

비타민 A 및 에탄올이 흰쥐의 지질대사에 미치는 효과(I) 간장중 지질변동

이 인 자 · 조 경 열 · 이 중 달*

효성여자대학교 약학대학 · *영남대학교 약학대학

(Received February 20, 1988)

The Effect of Vitamin A and Ethanol on Lipid Metabolism of Rats(I) Liver lipid changes

Inja Rhee, Kyong-yol Cho and Jong-Dal Rhee*

College of Pharmacy, Hyo-sung Women's University

and College of Pharmacy, Yeungnam University, Korea

Abstract—The study was carried out to determine the effects of long term dietary administration of vitamin A and ethanol on the changes of liver lipids in rats. Sixty rats were divided into 4 groups; 200 μ g vitamin A (group 1), 200 μ g vitamin A with ethanol (group 2), 2,000 μ g vitamin A (group 3), 2,000 μ g vitamin A with ethanol (group 4). Generally the contents of vitamin A in the liver were decreased in the group 4 as compared with the group 3. The contents of the liver vitamin A in the group 3 were increased linearly in accordance with duration of the vitamin A administration, however, the degree of accumulation of vitamin A in the group 4 showed lower than those in the group 3. The contents of total cholesterol in the liver of the group 3 were rather higher than those in the group 4. The contents of triglyceride in the liver of the group 3 were lower than those of the group 4. Histological pictures in the group 1 and 2 showed nonspecific during 3 times (8 weeks, 16 weeks, 24 weeks) experiment. Pictures of fatty liver were found after 8 weeks in the group 3 and the degree of fatty accumulation showed increased with time.

비타민 A는 시각기능, 생식기능 점액세포의 분비 및 상피세포의 성장과 분화등 여러가지 중요한 생리기능을 가진 지용성 비타민으로 잘 알려져 있으며^{1,2)}, 여러가지 질병, 예를들면 夜盲症, 알콜중독자의 性機能減退 등의 치료에 사용되며^{3,4)}, 비교적 대량요법으로 乾癬⁵⁾, 眼球乾燥症⁶⁾, 原發性 膽道性 肝硬變症⁷⁾ 등의 치료에도 사용되고 있다. 최근에는 비타민 A가 癌의 發生을 예방할 수 있다는 報告^{8,9)}도 있어 상당량의 비타민 A를 담용하는 경우가 많아지고 있다. 그러나 비타민 A의 과량투여는 국소적으로는 口脣炎 結膜炎등을 초래하며¹⁰⁾, 全身의으로는 關節痛¹¹⁾, 肝損傷^{12,13)} 및 過脂血症^{14,15)} 등을 초래한다고 한다. 또한 에탄올을 一定量 投與하면서 아세트아미노펜과 같은 肝에 영향을 줄수 있는 다른물질을 동시에 투여하면 肝에 미치는 영향

이 더욱 조장된다는 보고도 있다.¹⁶⁾ 에탄올은 사람들이 흔히 섭취하는 물질이기 때문에 비타민 A를 치료제로서 대량으로 사용하는 사람에게 에탄올을 같이 먹을때 肝에 미치는 영향을 체계적으로 조사 연구하는 일은 意義있는 일이라 하겠다. 기초단계로서 흰쥐에게 常用량의 비타민 A와 그 10倍量을 투여하고 에탄올을 단독 또는 동시에 투여하여 간장중의 各種 脂質과 비타민 A의 함량을 분석하고 肝臟의 組織을 檢索하였다.

실 험 방 법

1. 실험동물 및 식이

실험동물은 100g前後의 Sprague-Dawley종 흰 쥐 60마리를 모두 정상식이¹⁷⁾로 사육하면서 비타민 A와 EtOH의 투여량에 따라 Table I과 같

Table I—Classification of experimental animal groups.

Group	no. of rats			Total
	8wks	16wks	24wks	
I	5	5	5	15
II	5	5	5	15
III	5	5	5	15
IV	5	5	5	15
Total	20	20	20	60

Group I : Basal diet

II : Ethanol fed.

III : 2,000 μ g vitamin A fed.IV : 2,000 μ g vitamin A+ethanol fed.

이 4군, 즉 I군: 200 μ g비타민 A 첨가군. II군: 200 μ g비타민 A+EtOH(총열량의 20%해당량)첨가군. III군: 2,000 μ g 비타민 A첨가군. IV군: 2,000 μ g+EtOH(II군과 같은 양) 첨가군으로 나누어 8, 16 및 24주간 사육시킨 후 각군마다 5마리씩 희생시켜 관찰하였다. 희생시키기 전 6시간은 절식시켰다.

2. 간장중 각종 지질분획의 정량

6시간 절식시킨 뒤에서 적출한 간장을 glass homogenizer를 사용하여 0.15M식염수로서 10% (w/v)마쇄액을 만든 후 Folch¹⁸⁾법에 따라 클로로호름-메칠알콜혼합액(2:1)으로 지질을 추출하여 각종 지질을 정량하였다.

중성지질의 정량—상기한 클로로호름-메칠알콜추출액을 Sugiura¹⁹⁾의 방법으로 505nm에서 흡광도를 측정하였다.

총콜레스테롤의 정량—상기한 클로로호름-메칠알콜추출액을 증발건조시킨 다음 Zak²⁰⁾ 등의 방법으로 560nm에서 흡광도를 측정하였다.

인지질의 정량—지질추출액의 일부를 증발건조시킨 다음 생리식염수로 비지질성분을 재추출하고 클로로호름층에 과염소산을 가하여 습성회화시켜 유리되는 무기인을 700nm에서 Fiske-Subba Row²¹⁾의 방법으로 정량하였다.

3. 간장중 비타민 A의 정량

절취한 간장을 생리식염수에서 마쇄한 후 일 정량을 취하여 Nelis²²⁾ 등의 방법에 따라 비타민 A의 함량을 측정하였다. 즉 간장마쇄액 1ml에

acetonitrile 2ml를 가하여 vortex mixer로 30초간 진탕한 후 *n*-hexane 3ml를 가하여 다시 5분간 혼합하였다. 이를 3000xg로 10분간 원심분리한 후 *n*-hexane층을 취하여 λ_{ex} 336nm, λ_{em} 450nm에서 형광비색계로 측정하였다.

4. 간장의 현미경적 검색

광학현미경적 검색—각 실험동물을 6시간 절식시킨 후 우측간엽의 일정부위를 절취하여 즉시 적당한 크기로 자른 다음 10% 중성호르마린액에 10시간 고정하고 80% 및 95% EtOH에 각각 2시간 통과시켜 탈수하고 CHCl₃로 3시간 처리한 후 파라핀포매하였다. 이것을 6 μ m두께로 薄切하여 hematoxylin-eosin염색하였다.

전자현미경적 검색—간을 절취한 즉시 1mm³ 크기로 細切한 조직편을 Luft²³⁾法에 의해 epon mixture로 중합포매하여 gelatin capsule에 넣어서 75°C에서 12시간, 60°C에서 48시간 가온하여 경화시킨 후 ultramicrotome으로 1 μ m두께로 薄切하여 methylene blue로서 單染色하여 광학현미경으로서 관찰부위를 확인한 후 Porter-blue MT 2B 초박절기로서 400~600Å으로 박절하고 그 切片을 Reynold²⁴⁾의 방법에 따라 二重電子염색하여 Hitach H600 및 Jeol-JEM-100CX전자현미경으로 관찰하였다.

이상의 모든 결과는 means \pm S.D.로 나타냈으며 통계적인 유의성은 Student's group t-test²⁵⁾에 의했다.

실험결과 및 고찰

간장중 각종지질의 함량변화—각 실험군에서 간지질의 변동을 측정된 결과는 Table II와 같다.

간장 중 중성지질은 I군에서는 8, 16 및 24주간의 성장과정에서 뚜렷한 변동이 없었으나 II군에서는 16주와 24주에 각각 2배, 4배로 현저히 ($p < 0.01$) 증가하였다. III군에서는 有意인 증가($p < 0.05$, $p < 0.01$)는 하였으나 II군에 비해 그 증가폭이 낮았으며 IV군은 16주와 24주에 각각 3배, 6배 ($p < 0.01$)로 II, III군에 비해 현저히 증가했다. 이는 EtOH이 비타민 A보다 더 많은 중성지질을 간장내에 축적하는 결과로 보이며,

Table II—Levels of liver lipids in rats fed a normal or high vitamin A diet with or without ethanol for 8, 16, and 24 weeks.

Group	Control	Ethanol	Vitamin A	Vitamin A & Ethanol
Weeks	Cholesterol (mg/g of liver wet wt.)			
8	2.24±0.12	2.36±0.25	4.22±1.08**	2.91±0.98
16	2.59±0.21	2.61±0.27	4.57±1.14**	3.26±1.05*
24	2.67±0.35	3.33±0.31	5.08±1.02**	5.94±1.13**
	Triglycerides (mg/g of liver wet wt.)			
8	22.31±3.20	11.42±1.57	18.19±6.22	15.44±8.54
16	31.06±5.16	63.71±15.23**	51.07±11.63*	98.55±32.81**
24	30.78±4.28	143.68±100.3**	74.93±25.97**	269.87±110.2**
	Phospholipid-phosphorus (mg/g of liver wet wt.)			
8	6.18±0.81	5.54±0.74	6.46±0.70	6.28±0.61
16	6.52±0.96	6.63±0.88	6.91±0.69	8.23±0.76**
24	7.96±1.03	8.77±0.63	8.03±1.71	10.11±0.98**

Values are mean±S.D. *p<0.05 **p<0.01

Lieber²⁶⁾ 등이 흰쥐를 사용한 실험에서 EtOH은 간에서 TG rich VLDL 합성을 자극한다고 하였으며, Lamb²⁷⁾ 등은 hamster에게 EtOH을 먹였을 경우 microsomal fraction의 phosphatidate phosphohydrolase 활성이 자극되어 간의 중성지질이 축적된다고 보고하였으며 Misra²⁸⁾ 등은 과량의 retinol 투여는 흰쥐의 간장중 중성지질의 증가를 유발하며 이는 지단백질의 apoprotein 이용장애 때문이라고 시사하였다. 본 실험에서 관찰된 결과는 上記 여러기전들과 연관이 있는 것으로 추정된다.

간장중 총 콜레스테롤치는 I군에서는 사육기간동안 변동이 없었으나 II군에서는 24주에 약간 증가(p<0.05)하였으며 III군에서는 8, 16 및 24주에 다같이 2배로 증가하였다(p<0.01). IV군에서는 8주에는 有意的인 차이가 없었으나 16, 24주에는 현저히 증가하였다(p<0.05, p<0.01). 이는 비타민 A 투여가 EtOH투여보다 간장내 총 콜레스테롤 축적이 많다는 것을 보여주었다. Misra²⁸⁾ 등은 흰쥐에게 비타민 A 투여량을 달리하여 사육한 결과 비타민 A투여량이 증가함에 따라 간장중 총 콜레스테롤치가 증가함을 관찰하고 이는 비타민 A가 간장의 콜레스테롤 생합성을 자극하기 때문이라고 주장하였다. 또 Lieber²⁹⁾ 등은 사람에게 만성적으로 EtOH투

여시 지질대사에 변화를 일으켜 fatty liver나 hyperlipidemia가 자주 나타나는 것을 관찰하고 이는 EtOH이 간에서 alcohol dehydrogenase에 의해 대사될 때 과잉의 hepatic NADH생성 및 mitochondria 손상을 일으켜 fatty acid의 β -oxidation이 감소되고 fatty acid생합성이 증가하므로서 콜레스테롤합성이 증가하기 때문이라고 설명한 사실들과 관련이 있는 것으로 생각되며 IV군에서 24주에 콜레스테롤치가 현저히 증가한 사실은 Sato-Lieber³⁰⁾ 등의 비타민 A와 EtOH의 간독성에 관한 연구에서 fatty acid oxidation의 감소가 지방축적의 원인이라고 시사한 것과 관련이 있는 것으로 생각된다.

간장중 인지질은 I, II, III군 모두 사육기간동안 변동이 없었으나 IV군에서 16주와 24주에 유의성 있는 증가(p<0.05)를 보이고 있다. 이는 Lieber²⁹⁾ 등이 EtOH투여로 지방간이 유발되었을 때 간장중 인지질이 증가하였다는 보고와 관련이 있을 것으로 생각된다.

간장중 비타민 A의 함량변화—Table IV에서 보는바와 같이 I군은 사육기간에 따라 변동이 없었으나 II군에서는 사육기간이 길어짐에 따라 비타민 A 함량이 현저히 감소(p<0.01)했으며, I군에 비해 1/3밖에 되지 않았다. III군은 사육기간에 따라 현저히 증가(p<0.01)했으며, I군

에 비해 2~3배로 증가하였다. IV군에서는 8주에서는 I군보다 감소($p < 0.01$)하였으나, 16주 24주로 사육기간이 길어짐에 따라 현저한 증가($p < 0.001$)를 보였다. 이는 과잉의 비타민 A 투여는 간장내에 비타민 A를 축적시키며 EtOH은 간장내에 비타민 A를 감소시키는 결과를 나타내었다. 이것은 EtOH이 비타민 A의 저장장소인 지방세포의 수를 감소시키거나 간내의 microsomal enzyme계를 자극하여 비타민 A의 異化作用을 증가시키기 때문이라고 보고한 연구³¹⁾도 있다. Grummer³²⁾등은 흰쥐에게 retinyl acetate와 β -carotene을 EtOH과 함께 장기간 투여할 때 간장내의 비타민 A가 감소하는데 이는 retinyl acetate나 β -carotene의 흡수불량이나 비타민 A 및 EtOH의 대사와 관련된 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS) 효소들의 활성화에 기인된 것이 아니라 고환과 같은 간의외의 조직에서 비타민 A 이용도가 증가하기 때문이라고 시사했다. 이 문제에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 요망되고 있다. 또 IV군에서는 8주에는 I군에 비해 有意한 감소를 보였으나 16주 24주에는 有意한 증가를 나타내었고 III군에 비해서는 쏠 사육기간에 걸쳐 유의할 감소를 보였는데 이것은 비타민 A 투여에 의한 간조직내 비타민 A 축적효과³³⁾와 EtOH에 의한 감소효과³⁴⁾가 서로 상쇄된 결과로 생각된다. 이러한 현상에 대하여서도 다시 검토되어야 할 문제가 남아있다고 생각된다.

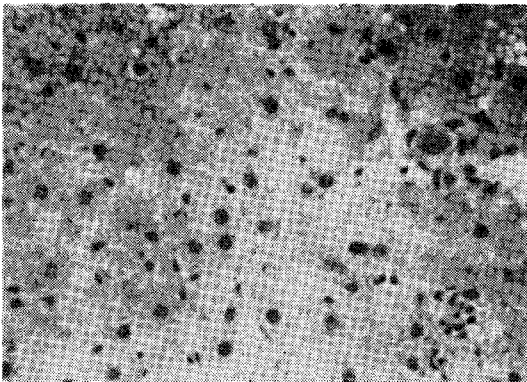


Fig. 1-Liver of rat, fed normal vitamin A diet with ethanol for 24 weeks. The hepatocytes contain intracytoplasmic fat vacuoles and show bubbly appearance. H-E stain, 400 \times .

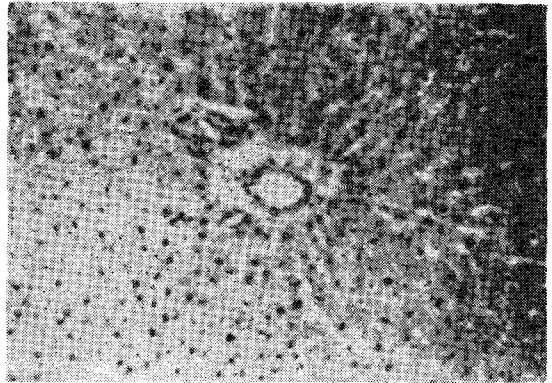


Fig. 2-Liver of rat, fed high vitamin A diet without ethanol for 24 weeks. The hepatocytes contain a few intracytoplasmic fat vacuoles. Ito cells arrows are occasionally found. H-E stain, 200 \times .

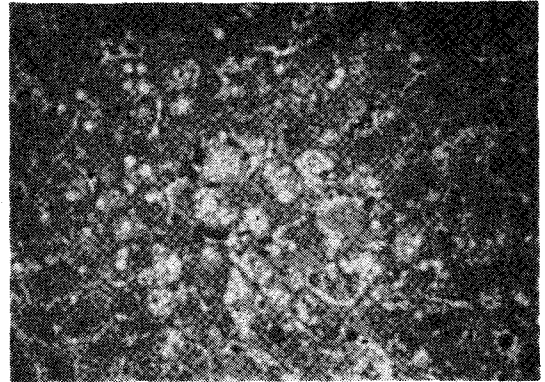


Fig. 3-Liver of rat, fed high vitamin A diet with ethanol for 24 weeks. The hepatocytes contain numerous intracytoplasmic fat vacuoles and show bubbly appearance. H-E stain, 400 \times .

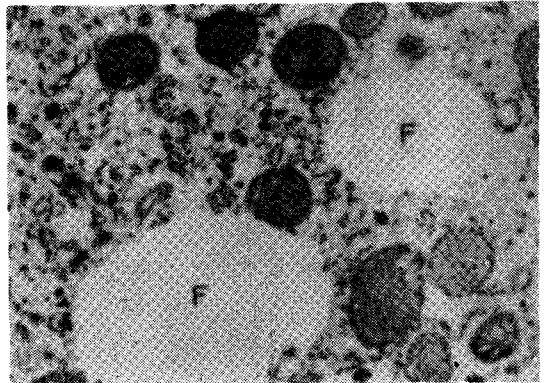


Fig. 4-Hepatocytes of rat, fed normal vitamin A diet with ethanol for 24 weeks. Large electrolucent fat droplets (F) Citrate, 15,000 \times .

간조직의 병리학적 소견—간조직의 육안적 소견으로는 I, III군은 아무런 이상이 없었으나 II, IV군에서 24주에 열린 황갈색을 띄었고 비대나 다른 기타 병변은 관찰되지 않았다. 광학현미경적 소견으로는 Fig. 1, 2, 3.에서와 같이 II군에서 간세포의 경한 섬유화를 볼 수 있었고 문맥부에는 임파구의 경한 침윤도 인정되었다. 전자현미경적소견으로는 Fig. 4, 5, 6, 7, 8.에서 보는바와 같이 II군에서는 간세포의 脂肪滴이 증가된 소견의에도 mitochondria의 종대, 당원과립의 증가 및 SER의 감소등을 볼 수 있었다. III군에서는 8, 16주에는 지방세포주변에 교원섬유축이 약간 보였고 24주에는 그 정도가 좀더 심

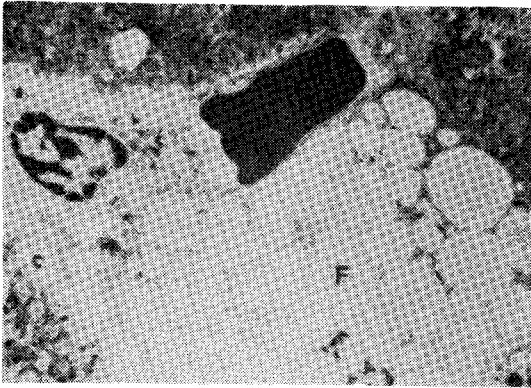


Fig. 5—Hepatocytes of rat, fed high vitamin A diet without ethanol for 24 weeks. The fat droplets (F) are scattered and collagen bundles (C) are occasionally found. Uranyl acetate and lead citrate, 15,000 \times .

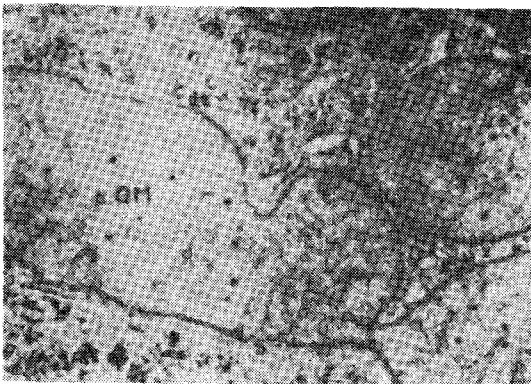


Fig. 6—Hepatocytes of rat, fed high vitamin A diet without ethanol for 24 weeks. Giant mitochondria (GM) show clear matrix. Uranyl acetate and lead citrate, 22,000 \times .

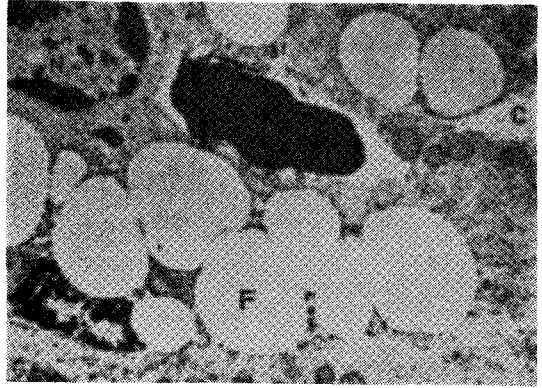


Fig. 7—Hepatocytes of rat, fed high vitamin A diet with ethanol for 24 weeks. The fat droplets (F) are scattered and collagen bundles (C) are found. Uranyl acetate and citrate, 15,000 \times .

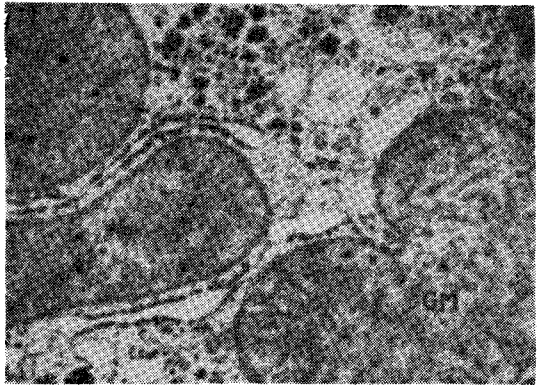


Fig. 8—Hepatocytes of rat, fed high vitamin A diet with ethanol for 24 weeks. Giant mitochondria (GM) display severe disorganization of the cristae. Uranyl acetate and lead citrate, 22,000 \times .

하였다. 이외에도 간세포의 mitochondria 基質電子밀도증가, cristae의 감소등과 더불어 모양이 변형되었고 이들 소견은 투여기간이 길수록 심해지는 경향이였다. 간세포에 약간 지방적이 증가하였으나 II군보다는 경하였다. 또 giant mitochondria도 8주부터 볼 수 있었다. IV군은 II, III군에서 볼 수 있었던 소견들을 모두 볼 수 있었고 섬유화경변 및 mitochondria 변화등은 II군보다 현저하였으며 24주에서는 간세포의 necrosis가 관찰되었고 autophagosome도 관찰할 수 있었다. 이상의 결과들을 종합하면 Table III과 같다. III군보다 IV군에서 간손상이 더 심한 것으로 나

Table III—The summary of ultrastructural changes of the liver in each group.

Finding	Group I			Group II			Group III			Group IV		
	8	16	24*	8	16	24	8	16	24	8	16	24*
Hepatocyte												
Giant mitochondria	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Fat droplet	±	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Lipocyte	+	+	+	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Collagen fiber	+	+	+	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡

* Number of Weak, — Absent, ± Rare, + Occasional, ‡ Frequent, ‡‡ Very Frequent.

Table IV—Liver vitamin A in rats fed a normal or high vitamin A diet with or without ethanol for 8, 16, and 24 weeks.

Weeks	Control	Ethanol	Vitamin A	Vitamin A and Ethanol
8	347.6±80.94	136.6±22.57**	685.6±94.41**	10.5±25.54**
16	331.6±45.07	103.4±27.18**	1180.8±209.25**	662.8±76.35**
24	332.9±50.93	97.5±26.79**	1311.0±183.45**	914.3±222.38**

Values are mean±S.D. **p<0.01

타났으나 간조직내의 비타민 A가 직접적으로 간 세포에 毒作用³⁵⁾을 나타내지는 않을 것으로 보이며 섬유화병변은 비타민 A의 독성대사산물³⁶⁾이나 EtOH에 의한 영향일 수도 있고 간세포괴사나 염증 등에 의한 간접적인 결과일 수도 있다. Giant mitochondria는 앞서 보고된³⁰⁾ 바에서는 비타민 A 및 EtOH을 동시에 9개월간 투여한 후에만 발견되었으나 본 실험에서는 III군에서도 8주부터 발견되었으며 IV군에서도 초기부터 볼 수 있었다. 또 본 실험에서 IV군의 24주에 lipocyte가 변형되어 이루어진 듯한 fibroblast like cell이 발견되었다. 이것은 myoblast로 추측되며 여기서 生成된 교원섬유가 또한 간장손상에 관여했으리라 생각된다. Myoblast는 실험적인 섬유화병변³⁷⁾이나 간경화시의 섬유속에서도 발견³⁸⁾되었고 비타민중독증을 가진 2명의 환자에서도 보고³⁹⁾된 바 있다. 그리고 EtOH중독자의 perivenular fibrosis를 가진 例⁴⁰⁾에서도 발견되었으며 baboon에 장기간 EtOH을 투여한 후에 증가된 보고⁴¹⁾도 있다.

이상의 결과가 사람에게 적용될 수 있다면 정상상태에서는 안전하다고 생각되는 量의 비타민

A가 장기적인 EtOH섭취와 병합될 때는 중독증상을 나타낼 가능성이 있다고 본다. 확실한 기전은 밝혀져 있지 않으나 특히 장기간 EtOH을 섭취해온 사람에게 치료목적으로 대량의 비타민 A를 투여할 경우가 있을 때는 간장기능의 변화에 유의하면서 신중을 기해야 할 것이라 생각된다. 이에 대해서는 앞으로 더 많은 검토되어야 할 문제들이 남아있다고 사료된다.

결 론

비타민 A와 EtOH이 간장에 미치는 영향을 조사하고자 흰쥐에게 비타민 A와 EtOH의 양을 달리하여 사육기간별로 간장내 각종지질분획과 비타민 A의 量을 측정하였으며 간장조직의 현미경적 검색을 한 결과는 다음과 같다.

(1) 간장중 중성지질의 함량은 EtOH투여군이 비타민 A 투여군보다 현저히 증가하였다(p<0.001).

(2) 간장중 총 콜레스테롤 함량은 비타민 A 투여군에서는 8주부터 현저히 증가하였으며(p<0.001) EtOH투여군에서는 8주에는 변화가 없었

으나 사육기간 경과에 따라 증가하였다($p < 0.05$, $p < 0.01$).

(3) 간장중 인지질은 비타민 A와 EtOH 병합투여시에 16주, 24주에 有意性 있는 증가를 보였다($p < 0.05$).

(4) 간장중 비타민 A의 함량은 EtOH투여시에 는 대조군에 비해 현저히 감소했으며($p < 0.01$) 비타민 A 투여군에서는 사육기간이 길어짐에 따라 현저히 증가하였다($p < 0.001$).

(5) 간장의 현미경적 소견은 비타민 A 투여군에서 8주부터 giant mitochondria가 발견되었고 EtOH첨가시에는 간의 지방축적이 더 심하게 나타났다. 24주에는 간의 섬유화병변도 발견되었다.

참 고 문 헌

- 1) Mandel, H.G. and Cohn, V.H.: *Vitamin A in the Pharmacological Basis of Therapeutics*, eds. Gilman, A.G., Macmillan Publishing Co. Inc., N.Y., 1583 (1980).
- 2) Goodman, D.S.: Vitamin A and Retinoids in Health and Disease. *I. Engl. J. Med.* **310**, 1023 (1984).
- 3) Rusell, R.M., Morrison, S.A., and Smith, F.R.: Vitamin A Reversal of Abnormal Dark Adaptation in "Cirrhosis in Study of Effects on the Plasma Retinol Transport System," *Ann. Intern. Med.* **88**, 622(1978).
- 4) McClain, C.J., VanThiel, D.H., and Parker, S.: Alteration in Zinc, Vitamin A and Retinol-binding Protein in Chronic Alcohols: A Possible Mechanism for Night Blindness and Hypogonadism. *Clin. Exp. Res.* **3**, 135(1979).
- 5) Fleischmann, R., Schlote, W., and Schomerous, H.: Kleinknotige Leber Zirrhose mit Ausgeprägter Portaler Hypertension als Folge einer Vitamin A Intoxikation bei Psoriasis-Behandlung. *Deutsche Med. Wschr.* **102**, 1637(1977).
- 6) Sommer, A., Tarwotjo, I., and Djunaedi, M.E.: Oral Versus Intramuscular Vitamin A in "the Treatment of Xerophthalmia," *Lancet.* **2**, 557 (1980).
- 7) Herlong, H.F., Russell, R.M., and Maddrey, W.C.: Vitamin A and Zinc Therapy in Primary Biliary Cirrhosis. *Hepatology* **1**, 348(1981).
- 8) Lotan, R.: Effects of Vitamin A and Its Analogs (Retinoids) on Normal and Neoplastic Cells. *Biochem. Biophys. Acta.* **605**, 33(1980).
- 9) Sporn, M.B., and Newton, D.L.: *Retinoids and Chemoprevention of Cancer* "in Inhibition of Tumor Induction and Development," eds. Zedeck, M.S., and Lipkin, M., Plenum, New York, 71 (1981).
- 10) Blackman, H.J., Peck, G.L., and Olsen, T.G.: A Side Effect of 13-cis-Retinoic Acid Therapy for Dermatologic Disease. *Ophthalmology* **86**, 753 (1979).
- 11) Peck, G.L., Gross, E.G. and Butkus, D.: *Comparative Analysis of Two Retinoids in the Treatment of Disorders of Keratinization* in "Advances in basic Research and Therapy in Retinoids," eds. Orfanos, C.E., BraunFalo, O., and Farber, E.M., Spring verlag, Berlin, 279 (1981).
- 12) Weiss, V.C., West, D.P., Ackerman, R., and Robinson, L.A.: Hapatotoxic Reactions in a Patient Treated with Etreinate. *Arch. Dermatol.* **120**, 104(1984).
- 13) Hurban, Z., Russel, R.M., and Boyer, J.L.: Ultrastructural Changes in Livers of Two Patients with Hypervitaminosis A. *An. J. Pathol.* **76**, 451(1974).
- 14) Zech, L.A., Gross, E.G., Peck, G.L., and Brewer, H.B.: Changes in Plasma Cholesterol and Triglyceride Levels after Treatment with Oral Isotretinoin. *Arch. Dermatol.* **119**, 987(1983).
- 15) Lyons, F., Laker, M.F., Marsden, J.R., and Manuel, R.: Effect of Oral 13-cis-Retinoic Acid on Serum Lipids. *Brit. J. Dermatol.* **107**, 591 (1982).
- 16) Hasumura, Y., Tescke, R., and Lieber, C.S.: Increase Carbin Tetrachloride Hepatotoxicity and Its Mechanism, after Chronic Ethanol Consumption. *Gastroenterology* **66**, 415(1974).
- 17) 이순재, 박홍구: 식이내의 지방함량과 종류가 흰쥐의 체내지질대사에 미치는 영향 한국영양학회지,

- 17, 113-125(1984).
- 18) Folch, J., Lee, M., and Stanley, S.G.H.: A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipid from Animal Tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497(1957).
- 19) Sugiura, M.: A Simple Colorimetric Method for Determination of Serum Triglycerides with Lipoprotein Lipase and Glycerol Dehydrogenase. *Clin. Chin. Acta.* **8**, 125(1977).
- 20) Zak, B. and Dickerman, R.C.: Rapid Estimation of Free and Total Cholesterol. *Am. J. Clin. Pathol.* **24**, 1307(1954).
- 21) Fiske, C.H. and Subbarow, T.: The Colorimetric Determination of Phosphorus. *J. Biol. Chem.* **66**, 375(1975).
- 22) Nelis, H.J.C.F., De Roose, J., Vandebaviere, H., and De Leenheer, A.P.: Nonaqueous Reverse-Phase Liquid Chromatography and Fluorimetry Compared for Determination of Retinol in Serum. *Clin. Chem.* **29**, 1431(1983).
- 23) Luft, J.H.: Improvement in Epoxy Resin Embedding Method. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**, 9409(1961).
- 24) Reynolds, E.S.: The Use of Lead Citrate at High PN as an Electron-Opaque Stain in Electron Microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208(1963).
- 25) Snedecor, G. W., and Cochran, W.G.: *Statistical Methods*. 6th ed., Iowa, Iowa State University Press, 1(1967).
- 26) Lieber, C.S., Jones, D.P., Memderson, J., and Decarli, L. M.: Fatty Liver, Hyperlipidemia, and hyperuricemia Prolonged Alcohol Consumption, Despite Adequate Dietary Intake. *Trans. Assoc. Am. Physicians* **76**, 289(1963).
- 27) Lamb, R.G. Wood, C.K., and Fallon, H.J.: The Effect of Acute and Chronic Ethanol Uptake on Hepatic Glycolipid. Biosynthesis in the Hamster. *J. Clin. Invest.* **3**, 14(1979).
- 28) Misra, U.K.: Effect of Retinol on Liver Lipid Metabolism of Rats. *Agr. Biol. Chem.* **38**, 247(1974).
- 29) Lieber, C.S., F.A.D.G.: Interaction of Ethanol with Drug Toxicity. *Am. J. Gastroenterology* **74**, 313(1980).
- 30) Sato, M., and Lieber, C.S.: Hepatic Vitamin A depletion after Chronic Ethanol Consumption. *Gastroenterol.* **79**, 1123(1980).
- 31) Sato, C., Matouda, Y., and Lieber, C.S.: Increased Hepatotoxicity of Acetaminophen after Chronic Ethanol Consumption in the Rat. *Gastroenterol.* **80**, 140(1980).
- 32) Grummer, M.A. and Erdman, J.W. JR.: Effect of Chronic Alcohol Consumption and Moderate Fat Diet on Vitamin A Status in Rats Fed either Vitamin A or B Carotene. *J. Nutr.* **113**, 350(1983).
- 33) Bring, S.V., Richard, C.A., and Zaehring, M.V.: Relationship between Cholesterol and Vitamin A Metabolism in Rats Fed at Different Levels of Vitamin A. *J. Nutr.* **85**, 400(1965).
- 34) Sato, M. and Lieber, C.S.: Hepatic Vitamin A Depletion after Chronic Ethanol Consumption in Baboons and Rats. *J. Nutr.* **111**, 2015(1981).
- 35) Singh, M. and Singh, V.N.: Fatty Liver in Hypervitaminosis A. Synthesis and Release of Hepatic Triglycerides. *Am. J. Physiol.* **234**, 511(1978).
- 36) Lane, B.P., Hepatic Microanatomy in Hypervitaminosis A in Man and Rat. *Am. J. Pathol.* **53**, 591(1968).
- 37) Sotaniemi, E.A., Ahlqvist, J., Pelkonen, R.O.: Histological Changes in the Liver and Indices of Drug Metabolism in Alcoholics. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **11**, 295(1977).
- 38) Small, d.m.: cellular Mechanism for Lipid Deposition in Atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* **297**, 924(1974).
- 39) Hruban, Z., Russell, R.M., Boyer, J.L.: Ultrastructural Changes in Livers of Two Patients with Hypervitaminosis A. *Am. J. Pathol.* **76**, 451(1974).
- 40) Leo, M.A., Arai, M., Sato, M., and Lieber, C.S.: Hepatotoxicity of Vitamin A and Ethanol in the Rat. *Gastroenterology* **82**, 194(1982).
- 41) Prystowsky, J.H., Smith, J.E., and Goodman, D.E.W.: Retinyl Palmitate Hydrolase Activity in Normal Rat Liver, *J. Biol. Chem.* **256**, 4498(1981).