

Enzyme Activities and Histochemical Changes in the Hind Limb Muscle of the Mouse Treated with 6-Aminonicotinamide

Tai-Jeon Kim¹, Hyung-Joon Bae¹, Hee-Gyoo Kang¹ and Dong-Beom Lee^{2†}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, Seoul Health College, Gyeonggi 461-713, Korea.

²The Republic of Korea National Red Cross, Blood Services Headquarters, Seoul 100-043, Korea

We investigated enzyme activity and histochemical changes in hind limb of mouse treated with 6-aminonicotinamide (6-AN). The activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and creatine phosphokinase in 6-AN treated group were significantly higher than those of the control and pair-fed groups. Also, the activity of lactic dehydrogenase in 6-AN treated group was the highest among the three groups, whereas that of the pair-fed group were higher than that of the control group. In the 6-AN treated group, oxidative histochemical stains, nicotinamide adenine dinucleotide reductase (NADH), succinyl dehydrogenase (SDH) showed increased scattered fibers in 6-AN treated subsarcolemma. Cytochrome c oxidase (COX) stain showed decreased up to 85% in 6-AN treated fibers. These results demonstrate that 6-AN antagonizes cell metabolism and induces the morphological deformity like the other mitochondrial muscle diseases. Therefore, we suppose that these data would be useful indexes for disclosing the mechanism of mitochondrial muscle disease.

Key Words: 6-Aminonicotinamide (6-AN), Enzyme activity, Mitochondria

서 론

근병증 (myopathy)은 임상적으로 감각장애가 동반하지 않는 근력약화 특히 근위부 근력약화 및 근섬유의 괴사와 재생을 동반하여 혈청 내 효소의 증가 및 근전도 검사의 BSAP (brief, small, abundant, polyphase MUAPs)가 일반적인 특징이다. 1980년대 분자생물학의 발달로 근세포막에 존재하는 단백질 및 그 유전자의 연구가 활발하게 진행되어 근병변과 관련된 유전자가 발견되고 있으나 근본적 원인과 치료수준은 미비한 상태다 (Prior, 1995). 그러나 세포 내의 대사와 관련된 특정 효소를 결핍되게 처리하는 생화학적 방법을 활용한다면 이러한 질환의 근본 원인과 유전자의 돌연변이 등을 밝히는 데에 어느 정도의 어려움을 해소할 수 있으리라 본다.

세포 내 조효소 결핍을 유발하도록 화학적으로 처리한 6-aminonicotinamide (6-AN)는 비타민 B 복합체의 일종인 nicotinic acid나 nicotinamide와 구조적으로 유사한 신경독소로서 NAD 또는 NADP와 결합하여 항대사 물질인 6-amino-NAD

또는 6-aminino-NADP adduct를 생성하여 세포 내 효소활성을 억제하고 생체 대사에 필요한 물질의 합성과 분해의 역류현상을 초래한다 (Kohler et al., 1970). 대사성 역류현상은 brain glutamic dehydrogenase (Bielick and Kriegstein, 1976), 6-phosphogluconate dehydrogenase (Herken et al., 1969), monoamine oxidase (Yang et al., 1998), liver malic enzyme과 acetylcholinesterase (Yang et al., 1998), muscle glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase와 NAD glycohydrolase (Yang et al., 1998)과 같은 NAD 또는 NADP-의존성 효소의 활성을 억제한다. 이와는 반대로 6-AN은 spinal cord ATPase와 acid phosphatase (Iglesias-Rozas and Iglesias, 1974), muscle malic enzyme과 acetylcholinesterase (Yang et al., 1998)의 세포 내 축적을 증가시키거나 brain isocitrate dehydrogenase 또는 pyruvate dehydrogenase (Gaitonade and Evans, 1982)의 활성에는 영향을 주지 않으며 또한 포유동물에 6-AN을 투여하면 비장의 림프소절, 부신, 간, 소화기, 점막, 정소 등의 퇴행변화가 초래되고 (Wolf and Cowen, 1959), 연골형성을 방해하여 골격형성을 어렵게 하는 것 (Caplan, 1972)으로 알려져 있다.

6-AN은 특히 중추신경계에 영향을 주는 신경독성제로 알려져 있다. 중추신경계에 손상을 주는 원인에 대해서는 아직 명확하게 밝혀져 있지 않으나 6-AN은 주로 별아교세포 (Horita et al., 1981; Aikawa et al., 1984), 희돌기아교세포 (Schaarschmidt and Lierse, 1975; Blakemore, 1978)와 같은 신

*는 문 접 수: 2006년 7월 28일

수정접수: 2006년 9월 11일

†교신저자: 이동범 (우) 100-043 서울시 중구 남산동 3가 32번지, 대한적십자사 혈액관리본부

Tel: 02-3705-8052, Fax: 02-3705-8401

e-mail: heavenjames@hanmail.net

경아교세포의 퇴행성 변화를 유도하며, 특히 회돌기아교세포의 퇴행성 변화를 수반하여 수초의 붕괴현상을 일으키기도 한다 (Blakemore, 1978; Miyoshi et al., 1978). 또한 6-AN으로 인한 소뇌세포의 granule cell 분화 억제현상은 뇌의 발생학적 측면에서 ornithine decarboxylase의 활성 감소 및 laminar 구조 변이를 초래하여 세포성장의 불균형을 초래하기도 한다 (Morris and Nadler, 1985). 이외에도 6-AN의 영향으로 뇌실막 세포와 미세아교세포 역시 퇴행성 변화를 일으킨다고 보고 (Politis, 1989)된 바 있으나, 미세아교세포에 대해서는 영향이 없다는 견해 (Schaarschmidt et al., 1975)와 오히려 활성화된다는 견해 (Karur et al., 1993) 등 다양한 의견들이 제시되어 있다. 이러한 변화는 임상적으로 뇌수종, 협착증을 일으키고 (Aikawa and Kobayashi, 1986) 발생학적으로 뇌세포 분화를 억제시켜 중추신경계의 퇴행성 변화를 일으키며 그 조직의 변이는 크로이츠펠트-야콥병 (Creutzfeldt-Jakob disease)와 비슷하고 (Horita et al., 1980), 외형적으로 근육에서는 뒷다리 근육에 강직성 마비를 초래하는 것으로 보고되어 있다 (Render et al., 1985).

최근 이러한 대사성 역류현상을 응용한 암화학 요법제로서 6-AN에 대한 임상적인 연구의 시도가 이루어진 이래 N-(phosphocetyl)-L-aspartate, 6-methyl mercaptopurine 등과 혼합하여 항암제로서 실험동물에 사용하여 유의한 결과를 얻었다는 연구가 보고되면서 (Nord et al., 1997; Griffiths et al., 1981) 그 임상적 적용에 대해 연구자들이 관심을 갖게 되었다.

기존의 연구에서는 주로 6-AN으로 인한 ATP 및 해당작용 (Jung and Park, 1992), catecholamine (Knoll-Kohler et al., 1980), RNA (Hunting et al., 1985), ADP-ribose (Morris et al., 1985), polyamine (Sciaccio and Bonilla, 1996) 등의 생화학적 저해현상으로 인한 중추신경계, 즉 뇌 및 척수 신경세포들의 형태학적 변화가 주로 연구되었으나 임상적으로 중추신경계와 연관된 근조직에 대한 연구는 거의 전무한 상태이다.

본 연구는 6-AN을 투여한 마우스에서 근생검을 실시하여 근육세포 내의 세포 소기관, 효소활성 및 근막의 형태학적 변화와 혈청 내에서의 효소활성도를 비교 분석함으로써 임상적으로 유사한 근육 질환을 진단하고, 그 원인을 규명하는데 활용할 수 있는 자료를 얻고, 나아가 그 해결 방안을 모색하고자 하는데 목적이 있다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육 및 처치

실험동물은 10주령 (체중 40~45 g) ICR 마우스 100마리를 사용하였으며 12 h-light/12 h-dark cycle로 온도 20~22°C, 습도 50~55% 상태의 조건이 일정하게 유지되는 항온 항습장

치가 갖추어진 실험동물실에서 6-AN을 투여한 실험군 40마리, 먹이를 인위적으로 조합하여 실험군의 체중과 동일하도록 조절한 pair-fed군 30마리, 그리고 대조군 30마리로 나누어 사육하였다. 6-AN 처리군에는 체중 1 kg 당 5 mg의 6-AN을 격일로 30일간 복강에 투여했으며, pair-fed 군과 대조군에는 0.85% NaCl를 6-AN 처리군과 동일한 방법으로 투여하였다. 세 군 모두 ICR 마우스의 체중이 1/3 정도 감소되는 시점에서 희생시켜 실험에 사용하였다.

2. 혈청 내 albumin과 glucose 및 효소활성도 측정

각 실험군마다 5마리씩을 ether로 마취한 후 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였으며, 원심분리기 (Jouan Co., France)로 1,200 ×g에서 10분 동안 원심시켜 혈청을 분리하였다. 혈청 내의 albumin과 glucose 농도의 측정, 그리고 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactic dehydrogenase (LDH), creatine phosphokinase (CPK)와 같은 효소들의 생화학적 활성도 측정은 Hitach-7150 자동분석기 (Hitach Co., Japan)를 이용하여 two point 방법으로 분석했다.

3. 효소 및 면역조직화학적 염색

마우스의 뒷다리 근육을 생검하여 nitrogen-cooled된 isopentane 용액에 즉시 담귀 동결시킨 후 -70°C에 보관하였다. 24시간 이후 동결된 근육조직을 6 μm 두께로 동결절편을 만든 후 각각 조직학적 염색으로는 hematoxylin & eosin (H&E) 염색과 modified Gomori-trichrome 염색을 실시하였고 효소조직화학적 염색으로는 nicotinamide adenine dinucleotide reductase (NADH) 염색, succinyl dehydrogenase (SDH) 염색, cytochrome c oxidase (COX) 염색을 Sciaccio와 Bonilla (1996) 방법으로 실시하였다. 그리고 면역조직화학적 염색으로는 근육 조직에 각각 1차 항체인 anti-dystrophin과 anti-laminin을 실온에서 1시간 동안 노출시킨 후 PBS Tween으로 세척 후 2차 항체를 가한 후 DAB로 발색시킨 다음 봉입하여 관찰하였다.

4. 전자현미경적 관찰

전자현미경검색 표본제작을 위하여 각 실험군 별로 일부 조직절편을 절취하여 1% paraformaldehyde와 1% glutaraldehyde 혼합액에 3시간 동안 전고정하였다. 이어 인산완충액으로 3회 세척한 다음, 2% osmium tetroxide액으로 3시간 동안 후고정하였다. 고정이 끝난 조직을 다시 인산완충액으로 세척하여 통상적인 방법에 따라 ethanol과 acetone 탈수과정을 거쳐 epon 혼합액에 포매하여 초박절편기로 70 nm의 박절편을 만들어 1% toluidine blue-borax 혼합액으로 염색을 실시한 후 먼저 광학현미경하에서 검경하였다. 동일한 부위에서 은

색절편을 제작하여 copper grid에 부착시킨 후, uranyl acetate 와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경으로 80 kv하에서 관찰하였다.

5. 자료정리 및 통계 분석

성적은 평균치 ± 표준오차로 나타내었으며, Newman-keuls multiple range test를 이용하여 각 군간의 통계적 유의성을 조사하였고 $P < 0.05$ 일 때 유의한 것으로 판단하였다.

결 과

1. Growth curve 및 외관적 증후

6-AN (5 mg/kg of body weight) 처리군의 생쥐 체중은 시간이 지날수록 서서히 감소하다가 처리 16일 이후부터 급격히 감소하여 대조군의 체중에 비교하여 62% 수준으로 감소하였다. 이와는 반대로 대조군에서는 차이가 없었다 (Fig. 1). 이러한 현저한 체중 감소 외에도 6-AN을 처리군은 운동실조, 안와염 (arrow head), 설사, 방향성 상실, 뒷다리 근육의 마비

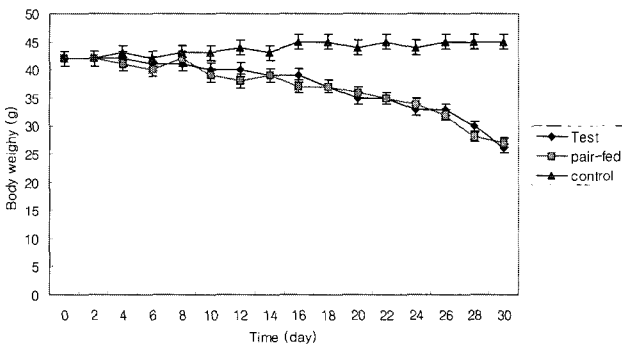


Fig. 1. Effect of the administration of 6-aminonicotinamide (6-AN) on body weight in mouse. Each point represents the average body weight of 30~40 mouse \pm SE. Triangle represent the control group, diamonds, the 6-AN treated group and squares, the pair-fed group. The control and pair-fed group were administered a saline solution, whereas the 6-AN treated group was administered saline containing 6-AN (5 mg/kg body weight) every other day for 30 days.

및 강직현상 (arrow) 등의 외관적 임상증후를 보였다 (Fig. 2).

2. 혈청 내 albumin과 glucose 및 효소활성도 변화

6-AN 처리군의 혈청 내 glucose는 220 ± 18 mg/dl로 대조군의 180 ± 20 mg/dl 보다 현저하게 증가된 것으로 나타났으나, albumin치는 6-AN 처리군과 대조군이 각각 3.3 ± 0.1 g/dl 과 3.5 ± 0.2 g/dl로 6-AN 처리군이 약간 낮은 것으로 나타났다. 또한 6-AN 처리군에서의 AST, ALT, LDH, CPK의 활성도는 각각 442 ± 52 unit/l, 65 ± 10 unit/l, 4352 ± 557 unit/l, 1255 ± 102 unit/l로서 대조군에 있어 이들 효소들의 활성도인 199

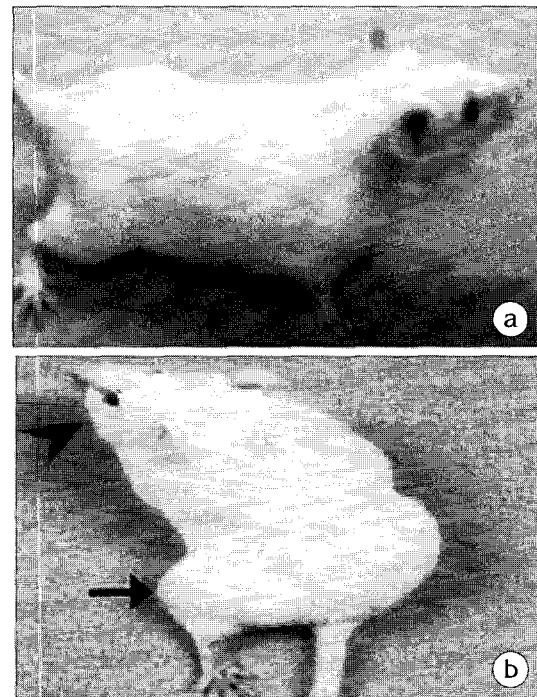


Fig. 2. The appearance of control (a) and 6-aminonicotinamide treated mouse (b). 6-aminonicotinamide treated mouse showed weight loss, diarrhea, vomiting, reduced motility, inflamed eyes (arrow head), atrophied muscle fiber (arrow), stepping gait of the hind limb and general debilitation.

Table 1. Effects of 6-AN on the levels of metabolite and enzyme in mouse serum

Parameter	Unit	Control	6-AN	Pair-fed
Glucose	(mg/dl)	180 ± 20^b	220 ± 18^a	220 ± 10^a
Albumin	(g/dl)	3.5 ± 0.2	3.3 ± 0.1	3.4 ± 0.2
Aspartate aminotransferase	(unit/l)	199 ± 12^a	442 ± 52^b	202 ± 15^a
Alanine aminotransferase	(unit/l)	40 ± 5^a	65 ± 10^b	38 ± 7^a
Lactic dehydrogenase	(unit/l)	285 ± 220^b	4352 ± 557^a	3878 ± 352^a
Creatine phosphokinase	(unit/l)	201 ± 42^a	1255 ± 102^b	188 ± 25^a

The significance of differences between means is designated by $^{a,b} P < 0.05$. Values are mean \pm SEM for seven samples. Each sample consisted of serum pooled from five mice. 6-AN: 6-aminonicotinamide

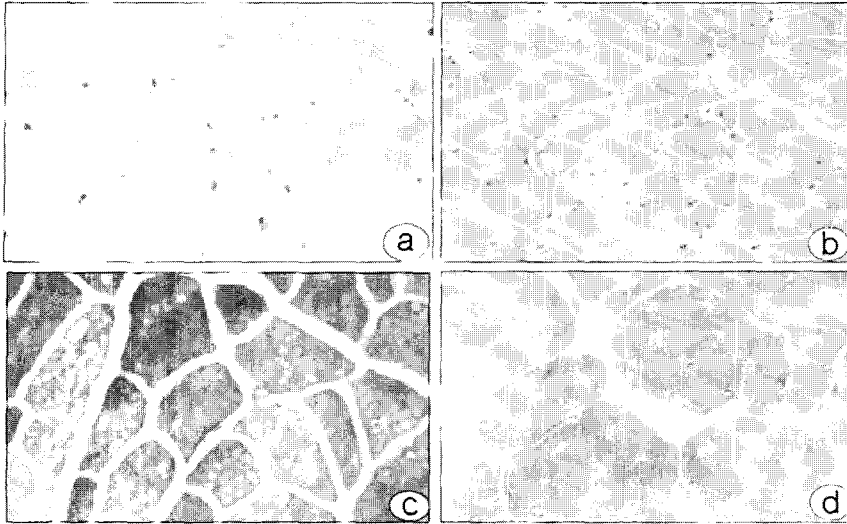


Fig. 3. Important pathological finding of the cases. The round and regular muscle fibers are shown in staining with H&E ($\times 200$) of the control group (a) whereas the atrophy and coarse fibers are shown in that of 6-AN treated group (b). Staining with Gomori-trichrome ($\times 400$) of control group (c) can be seen blue fibers whereas that of 6-AN treated group (d) account for 2% to 5% of ragged-red fibers.

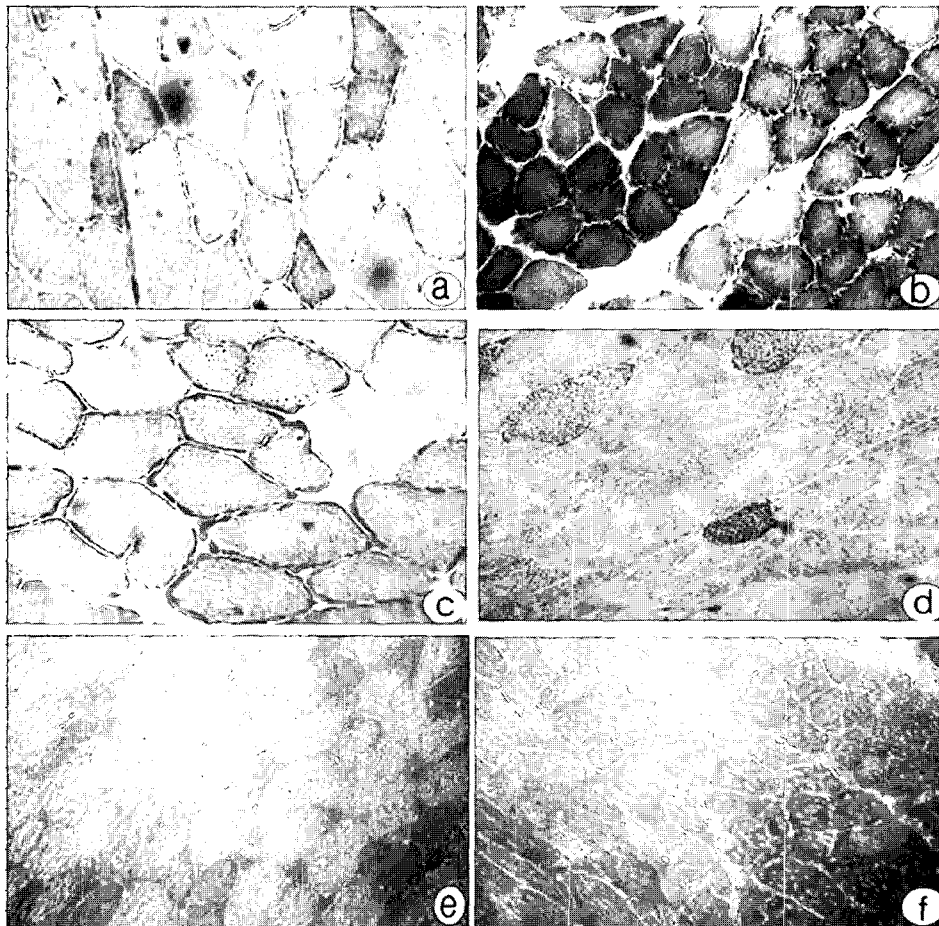


Fig. 4. Enzyme histochemical staining for hind limb muscle of mouse. Staining with NADH of control group (a) reveals normal shape whereas that of the 6-AN treated group (b) reveals increased reaction product in scattered muscle fibers (NADH stain, $\times 200$). Staining with COX of control group (c) shows thick brown color in muscle fibers whereas that of 6-AN treated group (d) reveals thin color because of no enzyme activity in 85% of COX (COX stain, $\times 200$). Staining with SDH of control group (e) shows thin gray color in muscle fibers whereas that of 6-AN treated group (f) reveals thick gray color because of increased enzyme activity in 85% of SDH (SDH stain, $\times 200$).

± 12 unit/l, 40 ± 5 unit/l, 2285 ± 220 unit/l, 201 ± 42 unit/l 보다 월등하게 증가된 것으로 나타났다 ($P < 0.05$, Table 1).

3. 형태학적 변화

H&E 염색 상에서 6-AN이 처리된 뒷다리 근육조직의 핵은 크게, 근세포는 거칠고, 압축된 강직현상이 나타났다 (Fig. 3a). 또한 modified Gomori-trichrome 염색에서는 6-AN이 처리된 뒷다리 조직에서 전체 근조직 중에서 흐트러진 적색섬유 (ragged-red-fiber; RRF)가 2~5% 정도 관찰되었으며 (Fig. 3b), NADH 염색에서는 대조군에 비해 6-AN 처리군이 흐트러진 근세포 내에서 NADH 효소활성이 현저히 증가되어 나타났다 (Fig. 4b). COX의 염색에서는 6-AN 처리된 뒷다리 근조직의 85% 정도가 효소의 비활성을 보여 밝게 나타났으며 (Fig. 4d), SDH 염색에서는 대체적으로 그 활성이 증가하여 진하게 염색되었다. 특히 흐트러진 근조직 내막에는 활성이 침착되어 검게 염색되어 나타났다 (Fig. 4f). 면역조직화학

적 염색인 Anti-dystrophin 근조직 외막 염색에서는 6-AN 처리군에서 부분적으로 불규칙적이고 울퉁불퉁한 내막을 보였다. 이러한 양상은 Anti-laminin 염색에서도 동일한 결과가 관찰되어졌다 (Fig. 5b, 5d). 전자현미경적 관찰에서는 뒷다리 근육의 세포 소기관인 미토콘드리아의 기형적 변이, cristae의 소실 (arrow head), glycogen granule의 현저한 증가 (arrow), 근조직의 위축 및 강직현상이 나타났다 (Fig. 6a). 또한 근 위축으로 인한 M-line의 선명함 및 잘 발달된 공포의 증가 (arrow)가 관찰되었다 (Fig. 6b).

고찰

6-AN을 실험동물에 투여하면 일반적으로 사지 특히 뒷다리의 마비를 초래하는 것으로 알려져 있으며 (Johnson and McColl, 1955; Iglesias-Rozas et al., 1973) 이때 발생하는 마비는 batracho toxin이 일으키는 이완성 마비와는 달리 강직성

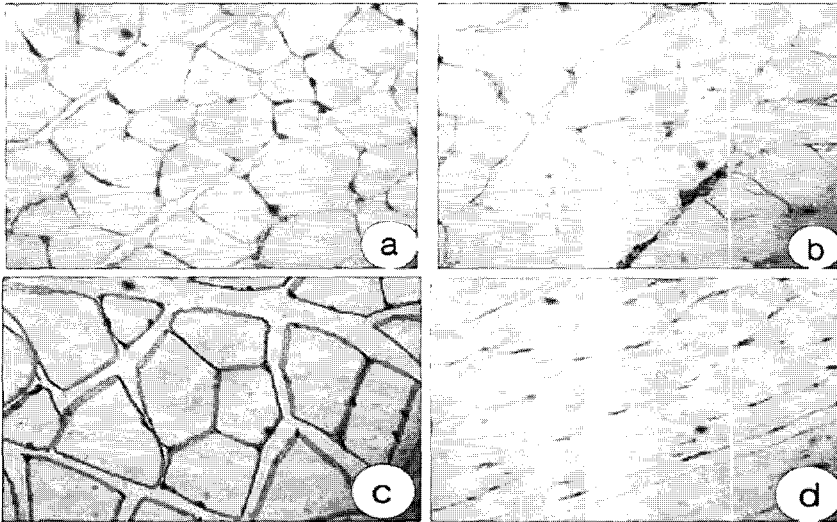


Fig. 5. Immunohistochemical staining for hind limb muscle of mouse. The shape of membrane protein (dystrophin) in control group (a) shows clearly, which is compared with that of 6-AN treated group (b) showing destroyed band unseem muscle fibers (Anti-dystrophin stain, $\times 200$). The shape of membrane protein (laminin) shows clearly in control group (c), which is compared with that of 6-AN treated group (d) showing irregular and unseem muscle fibers (Anti-laminin stain, $\times 200$).

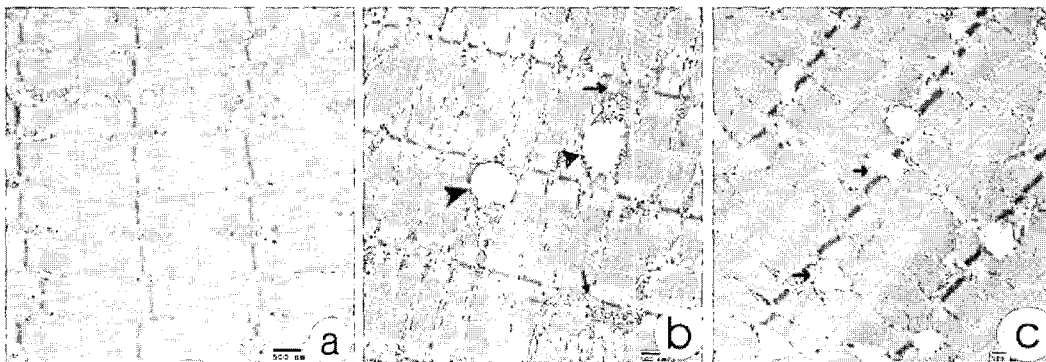


Fig. 6. Transmission electron micrograph of hind limb muscle ($\times 19,700$). The electron microscopy in control group (a) shows regularly arranged muscle fibers and reveals round shaped mitochondria whereas that of 6-AN treated group (b) reveals swollen mitochondria cristae (arrow head), an increase of glycogen granule (arrows), hypercontraction band and fragmented muscle fibers. The electron microscopy in 6-AN treated group (c) reveals abnormally development of vacuole (arrows) and M line thickness in muscle fibers.

마비이다. 특히 6-AN으로 인한 마비는 나이가 들수록 뚜렷하다 (Horita et al., 1981). 그러나 6-AN으로 인한 마비가 강직성 마비와는 무관하다는 연구결과들도 보고되고 있다 (Yang et al., 1999).

6-AN으로 처리한 마우스에서는 구토, 설사, 그리고 안와염과 뒷다리를 심하게 절뚝거리는 위축 및 강직현상 등 외형상 변화를 나타내었다. 그리고 전자현미경적인 관찰에서는 근조직의 기본단위인 sarcomere의 분절현상과 근조직 내에서 세포 내 함유물인 glycogen 과립의 증가를 볼 수 있었다. 이는 6-AN이 SDH의 활성도를 증가시키고, COX의 활성도 감소를 유발시켜 mitochondria의 기형적 변이와 cristae 소실로 인한 ATP 합성 및 세포 내 호흡의 억제현상 등의 복합적 역류작용의 결과에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 위와 같은 결과들을 종합해 볼 때 6-AN은 에너지 전달과정의 저해작용으로 인해 병리학적으로 사립체 근병변과 유사한 질환을 유발시킨다는 것을 알 수 있었다.

근육병을 진단하는데 있어서 무엇보다도 중요한 것은 환자에 대한 철저한 병력 및 가족력 등에 관한 문진과 세밀한 이학적 및 신경학적 검사라 할 수 있다. 본 실험에서 조사된 혈청 내 albumin과 glucose, 그리고 AST, ALT, LDH, CPK와 같은 효소들의 생화학적 활성도를 보면 6-AN 처리군에서 glucose나 측정된 모든 효소들의 활성도가 현저하게 대조군보다 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과에서 보면 glucose의 경우는 Bada 등 (1978)이 제시한 연구결과와 동일한 것으로 6-AN으로 인한 과혈당은 부신 수질의 에피네프린의 증가나 인슐린의 억제에 의한 연쇄작용에 의한 것으로 생각된다. 또한 AST, ALT, LDH, CPK와 같은 효소들의 활성도가 현저하게 증가되는 것과 더불어 근육세포의 ATP 합성에 관여되는 효소인 CPK의 증가는 심장 및 골격근이 손상을 받았다는 것을 의미하는 (McClintic, 1978) 만큼, 본 실험에서도 6-AN의 투여로 인해 심장 및 골격근이 손상을 받았다는 것을 알 수 있었다. 특히 ATP 합성이 저하되면 이들 효소의 활성도가 증가되고 아울러 혈중 농도가 증가된다는 사실 (Griffiths et al., 1981)이 있고 보면 본 실험에서 CPK의 혈중 증가는 근조직 내에서 합성 증가와 더불어 심장 및 골격근의 손상으로 인한 혈중 유출의 증가가 그 원인이라 하겠다. 6-AN으로 인하여 Modified Gomori-trichrome 염색에서의 흐트러진 적색근섬유 (ragged red fibers; RRF)의 관찰과 효소조직화학적 염색에서 NADH, SDH, COX와 같은 효소활성 정도는 사립체 근병증에서만 관찰되는 특징의 하나로서 다른 임상적 근섬유증과는 구별된다. 즉, NADH의 활성 증가는 6-AN이 근육 대사에 필요한 NADH 또는 NADPH의 수소전달 기능과 미토콘드리아 내의 전자전달의 촉매작용을 경쟁적으로 억제하여 근세포 내에 NADH, NADPH가 증가 및 축적됨을 의미한다. 이러한 전자전달의 촉매 저해현상은 미토

콘드리아 내 UQ에 전자전달 역할을 수행하는 SDH의 증가 및 축적을 유발시키고 물 분자를 형성하기 위한 전자의 환원 소비에 필요한 COX의 활성저하를 초래하여 결과적으로 세포의 Apoptosis를 유발시킴을 의미한다. 또한 면역조직화학적 염색인 anti-dystrophin과 anti-laminin의 염색 양상은 근이영양증과도 비슷하나 이는 6-AN의 장기투여로 인한 근외막 단백질의 손상으로 보여지며, 임상적으로 6-AN으로 인한 근육병은 사립체 근병증과 매우 유사함을 나타내었다.

사립체 근병증의 여러 가지 종류 중에서 우리나라에서 보고된 것은 Kearns Sayre 증후군 (Kwon et al., 1995), 진행성의 안근마비 (Sunwoo et al., 1983; Kwon et al., 1995), MERFF (myoclonic epilepsy and ragged red fibers) (Kim and Jeon, 1996), MELAS (mitochondrial encephalopathy, lactic acid and stokes) (Hong et al., 1993) 등인데 이들을 정확히 감별하기 위해서는 보다 정확한 혈청 내 관련 효소활성도를 측정하고, 한편으로 근조직에 대한 효소 및 면역조직화학적 염색법의 개발이 보다 활발히 이루어져야 할 것으로 생각된다.

본 연구결과와 문헌상의 지견으로 볼 때 6-AN은 세포 내 조효소인 NAD나 NADP와 결합하여 H⁺ 수송의 저해현상을 일으키고, 이차적으로 각 효소의 활성도의 증가와 이들 효소에 의존하는 해당작용, 오르니틴 회로 등 세포의 에너지 합성 및 분해과정에 영향을 주어 역류 연쇄반응이 순차적으로 일어나게 하고 있다. 따라서 이러한 생화학적 저해 연쇄반응은 6-AN이 최종적으로 사립체 근병증과 매우 유사한 병리학적 소견들을 유발시킨다는 것을 알 수 있었다. 이와같은 자료들은 원인을 규명하는데 어려움 겪고 있는 사립체 근병증의 병리학적 단서로 활용할 수도 있고, 임상적인 응용 측면에서는 치료제 개발의 가능성도 시사하는 바가 있다고 본다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 서울보건대학 학술연구비 지원에 의해 수행되었으며 이의 연구지원에 감사를 전합니다.

REFERENCES

- Aikawa H, Kobayashi S. Aqueductal lesion in 6-aminonicotinamide-treated suckling mice. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1986. 71: 243-250.
- Aikawa H, Suzuki K, Ito N, Iwasaki Y, Novaka I. 6-AN induces hydrocephalus in suckling mice. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1984. 43: 511-521.
- Baba A, Baba T, Matsuda T, Iwata H. Centrally mediated hyperglycemia by 6-aminonicotinamide. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1978. 24: 429-436.

- Bielicki L, Kriegstein J. Decreased GABA and glutamate concentration in rat brain after treatment with 6-aminonicotinamide. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 1976. 294: 157-160.
- Blakemore WF. Lesion in the cat spinal cord following local injections of 6-AN. *Res Vet Sci*. 1978. 24: 390-391.
- Caplan AI. The site and sequence of action of 6-AN in causing bone malformation of embryonic chick limb and its relationship to normal development. *Develop Biol*. 1972. 28: 71-83.
- Gaitonade MK, Evans GM. The effects of inhibition of hexose monophosphate shunt on the metabolism of glucose and function in rat brain in vivo. *Neurochem Res*. 1982. 7: 1163-1179.
- Griffiths IR, Kelly PA, Grome JJ. Glucose utilization in central nervous system in the acute gliopathy due to 6-aminonicotinamide. *Lab Invest*. 1981. 44: 547-552.
- Herken H, Lange K, Kolbe H. Brain disorders induced by pharmacological blockade of the pentose phosphate pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 1969. 36: 93-100.
- Hong SJ, Sim JY, Park YS, Kang HT, Cho HJ. A case of MELAS syndrome. *J Korean Pediatr Soc*. 1993. 36: 394-401.
- Horita N, Ishii T, Izuymia, Y. Ultrastructure of 6-AN induced lesion in the CNS of rats. II. Alterations of the nervous CNS susceptibility with aging. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1980. 53: 227-235.
- Horita N, Ishii T, Izuymia Y. Ultrastructure of 6-AN induced lesions in the CNS of rats. III. Alteration of the spinal gray matter lesions with aging. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1981. 49: 19-27.
- Hunting D, Gowans B, Henderson F. Effects of 6-aminonicotinamide on cell growth, poly (ADP-ribose) synthesis and nucleotide metabolism. *Biochem Pharmacol*. 1985. 34: 3999-4003.
- Iglesias-Rozas JR, Iglesias RE. Histochemical changes in the rat spinal cord after exposure to 6-aminonicotinamide. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1974. 28: 223-232.
- Iglesias-Rozas J, Martins LF, Iglesias RE. Histological changes in the spinal cord after acute poisoning with 6-AN. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1973. 25: 220-227.
- Johnson WT, McColl JD. 6-aminonicotinamide, a potent nicotinamide antagonist. *Science* 1955. 122: 834.
- Jung HK, Park IK. Effects of antimetabolite 6-aminonicotinamide on carbohydrate, nucleotide and catecholamine metabolism. *Korean J Zool*. 1992. 35: 23-28.
- Karur C, Yong ES, Ling EA. Studies of activated microglia and macrophages in lumbosacral spinal cord following on intraperitoneal injection of 6-AN into the adult rats. *Histol Histochemol*. 1993. 8: 600-707.
- Kim BG, Jeon BS. A case of myoclonus epilepsy and ragged red fiber syndrome. *J Korean Neurol Assoc*. 1996. 14: 595-600.
- Knoll-Kohler E, Wonjoroiecz F, Sarkander HJ. Correlated changes in neural rat brain RNA synthesis by 6-aminonicotinamide. *Exp Brain Res*. 1980. 38: 173-179.
- Kohler E, Barrach H-J, Neubert D. Inhibition of NADP dependent oxidoreductase by the 6-aminonicotinamide analogue NADP. *FEBS Lett*. 1970. 6: 225-228.
- Kwon SU, Lee KH, Kim DE, Hwang YS, Chun YK, Chi JG. Clinical manifestations of mitochondrial disease. *J Korean Neurol Assoc*. 1995. 13: 941-953.
- McClintic JR. *Physiology of the Human Body*. 1978. p81. Wiley. NY, USA
- Miyoshi K, Takauchi S, Hayashi S. Experiment spongy degenerations of the white matter induced by 6-AN intoxication. *Folia Psychiatr Neurol Jpn*. 1978. 32: 251-261.
- Morris G, Nadler JV, Nemeroff CB, Slotkin TA. Effects of neonatal treatment with 6-aminonicotinamide on basal and isoproterenol-stimulated ornithine decarboxylase activity in cerebellum of the developing rat. *Biochem Pharmacol*. 1985. 34: 3281-3284.
- Nord LD, Stolfi RL, Alfieri AA, Netto G, Reuter V, Sternberg SS, Colofiore JR, Kouctcher JA, Martin DS. Apoptosis induced in advanced CD8F1-murine mammary tumors by the combination of PALA, MMPR and 6-AN precedes tumor regression and is preceded by ATP depletion. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1997. 40: 376-384.
- Politis MJ. 6-AN selectively causes necrosis in reactive astroglia cells in vivo. Preliminary morphological observation. *J Neurosci*. 1989. 9: 71-79.
- Prior TW. Perspectives and molecular diagnosis of Duchenne and Becker muscular dystrophies. *Clin Lab Med* 1995. 15: 927-941.
- Render JA, Carton WW, Hinsman EJ, Turek JJ. Pathology of 6-aminonicotinamide toxicosis in rabbit. *Food Chem Toxicol*. 1985. 23: 795-803.
- Schaarschmidt W, Lieser W. Ultrastructural reaction of the multipotential glia in the cerebellum of the rat after treatment with 6-AN. *Acta Anat*. 1975. 93: 184-193.
- Sciaccio M, Bonilla E. Cytochemistry and immunocytochemistry of mitochondria in tissue sections. *Method Enzymol*. 1996. 264: 509-521.
- Sunwoo IN, Kim KW. A case report of oculocranosomatic neuromuscular disease with "Ragged-Red fiber". *J Korean Neurol*

- Assoc. 1983. 1: 68-74.
- Wolf A, Cowen D. Pathological changes in the central neurons system produced by 6-AN. Bull NY Acad Med. 1959. 35: 814-817.
- Yang JY, Kim YJ, Park IK. Neurotoxin 6-aminonicotinamide on the levels of soluble proteins and enzyme activities in various tissues of Japanese quail. Int J Biochem Cell Biol. 1998. 30: 1344-1377.
- Yang YC, Kim JY, Park IK. Neurotoxin 6-aminonicotinamide affects levels of soluble proteins and enzyme activities in various tissues of golden hamsters. Int J Biochem Cell Biol. 1999. 32: 549-556.
-