상기생 물추출물이 대식세포 활성화와 Th1 반응에 미치는 효과

신혜영[1,2] · 장문희[1,2] · 김윤철[3] · 윤용갑[1,2]* · 박 현[1]*

1 : 원광대학교 인수공통감염병연구센터 및 의과대학 감염생물학교실, 2 : 한의과대학 방제학교실, 3 : 약학대학

Effect of Loranthi Ramuluswatet Extract on Macrophages Activation and Th1 Response

Hye Young Shin[1,2], Wen Ji Zhang[1,2], Youn Chul Kim[3], Yong Gab Yun[1,2]*, Hyun Park[1]*

1 : Department of Infection Biology, Zoonosis Research Center, College of Medicine,
2 : Department of Oriental Medical Prescription, Cllege of Oriental Medicine, 3 : College of Pharmacy, Wonkwang University

In the recently, increased concern has been focused on the pharmacology and clinical utility of herbal extracts and derivatives as a drug or adjunct to chemotherapy and immunotherapy. Here we investigated the effect of the water extract of *Loranthi Ramulus* (LR) in production of inflammatory mediators and expression of toll-like receptor (TLR)-4, CD14 from peritoneal macrophage. We assayed the effect of LR water extract in cell proliferation *in vitro* and Th1/Th2 cytokine level *in vivo*. In peritoneal macrophages, water extract of LR water extract increased the production of Nitric oxide (NO) and TNF-α. Also, LR water extract increased Con A-induced cell proliferation and IgG1, IgG2a level in serum. However, i.p. injection of water extract of LR water extract did not affect the level of TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-4 and IL-5 in serum of mice. These studies indicate that LR water extract induces macrophage activation and suggest the possible use of LR water extract in macrophage - based immunotherapies.

Key words : *Loranthi Ramulus* TNF-α, Nitric oxide, TLR4

서 론

상기생은 겨우살이과에 속하는 참나무, 팽나무, 물오리 나무, 밤나무 및 자작나무에 기생하는 늘푸른떨기 나무로서 우리나라 전역에 분포하고 산후 요통, 동상, 진정, 통경 및 동맥경화 등의 치료약으로서 사용되어 왔으며 민간에서는 면역 증강 및 항암 보조 요법제로 널리 사용되어 왔다[1]. 천연물 유래 항암 및 면역 활성 물질 연구에서 상기생이 민간에서 함암 및 면역증강제로 많이 사용됨을 알게 되었으며, 유효성분으로 quercetin, avicularin 등을 함유하고 있다는 것은 이미 보고된바 있다[2]. 또한 상기생의 트라이테르펜 및 페놀성 성분이 대식세포와 T, B세포의 면역조절에 관여하고 있음이 보고되었고, 대식세포의 reactive nitrogen intermediate, reactive oxygen intermediate 생성능 및 탐식능과 NK 세포의 활성능을 증가시킴이 보고되었다[3,4]. 이에 저자는 상기생 물추출물이 선천면역과 적응면역에 관여하는 인자들이 면역조절에 영향을 미치는지 관찰하고자 한다.

대식세포는 외부 병원균의 감염 시 다양한 염증인자 및 항균물질 분비, 식균작용 등을 통해 host defense에 중요한 역할을 수행한다. 대식세포는 선천면역계 및 적응면역계 모두에서 중요한 역할을 수행하여 secondary lymphoid organ 뿐 아니라 거의 모든 조직에 광범위하게 분포한다[5]. 또한 병원균 유래 위험인자 등에 반응하여 이들을 제거하고 각종 cytokines, chemokine 및 inflammatory mediators를 생성하여 개체의 다른 면역체계에 생체 내 감염이나 injury가 있음을 알리는 일차적인 역할을 수행한다[6]. 대식세포는 IFN-γ등의 사이토카인 수용체를 가지고 있다. 이들은 보체성분, 인터페론, IL-1 및 TNF와 같은 사이토카인을 생산하여 T-세포로부터 생산되는 다양한 사이토카인에 의해 기능이 증강될 수 있다[7]. 활성화된 대식세포에서 생산되는 NO는 비특이적 숙주방어 기작인 대식작용, 그리고 세균 및 암세포의 증식 억제활성을 보인다. 또한 TNF-α와 같은 사이토카인을 생산하여 감염초기의 반응에도 관여한다[8].

여러 위험인자의 인식에는 다양한 면역 수용체들이 관여하

* 교신저자 : 박현, 윤용갑, 원광대학교 인수공통감염병연구센터
· E-mail : hyunpk@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6768
· E-mail : yunyg@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6834
· 접수 : 2007/11/21 · 채택 : 2008/01/17

는데 이중에서도 TLR가 가장 중요한 역할을 한다는 것이 밝혀졌다. TLR은 현재까지 10여 종류가 선천면역 반응에 관여한다는 것이 알려져 있으며 흥미롭게도 이들 각각 혹은 서로의 조합에 의해 거의 모든 병원균을 인식할 수 있다[9].

면역조절에 관여하는 대부분의 T 세포는 IL-2, IFN-γ, TNF-α를 분비하는 Th1 type과 IL-4, IL-6 등을 분비하는 Th2 type이 있다. T 세포에서 분비되는 이런 사이토카인은 세포성 면역반응의 실행단계에서 작용을 나타내며, 면역 세포와 염증계간의 신호전달 과정에서도 중요한 역할을 한다[10,11]. TNF-α는 Th1세포로부터 생성되는 cytokine으로 단핵구 및 다른 형태의 세포를 자극하여 백혈구의 보충에 중요한 역할을 하는 chemokine을 분비토록 하며, 염증성 백혈구를 활성화시켜 미생물을 죽이도록 한다[12]. IFN-γ는 T 세포에 작용하여 Th1세포의 분화를 촉진시킴과 동시에 Th2세포의 증식을 억제한다[13]. IFN-γ는 type II interferon이라고 하며 CD4 T 세포나 CD8 T 세포에 의해 만들어져 면역 반응을 조절하기 때문에 immune interferon이라고 부른다. IFN-γ는 T, B세포, neutrophils, NK cell, vascular endothelial 세포에 작용하여 그들을 활성화시킬 수 있으며 macrophage activating factor로 작용하여 MHC class I, II 발현을 증가시키기도 한다[14].

이에 저자들은 상기생 물추출물을 가지고 선천 면역과 후천 면역에 관계되는 여러 가지 인자를 연구의 대상으로 하여 실험하였다. 대식세포로부터 inflammatory mediator의 생산, TLR4와 CD14 발현과 splenocyte로부터 세포 증식과 Th1/Th2 cytokine 생성에 관한 연구를 통하여 상기생 물추출물의 면역조절 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시료의 조제

한국식물추출물은행으로부터 전통적인 생약추출 방법인 약탕기를 사용하여 추출한 후 여과하여 건조 시킨 생약시료를 분양 받아 실험에 이용하였다. 상기생을 자연 건조시킨 후 잘게 세절하여, 건조된 상기생 1 kg에 증류수 2 L를 가하여 70℃에서 가열추출을 3회 행한 후, 여과하고 가압 농축하여 동결건조 한 후 상기생 물추출물 3 g을 수득하였다.

2. Mouse splenocytes 와 macrophages 준비

C57BL/6 마우스로부터 spleen을 분리하여 micro slide glass로 잘개 으깬 뒤, 0.4 um nylon cell strainer로 여과하였다. 1200 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 증류수를 이용하여 적혈구를 파괴하였다. Splenocyte를 세척하여 RPMI-1640으로 부유한 후 cell 수를 측정하였다. C57BL/6 마우스 복강에 3% thioglycollate를 주입하고, 4일 뒤 경추 탈골하여 도살시킨 다음, 복강에 PBS를 넣어 peritoneal macrophage를 분리하였다. 분리된 macrophage는 세척하여 RPMI-1640으로 부유한 후 cell 수를 측정하였다.

3. Nitric oxide 측정

peritoneal macrophage를 96웰 마이크로 플레이트에 웰 당 4×10^5씩 분주한 후 50 ㎍/ml 또는 100 ㎍/ml의 상기 상기생 물추출물을 처리한 후 37℃, 5% CO_2 조건에서 24시간 후에 상층액을 취하여 Griess reagent를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 nitric oxide의 농도를 구한다.

4. TNF-a 측정

peritoneal macrophage와 splenocytes를 96 웰 마이크로 플레이트에 웰 당 $4X10^5$ cells씩 분주한 후 50 ug/ml 또는 100 ug/ml의 상기생 추출물을 37℃, 5% CO_2 조건에서 24시간 처리하였다. LPS는 대조군으로 1 ug/ml을 처리하였다. 상층액을 취하여 sandwich ELISA 방법으로 TNF-α의 양을 측정하였다.

5. FACS 측정

세포에 1×10^6에 non-specific binding을 피하기 위해 Fc-blocker를 4℃에서 30분간 처리하고 세척을 하였다. Monoclonal antibody, isotype-matched control로 ice에서 30분간 staining을 하였다. Staining된 세포는 FITC anti-mouse TLR4, PE-anti-mouse CD14로 staining을 한 후, FACS Cabilibur (Becton-Dickinson)으로 분석을 하였다.

6. 마우스 splenocyte의 증식에 미치는 효과

마우스로부터 spleen을 취하여 fractionation하지 않은 splenocyte를 분리한 다음 96 웰 마이크로 플레이트에 1×10^6 세포를 분주한다. 상기생 추출물 50 ㎍/ml을 24시간 동안 Con A 없이 혹은 Con A를 넣은 다음 mouse splenocyte의 증식을 MTS assay를 통해 조사해 보았다

7. 마우스 혈청내의 Th1/Th2 cytokine level 측정

마우스에 상기생 추출물을 4 mg/500 ul를 복강에 주입하고 7일 후에 마우스의 혈액을 심장에서 채혈하여 혈청을 분리하였다. 그리고 CBA kit (Th1/Th2 cytokine assay kit, BD science)를 이용하여 혈청내의 cytokine level을 측정하였다.

결 과

1. 상기생 물추출물의 NO 및 TNF-α 생성에 미치는 효과

상기생 물추출물의 대식세포에서 면역 조절 효과를 알아보기 위해 primary peritoneal macrophage에서 NO 와 염증매개 물질(inflammatory mediator)인 TNF-α 생성을 측정하였다. peritoneal macrophage에 상기생 물추출물 100 ug/ml과 positive control로서 LPS 1 ug/ml을 24시간 처리한 후 Griess 반응으로 NO 생성을 측정한 결과 LPS 처리군과 비슷한 양상으로 증가하는 것을 관찰하였다(Fig. 1A). ELISA 방법으로 TNF-α 생성을 측정하였다. 또한 상기생 물추출물 50, 100 ug/ml과 positive control로서 LPS 1, 10 ug/ml을 24시간 처리한 후 ELISA 방법으로 TNF-α 생성을 측정한 결과, 상기생 물추출물 50, 100 ug/ml 두 농도에서 현저하게 증가함을 관찰하였다(Fig. 1B).

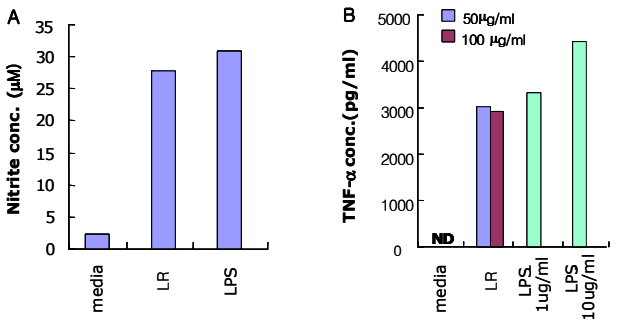

Fig. 1. Effect of LR water extract in NO and TNF-α production from peritoneal macrophages. Peritoneal macrophages were cultured with various concentrations LR water extract (50, 100 ug/ml). After 24h of culture, NO (A)and TNF-α (B) production were measured by the Griess method and ELISA, respectively.

2. 상기생 물추출물의 TLR4와 CD14 발현에 미치는 효과

TLR4는 non-self를 인식하는 수용체로 작용하며 선천성 및 후천성 면역 세포의 면역 반응을 활성화시킴으로써 생체를 감염으로부터 방어하는 리셉터로 알려져 있다. 본 연구에서는 상기생 물추출물이 TLR4와 CD14 발현에 영향을 미치는지 알아보았다. 마우스 대식세포를 분리하여 1×10^6 세포에 상기생 물추출물을 100 mg/ml을 24시간 처리한 뒤 LPS와 LBP 복합체의 공동 수용체인 TLR4와 CD14의 발현이 증가함을 보여줬다(Fig. 2).

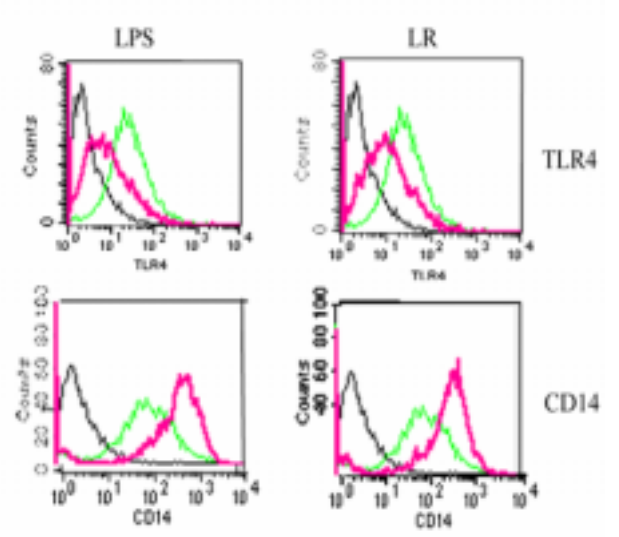

Fig. 2. Effect of LR water extract on the expression of TLR-4 receptor and CD14 in PM. PM was treated for 24h at 37℃ with LPS (0.5 ㎍/ml) or LR water extract (50 ㎍/ml). After washing, 1×10^6 cells/tube, cells were stained for 30 min at 37℃ with FITC-labeled monoclonal antibodies to TLR-4 and CD14 (unstained control (green lines), antibody stained control (red lines)). These cells were also stained with isotype-matched control antibody (black lines). The expression levels of cell surface molecules were determined using FACS analysis. Data are representative of at least three independent experiments.

3. 상기생 물추출물의 세포 증식에 미치는 효과

상기생 물추출물이 적응 면역 반응에 영향을 주는지 알아보기 위해, 마우스로부터 분리한 splenocytes($1X10^6$cells/well)에 상기생 물추출물 50 ㎍/ml을 24시간 동안 상기생 물추출물 단독 또는 Con-A와 함께 처리하였을 때 mouse splenocyte의 증식을 MTS assay를 통해 조사해 보았다. 상기생 물추출물은 단독처리했을 때뿐만 아니라 Con-A와 함께 처리하였을 때 모두 세포증식을 증가시킴을 확인하였다(Fig. 3).

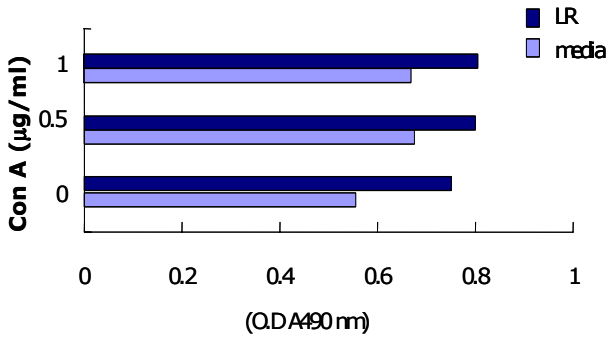

Fig. 3 Effect of LR water extract on proliferation ofsplenocytes. Isolated splenocytes ($1X10^6$/ml) from C57BL/6N mice were cultured with LR water extract at 37℃ in a humidified 5% CO_2 atmosphere for 24hr. Proliferation of splenocytes was performed by MTS assay.

4. 상기생 물추출물의 Th1/Th2 cytokine 생성에 미치는 효과

C57BL/6 마우스에 상기생 물추출물을 복강 주입하고 7일 후에 마우스 혈액을 심장 채혈하여 혈청을 분리하였다. 그리고 CBA kit를 이용하여 혈청내의 사이토카인 분비 정도를 확인 하였다. 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 상기생 물추출물을 복강 주입 하였을 때 Th1 사이토카인 TNF-α, IFN-γ, IL-2와 Th2 사이토카인 IL-4, IL-5의 레벨에는 영향을 주지 않았다. 하지만 혈청내의 IgG1과 IgG2a level은 control에 비해 증가함을 확인하였다(Fig. 5).

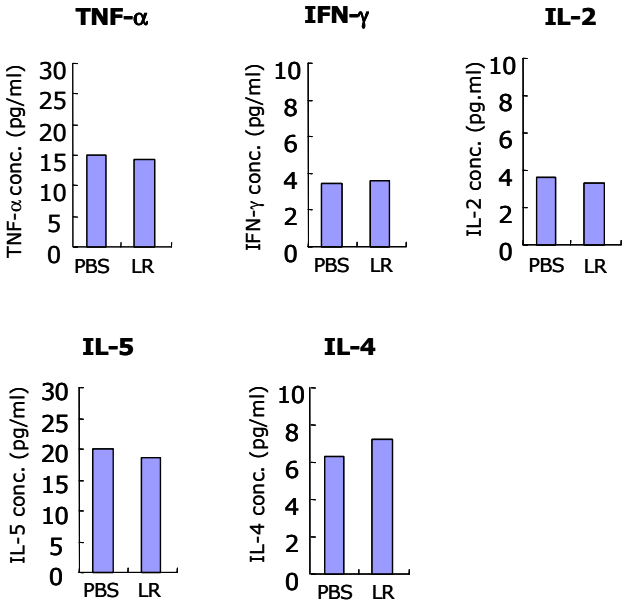

Fig. 4. Effect of LR water extract on Th1/Th2 cytokine level in serum. 7-week-old C57BL/6 mice were I.P. injection with the water extract of LR. Control group was given PBS. 5 types of cytokine were measured in serum isolated from mice using BD Mouse Th1/Th2 cytokine CBA kit according to the recommended manufacture.

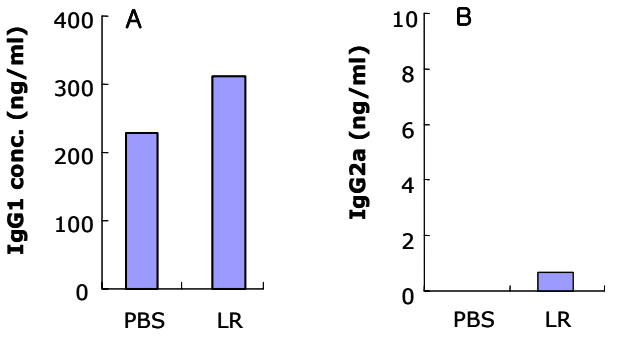

Fig. 5. Effect of LR water extract on IgG1 and IgG2a level in serum. 7-week-old C57BL/6 mice were I.P. injection with the water extract of LR. Control group was given PBS. IgG1 and IgG2a level were measured in serum using ELISA method.

고 찰

지금까지 현존하는 모든 생물체들은 자기와 생물학적으로 구별되는 비자기 감염원과의 끊임없는 상호작용을 통하여 자신을 감염원으로부터 방어할 수 있는 면역체계를 발전시켜왔다. 자연 면역 반응에 관여하는 중요한 면역 세포는 대식세포다. 대식세포는 항바이러스 효과뿐만 아니라 항암 작용도 가지고 있다. 이러한 항암작용은 대식세포가 활성화 단계를 거쳐 여러 가지 기능이 변화되면서 암세포를 죽일 수 있는 fully activated macrophage 상태로 전환되어서 나타난다[15]. 활성화된 대식세포는 다양한 염증성 매개물질과 사이토카인을 분비하게 된다. 그 중에서 NO는 대식세포의 항 미생물작용과 항암 작용의 중요한 매개물 이라는 사실이 밝혀졌다. 암세포 사멸에 관한 최초의 발견은 암세포와 대식세포를 함께 배양했을 때 대식세포를 자극함으로써 암세포가 사멸되는 현상을 통해 밝혀 졌다[16]. NO는 유도성 산화질소 합성 효소로부터 guanidine nitrogen을 이용해 합성되며 생체내에서 강력한 활성을 나타내며 생체 방어에 대단히 중요한 인자이다. 따라서 상기생 물추출물이 직접 대식세포를 활성화시키는지 알아보기 위하여, 활성화된 대식세포로부터 분비되는 중요한 매개물질인 NO와 TNF-α의 생성을 먼저 측정한 결과, positive control로 사용한 LPS와 유사한 양상으로 NO 생성량을 증가시킴을 확인하였다(Fig. 1A). TNF-α의 생성도 비슷한 결과를 보여줌을 확인하였다(Fig. 1B). NO는 macrophage가분비하는 세포 독성물질로[17], TNF-a는 LPS에 의해 자극된 macrophage에서 분비되는 항암작용 cytokine으로 잘 알려져 있기 때문에[18], 이와 같이 상기생 물추출물에 의한 NO 와 TNF-α의 생성 증가는 macrophage 활성화를 통한 선천 면역 반응에 관여함을 나타낸다. TLR은 박테리아, 곰팡이에서 유래한 pathogen-associated molecular patten을 인식하는 수용체이다. TLR4는 LPS 수용체로 LPS와 결합하여 염증성 세포활성물질의 분비를 자극한다. 즉, TLR4, MD2, CD14로 구성된 수용체 복합체는 LPS를 인식하여 숙주세포에 위험신호를 보내고 면역 반응을 시작한다[19]. 본 연구에서 상기생 물추출물은 LPS와 유사하게 TLR4와 co-receptor인 CD14의 발현을 증가시킴을 확인했다(Fig. 2).

세포매개 면역 중 T세포는 면역계 중 가장 중요한 부분을 차지하고 있으며 외부로부터 침입하는 바이러스, 박테리아, 기생충에 대해 저항력을 가지고 대항할 수 있도록 한다. T 세포는 항체를 생산하는 B세포에 작용하여 항체를 만들도록 하며, 대식세포에 작용하여 대식세포를 활성화시키기도 하고 cytotoxic T cell에 작용하여 그들을 활성화시킨다. Th1 세포로부터 분비되는 사이토카인 중에 TNF-α는 IFN-γ에 의해 생성이 증가하며, 또한 IFN-γ에 의해 유도된 NO의 생성을 증폭시킴으로서 auto-crine signal로서 작용을 한다. Th2 세포에서 분비되는 IL-4, IL-5 등의 사이토카인은 주로 단핵구, 호중구 그리고 호산구와 같은 염증세포의 기능을 조절하거나 활성화시킨다. 이에 저자는 *in vivo* 모델을 이용하여 상기생 물추출물이 Th1/Th2 cytokine level에 영향을 주는지 실험하였으나 유효한 효과를 얻지 못했다(Fig. 4). 하지만Th1과 Th2 반응을 매개하는 것으로 알려져 있는 IgG1과 IgG2a level이 control 군에 비해 증가함을 확인하였다(Fig. 5). 또한 상기생 물추출물은 splenocyte에서 단독처리에 의해 또는 Con A와 같이 처리하였을 때 모두에서 세포의 증식을 증가시켰다. 이러한 결과는 상기생 물추출물이 세포의 증식을 증가시킴으로써 미약하지만 Th 반응에 관여하고 있음을 제시해 주고 있다.

이 연구를 통해 상기생 물추출물을 유효성분으로 하는 면역증강용 조성물을 함유하는 건강 식품 보조제 또는 약재 조성물 개발로 동물을 비롯한 사람에게도 면역 증강을 유도 할 수 있음을 시사하며 인수 공통감염 모델에의 적용에도 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

상기생 물추출물을 가지고 선천 면역과 후천 면역에 관계되는 여러 가지 인자를 연구의 대상으로 하여, 대식세포로부터 inflammatory mediator인 NO와 TNF-α의 생성과 패턴인식리셉터인 TLR4와 CD14 발현을, splenocyte로부터 세포 증식과 Th1/Th2 cytokine 생성을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

상기생 물추출물은 대식세포로부터 항미생물, 항암 작용을 하는 NO, TNF-α의 생성을 증가시켰고 TLR4와 CD14 발현을 약간 증가시킴으로써 선천 면역 작용에 관여하고 있음을 보여 줬다. 또한 splenocyte에서 상기생 물추출물 단독 또는 마이토젠인 Con A와 같이 처리하였을 때 세포 증식이 증가되었다. *In vivo* 실험에서 상기생물 추출물을 경구투여한 그룹의 혈청에서 Th1, Th2 사이토카인 레벨을 측정한 결과 영향을 주지 않고 있으나 혈청내의 IgG1과 IgG2a level이 control에 비해 증가되었고 이것은 적응면역 반응에도 관여하고 있음을 시사해 주고 있다.

감사의 글

이 논문은 2007년도 정부 (교육인적 자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (KRF-2007-359-E00011). 또한 산업자원부 지방기술혁신사업 (RIT05-03-02)지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bae, K.H. The Medicinal Plants of Korea, Kyo-Hak Publishing Co. Seoul, Korea, p 79, 2000.
2. Choi, S.Z., Kwon, H.C., Chung, A.K., Choi, S.U., Kim, K.R., Lee, S.M., Pyo, S.N. and Lee, K.R. Triterpenes and Phenolic Constituents from Viscum album L. Yakhak Hoeji. 45: 591-598, 2001.
3. Park, D.S., Choi, S.Z., Kim, K.R., Lee, S.M., Lee, K.R., Pyo, S.K. Immunmodulatory activity of triterpenes and phenolic compounds from Viscum Album L. J Appl Pharm. 11: 1-4, 2003.
4. 신민교, 송호준, 황금택. 상기생 및 곡기생 전탕액이 마우스의 항종양 면역반응에 미치는 영향. 본초분과학회지 9: 25-47, 1994.
5. Janeway, C.J., Medzhitov, R. Innate immune recognition. Annu RevImmunol. 20: 197-216, 2002.
6. Matzinger, P. The danger model: a renewed sense of self. Science. 296: 301-305, 2002.
7. Nacy, C.A., Meltzer, M.S. T-cell-mediated activation of macrophages, Curr Opin Immunol. 3: 330-335, 1991.
8. Sorimachi, K., Akimoto, K., Ikehara, Y., Inafuku, K., Okubo, A., Yamazaki, S. Secretino of TNF-a, IL-8 and Nitric oxide by Macrophages Activated with Aguricus blazei Murill Fractions in vitro. Cell structure and function. 26: 103-108, 2001.
9. Akira, S., Takeda, K. Toll-like receptor signaling. Nature Rev Immunol. 4: 499-511, 2004.
10. Khayyamian, S., Hutloff, A., Buchner, K., Grafe, M., Henn, V., Kroczek, R.A., Mages, H.W. ICOS-ligand, expressed on human endothelial cells, costimulates Th1 and Th2 cytokine secretion by memory CD^{4+} T cells. Proc Natl Acad Sci USA. 99: 6198-6203, 2002.
11. Marzo, A.L., Vezys, V., Williams, K., Tough, D.F., Lefrancois, L. Tissue-level regulation of Th1 and Th2 primary and memory CD4 T cells in response to listeria infection. J Immunol. 168: 4504-4510, 2002.
12. Kimer, A.K., Vollmar, A.M. The atrial natriuretic peptide regulates the production of inflammatory mediators in macrophages. Ann Rheum Dis. 60: 68-70, 2001.
13. Chang, T.T., Stevens, S.R. Atopic dermatitis: the role of recombinant interferon-gamma therapy. Am J Clin Dermatol. 3: 175-183, 2002.
14. Kim, K.A., Kim, S., Chang, I., Kim, G.S., Min, Y.K., Lee, M.K., Kim, K.W., Lee, M.S. IFN gamma/TNF alpha synergism in MHC class II induction: effect of nicotinamide on MHC class II expression but not on islet-cell apoptosis. Diabetologia. 45: 385-393, 2002.
15. Adams, D.O., Hamilton, T.A. The cell biology of macrophage activation. Annu Rev Immunol. 2: 283-318, 1984.
16. Jeong, H.J., Koo, H.N., Oh, E.Y., Chae, H.J., Kim, H.R., Suh, S.B., Kim, C.H., Cho, K.H., Park, B.R., Park, S.T., Lee, Y.M., Kim, H.M. Nitric oxide production by high molecular weight water-soluble chitosan via nuclear factor-kappaB activation. Int J Immunopharmacol. 22: 923-933, 2000.
17. Hibbs, J.B. Jr., Taintor, R.R., Vavrin, Z., Rachlin, E.M. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. Biochem Biophys Res Commun. 157: 87-94, 1988.
18. Mavier, P., Edgington, T.S. Human monocyte-mediated tumor cytotoxicity. I. Demonstration of an oxygen-dependent myeloperoxidase-independent mechanism. J Immunol. 132: 1980-1986, 1984.
19. Fitzgerald, K.A., Palsson-McDermott, E.M., Bowie, A.G., Jefferies, C.A., Mansell, A.S., Brady, G., Brint, E., Dunne, A., Gray, P., Harte, M.T., McMurray, D., Smith, D.E., Sims, J.E., Bird, T.A., O'Neill, L.A. Mal (MyD88-adapter-like) is required for Toll-like receptor-4 signal transduction. Nature. 413: 78-83, 2001.