

# LPS로 자극한 Raw 264.7 cell에서 黃芩의 type 1 interferon 억제 효과

국윤범  
상지대학교 한의과대학 방제학교실

## ABSTRACT

### The inhibitory effect of *Scutellaria baicalensis* on type 1 interferon production in Raw 264.7 cells

Yoon-Bum Kook  
Department of Oriental Medicine, Sangji University

Objective : The present study was designed to investigate whether the water extract of the root of *Scutellaria baicalensis* could regulate lipopolysaccharide (LPS)-induced type 1 interferon.

Methods : To evaluate of type 1 interferon inhibitory effect of the root of *Scutellaria baicalensis*, we examined type 1 interferon in LPS-stimulated RAW264.7 cells. Furthermore, Interleukin (IL)-10 and interferon regulatory factor (IRF) - 1, 7 expression level were examined to study the inhibition mechanisms.

#### Results

1. Extract from the root of *Scutellaria baicalensis* didn't have any cytotoxicity itself.
2. Extract from the root of *Scutellaria baicalensis* inhibited interferon-a,b in dose dependant-

- 
- 교신저자 : 국윤범
  - 강원도 원주시 우산동 660번지 상지대학교 한의과대학 방제학교실
  - Tel : 033-730-0661 E-mail : [kook@sangji.ac.kr](mailto:kook@sangji.ac.kr)
  - 접수 : 2008/ 12/ 01 1차 수정 : 2008/ 12/ 11 2차 수정 : 2008/ 12/ 15 채택 : 2008/ 12/ 17

and type 1 interferon production in time dependant manner.

3. Extract from the root of *Scutellaria baicalensis* reduced IL-10 and IRF-1, 7 production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells.

Conclusion :The extract from the root of *Scutellaria baicalensis* down-regulated LPS-induced type 1 interferon through suppression of IL-10 and IRF-1, 7 expression. This results suggested that the extract from the root of *Scutellaria baicalensis* may be a beneficial drug against inflammatory diseases.

Key word : *Scutellaria baicalensis*, lipopolysaccharide (LPS), inflammation, interferon, interleukin - 10 , interferon regulatory factor

## 1. 緒 論

黃芩은 꿀풀과에 속한 다년생 초본인 黃芩 (속썩은풀) *Scutellaria baicalensis* 및 동속 근연식물의 根이다. 이명으로 枯芩이라고도 하며 우리나라 전국 각지에서 재배한다. 전통적으로 黃芩은 이뇨, 해열, 지사, 이담 작용으로 사용하였다<sup>1)</sup>. 서양에서는 간염, 황달, 암, 백혈병 등의 염증성 질환에 黃芩을 사용하였다<sup>2,3,4)</sup>.

黃芩의 주요 성분으로는 baicalin, wogonin 등의 성분이 있다<sup>5)</sup>. 이러한 성분들은 간세포보호, 신경보호, 항염증효과, 항암효과, 항HIV효과, B형 간염 억제효과가 있어 전 세계적으로 주목을 받고 있고<sup>6,7,8,9)</sup> 이 성분들이 黃芩의 감별의 화학적 지표가 된다.

염증반응은 활성화된 면역세포에 의해 일어나는 일련의 면역반응이다. 면역세포가 세균, 바이러스 등을 포함한 미생물 및 생체의 이물질 등을 인식하면, 면역세포가 활성화되고, 활성화된 면역세포에서 염증반응의 원인이 되는 많은 인자를 분비하여 염증반응을 유발시킨다<sup>10)</sup>.

선천성 면역 체계는 병원체 침입의 1차적 방어 역할을 수행한다<sup>11)</sup>. 선천성 면역반응의 활성화는 림프구의 활성화에 중요한 역할을 하며 감염된 기관을 정화 시킨다. 그러나 면역반응이 지나치게 되면 염증성 장염이나 다발성 경화증, 류머티즘과 같은 자가면역 질환을 야기할 수 있고 나아가 endotoxin shock과 같은 극심한 면역 부작용을 야기한다<sup>12)</sup>. 따라서 적정수준에서의 염증 반응과 항염 반응의 항상성은 필수적이다.

그람 음성균의 외막성분인 lipopolysaccharide (LPS)는 국소 염증, 항체 생산, 폐혈증과 같은 다양한 반응을 일으킨다<sup>13)</sup>. 대식세포는 LPS 감염초기에 반응하고 숙주 방어에 중추적인 역할을 한다. 그러나 고농도의 LPS 자극은 대식세포로 하여금 interleukin (IL), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), nitric oxide (NO)와 같은 전 염증성 매개물질을 분비 시킨다<sup>14,15)</sup>. 더욱이, NO는 혈관 확장, 비특이적 면역반응, 허혈후 재관류 조직손상과 만성 염증과 같은 생체 병리학적 과정과 관계가 깊다<sup>11)</sup>. 한편 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12와 같은 전 염증성 매개물질들은 정상적인 세포기능을 방해할 수 있고 그것은 다발성 장기 손상 증후군이나 폐

혈증을 야기한다<sup>16,17</sup>. LPS는 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12와 같은 전 염증성 cytokine을 유발하고 특이적인 면역 반응을 일으키는 인자들을 야기한다. 그리하여 대식 세포에서의 LPS로 유도된 신호 전달 기전을 아는 것은 추후의 약 개발과 치료에 큰 도움이 될 것이다.

LPS는 toll like receptor-4(TLR-4)의 ligand로, MyD88의존성 기전과 MyD88 비의존성 기전이 있다. MyD88 의존성 기전은 TIR domain-containing protein (TIRAP), IL-1R-associated kinase (IRAK), TNF receptor-associated factor (TRAF)-6을 경유하여 I $\kappa$ B kinase (IKK)와 mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascades을 자극하고, 결과적으로 NF- $\kappa$ B와 AP-1을 활성화한다<sup>18</sup>. 또, MAPK와 NF- $\kappa$ B를 통해 TNF- $\alpha$ , IL-1b, IL-6, IL-12를 조절한다. MyD88 비의존성 기전은 interferon regulatory factor (IRF) 활성화와 interferon (IFN)- $\alpha$ /b gene의 자극에 관련이 있다. Interferon regulatory factor(IRF)는 IFN- $\alpha$  and IFN- $\beta$ 의 조절자로 알려져 있다<sup>19,20</sup>. IRF-1의 발현은 LPS의 자극에 의해 이루어진다<sup>21</sup>. IRF-1와 IRF-7의 발현은 IFN- $\alpha$  receptor 기전에 의해 조절된다<sup>21</sup>. Type I IFNs (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ )은 호르몬 등의 분비에서 중요한 역할을 하며, 병원체 등에 노출되었을 때 싸이토카인 등을 분비하는 역할을 한다. 비록 처음엔 바이러스성 감염에 관련이 되어 있었지만, 전체적으로 type I IFN은 모든 병원체에 대한 선천성 면역의 모든 활동에 관련한다<sup>22</sup>.

이에 黃芩이 LPS로 유도된 염증반응에서 type I IFN을 조절함을 검증하고자, (1) 黃芩의 세포독성, (2) 黃芩의 농도에 따른 Type I IFNs (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ) 발현, (3) 黃芩의 시간에 따른 Type I IFNs (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ) 발현, (4) IL-10 발현, (5) IRF-1, 7 발현을 조사하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 약재

실험에 사용한 黃芩은 2.5% 수율의 黃芩으로 움니허브에서 구입하여 물 1L에 100g을 넣고 2시간 동안 전탕한 액을 동결 건조하여 3차 증류수에 녹여서 필터한 후 사용하였다.

### 2. 시약

Fetal bovine serum(FBS), RPMI-1640, penicillin-streptomycin 등의 세포 배양용 시약들은 Gibco BRL (Grand Island, USA)사에서 배양조는 Corning(Rochester, USA)사에서 구입하였다. polymerase chain reaction (PCR) reaction kit는 Invitrogen corporation (Carlsbad, CA)에서 구입하였다.

### 3. MTT 분석

RAW 264.7 cell의 생존율은 밀집세포의 미토콘드리아 탈수소 효소에 의해 자주빛 formazan 생성물로 변하는 MTT환원을 바탕으로 MTT분석법으로 측정했다. 간단히 설명하면 지수성장을 하는 세포들은 RPMI-1640배지에서  $1 \times 10^6$ /ml의 밀도로 현탁하였고, 여러 가지 농도로 AETD로 처리하였다. 4시간 동안 배양한 뒤 1 mg/ml의 농도로 배양하기 위해서 MTT용액을 첨가하고 다시 2시간 동안 배양하였다. MTT-formazan 생성물은 동일한 용량의 용해 완충액(50% n,n-dimethylformamide을 포함하는 20% SDS 용액, pH4.7)을 첨가함으로써 용해했다. 그리고 계속해서 24시간 동안 배양하였다. formazan의 양은 540 nm에 흡수되는 양을 측정함으로써 결정했다.

### 4. RNA quantification.

Total RNA는 Tri-zol 시약을 이용하여 추출하였다. 먼저 배양한 세포에 黃芩 추출물을 전 처리한 뒤 LPS로 자극한 후 6시간 배양한 세포를 PBS로 2회 씻은 다음 PBS 1 ml 씩 가해 세포를 포집한 후, 원심분리를 하여 위에 PBS는 버리고

바닥에 남은 세포를 Tri-zol ( invitrogen, USA) 용액을 1ml 넣어서 세포를 용해시킨 후 100  $\mu$ l의 chloroform 용액을 가하고 두세번 잘 섞어준 뒤 12,000RPM에서 15분간 원심분리하여 맨 위의 상층액을 취한다. 그 후 2-propanol과 1:1로 섞은 뒤 12,000RPM에서 10분간 원심분리하여 위에 상층액은 버리고 남은 침전물에 80% ethanol로 2회 씻고 침전물을 건조시켰다. 그리고 침전물에 DEPC 처리한 증류수를 15  $\mu$ l씩 넣어 RNA를 용해시키고 정량한다.

### 5. Primers and probes.

Real-Time PCR은 앞에 기술한 RNA추출 방법으로 얻어서 합성한 cDNA를 사용하여 TaqMan 방법으로 확인하였고, 사용한 primer 와 probe 는 아래와 같다. Forward (f) and reverse (r) primers 는 Invitrogen에서 구입하였고, TaqMan probes는 MWG-Biotech AG, Ebersberg, Germany에서 구입하였다. TaqMan minor groove binder (MGB) probe (Applied Biosystems)는 Primer Express 1.5 software (Applied Biosystems)를 이용하였다.

#### Primer

TTG CTC GAG ATG TCA TGA AGG A (mHPRT-f); TGA GAG ATC ATC TCC ACC AAT AAC T(mHPRT-r); CCG AAG ACC TTA TGA AGC TCT TTG (mIRF-1-f); GCA AGT ATC CCT TGC CAT CG (mIRF-1-r);

CTG GAG CCA TGG GTA TGC A (mIRF-7-f); AAG CAC AAG CCG AGA CTG CT (mIRF-7-r);

CCT GTG TGA TGC AGG AAC C (mIFN- $\alpha$ 4-f); TCA CCT CCC AGG CAC TGA (mIFN- $\alpha$ 4-r);

ATG AGT GGT GGT TGC AGG C (mIFN- $\beta$ -f); TGA CCT TTC AAA TGC AGT AGA TTC A (mIFN- $\beta$ -r)

GGG AGA ACC TGA AGA CCC TCA (mIL-10-f); TGC TCT TGT TTT CAC AGG

GAA G(mIL-10-r)

#### Probe

FAM-TGG GAG GCC ATC ACA TTG TGG C-TAMRA (mHPRT)

FAM-CAG TCT GAG TGG CAG CGG ACA CAC A-TAMRA (mIRF-1);

FAM-CTG GAG GGC GTG CAG CGT GA-TAMRA (mIRF-7);

FAM-AGA CTC CCT GCT GGC TGT GAG GAC A-MGB-NFQ (mIFN- $\alpha$ 4);

FAM-AAG CAT CAG AGG CGG ACT CTG GGA-TAMRA (mIFN- $\beta$ )

FAM-CTG AGG CTA CGG CGC TGT CAT CG-TAMRA (mIL-10)

### 6. Statistical analysis

실험결과에 대한 통계처리는 students' *t*-test에 준하였고 p-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

## III. 結 果

### 1. 黃芩의 RAW 264.7 cell에 대한 독성

黃芩의 세포독성에 관해 알아보기 위하여 RAW 264.7cell에 黃芩을 농도 의존적으로 처리하여 24시간 후에 세포의 생존률을 측정하였다. Fig. 1.에 나타난 바와 같이 黃芩은 RAW 264.7 cell에 독성을 나타내지 않았다.

### 2. 黃芩 추출물의 농도에 따른 type I IFN 발현

黃芩의 농도에 따른 type I IFN발현을 알아보기 위하여 RAW 264.7 cell에 黃芩을 농도 의존적으로 처리하여 6시간 후에 Real-time PCR을 이용하여 측정하였다. Fig. 2.에 나타난 바와 같이 黃芩은 농도 의존적이지는 않지만 100mg/ml에서 type I IFN의 발현을 감소시켰다.

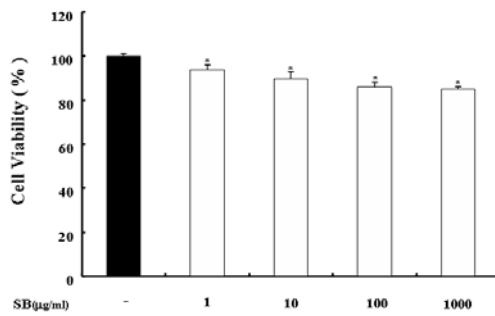


Fig. 1. The cytotoxicity of the water extract of the root of *Scutellaria baicalensis* on Raw 264.7 cells.

The cells were incubated for 24 hrs in the presence or absence of SB at indicated dose. Cell viability was measured by MTT assay described in materials and methods. Data are means of three independent experiment. \* $P < 0.05$  vs. saline treatment; †  $P < 0.05$  vs. LPS treatment alone.

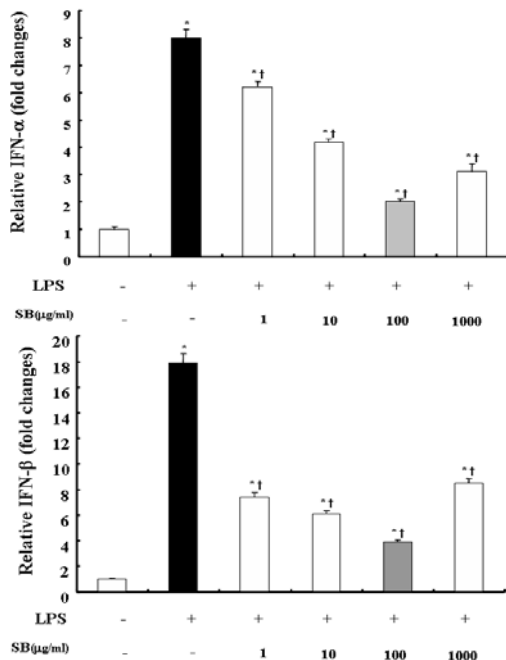


Fig. 2. The effect of the water extract of the root of *Scutellaria baicalensis* on the type 1 interferon (interferon-a,b) production in a dose manner.

The cells were incubated for 1 h in the presence or absence of SB at indicated dose, then stimulated with

LPS for 6 hrs. Type I IFN was measured by Real-time PCR described in materials and methods. Data are means of three independent experiment. \* $P < 0.05$  vs. saline treatment; †  $P < 0.05$  vs. LPS treatment alone.

### 3. 黄芩 추출물의 시간에 따른 type I IFN 발현

黄芩의 시간에 따른 type I IFN 발현을 보기 위하여 RAW 264.7 cell에 黄芩을 100mg/ml을 1시간 전처리 후 LPS 처리하여 0.5, 1, 3, 6 hrs 후에 측정하였다. Fig. 3.에 나타난 것과 같이 黄芩은 시간 의존적으로 type I IFN의 발현을 30% 수준으로 억제하였다.

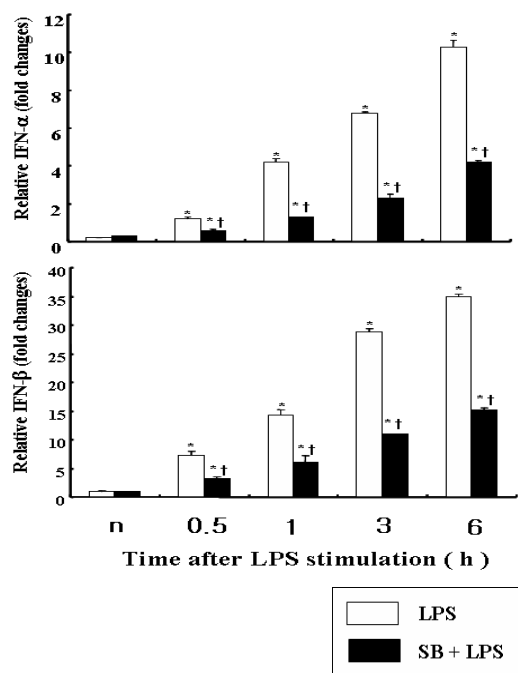


Fig. 3. The effect of the water extract of the root of *Scutellaria baicalensis* on the type 1 interferon (interferon-a,b) production in a time dependant.

The cells were incubated for 1 h in the presence or absence of SB at 100 mg/ml then stimulated with LPS for indicated time. Type I IFN was measured by Real-time PCR described in materials and methods. Data are means of three independent experiment. \* $P < 0.05$  vs. saline treatment; †  $P < 0.05$  vs. LPS treatment alone.

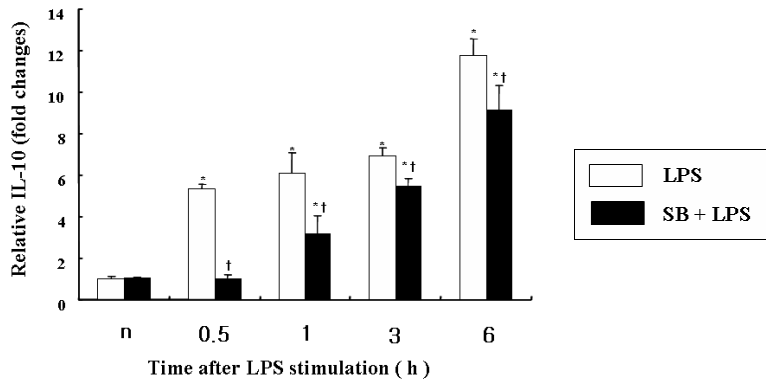


Fig. 4. The effect of the water extract of the root of *Scutellaria baicalensis* on the interleukin-10 production in a time dependant.

The cells were incubated for 1 h in the presence or absence of SB at 100 mg/ml then stimulated with LPS for indicated time. IL-10 was measured by Real-time PCR described in materials and methods. Data are means of three independent experiment. \* $P < 0.05$  vs. saline treatment; †  $P < 0.05$  vs. LPS treatment alone.

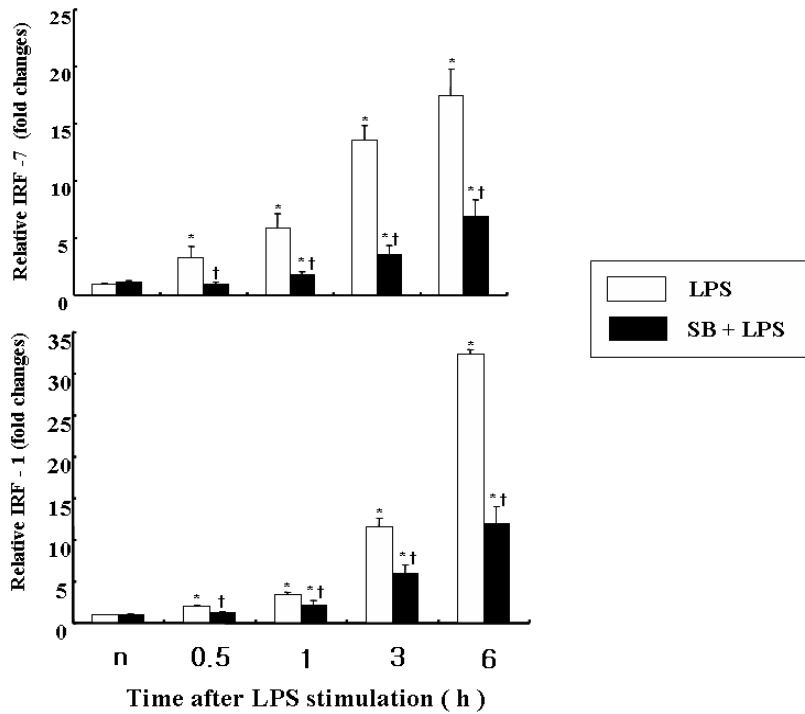


Fig. 5. The effect of the water extract of the root of *Scutellaria baicalensis* on the interferon regulatory factor-1, 7 production in a time dependant.

The cells were incubated for 1 h in the presence or absence of SB at 100 mg/ml then stimulated with LPS for indicated time. IRF-1,7 was measured by Real-time PCR described in materials and methods. Data are means of three independent experiment. \* $P < 0.05$  vs. saline treatment; †  $P < 0.05$  vs. LPS treatment alone.

#### 4. 黃芩 추출물의 IL-10 발현에 미치는 영향

IL-10은 LPS로 자극되어 나오는 Th1 세포에서 분비되어 나오는 싸이토카인으로, 면역 조절자로 알려져 있다. LPS에서 MyD88 비의존성 기전을 통하여 NF- $\kappa$ B를 통해 IL-10이 분비된다. 黃芩을 100mg/ml을 1시간 전처리 후 LPS처리하여 0.5, 1, 3, 6 hrs 후에 측정하였다. Fig. 4에서 보면 대조군에 비해 실험군에 IL-10을 억제하였다.

#### 5. 黃芩 추출물의 IRF-1, 7 발현 억제

LPS로 유도되는 TLR4 신호 전달 기전 중에서 Myd88 비의존적인 기전을 경유하여 type I IFN을 조절하는 IRF의 발현을 조사하였다. Fig. 5에서 보면 黃芩 추출물은 IRF1, 7의 발현을 억제하였다.

### IV. 考 察

黃芩은 苦, 寒, 無毒하고 肺, 膽, 胃, 大腸 四經에 작용한다. 淸熱燥濕, 寫火解毒, 止血安胎 등의 효능이 있어 濕熱黃疸, 瀉痢, 熱淋, 氣分實熱, 肺熱 咳喘, 癰腫瘡毒, 血熱의 出血, 胎熱不安 등의 병증을 치료한다<sup>1)</sup>. 『東醫寶鑑』에서는 黃芩을 '성질은 차고 맛은 쓰며 독이 없다. 열독, 골증, 추웠다 열이 났다 하는 것을 치료하고 열로 나는 갈증을 멎게 하고 황달, 이질, 설사, 담열, 위열을 낮게 한다. 소장을 잘 통하게 하고 유옹, 등창, 악창과 돌림열병을 낮게 한다.'고 표현하였다.

서양에서는 黃芩의 성분인 baicalin, wogonin 등을 이용하여 항암, DNA 손상 방지, 항염증 작용 등에 이용하고 있다<sup>23,24)</sup>. 특히 바이러스성 면역에 관련하여 연구가 많이 이루어지고 있지만 구체적인 기전은 밝혀지고 있지 않다. 그래서 이 논문은 黃芩이 면역반응에서 어떤 기전을 경유하 지 밝히고자, TLR4의 ligand는 LPS를 사용하여 TLR 신호에 있어서의 기전을 밝혀보았다.

Interferon(IFN)은 면역 체계의 조절과 방어에서 중요한 역할을 한다. IFN을 조절하는 것은 면역 체계와 신호 전달 기전을 조절하는 데 중요하다<sup>25)</sup>. IFN- $\alpha$  와 - $\beta$ 는 바이러스의 침투에 의해 나오는 인자로, type I IFNs을 구성한다. IFN- $\alpha$ 는 사람과 쥐에서 다양한 형태로 존재하며, IFN- $\beta$ 는 한 가지 형태로 존재한다<sup>26-30)</sup>. Type I IFN은 최근 들어 많은 연구가 이루어지고 있고, 특히 선천성, 후천성 면역과 관련하여 TLR 신호 기전의 한 부분으로서 연구가 많이 이루어지고 있다<sup>31-33)</sup>. 쉽게 말해, 다양한 ligand (LPS, CPG ODN, Poly IC) 등을 이용하여 antigen-presenting cells (APCs)을 자극하여 TLR이 다양한 물질들을 분비되게 만드는 것인데, 이 물질 중에 IFN- $\alpha$  와 - $\beta$ 가 있는 것이다<sup>34-36)</sup>. 이 논문에서는 바이러스 성분인 그람 음성세균 LPS로 유도되는 type 1 IFN의 발현에 중점을 두었다. Fig. 2,3.에서 보면 농도와 시간에 유의적으로 黃芩은 type I IFN을 억제함을 볼 수 있다. 100mg/ml에서 가장 좋은 억제 효과를 보였으며, 그 농도로 LPS자극 시간을 다양화하여 type I IFN 변화를 관찰하였다. LPS 단독 처리시보다 黃芩과 같이 처리시 type I IFN을 크게 억제 하였다.

미생물이나 바이러스로 유도되는 type I IFN은 IRF-1, 7에 의해 조절된다. 총 9개 (IRF1-9)로 밝혀져 있으며 세포 주기, 사멸, 억제 등에 관련을 한다. IRF는 공통적으로 N-terminal을 가지며, C-terminal domain이 각각 다르다. IRF의 각각의 기능은 C-terminal domain에 의해 결정된다<sup>28)</sup>. IRF의 발현에 있어서 IRF-1, 7의 중요성은 IRF-7 K.O 마우스를 이용한 실험을 통해 알려져 있다<sup>37)</sup>. Fig. 5.에서 보면 대조군보다 실험군에서 IRF-1, 7의 생성이 억제되고 있음을 볼 수 있다. 이는 黃芩이 IRF-1, 7의 발현을 억제함으로써 type I IFN의 발현을 억제함을 보여준다.

IL-10은 LPS로 유도된 신호 기전 중에서 NF- $\kappa$ B의 활성을 억제하는 과정에서 나오는 싸이

토카인이다. LPS로 TLR4를 자극하여 MyD88 비 의존성 경로를 통해 NF- $\kappa$ B를 자극하여 IRF로 가는 과정에서 IL-10이 분비된다. IL-10은 음성적 피드백과 양성적 피드백을 동시에 하는 싸이토카인으로<sup>38)</sup> type I IFN의 생성에 관여한다. 이 실험에서는 IL-10이 음성적 피드백으로 작용하여 IL-10의 발현이 감소함으로써 type I IFN의 생성을 억제하였다. Fig. 4에서 보면, LPS 단독 처리의 대조군 보다 黃芩을 같이 처리한 실험군에서 IL-10의 생성이 시간에 유의적으로 억제하였다. 이는 黃芩이 IL-10 생성을 감소시켰음을 보여준다.

위의 결과를 토대로 黃芩은 IL-10과 IRF-1, 7의 발현을 억제하여, type I IFN 생성을 억제하였음을 알 수 있었다. 이는 추후의 면역질환이나 바이러스성 질환에서 치료와 예방에서 큰 역할을 할 것으로 추측된다.

## V. 結 論

RAW264.7cell을 LPS로 자극하였을때 黃芩의 Type 1 IFN 억제 효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 黃芩 농도별로 처리했을때 세포독성이 거의 나타나지 않았다.
2. 黃芩이 type 1 IFN 생산을 현저하게 억제됨을 알 수 있었다.
3. 黃芩이 시간에 유의적으로 type 1 IFN 생산을 현저하게 억제하였다.
4. 黃芩은 IL-10 발현을 억제하였다.
5. 黃芩은 IRF-1,7의 발현을 현저하게 억제하였다.

이와 같은 결과로 보아 黃芩 추출물은 IL-10와 IRF-1,7의 발현을 억제함으로써 IFN- $\alpha$ , $\beta$ 를 억제하였다. 이는 黃芩이 추후에 선천성 면역 질환과

염증작용에 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 논문은 2005년도 상지대학교 교비지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 參考文獻

1. 신민교. 임상본초학. 서울: 영림사. 1997;400-402.
2. Editorial Board of China Herbals, MChina Herbals (Vol.2 )9, Shanghai :Shanghai Science & Technical Publisher, 1998; p.1682.
3. J. M. Huang, C. J. Wang, F. P. Chou, T. H. Tseng, Y. S. Hsieh, J. D. Hsu, C. Y. Chu. Protective effect of baicalin on tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatotoxicity. Arch. Toxicol. 2005;79:102.
4. D. Y. Zhang, J. Wu, F. Ye, L. Xue, S. Jiang, J. Yi, W. Zhang, H. Wei, M. Sung, W. Wang, X. Li, Inhibition of cancer cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by *Scutellaria baicalensis*. Cancer, Res. 2003;63:4037.
5. H. Bochor'a'kova', H. Paulova', J. Slanina, P. Musil, E. Ta'borska'. Main flavonoids in the root of *Scutellaria baicalensis* cultivated in Europe and their comparative antiradical properties. Phytother. Res. 2003;17:640.
6. Y. Zhao, H. Li, Z. Gao, G. Gong, H. Xu. Effects of flavonoids extracted from *Scutellaria baicalensis* Georgi on hemin-nitrite-H2O2 induced liver injury. Eur. J. Pharmacol. 2006 ;536:192.
7. Y. Z. Shang, H. Miao, J. J. Cheng, J. M. Qi. Effects of amelioration of total flavonoids from stems and leaves of *Scutellaria baicalensis*



- Georgi on cognitive deficits, neuronal damage and free radicals disorder induced by cerebral ischemia in rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2006; 29:805.
8. H. J. Heo, D. O. Kim, S. J. Choi, D. H. Shin, C. Y. Lee. Potent Inhibitory effect of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* on amyloid beta protein-induced neurotoxicity. *J. Agric. Food Chem.* 2004;52:4128.
  9. M. H. Cha, I. C. Kim, B. H. Lee, Y. Yoon. Baicalein inhibits adipocyte differentiation by enhancing COX-2 expression. *J. Med. Food.* 2006;9:145.
  10. Cellular and Molecular Immunology 6th edition, PA, USA, Saunders Elsevier.2006; 75-97.
  11. C. A. Janeway, Jr. and Ruslan Medzhitov. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 2002; 20:197 - 216.
  12. L. Bojorquez, L. N. Dehesa, R. Teran. Molecular mechanisms involved in the pathogenesis of septic shock. *Arch. Med. Res.* 2004;35:465 - 479.
  13. K. Takeda, T. Kaisho, and S. Akira. Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 2003;21:335 - 376.
  14. H. T. Yang, J. Ren, M. H. Laughlin, R. L. Terjung. Prior exercise training produces NO-dependent increases in collateral blood flow after acute arterial occlusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;282(1):H301-10.
  15. C. C. D. Santos. and A. S. Slutsky. Invited review: mechanisms of ventilator-induced lung injury: a perspective. *J. App Physiol.*2000; 89:1645-1655.
  16. N. J. Edmunds, J. M. Marshall. Vasodilatation, oxygen delivery and oxygen consumption in rat hindlimb during systemic hypoxia: roles of nitric oxide. *J Physiol.* 2001;29S:99-S106.
  17. F. M. Shen, Y. F. Guan, H. H. Xie, and D. F. Su. Arterial baroreflex function determines the survival time in lipopolysaccharide-induced shock in rats. *Shock* 2004;21:556-60.
  18. J. S. Schorey, and A.M. Cooper. Macrophage signalling upon mycobacterial infection: the MAP kinases lead the way. *Cell Microbiol* 2003;(3):133-142.
  19. S. Akira, S. Uematsu, and T. Takeuchi Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124(4):783-801.
  20. K. Honda, A. Takaoka, and T. Taniguchi. Type I interferon gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. *Immunity* 2006;25(3):349-360.
  21. A. Paun, and P. M. Pitha. The IRF family, revisited. *Biochimie* 2007;89(6-7):744-753
  22. S. Sakaguchi, H. Negishi, M. Asagiri, C. Nakajima, T. Mizutani, A. Takaoka, K. Honda, and T. Taniguchi. Essential role of IRF-3 in lipopolysaccharide-induced interferon -beta gene expression and endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;306(4): 860-866.
  23. M. Li-weber. New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of *Scutellaria* and its main active constituents Wogonin, Baicalein and Baicalin . *Cancer Treatment Reviews.* 2008.
  24. Z. B. Rong, J. S. Liang, C. X. E, L. X. Fei, C. B. Xiang, G. Jie, & L. Dan. Protective effect of the Baicalin against DNA damage induced by ultraviolet B irradiation to mouse epidermis. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* 2008;24:175 - 182.
  25. S. A. Khabar, A. Howard. Young. Post-

- transcriptional control of the interferon system. *Biochimie* 2007;89:761-769
26. K. Srinivasan. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007;47(8):735-48.
  27. C. R. Pradeep, and G. Kuttan. Effect of Piperine on the Inhibition of Nitric Oxide (NO) and TNF- $\alpha$  Production. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2003;25(3):337 - 346.
  28. R. B. Sartor. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008;134(2): 577-594.
  29. L. Muzio, G. Martino, and R. Furlan. Multifaceted aspects of inflammation in multiple sclerosis: the role of microglia. *J Neuroimmunol*. 2007;191(1-2):39-44.
  30. S. Abdollahi-Roodsaz, L. A. Joosten, M. F. Roelofs, T. R. Radstake, G. Matera, C. Popa, J. W. van der Meer, M. G. Netea, and W. B. van den Berg. Inhibition of Toll-like receptor 4 breaks the inflammatory loop in autoimmune destructive arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56(9):2957-2967.
  31. F. M. Shen, Y. F. Guan, H. H. Xie, and D. F. Su. Arterial baroreflex function determines the survival time in lipopolysaccharide-induced shock in rats. *Shock* 2004;21:556-560.
  32. E. M. Pålsson-McDermott, and L. A. O'Neill. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4. *Immunology* 2004;113(2):153-162.
  33. J. S. Schorey, and A. M. Cooper. Macrophage signalling upon mycobacterial infection: the MAP kinases lead the way. *Cell Microbiol* 2003;5(3):133-142.
  34. S. Sakaguchi, H. Negishi, M. Asagiri, C. Nakajima, T. Mizutani, A. Takaoka, K. Honda, and T. Taniguchi. Essential role of IRF-3 in lipopolysaccharide-induced interferon- $\beta$  gene expression and endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;306(4): 860-866.
  35. I. Kinjyo, T. Hanada, K. Inagaki-Ohara, H. Mori, D. Aki, M. Ohishi, H. Yoshida, M. Kubo, and A. Yoshimura. SOCS1/JAK is a negative regulator of LPS-induced macrophage activation. *Immunity*. 2002;17(5):583-591.
  36. C. A. Dinarello. Proinflammatory cytokines. *Chest* 2000;118:503-8.
  37. M. Sato, H. Suemori, N. Hata, M. Asagiri, K. Ogasawara, K. Nakao, T. Nakaya, M. Katsuki, S. Noguchi, N. Tanaka and T. Taniguchi. Distinct and essential roles of transcription factors IRF-3 and IRF-7 in response to viruses for IFN- $\alpha$ / $\beta$  gene induction. *Immunity* 2000;13(4):539-48.
  38. C. G. Lee, R. J. Homer, L. Cohn, H. Link, S. Jung, J. E. Craft, B. S. Graham, T. R. Johnson, J. A. Elias. Transgenic overexpression of interleukin (IL)-10 in the lung causes mucus metaplasia, tissue inflammation, and airway remodeling via IL-13-dependent and -independent pathways. *J Biol Chem*. 2002;20:277(38).