

## 4-Vessel Occlusion 허혈동물모델에서의 대규모 유전자 발현 연구

강봉주\*\*\*, 홍성길\*, 김윤택\*, 김영옥\*\*, 조동욱\*

\*한국한의학연구원 의료연구부, \*\*경희대학교 동서의학대학원,

\*서강대학교 생명과학과

### Abstract

### Large Scale Gene Expression Analysis in Rat Models of 4-Vessel Occlusion Ischemia

Kang Bongjoo\*\*, Hong Seonggil\*, Kim Yuntaik\*, Kim Youngok\*\*, Cho Dongwuk\*

\*Dep. of Medical R&D, KIOM, \*\*Graduate School of East-West Medical Science,  
Kyung Hee \*Dep. of Life Science, University of Sogang

Cerebral ischemia, the most prevalent form of clinical stroke, is a medical problem of the first magnitude. Substantial efforts are being made to develop drugs which will protect the brain from the neurodegeneration followed by an ischemic stroke. A key factor in this process is the development of animal models that mimic the neuropathological consequences of stroke. Recently, there is increasing an evidence that free radical is involved in the mechanisms of ischemic brain damage. We investigated the macro scale gene expression analysis on the global ischemia induced by 4-vessel occlusion in Wister rats. The recent availability of microarrays provides an attractive strategy for elaborating an unbiased molecular profile of large number of genes during ischemic injury. This experimental approach offers the potential to identify molecules or cellular pathways not previously associated with ischemia. Ischemia was induced by 4-vessel occlusion for 10 minutes and reperused again. RNA from sham control brain and time-dependent ischemed brain were hybridized to microarrays containing 4,000 rat genes. 589 genes were found to be at least 2 fold regulated at one or more time points. These survey data provide the foundation studies that should provide convincing proof for ischemia and oxidative stress on gene expression.

**Keyword** : Ischemia, 4-vessel occlusion, DNA chip, gene expression

### 1. 서론

뇌에 허혈이 발생하면 뇌조직으로 산소 및 포도당의 공급이 부족하게 되어 hypoxia/hypoglycemia를 일으켜

서 단시간내에 국소 뇌조직의 손상을 일으켜 신경이상  
이 유발된다. 뇌허혈성 손상의 기전으로는 여러 가지가  
있지만 대표적으로 흥분성 신경전달물질<sup>1)</sup>, 세포내 칼슘  
함량증가<sup>2)</sup>, 세포성 에너지 대사 장애<sup>3)</sup> 등이 제시되고

있으며, 최근에는 허혈 및 재관류시 생성되는 활성산소(reactive oxygen species)에 의한 신경세포 손상<sup>45)</sup> 과 이에 따른 apoptosis에 의한 신경세포의 사멸<sup>67)</sup>이 중요한 요소로 작용된다. 활성산소는 뇌를 포함한 여러 장기에서 허혈성 손상의 매개체로 작용한다고 알려져 왔다<sup>8)</sup>. 이를 뒷받침하는 결과들로서 superoxide dismutase (SOD), catalase 또는 deferoxamine 등 여러 활성산소 제거제들을 전처리하면 허혈성 손상을 경감시킬 수 있다<sup>9)10)</sup>.

단백질 합성 억제제들이 해마에서의 허혈성 신경세포사를 완화시키고 또한 nerve growth factor가 신경세포사를 완화시킨다는 보고등이 약리학적으로 허혈에 의한 신경세포사에 apoptosis가 관여하는 것이라 보여주고 있고,<sup>11)12)</sup> bcl-2를 과발현하는 형질전환 생쥐에서 국소성 허혈에 의한 경색 크기가 줄어들고,<sup>13)</sup> 나아가 apoptosis를 최종 매개하는 것으로 알려진 caspase를 억제하여도 경색 크기가 줄어든다는 보고<sup>14)</sup>들이 apoptosis가 관여했다는 증거로 제시되고 있다.

최근의 유전적 연구로 미국 민간 생명공학기업인 셀레라 제노믹스와 국제연구 컨소시엄인 “인간게놈프로젝트(HGP)”의 핵심 연구기관인 미국 국립위생연구소(NIH)는 2001년 3월12일 해독을 마친 human genome 지도의 주요 내용을 발표했다. 이에 향후 추진될 post genome project의 functional genomics 연구에서는 인간의 유전자의 탐색 및 활용을 위한 연구의 필요성이 대두되고 있어 국내에서는 한국인에 특징적인 유전자 탐색이 요구되고 있다. 현재 한창 개발 중인 DNA chip을 이용한 유전자발현 검색기술은 많은 수의 유전자의 발현 검색을 비약적으로 발전시켜 의학분야에서 최첨단 도구로서 인체 유전자 기능분석 연구, 실험용 동식물 모델연구, 암 및 질병관련 유전자 진단, 유전자치료, 신약 개발등 분야에서 활용하고자 연구되고 있다. 현재까지 한약의 효과 연구에서는 주로 생리·생화학적 관점에서 연구가 진행되었으나, 지금은 bioinformatics의 발달로 수천개의 유전자를 한번에 검색할 수 있어 한약효과에 대한 세포의 유전자의 발현 양상에 대해 연구할 수 있는 조건이 확립되어 다양한 복합물질로 이루어진 한약의 효과에 대해 분자생물학적 해석을 내릴 수 있게 되었다.

본 연구에서는 중풍(뇌졸중) 치료를 위한 기초연구로 뇌허혈을 일으킨 동물모델에서 뇌에서의 유전자 발현 변이에 대해 DNA chip을 이용하여 관찰하고, 향후 연구될 기존의 한방 처방이 중풍 치료효과에 어떠한 기전으로 작용하는가에 대한 기초자료로 활용하고자 한다.

## II. 실험방법

### 1. 실험동물

실험동물은 170g 내외의 Wister계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 실험 전까지 일주일동안 12시간 밤/낮(조명 /07:00-19:00)을 유지하고 고형사료와 물을 자유로이 먹을 수 있게 조건을 동일화하였다. 동물사육 조건은 온도  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $55 \pm 5\%$ 로 하였다.

### 2. 4-vessel occlusion 모델로 허혈 유발

4-VO 모델은 Pulsinelli (1979)의 방법을 개량한 것을 사용했다. 흰쥐를 마취시키기 위해 stereotaxic apparatus의 수평면에서 머리를 기준으로 하여 꼬리를  $30^{\circ}$  경사지게 밑으로 고정시키고 코와 입주위를 마취기(Ohameda V.M.C./Boc Health Care, Cyprane, UK)의 플라스틱 cone으로 연결시켰다. 마취는 처음에 질소와 산소의 혼합가스(질소 70%, 산소 30%)에 포함된 5% isoflurane으로 하고 그 후에는 1.5% isoflurane으로 계속 유지시켰다.

꼬리를 수술대에 고정하고 경추를 신전시킨 상태로 실험한다. 먼저 인후(咽喉) 부위를 수술하기 위하여 총경동맥에 실리콘 튜브로 고리를 만들어 허혈을 유발하고 재관류할 수 있도록 장치했다. 그리고 허혈유발 시 미세혈관의 순환을 봉쇄하기 위하여 실로 뒤쪽으로는 trachea, esophagus, external jugular vein, common carotid arteries들이 위치하고 앞쪽으로는 cervical,

paravertebral muscle들이 지나가도록 꿰뚫은 다음 수술용 클립으로 상처를 봉합했다.

그 다음 흰쥐를 돌려서 후두골부위를 수술했다. 후두골하단의 1번 경추부를 수술확대경을 이용하여 수술하고 alar foramina 쪽으로 근육이 다치지 않게 접근했다.

1mm이하의 미세한 전기소작침을 1번 경추의 alar foramina를 통하여 밑으로 척추동맥이 통과하고 있는 터널로 집어넣어, 간헐적인 전류를 통전시켜 척추동맥을 소작했다. 수술현미경을 이용하여 뼈 속으로 지나가는 터널에 존재하는 척추동맥이 완전히 소작되어서 폐쇄되었다는 것을 확인한 다음 수술용 클립으로 봉합했다. 24시간 뒤, 수술용 클립을 제거한 다음 총경동맥을 aneurysm 클립으로 10분 동안 조여서 허혈을 유발했다. 만약 1분 이내에 대광반사가 소실되지 않으면 경부봉합을 단단하게 하고 이 때 대광반사가 소실되지 않은 흰쥐들은 완전한 양측 평행적인 CA1 신경손상이 유발되지 않기 때문에 이 실험에서 제외시켰다. 또 경련을 일으키는 흰쥐들도 제외시켰다. 10분 후 총경동맥에서 aneurysm 클립을 떼어 내어 재관류 시키고 또 재관류시킨 다음 의식 소실 기간이  $20 \pm 5$ 분인 흰쥐들만 실험에 사용했다.

### 3. Total RNA extraction

Ischemia/reperfusion한 후 2시간, 8시간, 24시간, 48시간 지난 후, 흰쥐의 두개골로부터 brain을 DEPC 처리된 기구를 사용하여 적출한 후, 미리 전처리를 끝내고 냉각시킨 막자 사발에 뇌조직 slice를 넣고 액체 질소를 부어서 급속 냉각 시켰다. 이것을 완전히 homogenization시켜 가루로 만든 후, 뇌조직 100mg당 1ml의 TRIreagent (molecular probe)를 넣고 상온에서 5분간 방치하였다. 여기에 0.2 volume의 chloroform을 첨가하고 15초 동안 vortexing한후 상온에 5-15분간 방치했다. 그리고 4°C, 12,000g에서 15분간 원심분리하여 상층액을 새로운 tube로 옮겼다. TRIreagent 1ml 당 0.5ml 부피의 isopropanol을 첨가 후 상온에서 5-10분간 방치 후 4°C, 12,000g에서 8분간 원심분리하여 RNA 침전물

을 얻었다. 침전물에서 약 1ml의 75% ethanol을 첨가하고, 4°C, 7,500g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버리고 침전물을 건조시켜 50ul의 DEPC-water에 녹여 RNA농도를 측정하였다.

### 4. Microarray probing과 scanning

100µg total RNA (또는 2-5µg의 mRNA)용액에 5µg의 dt oligomer를 첨가하여 70°C에서 10분간 반응시킨 후 얼음에 방치하였다. RNA용액에 2.5µl의 Superscript II revers transcriptase (GibcoBRL), 10µl의 5×reaction buffer, 5µl의 DTT (0.1M), 5µl의 10×dNTP5mM dATP, dCTP, dGTP,; 2mM dTTP), 2ul의 fluorescent nucleotide (최종농도 10nM Cy3-dUTP or Cy5-dUTP)를 첨가하여 50µl의 반응액을 만들어 37°C에서 2시간 반응시켰다. 이 반응액에 6µl의 3M NaOH를 첨가하여 65°C에서 30분 반응시켜 unlabeled RNA를 변성시켰다. 이 반응액에 30µl의 1M Tris-HCl (pH7.5)와 12µl의 1M HCl를 첨가하여 중화시켰다. Biospin 6 column (Bio-Rad)을 사용하여 unincorporated nucleotide와 salt로 제거하였다. Cy5 probe와 Cy3 probe를 동량씩 섞어 Microcon 30 (Millipore)으로 부피를 줄였다.

Hybridization solution들은 probe와 섞어 chamber에 넣어 50°C에서 16시간 hybridization 했다. 그리고 drain까지 마친 후 scanner GMS 418 (genetic microsystems)로 scanning 하였다. 그리고 Imagegen (Biodiscovery)으로 분석하였다 (Fig. 1).

### III. 결과 및 고찰

4,000여개의 rat 관련 유전자 (EST gene)가 집적된 DNA chip을 이용해서 4-vessel occlusion ischemia를 일으킨 rat의 뇌에 대한 유전자 발현 연구를 하였다. Ischemia/reperfusion을 일으킨 뇌에서 시간대 별로 total RNA를 분리하여 DNA chip으로 분석했다 (Fig. 2). 그

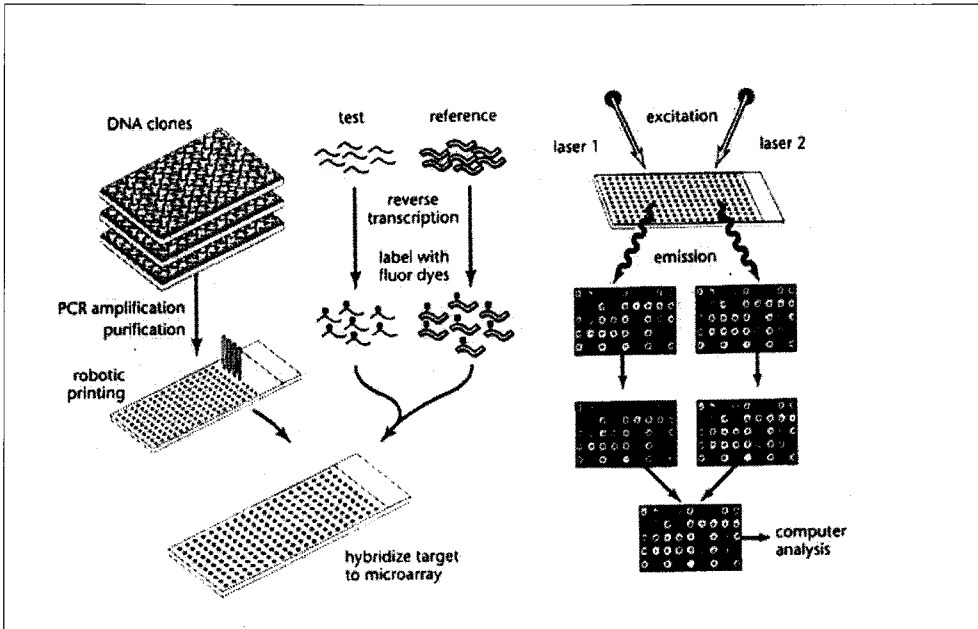


Fig. 1. cDNA microarray schema.

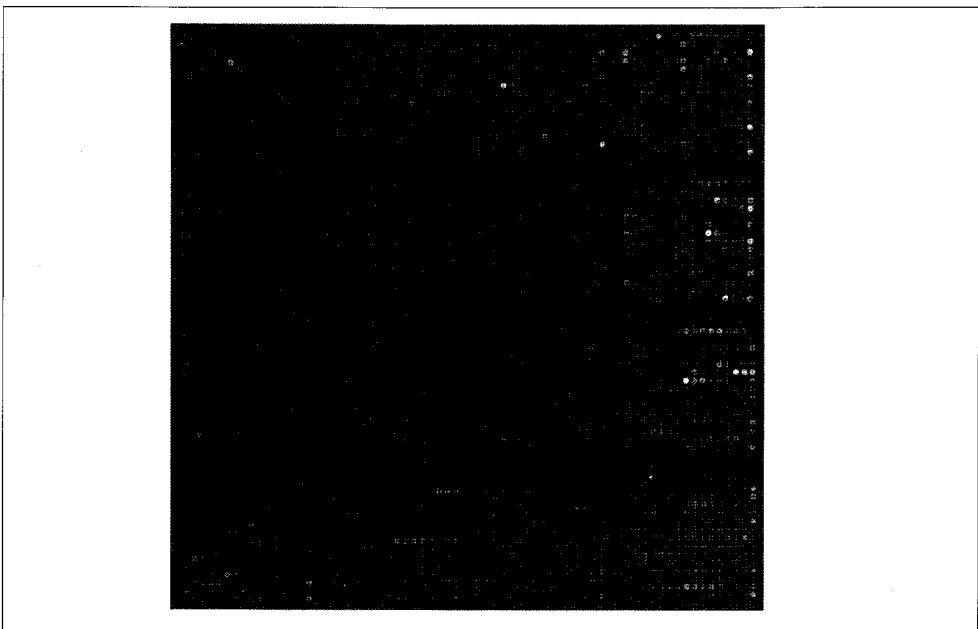


Fig. 2. cDNA microarray expression patterns of brain slice which was induced cerebral ischemia compared with the sham group (shown in pseudocolor representation).

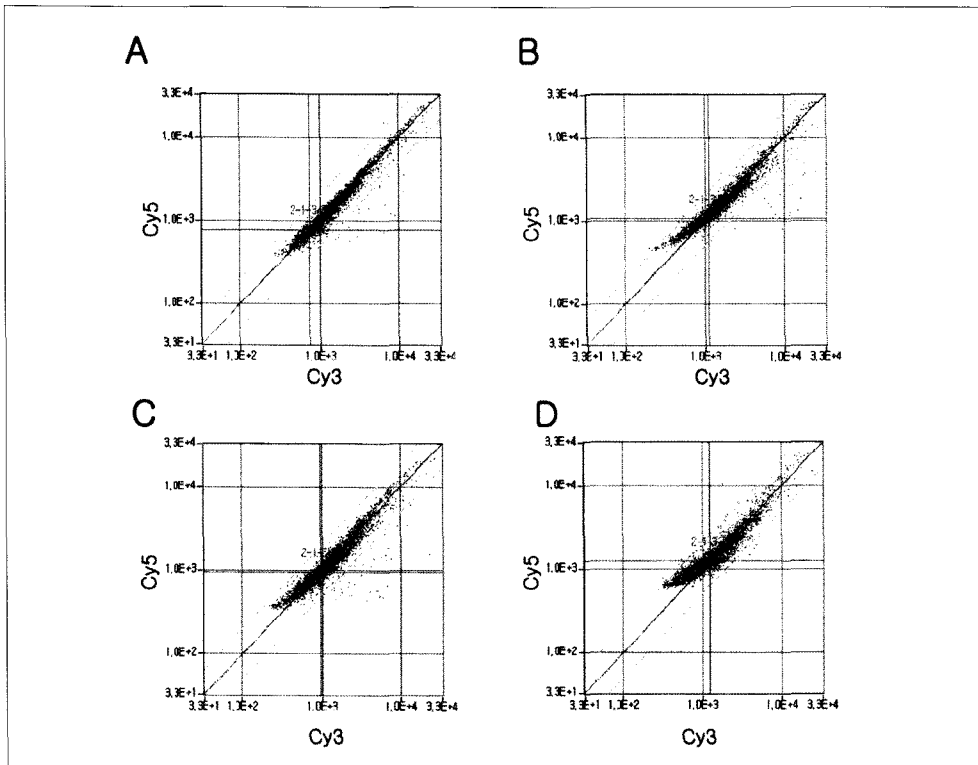


Fig. 3. Correlations between the expression results of DNA chips obtained from brain slice which was induced cerebral ischemia compared with the sham group. (A) 2 hours (B) 8 hours (C) 24 hours (D) 48 hours post 4-VO ischemia

림에서 녹색으로 표시된 부분은 허혈된 brain의 total RNA에 Cy3를 붙였고 붉은색은 Cy5를 붙인 sham total RNA를 나타낸다. 그림에 나타난 것은 pseudocolor이고 실재는 흑백이미지를 스캔하게 된다.

Fig. 3에서는 correlation 그래프를 보여준 것으로 허혈 후 시간대별로 각각 DNA chip의 correlation 그래프이다. 대조군과 실험군간의 correlation linearity를 보여주고 있다.

전체적으로 허혈후 시간이 경과에 따라 많은 수의 유전자들의 증가가 관찰되어 허혈 후 48시간후에는 500여개의 유전자 발현 증가를 관찰할 수 있었고 발현이 감소한 유전자도 시간이 경과할수록 증가하여 48시간 후에는 48개의 유전자가 감소했다 (Fig. 4). 그리고 각 시간대별로 알려진 유전자중에서 가장 많이 발현된 유전자 5개와 감소 발현된 유전자 5개를 Table 1과 2에 표시했다.

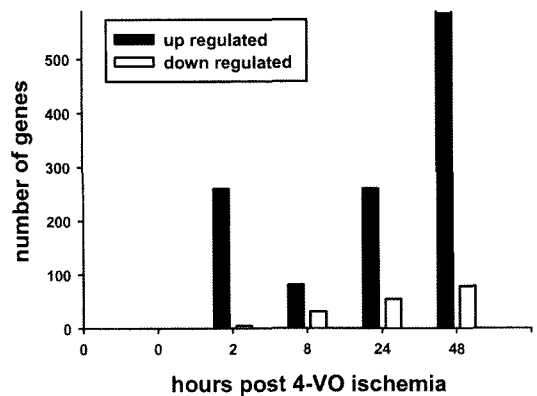


Fig. 4. Number of regulated genes at each time point. The number of genes that were up-regulated (solid bar) by at least two fold or down-regulated (open bar) by at least 1.25 fold at each time point are shown.



**Table 1.** Five most highly up-regulated genes. The right-hand column gives the ratio of mRNA for 4-VO ischemed brain to sham brain at the time point of five highly up-regulation.

2 hours	
GeneName	ratio
R.norvegicus MYR1 mRNA for myosin I heavy chain	13.7
Rattus norvegicus vesicular transport protein rvps45 mRNA	10.4
Rat mRNA for ATP-sensitive inwardly rectifying K+ channel, BIR(Kir6.2)	9.9
Rattus norvegicus GTP cyclohydrolase I feedback regulatory protein mRNA	8.2
Rattus norvegicus TFIIA small subunit mRNA	7.8
8 hours	
GeneName	ratio
autoantigen pericentriol material 1 (PCM-1) mRNA, human	8.7
EPO(Rattus norvegicus mRNA for erythropoietin precursor)	6.9
BMP IA receptor, rat	5.9
R.norvegicus NTF2 gene	5.4
hybrid protein(ubiquitin-like P.), rat	5.3
24 hours	
GeneName	ratio
Rat mitochondrial fumarase mRNA	26.0
Rattus norvegicus mRNA for MEGF2	22.4
Rattus norvegicus pyruvate dehydrogenase kinase 2 subunit p45 (PDK2) mRNA	21.3
Rat insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP-5) mRNA	19.2
Rat unr mRNA for unr protein with unknown function	17.8
48 hours	
GeneName	ratio
Rattus norvegicus cyclophilin B mRNA	4.5
Shh(M.musculus (C57BL/6J) Shh)	4.4
histone H3.3 pseudogene(MH-921),Mouse	4.0
Rattus norvegicus mRNA for UDP-glucose dehydrogeanse	3.8
Rat mRNA for argininosuccinate lyase	3.8

tool로서 DNA chip (microarray)가 각광을 받고 있다. 슬라이드위에 수천개의 유전자를 집적시켜 놓고 연구하고자 하는 sample의 RNA를 hybridization후 전용스캐너로 스캔을 하면 각 유전자별 발현량을 알 수가 있다. 이것은 수 천번의 quantitative RT-PCR 또는 Northern blot을 한 것과 같은 효과를 가지고 있어 유전자 발현 연구에 시간과 효율의 극대성을 가지고 있어, drug discovery와 같이 drug의 생체내의 유전자 발현 및 조절에 대한 연구에 사용되고<sup>15)</sup>, 암세포의 유전자 변이에

대해서, 그리고 항암제의 효과에 대한 대규모 유전자 검색에서도 사용된다<sup>16)17)</sup>. 그리고 상처의 치료와 재생 연구<sup>18)</sup>, apoptosis의 대규모 유전자 발현 연구<sup>19)</sup>, 노화와 칼로리 관계연구<sup>20)</sup> 등에도 DNA chip을 활용하고 있고, 작년부터 DNA chip을 이용한 논문수가 급증할 정도로 여러방면에서 다각도로 DNA chip이 활용되고 있다.

뇌에 허혈이 발생하면 뇌조직에의 산소 및 포도당의 공급이 부족하게 되는 hypoxia/hypoglycemia를 일으켜 국소 뇌조직의 손상을 초래하여 신경학적 이상이 유발

**Table 2.** Five most highly down-regulated genes. The right-hand column gives the ratio of mRNA for 4-VO ischemed brain to sham brain at the time point of five highly down-regulation.

2 hours	
GeneName	ratio
R.norvegicus messenger RNA for preproelastase (pancreatic elastase I)	0.4
Rattus norvegicus mRNA for AF-9	0.5
Rattus norvegicus protein inhibitor of neuronal nitric oxide synthase (PIN) mRNA	0.7
Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase 2E1 (PTP2E1) mRNA	0.7
Rat prion-related protein (PrP) mRNA, 3' end	0.7
8 hours	
GeneName	ratio
Rattus norvegicus cysteine sulfinic acid decarboxylase mRNA	0.4
Rattus norvegicus CaM-like protein kinase mRNA	0.5
Rat mRNA for transthyretin	0.6
Rattus norvegicus postsynaptic density protein (citron) mRNA	0.6
AUH mRNA, human	0.6
24 hours	
GeneName	ratio
Rat mRNA for transthyretin	0.2
Rattus norvegicus beta defensin-2 mRNA	0.1
37kd protein, rat	0.1
Rat calcineurin A alpha mRNA	0.1
Rattus norvegicus CaM-like protein kinase mRNA	0.1
48 hours	
GeneName	ratio
ribosomal p., L15, rat	0.1
clathrin assembly p., rat	0.5
ribosomal DNA, human	0.5
Rattus norvegicus cysteine sulfinic acid decarboxylase mRNA	0.5
testis-specific farnesyl pyrophosphatase synthetase	0.5

된다. 뇌허혈성 손상의 기전으로는 여러 가지가 있지만 최근에는 허혈 및 재관류시 생성되는 활성산소와 apoptosis가 신경세포의 사멸에 중요한 역할로 작용된다. 본 연구에서는 oxidative stress와 관련된 유전자의 발현이 증가되는 것을 관찰할 수가 있었다. 먼저 대사부산물에 대한 해독작용을 하는 aldehyde dehydrogenase (ALDH)가 허혈후 최대 3.2배이상 증가를 관찰할 수 있었으며, glutathione synthetase가 1.5배, thioredoxin reductase가 1.9배 증가<sup>21)</sup>, xanthine dehydrogenase 1.2배

증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

Stress protein 중 특히 분자량 70kD인 hsp70 (Heat shock protein 70)의 증가는 thermotolerance 현상과 매우 밀접한 관계를 가지고 있고, hsp70에 대한 antisense DNA나 항체로 세포내 hsp70을 낮추면 스트레스에 대한 세포 손상이 증가되고 또한 세포 생존율이 감소됨이 관찰되었다<sup>22)</sup>. 세포손상에 대한 hsp70 보호효과는 널리 인정되고 있으나 허혈에 의한 뇌손상 부위별 차이와 hsp70 관계는 초기에 hsp70이 세포가 처한 스트레스



의 정도를 나타내주는 지표로만 생각되었으나 허혈이 반복해서 가해지는 치명적 허혈에 대한 저항성을 부여함으로써 손상을 감소시켜주는 허혈내성 (ischemic tolerance) 현상이 뇌조직과 더불어 여러 다른 조직들에게서도 관찰되었고<sup>23)</sup> 이때의 허혈이 hsp70의 발현을 증가시키는 것이 밝혀졌다. 본 연구에서도 sham group에 비해 허혈 후 2시간 후에는 2.1배, 24시간 후에는 1.4배, 48시간 후에는 1.6배로 나타나서 12시간 전에 hsp70의 발현량이 증가했다가 점차 감소하는 것으로 보고된 결과<sup>24)</sup>와 일치한 결과를 보여주었다.

세포가 허혈 내성을 가지게 되는 데는 hsp70뿐 아니라 여러 세포내 반응유전자들의 역할이 개입되어 있는 것으로 알려진 것과<sup>25)26)</sup> 마찬가지로 DNA chip에서는 허혈 후 48시간 지난 후 hsp27이 1.3배, grp75가 1.4배 up-regulation 되는 것을 관찰할 수 있었다.

본 연구결과에서는 허혈에 의해 각종 유전자의 발현이 증가되고 일부는 감소되며 기존에 알려진 연구결과와 상당히 일치함을 밝혔다. 현재까지 뇌허혈에 효과가 있다고 알려져 있는 각종 당제의 효과의 기전에 대해서 알려진 바는 없고 단지 당제가 대한 신체의 생리·생화학적 변화에 대한 연구가 주로 이루어져서 당제 효과에 대한 기전연구가 매우 미흡하여 이 연구결과를 바탕으로 중풍 효과 약제에 대한 분자생물학적 해석으로 기전 연구에 활용하고자 한다.

\* 본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임. (HMP-00-O-20500-0002)

[색인어] 허혈, DNA 칩, 유전자 발현

### 참고문헌

1. Choi DW. 「Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system」. 『Neuron』. 1988; Vol.1 No.8: 623-634
2. Cheung JY, Bonventre JV, Malis CD, Leaf A. 「Calcium and ischemic injury」. 『N Engl J Med』. 1986; Vol.314 No.26: 1670-1676.
3. Meyer FB. 「Calcium, neuronal hyperexcitability and ischemic injury」. 『Brain Res Brain Res Rev』. 1989; Vol.14 No.3: 227-243.
4. McCord JM. 「Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury」. 『N Engl J Med』. 1985; Vol.312 No.3:159-163.
5. Schmidley JW. 「Free radicals in central nervous system ischemia」. 『Stroke』. 1990; Vol.21 No.7: 1086-1090.
6. Linnik MD, Miller JA, Sprinkle-Cavallo J, Mason PJ, Thompson FY, Montgomery LR, Schroeder KK. 「Apoptotic DNA fragmentation in the rat cerebral cortex induced by permanent middle cerebral artery occlusion」. 『Brain Res Mol Brain Res』. 1995; Vol.32 No.1: 116-124.
7. Chen J, Graham SH, Chan PH, Lan J, Zhou RL, Simon RP. 「bcl-2 is expressed in neurons that survive focal ischemia in the rat」. 『Neuroreport』. 1995; Vol.6 No.2: 394-398.
8. Siesjö BK, Agardh CD, Bengtsson F. Free radicals and brain damage. 『Cerebrovasc Brain Metab Rev』. 1989; 1(3):165-211.
9. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. 「Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide」. 『Proc Natl Acad Sci USA』. 1990; Vol.87 No.4: 1620-1624.
10. Imaizumi S, Woolworth V, Fishman RA, Chan PH. 「Liposome-entrapped superoxide dismutase reduces cerebral infarction in cerebral ischemia in rats」. 『Stroke』. 1990; Vol.21 No.9: 1312-1317.
11. Tortosa A, Rivera R, Ferrer I. 「Dose-related effects of cycloheximide on delayed neuronal death in the gerbil hippocampus after bilateral transitory forebrain ischemia」. 『J Neurol Sci』. 1994; Vol.121 No.1: 10-17.
12. Hashimoto Y, Kawatsura H, Shiga Y, Furukawa S, Shigeno T. 「Significance of nerve growth factor content levels after transient forebrain ischemia in gerbils」.

- 『Neurosci Lett』, 1992; Vol.139 No.1: 45-46.
13. Martinou JC, Dubois-Dauphin M, Staple JK, Rodriguez I, Frankowski H, Missotten M, Albertini P, Talabot D, Catsicas S, Pietra C, et al. 「Overexpression of BCL-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia」. 『Neuron』, 1994; Vol.13 No.4: 1017-1030.
  14. Endres M, Namura S, Shimizu-Sasamata M, Waeber C, Zhang L, Gomez-Isla T, Hyman BT, Moskowitz MA. 「Attenuation of delayed neuronal death after mild focal ischemia in mice by inhibition of the caspase family」. 『J Cereb Blood Flow Metab』, 1998; Vol.18 No.3: 238-247.
  15. Gray CP, Keck W. 「Bacterial targets and antibiotics: genome-based drug discovery」. 『Cell Mol Life Sci』, 1999; Vol.56 No.9-10: 779-787.
  16. Golub TR. 「Genome-wide views of cancer」. 『N Engl J Med』, 2001; Vol.344 No.8: 601-602.
  17. Hedenfalk I, Duggan D, Chen Y, Radmacher M, Bittner M, Simon R, Meltzer P, Gusterson B, Esteller M, Kallioniemi OP, Wilfond B, Borg A, Trent J. 「Gene-expression profiles in hereditary breast cancer」. 『N Engl J Med』, 2001; Vol.344 No.8: 539-548.
  18. Li X, Mohan S, Gu W, Baylink DJ. 「Analysis of gene expression in the wound repair/regeneration process」. 『Mamm Genome』, 2001; Vol.12 No.1:52-59.
  19. Jackson-Grusby L, Beard C, Possemato R, Tudor M, Fambrough D, Csankovszki G, Dausman J, Lee P, Wilson C, Lander E, Jaenisch 「Loss of genomic methylation causes p53-dependent apoptosis and epigenetic deregulation」. 『Nat Genet』, 2001; Vol.27 No.1:31-39.
  20. Lee CK, Klopp RG, Weindruch R, Prolla TA. 「Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction」. 『Science』, 1999; Vol.285 No.5432: 1390-1393.
  21. Holmgren A. 「Antioxidant function of thioredoxin and glutaredoxin systems」. 『Antioxid Redox Signal』, 2000; Vol.2 No.4:811-820.
  22. Li GC, Mak JY. 「Induction of heat shock protein synthesis in murine tumors during the development of thermotolerance」. 『Cancer Res』, 1985; Vol.45 No.8: 3816-3824.
  23. Liu Y, Kato H, Nakata N, Kogure K. 「Protection of rat hippocampus against ischemic neuronal damage by pretreatment with sublethal ischemia」. 『Brain Res』, 1992; Vol.586 No.1: 121-124.
  24. 도윤정. 「허혈 및 재관류에 의한 뇌세포 손상과 heat shock protein 70과의 상관관계」 『연세의대 학위논문집』 1996; 1학기; 111-122
  25. Kato H, Liu Y, Kogure K, Kato K. 「Induction of 27-kDa heat shock protein following cerebral ischemia in a rat model of ischemic tolerance」. 『Brain Res』, 1994; Vol.634 No.2: 235-244.
  26. Massa SM, Longo FM, Zuo J, Wang S, Chen J, Sharp FR. 「Cloning of rat grp75, an hsp70-family member, and its expression in normal and ischemic brain」. 『J Neurosci Res』, 1995; Vol.40 No.6: 807-819.