

大茴香 물추출물이 마우스 대식세포주(RAW 264.7 cell line)의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

이지영 · 김영진 · 김현주 · 이민우¹ · 박완수*

가천대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 경희대학교 생명과학대학 유전공학과

Effect of *Anisi Stellati* Fructus Water Extract on Hydrogen Peroxide Production in RAW 264.7 Mouse Macrophages

Ji Young Lee, Young-Jin Kim, Hyung Joo Kim, Minwoo Lee¹, Wan Su Park*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Gachon University,
1: Department of Genetic Engineering, College of Life Science, Kyung Hee University

The purpose of this study is to investigate effects of *Anisi stellati* Fructus Water Extract on hydrogen peroxide production in RAW 264.7 mouse macrophages. *Anisi stellati* Fructus were extracted by hot water. Effects of *Anisi stellati* Fructus water extract (AS) on hydrogen peroxide production in RAW 264.7 were measured by dihydrorhodamine 123 assay after 20, 24, 28, 44, 48, and 52 h incubation at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. For 20 h incubation, AS significantly increased hydrogen peroxide production in RAW 264.7 cells by $108.6 \pm 1.56\%$, $109.5 \pm 1.94\%$, $108.4 \pm 1.14\%$, and $107.3 \pm 3.06\%$ at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($P < 0.05$) respectively. For 24, 28, 44, 48, and 52 h incubation, AS also significantly increased hydrogen peroxide production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($P < 0.05$). These results suggest that *Anisi stellati* Fructus has the immune - enhancing property related with its increase of hydrogen peroxide production in macrophages.

Key words : *anisi stellati* fructus, macrophage, hydrogen peroxide, infection, immunity

서 론

대회향(大茴香; *Anisi stellati* Fructus)은 붓순나무과 (Illiciaceae)에 속하는 상록식물인 대향나무(*Illicium verum*)의 열매를 말린 것으로 팔각회향(八角茴香; star anise)으로도 불리운다. 대향나무는 중국 남서부, 베트남 북부의 국경지역, 말레이반도에서 자생하며, 중국의 복건성, 광둥성, 광서성, 운남성과 인도, 인도차이나반도에서 넓게 재배되고 있다. 대향나무의 꽃은 적갈색이며, 팔각회향(八角茴香)이라는 이름은 대향나무의 열매의 모양이 마치 단단한 껍질로 싸인 꼬투리 여덟 개가 별처럼 붙어있는 모양에서 유래된 것이다. 대회향(大茴香)은 분말형태로 만들어 진 후 중국과 유럽에서 향신료로 사용되기도 하는데, 방향성 건위제로 분류되며 이노작용과 식욕증진작용, 복부 팽만감이나

구역질을 완화하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다. 대회향(大茴香)의 주요한 생리활성성분에는 anethole 등이 있으며, 주요한 약리학적 작용으로는 항균작용, 항산화작용, 살충작용, 진통작용, 안정작용 등이 있다. 중국에서는 요통이나 급성류마티스성 통증, 방광염, 변비 등의 치료에 이용되고 있다. 대회향(大茴香)에서 추출된 시키믹산(shikimic acid)은 신중플루치료에 사용되는 항인플루엔자 약물 '오셀타미비르(oseltamivir; 상품명 타미플루)'를 만드는 원재료로 사용되었다¹⁻⁴⁾.

대식세포(大食細胞)는 탐식세포(貪食細胞) 혹은 마크로파지(macrophage)라고 불리우는 면역세포 중의 하나이다. 대식세포는 인체에 침입하는 병원성 세균(bacteria), 진균(fungus), 바이러스(virus), 프로토조아(protozoa) 등의 감염체를 포획후 제거하는 기능뿐만 아니라 인체내부에서 자연스럽게 발생하는 노화세포 혹은 불필요한 세포잔해물 등을 분해처리하는 기능도 수행하고 있다. 대식세포의 이와 같은 면역작용을 통하여 인체의 항상성이 유지할 수 있게 되는데, 이러한 기능들을 발휘하기 위하여 대식

* 교신저자 : 박완수, 경기도 성남시 수정구 복정동 가천대학교 한의과대학

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

· 접수 : 2012/02/25 · 수정 : 2012/05/29 · 채택 : 2012/05/31

세포는 다양한 자극체에 반응하여 사이토카인(cytokine), 성장인자(growth factor)와 같은 면역단백질과 하이드로젠 퍼옥사이드(hydrogen peroxide; H_2O_2 ; 과산화수소), 일산화질소(nitric oxide)와 같은 면역매개물질들을 생성, 배출한다⁵⁻⁸⁾.

대식세포의 산화폭발(oxidative burst)을 통하여 발생하는 하이드로젠 퍼옥사이드는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)의 한 종류로서 인체에 침입하는 다양한 감염성 세균이나 바이러스 등의 병원체를 제거하는 작용을 한다⁹⁻¹¹⁾.

본 연구에서는 大茴香을 물추출하여 얻은 시료(AS)를 대상으로 마우스 대식세포 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 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, cell viability 측정을 위한 MTT assay, NO 생성측정을 위한 Griess reagent와 hydrogen peroxide 생성측정을 위한 dihydrorhodamine 123 (DHR) 등은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다¹²⁻¹⁴⁾. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 사용하였으며 본 실험에 사용된 기기는 CO_2 incubator(NUAIRE, USA), clean bench(Jeiothec, Korea), rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan), research rioscope(Becton diekinson, USA), centrifuge(Gyrozen, Korea), water bath(Sae Han, Korea), vortex mixer(Vision Scientific Co, Korea), freeze dryer(Eyela), deep freezer(Gudero, II 위한n Lab, Korea), TRIAD LT spectrofluorometer(Dynex, Chantilly, VA, USA) 등이다¹²⁻¹⁴⁾.

2) 약제

본 실험에 사용된 大茴香은 음니허브주식회사(대구, 한국)로부터 구입한 후 검정하여 사용하였다.

2. 방법

1) 시료의 제조

시료의 제조는 이미 보고한 선행연구¹²⁻¹⁴⁾의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다. 大茴香 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 동결건조하여 대회향물추출물(AS)을 제조한 후 실험에 사용하였다.

2) Cell line

실험에 사용된 대식세포는 mouse macrophage(RAW 264.7

cell line)이며, 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하였다.

3) 세포 배양

세포의 배양은 이미 보고된 선행연구¹²⁻¹⁴⁾의 방법에 따라 다음과 같이 시행되었다. RAW 264.7 cells은 37°C, 5% CO_2 조건에서 10% FBS, penicillin(100 U/mL), streptomycin(100 μ g/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 75 cm^2 flask (Falcon, USA)에서 배양되었다. 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(Sigma, USA) 용액으로 씻어주며 충분히 증식되면, 50 mL flask 당 1 mL의 0.25% trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37°C에서 5분간 보관하고 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음, 새로운 배양용기에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO_2 배양기(37°C, 5% CO_2)에서 배양하였다.

4) Hydrogen peroxide 생성에 대한 조사

시료가 RAW 264.7의 hydrogen peroxide(H_2O_2) 생성증가에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여 이미 보고¹²⁻¹⁹⁾된 방법을 응용, dihydrorhodamine 123(DHR) assay를 실시하여 측정하였다. DHR은 비형광이지만 세포 내에서 세포 내 H_2O_2 에 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 H_2O_2 생성에 대한 시료의 영향을 측정하였다. 96 well plate에 1×10^4 cells/well의 농도로 분주되도록 1×10^5 cells/mL의 cell을 100 μ l씩 넣고 37°C, 5% CO_2 incubator에서 24시간 동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 씻어주었다. 시료를 처리하기 전에 우선 DHR(10 μ M)이 담긴 배지를 30분간 각 well에 처리한 뒤 배지를 제거하였다. 그리고 다양한 농도의 시료들을 배지에 담아 각 well에 처리하고 20, 24, 28, 44, 48, 52 시간 동안 37°C, 5% CO_2 incubator에서 배양한 후 spectrofluorometer(TRIAD LT; excitation filter 485 nm and emission filter 535 nm)를 이용하여 세포내 hydrogen peroxide 생성량을 측정, 비교하였다.

3. 통계처리

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

결 과

1. AS의 20시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

AS로 20시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 AS는 10, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도에서 각각 $108.6 \pm 1.56\%$, $109.5 \pm 1.94\%$, $108.4 \pm 1.14\%$, $107.3 \pm 3.06\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$)(Fig. 1).

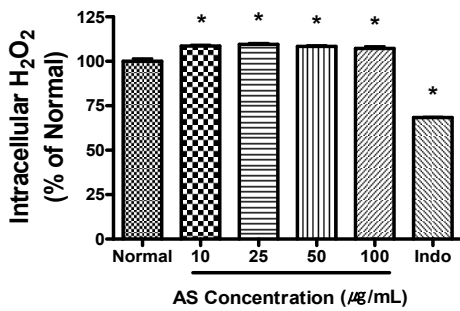


Fig. 1. Effects of AS (Water extract of Anisi stellati Fructus) on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 20 h incubation. Cells were incubated with AS for 20 h. Results are represented as mean ± SD. AS was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 µg/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 µM) only. * represents P < 0.05 compared to the Normal.

2. AS의 24시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

AS로 24시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 µg/mL의 농도에서 각각 109.5 ± 1.12%, 110.8 ± 2.12%, 109.4 ± 1.37%, 108.6 ± 3.48%로 유의한 증가를 나타내었다(P < 0.05)(Fig. 2).

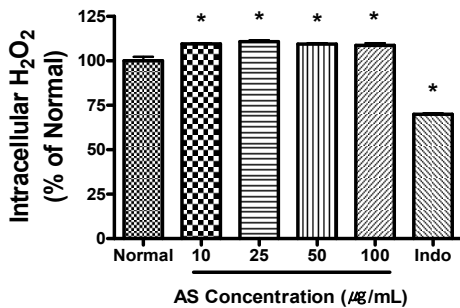


Fig. 2. Effects of AS (Water extract of Anisi stellati Fructus) on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 24 h incubation. Cells were incubated with AS for 24 h. Results are represented as mean ± SD. AS was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 µg/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 µM) only. * represents P < 0.05 compared to the Normal.

3. AS의 28시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

AS로 28시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 µg/mL의 농도에서 각각 110.9 ± 1.74%, 110.5 ± 2.13%, 110.0 ± 1.44%, 109.1 ± 3.73%로 유의한 증가를 나타내었다(P < 0.05)(Fig. 3).

4. AS의 44시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

AS로 44시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 µg/mL의 농도에서 각각 106.9 ± 1.49%, 105.7 ± 2.51%, 105.6 ± 2.09%, 108.1

± 4.62%로 유의한 증가를 나타내었다(P < 0.05)(Fig. 4).

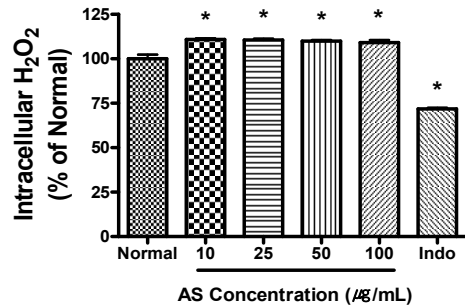


Fig. 3. Effects of AS (Water extract of Anisi stellati Fructus) on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 28 h incubation. Cells were incubated with AS for 28 h. Results are represented as mean ± SD. AS was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 µg/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 µM) only. * represents P < 0.05 compared to the Normal.

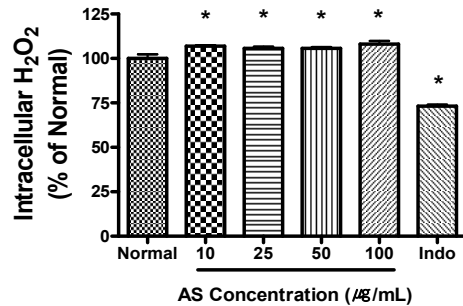


Fig. 4. Effects of AS (Water extract of Anisi stellati Fructus) on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 44 h incubation. Cells were incubated with AS for 44 h. Results are represented as mean ± SD. AS was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 µg/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 µM) only. * represents P < 0.05 compared to the Normal.

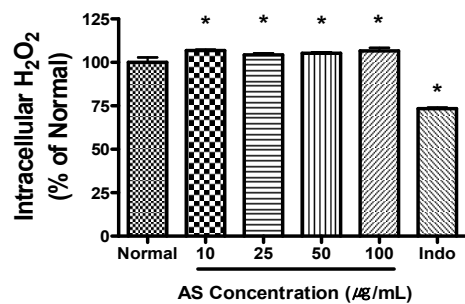


Fig. 5. Effects of AS (Water extract of Anisi stellati Fructus) on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 48 h incubation. Cells were incubated with AS for 48 h. Results are represented as mean ± SD. AS was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 µg/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 µM) only. * represents P < 0.05 compared to the Normal.

5. AS의 48시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

AS로 48시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen

peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $106.8 \pm 1.25\%$, $104.4 \pm 2.36\%$, $105.2 \pm 1.69\%$, $106.6 \pm 4.69\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$)(Fig. 5).

6. AS의 52시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

AS로 52시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $104.6 \pm 1.56\%$, $104.0 \pm 2.23\%$, $103.9 \pm 1.69\%$, $106.4 \pm 3.9\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$)(Fig. 6).

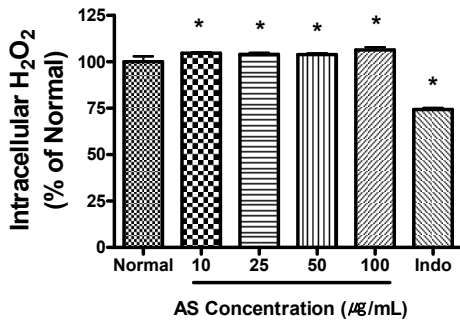


Fig. 6. Effects of AS (Water extract of Anisi stellati Fructus) on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 52 h incubation. Cells were incubated with AS for 52 h. Results are represented as mean \pm SD. AS was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 μM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

고 찰

대식세포는 외부로부터 침입하는 감염성병원체를 제거하는 작용을 통하여 인체를 보호하고, 항상성을 유지토록 한다. 대식세포의 이러한 기능은 면역기능(immunity) 중의 하나로서 생명 유지의 중요한 부분이다. 병원체를 제거하는 주요한 방법으로 대식세포 스스로 다양한 종류의 활성산소종을 방출하는데 하이드로겐 퍼옥사이드도 그 중의 하나이다. 즉 대식세포는 하이드로겐 퍼옥사이드 방출을 통하여 세균이나 바이러스, 곰팡이와 같은 다양한 병원체뿐만 아니라 체내에서 자연적으로 발생하는 노화세포, 세포잔존물들을 제거하는 작용을 수행한다. 대식세포가 방출하는 hydrogen peroxide는 cytokine, chemokine, growth factor, 일산화질소 등과 함께 주요한 면역염증매개물질로 인식되고 있다^{9-11,20}. 본 연구팀은 이미 선행연구를 통하여 한국산 黃芩 물추출물과 중국산 黃芩 물추출물이 모두 마우스 대식세포의 hydrogen peroxide의 생성을 유의하게 증가시킴에 대해서 보고하여 감염성 질환에 대한 黃芩의 항병효능(抗病效能)의 실험적 근거를 제시한 바 있다¹². 이 연구에서도 마우스 대식세포의 hydrogen peroxide 생성에 대한 AS의 조절능을 확인함으로써 AS의 감염성질환에 대한 항병효능 및 인체면역기능강화효능을 확인하고자 하였다.

본 연구의 실험결과 소염제로 사용되는 인도메타신

(Indomethacin)이 대식세포의 hydrogen peroxide 생성을 감소시키는 것과 반대로 AS가 대식세포의 hydrogen peroxide 생성을 증가시키는 것으로 나타났으며, 이는 AS가 대식세포의 산화폭발(oxidative burst)작용을 촉진시킬 수 있는 것으로 이해될 수 있다.

이상의 실험결과는 大茴香 물추출물이 대식세포의 세포내 하이드로겐 퍼옥사이드 생성을 증가시킴으로써 대식세포가 외부로부터 침입하는 병원체를 제거하는 기능을 향상시킬 수 있음을 나타내는 것이다.

결 론

본 연구에서는 大茴香을 물추출하여 얻은 시료(AS)를 대상으로 마우스 대식세포 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행한 결과 다음을 알 수 있었다.

AS로 20시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $108.6 \pm 1.56\%$, $109.5 \pm 1.94\%$, $108.4 \pm 1.14\%$, $107.3 \pm 3.06\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

AS로 24시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $109.5 \pm 1.12\%$, $110.8 \pm 2.12\%$, $109.4 \pm 1.37\%$, $108.6 \pm 3.48\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

AS로 28시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $110.9 \pm 1.74\%$, $110.5 \pm 2.13\%$, $110.0 \pm 1.44\%$, $109.1 \pm 3.73\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

AS로 44시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $106.9 \pm 1.49\%$, $105.7 \pm 2.51\%$, $105.6 \pm 2.09\%$, $108.1 \pm 4.62\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

AS로 48시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $106.8 \pm 1.25\%$, $104.4 \pm 2.36\%$, $105.2 \pm 1.69\%$, $106.6 \pm 4.69\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

AS로 52시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정된 결과 AS는 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 $104.6 \pm 1.56\%$, $104.0 \pm 2.23\%$, $103.9 \pm 1.69\%$, $106.4 \pm 3.9\%$ 로 유의한 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

이상의 실험결과는 大茴香 물추출물이 대식세포의 세포내 하이드로겐 퍼옥사이드 생성을 증가시킴으로써 대식세포가 외부로부터 침입하는 병원체를 제거하는 기능을 향상시킬 수 있음을 나타내는 것이며, 앞으로 大茴香 물추출물의 면역강화작용에 대한 보다 자세한 연구가 요구되는 바이다.

감사의 글

본 연구는 2011년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구

재단의 지원을 받아 수행된 『기초연구사업(2011-0026019)』 및 보건복지부 한의약선도기술개발사업(B110068-1101-0000200)의 지원을 받아 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

1. 박성호, 성인화, 소희향, 대회향 추출물과 정유의 *Candida albicans*에 대한 항진균 효과. 대한의진균학회지 15(4):157-164, 2010.
2. Chung, H.J. Evaluation of the Biological Activity of Extracts from Star-Anise (*Illicium verum*). Journal of food science and nutrition. 14(3):195-200, 2009.
3. 조형찬. 닭진드기 성충에 대한 대회향 유래 아네톨 및 유사 화합물들의 살비활성. 한국응용곤충학회지 48(2):263-268, 2009.
4. 류희영, 안선미, 신용규, 손호용. 한약재의 항균 활성 및 인간 적혈구 용혈 활성. 한국미생물·생명공학회지 38(2):190-197, 2010.
5. 박완수. Lipopolysaccharide로 활성화된 마우스 대식세포에서 艾葉 물추출물의 면역활성 연구. 대한본초학회지 24(1):151-157, 2009.
6. 이지영, 이영종, 박완수. 발효 어성초(魚腥草) 물추출물의 마우스 대식세포 항염활성 연구. 대한본초학회지 25(3):27-34, 2010.
7. Newman, S.L. Macrophages in host defense against *Histoplasma capsulatum*. Trends Microbiol. 7(2):67-71, 1999.
8. Supek, F., Supekova, L., Nelson, H., Nelson, N. Function of metal-ion homeostasis in the cell division cycle, mitochondrial protein processing, sensitivity to mycobacterial infection and brain function. J Exp Biol. 200(Pt 2):321-330, 1997.
9. Naito, M. Macrophage differentiation and function in health and disease. Pathol Int. 58(3):143-155, 2008.
10. Lingnau, M., Hflich, C., Volk, H.D., Sabat, R., Dcke, W.D. Interleukin-10 enhances the CD14-dependent phagocytosis of bacteria and apoptotic cells by human monocytes. Hum Immunol. 68(9):730-738, 2007.
11. Guha, M., Mackman, N. LPS induction of gene expression in human monocytes. Cell Signal. 13(2):85-94, 2001.
12. 박완수. 黃芩 물추출물이 마우스 대식세포의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향. 대한본초학회지 26(1):53-58, 2011.
13. 박완수. 마우스 대식세포(Raw 264.7)에 대한 한약조성물 KOCO-P1의 세포활성 연구. 대한본초학회지 23(2):151-157, 2008.
14. 박완수. 인간 간조세포(HepG2 Cells)에 대한 한약조성물 KOCO-P1의 효과 연구. 대한본초학회지23(3):149-154, 2008.
15. Yoon, S.B., Lee, Y.J., Park, S.K., Kim, H.C., Bae, H., Kim, H.M., Ko, S.G., Choi, H.Y., Oh, M.S., Park, W. Anti-inflammatory effects of *Scutellaria baicalensis* water extract on LPS-activated RAW 264.7 macrophages. J Ethnopharmacol. 125(2):286-290, 2009.
16. 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.
17. Crow, J.P. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. Nitric Oxide. 1(2):145-157, 1997.
18. 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.
19. 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.
20. 한효상, 박완수, 이영종. 艾葉 발효 추출물의 면역활성에 관한 연구. 대한본초학회지 23(3):103-112, 2008.