

Mouse cell에서 托裏消毒飲의 항산화작용과 항염증 효과

이상문 · 홍승욱

동국대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

The Effects of *Taglisodog-eum* Extract on Antioxidant and Antiinflammatory ability in mouse cell

Sang-Moon Lee · Seung-ug Hong

Background and Objectives : The aim of this study was to investigate the anti-oxidant and anti-inflammatory effects of the *Taglisodog-eum*(TSE) extract on the RAW264.7 cell

Methods : The RAW264.7 cell was cultured using Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, USA), including the 10% fetal-bovine serum(FBS; Sigma, USA) in a 37°C, 5% CO₂ incubator.

Results : The anti-oxidant ability of TSE were dose-dependantly increased. The LPS-induced IKK, iNOS and COX-2 mRNA expression were dose-dependantly decreased in the RAW264.7 cells treated with TSE. NF-κB activation was suppressed.

Conclusion : The findings in this study show that TSE has anti-oxidant and anti-inflammatory effects, such as the inhibition of NF-κB activity.

Key word : *Taglisodog-eum*, anti-oxidant, anti-inflammatory, NF-κB

1. 서 론

염증이란 생체에 어떤 자극에 의해 반응기전을 나타내는 현상이며 주증은 종창 발적(충혈) 발열 동통을 야기시키고 후에는 기능장애를 수반하게

된다. 또한 종창은 염증으로 기인한 조직 내에서 혈장 혈구 등이 혈관벽을 뚫고 나오는 체액이며 이의 삼출액이 지각신경말초를 압박하였을때 심한 동통이 발하게 된다¹⁾.

탁리소독음은 용저를 치료하는 처방으로 《萬病回春》²⁾에는 “治一切癰疽六七日未消者 服此藥 瘡未成即消 已成即潰 能壯氣血 固脾胃 使毒氣不能內攻 使毒膿易潰 肌肉易生” 라고 기록되어 있다.

탁리소독음은 임상적으로 諸癰疽, 급성 화농성

교신저자: 홍승욱, 경기도 고양시 일산구 식사동 814
동국대 일산한방병원 한방안이비인후피부과
(Tel: 031-961-9085, Fax: 031-961-9009,
E-mail: heenthsu@duih.org
• 접수 2007/10/31 • 수정 2007/11/20 • 채택 2007/12/03

임파선염, 화농성 중이염, 치루, 다발성 근염, 만성 골수염, 각막염 등 각종 염증성 질환에 응용할 수 있으며^{3,4)}, 이에 대한 실험적 연구로는 항알레르기 효과⁵⁾, 소염 작용 및 상처치유의 효과^{6,7)}, 항종양 및 면역 작용^{8,9)} 등이 있고, 조 등¹⁰⁾과 김 등¹¹⁾이 보고한 중이염과 만성 전립선염의 임상 연구는 있으나 아직 국내에서는 탁리소독음의 항산화 작용과 관련한 항염증 효과에 대한 실험 보고는 없었다.

이에 저자는 그 탁리소독음의 항산화작용과 항염증 효과를 조사하기 위해 RAW264.7 세포를 이용하여 NF- κ B 활성화와 염증 세포 생산에 관여하는 유전자의 발현 변화를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

실험에 사용한 마우스의 대식세포인 RAW264.7 세포는 Korean Cell Line Bank(KCLB; Korea)에서 구입하였다. 세포는 37℃, 5% CO₂ incubator에서 10% Fetal Bovine Serum(FBS; Sigma, USA)이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, USA)을 사용하여 배양하였다. 오염방지를 위해 항생제로 100 unit/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin (Gibco/BRL, USA)을 첨가하였다. 세포는 플라스크의 80% 정도 자랐을 때 인산완충용액(PBS : phosphate buffered saline)으로 씻어주고, Trypsin-EDTA(Gibco/BRL)를 처리하여 계대 배양하였다. 배지는 2일마다 교환하여 주었다.

실험에 사용된 탁리소독음(*Taglisodog-eum*, 이하 TSE)은 동국대학교 부속 한방병원에서 구입한 것을 사용하였다(Table 1). TSE 2첩을 증류수 500 ml에 넣고 3시간 동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50 ml으로

감압농축한 후 동결 건조하여 사용하였으며, 약물의 첨가농도는 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-YL)-2,5-Diphenyl-2H-tetrazolium bromide(MTT; Sigma) assay를 통해 결정하였다. MTT assay는 우선 96well plate에 RAW264.7 세포(5×10^3 cells/well)를 12시간 배양한 후 FBS를 첨가하지 않은 serum free medium(Sigma)으로 교환하여 4시간 동안 안정화시키고, 1, 5, 10, 20 mg/ml 농도로 TSE 추출물을 첨가하여 24시간 배양하였다. 그리고 MTT 2 mg/ml를 넣고, incubator에서 4시간 배양한 후 dimethylsulfoxide(DMSO; Sigma)로 용해시켜 595 nm의 파장에서 microplate reader (Molecular devices, USA)로 흡광도를 측정하여 세포생존율을 계산하였다. TSE 20 mg/ml까지는 세포생존율의 변화가 일어나지 않아 0.5, 1, 1.5 그리고 2 mg/ml를 첨가량으로 결정하였다.

Table 1. The Amount and Composition of TSE Extract

Herbal Name	Scientific Name	Dose(g)
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	12
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	12
黃芪蜜水炒	<i>Astragali Radix</i>	8
天花粉	<i>Trichosanthis Radix</i>	8
防風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	4
當歸酒洗	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	4
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	4
白芷	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	4
厚朴薑汁炒	<i>Magnoliae Cortex</i>	4
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4
穿山甲炒成珠	<i>Manitis Squama</i>	4
皂角刺炒	<i>Gleditsiae Spina</i>	4
Total amount		72

Abbreviation : TSE, *Taglisodog-eum*.

2. 실험 방법

항산화 능력을 측정하기 위해 Riboflavin을 이용한 활성산소 소거실험을 실시하였다. 우선 photocell에 40 mM buffer 2.6 ml, nitroblue

tetrazolium 100 μ l, EDTA/cyanide 200 μ l, riboflavin 100 μ l 그리고 항산화 능력을 측정할 농도별 TSE 추출물 100 μ l을 넣고 3회 섞어 주었다. Abs 560 nm에서 autozero를 잡고 light box에서 1분 동안 조사한 후 흡광도를 측정하였다. 이 작업을 7회 반복하여 평균값을 계산하였다.

NF- κ B 활성화에 관여하는 I κ B kinase(IKK), 염증 효소인 induce Nitric oxide synthase(iNOS), cyclooxygenase(COX)-2의 mRNA 발현 양상을 조사하기 위해 역전사증합효소연쇄반응법(Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)을 실시하였다. LPS로 NF- κ B 활성을 유도한 다음 24시간 동안 배양한 후 수거한 RNA를 trizol reagent(Sigma)를 사용하여 추출하고 UV-spectrophotometer(Shimadzu, Japan)로 순도와 농도를 측정하였다. RT-PCR kit(Premega, USA)를 이용하여 cDNA를 합성한 후 IKK와 iNOS primer를 PCR machine으로 반응시켰다 (Table 2). PCR 산물은 1-2% agarose gel상에서 전기 영동하여 relative intensity로 측정하였다. 한편 RT-PCR의 정확성을 평가하기 위하여 internal standard인 beta-actin의 증폭을 동시에 실시하였다. mRNA 발현의 relative intensity는 Optimas

5.2(Optima, USA)를 이용한 영상분석(image analysis)을 통해 비교하였다.

III. 실험 결과

1. 항산화 효과

TSE 추출물의 항산화 효율은 1 mg/ml에서 13 \pm 0.98%, 2 mg/ml에서 19 \pm 1.36%, 4 mg/ml에서 34 \pm 1.02%, 6 mg/ml에서 39 \pm 2.14%, 8 mg/ml에서 49 \pm 1.90%, 10 mg/ml에서 54 \pm 1.00%로 농도 의존적으로 증가하였다(Fig. 1).

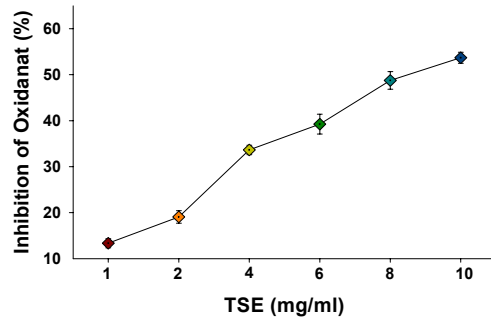


Fig. 1. The anti-oxidant effects of TSE. The anti-oxidant ability of TSE were dose-dependently increased. Abbreviation : TSE, *Taglisodog-eum*.

Table 2. The Primer of IKK, COX-2, iNOS and β -actin mRNA

Primer	Primer sequences	Product(bp)	No. of cycles	
IKK	sense	5'-CCACCCAGTTCACAAGTCT-3'	380	35
	antisense	5'-CCTCCACTGCGAATAGCTTC-3'		
iNOS	sense	5'-AGACTGGATTGGCTGGTCCCTCC-3'	527	30
	antisense	5'-AGAAGTGGAGGTACATGCTGGAGCC-3'		
COX-2	sense	5'-TCTCCAACCTCTCTACTAC-3'	624	35
	antisense	5'-GCACGTAGTCTTCGTTCACT-3'		
β -actin	sense	5'-GGAGAAGATCTGGCACCACACC-3'	840	35
	antisense	5'-CCTGCTTGCTGATCCACATCTGCTGG-3'		

Abbreviations : IKK, I κ B kinase; iNOS, inducible nitric oxide synthase; COX-2, cyclooxygenase-2.

2. NF- κ B 활성화 억제와 염증 효소 유전자 발현 억제

1) NF- κ B 활성화 억제

RAW264.7 세포에서 LPS 자극에 의해 IKK mRNA 발현이 증가하였고, TSE 추출물 처리 후에는 IKK mRNA 발현양이 TSE 추출물 처리 전에 비해 농도 의존적으로 0.5 mg/ml에서 4.9%, 1 mg/ml에서 28.3%, 1.5 mg/ml에서 48.3%, 2 mg/ml에서 48.4%로 감소하였다(Fig. 2).

2) 염증 효소 iNOS 발현 억제

RAW264.7 세포에서 LPS 자극에 의해 iNOS mRNA 발현이 증가하였고, TSE 추출물 처리 후에는 iNOS mRNA 발현양이 TSE 추출물 처리 전에 비해 농도 의존적으로 0.5 mg/ml에서 5.1%, 1 mg/ml에서 25.9%, 1.5 mg/ml에서 55.9%, 2 mg/ml에서 61.5%로 감소하였다(Fig. 2).

3) 염증 효소 COX-2 발현 억제

RAW264.7 세포에서 LPS 자극에 의해 COX-2 mRNA 발현이 증가하였고, TSE 추출물 처리 후에는 COX-2 mRNA 발현양이 TSE 추출물 처리 전에 비해 농도 의존적으로 0.5 mg/ml에서 18.5%, 1 mg/ml에서 22.5%, 1.5 mg/ml에서 36.3%, 2 mg/ml에서 38%로 감소하였다(Fig. 2).

IV. 고찰

탁리소독음은 癰疽를 치료하는 처방으로 구성약물 및 처방명에 대해 문헌마다 조금씩 차이가 있는데, 현재 탁리소독음이라고 불리는 처방의 출전은 許俊의 《東醫寶鑑》에 이르러 扶正위주의 《醫學入門》 처방과 祛邪위주의 《萬病回春》 처방을 기록하면서 이를 구분하기 위하여 “散”과 “飲”으로 구분하여 표기한 것으로 보고 있다⁸⁾. 그러나 《東醫寶鑑》의 托裏消毒散이 《方藥合編》

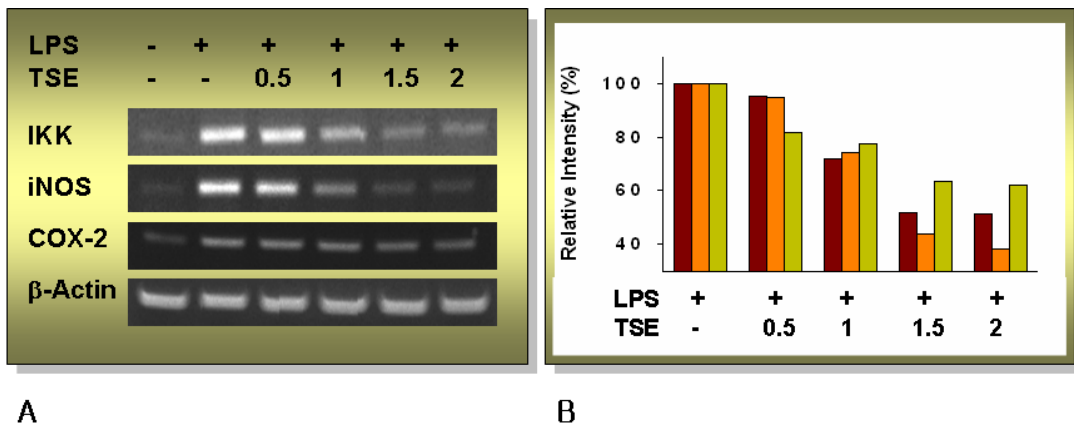


Fig. 2. *In vitro* test, the anti-inflammation effects of TSE.

A. Inhibition of IKK, iNOS and COX-2 mRNA expression.

The RAW264.7 cells were treated with LPS for 1 hour prior to the addition of indicated concentrations(0.5-2 mg/ml) of TSE, and the cells were further incubated for 24 hours. The LPS-induced IKK, iNOS and COX-2 mRNA expression were dose-dependantly decreased in the RAW264.7 cells treated with TSE.

B. Relative intensity for IKK (■), iNOS (■) and COX-2(■) mRNA expression.

Abbreviations : LPS, lipopolysaccharide; IKK, I κ B kinase; iNOS, induce Nitric oxide synthase; COX-2, cyclooxygenase-2.

에 탁리소독음으로 기재되면서 현재에는 《萬病回春》의 처방을 탁리소독음으로 인식하고 있는 것으로 생각된다.

본 연구에 사용된 탁리소독음은 《萬病回春》²⁾에 수록된 처방으로 “治一切癰疽六七日未消者 服此藥 瘡未成即消 已成即潰 能壯氣血 固脾胃 使毒氣不能內攻 使毒膿易潰 肌肉易生” 라고 기록되어 있다.

탁리소독음의 “托”은 手推를, “裏”는 裏內를, “消”는 消退를, “毒”은 毒膿을 의미하는 것으로 氣血을 補益하고 正氣를 扶助하여 膿毒을 裏內에서 外表로 托하여 毒邪의 內陷을 막아내는 처방이다²⁴⁾. 즉 祛邪作用은 金銀花를 중심으로 天花粉, 白芷, 皂角刺, 穿山甲, 防風 등이 清熱, 解毒, 消腫, 排膿, 發表의 효능으로 항염증 작용, 소염 작용, 진통 작용 등의 약리작용을 발휘하고, 扶正作用은 黃芪를 중심으로 當歸, 川芎, 陳皮, 桔梗, 枳殼 등이 益氣, 固表, 補血, 活血, 理氣의 효능으로 면역증강 작용, 항염증 작용, 심혈관계 작용, 중추신경계 작용 등의 약리작용을 발휘한다.

탁리소독음은 임상적으로 諸癰疽, 급성 화농성 임파선염, 화농성 중이염, 치루, 다발성 근염, 만성 골수염, 각막염 등 각종 염증성 질환에 응용할 수 있으며^{3,4)}, 이에 대한 실험적 연구로는 항알레르기 효과⁵⁾, 소염 작용 및 상처치유의 효과^{6,7)}, 항종양 및 면역 작용^{8,9)} 등이 있고, 조 등¹⁰⁾과 김 등¹¹⁾이 보고한 중이염과 만성 전립선염의 임상 연구는 있으나 아직 국내에서는 NF- κ B 활성화와 염증 세포 생산에 관여하는 유전자의 발현 변화를 통한 탁리소독음의 항산화효과와 항염증 효과에 대한 연구 보고는 없었다.

이에 저자는 탁리소독음이 급성 부비동염에 미치는 영향을 알아보기 위하여 *in vitro* 실험으로 RAW264.7 cell을 이용하여 NF- κ B 활성화에 관여하는 IKK 와 iNOS, COX-2의 mRNA 발현 변화를 조사하였다.

세균에 의한 감염으로 염증이 발생하면 조직내에서는 superoxide dismutase(SOD) 활성 증가와 glutathione peroxidase(GPx) 활성 감소를 보이며, 이는 생물체 내의 산소 대사과정 중에서 산화 스트레스가 심각하게 증가하였음을 나타낸다¹²⁾. 조직내의 산화 스트레스의 증가는 체내의 자유 라디칼이 과다하게 생성되거나 항산화 방어체계의 기능이 감소되었을 때 일어나게 되며¹³⁾, 이러한 변화는 초과산화이온(O₂⁻), 수산화자유기(·OH), 과산화수소 등 반응성이 강한 유리기의 다량 생성을 유도하고, 이런 활성 산소종(ROS, reactive oxygen species)들은 화학물질의 체내유입, 생체물질의 자가 산화, 노화 등에 의해 생성이 촉진되어 생체 내에서 단백질의 SH기나 DNA와 반응하여 화학결합의 절단이나 가교결합의 형성 등으로 생체 구성 분자의 구조적 변화를 일으킨다. 또한 세포막의 불포화지방산과 연쇄적인 반응을 통해 hydroxyepoxide, endoepoxide 및 polyepoxide 등과 같은 지질과산화물이 생성되어 malondialdehyde(MDA)로 분해되며, MDA의 함량이 증가하면 세포의 산화적 손상이 생리적 기능을 저하시키므로 간질환, 동맥경화 및 암 등의 여러 가지 질병을 초래하여 결국 노화와 유전적 장애의 원인이 된다. 자유라디칼에 대한 지질과산화 반응은 SOD, catalase, glutathion peroxidase, glutathion reductase 등의 항산화 효소와 항산화 영양소들로 이루어진 체내 방어체계에 의해서 억제된다. 본 실험에서는 탁리소독음 추출물이 농도-의존적으로 항산화 효능의 증가를 보였으며, 이는 탁리소독음이 산화 스트레스로 인한 조직손상에 대하여 보호 작용이 있을 것으로 생각된다.

산화 스트레스의 증가는 iNOS와 COX-2를 포함한 많은 유전자의 조절단백질 중의 하나인 NF- κ B/Rel를 활성화시켜 면역 반응과 염증 반응을 유도한다¹⁴⁾. 1986년 B cell에서 immunoglobulin κ light chain에 결합하는 인자로서 발견된 전사인자

NF- κ B는 p50 subunit family(p50, p52)와 p65 subunit family(p65, c-Rel, RelB)의 동종 이합체(homodimer) 또는 다종 이합체(heterodimer)로 구성되며, 보통 상태에서는 세포질에서 그 억제제(inhibitor)인 I κ B 단백질(I κ B α , I κ B β , I κ B γ , I κ B ϵ , Bcl3)들과 결합하고 있어 불활성화된 상태로 세포질에 존재한다. 그러나 cytokine(TNF- α , IL-1), 세균/바이러스 감염(LPS, dsRNA), 스트레스(ROI, UV, adriamycin, 방사선) 등의 다양한 자극에 의해 I κ B 단백질이 인산화되어 분해됨으로써 유리된 NF- κ B는 핵으로 들어가 표적 유전자의 NF- κ B 결합부위(공통서열 : 5'-GGGpuNNPyPyCC-3')에 결합하여 염증관련 유전자, anti-apoptosis 유전자 등의 발현을 유도한다¹⁵⁾. I κ B 단백질의 인산화는 I κ B 활성 효소로 알려진 IKK(IKK α , β)가 다양한 자극에 의해 활성화되어 I κ B 단백질의 세린 잔기(serine residue)를 인산화시키고, 인산화된 I κ B 단백질은 26S proteasome에 의해서 분해된다. 전사인자 NF- κ B는 TNF- α , IL-1 β 등의 proinflammatory cytokine과 LPS 등에 의해 활성화가 유도되어 염증 효소 iNOS와 COX-2 등의 발현을 증가시켜 염증 반응을 가속화함으로써 조직 손상을 유도한다¹⁶⁾.

iNOS는 활성 산소종의 일종인 산화질소를 생성하는데, 산화질소는 세포내 2차 신호전달자로서 전염증성 작용을 하는 것으로 알려져 있으나, 생체내 고농도의 산화질소 생성은 숙주세포의 파괴, Eosinophil의 증가 유도, 쇼크에 의한 혈관확장, 염증유발에 의한 조직의 상해를 초래할 수 있는 이중적 생물학적 성질을 가지고 있다. 또한 생성된 산화질소는 과산화이온의 반응으로 과산화질산염이나 수산화자유기를 형성하고, 세포막지질을 과산화하며, thiol, SH기를 산화하여 세포독성을 유발한다^{17,18)}. 또한 단백질인 tyrosine을 니트로화하여 3-nitrotyrosine을 형성하여 세포대사에 중요한 cytochrome p450을 억제하거나, 단백질 인산화를

억제하고 DNA 합성에 관여하는 효소계를 억제하는 독성 효과가 있다¹⁹⁾. 따라서 iNOS 발현 증가는 혈관투과성의 증가를 유도하여 산화 스트레스를 증가시켜 염증에 의한 조직 손상을 가속화시키는 데¹⁷⁾, 부비동염에서도 iNOS의 분비 증가가 일어나 산화질소에 의한 심각한 조직손상이 유발되는 것으로 보고되었다²⁰⁾.

유도성 동종효소(inducible isoform)로 섬유모세포와 대식세포를 포함한 여러 세포에서 발현되는 COX-2는 성장인자와 유사분열물질(mitogen)에 의해 유도되어 지속적으로 prostaglandin을 분비하여 다양한 만성 염증질환을 유발하고, 혈관이완과 혈관신생에도 관여한다^{21,22)}. 부비동염의 경우 이전 보고²³⁾에서는 COX-2가 관여하지 않는다고 하였으나, 최근 보고²⁴⁾에 의하면 혈관투과성 변화를 통해 비강 호흡점막의 염증 반응 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다.

본 실험에서는 RAW264.7 세포주에서 LPS 자극에 의해 IKK, iNOS와 COX-2의 mRNA 발현은 증가시켰는데, 탁리소독음 추출물 처리 후 농도 의존적으로 발현이 감소되었다.

이는 항산화능이 있는 탁리소독음이 LPS로 NF- κ B 활성이 유도된 RAW264.7 세포의 IKK 생성 억제를 통해 염증 효소 iNOS와 COX-2의 전사를 차단하고 mRNA 발현을 억제하여 조직 내 iNOS와 COX-2의 생성을 저해하여 염증 반응을 감소시키는 것으로 생각된다.

그러므로 각종 염증성 호흡기 질환에 대하여 항균 및 항염증 작용의 강화를 목적으로 탁리소독음을 응용할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

탁리소독음의 항산화작용과 항염증효과를 규명하기 위해 RAW264.7 세포를 이용하여 NF- κ B 발현과 염증 세포 생산에 관여하는 유전자의 발현

변화를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 탁리소독음 추출물의 항산화 효율은 농도 의존적으로 증가하였다.
2. RAW264.7 세포에서 LPS 자극에 의해 IKK, iNOS, COX-2의 mRNA 발현이 증가하였으나, 탁리소독음 추출물 처리 후에는 농도 의존적으로 감소하였다.

이상의 결과로 탁리소독음은 NF- κ B의 활성화 억제제를 통해 항산화, 항염증 작용을 일으키는 것을 확인하였다. 이러한 탁리소독음의 효과를 통해 다양한 염증성질환에 응용될수 있을 것으로 기대되며, 개별질환에 대한 탁리소독음의 효과를 검증하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Stanley L, Robbins, M.D. : Text Book of Path. 2nd ed., W.B. Saunders Company, 1963:61-5.
2. 龔廷賢. 萬病回春. 北京:人民衛生出版社. 1984:437.
3. 이재희. 도설한방진료요방. 원주:의방출판사. 2002:694-5.
4. 謝鳴. 中醫方劑現代研究(下卷). 北京:學苑出版社. 1997:1588-9.
5. 김경선, 이진용, 김덕곤. 탁리소독음의 항알레르기 효과에 관한 실험적 연구. 대한한방소아과학회지. 1994;8(1):27-37.
6. 강호건, 최병태, 김영희, 강호성, 김한도, 고우신. 용저에 사용되는 탁리소독음의 항염증효과. 대한한의학회지. 2000;21(1):45-52.
7. 서형식, 노석선. 가미탁리소독음이 창양 치유에 미치는 영향. 대한외관과학회지. 2001; 14(2):89-111.

8. 최웅, 최정화. 탁리소독산이 항종양 및 면역작용에 미치는 효과. 대한외관과학회지. 1999; 12(1):79-98.
9. 이형재. 남성호르몬 비의존형 전립선 암세포에서 탁리소독음 추출물의 세포고사 유도 효과. 원광대학교. 2003.
10. 조수현, 지선영, 이상곤. 탁리소독음의 중이염 치험 2례. 한방안이비인후피부과학회지. 2002; 15(1):301-7.
11. 김만호, 이지영, 이정원, 조충식, 김철중. 탁리소독음가미 처방을 투여한 만성 전립선염 환자 20례에 대한 임상적 고찰. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2002;11(1):103-10.
12. Uslu C, Taysi S, Bakan N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in experimental maxillary sinusitis. Ann Clin Lab Sci, 2003;33(1):18-22.
13. Park HH, Jang YJ, Choi DS, Namgung MA, Lee YJ, Kang SA. Increased oxydative stress in sciatic nerves of streptozotocin induced diabetic rat: Lack of vitamin C effect. *Diabetes*. 1995;19(3):279-86.
14. Xie QW, Kashiwabara Y, Nathan C. Role of transcription factor NF-kappa B/Rel in induction of nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 1994;269(7):4705-8.
15. Baeuerle P. A., Baltimore D. NF- κ B - Ten years after. *Cell*. 1996;87:13-20.
16. Andrea H., Thomas k., Josef P., Konrad S. Physiology and pathophysiology of sphingolipid metabolism and signaling. *Biochemica et Biophysica Acta*. 2000; 1485:63-99.
17. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet*. 1994;9:1199-206.
18. Radi R., Beckman J. S., Bush K. M.,

- Freeman B. A. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys*. 1991;288(2):481-7.
19. Villa L. M., Salas E., Darley-Usmar V. M., Radomski M. W., Moncada S. Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(26):12383-7.
20. Jeon SY, Kim JP, Kim EA, Ahn SK, Kim BG. Rat model of platelet-activating factor-induced rhinosinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2005;114(5):393-8.
21. H. J. Rothkötter, R. Pabst, M. Bailey. Lymphocyte migration in the intestinal mucosa : entry, transit and emigration of lymphoid cells and the influence of antigen. *Vetrinary Immuno immunopath*. 1999;72:157-65.
22. Tsujii, M., Kawano, S., Tsuji, S., Sawaoka, H., Hori, M., DuBois, R. N. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell*. 1998;93(5):705-16.
23. Demoly P, Crampette L, Lebel B, Campbell AM, Mondain M, Bousquet J. Expression of cyclo-oxygenase 1 and 2 proteins in upper respiratory mucosa. *Clin Exp Allergy*. 1998;28(3):278-83.
24. Gosepath J, Brieger J, Mann WJ. New immunohistologic findings on the differential role of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in nasal polyposis. *Am J Rhinol*. 2005;19(2):111-6.