

Epigallocatechin-3-gallate의 사람 비점막 섬유아세포 케모카인발현에 대한 효과

조정제¹ · 임강현^{2*}

¹경희대학교 의과대학, ²우석대학교 약학대학

Effect of Epigallocatechin-3-gallate on Expression of Chemokines in Human Nasal Mucosal Fibroblasts

Jeong-Je Cho¹ and Kanghyun Leem^{2*}

¹College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701,

²College of Pharmacy, Woosuk University, Chonbuk 565-701, Korea

Abstract – Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), the main polyphenol component in green tea, inhibits angiogenesis, urokinase, and metalloproteinases, and EGCG also has the antioxidative property. Recent reports proposed that EGCG may modulate the immune response on allergy or asthma. Human nasal mucosal fibroblasts are a rich source of cytokines, inflammatory mediators, and chemokines. Chemokines are important for the recruitment of leukocytes to sites of infection, which is essential in host defense. The objective of this study was to investigate the effect of EGCG on the expression of the chemokines such as RANTES (regulated upon activation, normal T cell expressed and presumably secreted), eotaxin, and interleukin-8 (IL-8) in human nasal mucosal fibroblasts after stimulation with cytokines like IL-4, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interferon- γ (IFN- γ). To detect the expression of chemokine genes, RT-PCR was performed. Expressions of RANTES, eotaxin, and IL-8 mRNA stimulated with IL-4 and TNF- α were increased, respectively, while the expression of those genes incubated with IFN- γ was similar pattern compared to control group. Analyses of chemokine genes of cells pretreated with EGCG showed that the expressions of eotaxin, and IL-8 genes stimulated IFN- γ were higher compared with those not pretreated with EGCG.

Key words – Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), Cytokines, Chemokines, Human nasal fibroblasts

녹차는 전통적으로 고도(苦茶), 도(茶), 명(茗) 혹은 천(筵) 등으로 표기되었고 신농식경(神農食經)에 “영인유력(令人有力), 열지(悅志)”, “주누창(主癩瘡), 이소변(利小便), 소수(少睡), 거담갈(去痰渴), 소숙식(消宿食)”라고 수재된 이래 본초발휘(本草發揮)의 머리와 눈을 맑게 하는 효능(淸頭目), 탕액본초(湯液本草)에서 중풍(中風), 뇌와 두면부(頭面部)의 화열(火熱) 대사이상으로 발생한 안질환, 두통, 수면과다증 등의 증상을 치료하는데 사용되었다.

녹차의 기원은 차과(茶科)에 속한 차(茶) (*Thea sinensis* L.)의 어린잎 또는 짙은 건조한 것으로, 성미는 고(苦)·감(甘), 양(涼)하고, 심(心), 폐(肺), 위(胃), 신경(腎經)에 귀경하며, 청두목(淸頭目), 제번갈(除煩渴), 소식(消食), 화담(化痰), 이뇨(利尿), 해독(解毒)의 효능으로 두통(頭痛), 목혼(目昏), 목적(目赤), 다수선매(多睡善寐), 감모(感冒), 심번구갈(心煩口渴), 식적(食積), 구취(口臭), 담천(痰喘), 전간(癩癧), 소변불리(小便不利), 사리(瀉痢), 후종(喉腫), 창양옹종(瘡瘍癰腫), 수화탕상(水火燙傷) 등 증상을 치료한다.¹⁻⁶⁾

녹차의 성분은 caffeine이 1-5%, theobromine, theop-

*교신저자 : Fax : 063-290-1567

hylline, xanthine이 있고, polyphenol류인(-)-epigallocatechin gallate, epigallocatechin, epicatechin gallate, epicatechin, (-)-gallocatechin gallate, catechin, catechin gallate, gallic acid, theaflavin, isotheaflavin 등이 있다.⁷⁾

약리연구로는 항산화작용, 항암작용, 심혈관계에 대해 혈중 지질 감소작용, 죽상동맥경화증 예방작용, 혈액순환촉진작용, 소화기계에 대한 급만성장염, 세균성 이질 치료작용 등이 보고되어 있다.^{6,7)}

암 발생과 감염 등에 녹차의 효능은 역학적 조사와 실험적 연구를 통하여 잘 알려져 있다. 또한 (-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG)는 녹차의 polyphenol 주성분으로 항산화 작용이 있음이 알려져 있으며,⁸⁾ urokinase, angiogenesis, metalloproteinase 및 염증작용을 억제한다고 알려져 있다.⁹⁾

최근 백혈구의 화학 주성(chemotactic activity)을 보여주는 구조적으로 cytokines과 관련된 물질들이 발견되었으며 이러한 화학주성 cytokines를 chemokines이라 명명하였으며 염증반응에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다. 또한 이들은 여러 생물학적 기능에 다양하게 관여하며 다양한 질환의 과정에도 중요한 역할을 하고 있다.^{10,11)} Chemokines의 종류는 CXC, CC, C 및 CX₃C subfamily로 구분한다. CXC chemokines는 주로 neutrophil을 유도하고 활성화시키는 반면 CC chemokines는 neutrophil을 제외한 monocytes, lymphocytes, basophils, eosinophils, neutral killer (NK) 세포 및 dendritic 세포를 유도하고 활성화시킨다. CXC chemokines로는 IL-8, growth-regulated oncogenes (GRO- α , GRO- β , GRO- γ), neutrophil activating protein-2(NAP-2), epithelial cell-derived, neutrophil attractant-78(ENA-78), platelet factor-4(PF-4), interferon- γ (IFN- γ)-inducible protein-10(IP-10) 및 monokine induced by IFN- γ (Mig) 등이 있다. CC chemokines로는 regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (RANTES), eotaxin, macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α , MIP-1 β , monocyte chemotactic protein (MCP)-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MCP-5, hemofiltrate CC chemokine(HCC)-1, HCC-2, myeloid progenitor inhibitory factor(MPIF)-1, MPIF-2, macrophage-derived chemokine(MDC) 등과 C chemokine으로 lymphotactin이 있다.^{12,13)}

사람 비점막 섬유아세포(human nasal mucosal fibroblast)는 염증과 알러지 등의 상기도 질환에 중요한 역할을 하고 있으며,¹⁴⁾ 이러한 질환에는 eosinophils

들이 침착된다는 보고가 있으며, RANTES, eotaxin 및 MCPs 등이 관여한다.¹⁵⁾ 또한 cytokines에 자극된 섬유아세포는 chemokines를 분비하고 eosinophils 등이 침착되며 이들이 호흡기 질환의 병인에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.¹⁶⁾

본 연구에서는, 사람 비점막 섬유아세포에 IL-4, TNF- α , INF- γ 등의 cytokines를 투여하여 섬유아세포에서의 chemokines의 발현을 유도하고, 이러한 chemokines의 발현에 EGCG가 미치는 영향에 대하여 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 녹차의 주성분 (-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG)는 Sigma(St. Louis, USA)로부터 구입하여 사용하였다. DMEM, FBS 등은 GibcoBRL(Grand Island, USA)에서 구입하였으며, Trizol은 Life Technologies(Grand Island, USA), 역전사 kit와 중합연쇄 반응 kit는 Takara(Seoul, Korea)에서 구입하였으며 IL-4, TNF- α , INF- γ 은 R&D Systems(Minneapolis, USA)에서 구입하였고 그 외 일반 시약은 Sigma(St. Louis, USA)에서 구입하였다.

사람 비점막 섬유아세포 분리 - 사람 비점막 섬유아세포는 비중격만곡증을 가진 환자의 수술과정 중 적출된 비갑개 하부 점막으로부터 분리하였다. 점막조직을 500 U/mL penicillin과 500 ug/mL streptomycin이 들어있고 Ca이온과 Mg이온이 없는 phosphate-buffered saline solution(PBS)으로 3회 세척한 후 점막조직은 4 mm²의 정사각형으로 잘라, 0.25% collagenase를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)에 37°C, 1시간동안 배양하였다. Collagenase에 배양이 끝난 후 항생제가 들어있는 10 ml의 DMEM에 옮겼다. 비 상피세포와 모세혈관 내막세포들은 curve forcep 2개로 조직표면을 10회 눌러줌으로써 제거하였다. 내막세포 및 상피세포를 제거하고 남은 조직을 배양하여 사람 비점막 섬유아세포를 분리하였다.

세포배양 및 세포자극 - 배양된 조직을 1-2 평방밀리미터 조각으로 잘라 T-25 tissue culture flask로 옮겼다. 2% fetal bovine serum(FBS)와 항생제가 들어있는 DMEM으로 한주에 2번씩 교체하였다. 배양된 세포를 직경 100 mm culture dish로 옮긴 후 배양하였다. 최종적으로 5회의 계대배양을 한 후 IL-4, TNF- α 및 INF- γ 를 각각 10 ng/ml, 1 ng/ml 및 10 ng/ml의 농도

로 24 시간 처리하였으며, EGCG는 이들 cytokines 투여 1 시간 전에 20 μ M의 농도로 전처리하였다.

RNA 분리 - Total RNA의 추출을 위하여 5×10^6 세포에 1 ml의 Trizol을 첨가하였다. Chloroform을 1/10 volume을 가하고 15초 동안 잘 혼합한 다음 얼음에 5분간 방치하였다. $12,000 \times g$ 에서 15분 동안 원심분리하고 상층액을 분리하고 같은 양의 isopropanol을 가한 후, $4^\circ C$ 에서 15분간 방치하였다. 다시한번 $12,000 \times g$ 에서 15분 동안 원심분리 한 후, total RNA를 추출하였다. RNA 농도의 측정은 260/280 흡광도로 측정하였다.

Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) - 사람 비점막 섬유아세포로부터 total RNA를 분리하고, 분리한 RNA에 역전사효소를 넣어 cDNA를 만든 후, 필요한 유전자 cDNA의 일부분을 증폭하

기 위한 primer를 이용하여 PCR을 시행하여 cDNA의 일부를 대량으로 증폭하였다. 실험방법은 total RNA 3 μ g에 역전사 반응액(MgCl₂, 5 mM, $1 \times$ RNA PCR buffer, dNTP 1 mM, RNase inhibitor 1 unit/ μ l, oligo dT 0.125 μ M, AMV RTase 0.25 unit/ μ l)와 혼합하여 $42^\circ C$ 에서 1 시간 반응시킨 후 cDNA를 합성하였다. 형성된 cDNA를 10배 희석한 다음 chemokines의 PCR은 PCR 자동화기계(Perkin Elmer 9600)에서 template로 cDNA 1-5 μ l, Taq polymerase 2 unit, 2.5 mM dNTP 1 μ l, sense primer 10 pmole 1 μ l, antisense primer 10 pmole 1 μ l, $10 \times$ buffer 3 μ l 및 탈이온수를 첨가하여 총 30 μ l의 반응액을 제조하였다. $94^\circ C$ 에서 5분간 1회, $94^\circ C$ 에서 30초, $55-61^\circ C$ 에서 30초, $72^\circ C$ 에서 30초씩 30회 반응시키고, $72^\circ C$ 에서 5분간 1회 시행한 후 1% 한천 겔에서 전기영동하였다. 또한 필요

Table I. Primer sequences and productive size of RT-PCR

	Target gene Primer (sense/antisense)	Size (bp)
IL-8		497
Sense	ACATGACTTCCAAGCTGGCCGTGG	
Antisense	GTATGTTCTGGATATTCATGGTAC	
RANTES		350
Sense	CCTCCGACAGCCTCTCCACA	
Antisense	GTGTAAGTTCAGGTTCAAGGA	
Eotaxin		702
Sense	GCTCACACCTTCAGCCTCCAAC	
Antisense	ATGAGTCACACTTTGGGTTCACAAG	
MIP-1 α		197
Sense	CTGCCCTTGCTGTCTCTCTCTG	
Antisense	CTGCCGGCTTCGCTTGGTTA	
MIP-1 β		587
Sense	AACCTCTTTTCCACCAATACCATG	
Antisense	CACACAGAATCAAATGTGTTATCCA	
MCP-1		645
Sense	TCGCACTCTCGCCTCCAGCAT	
Antisense	TCCACAATAATATTTAGCAATTCTT	
MCP-2		758
Sense	CTGAAGCTCACACCCTTGCCCTC	
Antisense	CAGTAACATCAATTTCAACAACAGC	
MCP-3		394
Sense	GCTAGGACCAAACCAGAAACCTC	
Antisense	GTCATGGCTTGTTTTAGTTCAG	
GAPDH		324
Sense	ATCACCATCTTCCAGGAGCG	
Antisense	GATGGCATGGACTGTGGTCA	

한 경우 85°C에서 RNA만 반응하는 원리를 이용한 mRNA Selective PCR kit(Takara, Japan)를 사용하였고 적정온도를 결정하기 위하여 gradient PCR machine (Eppendorf, Germany)를 이용하였다. Internal standard로는 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 유전자 cDNA의 일부를 같은 방법으로 24회 증폭하여 유전자 발현정도를 보정하였다.

각 유전자의 primer는 Genebank에 등록된 염기서열을 참고하여 제작하였으며, CC chemokines로는 RANTES, eotaxin, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, MCP-2, MCP-3를, 대표적인 CXC chemokine으로는 IL-8, house keeping 유전자는 GAPDH로 하였으며, 각각의 primer의 염기서열 및 증폭 산물의 크기는 Table I에 나타내었다. 또한 genomic DNA나 다른 spliced mRNA가 증폭되는 현상을 방지하기 위하여 적어도 1개의 intron이 포함하게 하였다.

결과 및 고찰

사람 비점막 섬유아세포에 IL-4, TNF- α , INF- γ 등의 cytokines를 투여한 후 chemokines의 발현을 측정하기 위하여 RT-PCR를 이용하였고, 분석 및 정량을 위하여 각 cycle 별로 증폭하여 유효 농도 곡선에 해당하는 cycle을 결정하여 실험을 진행하였다. 유전자 발현은 laser densitometry와 GelScan software program (Pharmacia, Salem, NH, USA)을 이용하여 측정하였으며, GAPDH 발현에 대한 상대비교를 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

사람 비점막 섬유아세포에서 RANTES, eotaxin, IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, MCP-2 및 MCP-3 유전자 발현은 RANTES, eotaxin, IL-8 유전자는 약하게 발현되었으나 MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, MCP-2 및 MCP-3 유전자는 발현되지 않았다(data not shown).

여기에 비점막 섬유아세포에 RANTES 및 eotaxin 등을 유발하는 것으로 알려져 있는 IL-4, TNF- α 및 INF- γ 를 처리하여 RANTES, eotaxin 및 IL-8 유전자의 발현을 유도하였다. 그 결과 IL-4와 TNF- α cytokine을 이용하여 비점막 섬유아세포를 자극하였을 경우에는 RANTES, eotaxin 및 IL-8 유전자 모두 발현이 강하게 유도되었으나, INF- γ 를 이용하여 자극하였을 경우에는 RANTES, eotaxin 및 IL-8 유전자의 발현 모두 대조군과 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 1).

이상의 상황은 사람 비점막 섬유아세포는 IL-4와

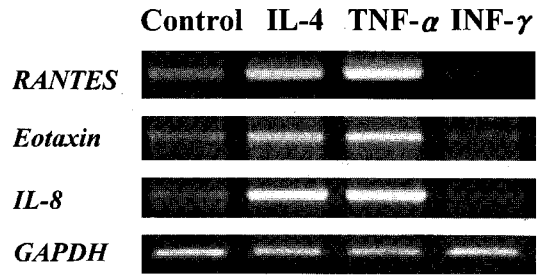


Fig. 1. Expression of RANTES, eotaxin, and IL-8 mRNA in human nasal fibroblast cells stimulated with IL-4(10 ng/ml), TNF- α (1 ng/ml), or INF- γ (10 ng/ml) for 24 hours. Expression levels of GAPDH mRNA were used as an endogenous standard for quantitation.

TNF- α 의 자극에 의해 여러종류의 chemokines들 중 특히 염증과 알러지의 병인과 관련있는 eosinophils의 침착에 관여한다고 알려져 있는 RANTES, eotaxin 등 유전자발현을 유도하여 알러지 등 병적상태를 유발하기 위한 것이다.

알러지 상태를 유발한 뒤에 녹차의 주성분인 EGCG를 함께 투여하여 RANTES, eotaxin 및 IL-8 유전자의 발현을 관찰한 결과, IL-4(10 ng/ml) 24시간 처리군에서 대조군에 비해 CC chemokines인 RANTES와 eotaxin mRNA 발현과 CXC chemokine의 하나인 IL-8의 mRNA 발현이 증가하였고, IL-4 처리 1시간 전에 EGCG를 전처리한 군의 RANTES 및 eotaxin mRNA 발현은 약간 증가하는 경향을 나타내었고, IL-8 mRNA 발현은 변화가 없었다.

TNF- α (1 ng/ml) 24 시간 처리후에도 TNF- α 처리군에서 대조군에 비해 RANTES와 eotaxin, IL-8의 mRNA 발현이 모두 증가하였고, EGCG를 전처리한 군의 eotaxin, RANTES 및 IL-8 mRNA 발현은 변화가 없었다.

INF- γ (10 ng/ml) 24 시간 처리군에서는 대조군에 비해 RANTES와 eotaxin, IL-8의 mRNA 발현은 별다른 변화가 없었으나, EGCG를 전처리한 군에서는 RANTES mRNA 발현은 약간 증가하는 경향을 보였고, eotaxin 및 IL-8 mRNA 발현은 강하게 증가하였다(Fig. 2). 이상은 병리적인 염증반응 혹은 알레르기성 비염상황에서 EGCG 투여는 비점막세포내 일부 chemokine 발현증가를 야기한다는 것을 보여주는 결과이다.

RANTES는 CC chemokine의 일종으로 B 세포에서 IgE 생산을 야기하고,¹⁷⁾ schistosome egg antigen-induced

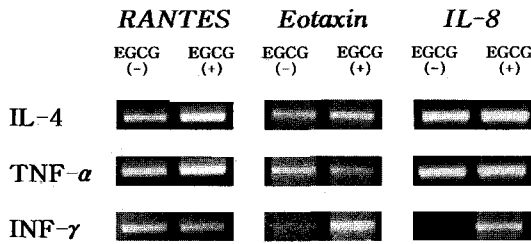


Fig. 2. Expression of RANTES, eotaxin, and IL-8 mRNA in EGCG-pretreated human nasal fibroblast cells was analyzed by RT-PCR. Human nasal mucosal fibroblasts were pretreated or not pretreated with EGCG(20 μ M) at 1 h before stimulation with IL-4(10 ng/ml), TNF- α (1 ng/ml), or INF- γ (10 ng/ml) for 24 hours. Expression levels of GAPDH mRNA were used an endogenous standard for quantitation.

EGCG(-): not pretreated with EGCG

EGCG(+): pretreated with EGCG

allergic inflammation에 중요한 역할을 하며,^{18,19)} eosinophil, monocyte, 림프구의 화학주성에 관여한다.^{21,22)} 또한 LPS 투여시 astrocytes와 microglia는 RANTES를 발현한다.²²⁾ 그리고 eotaxin은 'eosinophil-specific' chemokine으로 알려져 있으며 호산구와 관련된 질환의 병인에 매우 중요한 역할을 한다.^{23,24)} 본 실험 결과 사람 비점막 섬유아세포에서 IL-4와 TNF- α 자극에 의해 RANTES와 eotaxin mRNA 발현이 증가하였으나, EGCG 전처리 후 IL-4, TNF- α , INF- γ 에 의해 유도된 RANTES와 eotaxin의 mRNA 발현은 크게 변화되지 않았다.

IL-8은 대표적인 CXC chemokine이며, 여러 cytokines (IL-1, GM-CSF, TNF- α), bacterial products(lipopolysaccharide(LPS)), viral products(double-strand RNA), plant products(concanavalin A) 등에 의해서 유도 될 수 있다. IL-8은 중성구의 화학 주성²⁵⁾과 haptotactic migration을 자극하고 중성구의 탈과립을 야기한다.^{26,27)} 또한 중성구에서 PAF의 합성을 유발하고 leukotriene B₄(LTB₄)와 5-hydroxyeicosatetraenoic acid(5-HETE)의 방출과 arachidonate-5-lipoxygenase를 활성화한다.²⁸⁾ 또한 천식, 만성기관지염, 알러지성 비염, 류마치스병, 접촉성 피부염 등의 질환에서 체액과 조직에서 발견된다. 본 실험 결과 사람 비점막 섬유아세포에서 IL-4와 TNF- α 투여에 의해 IL-8 유전자의 발현이 증가하였으며, EGCG 전처치시에 IL-4, TNF- α 에 의해 유도된 IL-8 mRNA의 발현은 변화가 없었으나, INF- γ 에 의한 IL-8 발현은 증가하였다. 그러므로 EGCG의 작용기전은

로 INF- γ 에 의한 IL-8 발현증가도 관여한다는 것을 알 수 있었다.

본 실험결과로 미루어 보아 녹차의 주성분인 EGCG의 비점막에 대한 작용은 여러 상황으로 유발된 과민 반응 혹은 염증반응 상태를 더 악화시킬 수 있는 가능성을 시사한다. 이는 천식을 악화시키는 주요 녹차성분이 EGCG라는 보고²⁹⁾와 역시 녹차공장 인부의 알러지비염 유병율이 11.1%라는 보고³⁰⁾를 뒷받침하는 결과이다.

본 연구는 여러 가지 chemokine들을 분비한다고 알려진 사람 비점막 섬유아세포를 이용하여 IL-4, TNF- α 및 INF- γ 를 투여하여 여러 종류의 chemokines를 발현시켰으며, 발현된 chemokine mRNA에 대한 EGCG의 효과를 연구한 결과, EGCG는 IL-4, TNF- α 및 INF- γ 자극에 의해 chemokine mRNA 발현을 증가시키는 관찰할 수 있었고 특히 INF- γ 처치에 의해 eotaxin과 IL-8의 발현을 현저히 증가시켰다. 이상의 결과는 비점막 섬유아세포에 발현하는 chemokines 중 eotaxin과 IL-8의 발현을 EGCG가 작용하는 것을 나타내며, 비염 및 천식환자에 대한 EGCG의 임상활용에 기초자료를 제시할 것으로 생각된다.

결 론

녹차의 주요성분인 EGCG의 비점막 섬유아세포를 이용하여 염증의 진행, angiogenesis, wound healing, hematopoietic regulation, 천식 및 cancer 등의 여러 생물학적 기능과 다양한 질환의 병인과 관련되어 있다고 알려져 있는 IL-4, TNF- α 및 INF- γ 에 의한 chemokines의 발현 유도 시에 EGCG에 작용을, RT-PCR을 이용해서 측정할 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. IL-4(10 ng/ml) 24시간 처치군에서 대조군에 비해 CC chemokines인 RANTES와 eotaxin mRNA 발현과 CXC chemokine의 하나인 IL-8의 mRNA 발현이 증가하였고, EGCG를 전처치한 군에서는 RANTES, eotaxin 및 IL-8 mRNA 발현이 약간 증가하였다.
2. TNF- α (1 ng/ml) 24시간 처치군에서 대조군에 비해 RANTES와 eotaxin mRNA 발현과 IL-8의 mRNA 발현이 증가하였고, EGCG를 전처치한 군에서는 RANTES, eotaxin 및 IL-8 mRNA 발현이 약간 증가하였다.
3. INF- γ (10 ng/ml) 24 시간 처치군에서 대조군에 비해 RANTES와 eotaxin mRNA 발현과 IL-8의 mRNA

발현은 별다른 변화가 없었으나, EGCG를 전처리한 군에서는 RANTES mRNA 발현은 별다른 변화를 보이지 않았으나, cotaxin 및 IL-8 mRNA 발현은 강하게 증가하였다.

이상의 결과는 비점막 섬유아세포에 chemokine을 이용하여 활성화시킨 후의 알러지 및 염증반응에 중요한 유전자의 발현에 EGCG가 작용하여 특히 인터페론 감마로 인한 반응에 관여한다는 사실을 알 수 있으며, 이는 녹차 공장의 높은 알러지성 비염 유병율을 일부 설명할 수 있는 근거자료이다.

사 사

이 논문은 우석대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 연구됨.

인용문헌

1. 安德均 (1998) 韓國本草圖鑑, 115. 教學社, 서울.
2. 지형준 (1998) 대한약전 및 대한약전의 한약규격주해(제2개정), 593. 한국메디칼인텍스사, 서울.
3. 孟詵 (1986) 食療本草譯註, 29-30. 上海古籍出版社, 上海.
4. 蘇敬 (1981) 新修本草, 334-335. 安徽科技, 合肥市.
5. 李時珍(1978) 本草綱目, 2131-2132. 人民衛生出版社, 北京.
6. Abe, I., Umehara, K., Morita, R., Nemoto, K., Degawa, M. and Noguchi, H. (2001) Green tea polyphenols as potent enhancers of glucocorticoid-induced mouse mammary tumor virus gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **281**: 122-125.
7. 國家中醫藥管理局(1998) 中華本草, 3: 565-574. 上海科學技術出版社, 上海.
8. Yang, C. S. and Wang, Z. Y. (1993) Tea and cancer. *J. Natl. Cancer I.* **85**: 1038-1049.
9. Menegazzi, M., Tedeschi, E., Dussin, D., de Prati, A. C., Cavalieri, E., Mariotto, S. and Suzuki, H. (2001) Anti-interferon- γ action of epigallocatechin-3-gallate mediated by specific inhibition of STAT1 activation. *FASEB J.* **15**: 1309-1311.
10. Baggiolini, M., Dewald, B. and Moser, B. (1994) Interleukin-8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines. *Adv. Immunol.* **55**: 97-179.
11. Rollins, B. J. (1997) Chemokines. *Blood* **90**: 909-928.
12. Bacon, K. B., Greaves, D. R., Dairaghi, D. J. and Schall, T. J. (1998) The expanding universe of C, CX₃C and CC chemokines. In Thomson A (ed.), The cytokine handbook. 3rd ed., 753-775. Academic Press, San Diego.
13. Wuyts, A., Proost, P. and Van Damme, J. (1998) Interleukin-8 and other CXC chemokines. In Thomson, A. (ed.), The cytokine handbook. 3rd ed., 271-311. Academic Press, San Diego.
14. Bradding, P., Feather, I. H., Wilson, S., Bardin, P. G., Heusser, C. H., Holgate, S. T. and Howarth, P. H. (1993) Immunolocalization of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitic subjects. *J. Immunol.* **151**: 3853-3865.
15. Saji, F., Nonaka, M. and Pawankar, R. (2000) Expression of RANTES by IL-1 and TNF- γ stimulated nasal polyp fibroblasts. *Auris Nasus Larynx* **27**: 247-252.
16. Yamada, T., Fujieda, S., Yanagi, S., Yamamura, H., Inatome, R., Yamamoto, H., Igawa, H. and Saito, H. (2001) IL-1 induced chemokine production through the association of Syk with TNF receptor-associated factor-6 in nasal fibroblast lines. *J. Immunol.* **167**: 283-288.
17. Kimata, H., Yoshida, A., Ishioka, C., Fujimoto, M., Lindley, I. and Furusho, K. (1996) RANTES and macrophage inflammatory protein 1a selectively enhance immunoglobulin (IgE) and IgG4 production by human B cells *J. Exp. Med.* **183**: 2397-2402.
18. Lukacs, N. W., Standiford, T. J., Chensue, S. W., Kunkel, R. G., Strieter, R. M. and Kunkel, S. L. (1996) CC chemokine-induced eosinophil chemotaxis during allergic airway inflammation. *J. Leukoc. Biol.* **60**: 573-578.
19. Lukacs, N. W., Strieter, R. M., Warmington, K., Lincoln, P., Chensue, S. W. and Kunkel, S. L. (1997) Differential recruitment of leukocyte populations and alteration of airway hyperreactivity by CC family chemokines in allergic airway inflammation. *J. Immunol.* **158**: 4398-4404.
20. Bacon, K. B. and Schall, T. J. (1996) Chemokines as mediators of allergic inflammation. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **109**: 97-109.
21. Braciak, T. A., Bacon, K., Xing, Z., Torry, D. J., Graham, F. L., Schall, T. J., Richards, C. D., Croitoru, K. and Gualdie, J. (1996) Overexpression of RANTES using a recombinant adenovirus vector induces the tissue-directed recruitment of monocytes to the lung. *J. Immunol.* **157**: 5076-5084.
22. Sun, D., Hu, X., Liu, X., Whitaker, J. N. and Walker, W. S. (1997) Expression of chemokine genes in rat glial cells: the effect of myelin basic protein-reactive encephalitogenic T cells. *J. Neurosci. Res.* **48**: 192-200.
23. Kitaura, M., Nakajima, T., Imai, T., Harada, T.,

- Combadiere, C., Tiffany, H. L., Murph, P. M. and Yoshie, O. (1996) Molecular cloning of human eotaxin, an eosinophil-selective CC chemokine, and identification of a specific eosinophil eotaxin receptor, CC chemokine receptor 3. *J. Biol. Chem.* **271**: 7725-7730.
24. Ponath, P. D., Qin, S., Post, T. W., Wang, W. L., Gerard, N. P., Newman, W., Gerard, C. and Mackay, C. R. (1996) Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils. *J. Exp. Med.* **183**: 2437-2448.
25. Van Damme, J., Van Beeumen, J., Opdenakker, G. and Billiau, A. (1988) A novel, NH₂-terminal sequence-characterized human monokine possessing neutrophil chemotactic, skin-reactive, and granulocytosis-promoting activity. *J. Exp. Med.* **176**: 1364-1476.
26. Willems, J., Joniau, M., Cinque, S. and Van Damme, J. (1989) Human granulocyte chemotactic peptide (IL-8) as a specific neutrophil degranulator: comparison with other monokines. *Immunology* **67**: 540-542.
27. Masure, S., Proost, P., Van Damme, J. and Opdenakker, G. (1991) Purification and identification of 91-kDa neutrophil gelatinase. Release by the activating peptide interleukin-8. *Eur. J. Biochem.* **198**: 391-398.
28. Schroder, J. M. (1989) The monocyte-derived neutrophil activating peptide (NAP/interleukin 8) stimulates human neutrophil arachidonate-5-lipoxygenase, but not the release of cellular arachidonate. *J. Exp. Med.* **170**: 847-863.
29. Shirai, T., Sato, A. and Hara, Y. (1994) Epigallocatechin gallate. The major causative agent of green tea-induced asthma. *Chest* **106**: 1801-1805.
30. Mirbod, S. M., Fujita, S., Miyashita, K., Inaba, R. and Iwata, H. (1995) Some aspects of occupational safety and health in green tea workers. *Ind. Health* **33**: 101-117.

(2001년 10월 29일 접수)