

흰쥐 재생간의 Cathepsin B, D 및 H의 활성도*

계명대학교 의과대학 생화학교실

김여희 · 문교철 · 곽춘식

= Abstract =

Cathepsins B, D and H Activities in Regenerating Rat Liver

You Hee Kim, MD; Kyo Cheol Mun, MD; Chun Sik Kwak, PhD

*Department of Biochemistry, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea*

This study was intended to investigate the changes of liver cathepsins B, D, H and acid phosphatase activities after 70% (median and left lateral lobes) partial hepatectomy in rats.

The activity of cathepsin B in the regenerating liver significantly decreased between the second and the third days after partial hepatectomy. However, the cathepsin D and H activities in regenerating liver slightly decreased between the second and the third days after operation. And the activity of total acid phosphatase in the regenerating liver showed a marked decrease from one, two and three days after operation.

서 론

Cathepsin B(EC 3.4.22.1)와 cathepsin H는 thiol proteinase에 속하는 효소^{1,2)}로서 동물의 거의 모든 조직과 기관에 분포³⁾되어 있으며 특히 간, 신, 비, 폐 및 뇌 등에서 그 함성이 활발하다^{4,5)}고 한다.

Cathepsin D(EC 3.4.23.5)는 carboxyl(acid) proteinase의 한 종류⁴⁾로 이 효소도 역시 동물의 조직과 기관에 널리 분포^{5, 11)}되어 있으며 간, 신, 비, 폐 및 뇌 등에서 그 함성이 왕성한 것^{8, 11)}으로 알려져 있다.

이 효소들은 세포 내에서는 주로 lysosome에서 발견^{12,13)}되며 거의 대부분의 단백질에 대해 광범위한 활성을 가지고 있다^{14, 16)}. 그리고 이들 효소의 주된 생화학적 역할은 pre-protein들을 processing하고 세포 내외의 단백 분해와 더불어 각종 단백질의 turnover를 조절하는 것 등^{15,16,17, 24)}이다.

흰쥐의 간을 부분절제하면 잔류된 간엽은 급격히

재생^{25,26)}되며, 이때 재생간에서는 핵산 및 단백질성이 활발해지고^{26, 30)} 아울러 각종 효소들의 활성이 변동된다^{31, 47)}. 따라서 이들 효소도 간에서 그 함성이 왕성한^{2,3,5,6,11)} 뿐만 아니라 세포 내외의 단백질분해와 각종 단백질의 turnover를 조절하는 역할을 담당하고 있는 효소^{15,16,20, 24)}이므로 간재생이 활발한 시기의 재생간에서는 이들 효소의 활성이 변동 될 것으로 생각된다.

이 연구는 재생간에서 cathepsin B, D 및 H의 활성이 어떻게 변동되는가를 알아보기 위해 시행한 것으로써 흰쥐를 사용하여 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 10일 동안 경시적으로 재생간에서 cathepsin B, D 및 H의 활성도를 측정하고 아울러 재생간의 총 acid phosphatase의 활성도를 측정하여 그 결과를 보고코자 한다.

재료 및 방법

동물 및 처치 : 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한

* 이 논문은 1989년도 계명대학교 응중 연구비로 이루어졌음.

체중 320~360gm이 되는 Sprague-Dawley종 숫흰쥐를 사용하였으며 간엽절제수술 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 이들 쥐를 각각 5마리씩 죽여 실험에 제공하였다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양사료주식회사 제품의 실험동물사료를 먹도록 하였다.

간엽절제수술은 효소활성의 일중변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 가능한 한 부균 상태를 유지하면서 ether 마취 하에서 실시하였다. 흰쥐의 간엽절제수술은 복부 정중선을 따라 상복부를 약 2cm 절개하여 간의 중엽과 좌측 외엽을 복강 밖으로 압출하고 인접조직간의 인대를 절단한 후 간엽의 기저부위를 결찰한 뒤 간엽을 절제하였다. 절제한 간엽은 전체간의 70%가 되며 이것을 원래간(original liver)이라 부르기로 하였다.

시약 : *N*α-benzoyl-DL-arginine-β-naphthylamide, mersalyl acid, polyoxyethylene-2, 3-lauryl ether, leucine-β-naphthylamide, 4-amino-2, 3-dimethylazobenzene, disodium-ρ-nitrophenol, L-tyrosine, hemoglobin (from bovine erythrocyte, substrate powder), cathepsin D(from bovine spleen), acid phosphatase(ACP LIN-TROL), 및 단백질준액(10gm/100ml bovine albumin) 등은 Sigma사의 제품을 사용하였으며 그 외 일반시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간적출 및 효소액의 조제 : 모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether 마취 하에서 시행하였으며 복부대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사시킨 후 간을 적출하였다. 적출한 재생간은 2~4°C의 0.25M sucrose액으로 잘 씻고 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 제거하였다. 적출한 재생간과 절제한 원래간은 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 1g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer(Thomas사 제품 chamber clearance 0.005~0.007 inch)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 5회 왕복 마쇄하였다. 그리고 이 균질액의 일정량을 취하여 ultrasonic dismembrator(Fisher model 300)로 20±0.4K cycle/sec의 조건에서 2분씩 5회 초음파마쇄를 한 후 이 액을 cathepsin B, D 및 H의 효소액으로 사용하였다.^{16, 49)} 한편 acid phosphatase의 효소액은 간균질액을 일정량의 triton X-100으로 처리⁵⁰⁾하여 사용하였다.

효소 활성도의 측정 : 간의 cathepsin B의 활성도 측정은 *N*α-benzoyl-DL-arginine-β-naphthylamide를 기질로 사용하여 효소액과 함께 40°C에서 10분간 반응시키는 동안 생성된 β-naphthylamine을 측정하는 방법인 Barrett법⁴⁶⁾에 의하였으며 단위는 1분간에 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 β-naphthylamine의 양을 *n mol*로 나타내었다. 그리고 간의 cathepsin D의 활성도 측정은 hemoglobin을 기질로 사용하여 효소액과 37°C에서 10분간 반응시키는 동안에 생성된 tyrosine을 측정하는 방법인 Barrett법⁴⁶⁾에 의하였으며 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 tyrosine의 양을 *n mol*로 나타내었다. 또한 간의 cathepsin H의 활성도 측정은 leucine-β-naphthylamide를 기질로 사용하여 효소액과 함께 37°C에서 10분간 반응시켜 생성된 β-naphthylamine을 측정하는 방법인 Barrett 및 Kirsche법⁴⁶⁾에 의하였으며 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 β-naphthylamine의 양을 *n mol*로 나타내었다. 그리고 간의 acid phosphatase의 활성도 측정은 disodium-ρ-nitrophenyl phosphate를 기질로 사용하여 효소액과 함께 37°C에서 30분간 반응시키는 동안 생성된 ρ-nitrophenol을 측정하는 Moss의 법⁵⁰⁾에 의하였으며 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 생성한 ρ-nitrophenol의 양을 *n mol*로 나타내었다. 이 실험에서 채택한 효소들의 활성도 측정법은 그 정확도를 높이기 위하여 Sigma사에서 시판하는 정제된 효소들을 사용하여 검정하였으며 또한 같은 시료에 대해서 2회 측정하여 평균치를 취하였다. 그리고 이 실험에서 효소 활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varian, Cary 210)이었다.

단백정량 : 효소액 중의 단백질량은 0.5N perchloric acid와 methanol-ether혼합액(3 : 1)으로 단백을 정제하는 Greenberg 및 Rothstein법⁵¹⁾으로 효소액중의 단백을 정제한 다음 biuret법⁵²⁾으로 정량하였다.

얻어진 각종 성적들의 평균치 중 상호비교가 필요한 경우는 Student의 *t*-검정법⁵³⁾에 의하여 검정하였다.

성 · 적

흰쥐 재생간의 cathepsin B, D 및 H의 활성도 : 간엽절제 후 경시적으로 측정된 재생간의 cathepsin B, D 및 H의 활성도는 표1, 2 및 3과 같다. 간엽절제 후 재생간의 cathepsin B의 활성도는 2일 및 3일째

Table 1. Activities of cathepsin B in regenerating rat livers after partial hepatectomy

Post hepatectomy days	Cathepsin B activities (nmol beta-naphthylamine/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal	0.28±0.05)			
0.5	0.27±0.06	(100)	0.28±0.05	(104)
1	0.28±0.05	(100)	0.27±0.05	(96)
2	0.28±0.04	(100)	0.16±0.04**	(57)
3	0.28±0.05	(100)	0.13±0.03**	(46)
6	0.27±0.06	(100)	0.20±0.04	(74)
10	0.27±0.07	(100)	0.26±0.06	(96)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Significant difference from original livers (**;p<0.01).

Table 2. Activities of cathepsin D in regenerating rat livers after partial hepatectomy

Post hepatectomy days	Cathepsin D activities (n mol tyrosine/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal	7.98±2.56)			
0.5	7.89±2.62	(100)	7.82±2.55	(99)
1	7.97±2.70	(100)	7.66±2.38	(96)
2	8.01±2.66	(100)	6.23±2.11	(78)
3	7.96±2.68	(100)	6.82±2.25	(86)
6	7.88±2.64	(100)	7.38±2.58	(94)
10	7.86±2.65	(100)	7.80±2.72	(99)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Table 3. Activities of cathepsin H in regenerating rat livers after partial hepatectomy

Post hepatectomy days	Cathepsin H activities (n mol beta-naphthylamine/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal	1.32±0.20)			
0.5	1.31±0.20	(100)	1.30±0.22	(99)
1	1.30±0.18	(100)	1.24±0.21	(95)
2	1.29±0.19	(100)	1.09±0.23	(84)
3	1.32±0.20	(100)	1.18±0.25	(89)
6	1.30±0.22	(100)	1.29±0.20	(99)
10	1.33±0.19	(100)	1.31±0.22	(98)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Table 4. Activities of total acid phosphatase in regenerating rat livers after partial hepatectomy

Post hepatectomy days	Acid phosphatase activities (n mol p-nitrophenol/mg protein/min)			
	Original liver	(%)	Regenerating liver	(%)
(Normal			46.3±4.6)
0.5	46.5±4.6	(100)	45.1±4.8	(97)
1	47.0±4.7	(100)	33.8±3.7**	(72)
2	46.8±4.5	(100)	32.7±3.5**	(70)
3	46.1±4.8	(100)	27.6±3.2**	(60)
6	46.6±4.4	(100)	45.8±4.6	(98)
10	47.1±4.2	(100)	46.4±4.8	(99)

The data are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.
Significant difference from original livers (**:p<0.01).

재생간에서 현저히 감소되었다. 즉 2일째 재생간은 0.16±0.04 n mol β-naphthylamine/mg protein/min 으로 원래간에 비해서 약 43%의 활성 감소(P<0.01)를 나타내었고 3일째에는 약 54%의 활성 감소(P<0.01)를 나타내었다. 그리고 cathepsin D 및 H의 활성도도 2일 및 3일째 재생간에서 그 활성이 감소되었으나 통계학적 의의는 없었다.

흰쥐 재생간의 acid phosphatase의 활성도: 간엽절제 후 경시적으로 측정된 재생간의 acid phosphatase의 활성도는 표 4와 같다. 간엽절제 후 재생간의 acid phosphatase의 활성도는 1일, 2일 및 3일째 재생간에서 현저히 감소되었다. 즉 1일째 재생간은 33.8±3.7 n mol p-nitrophenol/mg protein/min으로 원래간에 비해서 약 28%의 활성감소(P<0.01)를 나타내었고 2일째에는 약 30% (P<0.01), 3일째에는 약 40%의 활성 감소(P<0.01)를 나타내었다.

고 찰

흰쥐에서 간의 중엽과 좌측 외엽을 절제하면 1일에서 3일 사이에 잔류간은 그 재생력이 활발^{25, 26)}해지며 이때 간은 조직의 재생을 위해 핵산과 단백질 합성이 왕성해진다^{26, 30)}고 한다. 이와 같은 재생간에서는 해독기능^{31, 41, 42, 44, 45, 54)}과 배설기능⁵⁴⁾이 변동되는 등 물질대사의 심한 변동이 초래되며 이러한 변동이 초래되는 간재생기에는 재생간에서 각종 효소의 활성 변동이 심하다고 한다. 재생이 활발한 시기의 재생간에서 활성이 증가하는 효소는 monoamine oxidase³¹⁾, 5'-nucleotidase³²⁾, γ-glutamyl transpeptidase³²⁾, malate dehydrogenase³³⁾, adenosine aminohydrolase

³⁴⁾, leucine aminopeptidase³⁵⁾, sialyltransferase³⁶⁾, alkaline phosphatase³⁷⁾, UDP-N-acetylglucosamine 2'-epimerase³⁸⁾, thymidine kinase³⁹⁾, glucosamine synthetase⁴⁰⁾ 및 glyoxalase I⁴¹⁾등이 있으며, 활성이 감소하는 효소는 glutathione S-transferase⁴²⁾, glutathione peroxidase⁴²⁾, aspartate aminotransferase⁴³⁾, xanthine oxidase⁴⁴⁾, alanine aminotransferase³²⁾, superoxide dismutase⁴⁴⁾, catalase⁴⁵⁾, L-α-hydroxy acid oxidase⁴⁵⁾, β-glucuronidase⁴⁶⁾, N-acyl sulfatase⁴⁶⁾, CβA reductase⁴⁷⁾ 및 uracil reductase⁴⁷⁾ 등이 있다. 이 실험에서 재생간의 cathepsin B의 활성도는 간엽절제 후 2일 및 3일째 재생간에서 현저히 감소되었으며 cathepsin D 및 H의 활성도는 간엽절제 후 2일 및 3일에 약간 감소되었다. 그리고 재생간의 총 acid phosphatase의 활성도는 간엽절제 후 1일, 2일 및 3일째 재생간에서 현저한 감소를 나타내었다. 이 성적인 재생이 활발한 간조직에서는 이들 효소의 활성이 감소된다는 것을 보여 준 것이다.

이상 문헌 상의 보고와 이 실험 성적을 볼 때 재생간에서 물질대사의 운용은 계통적이 아닌 것으로 보이며 재생간에서 물질대사는 간재생에 주력하여 간재생을 위해 더욱 유리한 쪽으로 대사가 진행되도록 하는 것이라 생각된다.

이 실험에서 간재생이 활발한 시기에 이들 효소의 활성 감소는 이들 효소가 단지 간재생이 활발한 시기에 특별히 조절 받아 그 활성이 감소되는 효소라는 것을 암시할 뿐이며, 그 감소의 원인이 무엇인지는 이 실험만으로는 말할 수가 없다. 또한 이들 효소의 활성 감소가 효소 합성의 감소인지 총배효율의 감소인지도 확실치 않다. 따라서 이를 해명하기 위해

서는 앞으로 계속 추구해 보아야 할 것이다.

요 약

흰쥐의 간엽을 부분절제한 후 각 시기의 재생간에서 cathepsin B, D 및 H와 acid phosphatase의 활성도가 어떻게 변동되는가를 알아 보기 위하여 흰쥐간의 중엽과 좌측 외엽을 절제한 후 12시간, 1일, 2일, 3일, 6일 및 10일에 재생간을 추출하여 이들 효소의 활성도를 측정하였다.

재생간의 cathepsin B의 활성도는 간엽절제 후 2일 및 3일째 재생간에서 의외있게 감소되었다. 그러나 재생간의 cathepsin D 및 H의 활성도는 간엽절제 후 2일 및 3일에 약간 감소되었다. 그리고 재생간의 총 acid phosphatase의 활성도는 간엽절제 후 1일, 2일 및 3일째 재생간에서 현저한 감소를 나타내었다.

참 고 문 헌

- Kim BK: *Enzyme Nomenclature*. IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 328-329.
- Kominami E, Tsukahara T, bando Y, et al: Distribution of cathepsin B and H in rat tissues and peripheral blood cells. *J Biochem* 1985; 98: 87-93.
- Barrett AJ: *Proteinases in Mammalian cells and Tissues*, Amsterdam, North-Holland Publishing Co, 1977, pp 181-208.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature*. IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 332-335.
- Satav JG, Katyare SS: Thyroid hormones and cathepsin D activity in the rat liver, kidney and brain. *Experientia* 1981; 37: 100-102.
- Barrett AJ: cathepsin D purification of isozymes from human and chicken liver. *Biochem J* 1970; 117:601-607.
- Yamamoto K, Katsuda N, Himeno M, et al: Cathepsin D of rat spleen. Affinity purification and properties of two types of cathepsin D. *Eur J Biochem* 1979; 95: 459-467.
- De Lumen BO, Taylor S, Urribarri N, et al: Sub-cellular localization of acid hydrolases in rat lungs. *Biochim Biophys Acta* 1972; 268: 597-600.
- Widmer F, Widmer C: The effect of beef spleen cathepsin D on pig heart lactate dehydrogenase. *Arch Biochem Biophys* 1975; 168: 252-258.
- Whitaker JN, Seyer JM: The sequential limited degradation of bovine myelin basic protein by bovine brain cathepsin D. *J Biol Chem* 1979; 254: 6956-6963.
- Etherington DJ: The nature of the collagenolytic cathepsin of rat liver and its distribution in other rat tissues. *Biochem J* 1972; 127: 685-692.
- Turk V, Kregar I: Cathepsin B, Cathepsin H, and cathepsin L, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M(eds): *Method of Enzymatic Analysis*, Vol V. Weinheim, Verlag chemie GmbH, 1984, pp 195-209.
- Turk V, Lah T, Kregar I: Cathepsin D, cathepsin E, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M (eds): *Method of Enzymatic Analysis*, Vol V. Weinheim, Verlag Chemie GmbH, 1984, pp 211-221.
- Barrett AJ: Cathepsin B and O the thiol proteinases, in Barrett AJ (ed): *Proteinases in Mammalian Cells and Tissues*. Amsterdam, Elsevier, North-Holland Biomedical Press. 1977, pp 181-208.
- Bohley P, Kirschke H, Langner J, et al: Intracellular protein turnover, in Holzer H, Tschesche T (eds): *Biological Function of Proteinases*. Berlin, Springer-Verlag, 1979, pp 17-34.
- Barrett AJ: Cathepsin D and O the carboxyl proteinases, in Barrett AJ (ed): *Proteinases in Mammalian Cells and Tissues*. Amsterdam, Elsevier, North-Holland Biomedical Press, 1977, pp209-248.
- Ansorge S, Kirschke H, Friedrich K: Conversion of proinsulin into insulin by cathepsin B and L from rat liver lysosomes. *Acta Biol Med Germ* 1977; 36: 1723-1727.
- Takahashi S, Murakami K, Miyake Y: Activation of kidney prorenin by kidney cathepsin B isozymes. *J Biochem* 1982; 91: 419-422.
- Quinn PS, Judah JD: Calcium dependent Golgi-vesicle fusion and cathepsin B in the conversion of proalbumin into albumin in rat liver *Biochem J* 1978; 172: 301-309.
- Benuck M, Grynbaum A, Marks N: Breakdown of somatostatin and substance P by cathepsin D purified from calf brain by affinity chromatography. *Brain Res* 1977; 143: 181-185.
- Barat E, Patthy a, Graf L: Action of cathepsin D on human β -lipotropin: A possible source of human β -melanotropin. *Proc Natl Acad Sci USA*

- 1979; 76: 6120-6123.
22. Graf L, Kennessey A, Patthy A, et al: Cathepsin D generates γ -endorphin from β -endorphin. *Arch Biochem Biophys* 1979; 193: 101-109.
 23. Burbach JPH, Loeber JG, Verhoef J, et al: γ -Endorphin biotransformation in brain: Formation of γ -endorphin by a synaptosomal plasma membrane associated endopeptidase distinct from cathepsin D. *Biochem Biophys Res Comm* 1980; 92: 725-732.
 24. Gounaris AD, Slater EF: Cathepsin B from human renal cortex. *Biochem J* 1982; 205: 295-302.
 25. 김종태: 재생간의 in vitro에 있어서의 단백질합성과 humoral factor. *경북의대잡지* 1968; 9: 39-46.
 26. 김동성: 백서에 있어서 간엽절제 후 재생사기의 간단백 및 혈장단백의 합성속도에 관하여. *현대의학* 1968; 8: 129-135.
 27. Becker FF: Restoration of liver mass following partial hepatectomy. I. Influence of blood flow. *Am J Pathol* 1963; 43: 497-510.
 28. Lieberman I, Kane P: Synthesis of ribosomes in the liver after partial hepatectomy. *J Biol Chem* 1965; 240: 1737-1741.
 29. Bucher NL: Experimental aspects of hepatic regeneration. *N Engl J Med* 1967; 277: 738-746.
 30. 권기성, 유호열: Ethionine이 백서 재생간의 단백질합성에 미치는 영향. *경북의대잡지* 1969; 10: 183-188.
 31. 문교철, 박은미, 김여희, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 Monoamine Oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1988; 7: 258-265.
 32. 안광욱, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 5'-Nucleotidase 및 Glutamyl Transpeptidase의 활성치. *계명의대논문집* 1987; 6: 241-251.
 33. 김여희, 문교철, 곽춘식: 흰쥐 재생간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. *계명의대논문집* 1986; 5: 124-131.
 34. Sheid B: Adenosin aminohydroase activity in the regenerating rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1985; 238: 259-262.
 35. 곽춘식: 간엽부분적제한 흰쥐 혈청 및 재생간장의 Leucine Aminopeptidase의 활성도. *경북의대잡지* 1980; 21: 500-505.
 36. Clement P: Effect of partial hepatectomy and hydrocortisone administration on liver and serum sialyltransferase activities. *Biochim Biophys Acta* 1979; 583: 14-19.
 37. 곽춘식, 조준승: 흰쥐 재생간의 Alkaline Phosphatase의 활성치. *한국생화학회지* 1978; 11: 151-160.
 38. Okubo H, Shibata K, Ishibashi H, et al: Regulation of N-acetylneuraminic acid synthesis following injury and partial hepatectomy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1977; 155: 152-156.
 39. Nawata H, Kamiya T: Two molecular forms of thymidine kinase in the cytosol of regenerating rat liver. *J Biochem* 1975; 78: 1215-1224.
 40. Okubo H, Chandler AM: Regulation of glucosamine synthesis during the first twenty-four hours following injury and partial hepatectomy. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974; 146: 1159-1162.
 41. Principato GB, Locci P, Rosi G, et al: Activity changes of glyoxalases I-II and glutathione reductase in regenerating rat liver. *Biochem Int* 1983; 6: 249-255.
 42. 곽춘식, 김여희, 문교철, 이숙형: 흰쥐 재생간의 Glutathione S-Transferase 및 Glutathione Reductase의 활성치. *계명의대논문집* 1989; 8: 78-86.
 43. 문교철, 김여희, 곽춘식: 간엽을 부분적제한 흰쥐혈청 및 재생간의 Mitochondrial Aspartate Aminotransferase의 활성치. *계명의대논문집* 1988; 7: 1-6.
 44. 김여희, 문교철, 곽춘식, 이상일: 흰쥐 재생간의 Xanthine oxidase의 활성치. *계명의대논문집* 1987; 6: 95-101.
 45. Lamy J, Lamy JN, Schmitt M et al: Effect d'une hepatectomie minimale sur l'activite de la catalase et des oxydases peroxysomales du foie du rat. *Biochimie* 1973; 55: 1491-1494.
 46. Paris JE: Effect of whole body irradiation and puromycin on hydrolytic enzyme activation in regenerating rat liver. *Radiat Res* 1972; 50: 592-599.
 47. Fritzson P: Dephosphorylation of pyrimidine nucleotides in the soluble fraction of homogenates from normal and regenerating rat liver. *Eur J Biochem* 1967; 1: 12-20.
 48. Barrett AJ: A new assay for cathepsin B and other thiol proteinases. *Anal Biochem* 1978; 47: 545-547.
 49. Barrett AJ, Kirsche H: Cathepsin B, cathepsin H and cathepsin L, in Colowick SP, Kaplan ND (eds): *Methods in Enzymology*, Vol XII. New York, Academic Press, 1981, pp 533-561.
 50. Moss DW: Acid phosphatase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graß M (eds): *Method of Enzymatic*

- Analysis* ed 3, vol IV. Weinheim, Verlag Chemie GmbH, 1984, pp 92-105.
51. Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan ND (eds): *Method in Enzymology*, Vol 4. New York, Academic Press, 1957, pp 708-731.
52. Gornall AG, Bardawil CJ, David MM: Determination of serum Protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751-766.
53. Scheffler WC: *Statistics for the Biological Sciences*, ed 2. USA Menlo Park, Addison-Wesley Publishing Company, 1980, pp 84-89.
54. 정우, 유호열 : 백서에 있어서 간엽절제 후 재생기간의 Hippuric acid 합성 및 Sulfobromophthalein의 담관배설에 관한 연구. *경북의대잡지* 1969; 10: 171-175.