Journal of Natural Science
Pai Chai University, Korea
Vol. 10, No. 1: 39~47, 1997

대식세포의 화학주성과 세포내 칼슘과 Actin의 증가에 미치는 인삼사포닌 성분의 영향

신은경, 김세창
배재대학교 생명과학부 생물학전공

Potential Effects of Ginseng Saponin Fractions on Macrophage Chemotaxis and Intracellular Calcium and Actin Mobilization

Eun-Kyoung Shin and Sei-Chang Kim
Department of Biology, Division of Life Science, Pai Chai University, Taejon 302-735, Korea

본 실험은 대식세포 화학주성과 세포내 칼슘과 F-actin 증가에 대한 인삼사포닌 분획의 영향을 알아보기 위하여 수행되었다. 여러 가지 인삼사포닌 분획을 처리한 복강 대식세포는 대조군에 비해 화학주성이 28.4-71% 증가하였다. 세포내에 유리된 칼슘의 양은 65%까지 증가하였으며, NBD- phallacidin을 처리한 세포에서 F-actin의 양은 10% 증가하였다. 칼슘이나 PMA로 할성화시키고 사포닌 분획을 처리하였을 때, F-actin의 양은 현저하게 증가하였으며 이러한 현상은 2분까지 지속되었다. 이러한 결과로 보아 인삼사포닌 분획이 chemoattractant로 작용할 수 있을 것으로 생각된다.

In the present study, we have tested the potential effects of ginseng saponin fractions on macrophage chemotaxis and intracellular calcium and F-actin mobilization. Peritoneal macrophages treated with various ginseng saponin fractions showed 28.4% to 71% of increasement of chemotaxis as compared with untreated cells. The activity of intracellular calcium mobilization was increased up to 65% by treatment with saponins, and F-actin content also increased 10% in the cells loaded with NBD-phallacidin. When the cells were activated with calcium or PMA and treated with saponin fractions, the intracellular F-actin content increased significantly and prolonged for 2 minutes. These results suggest that ginseng saponin fractions might be a chemoattractants.

Key words : Ginseng saponin, chemotaxis, calcium, F-actin

I. 서 론

인삼의 사포닌 성분은 고대로부터 약리활성물질로 알려져 있고 현재도 많은 연구가 진행 중이다. 사포닌 성분은 양(sheep)의 적혈구에 대한 혈중항체의 양을 증가시키고[1] 혈장 단백질의 생합성을 증가시키며[2] ginsenoside Rg1은 mouse에서 체액성 및 세포매개 면역반응을 조절하며[3] panaxytriol이 몇 종의 인체 암세포와 악성 백혈병 세포의 성장을 억제시키며 화학적 발암물질에 의한 암발생을 억제한다[4]고 보고되었다. 그리고 지연성 신경세포의 파괴를 억제하며 신경보호물질(neuroprotective molecules)로 작용한다고 보고되었다[5]. 그러나 인삼사포닌 성분이 면역반응을 조절한다는 것은 연구가 되었으나 구체적으로 각 면역세포에 미치는 영향에 대해서는 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 구체적으로 면역세포인 대식세포의 화학주성에 인삼사포닌 성분이 어떠한 영향을 미치는지 알아보았다. 대식세포는 단핵구의 형태로 분화되었다가 혈류로 나와 성숙한 대식세포로 분화가 되어 protozoa같은 물질을 섭식하여 파괴한다. 화학주성은 세포내의 기본적인 면역반응으로 이 반응이 증가하기 위해서는 막표면 수용체, 2차 신호전달물질, 그리고 세포골격의 연합된 작용에 의하여 일어난다[6-7]. Actin은 가장 중요한 세포골격 물질로 actin의 중합화에 의해 세포가 활성화되고[8-9], 칼슘 이온이 actin의 중합화를 활성화시키기 때문에 칼슘 농도에 의존적이다[10-12]. Protein kinase C(PKC)의 활성과 세포질내의 칼슘의 증가가 actin중합의 개시와 같이 일어나며 최고 농도로 F-actin의 양이 증가하기 위해 이러한 세포내의 변화가 필요하다. 따라서 인삼사포닌 성분이 대식세포의 화학주성을 증가시켰다면 세포내 칼슘의 농도가 증가하여 세포 골격 단백질인 actin과 gelsonin에 의한 허족의 확장이 일어난 것으로 사료하여 사포닌 성분이 세포내 칼슘과 actin의 농도에 어떠한 영향을 미치는지 알아보았다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

표준사료로 사육한 4-5 주령의 ICR계의 생쥐를 암수 구별 없이 사용하였다.

2) 시약

인삼분획물(total saponin(C.S), diol saponin(D.S), triol saponin(T.S))은 한국인삼연초연구소에서 제공받아 사용하였다.

2. 실험방법

1) 복강 대식세포(peritoneal macrophage, PM)의 분리

생쥐를 경추이탈로 희생시킨 후 복강 내에 Phosphate Buffered Saline(PBS, pH 7.4)을 주입하여 수초간 흔들어 준 후 주입한 PBS를 회수하였다. 4℃에서 250 g로 10분간 원심분리하여 침강시킨 후 상등액을 버리고 동일한 방법으로 2회 더 세척하였다.

5×106 cells/ml개의 복강세포를 배지에 부유시켰으며, viability는 trypan blue를 사용하여 95% 이상인 것을 확인하였다.

2) 화학주성 측정

48-well microchemotaxis chamber(Neuro Probe)를 이용하여 측정하였다. HBSS와 2% bovine serum albumin에 용해된 28 ㎕의 인삼사포닌 시료를 lower chamber에 채우고 polycarbonate filter(pore size, 5㎛)의 반질거리는 부분이 lower chamber 쪽으로 향하게 장치하고, 고무 가스켓을 놓은 다음에 upper chamber를 장치한 후 이 chamber를 37℃, 5% CO2 배양기에서 15분간 전배양(preincubation) 시켰다. 50 ㎕의 세포 부유액(2.5×106 cell/ml)으로 upper well을 채우고 2시간 배양시킨 후 chamber를 분리하여 filter의 윗 부분에서 이동하지 않은 세포를 제거하였다. Polycarbonate filter를 Diff-Quik 염색용액으로 염색한 후 유리 덮개에 부착시켜 현미경으로 관찰하였다(× 400). 이때 유침 오일(immersion oil)로 봉입하여 10개 이상의 immersion oil field(OIF)에서 관찰하였다.

3) Ca^{2+}의 측정

세포내 칼슘의 측정은 dual excitation monochromator를 이용한 luminescence spectrometer를 이용하여 측정하였다. 대식세포를 1% FBS가 첨가된 배지(HBSS)에 2 uM Fura-2AM(stock 10㎎/㎖ in DMSO)을 처리하여 30분간 부하(loading)

한 후 배지로 두 번 씻어 주고 같은 배지에 부유시킨다(2×106 cells/㎖). 부유한 세포를 온도가 일정하게 유지되는 cuvette에 넣고 계속 저어주면서 사포닌성분을 처리한 후 세포내부의 칼슘의 농도 변화를 측정하였다. 세포 내부의 이온화된 유리칼슘의 농도는 emission 510 nm에서 excitation 340 nm의 actin에 bound 된 값에서 380 nm의 unbound 값을 나누어 보았을 때의 값을 대조구와 비교하여 백분율로 나타내었다.

4) Filamentous Actin의 측정

대식세포를 분리하여 배지(5% FBS 가 첨가된 RPMI)에 2시간 동안 배양시킨 후 혈청이 포함되지 않은 배지로 3번 씻었다. 혈청이 없는 배지로 1시간 배양시킨 후 2번 씻어 주고 다시 동일 배지에서 1시간 배양하였다. 인삼사포닌 성분(10-4%)을 처리한 후 차가운 PBS로 빨리 씻어 주었다. 얼음 위에서 3.7% formaldehyde로 30분간 고정시킨 후 0.2% Trioton-X100에서 30분간 permeabilization 시켰다. 0.165 uM NBD-Phallacidin으로 1시간 동안 염색한 후 PBS로 세 번 씻었다. 1.5 ml methanol로 1시간 동안 bound NBD-Phallacidin을 추출한 후 excitation 465 nm, emission 535 nm로 luminescence spectrometer로 측정한다. 이때, 인삼사포닌 성분을 처리하지 않은 것에 대한 처리한 실험군의 fluorescence intensity의 비를 계산하여 relative fluorescence index로 삼았다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

SPF(specific pathogen free)에서 사육한 ICR mouse의 대식세포를 복강에서 분리했을 때 위족을 내지 않고 크기가 작은 대식세포로의 분화가 덜 된 monocyte에 가까웠다.

화학주성은 화학주성 농도차(chemotaxic gradient)에 의해 일어나는 작용으로 화학주성물질이나 성장조절물질에 의한 초기반응이다[13]. 그러나 이 화학주성의 신호전달체계는 아직 잘 알려져 있지 않다. 대식세포의 화학주성을 살펴보았을 때 (Table 1) 10개의 immersion oil field(OIF)에서 사포닌 성분을 처리하지 않은 대조군은 평균 14개의 세포가 관찰되었다. 그러나 사포닌 성분을 처리했을 때 C.S(total saponin)처리구와 D.S(diol saponin) 처리구는 대조구에 비해 4, 5개씩 각각

Table 1. Effect of ginseng saponin fractions on the migration of peritoneal macrophages

Migration (cells /10 OIF)		n
Control	14 ± 5	4
C.S.	19 ± 7	4
D.S.	18 ± 4	3
T.S	24 ± 10	4
Calcium	15 ± 6	3
PMA	26 ± 12	4

Cells were incubated with RPMI + 10% FBS (Control), C.S(10-3%), D.S(10-3%), T.S(10-3%), Calcium(10 uM), PMA(1 uM), Values are means ±SE for n experiments. OIF, oil immersion fields.

증가하였고, T.S(triol saponin)는 10개의 세포가 더 이동하여 대조구에 비해 71%증가한 것으로 나타났다. 배지에 10 uM의 칼슘을 처리하여 배양시켰을 경우 대조구와 비슷한 값을 보였고 PKC를 활성화시키는 PMA(phorbol 12-myristate -13-acetate)를 처리하였을 경우 대조구에 비해 12개(85%)가 증가하였다. 이것으로 사포닌 성분이 대식세포의 화학주성을 증가시키는 경향이 있는 것으로 나타났고 배양액에 칼슘을 처리하였을 경우는 대식세포의 화학주성에 영향이 없는 것으로 나타났으며 PKC의 활성에 의해 대식세포의 화학주성이 증가하는 경향이 있는 것으로 나타났다. 따라서 사포닌 성분이 대식 세포의 면역 반응에 효과가 있는 것으로 사료되어 세포내의 칼슘과 actin의 증가에 영향이 있는 지 알아보았다.

세포질내의 actin의 양이 증가하고 세포골격의 재배열이 일어나서 화학주성이 증가하게 되고[14], 이 작용은 칼슘 농도에 의존적이라고 보고되었으며[10-12] 핵이 새로운 세포골격의 재배열에 주형으로 작용하기 위해서는 5 nM 이상의 유리 칼슘이 필요하고 200 nM 이상의 칼슘이 존재할 때 활성이 최대가 된다고 한다[15]. 위의 실험에서 대식세포의 화학주성이 인삼사포닌 성분을 처리하였을 때 유의있게 증가하였으므로 사포닌 성분이 세포내의 칼슘을 증가시켜 actin의 양이 증가하는가를 알아보았다.

Fura-2AM으로 세포를 loading한 후 luminescence spectrometer cuvette에 세포를 넣고 저어

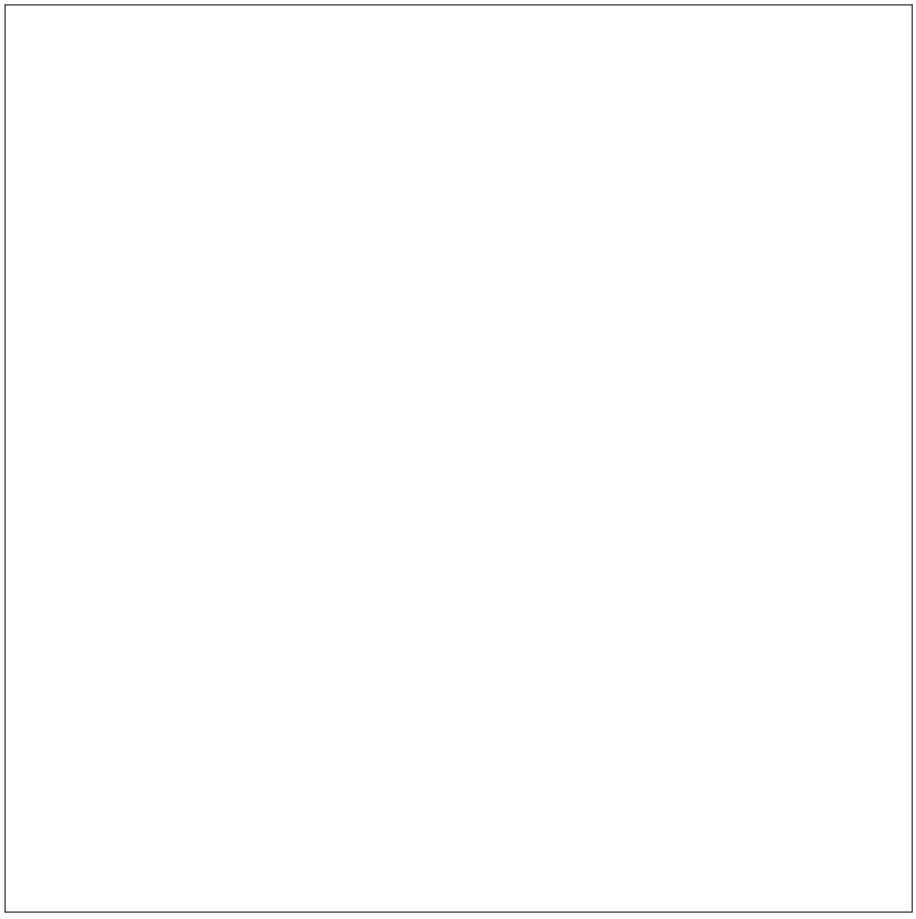

Fig 1. Effect of ginseng saponin fractions on intracellular calcium mobilization in macroph ages. Cells were loaded with fura-2AM for 30 min. And then ginseng saponin fractions(10-4%), PMA(1 ㎛) and calcium(10 ㎛) were taken and intracellular calcium mobilization was measured by luminescence spectromater and plotted against time.

주면서 사포닌 성분을 처리했을 때 세포내의 칼슘의 증가가 일어나는 지 알아보았다(Fig. 1).

세 가지 사포닌 성분을 처리하였을 경우 세 가지 성분에서 거의 비슷한 경향을 나타내었다. C.S 처리구의 경우 60초에 대조구에 비해 83%까지 증가하였고 3분 동안 60%이상 칼슘의 양이 증가하였다. D.S 처리구의 경우는 60초에 68%로 최대의 활성치를 보이다가 감소하여 30%이상의 수준을 유지하였으며 T.S 처리구의 경우는 100초에 최고 79%의 활성을 보였으며 그 이후의 시간은 C.S 처리구와 비슷한 경향을 보였다. 이것으로 인삼사포닌 성분이 대식세포내의 칼슘의 증가를 유도하는 것으로 나타났고 D.S 처리구보다는 C.S 처리구와 T.S 처리구가 더 효과가 있는 것으로 나타났다.

다음으로 세포내의 actin의 증가가 일어나는가를 각 시간별로 사포닌 성분 처리한 후, 반응을 정지시키고 NBD-phallacidin으로 loading한 후 methanol로 추출하여 luminescence spectrometer로 측정하였다(Fig. 2). 사포닌 성분을 처리하지 않은 대조군에 대한 사포닌 처리군의 relative fluorescence intensity로 측정하였다.

Actin의 양은 사포닌 성분 처리 후 50초 후부터 증가하여 D.S 처리구는 60초에, C.S 처리구와

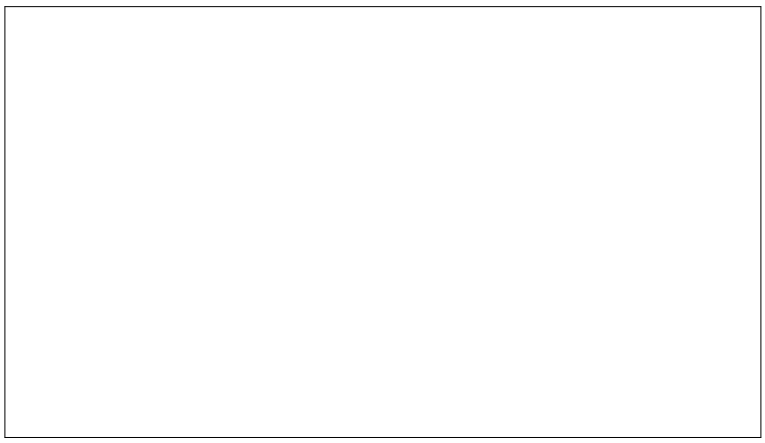

Fig. 2. Effect of ginseng saponin fractions on F-actin content in macrophages. Cells were exposed to ginseng saponin fractions(10-4%) for a indicated times, and loaded with NBD-phallacidin and extracted with methanol. The relative F-actin content was measured by luminescence spectrometer.

D.S 처리구는 70초에 최대의 활성치를 보이고 80초 후부터는 대부분 감소하는 경향을 보였다. D.S 처리구보다 C.S 처리구와 T.S 처리구의 값이 10%이상 증가하였으며 C.S 처리구는 대조구에 비해 35% 세포질 내의 actin의 양이 증가하였다. 배양액에 칼슘을 처리하였을 경우는 대조구에 비해 그 값이 최고 25%까지 증가하였고, PMA의 경우는 20%까지 증가하였다. 사포닌 성분을 처리하였을 경우와 비교했을 때 칼슘과 PMA를 처리하였을 경우는 2분 이상이 지나도 세포질내의 칼슘의 양이 기저수준으로 떨어지지 않았다.

PMA를 10분간 전처리하고 사포닌 성분을 처리

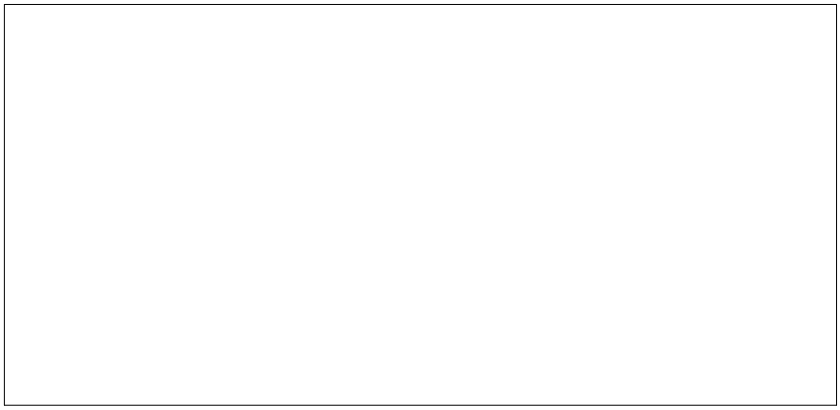

Fig. 3. Effect of ginseng saponin fractions on PMA(1 uM)-induced F-actin content in macrophages. Cells were preincubated with PMA for 10 min. and exposed to ginseng saponin fractions(10-4%) for a indicated times, and loaded with NBD-phallacidin and extracted with methanol. The relative F-actin content was measured by luminescence spectrometer.

하였을 경우 세포내의 F-actin의 양을 살펴보았다 (Fig. 3).

PMA를 사포닌 성분과 같이 처리하였을 경우는 사포닌을 처리하지 않은 대조구에 비해 C.S 처리구와 T.S 처리구는 90초에 최고로 증가하였고 D.S 처리구의 경우는 180초에 최고치를 나타내었다. PMA를 사포닌 성분과 같이 처리하였을 경우는 300초가 지나도 대조구에 비해 모두 70% 이상 증가한 것으로 관찰되었다. 이것으로 PMA를 처리하여 PKC를 활성화시켰을 경우 오랫동안 활성이 유지되는 것으로 관찰되었다.

그리고 칼슘과 사포닌 성분을 처리하였을 경우의 세포질내 actin의 증가를 살펴보았다(Fig. 4).

칼슘과 사포닌 성분을 처리하였을 경우는 사포닌 성분만을 처리하였을 경우의 최고치 보다 C.S 처리구의 경우 5%, D.S 처리구는 7%, T.S 처리구는 2%로 증가하였다. 칼슘을 처리하였을 경우 사포닌 성분만을 처리하였을 경우와 차이가 없었다.

세포질 내의 칼슘의 증가가 식세포활동과 화학주성을 증가시킨 다는 결과 보고가 있는 반면 세포질내에 기본적인 유리 칼슘이 존재하면 세포질내의 칼슘의 증가 없이도 이러한 면역반응이 일어나며 20.21 actin 중합을 유도하는 데에도 칼슘의 증가가 필요하지 않다는 보고[17]가 있다.

인삼사포닌 성분이 각각의 면역세포에 미치는 영향에 대해서 보고된 바가 없다. 그러나 Silene jenissenis의 뿌리에서 분리한 acylated-triterpene saponins이 granulocyte의 식세포활동을 유의성 있게 증가시킨다고 보고된 바 있다[15]. 사포닌 성분은 많은 식물에서 분리되는 steroid와 비슷한 구조를 가지고 있는 물질로 여러 생리 실험에서 막의 투과성을 높이거나 세포를 파괴하는 계면활성제로 이용되기도 한다[16-18]. 인삼사포닌 성분 역시 고농도(0.1% 이상)에서 대식세포를 파괴하는 경향이 있는 것으로 나타났다. 그러나 적당량을 처리하였을 경우 신체의 여러 작용을 활성화시키는 것으로 여러 보고서에 보고되었으며 근래에는 신경효과가 있는 것으로 보고되었다[5]. Table 1에서 사포닌 성분을 처리하였을 경우 대식세포의 화학 주성을 T.S의 경우는 대조구에 비해 10개의 세포가 더 이동하였고 나머지 두 성분도 화학주성을 증가시키는 경향이 있는 것으로 나타났다. 화학주성은 화학주성 농도차에 의해 일어나는 작용으로 새로운 세포골격 단백질인 actin 합성과 재배열이 일어난다[14]. 이러한 반응은 칼슘 농도에 의존적이고 세포내에 PKC의 활성화와 함께 일어난다[19].

Fig. 4. Effect of ginseng saponin fractions and calcium on F-actin content in macrophages. Cells were incubated with calcium(10 ㎛) and exposed to ginseng saponin fractions(10-4%) for a indicated times, and loaded with NBD-phallacidin and extracted with methanol. The relative F-actin content was measured by luminescence spectrometer.

Table 1에서 대식세포 배양액에 칼슘을 처리하였을 경우 화학주성에 거의 영향이 없는 것으로 나타났다. 이것은 세포밖의 칼슘이 세포내로의 이동이 없었거나 칼슘이 화학주성을 증가시키는데 영향이 없는 것으로 사료된다. 최근의 보고에 의하면 세포내의 칼슘의 증가 없이도 세포의 이동이 일어나며[20-23], 세포내의 칼슘을 chelation시켜도 이동의 속도만 느릴 뿐 세포의 이동에는 관련이 없는 것으로 보고되었다. 그리고 PKC의 활성 물질인 PMA를 처리하였을 경우 화학 주성이 대조구에 비해 85%증가하였다. 화학주성이 최대로 활성화되기 위해서는 PKC의 활성이 필요하다고 보고되었다. 사포닌 성분이 화학주성을 증가시켰다면 세포내에 어떠한 반응을 일으켰는가를 세포내의 칼슘과 actin을 측정하여 알아보았다. 사포닌 성분은 세포질내의 칼슘을 최고 60%이상 증가시키는 경향이 있는 것으로 나타났다(Fig. 1). 그리고 세포내의 actin의 양을 C.S 처리구와 T.S 처리구의 경우는 증가시키는 경향이 있는 것으로 나타났다(Fig. 2). 그러나 1분이 지나면 다시 세포가 기저상태로 돌아오는 것을 측정하였고 사포닌 성분 대신 칼슘과 PMA를 처리하였을 경우 actin을 사포닌과 비슷하게 증가시키는 경향이 있었고 사포닌 처리군보다 actin의 증가가 오랫동안 유지되었다. 칼슘과 같이 사포닌 성분을 처리하였을 경우 사포닌 처리군과 actin양의 최고치가 비슷하였으나 오랫동안 반응이 유지되는 경향을 보였다.

PMA를 10분간 전처리한 후 사포닌을 처리하여 세포내 actin 양의 변화를 살펴보았을 때(Fig. 3) 세 가지 사포닌 성분 처리군에서 actin의 양이 유의성 있게 증가하였으며 반응이 3분 이상 유의성 있게 지속되었다. 이상의 실험에서 사포닌 성분은 세포내의 칼슘을 증가시키는 경향이 있고 세포질내의 actin 양을 일시적으로 증가시키는 경향이 있다. 그러나 이것으로 사포닌 성분이 대식세포의 화학주성을 증가시켰다고 유추할 수 없다. 칼슘과 PMA를 처리하였을 경우 세포내의 actin의 양이 증가하였지만 화학주성 측정에서 배양액에 칼슘을 처리하였을 경우 주성이 증가하지 않았으며, PMA의 경우는 유의성 있는 증가가 있었지만 세포내의 actin 양에는 영향이 없었다. 칼슘과 사포닌 성분을 같이 처리하였을 경우(Fig. 4) 세포내의 actin의 증가는 사포닌 성분 처리군과 비슷한 활성이었으나 반응이 좀 더 오래 유지되었다. 이상의 결과에서 칼슘과 PMA는 세포내의 actin을 증가시키는데 효과가 없는 것으로 나타났다. 칼슘은 actin의 합성과 재배열에 필요하지만 극히 소량만으로도 생리적 반응을 촉진할 수 있다고 보고되었다[8].

세포 형태의 변화와 actin 중합의 증가는 화학주성물질이나 성장조절물질에 의한 세포의 초기반응이다. 그러나 이 화학주성반응의 신호전달체계는 아직 잘 알려져 있지 않다. 그러나 inositol triphosphate(IP3)에 의한 세포질내의 칼슘의 증가는 actin의 중합화에 필요하지 않다. 그리고 diacylglycerol에 의한 actin nucliation activity에 PKC와 칼슘의 증가가 관련이 없는 것으로 보고되었다[24].

그러나 사포닌 성분을 처리하였을 경우 세포내의 칼슘의 양이 증가하였다. 이것은 사포닌 성분이 막의 투과성을 증가시켜 세포 외부에서 내부로의 칼슘의 유입을 증가시킨 결과로 사료된다. 그러나 이렇게 증가된 칼슘이 세포내의 actin 양에는 영향이 없는 것으로 나타났다. 그러나 PMA와 같이 사포닌 성분을 처리 하였을 경우 세포내의 actin 의 양을 증가시키는데 synergistic effect가 있는 것으로 사료된다.

화학주성이 증가하기 위해서는 새로운 actin 단백질의 합성이 아니라 actin의 재배열이 중요하다는 보고가 있다[15]. 본 실험에서도 사포닌 성분이 actin의 증가에는 별 영향이 없지만 화학주성을 증가시킨 것으로 보아 새로운 actin 단백질의 합성에 관여한 것이 아니라 actin의 재배열에 영향이 있는 것으로 사료된다. PMA만으로는 actin의 양에 영향이 없지만 사포닌 성분을 처리하여 세포질 내에 칼슘의 양을 증가시키고 PMA에 의한 PKC 활성을 증가시켰을 경우 actin의 양의 증가에 영향이 있는 것으로 나타났다. 이상의 실험에서 사포닌 성분은 대식세포의 화학주성과 세포질내의 칼슘의 양을 증가시키는 경향이 있다. 그리고 PKC의 활성이 있는 경우 세포질내의 actin의 양을 유의성 있게 증가시켰다.

감사의 말씀

본 논문은 1996년도 배재대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 수행된 것임.

V. 참 고 문 헌

1. Singh VK, Agarwal SS, Gupta BM. 1984. Immunomodulatory activity of *Panax ginseng* extract. *Proc. 4th Intl. Ginseng Symposium*. p. 225.
2. Hikokichic O, Hia S, Okada Y, and Yokozawa T. 1975. Studies on the biochemical action of ginseng saponin; Purification from ginseng extract of the active components stimulating serum protein biosynthesis. *J. Biochem*. 77: 1057.
3. Katano M, Yamamoto H, Matsunaga H. 1988. Efficiency of *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) in antioxidant protection against myocardial ischemia and reperfusion injury. *Biochem Mol Biol Int*. 35: 125.
4. **윤택구, 최수용**. 1990. **인삼복용에 의한 각종 암의 예방 효과**. **국제 한국 인삼학술회 초록**, p. 68.
5. Wen TC, Yoshimura H, Matsuda S, Lim JH, Sakanaka M. 1996. Ginseng root prevents learning disability and neuronal loss in gerbils with 5 minute forebrain ischemia. *Acta Neuropathol Berl*. 91:15.
6. Stossel T. From signal to pseudopod. How cells control cytoplasmic actin assembly. 1989. *J. Biol. Chem*. 264: 18261.
7. Synderman R., Smith CD, Verghese MW. 1986. Model for leukocyte regulation by chemo- attractant receptors: Roles of guanine nucleotide regulatory protein and polyphosphoinstide metabolism. *J. Leukoc. Biol*. 40: 785.
8. Francesco DV, Meyer BC, Greenberg S, and Silverstein SC. 1988. Fc receptor-mediated phagocytosis occurs in macrophages at exceedingly low cytosolic Ca2+ levels. *J. Cell Biology*. 106: 657.
9. Howard TH, Meyer WH. 1984. Chemotactic peptide modulation of actin assembly and locomotion in neutrophils. *J. Cell. Biol*. 98: 1265.
10. Hayashi K, Fujio Y, Kato I, Sobue K. 1991. Structural and functional relationships between h- and l-caldesmons. *J. Biol. Chem*. 266: 355.
11. Southwick LA, Stossel TP. 1983. Contractile proteins in leucocyte function. *Semin. Hematol*. 20: 305.
12. Stossel TP, Chaponnier CR, Ezzell M, Hartwig JH, Janmey PA, Kwiatkowski DJ, Lind SE, Lind DB, Smith DB, Southwick FS, Yin HL, Zanes KS. 1985. Nonmuscle actin-binding proteins. Annu. Rev. *Cell Biol*. 1: 353.
13. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. 1991. Cellular and Molecular Immunology. W. B. Saunders company, U.S.A. 360-363.
14. Kerri SW, Lin JL, Wamboldt DD, Lin, JJ. 1994. Over-expression of human fibroblast caldesmone fragment containing actin-, Ca++/calmodulin-, and tropomyosin-binding domains stabilizes endogenous tropomyosis and microfilaments. *J. Cell. Biology*. 125: 359.
15. Hartwig JH, Janmey PA. 1989. Stimulation of a calcium-dependent actin nucliation activity by phorbol 12-myristate 13-acetate in rabbit macrophage cytoskeletons. *Biochemica et Biophysica Acta*. 1010: 64.
16. Lacaille Dubois MA, Hanquet B, Cui ZH, Lou ZC, Wagner H. 1997. Jennisseensosides C and D, biologically active acylated triterpene saponins from *Silene jenisseensis*. *Phytochemistry*. 45: 885.
17. Stevens MG, Olsen SC. 1993. Comparative analysis of using MTT and XTT in colorimetric assays for quantitating bovine neutrophil bactericidal activity. *J Immunol Methods*. 157: 225.
18. Vicker MG, Bultmann H, Glade U, Hafker T. 1991. Ionizing radiation at low doses induces inflammatory reactions in human blood. Radiat Res. 128: 251.
19. Yang YH, Hutchinson P, Littlejohn GO, Boyce N. 1994. Flow cytometric detection of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *J Immunol Methods*. 172: 77.
20. Francesco DV, Meyer BC, Greenberg S, Silverstein SC. 1988. Fc receptor-mediated phago- cytosis occurs in macrophages at exceedingly low cytosolic Ca2+levels. *J. Cell*

Biology. 106: 657.

21. Ronald LS, Packman TJ, Abboud CN, Lichtman MA. 1993. Signal transduction and the regulation of actin conformation during myeloid maturation. *Blood*. 77: 363.
22. Steven G, Chang P, Silverstein SC. 1993. Tyrosis phosphorylation is required for Fc receptor- mediated phagocytosis in mouse macrophages. *J. Exp. Med*. 177: 529.
23. Kuijpers TW, Hoogerwerf M, Roos D. 1992. Neutrophil migration across monolayers of resting or cytokine-activated endothelial cells. Role of intracellular calcium changes and fusion of specific granules with the plasma membrane. *J Immunol*. 148:72.
24. Aneesa S, Elizabeth JL. 1992. Diacylglycerol -stimulated formation of actin nucliation sites at plasma membranes. *Science*. 256: 245.