

오령지 물추출물이 혈관내피세포의 chemokine 생성에 미치는 영향

문창민 · 권강범 · 유도곤*

원광대학교 한의과대학 한방생리학교실 & 한국전통의학연구소

Effects of *Faeces Trogopteroni* on the Production of Chemokine in HUVECs

Chang Min Moon, Kang Beom Kwon, Do Gon Ryu*

Department of Physiology, School of Oriental Medicine & Research Center of Traditional Korea Medicine, Wonkwang University

In order to validate the use of *Faeces Trogopteroni* as an anti-inflammatory drug in the traditional Korean medicine, I have investigated the effect of water-soluble extract of *F. Trogopteroni* (EFT) on the production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), of which chemokine stimulates the migration of mononuclear cells, in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) stimulated with tumor necrosis factor-alpha. The extract inhibited dose-dependently MCP-1 production without its cytotoxic effect on HUVECs, as measured by enzyme-linked immunosorbent assay, and significantly decreased mRNA levels of MCP-1, as determined using reverse transcription polymerase chain reaction. These results suggest that *F. Trogopteroni* may have therapeutic potential in the control of endothelial disorders caused by inflammation.

Key words : extract of *Faeces Trogopteroni*(EFT), human umbilical vein endothelial cells, macrophage chemoattractant protein-1

서 론

五靈脂(오령지, *Faeces Trogopteroni*)는 鼯鼠科 (하늘다람쥐과, Patauristidae)에 속한 하늘다람쥐 및 날쥐 등의 糞便으로 肝經血分으로 들어가 血脈을 通利함으로써 瘀血을 消散시키는 活血散瘀·止痛의 효능으로 宋代의 開寶本草에 처음으로 기재된 이후 血滯經閉, 經痛, 產後惡露不下, 下腹疼痛, 胃痛, 撲損瘀血 등의 모든 血滯로 인한 疼痛의 병증을 다스리는 單方 或 複方^{1,7)}으로 임상에서 활용되어 왔다.

오령지는 Triterpene 계열 화합물로 gorenshic acid, 樹脂, 비타민A, 尿素, 尿酸등을 함유하고 있고 結核菌등에 억제작용이 있으며 平滑근의 경련을 완화시킬 수 있어 止痛작용과 백혈구를 증가시킬 수 있다^{3,4)}고 보고되어있다.

최근 오령지에 대한 실험적 연구로 정⁸⁾ 등은 오령지의 물 추

출물이 실험 mice에 경구투여한 후 지혈 효능을 조사하여 유의한 결과가 있음을 보고하였고 위 분비를 억제하고 위 점막을 보호하는 작용⁹⁾과 인삼근과 함께 투여하여 자극에 대한 저항성이 향상되고 종양상태의 랫드 수명이 연장된다¹⁰⁾는 보고가 있었다. 한의학에서 오령지가 血脈을 通利하여 瘀血로 인한 血滯를 다스린다는데 착안하여 혈관염증에 미치는 기전을 조사하기 위하여 본 실험에 착수하였다.

활성화된 대식세포는 여러 가지 국소적이며 원위 효과를 갖는 일정범위의 cytokine을 분비하는데 감염조직에서 감염 초기에 유리되는 cytokine중에서 chemokine 이라고 알려진 화학주성 cytokine 계열의 구성원들이 있다. 이러한 분자들은 반응성세포들 주위에서 방향 지어진 화학주성을 유도하며 최근에 발견되었다. 또한 chemokine의 기능은 혈액으로부터 단구, 호중구, 다른 효과세포들을 감염 장소로 동원하는데 주로 백혈구들의 화학주성물질로 작용한다^{11,12)}. chemokine은 세포 동원에 있어 단독으로 작용하지 않으며 혈관내피에 근접한 백혈구들을 가져오는 혈관 활성 매개물들과 내피세포들이 필요한 부착분자들을 유도

* 교신저자 : 유도곤, 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학

· E-mail : tkryu@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6846

· 접수 : 2010/09/27 · 수정 : 2010/10/07 · 채택 : 2010/10/14

하는 TNF- α 등의 cytokine작용을 필요한다^{13,14})고 알려져 있다.

이에 저자는 오렁지의 혈관내의 항염증효과를 chemokine level에서 실험적으로 구명하기 위해서 오렁지 물 추출물(EFT)이 혈관 내피세포의 IL-8와 MCP-1 생성 및 단핵구 유입에 미치는 효과를 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻은 바 이를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

배양배지 (RPMI 1640), antibiotic/antimycotic 및 Trypsin-EDTA 는 Gibco/BRL (Grand Island, NY, USA)로부터 구입하였다. DAPI (4',6-diamidino-2-phenyl-indole)는 Molecular Probe 사 (Willow Creek Re., OR, USA)로부터 구입하고 FBS (fetal bovine serum)는 U.S. Bio-Technologies 사로부터 구입하여 사용하였다. TNF- α (tumor necrosis factor-alpha) cytokine은 R&D (Minneapolis, MN, USA) 사로부터 구입하였고 IL-8 (interleukin-8) 및 MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) 항체는 Santa Cruz 사 (Santa Cruz, CA, USA)로부터 구입하여 사용하였다. Sodium bicarbonate 및 기본 시약들은 Sigma 사 (St. Louis, Missouri, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 모든 세포배양 용기 및 튜브는 Falcon 사 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)로부터 구입하여 사용하였다. IL-8 및 MCP-1 ELISA Kit는 R&D 사로부터 구입하여 사용하였다.

2. 세포배양

인체 배꼽정맥 내피세포 (human umbilical vein endothelial cells ; HUVEC)를 Clonetics 사 (Cambrex Bio Science Rockland, USA)로부터 구입하여 10% FBS, antibiotic/antimycotic (100 U/mL penicillin, 25 μ g/mL amphotericin D, 100 μ g/mL streptomycin) 및 1.5% sodium bicarbonate가 첨가된 RPMI 1640 배지에서 95% 공기, 5% CO₂, 습기가 충분한 37°C의 대기로 배양하였다. 세포는 10 cm 배양접시에 2 \times 10⁶ 개가 되도록 2~3일에 한 번씩 분주하여 배양하였다.

3. 약물 및 추출

본 연구에 사용된 약제 五靈脂(Extract of Faeces Trogopterori (EFT))는 원광대학교 익산 한방병원에서 구입하여 사용하였다. 약제 100 g과 3차 증류수 0.9 L를 둥근바닥 플라스크에 넣고 냉각기를 부착한 다음 3시간 동안 전탕한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 상층액을 취해 회전 진공 농축기로 감압 농축하였다. 농축된 시료는 동결 건조기에서 건조(20.4 g)한 다음 DMSO에 녹여 사용하였다.

4. IL-8 및 MCP-1의 ELISA 분석

HUVEC 세포의 자극에 의해 분비되는 chemokine (IL-8, MCP-1)의 양을 측정하기 위하여 ELISA (enzyme linked immunosorbant assay) kit를 이용하여 분석하였다. 모든 분석과

정은 지침서의 순서에 따라 수행하였다.

5. Chemotaxis 분석

48-well chemotaxis chamber (Neuroprobe, MD, USA), 6.5 μ g/mL fibronectin (Sigma, UK)이 양쪽 면에 코팅된 8- μ m pore의 polyvinylpyrrolidone-free polycarbonate membrane을 이용한 Boyden chamber technique으로 단핵세포의 chemotactic response를 조사하였다. 배양배지로 chemokine을 희석하고 20~100 ng/mL의 농도 범위로 하여 웰의 아래층에 첨가한다. 단핵세포 (1 \times 10⁶ cells/mL)를 상층에 첨가하고 1시간 동안 37°C에서 배양한 후 membrane을 제거하여 methanol에 5분 동안 담가 세포를 고정하였다. 이들 세포를 haematoxylin으로 5분 동안 염색하고 Scots Tap water (magnesium sulfate, sodium bicarbonate를 함유하는 증류수)에 2시간 동안 담가 둔 후 세포의 수를 계측하여 비교하였다.

6. RT-PCR

전체 RNA를 Trizol reagent (Gibco/BRL)를 이용하여 분리하고 Gene Quant (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg, Germany)로 정량하였다. 5 μ g RNA를 취하여 70°C에서 불활성화 시킨 다음 1X 1st strand buffer, 0.5 mM dNTP, 15 μ g/ μ L Oligo(dT), 10 U/ μ L reverse transcriptase 및 2 U/ μ L RNase inhibitor와 혼합하여 42°C에서 40분 동안 reverse transcription (RT)을 수행하여 cDNA를 합성하고 다시 70°C에서 10분 동안 불활성화 시켰다. IL-8 및 MCP-1 유전자 발현을 확인하기 위하여 RT로부터 만든 cDNA를 1X PCR buffer, 0.2 mM dNTP, PCR primer 및 0.03 U/ μ L Taq Polymerase를 혼합하여 polymerase chain reaction (PCR, GeneAmp RNA PCR kit, Perkin-Elmer Corp., Weiterstadt, Germany)을 시켜 분석하였다. PCR 수행시 온도 및 시간은 94°C/1 min (1 cycle); 94°C/1min, 57°C/40 sec, 70°C/40 sec (27 cycles); 72°C/7 min이었고 각각 primer는 IL-8 : sense 5'-ATG ACT TCC AAG CTG GCC GTG GCT-3', antisense 5'-TCT CAG CCC TCT TCA TCA AAA ACT TCT C-3', MCP-1 : sense 5'-CTG CCC TTG CTG TCC TCC TCT G-3', antisense 5'-CTG CCG GCT TCG CTT GGT TA-3' 및 GAPDH sense 5'-GAG TCA ACG GAT TTG GTC GT-3', antisense 5'-GTT GTC ATG GAT GAC CTT GG-3'이었다. PCR 후 얻어진 생성물을 0.5 μ g/mL EtBr (ethidium bromide)가 포함된 1.5% agarose gel 상에서 전기영동하여 각각 발현된 유전자의 band를 확인하였다.

7. DAPI를 이용한 세포 핵 염색

HUVEC 세포를 웰 당 1 \times 10⁵ 개가 되도록 계측하여 4-웰에 seeding한 다음 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 배지를 이용하여 배양하였다. 자극 처리 후 70% Ethanol로 세포를 고정한 다음 PBS로 세척하고 DAPI를 처리하여 상온에서 10분 동안 염색하였다. 염색된 세포를 다시 PBS로 세척한 다음 형광현미경을 이용하여 조사하였다(PALM, Microlaser Technologies, Bernried,

Germany).

8. 통계분석

실험 결과는 mean ± S.D.로 표시하였으며 유의성 검정은 student's t-test에 의하였으며 p 값이 0.01 이하인 것만 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

1. 五靈脂 물 추출물(EFT)의 세포독성 효과

HUVEC 세포에서 오령지 추출물(EFT)의 세포독성을 고찰하였다. EFT를 최소 50 µg/mL에서 최대 200 µg/mL까지 처리한 다음 24 시간 후에 이들 세포를 DAPI/rhodamine 염색하여 세포 독성 및 세포 수를 확인하였다. Fig. 1에 보인 바와 같이 HUVEC 세포는 EFT의 처리농도 및 처리시간에 의해 어떠한 영향도 받지 못했다. 즉, 세포독성으로 보이는 세포핵의 응집과 rhodamine 흡착 및 세포 수의 변화를 예측할 수 있는 세포핵 수에 있어서 유의한 변화를 관찰할 수 없었다.

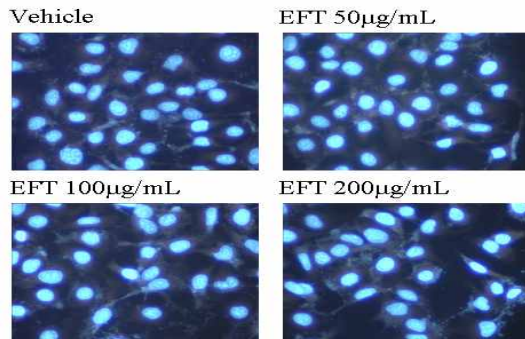


Fig. 1. Effects of EFT on viability and cell number. HUVEC cells were cultured for 24 h in the absence or presence of EFT (50–200 µg/mL). After 24-h treatment, nuclei of the cells were stained with DAPI/Rhodamine, and then examined under fluorescence microscope. There are no appearance of apoptosis or necrosis and no significant change in the cell number. Similar results were observed in three independent experiments.

2. 五靈脂 물 추출물(EFT)가 IL-8 및 MCP-1 생성에 미치는 효과

EFT를 농도별로 HUVEC 세포에 24 시간 전처리한 다음 TNF-α로 자극하고 24 시간 후에 배양배지를 회수하여 IL-8 및 MCP-1 생성량을 ELISA 방법으로 조사하였다. Fig. 2에 보인 결과와 같이 EFT는 IL-8 생성에 큰 변화를 주지 못했지만 MCP-1 생성을 유의하게 감소시켰다. MCP-1 생성 억제효과는 EFT의 농도에 의존하고(Fig. 2B), EFT의 전처리 시간에 의존함을 알 수 있었다(Fig. 3). EFT의 MCP-1 최대 억제효과는 농도 200 µg/mL과 24 시간 전처리 실험에서 관찰되었다.

3. 五靈脂 물 추출물(EFT)가 단핵구 (monocyte) 유입 (migration)에 미치는 효과

EFT를 농도별로 HUVEC 세포에 24 시간 전처리한 다음 12 시간 TNF-α로 자극하고, 이들 세포를 단핵구 U937 세포와 함께 12 시간 배양하여 U937 세포가 HUVEC 세포로 유입되는 세포

수를 조사하였다. Fig. 4에 보인 결과와 같이 EFT는 TNF-α 자극에 의한 U937 세포의 유입을 유의하게 억제시켰다. 혈관내피 세포에서 단핵구 유입 억제 효과는 EFT의 농도에 의존적임을 알 수 있었다.

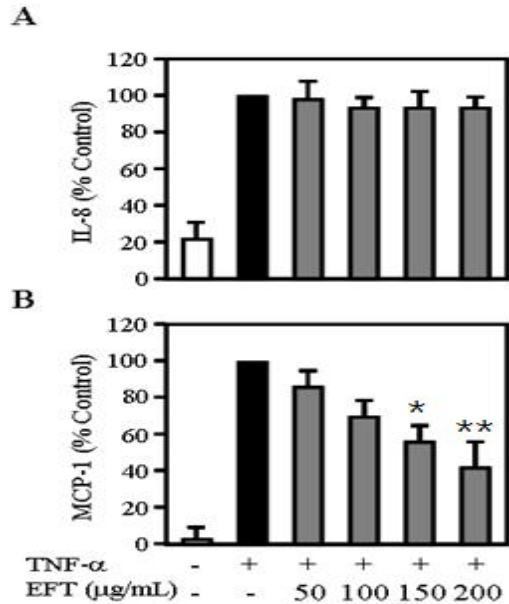


Fig. 2. Effects of EFT on IL-8 and MCP-1 secretion in TNF-α-stimulated HUVEC cells. (A) The cells were pre-treated for 24 h with either PBS or EFT at the concentrations ranging from 50 µg/mL to 200 µg/mL, and then stimulated for 24 h with 50 ng/mL of TNF-α. Supernatants were analyzed for IL-8 concentration by ELISA. (B) The cells were pre-treated for 24 h with either PBS or EFT at the concentrations ranging from 50 µg/mL to 200 µg/mL, and then stimulated for 24 h with 50 ng/mL of TNF-α. Supernatants were analyzed for MCP-1 concentration by ELISA. Values are the mean ± S.E. of duplicate determinations from three separated experiments (*p<0.05, **p<0.01).

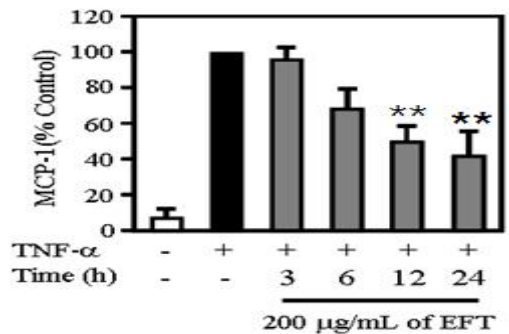


Fig. 3. Effects of EFT pre-treatment on MCP-1 secretion in TNF-α-stimulated HUVEC cells. The cells were pre-treated for indicated times with either PBS or EFT at 200 µg/mL, and then stimulated for 24 h with 50 ng/mL of TNF-α. Supernatants were analyzed for MCP-1 concentration by ELISA. Values are the mean ± S.E. of duplicate determinations from three separated experiments (**p<0.01).

4. 五靈脂 물 추출물(EFT)가 IL-8 및 MCP-1 mRNA 발현에 미치는 효과

200 µg/mL 농도의 EFT를 HUVEC 세포에 24 시간 전처리한 다음 6 시간 TNF-α로 자극하고, 이들 세포로부터 mRNA를 분리하여 EFT가 IL-8 및 MCP-1 mRNA 발현에 미치는 효과를

RT-PCR 방법으로 조사하였다. Fig.5에 보인 결과와 같이 EFT는 IL-8 mRNA 발현에 영향을 주지 못했으나, MCP-1 mRNA 발현을 효과적으로 억제시켰다.

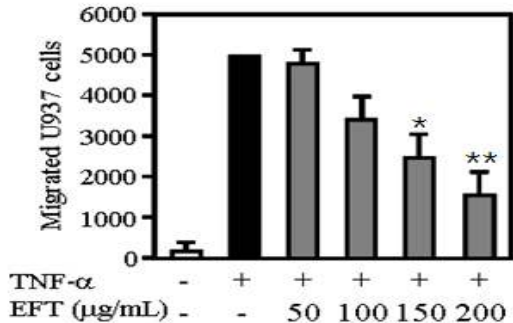


Fig. 4. Effects of EFT on the migration of U937 monocytes into TNF- α -stimulated HUVEC cells. HUVEC cells were pre-treated for 24 h with either PBS or EFT at 200 μ g/mL, and then stimulated for 12 h with 50 ng/mL of TNF- α . U937 monocytes (1×10^5 cells/mL) were cocultured for 12 h with TNF- α -stimulated HUVEC cells for determining the activity of monocyte migration. Values are the mean \pm S.E. of duplicate determinations from three separated experiments (* p <0.05, ** p <0.01).

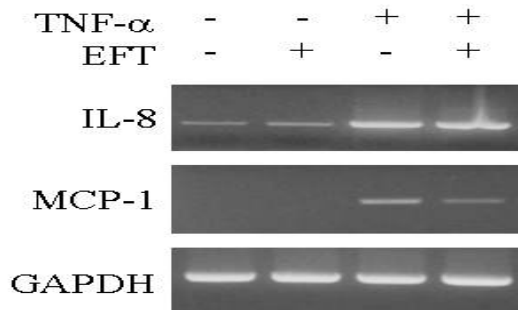


Fig. 5. Effects of EFT on IL-8 and MCP-1 mRNA expressions in TNF- α -stimulated HUVEC cells. The cells were pre-treated for 24 h with either PBS or EFT at 200 μ g/mL, and then stimulated for 6 h with 50 ng/mL of TNF- α . Each mRNA expression was determined by RT-PCR analysis. Similar results were observed in three separated experiments.

고찰

혈관염은 혈관에 염증이 발생하여 혈관내경이 좁아지고 조직의 허혈 및 괴사를 일으키는 질환이며 크기, 위치 및 형태에 관계없이 모든 혈관을 침범하므로 다양한 임상소견을 초래하고 면역기전이 발병에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 추정된다. 또한 면역복합체의 형성과 침착 및 그에 따른 보체와 중성구의 활성화, 중성구 라이소자임 효소에 대한 항체, 항내피세포 항체, 세포면역과 육아종 형성, 감염, 종양 및 독소에 의한 혈관 손상 및 수반된 혈관 기능의 장애 등이 혈관염의 발병기전에 관여하는 것으로 알려져 있다¹¹⁻¹³. 대부분 혈관염 치료는 충분한 용량의 스테로이드 호르몬 제제를 사용하는 것이 원칙이며, 임상 및 검사 소견에 따라 점차 용량을 줄여 나가게 된다. 스테로이드의 사용 기간이나 부작용을 줄이기 위하여, 혈관 내피세포에서 분비되는 chemokine의 생성을 차단시키거나 또는 세포부착분자들의 발현을 차단시킬 수 있는 여러 가지 제제들이 병합 투여되기도

한다¹⁴⁻¹⁷. 대식세포, 혈관 평활근세포, T-림프구, B-림프구 등의 여러 세포들과 여기에서 분비되는 TNF- α , interleukin 등의 여러 cytokine, 성장인자 및 화학주성인자들이 복합적으로 혈관에서의 염증발생에 관여하며 특히, TNF- α 는 혈관 내피세포를 자극하여 IL-8 및 MCP-1과 같은 chemokine 생성을 유도하고 세포 표면에 VCAM 및 ICAM과 같은 세포부착분자의 발현을 유도하여 초기 혈관 염증반응을 매개한다. 최근 연구결과에 의하면 TNF- α 에 의해 활성화된 혈관 내피세포에서 분비되는 chemokine의 생성을 차단시키거나 또는 세포부착분자들의 발현을 차단시킴으로써 초기 혈관 염증반응을 완화시킬 수 있다¹¹⁻¹⁵고 보고되어 있다.

본 실험에서 HUVEC세포는 오렁지 물추출물의 처리 농도 및 처리시간에 의해 어떠한 영향도 받지 않았는데 이는 세포핵의 응집과 rhodamine 흡착 및 세포핵 수에 있어서 유의한 변화를 보이지 않아 세포특성을 나타내지 않았다고 생각된다. 오렁지 물 추출물은 농도별로 HUVEC 세포에 전처리한다음 TNF- α 로 자극하고 24시간 후에 IL-8과 MCP-1 생성량을 관찰한 결과 IL-8 생성에는 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었지만 MCP-1 생성은 유의하게 감소시켰다(Fig. 2). 이러한 MCP-1생성억제효과는 오렁지 물추출물의 농도에 의존하고 전처리 시간에 의존함 (Fig. 3)을 보여주었다. 이러한 결과는 오렁지 물추출물의 혈관에 대한 항염증효과가 TNF- α 에 의해 활성화된 혈관내피세포에서 분비되는 MCP-1 같은 chemokine 생성억제에 의하여 초기혈관의 염증 반응을 감소 시켰음을 시사한다. 또한 오렁지 물 추출물을 농도별로 HUVEC세포에 전처리하고 12시간 TNF- α 로 자극하여 단핵구 U 937 세포와 배양하여 실험한 결과 오렁지 물추출물은 TNF- α 자극에 의한 U 937 세포의 유입을 농도의존적으로 유의하게 차단함을 나타내었다.

IL-8은 혈관 내피세포 주위로 면역세포 특히 호중구의 유입 및 부착을 유도하여 급성 혈관 염증반응을 유발하며, MCP-1은 혈관 내피세포 주위로 면역세포 특히 대식세포의 유입을 유도하여 만성 혈관 염증을 유발한다¹⁶⁻¹⁸. 이들 chemokine 생성은 유전자 수준에서 조절되며, 일부 혈관염 치료제는 이들 유전자의 발현을 효과적으로 억제시킴으로써 약효를 나타낸다.

오렁지 물추출물의 이러한 혈관내피세포의 MCP-1 생성억제와 단핵구유입의 차단효과는 MCP-1 mRNA 발현억제와 관련이 있음을 보여준다(Fig. 5). 그러나 오렁지 물추출물은 TNF- α 에 의한 IL-8 mRNA 발현의 증가는 억제하지 못하였다. 이같은 결과는 단핵구가 혈관내피세포로 유입되는 것을 억제하는 오렁지 물추출물의 효과가 IL-8 유전자발현과는 다른 기전에 의한 것임을 시사한다고 생각된다. 이상의 결과에서 오렁지 물추출물은 혈관내피세포의 염증성 MCP-1유전자 발현을 저해시켜 항혈관염 효과를 나타내는 것으로 사료되며 향후 병태모형을 활용하여 in vivo 연구로 혈관염 억제효과를 구명하고 그 기전을 밝힌다면 혈관염 치료제 개발에 기여하리라 생각된다.

결론

오렁지 물 추출물 (EFT)이 혈관 내피세포의 chemokine 생성

에 미치는 효과를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

200 µg/mL의 EFT를 24 시간 혈관 내피세포 (HUVEC)에 처리하였으나 어떤 독성도 관찰되지 않았다. EFT는 혈관 내피세포의 IL-8 생성을 억제시키지 못했지만, MCP-1 생성을 농도 및 전처리 시간 의존적으로 억제시켰다. EFT는 단핵구가 혈관 내피세포로 유입되는 것을 유의하게 차단시켰다. EFT의 MCP-1 생성 억제효과는 EFT에 의한 MCP-1 유전자 발현 저해효과와 관련이 있었다.

이상의 실험결과로부터 오렝지는 혈관 내피세포의 염증성 MCP-1 유전자 발현을 저해시켜 항염증 효과를 나타내는 것으로 판단된다. 오렝지는 MCP-1 유전자 발현 저해효과 외에도 여러 가지 다른 효과가 있을 것으로 추정되며 이들 효과에 대한 더 많은 연구가 요청된다.

감사의 글

이 논문은 2008학년도 원광대학교 교비지원에 의해서 수행되었습니다.

참고문헌

1. 申佶求. 申氏本草學. 서울, 壽交社, pp 545-542, 1982.
2. 辛民教. 臨床本草學. 서울, 永林社, pp 728-729, 1997.
3. 이장천 外. 藥用動物學. 서울, 醫聖堂, pp 583-586, 2002.
4. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 外. 中藥大辭典. 서울, 정담, pp 3945-3949, 1997.
5. Li, Q., Lu, W., Lu, X. Advances in the study of faeces Trogopteroni. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 23(9):570-573, 1998.
6. Wang, S., Zhai, S., Wang, Y., Wang, L. Effect of radix Ginseng-faeces Trogopteroni combination on pharmacodynamics and effective chemical composition of radix Ginseng. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 20(10):630-632, 1995.
7. Guo, G.H., Lu, Y.B., Song, L.F. Effects of compatibility of radix Ginseng with faeces Trogopteroni on toxicity in experimental animals. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 19(4):247-250, 1994
8. 정 경, 송병기, 구분홍. 경희한의대논문집, 2(1):171-181, 1979.
9. Li, Q. Clinical and experimental study of faeces trogo the antistimulative and antineoplastic effects of radixginseng used in combination with Faeces. Planta. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 16: 90-92, 1996.
10. Chang, M. An experimental study on the antistimulative and antineoplastic effects of radix ginseng used in combination with Faeces Trogopteroni. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 22: 694-696, 1997.
11. Cuff, C.A., Schwartz, J., Bergman, C.M., Russell, K.S., Bender, J.R., Ruddle, N.H. Lymphotoxin alpha3 induces chemokines and adhesion molecules: insight into the role of LT alpha in inflammation and lymphoid organ development. J Immunol. 15;161(12):6853-6860, 1998.
12. Peng, H.B., Spiecker, M., Liao, J.K. Inducible nitric oxide: an autoregulatory feedback inhibitor of vascular inflammation. J Immunol. 15;161(4):1970-1976, 1998.
13. Barry, O.P., Pratico, D., Savani, R.C., FitzGerald, G.A. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. J Clin Invest. 1;102(1):136-144, 1998.
14. Vanhee, D., Delneste, Y., Lassalle, P., Gosset, P., Joseph, M., Tonnel, A.B. Modulation of endothelial cell adhesion molecule expression in a situation of chronic inflammatory stimulation. Cell Immunol. 155(2):446-456, 1994.
15. Lukacs, N.W., Strieter, R.M., Elnor, V.M., Evanoff, H.L., Burdick, M., Kunkel, S.L. Intercellular adhesion molecule-1 mediates the expression of monocyte-derived MIP-1 alpha during monocyte-endothelial cell interactions. Blood. 1;83(5):1174-1178, 1994.
16. Nemeth, Z.H., Deitch, E.A., Lu, Q., Szabo, C., Hasko, G. NHE blockade inhibits chemokine production and NF-kappaB activation in immunostimulated endothelial cells. Am J Physiol Cell Physiol. 283(2):C396-403, 2002.
17. Li, Y., Chi, L., Stechschulte, D.J., Dileepan, K.N. Histamine-induced production of interleukin-6 and interleukin-8 by human coronary artery endothelial cells is enhanced by endotoxin and tumor necrosis factor-alpha. Microvasc Res. 61(3):253-262, 2001.
18. Taekema-Roelvink, M.E., Kooten, C., Kooij, S.V., Heemskerk, E., Daha, M.R. Proteinase 3 enhances endothelial monocyte chemoattractant protein-1 production and induces increased adhesion of neutrophils to endothelial cells by upregulating intercellular cell adhesion molecule-1. J Am Soc Nephrol. 12(5):932-940, 2001.