

CCl₄에 의한 간손상 모델 실험동물에 있어서 cyclohexane 투여가 혈청 glutathione S-transferase 활성에 미치는 영향

오정대 · 윤종국[†]
계명대학교 공중보건학과

Effect of Cyclohexane Treatment on Serum Level of Glutathione S-Transferase Activity in Liver Damaged Rats

Jeong Dae Oh · Chong Guk Yoon[†]

Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
(Received March 15, 2003; Accepted May 12, 2003)

ABSTRACT

To evaluate the effect of cyclohexane(CH) treatment on the serum levels of glutathione S-transferase(GST) activity in liver damaged animals, damaged liver was induced with pretreatment of 50% CCl₄ dissolved in olive oil (0.1 ml/100g body weight) intraperitoneally 17 times every other day. To CCl₄-treated rats, CH (1.56 g/kg body weight, i.p) was injected once and then the animals were sacrificed at 4 hours after injection of CH. The CCl₄-treated animals were identified as severe liver damage on the basis of liver functional findings, i.e, increased serum levels of alanine aminotransferase(ALT), alkaline phosphate(ALP) and xanthine oxidase(XO) activities. On the other hand, CCl₄-treated animals injected with CH once(CCl₄-pretreated animals) showed more decreased serum levels of ALT and XO, and more increased those of ALP rather than CCl₄-treated animals. In case of comparing the GST with ALT activity in liver, both CCl₄-treated and pretreated animals showed similar changing pattern of enzyme activity. Especially CCl₄-pretreated animals showed significantly increased serum level of GST activity compared with the CCl₄-treated those, whereas those of ALT showed reversed tendency. In aspects of GST enzyme kinetics, CCl₄-pretreated animals showed higher Vmax of liver GST enzyme than CCl₄-treated animals. In conclusion, injection of CH to the liver damaged rats led to enhanced liver damage and more increased activity of serum GST which may be chiefly caused by the enzyme induction.

Keywords: CCl₄, Cyclohexane, Glutathione S-transferase, Liver damaged rat

I. 서 론

최근 산업발전에 따른 환경오염은 인간의 건강을 위협하게 하고 있다. 특히 산업장에서 산업화학물질의 인체폭로는 산업장 근로자들에게 직업병을 유발할 수 있을 뿐만 아니라, 더욱이 질병을 가진 근로자들에게 산업화학물질의 폭로는 건강에 심각한 문제를 야기할 수 있다.

Cyclohexane(이하 CH)은 비교적 안전한 것으로 평가되어¹⁾ n-hexane의 대체 유기용매로 널리 사용되고 있으며, 우리나라 산업장에서 사용되고 있는 혼합유기제

정제중 CH가 상당히 높은 비율로 혼제되어 있음이 보고 되었다.²⁾ 그러나 미국산업안전 연구소³⁾에서는 CH가 독성이 있는 물질로 분류하고 있으며, 생체에 폭로시 위장,⁴⁾ 신장,⁵⁾ 신경계,⁶⁾ 폐⁷⁾에 중독반응을 일으키는 것으로 보고하고 있다. 그러나 현재까지 CH에 의한 간독성 발현과 관련된 연구는 미미한 실정이다. 산업화학물질과 같은 xenobiotics에 의한 생체내 독성 발현은 인체의 병태생리적 조건에 따라 다르게 나타나며⁸⁾ 특히 급성 중독시 간조직에 경미한 손상을 야기시키는 것으로 알려져 있는 toluene,⁹⁾ xylene¹⁰⁾과 같은 xenobiotics를 간손상 실험동물에 투여시 간손상이 심화된다고 한다. 더욱이 간손상에 그다지 영향을 미치지 않는 cyclohexanone을 간손상 실험동물에 투여시 간손상이 심화된다는 보고도 있다.¹¹⁾

한편 glutathione S-transferase(GST EC 2. 5. 1.

[†]Corresponding author : Department of Public Health,
Keimyung University
Tel: 82-53-580-5230, Fax: 82-53-580-5164
E-mail : jky446@kmu.ac.kr

18)는 생체 내에서 내·외적인 지용성 친전자물질에 glutathione을 포함시켜 독성물질의 해독에 관여하는 효소로서 포유동물에 있어서는 간, 소장, 신장의 모든 장기에 존재하며 간조직에서 가장 높은 활성치를 나타내는 것으로 알려져 있다.^{12,13)} 그리고 GST는 CCl₄에 의한 급성 간손상시 혈청 중 활성이 증가된다는 보고가 있다.¹⁴⁾ 그리고 급·만성과 같은 간손상 정도 차이를 검색하는데 널리 이용되고 있는 혈청 alanine aminotransferase(ALT) 활성과 실험동물에 있어서 CCl₄에 의한 간손상 정도 차이에 따른 혈청 중 xanthine oxidase(XO) 활성이 변동된다는 보고¹⁵⁾를 감안해 볼 때 간손상 실험동물에 CH 투여시 혈청 중 GST 활성 측정은 간 질환 환자에 있어서 산업화학물질에 의한 중독의 정도를 monitoring 하는데 의의가 있을 것으로 생각된다.

이에 본 연구는 흰쥐에 CCl₄를 투여하여 간손상을 유도한 다음 CH를 1회 투여한 다음 간손상정도를 확인함과 더불어 혈청 중 GST 활성을 측정하였다. 그리고 이때 혈청 중 GST 활성 변동을 원인을 구명코저 간조직 및 혈청 중 ALT 활성과 GST 활성을 비교검토하는 한편 GST 효소를 반응속도적 측면에서 관찰코저 하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물의 사육 및 처치

실험동물은 생후 6주령된 체중 200g 내외되는 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 대한실험동물센터로부터 구입한 후 사육실(온도: 25±1°C, 상대습도: 50±5°C)에서 1주일간 적응시켜 실험에 사용하였다. 실험동물은 24마리를 각각 6마리씩 대조군, CCl₄ 투여군, CH 투여군 및 CCl₄ 전처리 후 CH 투여군(이하 CCl₄ 전처리군)으로 분리 수용하였으며 실험 기간 동안 물과 사료(삼양사)의 양은 제한 없이 공급하였다.

CCl₄ 투여는 olive oil과 CCl₄의 동량혼합액을 복강으로 체중 100g 당 0.1ml를 1일 1회 2일 간격으로 5주간 17회 복강내로 주사하였다. CH 투여는 체중 kg 당 CH 1.56g을 1회 복강 투여하였고, CCl₄ 전처리군은 CCl₄ 마지막 처치한 다음 48시간 후 CH를 위와 같이 주사한 후 4시간뒤에 처치하였다.

동물의 처치는 효소활성의 일중 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였다. 동물은 ether 마취하에서 복부정중선을 따라 개복한 다음 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사시킨 후, 4°C 생리식염수로 간을 관류시켜 간조직 내에 남아있는 혈액을 제

거한 다음 적출하였다. 적출할 간은 생리식염수로 표면에 묻은 혈액을 씻은 후 여지로 압박하여 간조직 내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량하였다.

2. 효소원의 조제

적출한 간 조직을 절편으로 만들고 그 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 빙냉하에서 glass teflon homgenizer로 마쇄균질액(20%, W/V)을 만들었다. 이 마쇄균질액을 600g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 후 상층액을 10,000g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상층액을 취하여 GST, ALT 활성측정에 사용하였다. 한편 채취한 혈액은 방치한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻고 GST, ALP 및 ALT 활성 측정용 시료로 사용하였다.

3. 효소활성도 측정

1) GST 활성도 측정

조직중 GST의 활성도는 Habig 등의 방법¹⁶⁾에 따라 측정하였다.

1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione(GSH)을 기질로 하여 25°C에서 10분간 반응시켜 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate 양을 340 nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소반응액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분간 반응하여 생성시킨 conjugate의 양을 nmol로 나타내었으며, 혈청중에는 혈청 ml당 conjugate nmol로 표시하였다.

한편 간조직 GST의 활성을 GSH 농도를 변경시켜 가면서 측정한 후 각 활성과 GSH의 농도의 역수를 선정하여 double reciprocal plot에 의해 Km 치 및 Vmax 치로 계산하였다.

2) Alanine aminotransferase(ALT) 활성도 측정

혈청 중 ALT 활성도는 Reitman과 Frankel의 방법¹⁷⁾에 따라 조제된 kit 시액을 사용하여 측정하였다. 활성도 단위는 m당 Karmen unit¹⁸⁾로 표시하였다.

3) Alkaline phosphatase(ALP) 활성도 측정

혈청 중 ALP 활성도 측정은 Bessey, Lowry의 방법¹⁹⁾에 준하여 측정하였으며, 단위는 Bessey-Lowry unit를 사용하였다.

4) Xanthine oxidase(XO) 활성도 측정

조직 및 혈청 중 XO 활성도는 xanthine을 기질로 사용하여 생성된 uric acid에 phosphotungstic acid를 가하여 710 nm에서 비색정량하는 Yoon의 방법²⁰⁾에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 간조직의 경우 효소

반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmol로, 혈청의 경우 생성된 uric acid의 양을 혈청 1 당 μmol 로 표시하였다.

4. 단백질 정량

효소액의 단백질 함량은 Lowry 등의 방법²¹⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

5. 실험 데이터 검정

실험 데이터의 통계처리는 Student's t-test²²⁾로 하였으며, 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중당 간 무게, 혈청 중 ALT, ALP 및 XO 활성

CCl_4 에 의한 간손상 실험동물에 CH 투여가 간손상에 어떠한 영향을 미치는 지를 알아보기 위하여 CCl_4 를 5주간 투여한 다음 CH를 1회 투여한 경우에 간손상의 지표인 간 무게, 혈청 중 ALT, ALP 및 XO 활성을 측정한 결과는 Table 1과 같다.

체중당 간 무게는 CCl_4 투여군이 대조군에 비하여 약 1.9배의 유의한 ($p < 0.001$) 증가를 보였으나 CCl_4 전처치군과는 별다른 차이를 볼 수가 없었으며 CH군 역시 대조군에 비하여 별다른 차이를 나타내지 않았다.

혈청 중 ALT 및 XO 활성은 CCl_4 투여군이 대조군에 비하여 각각 약 63배($p < 0.01$) 및 3.3배($p < 0.001$)의 현저한 증가를 보였으나, CCl_4 전처치군은 CCl_4 투여군에 비해서 오히려 약 34% 및 31%의 감소를 나타내었다. 그리고 CH 투여군은 혈청 ALT 활성이 대조군보다 약 3배의 유의한 ($p < 0.05$) 증가를 보였다. 그리고 혈청 ALP 활성은 CCl_4 투여군이 대조군에 비하여 약 4.3배($p < 0.001$)로 현저히 증가되었으며 CCl_4 전처치군은 CCl_4 투여군에 비하여 약 40% 증가되었다. 이상

실험결과를 CCl_4 전처치군이 CCl_4 투여군에 비해서 혈청 ALT 및 XO 활성이 오히려 감소되는 반면 fibrosis가 심한 담도성 간손상시에 증가된다는 혈청 ALP 활성^{15,23)}은 증가됨을 알 수 있다.

윤¹⁵⁾은 CCl_4 를 흰쥐에 장기간 투여시 간조직의 괴사가 심한 시기에 혈청 ALT 및 XO 활성이 증가되었으나 초기 간경변 및 만성 간경변시에는 이들의 효소 활성이 간 괴사시 보다 오히려 감소된다고 보고하였다. 그리고 간손상시 산업화학물질과 같은 xenobiotics 투여는 간손상을 심화시킨다는 보고가 있다.^{9,10)} 따라서 CCl_4 에 의한 간손상 실험동물에 CH를 투여한 경우 만성형태의 심한 간손상이 초래된 것으로 생각된다.

CCl_4 에 의한 급성 간손상시 혈청 중 GST 활성은 AST 및 ALT 활성보다 오히려 증가되는 것으로 알려져 있으나,¹⁴⁾ CCl_4 에 의한 만성 간손상시 혈청 중 GST 활성변화에 대한 연구는 아직까지 미흡한 실정이다. 그러므로 만성형의 심한 간손상 실험동물인 CCl_4 전처치군에서 혈청 중 GST 활성이 어떻게 나타나는지를 본 실험에서 관찰코저 하였다.

2. 혈청 중 GST 활성

CCl_4 에 의한 간손상 실험동물에 CH 1회 투여함으로써 심한 간손상이 유도된 경우에 혈청 및 간조직중 GST 활성을 나타낸 것이 Table 2와 같다. 혈청 중의 GST 활성은 CCl_4 투여군이 대조군에 비하여 약 37% 증가되었다. 특히 CCl_4 전처치군은 CCl_4 투여군에 비하여 약 44%의 유의한 ($p < 0.05$) 증가를 보였다. 한편 간조직의 GST 활성은 CCl_4 투여군이 대조군에 비하여 약 22% 감소되었으며, CCl_4 전처치군은 CCl_4 투여군에 비하여 약 13% 증가되는 경향을 보였다. 그러나 대조군과 CH 투여군간에는 별다른 차이가 없었다.

따라서 CCl_4 에 의한 간손상이 유도된 실험동물에 CH 투여에 의한 심한 만성형의 간손상시에 혈청 중 GST 활성이 증가된 점으로 보아 산업화학물질을 많이 취급

Table 1. Effects of cyclohexane treatment on the liver weight/body (LW/BW%), and serum levels of ALT, ALP and XO activities in CCl_4 -treated rats

	Control	CCl_4	CCl_4 +cyclohexane	Cyclohexane
LW/BW(%)	2.71 ± 0.15	5.07 ± 0.16 ^{a, b, c}	4.66 ± 0.23 ^{a, b, c}	2.78 ± 0.06
ALT ¹⁾	19.12 ± 0.87	1203.33 ± 363.79 ^{a, b, c}	787.86 ± 179.33 ^{a, b, c}	58.10 ± 13.49 ^{a)}
ALP ²⁾	3.70 ± 0.18	15.85 ± 2.20 ^{a, b, c}	22.19 ± 3.06 ^{a, b, c}	4.11 ± 0.30
XO ³⁾	25.80 ± 2.11	85.63 ± 8.91 ^{a, b, c}	58.38 ± 8.91 ^{a, b, c}	31.68 ± 3.30

Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats.

Unit: ¹⁾Karmen unit/ml of serum, ²⁾Bessey-Lowry unit/ml of serum, ³⁾ μmol uric acid formed// of serum.

^{a)}, Significantly different from the control, ^{b)}, Significantly different from the CCl_4 -treated rats (^{*}; $p < 0.05$, ^{**}; $p < 0.01$, ^{***}; $p < 0.001$).

Table 2. Effect of cyclohexane treatment on the serum and hepatic GST activities in CCl₄-treated rats

	Control	CCl ₄	CCl ₄ +cyclohexane	Cyclohexane
Liver ¹⁾	379.78 ± 32.30	296.16 ± 35.25	334.51 ± 41.25	374.01 ± 39.21
Serum ²⁾	43.37 ± 1.86	59.06 ± 7.37	84.82 ± 8.91 ^{*)}	33.51 ± 3.33 ^{*)}

Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats.

Unit: ¹⁾nmol/min/mg of protein, ²⁾nmol/min/ml of serum

^{*)}; Significantly different from the control, ^{*)}; Significantly different from the CCl₄-treated rats (*; p<0.05).

하는 산업장에서 간질환자 혈청 GST 활성의 측정은 의의가 있을 것으로 생각된다. 특히 본 실험조건에서 CCl₄ 전처치군이 CCl₄ 투여군 보다 간조직중 GST 활성이 증가되는 경향은 간손상시 CH를 투여함으로써 GST 효소 합성이 유도되기를 암시해 주고 있다.

3. 간 및 혈청 중 GST와 ALT 활성비교

일반적으로 간손상시 혈청 중 효소 활성 증가는 효소 합성 및 세포막 투과성 증가에 기인되는 것으로 알려

져 있다. 본 실험에서 CCl₄ 전처치군이 CCl₄ 투여군보다 혈청 GST 활성이 증가되는 원인을 구명하는 일환으로 CCl₄에 의한 간손상시 간세포막의 투과성 증가에 의하여 혈청 중 그 활성이 증가된다는 ALT 활성^{15,24)}을 본 효소와 비교한 것이 Fig. 1과 같다. 간과 혈청 중에서 GST와 ALT의 활성을 대조군에 대한 백분율로 나타낸 것이다. 간조직 중에서 GST 활성은 CCl₄ 투여군 및 CCl₄ 전처치군 모두 대조군에 비하여 다소 감소되는 경향을 보였으며 CCl₄ 투여군과 CCl₄ 전처치군 간

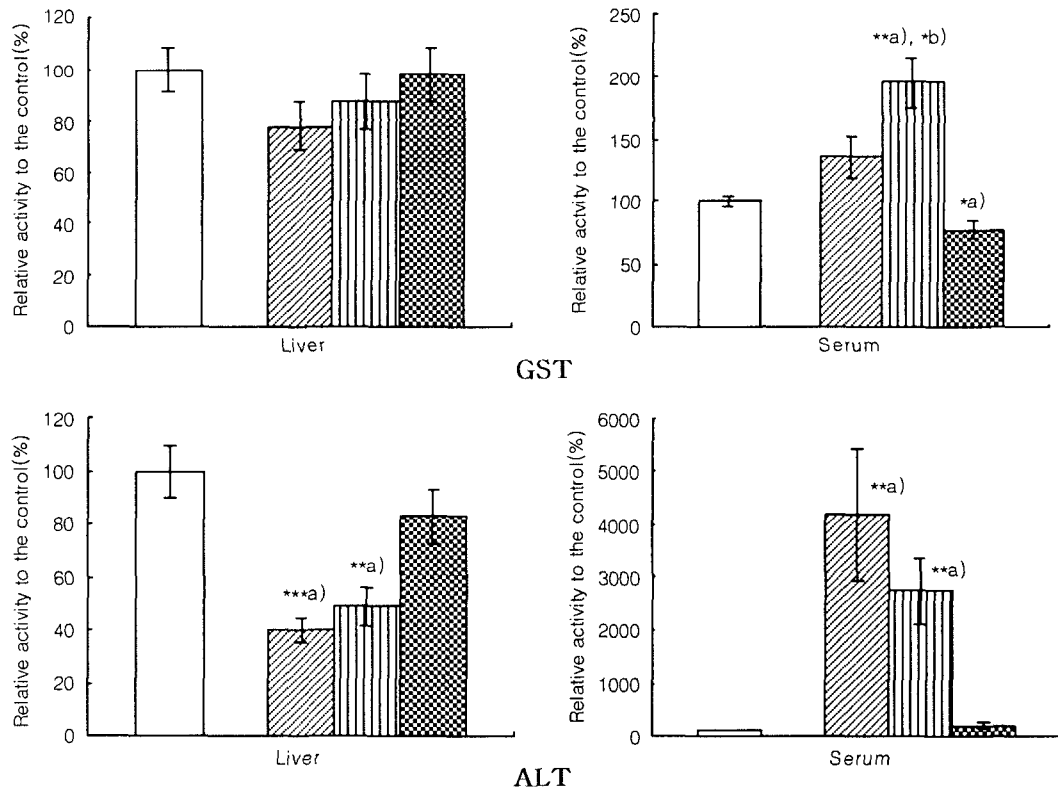


Fig. 1. The activities of GST and ALT in the liver and serum of cyclohexane-treated rats pretreated with CCl₄. Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats.

^{*)}; Significantly different from the control, ^{*)}; Significantly different from the CCl₄-treated rats (*; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001).

□: Control, ▨: CCl₄-treated rats, ▮: Cyclohexane-treated rats pretreated with CCl₄, ▩: Cyclohexane-treated rats.

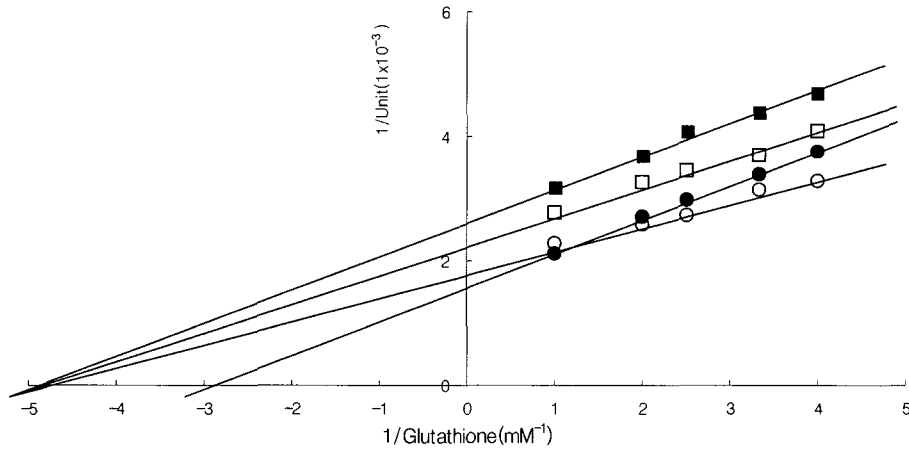


Fig. 2. Double reciprocal plots of the liver cytosolic glutathione S-transferase activity as a function of reduced glutathione at fixed level of 1-chloro-2,4-dinitrobenzene. Each point represent the mean of 3 experiments.
Unit: nmoles 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate/min/mg protein(1×10^{-3}), ●-●: Control, ■-■: CCl_4 -treated rats, □-□: Cyclohexane-treated rats pretreated with CCl_4 , ○-○: Cyclohexane-treated rats.

에는 별다른 차이가 없었다. 그러나 간조직 중 ALT 활성은 CCl_4 투여군 및 CCl_4 전처치군이 대조군에 비하여 각각 60%($p < 0.001$), 51%($p < 0.01$)의 현저한 감소를 보였다.

혈청 중에서 GST 활성은 CCl_4 전처치군이 CCl_4 투여군에 비하여 유의한 ($p < 0.05$) 증가를 보였으나 ALT 활성은 CCl_4 전처치군이 CCl_4 투여군에 비하여 오히려 감소되는 경향을 보였다. 특히 본 실험에서 혈청 중 GST 활성은 CCl_4 전처치군이 CCl_4 투여군에 비해서 유의한 증가를 보였으나 ALT 활성은 감소되는 경향을 나타낸 점과 CCl_4 에 의한 급성 간손상시 혈청 GST의 활성이 증가되는 반면 간조직의 GST 활성이 감소된다는 Igarashi 등²⁵⁾의 보고를 고려해 볼 때 본 연구에서 CCl_4 전처치군이 CCl_4 투여군보다 간조직의 GST 활성이 오히려 증가됨은 간세포의 투과성 증가에 기인되기 보다는 간세포에 있어서 GST 효소 합성 유도과 관련 될 것임을 시사해주고 있다.

4. GST의 반응속도

일반적으로 생체조직의 효소활성 변동은 효소와 기질의 활성부위와의 친화성 및 효소 단백질 합성율에 영향을 받고 있음은 잘 알려진 사실이다. 그러므로 본 실험 조건에서 CCl_4 전처치한 간손상 실험동물에 CH 투여시 혈청 중 GST 활성 증가의 원인을 구명하는 일환으로 본 효소의 반응속도적인 측면에서 GSH 농도변동에 따른 본 효소활성을 측정하여 이중역수도시로 나타낸 것이 Fig. 2와 같다.

유사한 K_m 치를 나타내는 CCl_4 투여군, CCl_4 전처치군 및 CH 투여군에서는 K_m 치가 $2.0 \times 10^{-4} \text{M}$ 로서 대조군의 K_m 치인 $3.33 \times 10^{-4} \text{M}$ 보다 약 40% 낮게 나타났다.

한편 V_{max} 는 대조군이 605 nmol/min/mg protein인데 비해 CCl_4 투여군은 359 nmol/min/mg protein으로 대조군에 비해 약 41% 감소되었으며, CCl_4 전처치군은 425 nmol/min/mg protein으로 CCl_4 투여군에 비해서 약 18% 증가하였다. 그리고 CH 투여군은 522 nmol/min/mg protein으로 대조군 보다 약 14% 감소하였다.

이상 실험결과에서 CCl_4 전처치군과 CCl_4 투여군안에 K_m 치는 유사하였으나 CCl_4 전처치군이 CCl_4 투여군보다 높게 나타난 점으로 보아 CCl_4 전처치군에서 CCl_4 투여군보다 혈청 중 GST 활성이 증가된 것은 유도율이 CCl_4 전처치군이 CCl_4 투여군보다 높게 나타났기 때문일 것으로 생각된다.

그러므로 실험결과를 종합해 볼 때 CCl_4 에 의한 간손상시 CH 투여가 간손상을 심화시켰으며, 이때 혈청 중 GST 활성 증가는 본 효소 단백질 합성 유도에 기인된 결과로 생각된다.

IV. 결 론

CCl_4 에 의한 간손상 실험동물에 cyclohexane(CH) 투여가 혈청 중 glutathione S-transferase(GST) 활성에 미치는 영향을 검토코저 흰쥐에 CCl_4 를 17회 투여한 다음 cyclohexane을 1회 투여한 후 처치하여 다음과

같은 결과를 얻었다.

CCl₄를 전처치한 다음 CH 투여군(CCl₄ 전처치군)에 있어서 혈청 중 alanine aminotransferase(ALT) 및 xanthine oxidase활성은 CCl₄ 투여군보다 감소하였으나 alkaline phosphatase 활성은 증가되었다. 또한 CCl₄ 전처치군에서 혈청 중 GST 활성은 CCl₄ 투여군에 비해서 유의한 (p<0.05) 증가를 보였으며 간조직중 GST 활성도 증가하였다. 그리고 CCl₄ 전처치군에서 간조직 GST의 Vmax는 CCl₄ 투여군보다 약 18% 증가되었으며 Km치는 별다른 차이를 나타내지 않았다.

이상의 실험결과를 종합해 볼 때 CCl₄에 의한 간 손상시 CH 투여가 간손상을 심화시켰으며, 이때 혈청 중 GST 활성 증가는 GST 효소 단백질 합성 유도에 기인된 결과로 생각된다. 또한 혈청 GST 활성 측정은 ALT 및 ALP 활성 측정과 더불어 간손상 정도를 판정하는 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 계명대학교 대학원 학술연구 논문 연구비에 의해 수행된 연구 결과이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- American Conference of Governmental Industrial Hygienists : Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati, 1994.
- Yoon, C. G., Jeon, T. W., Chung, C. K., Lee, M. H., Lee, S. I., Cha, S. E. and Yu, I. J. : Survey of actual conditions of material safety data sheet and quantitative risk assessment of toxic substance: Substitutes for degreasing agents. *Korean Industrial Hygiene Association Journal*, **10**, 18-26, 2000.
- National Institute for Occupational Safety and Health. : NIOSH pocket guide to chemical hazards. Cincinnati, 1985.
- Longacre, S. L. : Cyclohexane. In "Ehtel Browning's toxicity and metabolism of industrial solvents", Snyder, R. Ed., Elsevier, Amsterdam, 1987.
- Bernard, A. M., Russis, R., Normand, J. C. and Lauwerys, R. R. : Evaluation of the subacute nephrotoxicity of cyclohexane and other industrial solvents in the female Sprague-Dawley rat. *Toxicology Letters*, **45**, 271-280, 1989.
- Naskali, L., Oksanen, H. and Tähti, H. : Astrocytes as targets for CNS effects of organic solvents in vitro. *Neurotoxicology*, **15**(3), 609-612, 1994.
- 전태원, 윤종국 : Cyclohexane에 의한 랫드의 폐손상 기전. *Journal of Toxicology and Public Health*, **18**(2), 159-165, 2000.
- Hodgson, E. and Patricia, L. : Modern Toxicology, Elsevier Press, New York, 1987.
- Chae, S. N., Yoon, C. G. and Cho, H. G. : Effect of toluene application to skin on the enhancement of liver injury in CCl₄-pretreated rats. *The Journal of Biomedical Laboratory Science*, **7**, 79-83, 2001.
- 이혜자, 조현국, 윤종국 : 흰쥐에 있어서 사염화탄소에 의한 간손상이 Xylene 대사에 미치는 영향. *한국환경위생학회지*, **25**(1), 102-108, 1999.
- Choi, H. J. and Yoon, C. G. : Effect of cyclohexanone treatment on the serum levels of glutathione s-transferase activities in acute liver damaged rats. *The Journal of Biomedical Laboratory Science*, **7**(4), 191-196, 2001.
- Jakoby, W. B. and Habig, W. H. : Glutathione transferase, In "Enzymatic basis of detoxication", Jakoby, W. B. Ed., Vol. II, Academic Press, New York, 63-94, 1980.
- Fleishner, G., Kamisaka, K., Gatmaitan, F. and Arias, I. M. : Immunologic studies of rat and human ligandin, In "Glutathione: metabolism and functions", Arias, I. M and Jakoby, W. B. Ed., Raven, New York, 259-265, 1976.
- Clarke, H., Egan, D. A., Heffernan, M., Doyle, S., Byrne, C., Kilty, C. and Ryan, M. P. : Alpha-glutathione s-transferase (alpha-GST) release, an early indicator of carbon tetrachloride hepatotoxicity in the rat. *Human & Experimental Toxicology*, **16**, 154-157, 1997.
- 윤종국 : 흰쥐에 CCl₄ 투여에 의한 간손상시 Actinomycin D 및 Prednisolone이 혈청 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. *계명대학교 기초과학연구소 연구논집*, **7**(1), 113-123, 1988.
- Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase; The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**(22), 7130-7139, 1974.
- Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *American Journal of Clinical Pathology*, **28**, 50-63, 1957.
- Karmen, A. : A note on the spectrophotometer assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *The Journal of Clinical Investigation*, **34**, 131-133, 1955.
- Bessey, O. A., Lowry, O. H. and Brock, M. J. : A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *Journal of Biology Chemistry*, **164**, 321-337, 1946.
- 윤종국 : 비색법에 의한 흰쥐 간조직의 xanthine oxidase 활성 측정법. *계명실업전문대학 계명연구논총*, **2**, 295-309, 1984.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**, 265-275, 1951.
- Scheffler, W. C. : Statistics for the biological sciences. Addison-Wesley Publishing Company, USA,

- 84-89, 1980.
23. 윤종국, 정소용 : 실험적 유형별 간손상의 모델에서 간 및 혈청 5'-Nucleotidase 활성의 변동. 계명대학교 기초과학연구소 연구논집, **9**(2), 145-154, 1990.
 24. 윤종국, 신중규, 정광식 : 흰쥐에 사염화탄소 투여가 소장 및 간 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명대학교 기초과학연구소 연구논집, **10**(2), 209-214, 1991.
 25. Igarashi T., Muramatsu H., Ohmori S., Ueno K., Kitagawa H. and Satoh T. : Plasma glutathione S-transferase in carbon tetrachloride treated rats and its association to hepatic cytosolic isozymes. *Japanese Journal of Pharmacology*, **46**, 211-216, 1988.