

리포폴리사카라이드와 갈락토사민의 투여로 인한 생쥐 치사율에 미치는 글리시리진의 억제효과

오창욱 · 송 경 · 박은전 · 손동환 · 김재백 · 고건일*

원광대학교 약학대학, 약품연구소, 의약자원연구센터

(Received November 9, 1995)

Inhibitory Effect of Glycyrrhizin on the Lethality Induced by Lipopolysaccharide and Galactosamine

Chang Wook Oh, Kyung Song, Eun Jeon Park, Dong Hwan Sohn,
Jae Baek Kim and Geonil Ko*

College of Pharmacy, Institute of Pharmaceutical Research and Development, Medicinal Resources
Research Center, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

Abstract—This study was done to investigate the effect of glycyrrhizin on the lethality induced by galactosamine and lipopolysaccharide coadministration in mice. Glycyrrhizin was injected intravenously as a multiple dose at 20, 15, 10, 5, and 0 hr before galactosamine and lipopolysaccharide coadministration. Lethality and tumor necrosis factor(TNF α) level in serum were surveyed as markers of glycyrrhizin effect. Glycyrrhizin had no effect on the lethality induced by galactosamine and lipopolysaccharide when glycyrrhizin was administered as a single dose. Glycyrrhizin reduced the lethality induced by galactosamine and LPS in dose-dependent manner when glycyrrhizin was administered as a multiple dose at 20, 15, 10, 5 and 0 hr before galactosamine and lipopolysaccharide coadministration. Glycyrrhizin reduced the serum TNF α level.

Keywords □ Glycyrrhizin, Lipopolysaccharide, Galactosamine, Tumor Necrosis Factor α .

Glycyrrhizin은 감초(Glycyrrhizae Radix)의 주 성분으로 1분자의 glycyrrhetic acid와 2분자의 glucuronic acid로 이루어진 물질로 그 작용은 항케양 작용¹⁾, 항염증작용²⁾, 항바이러스작용³⁾, phospholipase A₂ 억제작용⁴⁾ 등이 보고되었으며 임상적으로도 일본에서는 glycyrrhizin의 복합제제가 간염치료제로 널리 사용되고 있으나, 아직 glycyrrhizin의 작용기전은 명확하지 않다. Mizoguchi⁵⁾등은 macrophage를 lipopolysaccharide(LPS)로 활성화시킨 후 그 medium을 일차배양 간세포에 적용시 간세포가 손상되는 과정에서 glycyrrhizin이 그 손상을 보호하는 효과가 있다고 보고하였다. LPS로 활성화시킨 ma-

crophage는 여러 종류의 물질을 생산하여 medium으로 배출하고 있는 것으로 알려지고 있다. 그 물질 중 대표적인 것은 Tumor Necrosis Factor- α (TNF α)로서 간 독성에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다.

TNF α 는 주로 내독소(endotoxin)등에 의해 활성화된 대식세포(activated macrophage)^{6,7)}, natural killer cell^{8,9)}, natural cytotoxic cell¹⁰⁾등에 의해 생성되는 저분자의 polypeptide이다. 발견 초기에는 생쥐에서 종양 괴사를 일으키는 내독소유발 혈청인자(endotoxin-induced serum factor)로 알려졌으나 계속된 연구에서 TNF α 는 많은 염증반응 과정의 매우 중요한 매개물질(mediator)임이 밝혀졌으며^{11,12)}, Beutler등에 의하면 TNF α 에 대한 항체로 실험동물을 수동면역 시키면 내독소에 의한 치사효과가 감소한다는 결과에 의해

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 0653-50-6822 (팩스) 0653-54-7311

TNF α 는 septic shock의 중요한 매개물질임이 밝혀졌다.^{13, 14)} TNF α 는 그 외에도 interleukin-1 생성유도, lipoprotein lipase 활성저해, 섬유아세포(fibroblast) 증식 자극, 면역기능 조절 등 *in vitro*, *in vivo*에서 많은 생물학적 기능을 가진다.¹⁵⁻¹⁷⁾

Mizoguchi 등은 *in vitro*에서 glycyrrhizin이 lipopolysaccharide(LPS)에 의해 활성화된 macrophage에 의해 유리된 물질로 인한 간세포 독성에 대해 보호 효과를 가진다고 보고하였지만 본 실험에서는 *in vivo*에서 glycyrrhizin의 효과를 조사하고 *in vitro*의 결과로부터 다량의 TNF α 분비 및 치사로 이어지는 septic shock에 대한 glycyrrhizin의 영향을 조사하였다.

TNF α level을 상승시키기 위해서 실험실적으로 LPS가 사용되는데, Galanos등은 LPS와 galactosamine을 동시에 투여했을 경우 그 감수성이나 치사율이 단독으로 처리시보다 상당히 증가하는 것으로 보고하고 있다.¹⁸⁾ D-Galactosamine (2-amino-2-deoxy-D-galactose)은 잘 알려진 간독성 물질로¹⁹⁾ 이를 실험 동물에 투여하면 사람의 급성 바이러스성 간염과 조직학적으로 비슷한 간 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다.²⁰⁾

이에 저자는 *in vivo*에서 LPS와 galactosamine에 의해 유도되는 간독성에 의한 치사에 미치는 glycyrrhizin의 영향과 기능적인 기전을 알아보기 위하여 glycyrrhizin의 용량 의존성 실험과 일정시간 후 혈청 중 TNF α level을 측정함으로써 glycyrrhizin의 영향을 실험하였다.

실험방법

Hamster Anti-murine TNF monoclonal Antibody, Rabbit Anti-Murine TNF α (for neutralization), Recombinant TNF α 는 Genzyme Co. (USA)로부터 구입하였다. Bovine Serum Albumin fr.V, Crystalline Bovine Serum Albumin, Trizma[®] Base (Tris[Hydroxymethyl]aminomethane), Lipopolysaccharide (이하 LPS) (from E.coli 026:B6), Galactosamine는 Sigma Co.(USA)로부터 구입하였다. Phosphatase-labeled affinity purified antibody to Rabbit IgG(H+L) (adsorbed with human serum), p-Nitrophenyl phosphate(PNPP) (Phosphatase substrate), Diethanolamine Buffer(5 \times)는 Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc.(USA) 로부터 구입하였다. 10% Tween 20은 Pierce(USA), Glycyrrhizin는 Tokiwa Phytochem.Co. (Japan)에서 구입하여 사용하였다.

실험 동물은 체중 20 g이상의 수컷 ICR계 생쥐를 SAMYUK Lab. Animal Co. (경기도 오산)으로 부터 공급받아 시판 사료(제일 사료 제품, 조단백질 22.5% 이상, 조지방 3.5% 이상, 조섬유 7.1% 이하, 조회분 10.0% 이상, 칼슘 0.7% 이하)와 물을 자유로이 공급하며 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 다음 체중 25 g이상의 것을 실험에 사용하였다. 실험 동물군은 정상군, 대조군 (LPS 및 galactosamine 투여군) 및 glycyrrhizin 투여군으로 나누어 군당 5마리 이상씩으로 하였다. 정상군은 생리식염수를 복강내 주사하였고, 대조군은 LPS 및 galactosamine을 생리식염수에 녹여 240 μ g/kg 및 640 μ g/kg을 복강내 투여하였으며 glycyrrhizin 투여군은 glycyrrhizin을 saline에 녹여 10 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg으로 하여 꼬리정맥에 주사하였다. Glycyrrhizin의 단일 투여시 LPS와 galactosamine과 동시에 투여하거나 1시간 전 또는 후에 투여하였다. Glycyrrhizin 다중투여의 경우에는 LPS와 galactosamine 투여 전 20, 15, 10, 5, 0시간에 glycyrrhizin을 정맥주사 하였다. Positive control로 dexamethasone을 2 mg/kg씩 투여하였다.

본 실험실에서 확립한 혈청중 Tumor Necrosis Factor(TNF α)의 정량법은 다음과 같다.²¹⁾ ELISA plate에 1 st Ab solution을 100 μ l씩 분주한 다음 교반하여 antibody를 plate에 coating하였다(overnight). 이때 온도는 4 $^{\circ}$ C를 유지하였다. 그런 다음 과량의 buffer를 제거한 후 blocking buffer를 well당 250 μ l씩 가하고 1~2시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 wash buffer로 well을 4회 세척한 다음 well에 남아 있는 wash buffer를 완전히 제거하고 binding buffer #1을 100 μ l씩 분주한 후 TNF α standard 및 실험에서 얻은 배양액을 100 μ l씩 가하여 잘 혼합하였다. TNF α standard농도 범위는 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 pg/ml이었다. 교반하면서 1~2시간 incubation하며 이 조작은 실온에서 실시하였다. 다시 wash buffer로 4회 세척 후 binding buffer #2에 녹인 2 nd Ab를 100 μ l씩 well에 분주하여 2 nd Ab가 결합할 수 있도록 실온에서 1~2시간 incubation하였다.

본 실험실에서 확립한 혈청중 Tumor Necrosis Factor(TNF α)의 정량법은 다음과 같다.²¹⁾ ELISA plate에 1 st Ab solution을 100 μ l씩 분주한 다음 교반하여 antibody를 plate에 coating하였다(overnight). 이때 온도는 4 $^{\circ}$ C를 유지하였다. 그런 다음 과량의 buffer를 제거한 후 blocking buffer를 well당 250 μ l씩 가하고 1~2시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 wash buffer로 well을 4회 세척한 다음 well에 남아 있는 wash buffer를 완전히 제거하고 binding buffer #1을 100 μ l씩 분주한 후 TNF α standard 및 실험에서 얻은 배양액을 100 μ l씩 가하여 잘 혼합하였다. TNF α standard농도 범위는 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 pg/ml이었다. 교반하면서 1~2시간 incubation하며 이 조작은 실온에서 실시하였다. 다시 wash buffer로 4회 세척 후 binding buffer #2에 녹인 2 nd Ab를 100 μ l씩 well에 분주하여 2 nd Ab가 결합할 수 있도록 실온에서 1~2시간 incubation하였다.

Table I— Effect of glycyrrhizin on the lethal toxicity of lipopolysaccharide and galactosamine treated mice

Galactosamine (mg/kg) / Lipopolysaccharide (μg)	Glycyrrhizin (mg/kg)	Dexamethasone (mg/kg)	Lipopolysaccharide (μg/kg)	Lethality (dead/total)	Lethality (%)
16/6	-	-	-	9/10	90
16/6	10	-	-	9/10	90
16/6	50	-	-	9/10	90
16/6	100	-	-	8/10	80
16/6	-	2	-	3/10	30
	-	-	400	10/10	100
	100	-	400	8/10	80

- Galactosamine and lipopolysaccharide were injected intraperitoneally.
- Glycyrrhizin was injected intravenously as a single dose at 1 hr before Galactosamine and lipopolysaccharide administration.
- Lipopolysaccharide was injected intraperitoneally.
- Dexamethasone was injected intraperitoneally 1 hr before Galactosamine and lipopolysaccharide administration.

Wash buffer로 7회 세척하고 phosphatase가 label 된 Ab 용액을 100 μl씩 가해 1~2시간 incubation 하였다. Wash buffer와 증류수로 세척한 후 p-nitrophenylphosphate 용액을 100 μl씩 가해 차광하에서 1시간 incubation한 다음 ELISA reader로 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. Binding buffer #1은 0.1% crystalline bovine serum albumin, 0.05% Tween 20, 0.88% NaN₃를 포함하는 0.1 M Tris-Cl(pH 7.6)로 하였다. 1% Crystalline bovine serum albumin, 0.05% Tween 20, 0.88% NaN₃를 포함하는 0.1 M Tris-Cl(pH 7.6)을 binding buffer #2로 하였다. Wash buffer는 0.05% Tween 20을 포함하는 phosphate buffered saline으로 하였다. 통계처리는 Student's t test에 의했으며 p value가 최소 0.05이하인 경우를 유의한 차로 판정하였다.

결과 및 고찰

LPS와 galactosamine에 의한 치사율에 미치는 glycyrrhizin의 영향을 실험하기 위하여 LPS 및 galactosamine 투여 1시간전에 glycyrrhizin을 단일 투여하여 실험한 결과는 Table I과 같다. Galactosamine의 동시투여는 lipopolysaccharide의 양을 1/25로 줄여도 같은 치사량을 나타내고 있어 이전의 여러 보고들과 유사한 결과를 나타내고 있다. Positive control로 사용한 Dexamethasone군의 치사율이 30%인 반면 control군과 glycyrrhizin 단일투여군의 치사율이 각각 90%, 80~90%로 나타났고 용량을 증가시켜 투여하여도 효과가 없었다. LPS 단독의 치사량인

Table II— Effect of pretreatment period by glycyrrhizin on lethality of galactosamine and lipopolysaccharide administration

Glycyrrhizin (50 mg/kg) at time (hr)	Lethality (dead/total)	Lethality (%)
-1	9/10	90
0	9/10	90
1	9/10	90
None	9/10	90

- 16 mg of galactosamine and 6 μg of lipopolysaccharide were administered intraperitoneally at desired time.

400 μg/kg을 투여한 군의 치사율은 100%이었다. Glycyrrhizin을 투여하고 400 μg/kg의 LPS를 처치하면 치사율은 80%로 약간 줄었다. Glycyrrhizin의 투여 시간에 따른 영향을 살펴보고자 LPS 및 galactosamine 투여 1시간전, 동시 혹은 1시간후에 단일 투여에 의한 효과를 조사하였다. Table II에서 보듯이 투여시간에 따른 영향은 관찰할 수 없었다.

저자들은 Mizoguchi등이 발견한 활성화된 macrophage에서 분비된 물질이 간세포에 미치는 독성에 대한 glycyrrhizin의 보호효과는 TNFα 등의 물질이 세포독성을 내는 과정을 glycyrrhizin이 차단할 것이라는 가정하였으나 실험동물 단계에서는 영향을 미치지 못하는 것으로 잠정 결론을 내렸다. 그러나 Nobuyuki등이 glycyrrhizin의 항virus 효과를 설명하면서 glycyrrhizin 50 mg/kg을 복강내 1회 주사한 후 20시간 부근에서 많은 양의 interferon이 혈청내에서 관측된다는 보고²²⁾가 있었다. 이러한 결과가 이 약물의 간 보호 효과와 연관이 있을까 추정되어 LPS 및

galactosamine 투여 20시간 전부터 glycyrrhizin을 전처리하였으며 또한 glycyrrhizin의 반감기가 4시간 인 것을 고려하여 다중 투여를 시도하였다.²³⁾

LPS와 galactosamine에 의한 치사율에 미치는 glycyrrhizin의 영향을 실험하기 위하여 LPS 및 galactosamine 투여 20, 15, 10, 5, 0시간전에 glycyrrhizin을 다중투여하여 실험한 결과는 Table III과 같다. Control군의 치사율이 90%인 반면 glycyrrhizin 투여군은 20~70%로 그 치사율이 용량의존적으로 분명하게 감소하고 있다. LPS의 치사량인 400 µg/kg을 투여한 군의 치사율은 100%인 반면 glycyrrhizin을 전처리 한 다음 치사량의 LPS를 투여한 군의 치사율은 40%로 감소하였다. Positive control로 사용한 Dexamethasone(Dex)을 단일투여시 치사율이 30%로 나타났다. 이 사실은 galactosamine 및 LPS에 의한 간세포의 손상에 의한 치사에 대하여 glycyrrhizin이 상당한 보호작용을 나타낸 것으로 보여진다.

그리고 glycyrrhizin의 스테로이드 유사작용 내지는 TNF α 의 발현조절 등에서 유래될 수도 있다고 생각되어 아래와 같은 실험을 진행하였다. 혈청중 TNF α level에 미치는 glycyrrhizin의 영향 여부를 실험하기 위하여 galactosamine과 LPS처리 20시간 전부터 glycyrrhizin을 다중투여하고 LPS와 galactosamine의 투여 1시간 후 경동맥으로부터 혈액을 채취하여 혈청중 TNF α 양을 실험방법에서와 같이 ELISA로 측정하였다.

Fig. 1을 보면 LPS와 galactosamine만을 투여한

대조군의 혈청 TNF α 양은 7880.89 pg/ml인 반면 glycyrrhizin 전처리 군의(100, 50, 10 mg/kg) 혈청중 TNF α 양은 3360.89, 4665.33, 4852.67 pg/ml로 대조군에 비하여 유의성 있게 혈청중 TNF α 양을 저하시켰다. 한편, positive control로 사용한 dexamethasone 처리군의 혈청중 TNF α 양은 1883.11 pg/ml로 나타났다. 그러나 macrophage cell line인 RAW264.7 세포에서는 LPS 자극에 의해서 발현되는 TNF α 의 양이 glycyrrhizin 처리에 의해 변화되지 않았을 뿐만 아니라(data not shown), 실험동물에 glycyrrhizin의 단일 투여에 의한 전처리도 LPS 자극에 의한 TNF α 의 발현에 변화를 주지 못했다. 다중투여가 어떤 기전으로

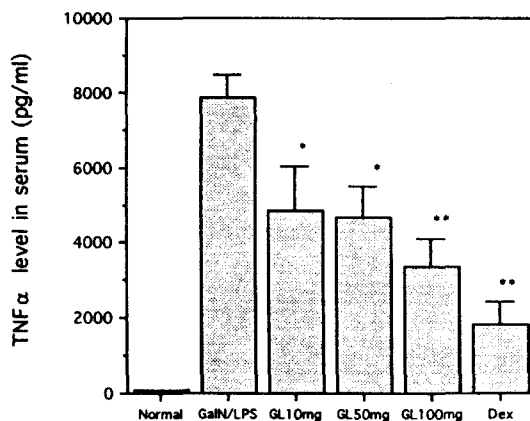


Fig. 1— Effect of glycyrrhizin(GL) on tumor necrosis factor α (TNF α) level in serum of mice.
 • Each data represents the mean \pm S.E.
 • Significantly different from galactosamine/lipopolysaccharide treated group (* p<0.05, ** p<0.01)

Table III— Effect of multiple pretreatment of glycyrrhizin on the lethal toxicity of lipopolysaccharide and galactosamine treated mice

Galactosamine(mg/kg) /Lipopolysaccharide(µg)	Glycyrrhizing (mg/kg)	Dexamethasone (mg/kg)	Lipopolysaccharide (µg/kg)	Lethality (dead/total)	Lethality (%)
16/6	-	-	-	9/10	90
16/6	10	-	-	7/10	70
16/6	50	-	-	4/10	40
16/6	100	-	-	2/10	20
16/6	-	2	-	3/10	30
	-	-	400	10/10	100
	100	-	400	4/10	40

- Galactosamine and lipopolysaccharide were injected intraperitoneally.
- Glycyrrhizin was injected intravenously as a multiple dose at 20,15,10,5,0 hrs before galactosamine and lipopolysaccharide administration.
- Lipopolysaccharide was injected intraperitoneally.
- Dexamethasone was injected intraperitoneally 1 hr before galactosamine and lipopolysaccharide administration.

TNF α 의 발현에 영향을 주는지는 현재 불분명하나 감소된 TNF α 의 발현이 치사율의 현저한 감소에 영향을 준 것은 분명하다. Dexamethasone의 본 실험 결과는 TNF α 의 생성을 transcription 및 translation 단계에서 직접 차단함으로써 혈청중 TNF α 양을 떨어뜨린다는 보고²⁴⁾와 일치하고 있다. 따라서 본 연구에서 glycyrrhizin의 TNF α 발현 저하 효과도 dexamethasone의 이러한 효과와 일치하는 결과로 보여지지만 의심스러운 것은 glycyrrhizin 100 mg/kg 투여시에는 치사율이 dexamethasone 투여시보다 낮은 반면 TNF α 의 발현양은 현저히 높아 치사율의 감소가 단순히 TNF α 발현양의 저하 때문이라고 단언할 수는 없는 것 같다.

Murine의 endothelial cell, macrophage cell 등의 경우 interferon priming후 TNF α 의 존재시 nitric oxide가 생성된다. 이 물질은 독성물질로 알려졌으나 최근 세포간의 여러작용을 매개하는 수명이 매우 짧은 second messenger로 최근 간 독성으로부터 보호한다는 많은 보고가 있었다.²⁵⁻²⁷⁾ 따라서 glycyrrhizin의 interferon 유도작용과 동시적인 LPS의 TNF α 발현 유도는 결국 nitric oxide를 발생시켜 간을 보호하게 되고 결국 치사율 저하에도 영향을 줄 것이라 추측할 수 있으나 이러한 가설을 입증하기 위하여서는 좀 더 구체적인 실험이 필요하다. 더불어서 Mizoguchi등의 *in vitro*에서의 결과가 비록 *in vivo*에서 재현이 되지 않았을 지라도 활성화된 macrophage에서 분비되는 TNF α 등에 의한 간세포 독성에 대한 glycyrrhizin의 보호작용은 약하지만 일부 기여했으리라 생각한다.

결 론

Lipopolysaccharide 및 galactosamine에 의한 치사에 미치는 glycyrrhizin의 영향을 실험한 결과는 다음과 같다.

1. Glycyrrhizin의 단일투여는 생쥐의 LPS 및 galactosamine에 의한 치사율에 변화를 주지 못했다.
2. Glycyrrhizin을 다중투여로 전처리 한 경우 용량 의존적으로 LPS 및 galactosamine에 의한 치사율을 감소시켰다.
3. 다중투여한 glycyrrhizin은 대조군에 비하여 혈청중 TNF α 발현양을 감소시켜 치사율의 감소와 좋은 상관 관계를 보였으나 TNF α 의 발현양이 현저히 낮은

dexamethasone의 치사율이 glycyrrhizin 100 mg/kg 다중투여군보다 약간 높았다. 따라서 glycyrrhizin은 치사율 감소가 TNF α 발현조절에 의한 것 외에 다른 기전이 있음을 시사하고 있다.

감사의 글

본연구는 1995년 원광대학교 교비연구비의 지원에 의해 일부 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Doll, R., Hill, I. D., Hutton, C. and Underwood, D. J.: Clinical trial of a triterpenoid liquorice compound in gastric and duodenal ulcer. *Lancet*, **2**, 793 (1962).
- 2) Inney, R. S. H. and Somers, G. F.: The anti-inflammatory activity of glycyrrhetic acid and derivatives. *J. Pharmacol.* **10**, 613 (1958).
- 3) Pompei, R., Flore, O., Marcialis, M. A., Pani, A. and Loddo, B.: Glycyrrhetic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. *Nature* **288**, 689 (1979).
- 4) Okimasu, E., Moromizato, Y., Watanabe, S., Sasaki, J., Shiraiishi, N., Morimoto, Y. M., Miyahara, M., and Utsumi, K.: Inhibition of phospholipase A₂ and platelet aggregation by glycyrrhizin, an antiinflammation drug. *Acta. Med. Okayama*, **37**, 385 (1983).
- 5) Mizoguchi, M. D., Katoh, H., Tsutsui, H., Yamamoto, S., and Morisawa, S.: Protection of liver cells from experimentally induced liver cell injury by glycyrrhizin. *Gastroenterol. Japonica*, **20**, 99 (1985).
- 6) Beutler, B. and Cerami, A.: Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* **320**, 584 (1986).
- 7) Old, L. J.: Tumor Necrosis Factor(TNF). *Science* **230**, 630 (1986).
- 8) Degliantoni, G., Murphy, M., Kobayashi, M., Francis, M. K., Perussia, B. and Trinchieri, G.: Natural killer cell-derived hemopoietic colony-inhibiting activity and NK cytotoxic factor. *J. Exp. Med.* **162**, 1512 (1985).

- 9) Svedersky, L. P., Nedwin, G. E., Bringman, T. S., Shalaby, M. R., Lamott, J. A., Goeddel, D. V. and Palladino, M. A.: Identification of tumor necrosis factor as a natural killer cell factor. *Fed. Proc.* **44**, 589 (1985).
- 10) Ortaldo, J. R., Mason, L. H., Mathieson, B. J., Liang, S. M., Flick, D. A. and Herberman, R. B.: Mediation of mouse natural cytotoxic activity by tumor necrosis factor. *Nature* **321**, 700, (1986).
- 11) Carswell, E. A., Old, L. J., Kassel, F. L., Green, S., Fiore, N. and Williamson, B.: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **72**, 3666 (1975).
- 12) Le, J. and Vilcek, J.: Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokine with multiple overlapping biological activities. *Lab. Invest.* **56**, 234 (1987).
- 13) Beutler, B., Milsark, I. W. and Cerami, A.: Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effects of endotoxin. *Science* **229**, 869 (1985).
- 14) Tracey, K. J., Fong, Y., Hesse, D. G., Manogue, K. R., Lee, A. T., Kuo, G. C., Lowry, S. F. and Cerami, A.: Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* **330**, 662 (1987).
- 15) Torti, F. M., Dieckmann, B., Beutler, B., Cerami, A. and Ringold, G. M.: A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: An in vitro model of cachexia. *Science* **229**, 867 (1985).
- 16) Sarganman, B. J., Aggarwal, B. B., Hass, P. E., Figari, I. S., Palladino, M. A. and Shepard, H. M.: Recombinant human tumor necrosis factor- α : Effect on proliferation of normal and transformed cells *in vitro*. *Science* **230**, 943 (1985).
- 17) Shalaby, M. R., Hirabayashi, S. E., Svedersky, L. P. and Palladino, M. A.: Regulation of immune function *in vitro* by recombinant human tumor necrosis factor and lymphotoxin. *Fed. Proc.* **44**, 569 (1985).
- 18) Galanos, C., Freudenberg, M. A. and Reutter, W.: Galactosamine-induced sensitization to the lethal effects of endotoxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 5939 (1979).
- 19) Decker, K. and Keppler, D.: Galactosamine hepatitis: Key role of the nucleotide deficiency period in the pathogenesis of cell injury and cell death. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **71**, 77 (1974).
- 20) Keppler, D., Lesch, R. W. and Decker, K.: Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp. Mol. Pathol.* **9**, 279 (1968).
- 21) 오창욱: Lipopolysaccharide와 galactosamine에 의해 유도되는 치사율에 미치는 glycyrrhizin의 효과. 석사학위논문, 원광대학교 (1994).
- 22) Nobuyuki, A., Takusaburo, E. and Nakao, I.: Interferon induction by glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in mice. *Microbiol. Immunol.* **26**, 535 (1982).
- 23) Tsai, T. H., Liao, J. F., shum, A. Y-C. and Chen, C. F.: Pharmacokinetics of glycyrrhizin after intravenous administration to rats. *J. Pharm. Sci.* **81**, 961 (1992).
- 24) Daniel, G. R., Robert, M. S., Joseph, P. L., Dung, N., Mark, E. and Steven, L. K.: *In vivo* dynamic of murine tumor necrosis factor α gene expression. *Lab Invest.* **60**, 766 (1989).
- 25) Billiar, T. R., Curran, R. D., Harbrecht, B. G., Stuehr, D. J., Demetris, A. J. and Simmons, R. L.: Modulation of NOS *in vivo*: N^G-Monomethyl-L-arginine inhibits endotoxin-induced nitrite/nitrate biosynthesis while promoting hepatic damage. *J. Leuk. Biol.* **48**, 565 (1990).
- 26) Harbrecht, B. G., Billiar, T. R., Stadler, J., Demetris, A. J., Ochoa, J. B., Curran, R. D. and Simmons, R. L.: Nitric oxide synthase serves to reduce hepatic damage during acute murine endotoxemia. *Crit. Care Med.* **20**, 1568 (1992).
- 27) Kuo, P. C. and Slivka, A.: Nitric oxide decreases oxidant-mediated hepatocyte injury. *J. Surg. Res.* **56**, 594 (1994).