

허혈이 유도된 대뇌신경세포에 대한 항산화제 및 Ampa/kainate 수용체 길항제의 영향

오연균*

원광대학교 의과대학 소아과학교실, 원광의과학연구소

Effect of Antioxidant and Ampa/kainate Receptor Antagonist on Cerebral Neurons Damaged by Ischemia

Yeon Kyun Oh*

Department of Pediatrics, Wonkwang University School of Medicine, Institute of Wonkwang Medical Science

To clarify the toxic effect on cultured neonatal mouse cerebral neurons damaged by ischemia, we examined the cytotoxicity induced by ischemia and the protective effect of antioxidant and AMPA/kainate receptor antagonist against ischemia-induced cytotoxicity on cultured cerebral neurons. For this study, mice were administrated with 20ug/kg cyclothiazide or 50U/kg vitamin E via intraperitoneal injection for 2 hours before ischemic induction. After cell culture for 7 days, cell viability, amount of neurofilament and protein kinase C activity were examined. Ischemia decreased significantly cell viability, amount of neurofilament and the increase of protein kinase C activity in these cultures. In the protective effect, vitamin E showed remarkably the increase of cell viability and amount of neurofilament, and the decrease of protein kinase C activity but, cyclothiazide did not showed any protective effect on ischemia-induced cytotoxicity. From these results, it is suggested that vitamin E is effective in blocking the neurotoxicity induced by ischemia, but cyclothiazide as a AMPA/kainate receptor antagonist is not.

Key words : Ischemia, Cerebral neuron, Cell viability, Neurofilament, Protein kinase C

서 론

주산기 가사, 뇌졸중, 뇌허혈 등 각종 중추성 신경질환의 병인으로 산소자유기가 관여하고 있음이 밝혀지고 있다. 특히 산소자유기는 여러 신경세포, 즉 대뇌신경세포¹⁻³⁾를 비롯하여, 척수운동신경세포, 희소돌기아교세포 및 도파민성 신경원^{4,5)} 등에 손상을 줌으로써 뇌졸중^{6,7)}을 비롯하여 뇌허혈^{8,9)}과 같은 각종 신경병변을 초래함은 이미 잘 알려져 있다. 산소자유기에 의한 신경병변은 뇌에 존재하고 있는 항산화계에 영향을 주어 뇌 속의 산소자유기를 제거하는 항산화효소인 catalase, superoxide dismutase 및 glutathione peroxidase와 같은 항산화 효소의 활성을 감소시키거나 방해함으로써 세포를 퇴화 내지는 사멸 시킨다고 한다⁹⁾. 따라서 이들 병변의 치료적 접근의 한 방법으로 항산화제를 투

여하여 병변의 예후가 좋아졌다는 보고가 발표되고 이의 기전규명에 많은 연구를 하고 있다.

또한, 저산소 및 허혈 시 생성된 산소자유기는 흥분성아미노산을 활성화시키고 이는 세포막의 NMDA 수용체를 과활성화시켜 세포내 칼슘 유입을 촉진시킴으로서 세포를 팽창 내지는 고사 시키고^{5,10)}, 이렇게 증가된 Ca²⁺은 NO합성을 촉진시키는 동시에 NO와 산소자유기는 다시 상호 작용하여 독성을 띤 대사산물을 생성 한다¹¹⁾. 이와 같이 산소자유기는 다시 흥분성아미노산과 칼슘 채널과의 회로를 형성하여 신경 독성을 유발하는 바, 지금까지 뇌질환은 산소자유기와 주로 NMDA 수용체 측면에서 그 작용 기전이나 현상에 대하여 설명하고 연구가 진행되어 왔다고 하겠다.

이에 비하여 non-NMDA 수용체의 하나인 Ampa/kainate 수용체의 측면에서 보면 산소자유기와 상호작용과 작용기전에 관한 연구가 매우 미흡한 실정인데 이는 NMDA 수용체와 달리 Ampa/kainate 수용체는 Ca²⁺ 이온 채널과 밀접한 관계가 없기 때문으로 보인다. 그러나 최근 Ampa/kainate 수용체도

* 교신저자 : 오연균, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 의과대학

· E-mail : oyk5412@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-1102

· 접수 : 2005/05/30 · 수정 : 2005/07/01 · 채택 : 2005/08/02

ligand-gated Ca^{2+} 과 Na^{+} 채널이 상호작용하게 함으로서 중추신경에서 흥분성을 유발하게 하여 수많은 기능적 변화를 증대한다고 보고하고 있다¹²⁾. 따라서 산소자유기에 의하여 증대되는 뇌질 환에 대한 Ampa/kainate 수용체의 역할은 산화적 손상측면에서 항산화제와의 상호관계와 더불어 병변의 기전규명과 치료적 접근에 새로운 방법을 제시할 수 있다는 측면에서 그 중요성이 최근 높은 관심을 끌고 있다.

따라서, 본 연구는 뇌허혈을 산소자유기의 측면에서 조사하여 산화적 손상에 대한 독성효과에 대한 기전을 규명하며, 동시에 산소자유기와 항산화제 및 Ampa/kainate 수용체와의 상호작용에 대한 방어 효과를 조사하기 위하여 뇌허혈을 유도한 신생쥐의 대뇌 신경세포를 대상으로 허혈에 의한 뇌조직의 산화적 손상에 대한 항산화제 및 Ampa/kainate 수용체 길항제의 영향을 보고자 in vitro상에서 세포독성 분석으로 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 동물은 ICR 계통의 생후 3일된 건강상태가 양호한 생쥐를 사용하였다.

2. 방법

1) 뇌허혈 유도

허혈유도를 위하여 생후 7일된 신생쥐를 에테르 마취하에서 경부 중양을 절개하여 우측 총경동맥을 노출시킨 후 이를 봉합사를 이용하여 일정시간 동안 결찰한 다음 피부봉합을 함으로서 허혈을 유도하였다.

2) 세포배양

대뇌신경세포의 배양을 위하여 뇌허혈이 유도된 신생쥐에서 분리한 뇌 조직을 Michikawa 등³⁾의 방법에 따라 행하였다. 즉, 적출한 뇌 조직을 0.25% trypsin이 포함된 phosphate buffered saline(PBS)으로 처리한 후 36°C, 5% CO₂/95% air로 조절된 항온기 내에서 배양하였다. 배양 완료 후 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco)이 포함된 Eagle's minimum essential medium (EMEM, Gibco)으로 3회 세척 후 피펫으로 세포를 분리시켰다. 분리된 세포들은 Poly-L-lysine (Sigma)으로 전처리된 96-multiwell에 3×10⁶cells/well의 밀도로 세포를 분주하였다. 분주된 세포는 3일 간격으로 새로운 배양액으로 교환하여 주었으며 7일 동안 배양 후 본 실험에 사용하였다.

3) 항산화제 처리 및 효과 조사

뇌허혈 유도시 산소자유기에 의한 산화적 손상에 대한 항산화제의 영향을 조사하기 위하여 허혈 유도 2시간 전에 신생쥐에 50U/kg vitamin E(Sigma, USA)를 투여하고 14일 후 신생쥐를 희생시켜 뇌 조직을 적출하였다.

4) Ampa/kainate 길항제의 투여 및 효과 조사

뇌허혈 유도에 따른 산소자유기의 산화적 손상에 대한 효과를 조사하기 위하여 허혈 유도 2시간 전에 신생쥐에 20ug/kg cyclothiazide(Sigma, USA)를 투여하고 14일 후 신생쥐를 희생

시킨 다음 뇌 조직을 적출하였다. 적출된 뇌 조직은 0.6% D glucose가 함유된 EMEM으로 3회 세척한 다음 in vitro 상에서 분석하였다.

3. 세포독성 및 방어효과 검증

1) 세포생존율 분석(XTT 정량)

세포생존율의 정량은 Mosmann¹³⁾의 XTT <2, 3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl) -5-(phenylaminocarbonyl) 12H-tetrazolium hydroxide> (Sigma, USA) 분석을 이용하였다. 즉, 약제를 처리한 신생쥐로부터 순수분리 배양한 신경세포를 PBS로 3회 세척 후 전날 제조한 5 mg/ml의 NR을 well당 최종 농도로 희석하여 넣은 다음 3시간 동안 37°C, 5% CO₂로 조절된 정온기에서 배양하였다. 배양 완료 후 PBS로 3회 세척 후 1% 포르말린으로 고정하고 1% glacial acetic acid로 처리한 다음 530nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

2) 신경세사의 정량 분석(효소면역화학 염색)

신경세사(neurofilament) 분석은 enzyme immunoassay (EIA)에 의하여 조사하였다. 즉, 순수분리 배양한 대뇌신경세포를 PBS로 3회 세척하여 고정액으로 고정시킨 다음 0.2% Triton X-100이 포함된 PBS로 3-4회 세척하였다. 세척 완료 후 1차 항체인 NE14(Sigma)로 1시간 동안 반응시키고 이후 발색제로 처리한 다음 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) PKC(protein kinase C) 활성도 측정

세포내 칼슘 증가와 관계되는 PKC의 측정은 세포배양 완료 후 세포를 모아 초음파로 균질화 시킨 다음 합성 peptide와 Tris-HCl이 포함된 반응 용액에 효소를 가하고 실온에서 15분간 방치한 다음 반응액 50ul를 취하여 음이온 수지에 옮긴 후 흡광도를 측정하였다.

4. 통계처리

실험 결과에 대한 유의성은 ANOVA 검정 후 Student's t-test에 의하였으며 P값이 0.05 미만을 유의한 것으로 하였다.

결 과

1. 세포생존율 분석

허혈 유도 및 vitamin E(vit. E)나 cyclothiazide(CY)를 전처리한 신생쥐의 뇌조직에서 순수분리 배양한 대뇌신경세포의 세포생존율을 대조군과 비교 조사하였다. 그 결과 허혈 유도에서 세포생존율은 대조군(100%)에 비하여 42.4%로 감소하였으며 CY 처리에서는 58.6%, vit. E 처리에서는 85.6%로 나타나, vit. E 처리는 허혈 유도시 세포생존율에 비하여 매우 유의한 증기를 나타냈다(p<0.01)(Fig. 1).

2. 신경세사의 정량 분석

효소 면역 화학 염색에 의해 측정된 신경세사의 함량은 허혈 유도에서 대조군(100%)에 비하여 36.8%로 나타났으며 CY 처리에서는 62.3%로 나타나 유의성은 보이지 않았다. 그러나, vit.

E 처리에서는 신경세포의 함량이 대조군에 비하여 71.8%로 나타나 허혈 유도에 비하여 유의한 증가를 보였다($p < 0.05$)(Fig. 2).

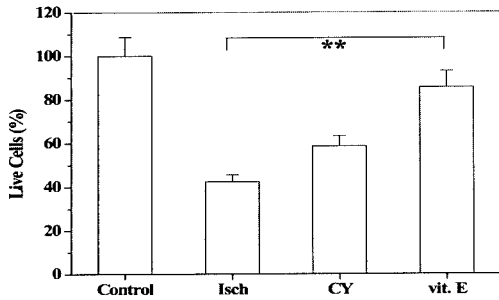


Fig. 1. Comparison of cell viability between ischemia and vitamin E(vit. E), cyclothiazide(CY). Cell viability was measured by XTT assay in cultured mouse cerebral neurons. The results indicate the mean±SD for 6 experiments. ** $p < 0.01$

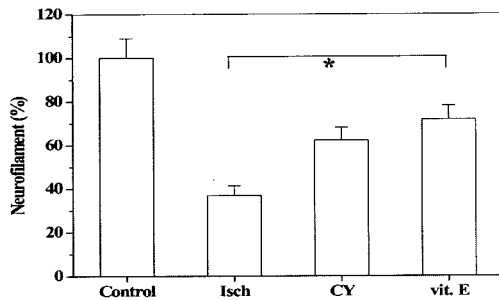


Fig. 2. Comparison of amount of neurofilament between ischemia and vitamin E(vit. E), cyclothiazide(CY). Amount of neurofilament was measured by enzyme immunoassay in cultured mouse cerebral neurons. The results indicate the mean±SD for 6 experiments. * $p < 0.05$

3. PKC 활성화 측정

세포내 칼슘 증가와 관계되는 PKC 활성화도는 허혈 유도에서 대조군(100%)에 비하여 176.3%로 나타났다. 이에 비하여 CY의 처리에서는 164.5%로 나타나 유의성은 보이지 않았으나, vit. E 처리는 131.5%로 나타나 허혈 유도에 비하여 유의한 감소를 나타냈다($p < 0.05$)(Fig. 3).

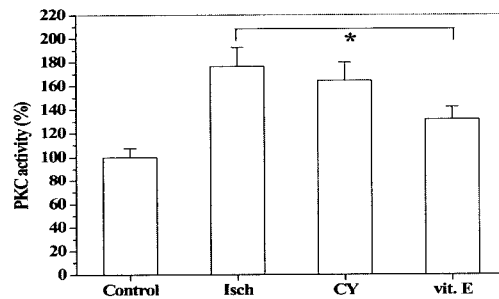


Fig. 3. Comparison of protein kinase C(PKC) activity between ischemia and vitamin E(vit. E), cyclothiazide(CY). PKC activity was measured by radioactive assay in cultured mouse cerebral neurons. The results indicate the mean±SD for 6 experiments. * $p < 0.05$

고찰

주산기 가사시 유발되는 저산소증, 뇌허혈 등은 뇌세포에 산

화적 손상을 초래함으로써 세포의 손상은 물론, 세포 퇴화나 고사(apoptosis)를 유도함으로써 다양한 병변을 초래함은 잘 알려진 사실이다^{6,14}. 특히, 산소자유기의 생성은 세포막의 지질과산화반응을¹⁵ 비롯하여 세포내 효소나 신호전달체계에 영향을 미침으로서 결국 세포의 비정상적인 대사와 항상성을 깨뜨림으로서 세포의 사멸을 초래하게 된다²⁹.

이러한 산소자유기에 의해 분비된 흥분성아미노산은 신경세포에 있어서 세포막의 NMDA 수용체를 과활성화 시켜 세포내 칼슘유입을 촉진시킴으로서 세포를 팽창 내지는 괴사시킨다고 한다^{5,10}. 흥분성아미노산은 다시 산소자유기의 생성을 유도하며 그 결과 새로이 형성된 산소자유기는 세포내 Ca^{2+} 농도를 증가시키고 이렇게 증가된 Ca^{2+} 는 NO 합성을 촉진시키는 동시에 NO와 산소자유기는 다시 상호 작용하여 독성을 띤 대사산물을 생성하기도 한다고 한다¹¹. 또한 산소자유기는 세포막에서 지질과산화 반응의 사슬을 활성화 시키거나 흥분성 아미노산을 분비케 하며^{8,16}, 이는 NMDA 수용체를 활성화시켜 세포내 칼슘의 증가를 초래하고¹⁷, phospholipase A2를 자극하여 새로운 산소 자유기의 생성을 가져오며^{14,18-20}, 다시 nitric oxide와 결합하여 peroxynitrate라는 독성물질을 형성함으로써 세포의 손상은 물론 나아가서 세포 고사를 초래한다고 한다^{21,22}. 또한, phospholipase C를 활성화하여 phospholipid를 가수분해하며 대사산물로 나온 diacylglycerol은 calcium-dependent protein kinase C(PKC)를 활성화하며, PKC는 흥분성 전달물질의 분비에 관여한다^{23,24}. 이와 같은 흥분성 전달 물질에 대한 수용체로 MK-801 등이 작용하는 NMDA 수용체 측면에서 그 작용기전이나 현상에 대하여서는 꾸준히 연구가 진행되어 많은 보고가 있으나 CNQX, NBQX, cyclozazide 등이 작용하는 non-NMDA 수용체의 하나인 Ampa/kainate 수용체의 측면에서는 산소자유기와 상호작용과 작용기전에 대하여 그 연구가 매우 미흡한 실정이다. 이는 NMDA 수용체는 양이온과 Ca^{2+} 이온에 모두 투과성을 보이는 반면 Ampa/kainate 수용체는 Na^+ 나 K^+ 과 밀접한 관련이 있으나 Ca^{2+} 의 투과에는 부정적인 것으로 알려져 있기 때문으로 보인다²⁵, 최근 Mayer 등¹²에 의하면 Ampa/kainate 수용체와 같은 non-NMDA 수용체도 ligand-gated Ca^{2+} 과 Na^+ 채널이 상호작용함으로써 중추신경에서 흥분성을 유발하게 하여 수많은 기능적 변화를 증대한다고 보고하여 산소자유기에 의하여 증대되는 뇌질 환에 Ampa/kainate 수용체의 역할도 매우 중요시 부각되고 있다.

본 연구는 허혈에 대하여 항산화제인 비타민 E와 Ampa/kainate 수용체 길항제의 영향을 세포생존을 측면에서 조사하였다. 허혈유도는 대조군에 비하여 현저한 세포생존율의 감소를 보임으로서 세포독성을 가지고 있다는 것을 알 수 있었으며, 이는 허혈시 생성된 산소자유기의 산화적 손상에 의한 것으로 생각되어 진다²⁶. 산화적 손상에 대한 비타민 E와 AMPA/kainate 수용체 길항제인 일종인 cyclothiazide의 영향을 조사한 결과 세포생존율은 각각 대조군에 비하여 모두 증가를 보이고 특히, 비타민 E의 처리에서는 허혈유도에 비하여 매우 유의한 증가를 보여, 이러한 결과는 허혈이 산화적 손상과 밀접한 관련이 있다는 것을 증명하였다. 한편, 신경세포의 양적측면에서

조사하기 위하여 위와 동일한 조건에서 처리 분석한 결과 허혈 유도시 신경세포는 대조군에 비하여 유의하게 감소한 반면 비타민 E와 cyclothiazide의 처리는 모두 증가하고 특히, 비타민 E의 처리에서는 유의하게 증가하였는데, 이는 산소자유기가 단백질 합성계의 효소나 형질내세막과 같은 단백질합성 관련 세포소기관 등에 손상을 주는 것을 비타민 E가 방어한 결과일 것으로 생각된다¹⁹⁾. 허혈이 신호전달체계인 PKC의 활성화에 미치는 영향에 대한 조사에서는 허혈 유도시 대조군에 비하여 증가하여 허혈에 의한 산화적 손상이 PKC의 활성을 증가한 것으로 생각되며^{27,28)}, 이러한 PKC의 증가는 세포의 투과성을 비롯하여 세포분열이나 호르몬의 분비조절에 변화를 초래하며, 특히 세포내 신호전달 체계의 영향을 준다고 알려져 있다. 비타민 E와 cyclothiazide의 전처리에 대한 PKC의 활성조사에 있어서는 허혈유도에 비하여 감소한 것으로 나타났는데, cyclothiazide 처리에서는 허혈유도에 비하여 다소 감소는 하였으나 유의성이 나타나지 않은 반면 비타민 E 처리에서는 허혈유도에 비하여 유의한 감소를 보였다. 이는 AMPA/kainate 수용체는 NMDA 수용체와 달리 PKC의 활성화에 있어서 다른 기전에 의하여 작용함을 제시하고 있다고 생각된다²⁹⁾.

결 론

허혈유도는 신생쥐의 대뇌신경세포에 세포생존율을 비롯하여 신경세포의 감소와 PKC의 활성을 증가시킴으로서 세포독성을 나타냈다. 그리고, 산화적 손상 방어 효과를 보기위해 투여한 약물로써 비타민 E는 유의한 세포생존율의 증가, 신경세포의 증가 및 PKC의 활성감소를 보여 효과적인 방어능을 나타낸 반면 cyclothiazide는 비타민 E와 같이 유효한 방어효과를 보이지 않았다. 그러나 허혈의 산화적 손상에 대한 더욱 자세한 기전 규명을 위해서는 앞으로 항산화효소의 활성과 산소 자유기의 생성에 관한 정량분석 등과 같은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

감사의 말

이 논문은 2002년도 원광대학교 의과대학 부설 원광의과학연구소 지원에 의해 연구됨.

참고문헌

1. Arslan, P., Virgilio, F., Beltrame, M., Tsien, R.Y., Pozzan, T. Cytosolic Ca homeostasis in Ehrlich and Yoshida carcinomas : A New membrane-permeable chelator of heavy metals reveals that these ascites tumor cell lines have normal cytosolic free Ca. *J Biol Chem* 260:2719-2727, 1985.
2. Fridovich, I. Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 245:4053-4057, 1970.
3. Michikawa, M., Lim, K.T., McLamon, J.G., Kim, S.U.

- Oxygen radical-induced neurotoxicity in spinal cord neuron cultures. *J Neurosci Res* 37:62-70, 1994.
4. Kontos, H., Wei, E., Ellis, E., Jenkins, L., Povlishock, J., Rowe, G., et al. Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cat. *Circ Res* 57:142-51, 1985.
5. Kim, Y.S., Kim, S.U. Oligodendroglial cell death induced by oxygen radicals and its protection by catalase. *J Neurosci Res* 29:100-106, 1991.
6. Halliwell, B., Gutteridge, J.M. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *J Biochem* 219:1-14, 1984.
7. Difazio, M.C., Hollingsworth, Z., Young, A.B., Penny, J.B. Glutamate receptors in the substantia nigra of Parkinson's disease brains. *Neurology* 42:402-406, 1992.
8. Floyd, R.A. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J* 4:2587-2597, 1990.
9. Rosen, D., Siddique, T., Patterson, D., Figlewicz, D., Sapp, P., Hentati, A., et al. Mutation in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 362:59-62, 1993.
10. Elion, G.B., Kovensky, A., Hitchings, G.H., Metz, E., Rundles, R.W. Metabolic studies of allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase. *Biochem Pharmacol* 15:863-880, 1966.
11. Rothstein, J.D., Tasi, G., Kuncl, R.W., Clawson, L., Cornblath, D.R., Drachman, D.B., et al. Abnormal excitatory amino acid metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neuro* 128:18-25, 1990.
12. Mayer, M.L., Miller, R.J. Brain redox state monitored in-vivo by fiberoptic surface fluorometry. *Brain Res Rev* 7:49-68, 1990.
13. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Methods* 65:55-63, 1983.
14. Yamamoto, M., Scima, T., Uozumi, T., Yamada, K., Kawasaki, T. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and protective effect of alpha-tocopherol administration. *Stroke* 14:977-982, 1983.
15. Pellegrini-Giampietro, D.E., Cherici, G., Alesiani, M., Carrla, V., Moroni, F. Excitatory amino acid and free radicals formation may cooperate in the genesis of ischemia-induced neuronal damage. *J Neurosci* 10:1035-1041, 1990.
16. Kim, S.U., Osborne, D.N., Kim, M.W., Spigelman, I., Puil, E., Shin, D.H. et al. Long-term culture of human fetal spinal cord neurons : Morphological immunocytochemical and electrophysiological characteristics. *Neuroscience*

- 25:659-670, 1988.
17. Michaels, R.L., Rothman, S.M. Glutamate neurotoxicity in vitro : Antagonist pharmacology and intercellular calcium concentrations. *J Neurosci* 10:283-292, 1990.
 18. Jesberger, J.A., Richardson, J.S. Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Int J Neurosci* 57:1-17, 1991.
 19. Stadtman, E.R., Oliver, C.N. Metal-catalyzed oxidation of proteins: Physiological consequences. *J Biol Chem* 266:2005-2008, 1991.
 20. Pellegrini-Giampietro, D.E., Cherici, G., Alesiani, M., Carrla, V., Moroni, F. Excitatory amino acid release from rat hippocampal slices as a consequence of free-radical formation. *J Neurochem* 51:1960-1963, 1988.
 21. Mattson, M.P., Cheng, B., Smith-Swintosky, V.L. Mechanism of neurotrophic factor protection against calcium- and free radical mediated excitotoxic injury : implications for treating neurodegenerative disorders. *J Exp Neurol* 124:89-95, 1993.
 22. Pryds, O., Greisen, G., Lou, H., Friss-Hansen, B. Vasoparalysis associated with brain damage in asphyxiated term infants. *J Pediatr* 117:119-125, 1990.
 23. Vannucci, R.C. Experimental biology of cerebral hypoxia-ischemia : relation to perinatal brain damage. *Pediatr Res* 27:317-326, 1990.
 24. Nishizuka, Y. Intercellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 258:607-614, 1986.
 25. Hollmann, M., Hartley, M., Heinemann, S. permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science* 252:851-853, 1991.
 26. Bracco, F., Scarpa, M., Rigo, A., Battistin, L. Determination of superoxide dismutase activity by the polarographic method of catalytic currents on the cerebrospinal fluid of aging brain and neurologic degenerative diseases. *Proc Soc Exp Biol Med* 196:36-41, 1991.
 27. Wieloch, T., Cardell, M., Bingren, H., Zivin, J., Saitoh, T. Changes in the activity of protein kinase C and the differential subcellular redistribution of its isozymes in the rat striatum during and following transient forebrain ischemia. *J Neurochem* 56:1227-1235, 1991.
 28. 최대호, 오연균, 박승택. Xanthine Inhibitor가 저산소성-허혈성 뇌손상이 유도된 신생쥐에 미치는 영향. *소아과* 45:732-742, 2002.
 29. Murphy, D.E., Smowhill, E.W., Williams, M. Characterization of quisqualate recognition sites in rat brain tissue using DL-[3H]- α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid(AMPA) and a filtration assay. *Neurochem Res* 12:775-782, 1987.