

염증성 Cytokine의 저해제 탐색

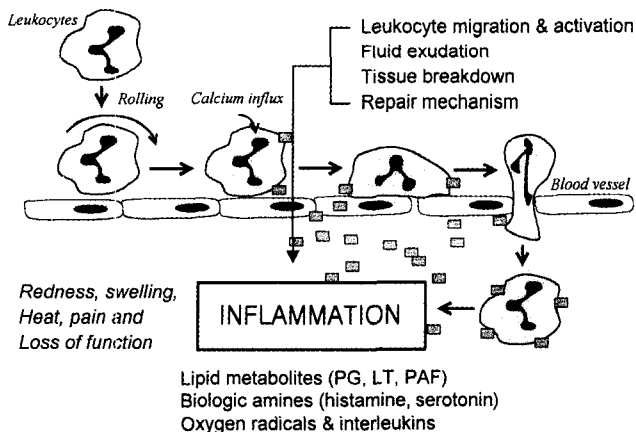
김 영 수

충북대학교 약학대학

1. 서론

1.1 연구목적

염증반응은 생체에 이 물질이 침입하였거나 물리화학적 손상을 입었을 때 이를 방어하기 위한 국소적 현상이나, 과잉의 생체방어 반응은 염증국소 주위에 있는 정상조직을 손상시켜 질환을 일으킨다. 염증질환 치료제로 NSAID와 스테로이드 제제를 임상에 주로 사용하고 있으며, 그의 염증반응 chemical mediator를 선택적으로 제어하는 물질을 의약품으로 개발하기 위한 전임상 및 임상시험 단계의 신약개발 연구가 활발히 진행되고 있다.



본 chapter에서는 염증성 cytokine중에서 interleukin(IL)-1, IL-5, IL-6, TNF의 생성 및 작용을 저해하는 물질의 탐색법과 이들의 의약활성 소재로서의 응용에 대해 중점적으로 논하고자 한다.

1.2 연구동향

IL-1으로 IL-1 α 및 IL-1 β 그리고 수용체 길항효과를 나타내는 IL-1Ra가 알려져 있다. 분자량 31 kDa의 IL-1 α 전구체 (proIL-1 α)는 calpain에 의해 절단되어 17 kDa의 IL-1 α 를 생성하고 proIL-1 β 는 IL-1 β 전환 효소인 ICE(caspase-1)에 의해 절단되어 IL-1 β 를 생성한다. IL-1 α , IL-1 β , proIL-1 α 는 활성을 나타내는 cytokine이나 proIL-1 β 는 불활성화 형태로 알려져 있다. IL-1이 결합하는 수용체로 IL-1RI과 IL-1RII이 있으며,

IL-1RI은 신호전이를 나타내나 IL-1RII는 신호전이를 유발하지 않는다. IL-1은 IL-1RI과 저친화력 결합을 한 후 이어 IL-1R-Acp와 복합체를 형성하여 고친화력 결합을 유도한다. IL-1Ra도 IL-1RI과 결합할 수 있으나 신호전이는 유발하지 않는다. 그러나 IL-1Ra는 수용체 길항을 통해 감염성질환, 염증질환, 폐손상, 자가면역질환, 종양 등을 치료 및 예방하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

IL-5는 활성화된 TH₂ 세포로부터 주로 생성·분비되는 cytokine으로, 마우스 IL-5는 비만세포 그리고 사람 IL-5는 호산구 및 호염기구에서도 분비된다. IL-5가 결합하는 수용체는 두개의 polypeptide(α 와 β)로 구성되어 있으며, 수용체에 결합한 후 protein kinase cascade(PTK, JAK2, PI3 kinase, Btk, HS1, p95^{vav}, MAP kinase 등)를 통한 신호전이에 의해 생리활성을 나타낸다. IL-5는 수용체 IL-5R α 와 저친화력 결합을 한 후 이어 IL-5R β 와 복합체를 형성하여 고친화력 결합을 유도한다. 그러나 IL-5R β 단독으로는 IL-5를 결합하지 못하는 것으로 알려져 있다. 따라서 IL-5R α 는 IL-5의 특이적 결합에 관여하고, 신호전이는 IL-5R β 가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. IL-5 수용체에서 IL-5R β 는 IL-3와 GM-CSF의 수용체 β chain과 동일하여 이 cytokine들은 서로 중첩된 생리활성을 나타낸다. IL-5의 생리활성은 호산구의 분화 및 증식에 관여하고 또한 호산구의 chemotaxis 및 활성화를 일으키는 것으로 알려져 있다. IL-5에 의해 활성화된 호산구는 major basic protein(MBP), eosinophil cationic protein(ECP) 등과 같은 염증유발인자를 방출한다. 그의 마우스 IL-5는 B 세포로부터 알레르기 염증반응에 중요한 IgE 등과 같은 항체의 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있다. IL-5가 관련된 병적현상은 호산구증다증이 관련된 알레르기성 염증질환으로, 동물모델에서 IL-5 단일항체를 투여하면 호산구증다증을 경감시키고 맞물려 알레르기성 염증질환을 치료하는 것으로 알려져 있다. 따라서 IL-5와 호산구를 표적으로 새로운 차원의 알레르기성 염증질환 치료제를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

IL-6은 면역계, 조혈계, 신경계에 작용하여 다양한 생리활성을 나타내는 cytokine이다. IL-6이 결합하는 수용체는 두개의 polypeptide(α 와 β)로 구성되어 있으며, IL-6은 수용체 IL-6R α 와 저친화력 결합을 한 후 이어 IL-6R β 와 복합체를 형성하여

고친화력 결합을 유도한다. 그러나 IL-6R β 단독으로는 IL-6을 결합하지 못하고 IL-11, CNTF, CT-1, OSM, LIF의 수용체 β chain과 동일한 것으로 알려져 있다. 따라서 IL-6R α 는 IL-6의 특이적 결합에 관여하고, 신호전이는 IL-6R β 가 담당하는 것으로 알려져 있다. IL-6에 의해 유발되는 신호전이는 JAK-STAT3 경로와 Ras-MAP kinase 경로가 대표적이다. JAK-STAT3 경로는 acute phase response, 마크로파지 분화, c-myc과 c-myb 생성 감소를 통한 세포성장의 멈춤, bcl-2를 통한 항세포사를 일으키고, 반면에 Ras-MAP kinase 경로는 세포의 성장에 관여하는 것으로 알려져 있다. 면역계에 미치는 IL-6의 작용은 항원에 자극된 B 세포가 항체생성 세포로 증식 및 분화하는데 관여하고, T 세포에 작용하여 IL-2 및 IL-2R의 생성을 증가시키며 또한 T 세포의 활성화, 증식 및 분화에 관여한다. 조혈계에 미치는 IL-6의 작용은 IL-3, GM-CSF와 협동하여 조혈간 세포의 증식에 관여하고 또한 골수 거핵 세포의 성숙에 관여한다. 그외 인터루킨-6는 간 세포에 작용하여 C-reactive protein, serum amyloid A, α -2-macroglobulin 등과 같은 acute-phase 단백질의 생성을 증폭시키고 또한 신경 세포의 분화에 관여한다. 다양한 생리활성과 맞물려 IL-6는 B 세포 질환, 염증질환, 자가면역질환, 종양 등에 관여하는 것으로 알려져 있다.

TNF는 각종의 면역세포에서 생성되며 물리화학적 자극, 감염원(박테리아, 바이러스, 기생충 등), cytokine(IL-1, IL-2, IFN- γ , GM-CSF, M-CSF, LIF, TNF 자체) 등에 의해 생합성이 증폭된다. 분자량 26 kDa의 TNF 전구체(pro-TNF)는 세포막에 결합하고, 이어 세포밖에 노출된 부분이 절단되어 분자량 17 kDa의 TNF를 생성한다. TNF가 결합할 수 있는 수용체는 두종류로 TNFR1과 TNFR2가 알려져 있으며, 대부분의 TNF 생리활성은 수용체 TNFR1에 있는 3개의 영역 neutral sphingomyelinase domain(NSD), acid sphingomyelinase domain(ASD), death domain을 통한 신호전이를 통해 표현된다. NSD는 MAP kinase 및 phospholipase A₂의 활성화에 기인한 세포성장 및 염증반응에 관여하고, ASD는 NF- κ B의 활성화에 기인한 항세포사 그리고 death domain은 caspase 활성화에 기인하여 세포사의 생리활성을 나타낸다. TNFR2를 통한 신호전이는 잘 알려져 있지 않으며 주로 T세포, B세포 등의 면역세포에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 다양한 생리활성을 나타내는 TNF가 관련되어 있는 질환으로 류마티스성 관절염을 포함한 자가면역질환, 감염성질환(박테리아, 바이러스, 기생충), 종양 등이 있다.

2. 연구방법

2.1 원리

IL-1의 작용 측정법은 IL-1 β 에 의한 사람 흑색종 세포주 생물산업

A375.S2(ATCC CRL-1872)의 세포사를 측정한다. IL-5의 작용 측정법은 IL-5에 의한 마우스 초기 B세포주 Y16의 증식도를 측정한다. IL-6의 합성 측정법은 IL-1 β 로 자극한 사람 교아종 세포주 U-373 MG(ATCC HTB-17)가 생성하는 IL-6를 정량하고, IL-6의 작용 측정법은 IL-6에 의한 하이브리도마 MH60/BSF-2의 증식도를 측정한다. TNF의 합성 측정법은 LPS로 자극한 마우스 마크로파지 세포주 Raw264.7(ATCC TIB-71)이 생성하는 TNF를 정량하고, TNF의 작용 측정법은 TNF에 의한 마우스 섬유육종 세포주 WEHI-164(ATCC CRL-1751)의 세포사를 측정한다.

2.2 IL-1 저해제 탐색

2.2.1 실험재료

Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), 사람 IL-1 β , 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium(WST-1), 1-methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate(1-methoxy PMS), 96-well microplate, culture dish, cell scraper.

2.2.2 실험방법

세포주 A375.S2는 culture dish에 부착하여 증식하며, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지 10 ml에 1×10^6 개의 세포를 현탁한 후 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 배양하고, 이를 간격으로 계대배양한다. IL-1의 작용을 저해하는 물질을 탐색하기 위해, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에 현탁시킨 세포주 A375.S2를 96-well microplate의 well당 2×10^3 개씩 분주하고 이어 시료 50 μ l와 2.5 ng/ml의 사람 IL-1 β 50 μ l를 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 96시간 배양한다. 단, 시료와 사람 IL-1 β 는 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에 희석하여 사용한다. WST-1과 1-methoxy PMS 혼합액을 well당 20 μ l씩 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 3-4시간 방치한 후 파장 450 nm에서 흡광도를 측정한다.

2.3 IL-5 저해제 탐색

2.3.1 실험재료

RPMI, FBS, 마우스 IL-5, WST-1, 1-methoxy PMS, 96-well microplate, culture dish.

2.3.2 실험방법

세포주 Y16은 배지에 부유하여 증식하며, 8% FBS와 5 unit/ml의 마우스 IL-5를 함유한 RPMI 배지 10 ml에 1×10^6 개의 세포를 현탁한 후 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 배양하고, 이를 간격으로 계대배양한다. IL-5의 작용을 저해하는 물질을 탐색하기 위해, 8% FBS를 함유한 RPMI 배지에 현탁시킨 세포주 Y16을 96-well microplate의 well당 2×10^4 개씩 분주하

고 이어 시료 50 μ l와 12 unit/ml의 마우스 IL-5 50 μ l를 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 48시간 배양한다. 단, 시료와 마우스 IL-5는 8% FBS를 함유한 RPMI 배지에 희석하여 사용한다. WST-1과 1-methoxy PMS 혼합액을 well당 20 μ l씩 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 3-4시간 방치한 후 파장 450 nm에서 흡광도를 측정한다.

2.4 IL-6 저해제 탐색

2.4.1 실험재료

DMEM, RPMI, FBS, 사람 IL-1 β , 사람 IL-6, ELISA kit(IL-6), MTT, 96-well microplate, culture dish, cell scraper.

2.4.2 실험방법

세포주 U-373 MG는 culture dish에 부착하여 증식하며, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지 10 ml에 1 \times 10⁶개의 세포를 현탁한 후 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 배양하고, 이를 간격으로 계대배양한다. IL-6 합성 저해제를 탐색하기 위해, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에 현탁시킨 세포주 U-373 MG를 96-well microplate의 well당 1 \times 10⁴개씩 분주하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 48시간 배양한다. 이어 FBS를 함유하지 않은 DMEM으로 세포를 3회 이상 세척하고, 시료 100 μ l와 5 ng/ml의 사람 IL-1 β 100 μ l를 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양한다. 단, 시료와 사람 IL-1 β 는 FBS를 함유하지 않은 DMEM으로 희석하여 사용한다. 원심분리(1,000 rpm, 20분간, 4°C)하여 얻은 상정액에 존재하는 IL-6의 양을 ELISA kit을 사용하여 정량한다.

하이브리도마 MH60/BSF-2는 배지에 부유하여 증식하며, 10% FBS와 1 unit/ml의 사람 IL-6를 함유한 RPMI 배지 10 ml에 1 \times 10⁶개의 세포를 현탁한 후 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 배양하고, 이를 간격으로 계대배양한다. IL-6의 작용을 저해하는 물질을 탐색하기 위해, 10% FBS를 함유한 RPMI 배지에 현탁시킨 세포주 MH60/BSF-2를 96-well microplate의 well당 1 \times 10⁴개씩 분주하고 이어 시료 50 μ l와 1.2 unit/ml의 사람 IL-6 50 μ l를 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 48시간 배양한다. 단, 시료와 사람 IL-6는 10% FBS를 함유한 RPMI 배지에 희석하여 사용한다. MTT 용액을 well당 20 μ l씩 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 3-4시간 방치한 후, 배지 100 μ l를 제거하고 동량의 0.01N HCl/isopropanol을 가하여 침전된 formazan을 완전히 용해시킨 다음 파장 570nm에서 흡광도를 측정한다.

2.5 TNF 저해제 탐색

2.5.1 실험재료

DMEM, FBS, LPS, 마우스 TNF- α , ELISA kit(TNF),

WST-1, 1-methoxy PMS, 96-well microplate, culture dish, cell scraper.

2.5.2 실험방법

세포주 Raw264.7는 culture dish에 약하게 부착하여 증식하며, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지 10 ml에 2 \times 10⁶개의 세포를 현탁한 후 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 배양하고, 이를 간격으로 계대배양한다. TNF 합성 저해제를 탐색하기 위해, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에 현탁시킨 세포주 Raw264.7를 96-well microplate의 well당 2 \times 10⁴개씩 분주하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 48시간 배양한다. 이어 FBS를 함유하지 않은 DMEM으로 세포를 3회 이상 세척하고, 시료 100 μ l와 1 ug/ml의 LPS 100 μ l를 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 24시간 배양한다. 단, 시료와 LPS는 FBS를 함유하지 않은 DMEM으로 희석하여 사용한다. 원심분리(1,000 rpm, 20분간, 4°C)하여 얻은 상정액에 존재하는 TNF의 양을 ELISA kit을 사용하여 정량한다.

세포주 WEHI-164는 culture dish에 부착하여 증식하며, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지 10 ml에 2 \times 10⁶개의 세포를 현탁한 후 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 배양하고, 이를 간격으로 계대배양한다. TNF- α 의 작용을 저해하는 물질을 탐색하기 위해, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에 현탁시킨 세포주 WEHI-164를 96-well microplate의 well당 2 \times 10⁴개씩 분주하고 이어 시료 50 μ l와 12 ng/ml의 마우스 TNF- α 50 μ l를 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 48시간 배양한다. 단, 시료와 마우스 TNF- α 는 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에 희석하여 사용한다. WST-1과 1-methoxy PMS 혼합액을 well당 20 μ l씩 가하고 37°C 및 5% CO₂ 조건에서 3-4시간 방치한 후 파장 450nm에서 흡광도를 측정한다.

3. 연구결과

3.1 염증반응 제어제

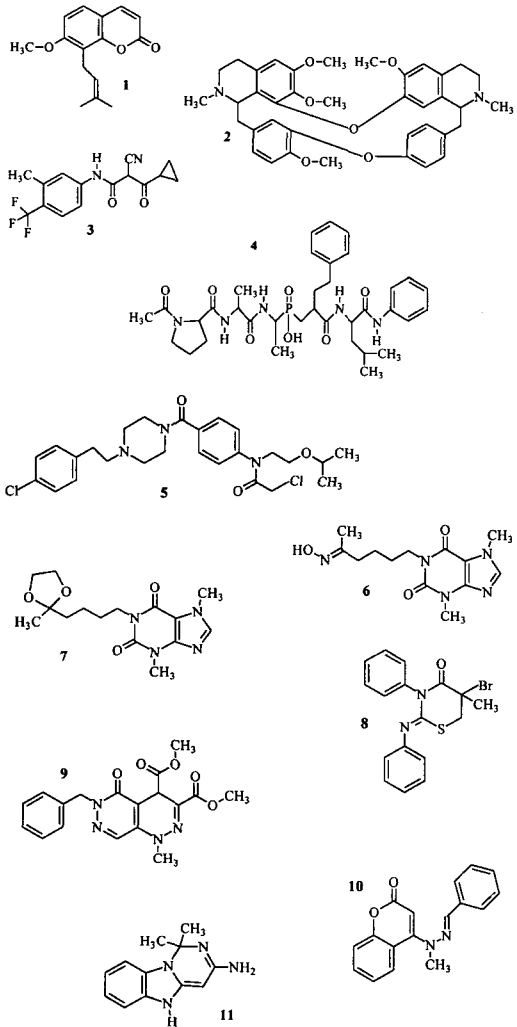
생체방어 반응으로 알려진 염증은 관련된 chemical mediator의 종류에 따라 약·중·강의 증상을 나타낸다. 약한 단계의 증후는 항히스타민제, cromolyn sodium, vasocortin 등을 사용하고, 중간 단계의 염증증후는 COX 저해제, lipoxigenase 저해제, PAF 길항제 등을 사용한다. 그러나 강한 증후는 염증성 cytokine으로 알려진 IL-1, IL-6, IL-8, TNF 등이 관여하기 때문에 이들의 생합성을 저해하는 corticosteroid들을 주로 사용하고 있다. 그러나 corticosteroid들은 강한 부작용 나타내는 약물로 알려져 있어, 염증성 cytokine의 생성 및 작용을 선택적으로 저해하는 물질을 탐색하여 만성적이고 다발성 질환인 류마치스, 알레르기, 건선 등 난치성 염증질환의 표적약물로 개발하기 위한 신약개발 연구가 활발히 진행되고 있다. 이 연

구결과의 하나로 수용성 TNF 수용체인 sTNFR을 1998년도 말에 자가면역성 염증질환인 류마치스의 치료약물로 미국 FDA가 승인하였다.

3.2 IL-1 저해제

천연 IL-1 저해제로 osthole [1]과 tetrandrine [2]이 알려져 있다. Osthole은 약용식물 *Cnidium monnieri*에서 단리된 물질로 endotoxin과 IL-1으로 유발한 포도막염을 억제하는 효과를 나타내고, prednisolone과 유사한 수준의 항염증 활성을 나타낸다. 그러나 약효를 나타내는 용량에서 강한 부작용을 나타내는 문제점을 안고 있다. Tetrandrine은 약용식물 *Stephania tetrandra*에서 단리된 물질로 IL-1 생성과 작용을 억제하며 IL-1 작용에 대한 억제형태는 비경쟁적인 것으로 알려져 있다.

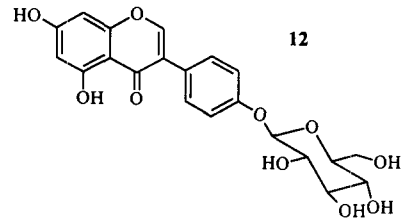
IL-1 전환 효소(ICE)의 저해제로 laflunimus [3]와 WIN-67694 [4]가 알려져 있으며, laflunimus는 Roussel Uclaf사와 Hoechst사에서 류마치스 치료제를 겨냥한 임상시험을 실시하고 있으며 WIN-67694는 Sterling Winthrop사에서 전임상 연구를 실시하고 있다. IL-1 합성 저해제로 Ciba-Geigy사의



CGP-47969A [5]가 알려져 있으며, IL-1의 신호전이 저해제로 CT-1521 [6]과 CT-1567 [7]이 알려져 있다. 그의 IL-1 수용체 길항제로 Chiou Kumainoto(CK) 화합물들이 알려져 있으며, 이들은 endotoxin과 IL-1으로 유발한 포도막염을 치료하는 활성을 나타내고 대표적인 CK 화합물로 CK-17 [8], CK-112 [9], CK-123 [10], CK-150 [11] 등이 있다.

3.3 IL-5 저해제

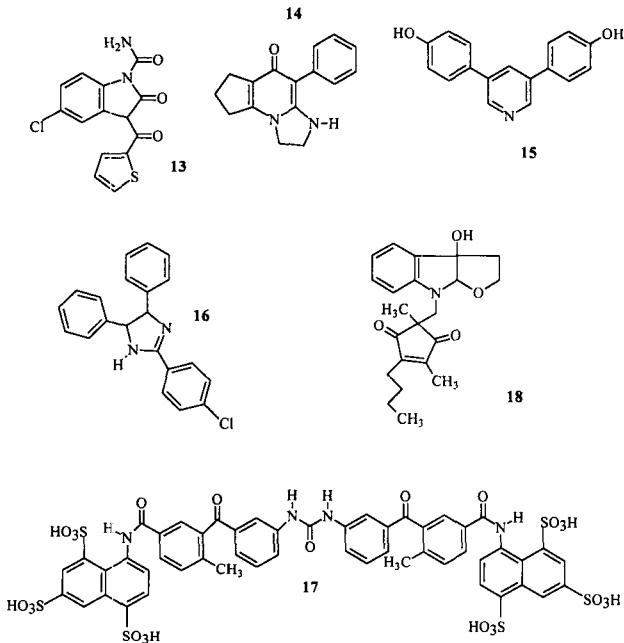
염증성 cytokine은 다양한 생리활성을 나타내는 특성이 있으나, IL-5는 호산구와 호염기구에 선택적으로 작용하여 알레르기성 염증질환을 유발하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Schering-Plough사는 사람 IL-5의 단일항체를 가지고 천식 치료제를 겨냥한 임상시험을 실시하고 있다. 그러나 단백질제 보다는 저분자량의 물질이 의약품으로 개발하는데 여러 장점이 있으므로 천연물 또는 합성 유기물로부터 IL-5를 저해하는 물질을 찾고자 하는 신약개발 연구가 활발히 진행되고 있다. Roche사에서 IL-5를 저해하는 isothiazoline 유도체들을 합성하였으나 이들은 불행히도 다른 단백질에도 비특이적으로 반응하는 특성으로 인하여 의약품으로 개발하기에는 한계가 있는 것으로 알려져 있다. 최근의 연구에서 IL-5의 작용을 억제하는 천연소재로 약용식물 *Sophora japonica*로부터 sophoricoside [12]가 분리·정제되었으며 그의 flavonoid계 물질들도 IL-5의 작용을 억제하는 것으로 보고되었다.



3.4 IL-6 저해제

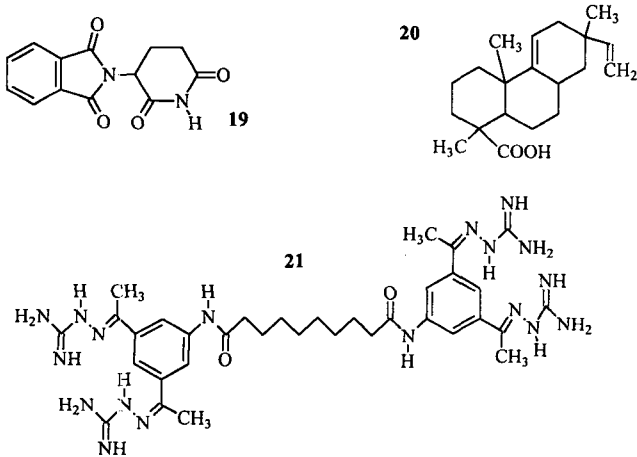
IL-6의 합성을 저해하는 물질로 tenidap [13], SCH-24471 [14]과 SCH-21418 [15] 등이 알려져 있다. Tenidap은 NSAID 유사약물로 IL-6 합성 저해를 포함하여 면역조절 특성을 나타내며 류마치스 환자에게 투여하였을 때 acute phase response 및 혈장 IL-6 농도를 현저히 낮추는 것으로 알려져 있다. 그의 COX 저해효과를 나타내나 이 현상이 tenidap의 IL-6 합성 저해효과와는 직접적으로는 연관되어 있지는 않는 것으로 보고되었다. Schering-Plough사에서 LPS로 자극한 마우스 leukemia 세포주로부터 IL-6 합성을 저해하는 물질로 SCH-24471과 SCH-21418를 제시하였다. 그의 TA-383 [16]은 마우스의 류마치스 모델에서 혈장 IL-6 양을 감소시키고 항류마치스 효과가 있는 것으로 보고되었다. IL-6의 신호전이를 저해하는 물질로 suramin [17]이 알려져 있고, 이는 IL-6에 의한 acute phase response와 골 흡수를 억제한다. IL-6 수용

체 길항제로 해양 스폰지 *Erylus placenta*로부터 단리된 erylusamine B와 토양 방선균 *Streptomyces nitrosporeus* K93-0711로부터 단리된 madindoline [18]이 알려져 있다. Madindoline은 IL-6에 의존한 하이브리도마 MH60/BSF-2의 증식을 선택적으로 억제한다.



3.5 TNF 저해제

미국 FDA는 Immunex사가 개발한 수용성 TNF 수용체인 pTNFR을 1998년도 말에 류마치스 치료제로 승인하였다. TNF의 합성 저해제로 thalidomide [19]와 약용식물 *Acanthopanax koreanum*으로부터 단리된 acantonic acid [20]가 알려져 있다. Thalidomide는 항히스타민제, 진정제, 최면제로 사용된 약물이었으나 최기성 물질로 구분하여 1960년대 초에 의약품에서 삭제되었다. Acantonic acid는 천연 TNF 합성 저해제로 IL-1의 합성도 저해하는 것으로 알려져 있다. 그외 TNF 방출을 저해하는 물질로 CNI-1493 [21]이 알려져 있다.



4. 참고문헌

1. Baumann, H. and G. Strassmann. 1993. Suramin inhibits the stimulation of acute phase protein genes by IL-6-type cytokines in rat hepatoma cells. *J. Immunol.* **151**: 1456-1462.
2. Biffl, W. L., E. E. Moore, F. A. Moore and V. M. Peterson. 1996. Interleukin-6 in the injured patient. *Ann. Surgery* **224**: 647-664.
3. Chand, N., J. E. Harrison, S. Rooney, J. Pillar, R. Jakubicki, K. Nolan, W. Diamantis and R. D. Sofia. 1992. Anti-IL-5 monoclonal antibody inhibits allergic late phase bronchial eosinophilia in guinea pigs: a therapeutic approach. *Eur. J. Pharmacol.* **211**: 121-123.
4. Chiou, G. C. Y. and S. X. L. Liu. 1999. Systemic anti-inflammation by synthetic interleukin-1 blockers. *Acta Pharmacol. Sinica* **20**: 405-408.
5. Devos, R., Y. Guisez, G. Plaetinck, S. Cornelis, J. Tavernier, J. van der Heyden, L. H. Foley and J. E. Scheffler. 1994. Covalent modification of the interleukin-5 receptor by isothiazolones leads to inhibition of the binding of interleukin-5. *Eur. J. Biochem.* **225**: 635-640.
6. FDA approves, Immunex launches breakthrough treatment for RA. Daily DrugNews.com(Daily Essentials) Nov. 3, 1998.
7. Ferrante, A., W. K. Seow, B. Rowan-Kelly and Y. H. Thong. 1990. Tetrandrine, a plant alkaloid, inhibits the production of tumor necrosis factor- α (cachectin) by human monocytes. *Clin. Exp. Immunol.* **8**: 232-235.
8. Fusetani, N., N. Sata, N. Asai and S. Matsunana. 1993. Isolation and structure elucidation of erylusamine B, a new class of marine natural products, which blocked an IL-6 receptor, from the marine sponge *Erylus placenta* Thiele. *Tetrahedron Lett.* **34**: 4967-4070.
9. Gallin, J. I., R. Snyderman, D. T. Fearon, B. F. Haynes and C. Nathan. 1999. Inflammation: Basic Principle and Clinical Correlates. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
10. Gauldie, J., C. Richards, D. Harnish, P. Lansdorp and H. Baumann. 1987. Interferon β /B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**: 7251-7255.
11. Hayashi, M., Y.-P. Kim, S. Takamatsu, A. Enomoto, M. Shinose, Y. Takahashi, H. Tanaka, K. Komiyama and S. Omura. 1996. Madindoline, a novel inhibitor of IL-6 activity from *Streptomyces* sp. K93-0711. *J. Antibiotics* **49**: 1091-1095.
12. Hirano, T., T. Matsuda and K. Nakajima. 1994. Signal transduction through gp130 that is shared among the receptors for the interleukin-6 related cytokine subfamily.

- Stem Cells* **12**: 262-277.
13. Keystone, E. C. 1999. The role of tumor necrosis factor antagonism in clinical practice. *J. Rheumatol.* **26**: 22.
 14. Kimball, E. S. 1991. Cytokines and Inflammation. CRC Press, Boca Raton.
 15. Min, B., S. R. Oh, H.-K. Lee, K. Takatsu, I.-M. Chang, K. R. Min and Y. Kim. 1999. Sophoricoside analogs as the IL-5 inhibitors from *Sophora japonica*. *Planta Med.* **65**: 408-412.
 16. Nakajima, K., T. Matsuda, Y. Fujitani, H. Kojima, Y. Yamanaka, K. Nakae, T. Takeda and T. Hirano. 1995. Signal transduction through IL-6 receptor: Involvement of multiple protein kinases, Stat factors, and a novel H7-sensitive pathway. *Ann. New York Acad. Sci.* **762**: 55-70.
 17. Park, K. Y., S.-H. Lee, B.-K. Min, K. S. Lee, J.-S. Choi, S. R. Chung, K. R. Min, and Y. Kim. 1999. Inhibitory effects of leuteolin-4'-O-glucoside from *Kummerowia striata* and other flavonoids on interleukin-5 bioactivity. *Planta Med.* **65**: 457-459.
 18. Prous, J. R. 1995. The Year's Drug News. Prous Science, Barcelona.
 19. Sanderson, C. J. 1992. Interleukin-5, eosinophils, and disease. *Blood* **79**: 3101-3109.
 20. Seow, W. K., A. Ferrante, A. Summors and Y. H. Thong. 1992. Comparative effects of tetrandrine and berbamine on production of the inflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Life Sci.* **50**: PL50-58.
 21. Sipe, J. D., L. M. Bartle and L. D. Loose. 1992. Modification of proinflammatory cytokine production by the antirheumatic agent tenidap and naproxen. *J. Immunol.* **148**: 480-484.
 22. Sommer, C. 1999. Thalidomide as a blocker of TNF production. *Drugs Fut.* **24**: 67-75.
 23. Stahl, N., T. G. Boulton, T. Farruggella, N. Y. Ip, S. Davis, B. A. Witthuhn, F. W. Quelle, O. Silvernoinen, G. Barbieri, S. Pellgrini, J. N. Ihle and G. D. Yancopoulos. 1993. Association and activation of Jak/Tyk kinases by CNTF/LIF/OSM/IL-6 β receptor components. *Science* **263**: 92-95.
 24. Sugita, T., M. Ueno, O. Furukawa, T. Murakami, I. Takata and T. Tosa. 1993. Effect of a novel anti-rheumatic drug, TA-383, on type II collagen-induced arthritis: Suppressive effect of TA-383 on interleukin-6 production. *Int. J. Pharmacol.* **15**: 515-519.
 25. Tagat, J. R., D. V. Nazareno, S. W. McCombie, B. E. Barton, J. Shortall and J. Jackson. Synthetic inhibitors of interleukin-6. I: 2,3,7,8-Tetra- hydro-4-aryl-1H-cyclopent [e]imidazo[1,2-a]-pyridin-5(6H)-one and related compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **5**: 2139-2142.
 26. Tagat, J. R., S. W. McCombie, B. E. Barton, J. Jackson and J. Shortall. 1995. Synthetic inhibitor of interleukin-6. II: 3,5-Diaryl pyridines and meta-terphenyls. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **5**: 2143-2146.
 27. Takatsu, K. 1995. Interleukin-5 and its Receptor System: from Genes to Disease. R. G. Landes Co., Austin.
 28. Thomson, A. W. 1998. The Cytokine Handbook, Academic Press, San Diego.
 29. Xiao, J. G., N. Schwade and G. C. Y. Chiou. 1995. Mechanisms of antagonism of interleukin-1 α by synthetic interleukin-1 blockers. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **11**: 369-378.
 30. Yao, Q. S., R. S. Varma, S. X. L. Liu and G. C. Y. Chiou. 1994. Prevention of lens protein-, endotoxin-, and interleukin-1-induced uveitis with chalcone derivatives. *Immunopharmacology* **2**: 401-409.
 31. Zwingenberger, K. and S. Wnendt. 1996. Immunomodulation by thalidomide: Systematic review of the literature and of unpublished observations. *J. Inflamm.* **46**: 117-121.