

대식세포주 RAW264.7 세포에서 Curcumin의 Lipopolysaccharide 에 의한 Nitric Oxide 생성 억제 효과

이용규* · 조재열*†

*강원대학교 BT 특성화 학부대학 생명공학부

Inhibitory Effect of Curcumin on Nitric Oxide Production in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW264.7 Cells and Its Suppressive Mechanism

Yong Gyu Lee* and Jae Youl Cho*†

*School of Bioscience and Biotechnology, and Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

ABSTRACT : Curcumin, a polyphenolic antioxidant purified from turmeric, has been known to possess various biological activities such as anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-cancer effects. In this study, we have explored anti-inflammatory effect of curcumin using Gram (-) bacterium-derived endotoxin (lipopolysaccharide: LPS) and macrophage cell line RAW264.7. Curcumin suppressed NO production in LPS-activated RAW264.7 cells in a dose-dependent manner. Curcumin also blocked the activation of NF- κ B but not AP-1 according to luciferase assay. Furthermore, this compound suppressed the phosphorylation of a series of intracellular signaling components such as Src, JAK-2, Akt, IKK and I κ B α under LPS stimulation in a time dependent manner. Therefore, our data suggest that curcumin was able to protect the host from Gram (-) bacterial-infection-mediated inflammatory symptoms.

Key Words : Curcumin, Turmeric, Macrophage-like cells, NO production, Lipopolysaccharide

서 론

단핵구 및 대식세포는 내재성 면역반응을 담당하는 대표적인 면역세포다. 이들 세포들은 외부로부터 침입한 세균들에서 유래된 세포구성 성분들이나 체내 다른 면역세포에서 분비한 IFN- γ 와 같은 사이토카인에 의해 활성화되어 종양괴사인자(tumor necrosis factor- α)와 같은 사이토카인이나 일산화질소(nitric oxide:NO)나 활성산소(reactive oxygen species) 등과 같은 독성물질, 그리고 프로스타그란딘류와 같은 염증 매개물질의 분비를 조절한다 (Tetley 2005). 특별히, 이들 세포는 세균이나 암세포 등과 같은 면역유발원을 탐식하고 탐식된 면역원을 펩타이드로 가공하여 구조적 적합성 항원에 공여함으로써, T cell의 분열 및 분화를 촉진시키는 항원제시 세포(Antigen-presenting cell [APC])로서의 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다 (Edwards *et al.*, 2006). 이때 대식세포 혹은 수지상세포와 T cell간의 세포-세포간 상호작용이 필수적이며 이를 조절하는 단백질을 CD80, CD86 및 CD40와 같은 co-

stimulatory molecule들과 β 1- 혹은 β 2-integrins와 같은 adhesion molecule로 알려져 있다 (Caulfield *et al.*, 1999; Murtaugh and Foss 2002). 이들 단백질의 활성화 및 발현은 외부 자극에 반응하는 pattern-recognition receptor (PRR)과 같은 수용체의 매개 및 이들 수용체와 결합된 신호전달 단백질 복합체의 활성화에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다. 특별히 관련 신호전달 단백질은 non-receptor type protein tyrosine kinases (Src, Syk 및 JAK2), phosphoinositide-3-kinase (PI3K), Akt (protein kinase B) 및 mitogen-activated protein kinases (MAPK) 등으로 구성되어 있다 (Fang *et al.*, 2004). 이들 단백질의 활성화는 최종적으로 NF- κ B 및 AP-1과 같은 transcription factor의 활성화 및 밀접한 관련이 있으며, 이들의 활성화는 염증 및 내재성 면역반응 관련 단백질의 발현을 매개하게 된다 (Chen and Shi 2002; Dijkstra *et al.*, 2002).

Curcumin은 강황 (Turmeric)의 뿌리에서 분리된 색소성 페놀화합물로서, 간보호작용, 항염증, 항암효과 및 항산화작용 등을 가지는 대표적인 천연물이다. 최근에는 알츠하이머병의 예

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6562 (E-mail) jaecho@kangwon.ac.kr
Received November 23, 2007 / Accepted December 7, 2007

방 및 치료효과가 입증되어 뇌세포에 관한 다양한 보호작용이 보고되고 있기도 하다. 강력한 항암효과가 보고되면서 curcumin의 항암기전에 관한 연구들이 활발히 진행되면서, 분자적 수준에서의 연구들이 활발히 수행되고 있다. 그러나 현재까지 그람 음성균 세균 감염시 발생하는 염증과정의 치료효과에 관한 분자적 수준에서의 이해는 여전히 부족한 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 그람 음성균 유래 염증유발 물질인 lipopolysaccharide (LPS)와 이에 반응하는 대식세포의 NO 생성 과정에 관한 curcumin의 조절 작용에 대해 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

시험에 사용한 curcumin (Fig. 1)은 Sigma (St. Louis, MO, USA)로 부터 구입하여 이용하였다. 마우스 대식세포주인 RAW264.7은 ATCC (Manassas, VA, USA)로부터 구입하였다. 세포배양을 위한 배양용 배지 RPMI1640 media, fetal bovine serum (FBS) 그리고 항생제 (penicillin/streptomycin)는 Hyclone (South Logan, UT, USA)사 제품을 사용하였다. Cynaropicrin은 이전 보고 (Cho *et al.*, 2000)에서 처럼 분리하여 사용하였다. LY294002, wortmannin, BAY11-7082, PP2 및 AG490은 Calbiochem사 (La Jolla, CA, USA) 제품을 이용하였다. Src, Akt, JAK-2, p85 및 IκBα에 대한 phospho-specific 항체는 Cell Signaling Technologies사 제품을 사용하였다. 그밖에 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 포함한 화학시약은 Sigma 제품을 이용하였다.

2. 세포배양

RAW264.7 세포들은 5% CO₂, 37°C incubator에서 배양하였다. 배지는 penicillin (100 IU/ml) 및 streptomycin (100 µg/ml)과 10% FBS가 포함된 RPMI 1640을 사용하였다.

3. 세포 생존율 검정

Curcumin에 의한 세포생존 영향은 MTT assay법을 이용하여 분석하였다 (Cho *et al.*, 2000). 96-well plate에 1 × 10⁵ 개의 RAW264.7 세포를 plating하고 curcumin을 농도 별로 처리하였다. 37°C에서 각 면역실험 조건에 상응하는 배양시간 동안 CO₂ incubator에서 배양하였다. 이후 10 µl MTT 용액 (stock concentration : 5 mg/ml)을 첨가하고 3시간 동안 추가 반응을 유도하였다. 반응 종료 및 formazan crystal의 용해를 위해 각 well에 100 µl MTT stopping solution (10% sodium dodecyl sulfate in 0.01 M HCl)을 분주하였다. 세포 생존율은 MTT가 formazan으로 환원된 양을 570 nm에서 흡광도를 측정하여 얻어진 OD 값을 통해 산출하였다.

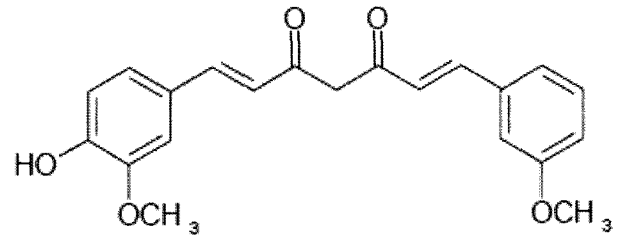


Fig. 1. Chemical structure of curcumin.

4. NO 생성 및 정량

RAW264.7세포를 1 × 10⁶ cell/ml의 농도로 조절한 후, 96 well plate에 100 µl 씩 접종하고, 5% CO₂ 및 37°C에서 18시간 동안 전배양 하였다 (Cho *et al.*, 2000). 이후 전배양 배지를 제거하고 4배 농도로 조제된 시험물질 50 µl와 50 µl의 LPS (최종농도 1 µg/ml) 함유 배지를 well에 동시 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 배양 배지를 원심분리 (12,000 rpm, 3분간)하고, 상층액 100 µl를 취해 정량전까지 -20°C 이하에서 보관하였다. NO의 정량은 Griess reagent를 이용하여 정량하였다. NO의 정량한계는 0.5 µM이었으며, standard NO (sodium nitrite)에 대한 표준곡선의 r²값은 0.99 이상이었다.

5. Transfection 과 루시퍼라아제 활성 측정

HEK293 세포를 2 × 10⁵ cell/well의 농도로 조절되도록 24 well plate에 접종한 후 5% CO₂ 및 37°C에서 18시간 동안 전배양 하였다 (Cho *et al.*, 2003; Jung *et al.*, 2006). 이후 새로운 배지로 갈아준 후 pNF-κB-Luc, pAP-1-Luc 플라스미드 또는 pCMV (대조군) 플라스미드를 lipofectAMINE PLUS (Invitrogen, Carlsbad, AV)를 사용하여 6시간 동안 transfection을 시킨 후 배지를 제거한 후 새로운 배지로 24시간 추가 배양하였다. 그 후 배지를 제거한 후 curcumin을 20 µM로 되도록 조제된 배지를 처리하여 30분간 전처리 후 PMA (100 nM)를 처리하여 6시간 동안 추가 배양하였다. 이후 배양 배지를 제거한 후 세포를 회수하여 lysis buffer (promega)를 이용하여 total cell lysate를 조제한 후 lysate (20 µl)와 substrate (20 µl)를 1:1로 반응시켜 그 발광 정도를 Luminoskan Ascent (Thermo LabSystems Oy, Helsinki, Finland)를 사용하여 측정하였다.

6. Western blotting

RAW 264.7 세포 (5 × 10⁶ cells/ml)를 6-well plate의 해당 well에 1 ml 분주하고, 배지 3 ml을 더한 후 18시간 동안 전배양하였다. 앞의 실험 방법에서와 같이 curcumin을 30분 전처리하고, LPS를 처리한 후, 세포를 회수하였다. 회수된 세포는 lysis buffer (함유조성 : 20 mM Tris-HCl, pH 7.4, 2 mM EDTA, 2 mM ethyleneglycotetraacetic acid, 50 mM β-

glycerophosphate, 1 mM sodium orthovanadate, 1 mM dithiothreitol, 1% Triton X-100, 10% glycerol, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ aprotinin, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pepstatin, 1 mM benzimidazole, and 2 mM hydrogen peroxide)를 처리하여 total cell lysate를 조제하였다. 동일한 양의 단백질을 10% SDS-polyacrylamide gel에서 전기영동하고, wet-blotting transfer 방법을 이용하여 PVDF membrane으로 단백질을 transfer하였다. Membrane을 5% BSA blocking buffer에서 반응시킨 후 특정 단백질에 특이한 1차 항체를 상온에서 1 시간 반응시켰다. 이후 2차 항체를 1 시간 동안 추가적으로 처리한 후, ECL chemiluminescence로 반응 정도를 확인하였다.

7. 통계처리

통계처리는 Student's *t*-test를 이용하여 실시하였으며 *p*값이 0.05미만일 때 유의성 있다고 판정하였다. 각 데이터는 *n*=3으로 진행된 독립 실험을 세 번 실시하여 얻어진 값을 평균 \pm 표준편차 (mean \pm SEM)로 나타냈다.

결과 및 고찰

비록 염증 매개물질의 생성에 관한 curcumin의 조절작용은 여러 논문들을 통해 primary microglial cell, BV2 cell, 수지상세포 및 내피세포 등을 이용하여 연구된 바는 있지만, 대식세포의 TLR4-매개성 활성 조건하에서 NO 생성에 관한 억제 효과 및 그 기전에 관한 연구는 체계적으로 진행되어 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 대식세포주인 RAW264.7 세포와 TLR4 리간드인 LPS를 이용하여 NO 생성조건에서 curcumin의 억제 효과를 조사하고 분자수준에서 억제기전을 확인하여 보았다.

1. Curcumin의 NO 분비에 미치는 효과

Fig. 2A에서 알 수 있듯이, curcumin은 40 μM 까지 농도 의존적으로 NO생성을 억제 하였다. 또한 24 시간 배양조건에서 MTT assay를 통해 이들 억제 효과 중 20 μM 농도 범위까지는 세포독성을 유발하지 않는다는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 본 결과로 볼 때 curcumin은 24시간까지는 20 μM 농도 범위 내에서 세포독성 없이 NO 생성을 억제하는 것으로 판단된다. NO에 관한 curcumin의 억제효과는 BV2 세포나 microglial cell 및 C6 astrocyte 등 에서도 유사한 효과를 나타내는 것으로 확인되었다 (Soliman and Mazzi 1998; Jung *et al.*, 2006; Jin *et al.*, 2007).

2. Curcumin의 transcription factor (NF- κ B 및 AP-1) 활성에 미치는 효과

Curcumin은 다양한 전사인자의 활성을 억제하는 것으로 보

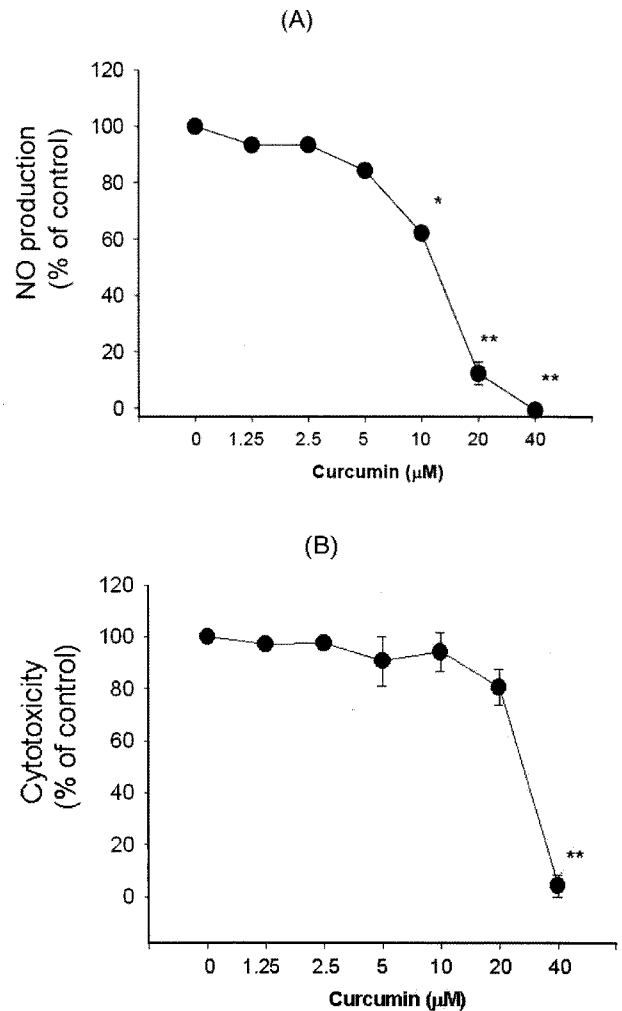


Fig. 2. Effects of curcumin on the production of NO in LPS-induced RAW 264.7 and the viability of RAW264.7 cells. (A) RAW264.7 cell (1×10^6) were pretreated with various concentrations of curcumin in the presence of absence of LPS (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) for 24 hrs. The level of NO was determined by Griess reagent as described in Materials and Methods. (B) RAW264.7 cells (1×10^5) were pretreated with various concentrations of curcumin for 24 h. The viability of RAW264.7 cells was evaluated by conventional MTT assay. * *p* < 0.05 and ***p* < 0.01 represent significant difference compared to normal or LPS alone.

고되었기 때문에 (Han *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003; Dhandapani *et al.*, 2007), 본 연구자들도 PMA와 HEK293 세포를 이용하여 NF- κ B 및 AP-1 활성 유도 조건하에서 curcumin의 억제 작용을 평가하여 보았다. Fig. 3A에서 보여지는 것처럼, curcumin은 AP-1에 관해서는 억제작용을 나타내지 않은 반면, NF- κ B에 관해서는 농도 의존적으로 저해작용을 나타냈다. 또한 이들 조건에서 curcumin에 의한 HEK293 세포의 세포생존율은 저해되지 않은 것으로 확인되었다 (data not shown). AP-1에 관한 효과는 pro-myelocytic leukemia

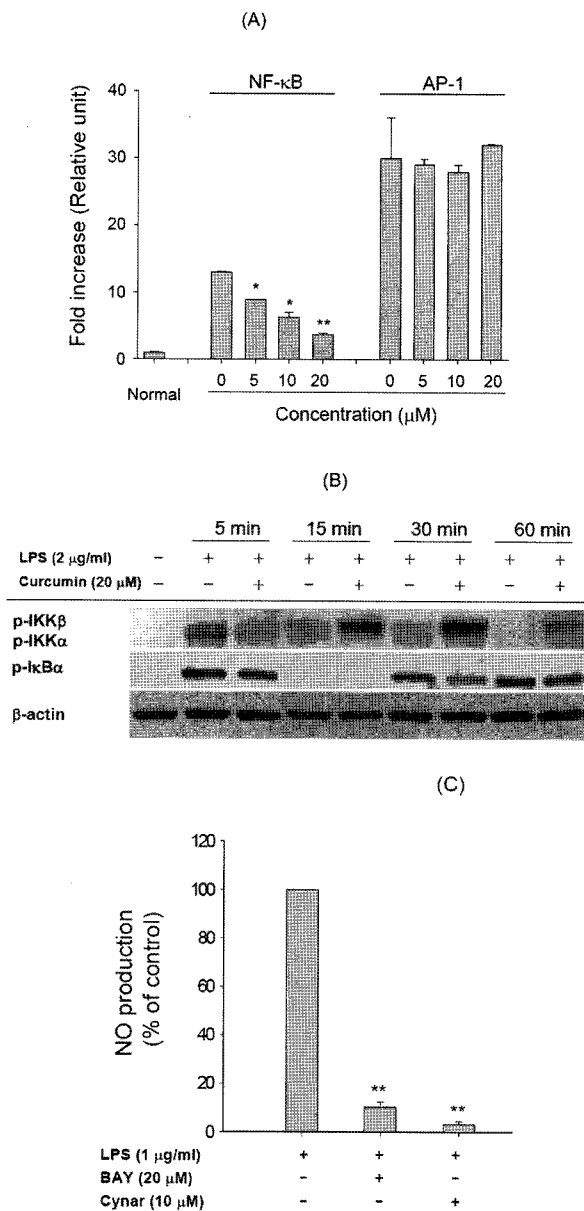


Fig. 3. Effect of curcumin on the activation of NF-κB and AP-1 in PMA-treated HEK293 and LPS-treated RAW264.7 cells. (A) HEK293 cells transfected with NF-κB-Luc (1 μg/ml) were treated with curcumin in the presence or absence of PMA (20 nM) for 6 h. Luciferase activity was determined by luminometer as described in Materials and Methods. (B) RAW264.7 cells (5 × 10⁶ cells/ml) pretreated with curcumin were stimulated in the absence or presence of LPS (2 μg/ml) for indicated times. After immunoblotting, the phosphorylation levels of IKK (α/β), IκBα and β-actin were identified with phospho-specific or total protein antibodies. (C) RAW264.7 (1 × 10⁶) were pretreated with BAY11-7082 (BAY) and cynaropicrin (Cynar) in the presence or absence of LPS (1 μg/ml) for 24 hrs. The level of NO was determined by Griess reagent as described in Materials and Methods. *p < 0.05 and **p < 0.01 represent significant difference compared to control group.

cell을 이용한 이전 보고와 다르게 얻어진 반면에 NF-κB는 유사하게 나타났다 (Han *et al.*, 2002; Leclercq *et al.*, 2004). 이는 NF-κB의 경우는 어떤 세포나에 상관없이 억제되는 세포 비특이적인 표적 전사인자로 판단된 반면에, AP-1의 경우는 세포특이적인 표적 전사인자로 작용하는 것으로 사료된다. 본 연구자들은 따라서 세포비특이적인 표적전사인자로 생각되는 NF-κB에 관한 억제 효능을 LPS로 처리된 RAW264.7 세포로부터 확인하고자 하였으며, 이를 위해 NF-κB 활성 유도 효소인 IKK 및 IκBα의 인산화 정도를 측정하여 평가해 보았다. 이는 IκBα의 인산화가 NF-κB (p50/p65)의 핵내 전이과정시 필수적인 분자적 현상이라는 보고에 따른 것이다 (Krappmann and Scheidereit 2005). 이전 보고들과 유사하게 (Bharti *et al.*, 2004; Yadav *et al.*, 2005), curcumin은 LPS에 의해 유도된 IKK 및 IκBα의 인산화 과정을 매우 효과적으로 억제한 것으로 나타났다. 즉 5 분 배양군에서는 IKK의 인산화를 그리고 30 분 배양 군에서는 IκBα의 인산화 과정을 강력하게 억제하였으며, 그 외 시간대에서도 저해경향을 확인할 수 있었다 (Fig. 3B). 그러나 흥미롭게도, curcumin은 15분, 30분 및 60분에서 각각 강력하게 IKKβ의 인산화를 유도하였다. 이는 curcumin에 의한 IKK/IκBα/NF-κB 활성화는 시간에 따라 다양하게 조절되고 있는 것으로 판단된다. 한편 IKK 및 NF-κB 선택적 억제제들 (BAY11-7082 및 cynaropicrin)은 LPS조건에서 유도되는 NO생성을 매우 강력하게 억제한 것으로 확인되었다 (Fig. 3C).

3. Curcumin의 PI3K 및 Akt 활성화에 미치는 효과

IKK/IκB 활성화 유도과정을 curcumin이 매우 효과적으로 억제하였기 때문에, 다음으로 이들 과정의 상위 신호전달 단계에 관한 curcumin의 억제 효과를 조사하여 보았다. 이를 위해 현재까지 알려져 있는 상위 효소계인 PI3K/Akt의 활성화에 관한 효과를 평가해 보았다. 특별히 PI3K의 활성화는 regulatory subunit인 p85의 인산화에 의해 catalytic subunit인 p110의 활성이 유도되고 이를 통해 PIP2가 PIP3로 인산화되면서 PDK1 및 Akt가 이들 지방분자와 결합하여 인산화 유도에 의한 활성을 매개하는 것으로 알려져 있다 (Jimenez *et al.*, 1998). Fig. 4A에서 처럼, curcumin은 대부분의 시간대에서 Akt의 인산화 과정을 억제하였으며, p85의 경우도 5분대에서 약하게 그리고 30 및 60분대에서 강력하게 인산화 과정을 저해하였다. 따라서 본 결과로 볼 때, IKK 활성을 위한 상위 효소계는 p85의 인산화 매개에 의해 진행되는 것보다는 Akt의 인산화 과정에 의해서만 유도되는 것으로 판단되며, 이들 과정은 curcumin에 의해 매우 강력히 억제된 것으로 나타났다. 한편 이들 PI3K/Akt의 선택적 억제제들 (LY294004 및 wortmannin)은 LPS조건에서 유도되는 NO생성을 매우 강력하게 억제한 것으로 확인되었다 (Fig. 5B).

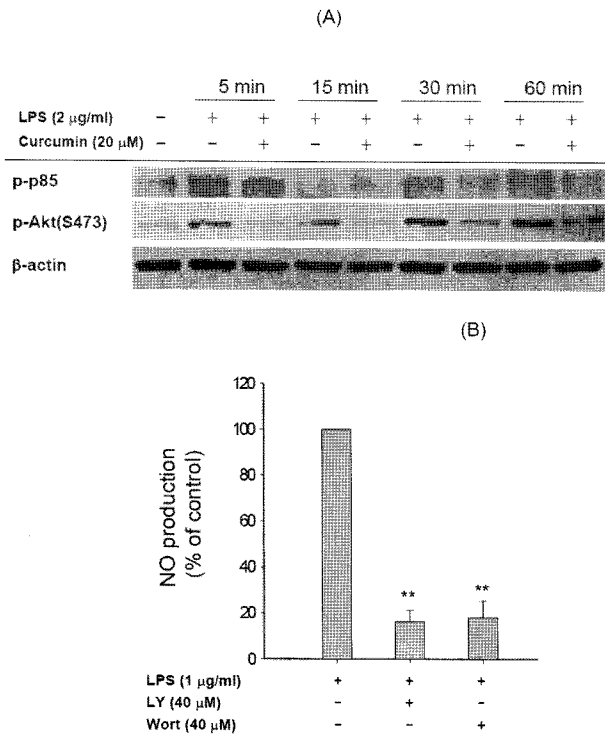


Fig. 4. Effect of curcumin on the activation of PI3K and Akt in LPS-treated RAW264.7 cells. (A) RAW264.7 cells (5×10^6 cells/ml) pre-treated with curcumin were stimulated in the absence or presence of LPS ($2 \mu\text{g/ml}$) for indicated times. After immunoblotting, the phosphorylation levels of p85, Akt and β -actin were identified with phospho-specific or total protein antibodies. (B) RAW264.7 (1×10^6) were pretreated with LY294002 (LY) and wortmannin (Wort) in the presence of absence of LPS ($1 \mu\text{g/ml}$) for 24 hrs. The level of NO was determined by Griess reagent as described in Materials and Methods. ** $p < 0.01$ represents significant difference compared to control group.

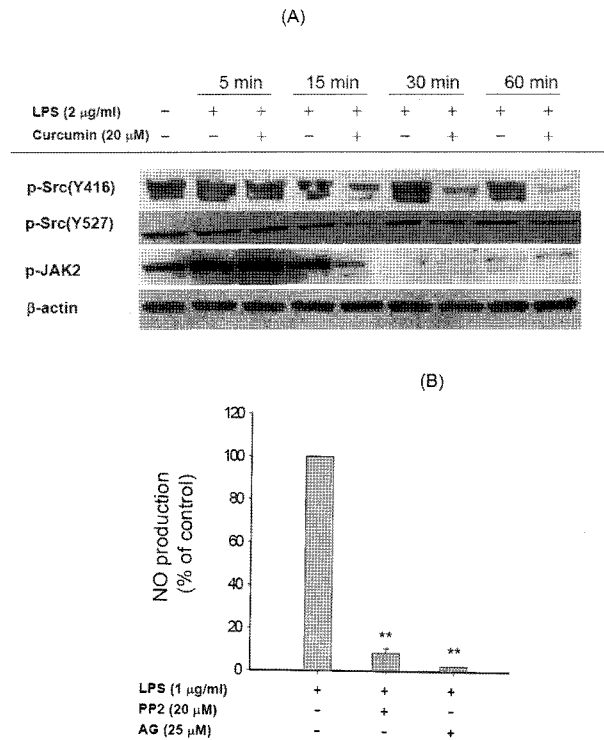


Fig. 5. Effect of curcumin on the activation of Src and JAK-2 in LPS-treated RAW264.7 cells. (A) RAW264.7 cells (5×10^6 cells/ml) pre-treated with curcumin were stimulated in the absence or presence of LPS ($2 \mu\text{g/ml}$) for indicated times. After immunoblotting, the phosphorylation levels of Src (Y415 and Y527), JAK-2, and β -actin were identified with phospho-specific or total protein antibodies. (B) RAW 264.7 (1×10^6) were treated with PP2 and AG490 (AG) in the presence of absence of LPS ($1 \mu\text{g/ml}$) for 24 hrs. The level of NO was determined by Griess reagent as described in Materials and Methods. ** $p < 0.01$ represents significant difference compared to control group.

4. Curcumin의 non-receptor type protein tyrosine kinase 활성에 미치는 효과

Curcumin은 TNF- α 자극 하에서 여러가지 protein tyrosine kinase들의 활성을 억제하는 것으로 보고되었다 (Kim *et al.*, 2003; Lin 2007). 이들 효소들은 Akt 활성을 조절하는 PDK1의 기능을 조절하는 상부효소로 알려져 있다 (Warmuth *et al.*, 2003). 따라서, 마지막으로 이들 효소에 관한 curcumin의 저해효과를 조사하여 보았다. Fig. 5A에서 확인할 수 있듯이, curcumin은 Src kinase내 두가지 다른 phosphorylation site의 인산화를 강력히 억제하는 것으로 확인되었다. 즉 Src kinase의 활성시 중요한 인산화과정인 Tyr416번 잔기의 인산화나 Src kinase의 활성억제를 위해 필수적인 인산화 부위인 Tyr527 부분을 15분부터 60분까지 강력하게 억제하였다. 반면에, 이전 보고대로 (Kim *et al.*, 2003), JAK-2의 인산화는 15분 대에 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, curcumin에 의한

kinase 활성억제 시간을 고려해 볼 때, 이들 단백질의 활성억제는 IKK 및 I κ B α 인산화 과정과는 별개의 분자적 억제 경향으로 판단된다. 한편 이들 효소계의 선택적 억제제 들은 LPS조건에서 유도되는 NO생성을 매우 강력하게 억제한 것으로 확인되었다 (Fig. 5B).

결론

강황의 주요 성분인 curcumin의 그람 음성균 유래 염증 과정에 관한 조절 효과를 LPS 및 대식세포주를 이용하여 분자적 수준에서 조사하여 다음과 같은 결론을 도출하였다. 1) curcumin은 농도의존적으로 LPS 매개성 NO 생성을 억제하였다. 2) Curcumin은 AP-1활성 보다는 NF- κ B 활성을 선택적으로 억제하였다. 3) 대식세포내에서 NF- κ B 활성은 Akt, IKK 및 I κ B α 인산화에 의해 유도되며, curcumin은

이들 과정을 강력히 저해하였다. 4) curcumin에 의한 protein tyrosine kinase 활성억제 시간을 고려해 볼 때, Src 및 JAK-2 활성억제는 IKK 및 I κ B α 인산화 과정과는 별개의 분자적 억제 경향으로 판단된다. 따라서 본 결과로 볼 때, curcumin은 다양한 분자적 표적 단백질을 가지고 있으며, 이들의 동시적 억제는 curcumin이 가지는 항염증 효과에 기여하는 것으로 판단된다.

LITERATURE CITED

- Bharti AC, Takada Y, Aggarwal BB** (2004) Curcumin (diferuloylmethane) inhibits receptor activator of NF-kappa B ligand-induced NF-kappa B activation in osteoclast precursors and suppresses osteoclastogenesis. *J Immunol.* 172:5940-5947.
- Caulfield JJ, Fernandez MH, Sousa AR, Lane SJ, Lee TH, Hawrylowicz CM** (1999) Regulation of major histocompatibility complex class II antigens on human alveolar macrophages by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the presence of glucocorticoids. *Immunology.* 98:104-110.
- Chen F, Shi X** (2002) NF-kappaB, a pivotal transcription factor in silica-induced diseases. *Mol Cell Biochem.* 234-235:169-176.
- Cho JY, Baik KU, Jung JH, Park MH** (2000) In vitro anti-inflammatory effects of cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, from *Saussurea lappa*. *Eur J Pharmacol.* 398:399-407.
- Cho JY, Grigura V, Murphy TL, Murphy K** (2003) Identification of cooperative monomeric Brachyury sites conferring T-bet responsiveness to the proximal IFN-gamma promoter. *Int Immunol.* 15:1149-1160.
- Dhandapani KM, Mahesh VB, Brann DW** (2007) Curcumin suppresses growth and chemoresistance of human glioblastoma cells via AP-1 and NFkappaB transcription factors. *J Neurochem.* 102:522-538.
- Dijkstra G, Moshage H, Jansen PL** (2002) Blockade of NF-kappaB activation and donation of nitric oxide: new treatment options in inflammatory bowel disease? *Scand J. Gastroenterol Suppl.* 37-41.
- Edwards JP, Zhang X, Frauwirth KA, Mosser DM** (2006) Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *J Leukoc Biol.* 80:1298-1307.
- Fang H, Pengal RA, Cao X, Ganesan LP, Wewers MD, Marsh CB, Tridandapani S** (2004) Lipopolysaccharide-induced macrophage inflammatory response is regulated by SHIP. *J Immunol.* 173:360-366.
- Han SS, Keum YS, Seo HJ, Surh YJ** (2002) Curcumin suppresses activation of NF-kappaB and AP-1 induced by phorbol ester in cultured human promyelocytic leukemia cells. *J Biochem Mol Biol.* 35:337-342.
- Jimenez C, Jones DR, Rodriguez-Viciana P, Gonzalez-Garcia A, Leonardo E, Wennstrom S, von Kobbe C, Toran JL, L RB, Calvo V, Copin SG, Albar JP, Gaspar ML, Diez E, Marcos MA, Downward J, Martinez AC, Merida I, Carrera AC** (1998) Identification and characterization of a new oncogene derived from the regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase. *Embo J.* 17:743-753.
- Jin CY, Lee JD, Park C, Choi YH, Kim GY** (2007) Curcumin attenuates the release of pro-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. *Acta Pharmacol Sin.* 28:1645-1651.
- Jung KK, Lee HS, Cho JY, Shin WC, Rhee MH, Kim TG, Kang JH, Kim SH, Hong S, Kang SY** (2006) Inhibitory effect of curcumin on nitric oxide production from lipopolysaccharide-activated primary microglia. *Life Sci.* 79:2022-2031.
- Kim HY, Park EJ, Joe EH, Jou I** (2003) Curcumin suppresses Janus kinase-STAT inflammatory signaling through activation of Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 2 in brain microglia. *J. Immunol.* 171:6072-6079.
- Krappmann D, Scheidereit C** (2005) A pervasive role of ubiquitin conjugation in activation and termination of IkappaB kinase pathways. *EMBO Rep.* 6:321-326.
- Leclercq IA, Farrell GC, Sempoux C, dela Pena A, Horsmans Y** (2004) Curcumin inhibits NF-kappaB activation and reduces the severity of experimental steatohepatitis in mice. *J Hepatol.* 41:926-934.
- Lin JK** (2007) Molecular targets of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 595:227-243.
- Murtaugh MP, Foss DL** (2002) Inflammatory cytokines and antigen presenting cell activation. *Vet Immunol Immunopathol.* 87:109-121.
- Soliman KF, Mazzi EA** (1998) In vitro attenuation of nitric oxide production in C6 astrocyte cell culture by various dietary compounds. *Proc Soc Exp Biol Med.* 218:390-397.
- Tetley TD** (2005) Inflammatory cells and chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 4: 607-618.
- Warmuth M, Damoiseaux R, Liu Y, Fabbro D, Gray N** (2003) SRC family kinases: potential targets for the treatment of human cancer and leukemia. *Curr Pharm Des.* 9:2043-2059.
- Yadav VS, Mishra KP, Singh DP, Mehrotra S, Singh VK** (2005) Immunomodulatory effects of curcumin. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 27: 485-497.