

# 艾葉 藥鍼液이 에탄올 등에 의한 마우스 대식세포의 활성변화에 미치는 영향

박완수\*

경원대학교 한의과대학 병리학교실

## Effect of ARTEMISIAE ARGY FOLIUM Acupuncture Solution on Raw 264.7 Cells Treated by Toxicants

Wansu Park\*

*Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University*

### Abstract

**Objectives** : The leaves of *Artemisia argyi* L. have been used for the treatment of bleeding-related diseases in traditional Korean medicine. But the immunological activities with macrophage have not been sufficiently reported. This study is to investigate the immunological bioactivities of the herbal acupuncture solution obtained from leaves of *Artemisia argyi* L. (AAAS).

**Methods & Results** : Against Nicotine and Acetaldehyde, AAAS increased significantly the production of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) within mouse macrophage Raw 264.7 cells above the concentration of 10 µg/ml. AAAS increased significantly the production of nitric oxide (NO) in Raw 264.7 cells above the concentration of 100 µg/ml against EtOH. And AAAS increased significantly the production of nitric oxide (NO) in Raw 264.7 cells above the concentration of 200 µg/ml against Nicotine, Acetaminophen, and Acetaldehyde.

**Conclusions** : These results suggest that AAAS could be thought to have the immunological activities related with the production of hydrogen peroxide and NO in macrophage.

**Key words** : Macrophage, Immuno activity, ARTEMISIAE ARGY FOLIUM, Hydrogen Peroxide, Nitric oxide

## 1. 서 론

인체가 가지고 있는 면역체계(免疫體系)는 외부로부터 침입하는 발병체(發病體)로부터 인간을 지켜내는 주요한 역할을 한다. 면역체계를 이루는 중요한 세포들 중에 하나가 대식세포(大食細胞; macrophage)이다. 대식세포는 탐식작용(phagocytosis)을 하기 때문

에 탐식세포(貪食細胞)라고도 한다. 골수의 혈구생성과정(hematopoiesis)에서 단핵전구세포(promonocyte)가 생성되어 혈액으로 들어간 뒤 성숙된 단핵구(monocyte)로 분화하며 순차적인 성장을 거치고 나서 조직으로 이동하여 특정한 조직의 대식세포가 되거나 혹은 수지상세포(dendritic cell)로 더욱 분화하게 되며 위치하는 조직마다 명칭이 달라지는 데 결합조직에 위치할 때는 '조직구(histiocyte)', 폐에서는 '폐포대식세포(alveolar macrophage)', 간에서는 '쿠퍼세

· 교신저자: 박완수, 경기도 성남시 수정구 복정동 경원대학교 한의과대학 병리학교실, Tel/Fax. 031-750-8821 E-mail: [pws98@kyungwon.ac.kr](mailto:pws98@kyungwon.ac.kr)

· 투고 : 2008/08/30 심사 : 2008/09/12 채택 : 2008/09/15

포(kupffer cell), 뇌에서는 ‘미세교세포(microglial cell)’, 신장에서는 ‘혈관간세포(mesangial cell)’, 뼈에서는 ‘골세포(osteoclast)’ 등으로 분류되고 있다<sup>1-2)</sup>. 면역반응(免疫反應)이나 염증반응(炎症反應)에 관련하여 대식세포를 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>3-5)</sup>. 최근의 대식세포를 이용한 연구 중에서 특히 nicotine, ethanol 등과 관련된 대식세포 염증반응(inflammatory reaction)을 일으키고 이와 관련된 다양한 세포활성에 대하여 조사하는 실험연구가 많이 이루어지고 있다<sup>6-7)</sup>.

본 연구에 활용된 애엽(艾葉; ARTEMISIAE ARGY FOLIUM)은 온경지혈(溫經止血)하여 한사(寒邪)를 제거하고 통증을 멈추게 하는(止痛) 효능을 가진 것으로 알려져 있다. 주요한 치료증(主治症)에는 아랫배가 차가우면서 아픈 증세(少腹冷痛), 월경이 불규칙하여 순조롭지 못한 증세(月經不調), 혹은 월경양이 지나치게 많은 것(崩漏經多), 자궁이 냉하여 임신이 잘 안 되는 경우(宮冷不孕), 일체의 허한(虛寒)으로 오는 출혈증(出血症), 피를 토하는 것(吐血), 코피 나는 것(衄血) 등이다. 우리나라에서는 국화과에 속한 다년생 초본 황해쭉(*Artemisia argyi* L.)의 잎을 건조하여 사용하고 있다<sup>8-9)</sup>. 본 연구에서는 염증성질환 치료요법으로서의 艾葉藥鍼 응용가능성에 대한 검토를 하고자 다양한 독성물질들과 관련된 마우스 대식세포의 세포활성에 대하여 艾葉藥鍼液이 미치는 영향을 조사하고 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약 중 ethanol, nicotine, Acetaminophen(AAP), Acetaldehyde, Griess reagent, Tetrazolium salt 3,[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)와 Dimethyl Sulfoxide (DMSO), dihydrorhodamine 123 (DHR) 등은 Sigma사(ST. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 기기는 rotary vacuum evaporator (Eyela, Tokyo, Japan), freeze dryer (Eyela, Tokyo, Japan), deep freezer (Revco, NC, USA), microplate reader (Bio-Rad, CA, USA) 등이다.

#### 2) 약재

본 실험에 사용된 약재 애엽 (ARTEMISIAE ARGY FOLIUM)은 한국 서해안에서 채취하여 검정한 후 사용하였으며 검정된 약재들은 경원대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되었다.

### 2. 방법

#### 1) 시료의 제조

애엽(ARTEMISIAE ARGY FOLIUM) 50g을 전기약탕기에 1차 증류수 1,000 ml와 함께 넣은 뒤 150분 동안 가열, 추출하였다. 추출액을 filter paper로 감압 여과한 뒤, 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 이 농축액을 동결건조기를 이용, 건조하여 6g을 얻었으며 수득률은 12%였다. 이 동결건조물을 phosphate-buffered saline(PBS)으로 녹인 후 0.02  $\mu$ m syringe filter로 여과하여 시료(ARTEMISIAE ARGY FOLIUM Acupuncture Solution, AAAS)로 실험에 사용하였다.

## 2) Cell line

실험에 사용된 대식세포는 mouse macrophage(Raw 264.7 cell line)이며 한국 세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하였다.

## 3) 세포 배양

Raw 264.7 cells은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 10% FBS, penicillin (100 U/ml), streptomycin (100  $\mu$ g/ml)이 첨가된 DMEM 배지로 배양되었다. Cells은 75cm<sup>2</sup> flask (Falcon, USA)에서 충분히 증식된 후 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (Sigma, USA) 용액으로 씻어준 후 50 ml flask 당 1 ml의 0.25 % trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37 °C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10 % FBS가 첨

가된 DMEM 배양액 10 ml에 부유시킨 다음 새로운 배양용기에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 배양하였다.

## 4) MTT assay

준비된 시료가 nicotine에 의해서 유발되는 세포 생존율 감소에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Mosmann 등<sup>10-13)</sup>의 방법을 응용하여 MTT assay를 실시하였다. 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well의 cell을 100  $\mu$ l씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 씻어주었다. 독성물질 nicotine(100 uM) 단독 혹은 시료(10, 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/ml)와 함께 배지에 담아 각 well에 처리하고 24시간동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양이 끝난 배지를 조심스럽게 제거하고 PBS에 녹인 1 mg/ml MTT (Sigma, USA)를 100  $\mu$ l씩 각 well에 처리하고 알루미늄호일로 차광시킨 후 3시간동안 같은 조건에서 배양하였다. 배양이 끝난 뒤 배양액을 모두 제거하고 DMSO를 200  $\mu$ l 처리한 뒤 37°C에서 1시간 방치 후 microplate reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정, 세포생존율을 비교하였다.

## 5) Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) assay

세포내 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 생성은 Roesler 등<sup>14-18)</sup>의 방법을 응용,

dihydrorhodamine 123 (DHR) assay를 실시하여 측정하였다. DHR은 비형광 이지만 세포 내에서 세포 내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의하여 산화되어 녹색의 형광을 발현하는 물질인 rhodamine 123(R123)로 바뀌게 된다. 그러므로 여러 가지 산화적 반응을 일으키는 물질들로 인해 mouse의 대식세포 내에서 대량으로 발생하는 reactive oxygen species (ROS)의 수준을 dihydrorhodamine 123 assay을 이용하여 측정할 수 있다. 본 실험에서는 nicotine(100 uM), acetaldehyde(200 uM) 등이 유발하는 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성에 대한 시료의 억제 효과를 측정하였다. 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 분주되도록 1×10<sup>5</sup> cells/ml의 cell을 100μl씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 씻어주었다. 시료를 처리하기 전에 우선 DHR(10uM)이 담긴 배지를 30분간 각 well에 처리한 뒤 배지를 제거하였다. 독성유발물질 nicotine(100 uM)<sup>19)</sup>이나 acetaldehyde (200 uM)<sup>20)</sup>를 단독 혹은 시료(10, 50, 100, 200, 400 μg/ml)와 함께 배지에 담아 각 well에 처리하고 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양이 끝난 후 microplate reader (Bio-Rad, CA, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정, 비교하였다.

#### 6) Nitric oxide 생성 측정

세포로부터 생성되는 nitric oxide의 양은 Weissman<sup>22)</sup>의 방법을 응용, 세포배양액 중에 존재하는 NO<sup>2-</sup>를 griess 시약을 이용,

측정하였다. 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 분주되도록 1×10<sup>5</sup> cells/ml의 cell을 100 μl씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 씻어주었다. 배지를 제거한 후 독성물질인 EtOH(100 uM)<sup>19)</sup>, nicotine(100 uM), acetaldehyde(200 uM), AAP(2 mM)<sup>21)</sup> 등을 단독 혹은 시료(10, 50, 100, 200, 400 μg/ml)와 함께 배지에 담아 각 well에 처리하고 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액 100 μl을 채취하여 griess시약 100 μl을 혼합하고 15분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정, 비교하였다.

### 3. 통계처리

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

## III. 결 과

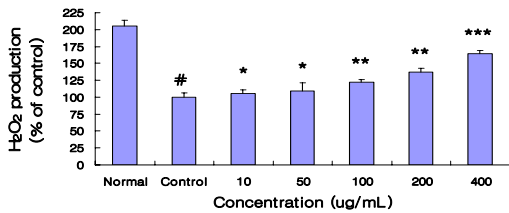
### 1. Raw 264.7의 세포생존율에 대한 영향

AAAS(10, 50, 100, 200, 400 μg/ml)가 포함된 배지로 24시간 배양한 결과에서는 nicotine(100uM)이 유발하는 마우스 대식세포 생존율 감소에 별다른 영향을 미치지 못

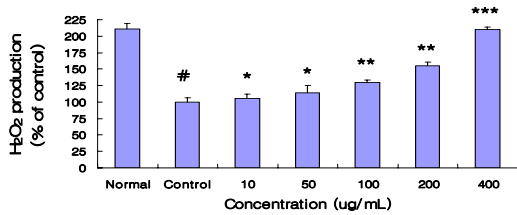
하는 것으로 나타났다(data not shown).

## 2. Raw 264.7의 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성에 대한 영향

nicotine(100 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성감소에 대하여 AAAS(10, 50, 100, 200, 400 µg/ml)는 각각 105.2, 109.7, 122.4, 137.2, 164.5%로 유의(P<0.05)하게 증가시켰다(Fig. 1). Acetaldehyde(200 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성감소에 대해서는 AAAS(10, 50, 100, 200, 400 µg/ml)가 각각 105.8, 113.5, 129.7, 155.1, 210%로 유의(P<0.05)하게 증가시켰다(Fig. 2).



**Fig. 1.** Effect of AAAS on the intracellular production of hydrogen peroxide for 24 h. Results are represented as mean ± S.D. Normal : Not treated with nicotine. Control : Treated with nicotine only. # represents  $P < 0.05$  compared to the normal. \* represents  $P < 0.05$  compared to the control (\*\* represents  $P < 0.01$  and represents  $P < 0.001$ ).

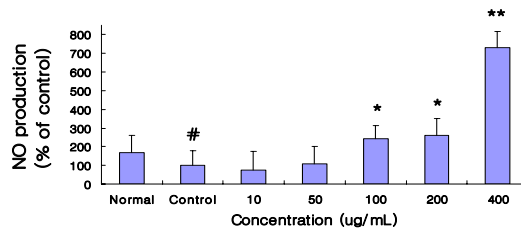


**Fig. 2.** Effect of AAAS on the intracellular production of hydrogen peroxide for 24 h. Results are represented as mean ± S.D. Normal : Not treated with acetaldehyde. Control : Treated with acetaldehyde only.

# represents  $P < 0.05$  compared to the normal. \* represents  $P < 0.05$  compared to the control (\*\* represents  $P < 0.01$  and represents  $P < 0.001$ ).

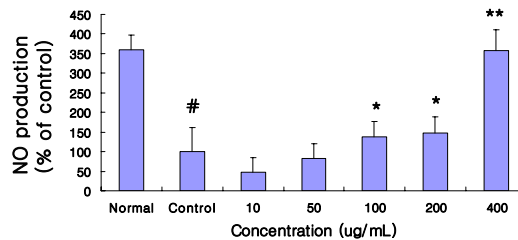
## 3. Raw 264.7의 NO 생성에 대한 영향

EtOH(100 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대하여 AAAS는 100, 200, 400 µg/ml의 농도에서 각각 241.9, 261.3, 732.3%로 유의(P<0.05)하게 증가시켰다(Fig. 3).



**Fig. 3.** Effect of AAAS on the production of nitric oxide (NO) for 24 h. Results are represented as mean ± S.D. Normal : Not treated with EtOH. Control : Treated with EtOH only. # represents  $P < 0.05$  compared to the normal. \* represents  $P < 0.05$  compared to the control and \*\* represents  $P < 0.01$ .

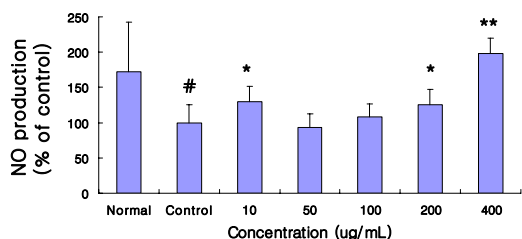
nicotine(100 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대하여 AAAS는 100, 200, 400 µg/ml의 농도에서는 각각 136.6, 146.5, 357.7%로 유의(P<0.05)한 증가를 나타내었다(Fig. 4).



**Fig. 4.** Effect of AAAS on the production of nitric oxide (NO) for 24 h. Results are represented as

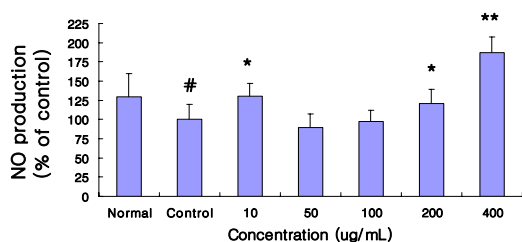
mean ± S.D. Normal : Not treated with nicotine. Control : Treated with nicotine only. # represents  $P < 0.05$  compared to the normal. \* represents  $P < 0.05$  compared to the control and \*\* represents  $P < 0.01$ .

AAP(2 mM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대하여 AAAS는 10, 200, 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 130.2, 126.0, 198.5%로 유의( $P < 0.05$ )한 증가를 나타내었다(Fig. 5).



**Fig. 5.** Effect of AAAS on the production of nitric oxide (NO) for 24 h. Results are represented as mean ± S.D. Normal : Not treated with AAP. Control : Treated with AAP only. # represents  $P < 0.05$  compared to the normal. \* represents  $P < 0.05$  compared to the control and \*\* represents  $P < 0.01$ .

Acetaldehyde(200  $\mu\text{M}$ )에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대하여 AAAS는 10, 200, 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 각각 130.4, 120.8, 186.9%로 유의( $P < 0.05$ )한 증가를 나타내었다(Fig. 6).



**Fig. 6.** Effect of AAAS on the production of nitric oxide (NO) for 24 h. Results are represented as mean ± S.D. Normal : Not treated with acetaldehyde. Control : Treated with acetaldehyde only. # represents

$P < 0.05$  compared to the normal. \* represents  $P < 0.05$  compared to the control and \*\* represents  $P < 0.01$ .

#### IV. 고찰

인체 면역체계에 있어 중요한 역할을 담당하는 대식세포의 세포생리활성과 관련하여 최근 대식세포의 과산화수소(hydroperoxide;  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 생성감소가 류마티스성 관절염과 같은 자가면역질환의 증상약화와 관련 있다는 연구들<sup>23-26)</sup>이 보고되고 있다. 또한 대식세포에 의한 NO 생성감소는 외부 병원체에 대한 대항능력감소와 연관 있는 것으로 알려져 있다.

애엽(ARTEMISIAE ARGY FOLIUM)의 성미(性味)는 따뜻하나 독이 약간 있고(溫有小毒) 맵고 쓴 것(辛苦)으로 알려져 있으며 간(肝), 비(脾), 신(腎) 등으로 귀경(歸經)하여 산한지통(散寒止痛), 온경지혈(溫經止血)하는 효능으로 소복냉통(少腹冷痛), 월경부조, 궁냉불임(宮冷不孕), 토혈(吐血), 녹혈(衄血), 붕루경다(崩漏經多), 임신으로 인한 하혈(下血) 등을 치료하며<sup>8)</sup>, 주요한 성분으로는 휘발성 정유가 약 0.2~0.5% 함유되어 있는데, cineole이 약 50%, limonene,  $\alpha$ -thujone,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -terpineneol 등으로 구성되며 이 외에도 adenine, choline, vitamin A·B·C·D와 amylase 등이 포함되어 있으며 진해거담평천(鎮咳祛痰平喘) 작용, 항혈액응고 작용, 면역증강 작용, 항균 작용 등이<sup>9)</sup> 있는 것으로 알려져 있다. 이 외에 애엽에 대한 선행 연구로서 김 등<sup>27)</sup>이 황해쑥의 열수 및 메탄올 추출액이 H9 암세포에 대한 세포독성을 나

타내는 것과 CuZnSOD와 MnSOD 활성을 증가시킨다는 것을 보고하였으며 정 등<sup>28)</sup>은 황해속 물분획물의 L1210 세포에 대한 세포 독성과 항산화효소 활성변화에 대하여 보고하였다.

본 연구에서 nicotine(100 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성감소에 대하여 AAAS가 10, 50, 100, 200, 400 µg/ml의 농도에서 각각 105.2, 109.7, 122.4, 137.2, 164.5%로 유의(P<0.05)하게 증가시켰고(Fig. 1), Acetaldehyde(200 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성감소에 대해서는 AAAS가 10, 50, 100, 200, 400 µg/ml의 농도에서 각각 105.8, 113.5, 129.7, 155.1, 210%로 유의(P<0.05)하게 증가시켰다(Fig. 2). 이는 AAAS가 손상된 대식세포의 ROS 생성능을 회복시킴으로써 류마티스성 관절염과 같은 자가면역질환의 치료에 도움을 줄 수 있음을 의미한다.

EtOH(100 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대해 AAAS는 100, 200, 400 µg/ml의 농도에서 각각 241.9, 261.3, 732.3%로 유의(P<0.05)하게 증가시켰다(Fig. 3). Nicotine(100 uM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소의 경우에는 AAAS가 100, 200, 400 µg/ml의 농도에서 각각 136.6, 146.5, 357.7%로 유의(P<0.05)한 증가를 나타내었다(Fig. 4). AAP(2 mM)에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대해서는 AAAS가 10, 200, 400 µg/ml의 농도에서 각각 130.2, 126.0, 198.5%로 유의(P<0.05)한 증가를 나타내었다(Fig. 5). Acetaldehyde(200 uM)에

의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소의 경우 AAAS는 10, 200, 400 µg/ml의 농도에서 각각 130.4, 120.8, 186.9%로 유의(P<0.05)한 증가를 나타내었다(Fig. 6). AAP와 acetaldehyde로 유발한 실험 결과 50, 100 µg/ml의 농도에서는 유의한 NO 증가가 나타나지 않았음은 AAAS의 농도가 고농도일때 더 우수한 약리효과를 기대할 수 있는 것으로 사료되었다. 이와 같이 각종 면역기능저하유발 물질에 의한 대식세포의 NO 생성억제현상을 AAAS가 회복시키는 실험결과들은 AAAS가 면역기능저하증상을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

이상의 결과, 애엽약침액(艾葉藥鍼液) AAAS는 독성물질로 유발된 마우스 대식세포의 세포내 hydrogen peroxide 생성감소와 NO 생성감소를 회복시킬 수 있는 효과가 있으며 자가면역질환 증상개선이나 면역기능강화를 위해 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 결 론

다양한 독성물질들(EtOH, nicotine, AAP, acetaldehyde)로 마우스 대식세포의 세포내 hydrogen peroxide 생성억제와 NO 생성억제를 유발하고 艾葉藥鍼液(AAAS)를 처리한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Nicotine에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포내 hydrogen peroxide 생성감소에 대해 AAAS가 농도 의존적으로 유의하게 증가시켰고, acetaldehyde에 의하여 유발된 hydrogen peroxide 생성감소 역시 농

도 의존적으로 유의하게 증가시켰다.

2. EtOH에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대해 AAAS는 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상의 농도에서 농도 의존적으로 유의하게 증가를 나타내었다.
3. Nicotine에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대해 AAAS는 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상의 농도에서 농도 의존적으로 유의한 증가를 나타내었다
4. AAP에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대해 AAAS는 특히 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상의 농도에서 유의한 증가를 나타내었다.
5. Acetaldehyde에 의하여 유발된 Raw 264.7 세포의 NO 생성감소에 대해 AAAS는 특히 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  이상의 농도에서 유의한 증가를 나타내었다.

이상의 결과는 AAAS가 독성물질로 유발된 마우스 대식세포의 세포내 hydrogen peroxide 생성감소와 NO 생성감소를 회복시킬 수 있는 효과를 가지고 있음을 나타내며 앞으로 자가면역질환과 관련된 AAAS의 작용에 관하여 보다 면밀한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

### 참고문헌

1. Alder JK, Georgantas RW 3rd, Hildreth RL, Kaplan IM, Morisot S, Yu X et al. Kruppel-like factor 4 is essential for inflammatory monocyte differentiation in vivo. *J Immunol.* 2008 ; 180(8) : 5645-52.
2. Naito M. Macrophage differentiation and function in health and disease. *Pathol Int.* 2008 ; 58(3) : 143-55.
3. Gaschler GJ, Zavitz CC, Bauer CM, Skrtic M, Lindahl M, Robbins CS et al. Cigarette smoke exposure attenuates cytokine production by mouse alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008 ; 38(2) : 218-26.
4. Dissing-Olesen L, Ladeby R, Nielsen HH, Toft-Hansen H, Dalmau I, Finsen B. Axonal lesion-induced microglial proliferation and microglial cluster formation in the mouse. *Neuroscience.* 2007 ; 149(1) : 112-22.
5. Lingnau M, Hflich C, Volk HD, Sabat R, Dcke WD. Interleukin-10 enhances the CD14-dependent phagocytosis of bacteria and apoptotic cells by human monocytes. *Hum Immunol.* 2007 ; 68(9) : 730-8.
6. Gaschler GJ, Zavitz CC, Bauer CM, Skrtic M, Lindahl M, Robbins CS et al. Cigarette smoke exposure attenuates cytokine production by mouse alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008 ; 38(2) : 218-26.
7. Ping XD, Harris FL, Brown LA, Gauthier TW. In vivo dysfunction of the term alveolar macrophage after in utero ethanol exposure. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007 ; 31(2) : 308-16.
8. 전국한의학대학 공동교재편찬위원회. *본초학*. 서울 : 영림사. 1991 : 405-7.



9. 김호철. 한약약리학. 서울 : 집문당. 2001 : 309-11.
10. Mosmann T. J Immunol Methods 1983 ; 65 : 55.
11. Ferrari M, Fornasiero MC, Isetta AM. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. J Immunol Methods. 1990 ; 131(2) : 165-72.
12. Oez S, Platzner E, Welte K. A quantitative colorimetric method to evaluate the functional state of human polymorphonuclear leukocytes. Blut. 1990 ; 60(2) : 97-102.
13. Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. J Immunol Methods. 1986 ; 94(1-2) : 57-63.
14. Roesler J, Hecht M, Freihorst J, Lohmann-Matthes ML, Emmendorffer A. Diagnosis of chronic granulomatous disease and of its mode of inheritance by dihydrorhodamine 123 and flow microcytofluorometry. Eur J Pediatr. 1991 ; 150(3) : 161-5.
15. Crow JP. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro : implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. Nitric Oxide. 1997 ; 1(2) : 145-57.
16. van Pelt LJ, van Zwieten R, Weening RS, Roos D, Verhoeven AJ, Bolscher BG. Limitations on the use of dihydrorhodamine 123 for flow cytometric analysis of the neutrophil respiratory burst. J Immunol Methods. 1996 ; 191(2) : 187-96.
17. Jirapongsananuruk O, Malech HL, Kuhn DB, Niemela JE, Brown MR, Anderson-Cohen M et al. Diagnostic paradigm for evaluation of male patients with chronic granulomatous disease, based on the dihydrorhodamine 123 assay. J Allergy Clin Immunol. 2003 ; 111(2) : 374-9.
18. Richardson MP, Ayliffe MJ, Helbert M, Davies EG. 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. 1998 ; 219(1-2) : 187-93.
19. 박완수. 마우스 대식세포(Raw 264.7)에 대한 한약조성물 KOCO-P1의 세포활성 연구. 2008 ; 23(2) : 151-7.
20. Rodríguez-Fragoso L, Alvarez R, Reyes-Esparza JA, Garcés ME. Acetaldehyde increases the activity and gene expression of urokinase type plasminogen activator in a hepatic stellate cell line. Toxicology. 1999 ; 137(1) : 1-11.
21. Gunawan BK, Liu ZX, Han D, Hanawa N, Gaarde WA, Kaplowitz N. c-Jun N-terminal kinase plays a major role in murine acetaminophen hepatotoxicity. Gastroenterology. 2006 ; 131(1) : 165-78.
22. Casanova JA, Gross LK, McMullen SE, Schenck FJ. Use of Griess reagent conta

- ining vanadium(III) for post-column derivatization and simultaneous determination of nitrite and nitrate in baby food. *J AOAC Int.* 2006 ; 89(2) : 447-51.
23. Li H, Wang L, Yang Z, Kitanaka S. Kadsuralignans H-K from *Kadsura coccinea* and their nitric oxide production inhibitory effects. *J Nat Prod.* 2007 ; 70(12) : 1999-2002.
24. Gelderman KA, Hultqvist M, Pizzolla A, Zhao M, Nandakumar KS, Mattsson R et al. Macrophages suppress T cell responses and arthritis development in mice by producing reactive oxygen species. *J Clin Invest.* 2007 ; 117(10) : 3020-8.
25. Hultqvist M, Bäcklund J, Bauer K, Gelderman KA, Holmdahl R. Lack of reactive oxygen species breaks T cell tolerance to collagen type II and allows development of arthritis in mice. *J Immunol.* 2007 ; 179(3) : 1431-7.
26. Hultqvist M, Olofsson P, Holmberg J, Bäckström BT, Tordsson J, Holmdahl R. Enhanced autoimmunity, arthritis, and encephalomyelitis in mice with a reduced oxidative burst due to a mutation in the *Ncf1* gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 ; 101(34) : 12646-51.
27. 김경하, 정대영, 민태진, 박시원. 황해쑥 (*Artemisia argyi*)의 열수 및 메탄올 추출액은 H9(ATCC HTB176)세포에 대한 세포독성 및 항산화효소 활성. *약학회지.* 1999 ; 43(5) : 598-605.
28. 정대영, 박시원. 황해쑥 물분획물의 L1210 세포에 대한 세포독성과 항산화효소 활성 변화. *약학회지.* 2002 ; 46(1) : 39-46.