

사염화탄소를 이용한 마우스 지방간에서의 새로운 생체발광 측정법

¹임재관 · ¹최준호 · † ¹김정대 · ¹이병천 · ¹유혜란 · ²박대훈 · ³천병수 · ¹소광섭
¹서울대학교 물리학과, ²서울대학교 실험동물사육장, ³경희대학교 의과대학
(접수 : 2003. 9. 20., 게재승인 : 2004. 2. 20.)

Biophoton Emission as a Biomarker of Mouse Fatty Liver induced by Carbon Tetrachloride

Jae-Kwan Lim¹, Chun-Ho Choi¹, Jung-Dae Kim^{1†}, Byung-Cheon Lee¹, Hye-Ran You¹, Dae-Hun Park²,
Byeung-Soo Cheun³, and Kwang-Sup Soh¹

¹School of Physics, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea

²Breeding and Research Center, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea

³Department of KyungHee University Medical College, Seoul 130-701, Korea

(Received : 2003. 9. 20., Accepted : 2004. 2. 20.)

Recently the measurement of biophoton emission has attracted increasing attention in the study on physiological state of biological systems. We report the measurements of biophoton emission from the mouse fatty liver induced by carbon tetrachloride, CCl₄. The hepatotoxin, CCl₄ in olive oil, was injected intraperitoneally into two groups of ICR mice which were made of 6 mice in each group. The control groups corresponding to the treated groups were prepared with the injections of olive oil only. After the injections, livers of two groups were extracted and measured biophoton emission in 24 hours and 72 hours later, respectively. We also extracted the plasma in the blood and measured the transaminase activity. Results show that biophoton emission from the livers in 24-hour treated group is 69.3 ± 21.2 counts/min/cm², which is two times more larger than that in 24-hour control group, 29.5 ± 5.9 counts/min/cm². Biophoton emission from the livers in 72-hour treated group is 37.0 ± 14.8 counts/min/cm². These biophoton results correlate with those of the biochemical assays. We conclude that biophoton emission can be used as a biomarker of mouse fatty liver induced by CCl₄.

Key Words : Biophoton emission, carbon tetrachloride, fatty liver, enzyme activity

서론

사염화탄소의 급성투여는 실험동물에서 간 조직의 괴사를 일으키는 원인으로 널리 알려져 있으며 동물실험에서는 바이러성 간염, 급성 간 질환의 모의실험에 이르기까지 널리 사용되고 있다(1). 사염화탄소에 의해 유도되는 간 독성의 발현과정을 측정하는 데에는 마우스에 사염화탄소를 복강 내에 투여하면 지방간이 유발되고 투여 후 24시간이 지나면 지방간은 최대로 발현된다. 또한 사염화탄소 투여 후 마우스의 회복단계는 투여 후 24시간 이내에 시작되며 14일 이내에 괴사 조직 찌꺼기가 완전히 사라지면서 지방간은 회복된다. 마

우스에 사염화탄소를 투여한 후 48시간 이내에 각 마우스에서 혈액을 채취하여 혈장내의 효소활성도를 측정함으로써 인해 간 손상 경과를 알 수 있는 것이다.

사염화탄소에 의한 마우스 간에서의 지방축적과정은 반응 즉시 (1시간 이내)에 전자현미경으로 관찰할 수 있는 미세 반응으로 시작하여 3시간 후는 광학 현미경으로도 관찰이 가능하다. 또한 사염화탄소에 의해 미토콘드리아, 골지체의 손상은 물론 조명세포체에서의 리보솜 분리현상, 활면 소포체의 혼란 (disarray) 등이 관찰되었다. 이 결과로부터 얻어진 소포체의 손상은 간 내에서의 지질 축적은 물론 단백질의 합성저하, 복합 기능 산화효소 (mixed function oxidase)의 활성저하의 원인이 되기도 한다는 보고가 있다(2). 특히 복합 기능 산화효소의 활성저하는 반사적 대사 (reactive metabolite) P450에 대한 비가역적 과정에 의해 불활성의 원인이 되기도 하고, 미토콘드리아의 기능저하 등을 일으킨다는 사실이 이미 보고된 바 있다(3).

† Corresponding Author : School of Physics, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea

Tel : +82-2-880-8144, Fax : +82-2-880-7697

E-mail : jade@phya.snu.ac.kr

사염화탄소에 의한 독성 발현 기작을 살펴보면 P450에 의한 C-Cl결합의 해리 (initial homolytic cleavage)에 의해 트리클로메틸 프리라디칼 (trichloromethyl free radical: $\bullet\text{CCl}_3$)과 클로린 프리라디칼 (chlorine free radical: $\text{Cl}\bullet$)을 생성하는 화학반응에서부터 일어난다(4). 이 프리라디칼은 산소와 반응하여 트리클로메틸 퍼옥시라디칼 (trichloromethyl peroxy radical : $\text{Cl}_3\text{COO}\bullet$)을 생성한 후 세포막에 존재하는 불포화 지방산고리 (unsaturated fattyacid chain)인 메틸렌 연결부분 (methylene bridge)를 공격하여 자촉매적 (autocatalytic) 지질 과산화 (lipid peroxidation)를 유발한다고 보고되었다(5). $\text{Cl}_3\text{COO}\bullet$ 로부터 시작된 세포막의 지질과산화는 소포체 (endoplasmic reticulum)의 형태변화, 시토크롬 (cytochrome) P450 약물대사 체계 (drug metabolozing system)의 활성저하는 물론 글루코스6인산 (glucose-6-phosphatase)의 활성저하, 단백질 합성의 저하, 매우 낮은 농도의 지단백질 (lipoprotien)의 생성 및 분비 저하 등 사염화탄소에 의해 초기독성을 일으키는 주요한 원인이 된다고 보고된 바 있다(6). 즉 세포막 파괴에 의해 세포사에 이르게 되는 것으로 추측할 수가 있다.

이러한 기작을 연구하는데 있어서 생체조직 간의 정보전달 방법의 하나로 알려진 호르몬작용, 유기물에 의한 화학적인 방법만을 이용하는 일조일단의 연구에 그치고 있는 실정이다. 본 연구에서는 생체조직 간의 또 다른 정보전달자로서 광자의 역할에 주목하여 생체조직 연구에 간편하고 편리한 광학 시스템을 도입하였다. 이미 1920년대에 생체에서 나오는 미약한 빛이 생체조직 간의 정보전달 과정에 중요한 역할을 할 수 있음을 보였다(7). 과학이 발달함에 따라 광자의 측정기술이 고도화되고 아주 미약한 빛까지도 측정할 수 있게 되면서 생체에서 나오는 빛에 대한 연구를 통해 빛의 파장은 물론 가시광선영역이나 그것보다 더 짧은 파장까지도 측정 가능하게 되었다.

이러한 기술의 발달을 토대로 생체광자 (biophoton)의 방출에 대한 이론은 첫째는 약한 생체광자의 방출은 생체의 대사활동에 있어서 불완전성 (imperfections)에 기인한다는 사실이 정립되었다(8). 즉 생체가 들뜬 상태를 이룰 때 열적 평형 상태로 돌아감으로서 간헐적으로 빛을 낸다는 주장이다. 두 번째는 독일의 F. Popp를 중심으로 생체분자의 광학적 특성들과 그들의 생리적 작용 간에 의미가 있는 상관관계가 있다는 사실이 보고되면서 연구가 표면화되었다(9, 10). 이러한 보고 등은 생체분자내의 생리적 작용으로 인한 발암의 원인 규명에 이르기까지 연구가 진행될 수 있다는 토대를 제공하였다고 볼 수 있다.

이러한 생체에서 나오는 광자의 측정은 본 연구실을 중심으로 생물학적 반응을 물리학적 광학 현상과 병행하여 생체 반응의 현상을 연구할 수 있는 토대를 제공했다고 사료되는 바이다(11-16). 본 연구에서는 사염화탄소를 마우스에 복강 투여하여 얻은 지방간 조직에서 나오는 극미약 생체발광현상을 측정하는데 성공했기에 이를 보고한다. 특히 생화학적 지표로 널리 이용되는 글루타믹 옥살로아세트릭 트랜스아미나즈 (glutamic oxaloacetic transaminase: GOT)와 글루타믹 피루빅 트랜스아미나즈 (glutamic pyruvic transaminase: GPT) 효소 활성을 측정함과 동시에 극미약 생체발광을 측정할 결과

상관성이 인정되었다. 간의 능동 변이적 상태는 생체광자를 측정함으로써 인체 간 질환 상태의 정도를 측정할 수 있었기에 이를 보고한다. 물론 본 실험은 마우스를 이용한 실험 결과였지만 인간에게까지도 직접적으로 간 상태의 이상과 변화 등을 예측할 수 있는 생물학적 지표로 사용 가능할 것으로 사료된다.

재료 및 방법

실험동물의 처치

서울대학교 실험동물사육장에서 사육된 4 주령 웅성 ICR 마우스가 사용되었다. 실험군과 대조군은 마우스 각 6마리씩을 사용하였으며 실험군은 올리브 기름을 용매로 한 사염화탄소가 4 ml/kg의 양으로 5% (v/v) 혼합된 것을 복강에 투여되었으며 대조군은 같은 양만큼의 올리브 오일만을 복강에 투여하였다. 약물 투여 24시간, 72시간 후 마우스로부터 간을 적출하여 30분간 포도당에 담근 후 광자 측정 장치로 빛의 양을 측정하였다. 또한, 복부대정맥에서 혈액을 추출하여 3000 rpm, 10분간 원심 분리하여 혈장 (plasma)을 얻었다.

Biophoton 측정을 위한 실험장치와 방법

적출된 마우스의 간에서 나오는 광자의 개수를 측정할 수 있는 측정장치를 Fig. 1에 나타내었다. 암상자에 부착된 광전자 증배관 (photomultiplier tube: PMT)을 중심으로 고전압 1600 V 장치와 데이터 처리를 위한 컴퓨터로 구성되어 있으며 암상자 속에는 표본을 얹어 놓을 수 있는 용기와 열감지기 및 열선을 포함하고 있다. 사용된 PMT는 상온에서 작동되었으며 300 nm에서 650 nm의 영역에서 빛띠 응답을 갖는다. 각각의 측정시간 간격은 1초로 computer를 통해 실시간으로 관측하였으며, 표본에서의 생체발광 결과는 처음 background의 측정치를 뺀 수치로 나타낸다.

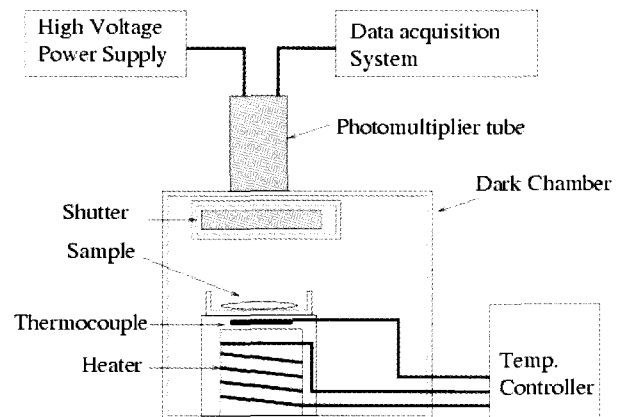
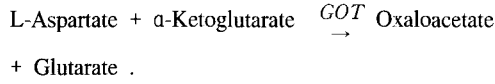


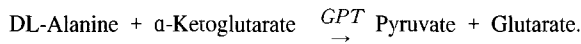
Figure 1. Schematic diagram of experimental setup.

GOT, GPT 측정

GOT와 GPT 활성 측정은 Reitman과 Frankel의 방법을 사용하여 측정하였다. GOT와 GPT 측정에 관련된 반응은 다음과 같다.



여기서 Oxaloacetate는 곧 Pyruvate로 변환된다. 또한 GPT의 경우는



위의 반응으로 생성된 Pyruvate 에 발색액 (2,4-Dinitrophenyl hydrazine)을 넣으면 히드라진(hydrazine)에 의한 복합물인 하이드라존(hydrazone)이 되고 여기서 0.4 N NaOH를 섞으면 등적색의 발색이 되며 이 발색농도를 Karmen이 지정한 조건에서 GOT 및 GPT 효소단위에 의해 작성된 표준검출선에 의해 GOT 및 GPT 효소단위를 정량 하였다(17).

37°C의 항온조에서 3분간 반응시킨 GOT, GPT 기질액을 1 ml씩 취하고 혈장 0.1 ml와 혼합하고 37°C의 항온조에서 GOT는 60분간, GPT는 30분씩 반응시켰다. 이후 발색액 (2,4-DNPH) 1 ml와 0.4 N NaOH 10 ml를 가하고 UV/Visible spectrophotometer (Beckman DU 70, 미국)를 이용하여 505 nm에서 흡광도를 측정하였다. 두 개의 트랜스아미나아즈 (transaminase) 측정 시약은 영동제약(주)에서 구입한 GOT, GPT Kit (Item No. BC101-O, BC101-P)를 사용하였다.

결과 및 고찰

적출된 간의 사진

사염화탄소에 의한 간조직의 손상을 측정하였다. 사염화탄소를 주사하고 24시간 경과 후 대조군과 실험군에서 적출한 간표면의 현미경 사진을 Fig. 2에 시사한다. 노출된 사진은 실체현미경 zoom stereo microscope (삼원과학)으로 확대된

것이다. 지방간이 된 마우스의 간은 직경 250 μm 내외의 쌀알무늬 형태가 있어 간 조직에 지방간을 일으킨 형태를 알 수 있다. 72시간 경과 후에도 그 무늬는 여전히 존재함을 알 수 있다.

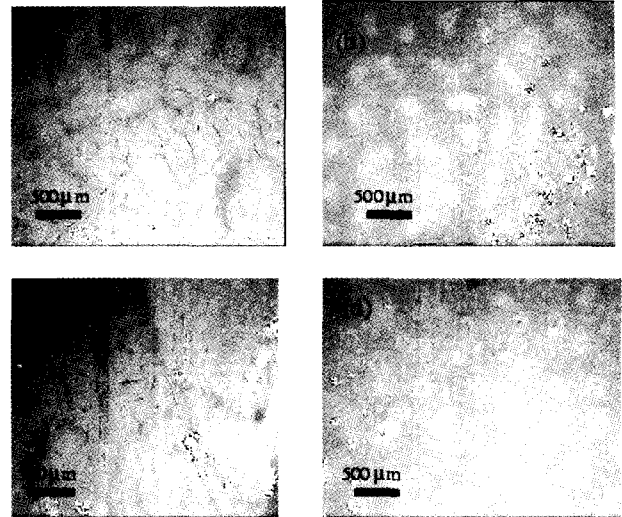


Figure 2. Pictures of the extracted mouse livers: (a) 24-hour control mouse liver, (b) 24-hour treated mouse liver, (c) 72-hour control mouse liver, and (d) 72-hour treated mouse liver.

GOT, GPT를 통한 효소활성에 따른 시간적 변화

GOT, GPT에 의한 효소활성도 측정결과를 Fig. 3에 나타낸다. 대조군은 시간에 따른 변화가 없었으며 CCl₄ 투여군은 GOT, GPT 활성도가 24시간 후 급격히 증가하고 72시간 후에는 대조군과 같은 값이 되었다. 본 연구 결과에서는 혈장 0.1 ml로 흡광도 측정 결과 표준검출선 영역 (0.3-0.7)을 넘어서게 되어, 혈장을 증류수에 40배로 희석한 것을 사용하였다. Fig. 3의 결과에서처럼 정상군과 처리군 간에는 현저한 차이를 나타내었다. 측정된 GOT의 효소단위가 24시간 정상군인 경우는 39.2 ± 1.9 Karmen인 데 비해 24시간 처리군은 7726.9 ± 152.9 Karmen로 나왔다. 72시간 정상군은 36.9 ± 9.8 Karmen이고 72시간 처리군은 40.8 ± 7.3 Karmen으로 측

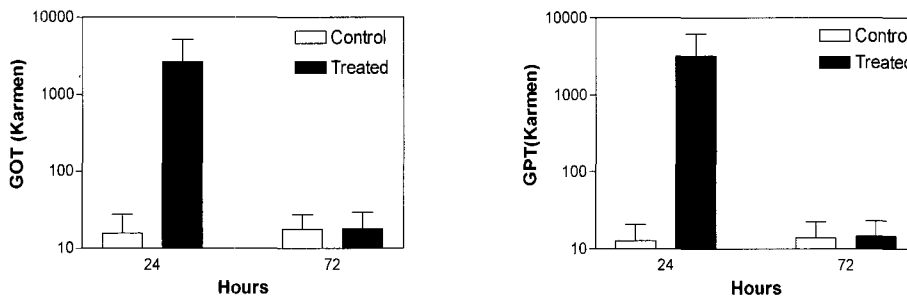


Figure 3. Changes in the glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and the glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities of plasma of CCl₄-induced mouse. The activity was expressed as Karmen units. In the case of treated groups, the enzyme activities showed maximal values in 24 hours after the injections and reduced to normal states in 72 hours.

정되었다. GPT의 경우, 24시간 정상군은 28.9 ± 3.1 Karmen 이고, 24시간 처리군은 9032.0 ± 536.0 Karmen으로 측정되었으며, 72시간 정상군과 처리군이 각각 30.9 ± 4.9 Karmen와 31.5 ± 6.6 Karmen이다.

생체광자 방출량의 변화

정상군과 CCl₄로 처리 대조군과의 생체광자 방출량을 24시간 후와 72시간 후로 나누어 각각 비교하였다. Table 1에서 나타낸 것과 같이 생체광자 방출량을 측정한 결과를 나타내었다. 생체발광 측정결과는 24시간 정상군이 29.5 ± 5.9 counts/min/cm²인 반면, 24시간 처리군에 대해서는 69.3 ± 21.2 counts/min/cm²로 정상군보다 2배 이상 높은 생체발광을 보였다. 또한, 72시간 처리군에 대해서는 37.0 ± 14.8 counts/min/cm²로 측정되었다. Fig. 4에서 대조군은 처리 시간에 따른 변화가 없었다. CCl₄ 투여군은 방출하는 광자의 양이 24시간 경과 후 급격히 증가하고 72시간 경과 후 대조군과 비슷한 값으로 돌아옴을 알 수 있었다. 정상군과 대조군 간의 unpaired *t*-test로 비교하면 $p = 0.001$ 로 유의한 차이를 보이고 있으나, *F*-test 역시 편차에 유의한 차이 ($p = 0.007$)를 나타내었다. 또한, 비모수적 검정인 맨-휘트니 검정법 (Mann-Whitney test)으로도 $p = 0.002$ 로 유의한 차이로 계산되었다.

Table 1. Data of biophoton emissions from mouse livers (The mice were divided into 4 groups and the values of biophoton emissions from each subjects were presented. The units were counts/min/cm²)

subject	24-h control	24-h treated	72-h control	72-h treated
1	28.6	47.9	31.7	20.1
2	32.1	55.1	33.9	51.0
3	19.2	61.7	38.4	54.0
4	27.7	65.3	42.8	37.1
5	32.8	78.5	14.2	40.4
6	36.4	107.2	17.6	19.2
average±S.D.	29.5±5.9	69.3±21.2	29.8±11.5	37.0±14.8

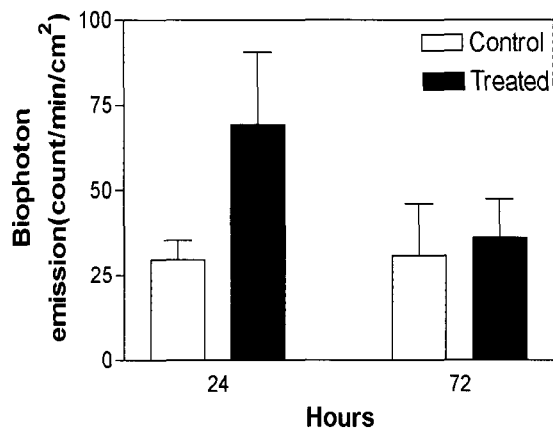


Figure 4. Data of biophoton emission from the mouse livers. The biophoton emissions from 24-hour treated livers were larger than those from 24-hour control livers. This figure shows strong correlation between the enzyme activities and biophoton emissions.

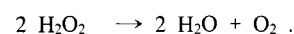
본 연구 결과에서 나타낸 것과 같이 사염화탄소에 의해 지방간이 유도된 간에서 나오는 빛의 양이 정상적인 간에서 나오는 빛의 양보다 약 2배 가량 많이 나온다는 것을 알 수 있었다. 동시에 GOT, GPT를 측정하여 얻은 효소 활성도가 측정된 빛의 양과 서로 양적 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 즉 지방간에서는 GOT와 GPT의 양이 높게 측정됨에 따라 빛의 양이 많이 검출 되었으며 GOT, GPT의 효소 활성량이 낮게 측정된 간에서는 빛의 양이 적게 측정되었다. CCl₄를 주사한지 24시간 후 GOT와 GPT 효소 활성량이 최대가 되고 3일 후 정상치로 돌아오게 되는데 CCl₄를 주사한지 3일 후 간으로부터의 생체 발광을 측정한 결과 정상 수치의 빛의 양이 측정되었다.

사염화탄소를 주사한 후 3일간의 GOT, GPT의 변화는 다른 지표의 변화량과도 상관관계가 있음이 알려져 있는데, malondialdehyde (MDA)와 superoxide dismutase (SOD)가 그 대표적인 지표라 할 수 있다. MDA의 간에서의 정상수치는 0.1 nmol/mg protein인데 사염화탄소 주사 후 24시간 경과하면 그 값이 0.5 nmol/mg protein이 되고 72시간 후에는 0.2 nmol/mg protein이 된다. SOD activity의 정상치도 2.7~3.0 units/mg protein인데 사염화탄소를 주사하고 24시간 경과 후 2.8 units/mg protein에서 72시간 경과 후 2.5 units/mg으로 떨어지게 된다(18).

위의 사실들을 바탕으로 지방간에서 광자가 나오는 원인을 몇 가지로 추측해 볼 수 있었다. GOT와 GPT의 값이 증가한 것을 통해 우리는 간접적으로 MDA의 양이 증가했음을 추측할 수 있었다. MDA의 생성이란 ROS (reactive oxygen species)의 생성을 의미한다. 또 SOD는 O₂⁻ radical을 제거하는 효소이기에 SOD activity의 감소는 O₂⁻ radical이 생성되었다는 또 하나의 지표라고 할 수 있다. 이 때 ROS의 생성기전은 아래와 같이 간의 약물대사 효소계 중에서 Phase I 대사인 산화반응을 고려할 수 있다.



먼저 NAD(P)H가 산소 분자 두 개를 만나면, NAD(P)⁺와 H⁺로 분해된다. 이 때 산소분자는 각각 1개의 전자를 얻어서 O₂⁻가 되는데 이 때 산소분자와 전자의 에너지가 O₂의 에너지보다 약 1 eV가 높다. 따라서 위의 과정에서 2 eV의 에너지가 방출된다. 이 2 eV의 에너지는 $E = hc/\lambda$ 에 의해 $\lambda = 620$ nm에서 얻게 되는데 이것은 가시광선 영역의 파장이 빛에 해당한다는 것을 의미한다. 이에 우리는 간의 산화정도에 따른 광자의 방출에 대한 가능성을 추측할 수 있었다. 생체광자의 방출의 원인으로 고려할 수 있는 원인으로 또 한가지 생각할 수 있는 것이 이미 생성되어 있는 H₂O₂가 Catalases와 반응하여 H₂O와 O₂로 나누어지는 기전이 있는데 그 반응은 다음과 같다.



이 식에서 역시 2 eV의 에너지가 방출되는데 이것 역시 마찬가지로 가시광선 영역의 빛의 파장이 된다. 생체광자의

방출에 대한 기원에 대해 아직까지 명확히 알려진 바는 없지만, 가시광선 영역의 빛 방출은 free radical reaction과 밀접한 연관이 있을 것으로 추측할 수 있다(19).

본 논문에서는 사염화탄소를 마우스에 투여하여 얻은 지방간 조직에서 나오는 극 미약 생체발광현상을 측정하고, 생화학적인 지표로 널리 사용되는 GOT, GPT 효소 활성을 함께 측정하여 극 미약 생체발광 측정결과에 의해 간의 상태를 쉽게 알 수 있는 지표로 이용될 가능성을 제시한 것으로 그 의의가 클 것으로 사료된다.

요 약

생체발광 (biophoton emission)의 측정기기를 이용하여 생체의 생리상태를 조사하는 연구가 활발해지고 있다. 본 논문에서는 사염화탄소에 의해 유발된 마우스의 지방간 조직에서 나오는 생체광자를 측정하였다. 올리브유와 올리브를 용매로 하는 사염화탄소를 혼합한 각각의 6마리로 구성된 두 개 군의 마우스에 복강투여 후 24시간, 72시간 후에 각각 간을 적출하여 생체광자를 측정하고, 또한 혈장을 분리하여 생화학적인 지표로 사용되는 트랜스아미네이즈 효소 활성도를 측정하였다. 실험결과는 정상적인 대조군의 경우, 생체발광이 29.5 ± 5.9 counts/min/cm²로 측정된 반면, 24시간 처리군에 대해서는 69.3 ± 21.2 counts/min/cm²로 정상군보다 2배 이상 높은 생체발광을 보였다. 또한, 72시간 처리군에 대해서는 37.0 ± 14.8 counts/min/cm²로 측정되어 생화학적인 지표로 사용되는 효소 활성도 결과와 밀접한 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

감 사

이 연구는 한국과학재단 (R01-2001-000-00023-0)과 산업자원부 (ITEP, A19-02-03)와 과기부 (NRL, M1-0302-00-007), 그리고 학진 BK21 프로그램의 지원을 받아 수행되었다. 이 연구에서 효소활성도 측정은 서울대학교 기초과학연구공동기 기원에서 수행되었다.

REFERENCES

- Smucker, E. A. (1975), The molecular basis of acute liver cell injury, In *Molecular pathology*, R. A. Good, S. B. Day, and J. J. Yunes, Eds., pp490-510, Spring field, IL.
- Kubic, V. L. and M. W. Anders (1980), Metabolism of carbon tetrachloride to phosgene, *Life Sciences* **26**, 2151-2155.
- Cheeseman, K. H., E. F. Albano, A. Tomasi, and T. F. Slater (1985), Biochemical studies on the metabolic activation of halogenated alkanes, *Environ. Health. Perspect.* **64**, 85-101.
- Slater, T. F. (1972), Free Radical Mechanisms, In *Tissue Injury*, J. W. Arrowsmith, Ed., pp118-163, Bristol, England.
- Recknagel, R. O. and E. A. Glende Jr. (1973), Carbon tetrachloride toxicity: An example of lethal cleavage, *Crit. Rev. Toxicol.* **2**, 263-297.
- Recknagel, R. O., E. A. Glende Jr., and A. M. Hruszkewycz (1977), New data supporting an obligatory role for lipid peroxidation in carbon tetrachloride-induced loss of aminopyrine demethylase, cytochrome P450 and glucose-6-phosphatase, In *Biological Reactive Intermediates: Formation. Toxicology and Inactivation*, D. J. Jollow, J. J. Kocsis, R. Snyder, and H. vainio Eds., pp417-418, Plenum, New York.
- Gurwitsch, A. G., S. Grabje, and S. Salkind (1923), Die Natur des Spezifischen Erregers der Zellteilung, *Arch. Entw. Mech.* **100**, 11-40.
- Zhuravlev, A. (1983), Biochemiluminescence, USSR Academy of Sci. and Moscow Soc. Nature **58**, Nauka Publ. House, Moscow, 210.
- Popp, F. A. (1976), Molecular Aspects of Carcinogenesis In *Molecular Base of Malignancy*, E. Deutsch, K. Moser, H. Rainer, and A. Stacher, Eds., pp47-55, G. Thieme, Stuttgart.
- Popp, F. A. and Y. Yan (2002), Delayed luminescence of biological systems in terms of coherent states, *Phys. Lett. A* **293**, 91-97.
- Choi, C., W. Woo, M. Lee, J. Yang, K. S. Soh, G. Yoon, M. Kim, C. Zaslowsky, and J. Chang (2002), Biophoton emission from the hands, *J. Korean Phys. Soc.* **41**, 275-278.
- Kim, T., K. Nam, H. Shin, S. Lee, J. Yang, and K. S. Soh (2002), Biophoton Emission from Fingernails and Fingerprints of Living Human Subjects, *Acupuncture E. Therapeutics Res. Int. J.* **27**, 85-94.
- Kim, J. D., J. Lim, B. Sung, and K. S. Soh (2003), Biophoton emission from rat liver, *J. Korean Phys. Soc.* **42**, 427-430.
- Jung, H., W. Woo, J. Yang, C. Choi, J. Lee, G. Yoon, J. Yang, and K. S. Soh (2003), Photon counting statistics analysis of biophotons from hands, *Indian J. Experimental Biology* **41**, 446-451.
- Jung, H., W. Woo, J. Yang, C. Choi, J. Lee, G. Yoon, J. Yang, S. Lee, and K.-S. Soh (2003), Left-right asymmetry of biophoton emission from hemiparesis patients, *Indian J. Experimental Biology* **41**, 452-456.
- Baek, G., B. Cheun, J. Lim, S. Yi, and K. Soh (2003), Biophoton emission of MDCK kidney cell with ROS(reactive oxygen species), *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **18**, 170-173.
- Reitman, S. and S. Frankel (1957), A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.* **28** 56-63.
- Nomura, T. and K. Yamaoka (1999), Low-dose γ -ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCl₄ in mouse liver, *Free Radical Biology Medicine* **27**, 1324-1333.
- Tilbury, R., J. Slawinski, A. Ezzahir, M. Godlewski, T. Kwiecinska, T. Rajfur, D. Sitko, D. Wienzuchowska, B. Kochel, Q. Gu, F. Popp, E. Lilius, P. Marnila, R. van Wijck, and J. van Aken (1992), Stress and disease, *Experientia* **48**, 1029-1102.