

紅蔘理中湯이 LPS로 유발된 마우스 대식세포 RAW 264.7의 nitric oxide 및 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

이지영 · 박완수*

경원대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of Red Ginseng-Ejung-tang on Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide Production in LPS-induced Mouse Macrophages RAW 264.7

Ji Young Lee, Wan Su Park*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

The purpose of this study is to investigate effects of Red Ginseng-Ejung-tang (RE) on nitric oxide (NO) and hydrogen peroxide production in RAW 264.7 mouse macrophages induced by lipopolysaccharide (LPS). Cell viability was measured by modified MTT assay. NO production was measured by Griess reagent assay. Hydrogen peroxide production was measured by dihydrorhodamine 123 (DHR) assay. RE did not show cell toxicity against RAW 264.7 for 24 hr incubation at the concentrations of 10, 25, 50, 100, and 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in RAW 264.7. RE significantly inhibited NO production for 24 hr incubation at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in RAW 264.7 ($P < 0.05$). RE significantly inhibited the LPS-induced production of NO for 24 hr incubation at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in RAW 264.7 ($P < 0.05$). RE significantly inhibited the LPS-induced production of hydrogen peroxide for 16, 24, 40, 48, 64, and 72 hr incubation at the concentrations of 50, 100, and 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in RAW 264.7 ($P < 0.05$). These results suggest that RE has anti-inflammatory property related with its inhibition of NO and hydrogen peroxide production in LPS-induced macrophages.

Key words : Red Ginseng, Ejung-tang, Macrophage, Inflammation, Nitric oxide, Hydrogen peroxide

서 론

이중탕(理中湯)은 보기약(補氣藥)인 인삼(人蔘), 백출(白朮), 자감초(炙甘草)과 온리약(溫裏藥)인 건강(乾薑)으로 구성되며 한대(漢代) 장중경(張仲景)의 상한론(傷寒論)에 '이중환(理中丸)'으로 처음 소개되었다. 주로 한냉성 위장질환(寒冷性 胃腸疾患)에 널리 응용되며 동의수세보원(東醫壽世保元)에서는 소음인(少陰人) 이한병(裏寒病) 중 태음증(太陰證)에 주로 쓰일 수 있다고 하였으며 주요한 효능은 중초(中焦)를 따듯이 하여 비위(脾胃)에 침범해 있는 한사(寒邪)를 몰아내어(溫中祛寒) 보비익위(補脾益胃)함으로써 비양허손(脾陽虛損)으로 인한 복통(腹痛), 복만(腹滿), 설사(泄瀉), 구토(嘔吐), 구역(嘔逆), 소화불량, 식욕부진 등의

증상들을 치료한다^{1,2)}.

일산화질소(Nitric oxide; NO)는 대식세포 등의 면역세포로부터 생성되어 혈관을 확장시키거나 암조직의 성장을 억제하고, 바이러스나 세균들의 증식을 저해하거나 직접 사멸시키는 등 인체 면역염증반응에 있어서 중요한 역할을 하지만 과잉배출시에 만성염증질환 악화 등의 문제점이 발생되기도 한다³⁻⁶⁾.

세포 내에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)의 일종인 하이드로젠 퍼옥사이드(hydrogen peroxide; H_2O_2 ; 과산화수소)는 체내 면역염증반응의 중요 인자로서 인체 외부로부터 침입하는 각종의 병원체 예를 들면, 바이러스, 세균, 진균, 프로토조아 등을 파괴하는 작용을 하지만, 지나치게 많이 발생할 경우 주변의 정상조직이나 정상세포를 손상시키는 부작용도 나타나게 된다. 그러므로 대식세포 등에 의해서 과잉생성되는 hydrogen peroxide의 조절이 염증치료제의 중요한 역할로 인식되고 있다⁷⁻¹⁰⁾.

* 교신저자 : 박완수, 성남시 수정구 복정동 경원대학교 한의과대학

· E-mail : hang198@naver.com, · Tel : 031-750-8821

· 접수 : 2011/03/02 · 수정 : 2011/03/23 · 채택 : 2011/04/14

최근에 백삼(白蔘)을 열처리하여 가공한 홍삼(紅蔘)의 이용이 증가하고 있다. 본 연구에서는 홍삼(紅蔘)이 포함된 홍삼이중탕(紅蔘理中湯)을 동결건조하여 얻은 시료(RE)가 마우스 대식세포 RAW 264.7의 세포생존율과 LPS로 유도된 NO 및 hydrogen peroxide 과잉생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행하고 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약 중 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM), heat-inactivated fetal bovine serum(FBS), penicillin and streptomycin, phosphate-buffered saline(PBS, pH 7.4)은 Gibco BRL사(Grand Island, NY, USA)에서, dimethyl sulfoxide(DMSO), Griess reagent, dihydrorhodamine 123(DHR) 등은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였으며 본 실험에 사용된 기기는 CO₂ incubator(NUAIRE, USA), clean bench(Jeiothec, Korea), rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan), research microscope(Becton dickinson, USA), centrifuge(Gyrozen, Korea), water bath(Sae Han, Korea), vortex mixer(Vision Scientific Co, Korea), freeze dryer(Eyela), deep freezer(Gudero, Ilshin Lab, Korea), microplate reader(Bio-Rad model 680, Hercules, CA, USA), TRIAD LT spectrofluorometer(Dynex, Chantilly, VA, USA) 등이다¹¹⁾.

2) 약재

본 실험에 사용된 약재 중 백출(白朮), 건강(乾薑), 감초(甘草)는 움니허브주식회사(대구, 한국)로부터 구입하였으며 홍삼(紅蔘)은 한국인삼공사(대전, 한국)로부터 구입, 검정한 후 사용하였으며, 검정된 약재들은 경원대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되었다¹¹⁾.

2. 방법

1) 시료의 제조

시료의 제조는 이미 보고한 선행연구^{11,12)}의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다. 홍삼(紅蔘), 백출(白朮), 건강(乾薑), 감초(甘草) 각 12.5 g을 혼합하여 얻은 홍삼이중탕(紅蔘理中湯) 50 g을 전기약탕기에 1차 증류수 1,000 mL와 함께 넣은 뒤 150분 동안 가열, 추출하였다. 추출이 끝난 뒤 추출액을 filter paper(Advantec No.2, Japan)로 감압 여과한 뒤, 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 이 농축액을 동결건조기를 이용하여 건조하여 홍삼이중탕 동결건조 추출물(ER) 16.67 g을 얻었으며 수율은 33%였다. 감초(甘草)는 추출하기 전에 열을 가하여 자감초(炙甘草)로 만든 후 사용하였다.

2) Cell line

실험에 사용된 세포주는 마우스 대식세포(mouse

macrophage RAW 264.7 cell line; RAW 264.7)로서 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

3) 세포 배양 및 세포생존율 조사

세포의 배양은 이미 보고한 선행연구^{11,12)}의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다. RAW 264.7은 37°C, 5% CO₂ 조건에서 10% FBS, penicillin(100 U/mL), streptomycin(100 µg/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 배양되었다. 세포들이 75 cm² flask(Falcon, USA)에서 충분히 증식될 때까지 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS; Sigma, USA) 용액으로 씻어주고 새로운 배지로 갈아주었으며, 충분히 증식된 후에는 75 cm² flask 당 3 mL의 0.25 % trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37 °C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착한 후 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음 새로운 배양용기에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다. 세포생존율은 MTT assay를 실시하여 조사, 비교하였다.

4) NO 생성조사

시료가 마우스 대식세포 RAW 264.7의 NO생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Griess reagent assay를 실시하여 NO 생성을 조사, 비교하였다. 96 well plate에 1×10⁴ cells/well의 농도로 분주되도록 1×10⁵ cells/mL의 cell을 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양하여 안정화한 후, LPS와 시료를 각 well에 처리하고 24시간 배양한 후 각 well의 세포배양액을 수집하여 Griess reagent와 15분 동안 반응시킨 후 microplate reader를 이용, NO 생성을 비교하였다.

5) Dihydrorhodamine 123(DHR) assay

세포 내의 hydrogen peroxide(H₂O₂) 생성은 Roesler 등¹³⁻¹⁸⁾의 방법을 응용, dihydrorhodamine 123(DHR) assay를 실시하여 측정하였다. DHR은 비형광이지만 세포 내에서 세포 내 H₂O₂에 의하여 산화되어 녹색의 형광을 발현하는 물질인 rhodamine 123로 바뀌게 된다. 그러므로 여러 가지 산화적 반응을 일으키는 물질들로 인해 인간 세포 내에서 발생하는 hydrogen peroxide의 수준을 DHR assay를 이용하여 측정할 수 있다. 본 실험에서는 세포 내 H₂O₂ 생성에 대한 시료의 영향을 측정하였다. 96 well plate에 1×10⁴ cells/well의 농도로 분주되도록 1×10⁵ cells/mL의 cell을 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 씻어주었다. 시료를 처리하기 전에 우선 DHR(10 µM)이 담긴 배지를 30분간 각 well에 처리한 뒤 배지를 제거하였다. 그리고 다양한 농도의 시료들을 배지에 담아 각 well에 처리한 뒤 연속적인 hydrogen peroxide 생성변화 관찰을 위하여 24, 30, 48, 54 시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 spectrofluorometer(TRIAD LT; excitation filter 485 nm and emission filter 535 nm)를 이용하여 세포내 hydrogen peroxide 생성량을 측정, 비교하였다¹¹⁾.

3. 통계처리

실험성적은 평균치 ± 표준편차(Mean ± SD)로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균 차이는 Student t-test로 분석하여 P < 0.05일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. RE가 RAW 264.7의 cell viability에 미치는 영향

RE를 마우스 대식세포 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과 10 µg/mL 이상의 모든 농도에서 세포독성을 나타내지 않았으며 오히려 세포생존율을 유의하게(p < 0.05) 증가시켰다(Fig. 1).

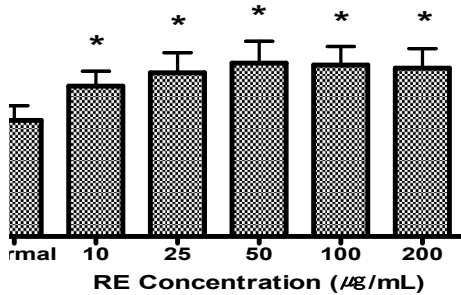


Fig. 1. Effect of RE on cell viability in RAW 264.7 cells for 24 hr incubation. Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments. Normal : Treatment with media only. * represents p < 0.05 compared to Normal.

2. RE가 RAW 264.7의 NO 생성에 미치는 영향

RE를 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과 RE가 10, 25, 50, 100 µg/mL의 농도에서 RAW 264.7의 NO 생성을 각각 93.84 ± 6.08%, 91.48 ± 8.22%, 88.86 ± 8.42%, 88.99 ± 10.78%로 유의(P < 0.05)하게 감소시켰다(Fig. 2).

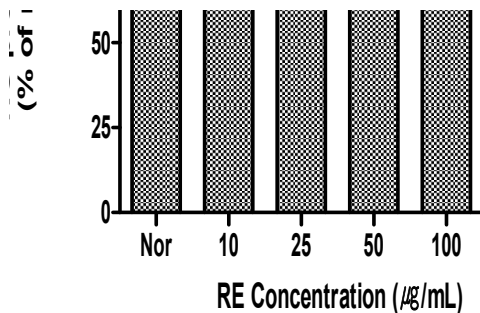


Fig. 2. Effect of RE on NO production in RAW 264.7 cells for 24 hr incubation. Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments. Nor : Treatment with media only. * represents p < 0.05 compared to Nor.

3. RE가 LPS로 유발된 RAW 264.7의 NO 생성증가에 미치는 영향

RE를 LPS와 함께 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과 RE가 10, 25, 50, 100 µg/mL의 농도에서 LPS에 의해 유발된 RAW 264.7의 NO 생성증가를 각각 69.94 ± 8.04%, 72.22 ± 10.48%, 63.08 ± 9.69%, 51.39 ± 13.36%로 유의(P < 0.05)하게 감소시켰다

(Fig. 3).

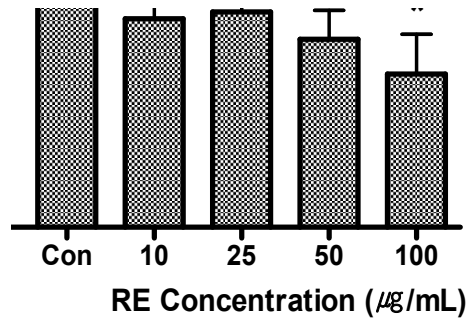


Fig. 3. Effect of RE on LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells for 24 hr incubation. Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments. Nor : Treatment with media only. Con : Treatment with 1 µg of LPS only. * represents p < 0.05 compared to Con.

4. RE가 LPS로 유발된 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성증가에 미치는 영향

RE를 LPS와 함께 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과 RE가 25, 50, 100, 200 µg/mL의 농도에서 LPS에 의해 유발된 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성증가를 각각 96.47 ± 4.96%, 96.04 ± 2.63%, 93.35 ± 6.47%, 93.86 ± 3.21%로 유의(P < 0.05)하게 감소시켰다(Fig. 4).

30시간의 처리에서도 RE가 25, 50, 100, 200 µg/mL의 농도에서 LPS에 의해 유발된 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성증가를 각각 97.3 ± 2.04%, 96.73 ± 1.18%, 94.12 ± 2.14%, 94.87 ± 1.55%로 유의(P < 0.05)하게 감소시켰다(Fig. 5).

48시간의 처리에서도 RE가 25, 50, 100, 200 µg/mL의 농도에서 LPS에 의해 유발된 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성증가를 각각 96.96 ± 1.67%, 96.81 ± 0.97%, 93.64 ± 2.86%, 94.08 ± 2.28%로 유의(P < 0.05)하게 감소시켰다(Fig. 6).

54시간의 처리에서도 RE가 25, 50, 100, 200 µg/mL의 농도에서 LPS에 의해 유발된 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성증가를 각각 97.32 ± 1.34%, 96.67 ± 1.52%, 93.38 ± 2.64%, 92.95 ± 2.97%로 유의(P < 0.05)하게 감소시켰다(Fig. 7).

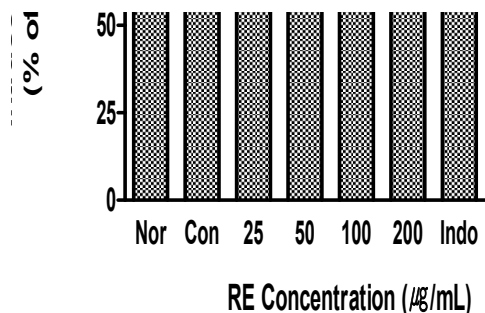


Fig. 4. Effect of RE on LPS-induced production of intracellular H₂O₂ in RAW 264.7 cells for 24 hr incubation. Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments. Nor : Treatment with media only. Con : Treatment with 1 µg of LPS only. Indo : Treatment with Indomethacin (0.5 µM) and LPS. * represents p < 0.05 compared to Con.

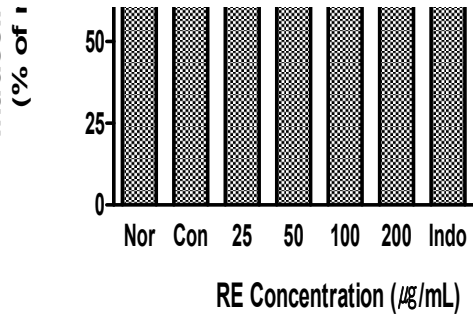


Fig. 5. Effect of RE on LPS-induced production of intracellular H₂O₂ in RAW 264.7 cells for 30 hr incubation. Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments. Nor : Treatment with media only. Con : Treatment with 1 ug of LPS only. Indo : Treatment with Indomethacin (0.5 uM) and LPS. * represents p < 0.05 compared to Con.

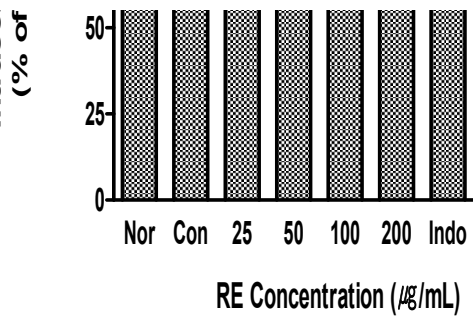


Fig. 6. Effect of RE on LPS-induced production of intracellular H₂O₂ in RAW 264.7 cells for 48 hr incubation. Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments. Nor : Treatment with media only. Con : Treatment with 1 ug of LPS only. Indo : Treatment with Indomethacin (0.5 uM) and LPS. * represents p < 0.05 compared to Con.

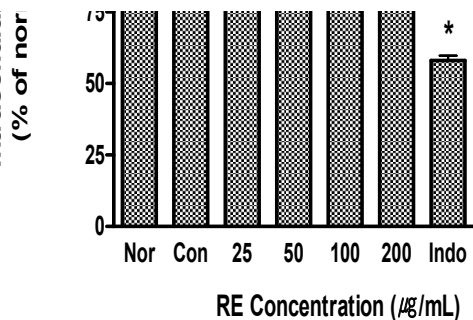


Fig. 7. Effect of RE on LPS-induced production of intracellular H₂O₂ in RAW 264.7 cells for 54 hr incubation. Results are represented as mean ± SD of more than three independent experiments. Nor : Treatment with media only. Con : Treatment with 1 ug of LPS only. Indo : Treatment with Indomethacin (0.5 uM) and LPS. * represents p < 0.05 compared to Con.

고찰

인체 면역증반응에 있어 중요한 역할을 하는 macrophage는 대식세포(大食細胞) 혹은 탐식세포(貪食細胞)라고 하는데 인체에 침입하는 다양한 병원체들을 포획하여 파괴하여 제거하는 역할을 담당하며, 병원체 공격시에 사용되는 주요한 매개체가 NO와 hydrogen peroxide이다. NO는 대식세포 등의 면역세포

부터 생성되어 혈관을 확장시키거나 암조직의 성장을 억제하고, 바이러스나 세균들의 증식을 저해하거나 직접 사멸시키는 등 인체 면역증반응에 있어서 중요한 역할을 하지만 과잉배출시에 만성염증질환 악화 등의 문제점이 발생되기도 한다³⁻⁶⁾. 하이드로젠 퍼옥사이드(hydrogen peroxide; H₂O₂; 과산화수소)는 세포 내에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)의 일종으로서 인체 외부로부터 침입하는 각종의 병원체 예를 들면, 바이러스, 세균, 진균, 프로토조아 등을 파괴하는 산화폭발(oxidative burst)에 관여되지만, 지나치게 많이 발생할 경우 주변의 정상조직이나 정상세포를 손상시키는 부작용도 나타나게 된다. 그러므로 대식세포 등에 의해서 과잉생성되는 NO와 hydrogen peroxide의 조절작용검증이 염증치료제의 개발의 중요한 단계로 인식되고 있다⁷⁻¹⁰⁾.

보기약(補氣藥)인 인삼(人蔘), 백출(白朮), 자감초(炙甘草)와 온리약(溫裏藥)인 건강(乾薑)으로 구성되는 이중탕(理中湯)은 장중경(張仲景)의 상한론(傷寒論)에 처음 '이중환(理中丸)'으로 소개되어 나오는 약물로서 비양허손(脾陽虛損)으로 인한 소화불량(消化不良), 구토(嘔吐), 구역(嘔逆), 설사(泄瀉), 식욕부진(食慾不振), 복창(腹脹), 복만(腹滿), 맥약(脈弱) 등의 증상들을 치료하며 흉비(胸痹), 가슴이 답답함(胸痞), 허한성 복통(虛寒腹痛), 사지역냉(四肢逆冷), 음한중증(陰寒重證) 등에도 쓰여질 수 있다고 하였다^{1,2)}.

최근에 인삼의 다양한 가공방법 중 열처리하여 얻은 홍삼에 대한 이용이 증가하고 있으며 홍삼과 관련된 다양한 연구 또한 보고되고 있는 바이다. 그러나 이중탕(理中湯)의 구성약물 중 '인삼(人蔘)' 대신에 '홍삼(紅蔘)'이 들어간 홍삼이중탕(紅蔘理中湯) 물추출물이 LPS로 유발된 대식세포의 NO와 하이드로젠 퍼옥사이드(hydrogen peroxide)의 생성에 미치는 영향에 대해서 아직까지 보고된 바 없다. 본 연구에서는 홍삼(紅蔘)이 포함된 홍삼이중탕(紅蔘理中湯)을 동결건조하여 얻은 시료(RE)가 마우스 대식세포 RAW 264.7의 세포생존율과 LPS로 유도된 NO 및 hydrogen peroxide 과잉생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행하였다.

RE를 마우스 대식세포 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과 10 ug/mL 이상의 모든 농도에서 세포독성을 나타내지 않았다. RE를 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과 RE가 10, 25, 50, 100 µg/mL의 농도에서 모두 RAW 264.7의 NO 생성을 유의(P < 0.05)하게 감소시켰으며, RE를 LPS와 함께 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과에서도 RE가 10, 25, 50, 100 µg/mL의 모든 농도에서 LPS에 의해 유발된 RAW 264.7의 NO 생성증가를 유의(P < 0.05)하게 감소시켰다. LPS를 RAW 264.7에 24, 30, 48, 54시간 처리한 결과 LPS가 배양시간이 길어질수록 RAW 264.7의 세포내 hydrogen peroxide생성을 더 많이 증가시키는 것을 확인할 수 있었으며, RE를 LPS와 함께 RAW 264.7에 24, 30, 48, 54시간 처리한 결과, RE가 25, 50, 100, 200 µg/mL의 모든 농도에서 LPS에 의해 유발된 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성증가를 유의(P < 0.05)하게 감소시킴을 확인하였다. LPS로 유발된 RAW 264.7의 NO와 hydrogen peroxide 과잉생성을 Indomethacin이 RE보다 더 강하게 억제하지만, 그러나 Indomethacin은 대식세포

의 세포생존율을 크게 감소시키기 때문에 대식세포에 세포독성을 유발하지 않으면서 NO와 hydrogen peroxide 생성억제효과를 나타내는 RE의 작용은 주목할 필요가 있다고 할 수 있다. 즉 홍삼을 포함한 이증탕 구성약물들의 약성(藥性)이 대부분 따듯하지만溫), '감온제대열(甘溫除大熱)'의 한의학적 이론처럼 따듯한 약성의 이증탕이 과도한 염증을 억제하면서도 동시에 면역기능을 담당하는 인체조직·세포에 독성을 유발하지 않으므로써 정상적인 인체방어기능을 도와주는 것으로 해석될 수 있을 것이다.

이러한 실험결과를 RE가 대식세포에 독성을 나타내지 않으면서도 LPS에 의해서 유발된 NO와 hydrogen peroxide의 과잉생성을 억제함으로써 활성산소종과 활성질소종의 과잉생산과 관련된 급만성염증질환이나 자가면역질환, 알러지성 염증질환 등의 증상완화제로서 응용가능성이 있음을 나타내는 것이다. 앞으로 RE의 항염효능에 대한 보다 심도 깊은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 홍삼(紅蔘)이 포함된 홍삼이증탕(紅蔘理中湯)을 동결건조하여 얻은 시료(RE)가 마우스 대식세포 RAW 264.7의 세포생존율과 LPS로 유도된 NO 및 hydrogen peroxide 과잉생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

RE를 마우스 대식세포 RAW 264.7에 10, 25, 50, 100 µg/mL의 농도로 24시간 처리한 결과 모든 농도에서 세포독성을 나타내지 않으면서도 RAW 264.7의 NO 생성을 유의(P < 0.05)하게 감소시켰으며, RE를 LPS와 함께 RAW 264.7에 24시간 처리한 결과에서도 RE가 모든 농도에서 LPS에 의해 유발된 NO와 hydrogen peroxide 생성증가를 유의(P < 0.05)하게 감소시킴을 확인하였다.

이상의 실험결과는 RE가 대식세포에 독성을 나타내지 않으면서도 LPS에 의해서 유발된 NO와 hydrogen peroxide의 과잉생성을 억제함으로써 활성산소종과 활성질소종의 과잉생산과 관련된 급만성염증질환이나 자가면역질환, 알러지성 염증질환 등의 증상완화제로서 응용가능성이 있음을 나타내는 것이다. 앞으로 RE의 항염효능에 대한 보다 심도 깊은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 '2010년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(2010-0022919)' 및 '2011년도 경원대학교 연구비지원', 그리고 '대한한의학회 2009년도 연구사업<홍삼연구>'에 의하여 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

1. 顧武軍, 張民慶 主 編, 김동희 외 15인 공편역. 현대상한론.

서울, 한의학사, pp 647-649, 2000.

2. 廣州中醫學院 主編, 이상인, 김동찬, 이영중, 노승현, 주영승 공편역. 方劑學. 서울, 영림사, pp 144-146, 1990.

3. Jiang, J.P., Fu, Y., Hong, Y.G. Bovine adrenal medulla 22 attenuates hyperalgesia in the early phase of complete Freund's adjuvant-induced inflammation in rats. Sheng Li Xue Bao. 63(1):9-19, 2010.

4. Tufekci, K.U., Genc, S., Genc, K. The endotoxin-induced neuroinflammation model of Parkinson's disease. Parkinsons Dis. 2011: 487450, 2011.

5. Gupta, Y.K., Chauhan, A. Potential of immunosuppressive agents in cerebral ischaemia. Indian J Med Res. 133(1):15-26, 2011.

6. Hines, I.N., Grisham, M.B. Divergent roles of superoxide and nitric oxide in liver ischemia and reperfusion injury. J Clin Biochem Nutr. 48(1):50-56, 2011.

7. Sun, B., Lu, C., Zhou, G.P., Xing, C.Y. Suppression of Par-4 Protects Human Renal Proximal Tubule Cells from Apoptosis Induced by Oxidative Stress. Nephron Exp Nephrol. 117(3):e53-e61, 2010.

8. Graber, D.J., Park, P.J., Hickey, W.F., Harris, B.T. Synthetic triterpenoid CDDO derivatives modulate cytoprotective or immunological properties in astrocytes, neurons, and microglia. J Neuroimmune Pharmacol. 6(1):107-120, 2011.

9. Melillo, A.A., Bakshi, C.S., Melendez, J.A. Francisella tularensis antioxidants harness reactive oxygen species to restrict macrophage signaling and cytokine production. J Biol Chem. 285(36):27553-27560, 2010.

10. Fila, L., Musil, J. Examination of exhaled breath condensate in cystic fibrosis. Cas Lek Cesk. 149(4):173-177, 2010.

11. 박완수. 白蔘과 紅蔘이 포함된 理中湯의 마우스 대식세포 내 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 25(1):78-83, 2011.

12. 박완수. 마우스 대식세포(RAW 264.7)에 대한 艾葉 물추출물의 생리활성 연구. 동의생리병리학회지 22(4):815-820, 2008.

13. Jirapongsananuruk, O., Malech, H.L., Kuhns, D.B., Niemela, J.E., Brown, M.R., Anderson-Cohen, M., Fleisher, T.A. Diagnostic paradigm for evaluation of male patients with chronic granulomatous disease, based on the dihydrorhodamine 123 assay. J Allergy Clin Immunol. 111(2):374-379, 2003.

14. Richardson, M.P., Ayliffe, M.J., Helbert, M., Davies, E.G. A simple flow cytometry assay using dihydrorhodamine for the measurement of the neutrophil respiratory burst in whole blood: comparison with the quantitative nitrobluetetrazolium test. J Immunol Methods. 219(1-2):187-193, 1998.

15. McLean, S., Bowman, L.A., Poole, R.K. KatG from

- Salmonella typhimurium is a peroxynitritase. FEBS Lett. 584(8):1628-1632, 2010.
16. Childs, E.W., Tharakan, B., Hunter, F.A., Smythe, W.R. 17beta-estradiol mediated protection against vascular leak after hemorrhagic shock: role of estrogen receptors and apoptotic signaling. Shock. 34(3):229-235, 2010.
17. Farrell, H., Hayes, J., Laffey, J., Rowan, N. Studies on the relationship between pulsed UV light irradiation and the simultaneous occurrence of molecular and cellular damage in clinically-relevant Candida albicans. J Microbiol Methods. 84(2):317-326, 2011.
18. Freitas M, Porto G, Lima JL, Fernandes E. Optimization of experimental settings for the analysis of human neutrophils oxidative burst in vitro. Talanta. 78(4-5):1476-1483, 2009.