Glutathione peroxidase 활성은 Lawrence와 Burk의¹⁶⁾ 방법으로 측정하였다. 반응액에 1.2 units/ml의 GSH reductase, 1 mM GSH, 1 mM sodium azide, 0.2 mM NADPH와 50 μg의 cytosolic protein을 섞고 hydrogen peroxide를 가한 후 340 nm에서 흡광도변화를 측정하였다. NADPH의 흡광계수 6.22 cm⁻¹mM⁻¹ 를 사용하여 활성을 계산하였다.

Glutathione S-transferases (GSTs) 활성측정은 Habig 등의¹⁷⁾ 방법에 따라 실시하였다. CDNB와 ENPP에 대한 활성은 pH 6.5 0.1 M 인산완충액을, DCNB는 pH 7.5 완충액을 사용하였다. 25°C에서 기질인 CDNB, DCNB 또는 ENPP를 가하고 각각 340, 345, 360 nm에서 1분간 흡광도변화를 측정하였다. 흡광계수는 각각 8.5, 9.6, 0.5 cm⁻¹mM⁻¹를 사용하였다.

γ-Glutamylcysteine synthetase (GCS) 활성은 Sekura와 Meister의¹⁸⁾ 방법으로 측정하였다. 반응액은 0.1 mM EDTA, 0.01 mM NADH, 1 mM MgCl₂, 0.5 mM aminobutyrate, 0.5 mM glutamate, 0.1 mM phosphoenolpyruvate, pyruvate kinase, lactate dehydrogenase와 50 μg의 단백질로 구성되었다. ATP를 가하고 5분간 흡광도 변화를 측정하였으며 6.3 mM⁻¹cm⁻¹의

NADH 흡광계수로부터 활성을 구하였다.

간의 γ -glutamyltranspeptidase (GGT)의 활성은 L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide를 가하고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 반응생성물인 *p*-nitroanilide를 405 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.¹⁹⁾ 반응액의 부피는 1.0 ml이었으며 0.1 M Tris buffer (pH 8.25)에서 반응시켰다.

통계분석

모든 측정결과는 mean \pm SE로 표시하였으며 two-tailed Student's *t*-test로 분석하였다. 통계적인 유의성은 *P* 값이 0.05 이하인 경우를 기준으로 판정하였다.

실험결과

타우린이 간과 혈장내 타우린, GSH 및 Cysteine 농도에 미치는 영향

타우린(250 mg/kg)을 생쥐에게 복강투여하고 15시간 경과시까지 간과 혈액내의 타우린 농도를 측정하였다(Table I). 간과 혈액에서 타우린의 농도는 신속하게 증가되었다. 대조군에 비해 최대 2배 가까이 증가된 간의 타우린 농도는 4시간대까지 지속되었으나 혈액의 타우린은 0.25 시간대에서 최고농도를 이룬 후 곧

정상농도로 회복되었다. 타우린 투여에 의해 간의 GSH는 감소하였으나 통계적인 유의성은 최소농도에 도달한 6시간대에서만 관찰되었다. 혈액에서의 GSH 농도는 타우린 투여후 6시간대까지 두 군 사이에 차이가 없었다. 또 타우린을 투여하고 2.5시간 경과시와 간내 GSH가 유의적으로 감소한 6시간 경과시에 간내 GSSG의 농도를 측정하였으나 GSSG/GSH의 비율은 변화하지 않았다(데이터 제시하지 않음).

GSH의 합성기질인 cysteine의 유용성에 타우린이 미치는 영향에 대해 실험한 결과는 Table II와 같다. 타우린은 간의 cysteine 농도를 4시간과 6시간대에서 유의적으로 감소시켰다. 반대로 혈액의 cysteine 농도는 타우린 투여 직후 상승하였으며, 혈액내의 cysteine과 cysteine의 산화형인 cystine을 합한 농도도 타우린 투여 직후에 현저하게 상승하였다.

본 연구실험에서는 간의 cytosol에 GSH와 여러농도의 타우린을 가하고 시간경과에 따른 GSH 농도의 변화를 측정하였으나 타우린은 10 mM 용량까지 반응액의 GSH 농도에 변화를 유발시키지 못하였다(데이터 제시하지 않음).

타우린이 GSH 관련효소활성에 주는 변화

타우린을 투여하고 2.5시간과 6시간 후에 간의 GSH 합성, 사 용 또는 catabolism을 매개하는 효소의 활성을 측정하였다(Table

Table I - Changes in taurine and GSH concentrations in mice

Group	Time (Hr)									
	0	0.25	0.5	1.0	1.5	2.5	4.0	6.0	15.0	
Taurine (umol/g liver)	Control	11.6 \pm 0.7	11.1 \pm 0.5	12.5 \pm 0.9	N/D	12.4 \pm 0.7	11.5 \pm 0.7	13.8 \pm 1.0	11.8 \pm 0.9	11.5 \pm 0.4
	Taurine	11.6 \pm 0.7	19.8 \pm 0.6***	20.1 \pm 0.4***	N/D	19.5 \pm 1.5***	17.1 \pm 0.5**	19.7 \pm 0.4***	14.5 \pm 1.0	10.7 \pm 0.2
Taurine (nmol/ml plasma)	Control	383 \pm 140	501 \pm 57	638 \pm 57	N/D	563 \pm 60	335 \pm 56	454 \pm 77	529 \pm 77	218 \pm 7
	Taurine	383 \pm 140	2329 \pm 170***	1353 \pm 114*	N/D	628 \pm 58	429 \pm 41	710 \pm 109	642 \pm 93	236 \pm 11
GSH (umol/g liver)	Control	8.3 \pm 0.5	8.4 \pm 0.6	8.2 \pm 0.6	6.8 \pm 0.3	8.1 \pm 0.3	7.2 \pm 0.2	6.6 \pm 0.4	6.6 \pm 0.4	7.0 \pm 0.3
	Taurine	8.3 \pm 0.5	8.7 \pm 0.3	8.7 \pm 0.4	6.5 \pm 0.4	7.6 \pm 0.3	6.6 \pm 0.3	5.7 \pm 0.2	4.8 \pm 0.2***	6.8 \pm 0.7
GSH (nmol/ml plasma)	Control	41.4 \pm 2.0	42.6 \pm 2.5	30.1 \pm 2.8	21.6 \pm 2.4	32.2 \pm 4.1	20.7 \pm 3.4	31.5 \pm 1.8	29.1 \pm 3.2	N/D
	Taurine	41.4 \pm 2.0	49.6 \pm 4.4	32.8 \pm 3.5	24.2 \pm 1.8	31.5 \pm 2.7	20.4 \pm 1.7	37.4 \pm 5.5	27.2 \pm 3.8	N/D

Mice were treated with a single dose of taurine (250 mg/kg, ip). Each value represents mean \pm SE for 5 to 12 animals.

*****Significantly different from control at *P*<0.05, 0.01, and 0.001, respectively (Student's *t*-test).

Table II - Changes in cysteine concentration in liver and plasma

Group	Time (Hr)									
	0	0.25	0.5	1.0	1.5	2.5	4.0	6.0	15.0	
Cysteine (nmol/g liver)	Control	79.2 \pm 4.3	94.6 \pm 5.6	74.2 \pm 2.0	N/D	78.4 \pm 7.0	85.9 \pm 6.4	95.8 \pm 7.6	93.1 \pm 4.4	81.6 \pm 3.6
	Taurine	79.2 \pm 4.3	112.6 \pm 10.5	75.3 \pm 5.5	N/D	96.5 \pm 8.0	80.4 \pm 2.0	63.3 \pm 2.0**	67.0 \pm 1.6***	87.5 \pm 5.4
Cysteine (nmol/ml plasma)	Control	27.7 \pm 0.6	28.9 \pm 0.9	24.4 \pm 1.2	24.6 \pm 1.7	26.4 \pm 1.3	20.5 \pm 2.3	24.7 \pm 0.5	23.7 \pm 1.8	N/D
	Taurine	27.7 \pm 0.6	29.8 \pm 0.9	31.2 \pm 3.0*	28.5 \pm 2.2	24.4 \pm 1.5	19.6 \pm 0.5	21.5 \pm 0.7	22.9 \pm 2.2	N/D
Cyst(e)ine (nmol/ml plasma)	Control	106.1 \pm 3.8	113.8 \pm 7.1	112.2 \pm 7.2	103.4 \pm 9.0	104.6 \pm 5.5	116.6 \pm 10.7	100.2 \pm 2.4	110.2 \pm 7.2	N/D
	Taurine	106.1 \pm 3.8	128.2 \pm 9.8*	132.9 \pm 6.1*	107.1 \pm 5.1	104.2 \pm 6.8	104.0 \pm 7.3	104.3 \pm 7.2	103.1 \pm 8.2	N/D

Mice were treated with a single dose of taurine (250 mg/kg, ip). Each value represents mean \pm SE for 5 to 12 animals.

Cyst(e)ine represents combined concentration of cysteine and cystine.

*****Significantly different from control at *P*<0.05, 0.01, and 0.001, respectively (Student's *t*-test).

Table III - Enzyme activities in mice treated with taurine

Time (Hr)	Group	GSSG Reductase (unit/mg protein)	GSH Peroxidase (unit/mg protein)	GSH-S-Transferase			GCS (μ mole/min/mg protein)	GGT (nmole/min/g liver)
				ENPP (nmole/min/mg protein)	DCNB (nmole/min/mg protein)	CDNB (μ mole/min/mg protein)		
2.5	Control	0.103 \pm 0.002	0.282 \pm 0.032	110.6 \pm 15.0	43.1 \pm 6.4	2.52 \pm 0.28	1.4 \pm 0.3	440.4 \pm 8.8
	Taurine	0.096 \pm 0.007	0.250 \pm 0.014	107.7 \pm 9.8	44.4 \pm 5.5	2.17 \pm 0.20	1.2 \pm 0.1	439.1 \pm 5.3
6	Control	0.094 \pm 0.006	0.226 \pm 0.005	97.1 \pm 9.9	46.0 \pm 1.7	2.13 \pm 0.07	0.9 \pm 0.1	477.5 \pm 19.1
	Taurine	0.102 \pm 0.008	0.234 \pm 0.005	92.2 \pm 8.8	48.9 \pm 3.8	2.05 \pm 0.10	1.0 \pm 0.3	427.9 \pm 8.9

Mice were treated with a single dose of taurine (250 mg/kg, ip). Each value represents mean \pm SE for 5 to 12 animals.

III). Oxidative stress를 유발하는 외인성물질 및 활성산소의 무독화 반응에 관여하는 GSH peroxidase와 GSSG reductase의 활성은 2시간대 모두에서 타우린에 의해 변화되지 않았다. 또 GSH 포합반응을 촉매하는 GSTs의 활성을 CDNB, DCNB 및 ENPP를 기질로 사용하여 측정하였으나 이 효소의 활성도 타우린에 의해 영향을 받지 않았다. 간에서 cysteine으로부터 GSH 합성반응의 속도결정단계를 매개하는 GCS와 GSH의 catabolism에 관계하는 GGT의 활성도 급성적으로 투여된 타우린에 의해 변화하지 않았다.

고 찰

본 연구실험에서 ICR 생쥐에게 급성적으로 투여된 타우린은 간내 GSH의 농도를 현저하게 저하시켰다. 간에서 GSH 농도의 감소는 GSH 합성의 억제, 혈액으로부터의 수송증가, GSSG 축적 또는 GSH를 소모하는 효소의 활성 증가 등에 의해 발생할 수 있다. 본 실험에서 혈액의 GSH 농도는 타우린 투여에 의해 변화하지 않았다. 따라서 간에서 혈액으로 GSH의 수송증가에 의해 간내 GSH가 감소했을 가능성은 낮아 보인다. 한편 간내 GSH가 감소한 시점인 6시간대에서 GSSG 역시 감소하여 간의 GSSG/GSH 비율은 변화가 없었다. 그러므로 타우린에 의한 GSH의 감소는 oxidative stress에 의해 유발되는 GSSG의 축적과도 무관할 것으로 판단된다. 타우린은 GSSG reductase와 GSH peroxidase의 활성에도 영향을 미치지 않았으며, GSH와 electrophilic toxic metabolites의 포합반응을 촉매하여 GSH를 소모하는 GSTs의 활성을 증가시키지 않았다. GSH 합성을 매개하는 효소인 GCS나 GSH catabolism의 첫단계를 촉매하는 GGT의 활성도 타우린에 의해 변화하지 않았으므로 GSH 합성저하나 분해증가 또한 그 원인이 아닌 것으로 보인다.

GSH의 간내 농도가 저하된 시간대에서 GSH 합성기질인 cysteine의 농도는 현저하게 감소하였다. Cysteine은 다른 GSH 합성기질인 glutamate나 glycine에 비해 극히 낮은 농도로 존재한다.⁵⁾ Cysteine에 대한 GCS의 Km 값은 간내 cysteine 농도와 동일 범위 내에 존재하며, 실제로 cysteine의 유용성 변화가 GSH

합성을 결정하는 가장 중요한 인자로 보고되었다.²⁰⁾ 따라서 타우린 투여에 의한 간 GSH 저하는 cysteine의 유용성 저하가 직접적인 원인일 것으로 판단된다. 간내의 cysteine 농도는 혈액으로부터 uptake와 methionine으로부터 transsulfuration pathway를 통한 합성에 의해 유지된다.

생쥐의 간세포에서 cysteine의 uptake는 amino acid transporter를 경유하며, 여기에는 sodium 의존성경로인 system ASC와 system A, sodium 비의존성경로로 system L과 unsaturable transport component가 알려져 있다.²¹⁾ Amino acid transporter 들은 비교적 광범위한 기질특이성을 갖는다. 이 transporter 들은 유사구조의 여러 아미노산을 수송하므로 동일한 transporter에 의해 수송되는 아미노산은 서로의 수송을 경쟁적으로 억제한다.²²⁾

타우린은 cysteine을 통한 합성과 혈액으로부터의 uptake를 통해 간내에서 고농도로 유지된다. 또한 간의 타우린 농도는 혈액의 20배 이상을 유지하므로 간의 타우린 uptake에는 매우 효율적인 수송경로가 존재함을 시사한다. Hardison과 Weiner는²³⁾ 생쥐 간세포에서 정상적 농도범위내의 타우린은 sodium 의존성 saturable transporter를 경유하여 간으로 수송된다고 하였다. 이 타우린 transporter는 β -amino acids 구조에 선택적으로, 비슷한 구조의 β -alanine, hypotaurine 등과 타우린은 이 transporter에 의해 경쟁적으로 수송된다.^{23,24)} 한편 대부분의 조직에는 타우린이 고농도로 존재할 때 역할이 중요해지는 non-saturable, sodium 비의존성 uptake mechanism이 존재한다. 그러나 이 transporter는 아직까지 명확하게 규명되지 못하였다. Hardison과 Weiner는²³⁾ 생쥐 hepatocyte primary culture에서 타우린이 고농도(1~20 mM)로 존재할 때 non-saturable uptake가 기여함을 확인하였다. 그러나 이것이 단순확산에 의한 것인지 또는 neutral amino acid transporter를 경유한 것인지는 아직 불분명하다. Christensen은²⁵⁾ Ehrlich ascites tumor cell을 사용하여 타우린과 유사구조인 β -alanine uptake의 일부가 neutral amino acid transporter를 경유하는 것으로 보고하였다. 또한 Grosso 등은²⁶⁾ fetal mouse heart에서 non-saturable, sodium 비의존성 타우린 uptake를 확인했고, 단순확산만으로 가능하지 못할 정도로

많은 양의 타우린이 이동되는 것을 관찰하여 타우린이 neutral amino acid transporter를 공유할 가능성을 제시하였다.

본 실험에서 혈액내 cyst(e)ine 농도는 타우린에 의해 신속하게 상승하였으나 간내 cysteine과 GSH 농도는 타우린 투여후 4~6시간대에 감소한 것으로 관찰되었다. 따라서 타우린에 의한 간 cysteine 농도의 감소에 타우린에 의한 경쟁적인 hepatic uptake 억제외에도 다른 기전이 관여할 가능성을 배제할 수는 없다. 간내 cysteine은 혈액으로부터의 uptake와 transsulfuration reactions을 통한 합성에 의해 공급된다. 타우린이 methionine으로부터 cysteine의 합성과정에 주는 영향은 아직 보고된 바가 없다. 본 저자들은 최근에 타우린과 비슷한 분자크기를 갖고 타우린과 마찬가지로 조직내에서 중요한 osmolyte로의 기능을 갖는 betaine이 간에서의 cysteine과 GSH 대사에 미치는 영향을 보고하였다.²⁷⁾ 이 실험에서 betaine은 간내 cysteine과 GSH 농도를 신속하게 감소시켰으며 이때 간으로부터 혈액이 빠져나가는 hepatic vein에서 cysteine 농도는 현저하게 상승되어 cysteine의 hepatic uptake가 저해되는 것을 관찰하였다. 그러나 같은 실험에서 betaine은 cysteine의 전구체인 cystathionine 농도와 이 물질을 homocysteine으로부터 생성하는 cystathionine β -synthase의 활성도 저하시켜 cysteine transport와 간내에서 cysteine 합성 모두가 억제됨을 보였다. 따라서 betaine과 비슷한 성질을 가진 타우린이 cysteine 합성을 억제할 가능성은 추후 연구될 필요가 있을 것으로 보인다.

결론적으로 본 연구실험결과는 간내 cysteine과 GSH 농도가 혈액중 고농도의 타우린에 의해 감소됨을 시사하고 있으며, 여기에 구체적으로 관여하는 transporter나 표적 enzyme의 규명과 타우린에 의한 cysteine 농도감소의 생리학적, 약물학적인 의미에 관해서는 후속 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 보건의료기술연구개발사업의 연구비에 의해 부분적으로 지원되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Huxtable, R. J. : Physiological actions of taurine. *Physiol. Rev.* **72**, 101 (1992).
- Reed, D. J. and Orrenius, S. : The role of methionine in glutathione biosynthesis by isolated hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **77**, 1257 (1977).
- Lu, S. C. : Regulation of hepatic glutathione synthesis. *Sem. Liver Dis.* **18**, 331 (1998).
- Tateishi, N., Higashi, T., Naruse, A., Nakashima, K. and Shiozaki, H. : Rat liver glutathione: possible role as a reservoir of cysteine. *J. Nutr.* **107**, 51 (1977).
- Tateishi, N., Higashi, T., Shinya, S., Naruse, A. and Sakamoto, Y. : Studies on the regulation of glutathione level in rat liver. *J. Biochem.* **75**, 93 (1974).
- Babson, J. R., Abell, N. S. and Reed, D. J. : Protective role of the glutathione redox cycle against adriamycin-mediated toxicity in isolated hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* **30**, 2299 (1981).
- Stipanuk, M. H. and Coloso, R. M., Garia, R. A. and Banks, M. F. : Cysteine concentration regulates cysteine metabolism to glutathione, sulfate and taurine in rat hepatocytes. *J. Nutr.* **122**, 420 (1991).
- Yan, C. C. and Huxtable, R. J. : Effect of taurine and guanidinoethanesulfonate on glutathione metabolism in the rat. *Taurine* **3**, 33 (1998).
- Hwang, D. F., Hour, J. L. and Cheng, H. M. : Effect of taurine on toxicity of oxidized fish oil in rats. *Fd. Chem. Toxicol.* **38**, 585 (2000).
- Stipanuk, M. H., Hirschberger, L. L. and De La Rosa, J. : Cysteinesulfinic acid, hypotaurine, and taurine: reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol.* **143**, 155 (1987).
- Gaitonde, M. K. : A spectrophotometric method for the direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids. *Biochem. J.* **104**, 627 (1967).
- States, B. and Segal, S. : Quantitation of cyst(e)ine in human fibroblasts and separation of cysteinesulfinic acids, cysteic acids and taurine. *Clin. Chim. Acta* **43**, 49 (1973).
- Griffith, O. W. : Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinyl pyridine. *Anal. Biochem.* **106**, 207 (1980).
- Smith, I. K., Vierheller, T. L. and Thorne, C. A. : Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Anal. Biochem.* **175**, 408 (1988).
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- Lawrence, R. A. and Burk, R. F. : Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952 (1976).
- Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**, 7130 (1974).
- Sekura, R. and Meister, A. : γ -Glutamylcysteine synthetase. Further purification, "half of the sites" reactivity, subunits and specificity. *J. Biol. Chem.* **252**, 2599 (1977).
- Hinchiman, C. A. and Ballatori, N. : Glutathione-degrading capacities of liver and kidney in different species. *Biochem. Pharmacol.* **40**, 1131 (1990).

- 20) Lu, S. C. : Regulation of hepatic glutathione synthesis. *Sem. Liver Dis.* **18**, 331 (1998).
- 21) Kilberg, M. S., Handlogten M. E. and Christensen, H. N. : Characteristics of System ASC for transport of neutral amino acids in the isolated rat hepatocyte. *J. Biol. Chem.* **256**, 3304 (1981).
- 22) Guidotti, G. G. and Gazzola, G. C. : *Amino Acid Transporters: Systematic Approach and Principles of Control*. In Mammalian Amino Acid Transport. Kilberg, M. S. and Haussinger, D. eds., Plenum Press, New York and London, p. 3 (1992).
- 23) Hardison, W. G. and Weiner, R. : Taurine transport by rat hepatocytes in primary culture. *Biochim. Biophys. Acta* **598**, 145 (1980).
- 24) Inoue, M. and Arias, I. M. : Taurine transport across hepatocyte plasma membranes : Analysis in isolated rat liver sinusoidal plasma membrane vesicles. *J. Biochem.* **104**, 155 (1988).
- 25) Christensen, H. N. : Relation in the transport of β -alanine and the α -amino acids in the ehrlich cell. *J. Biol. Chem.* **239**, 3584 (1964).
- 26) Grosso, D. S., Roeske, W. R. and Bressler, R. : Characterization of a carrier-mediated transport system for taurine in the fetal mouse heart *in vitro*. *J. Clin. Invest.* **61**, 944 (1978).
- 27) Kim, S. K., Choi, K. H. and Kim, Y. C. : Effect of acute betaine administration on hepatic metabolism of S-amino acids in rats and mice. *Biochem. Pharmacol.* **65**, 1565 (2003).