

## 세신고가 알레르기성 비염에 미치는 효과

김민애 · 김미보 · 고우신 · 윤화정  
동의대학교 한의과대학 한방안이비인후피부과학교실

### The anti-allergic effect of *SESHINGO*(SSG)

*Min-Ae Kim · Mi-Bo Kim · Woo-Shin Ko · Hwa-Jung Yoon*

**Objective** : The purpose of this study was find out the anti-allergic effects of *SESHINGO* on the allergic rhinitis.

**Methods** : Cell viability was evaluated by the MTT assay. Cells were treated with the indicated concentration of SSG. TNF- $\alpha$  concentration was measured from cell supernatants using ELISA method. IL-4 concentration was measured from cell supernatants using ELISA method. IFN- $\gamma$  concentration was measured from cell supernatants using ELISA method. Total RNA was isolated, TNF- $\alpha$  and IL-4 mRNA expression was detected by RT-PCR analysis. Total RNA was isolated, COX-1, COX-2 mRNA was analyzed by RT-PCR analysis.

- Results** :
1.  $\beta$ -hexosaminidase release in RBL-2H3 cells were decreased by *SESHINGO* attentively .
  2. Secreting ration of TNF- $\alpha$  was restrained in RBL-2H3 cells by *SESHINGO* attentively.
  3. Secreting ration of IL-4 was restrained in RBL-2H3 cells by *SESHINGO* attentively
  4. Revelation of TNF- $\alpha$  mRNA was decreased in RBL-2H3 cells as concentration.
  5. Revelation of IL-4 mRNA was decreased in RBL-2H3 cells as concentration.
  6. Revelation of COX-2 mRNA was decreased in RBL-2H3 cells.

**Conclusion** : According to above results, to evaluate the effect of *SSG* on the anti-allergic effects.

---

**Key words** : *SESHINGO* ,allergic effects

## I. 서 론

---

교신저자 : 윤화정, 부산광역시 부산진구 양정2동 산 45-1  
동의의료원  
(Tel: 051-850-8658, E-mail: yhj1226@deu.ac.kr)

• 접수 2008/11/17 • 수정 2008/11/28 • 채택 2008/12/05

※ 본 연구는 2008년도 동의대학교 교내연구비지원에 의해서 수행  
되었습니다.(2008AA124)

비염은 콧물, 재채기, 가려움증, 코막힘, 후비루 등의 증상을 동반하는 코점막의 염증성 질환으로 정의하며, 이중 알레르기성 비염이 전체 비염 중 과반수를 차지한다<sup>1)</sup>.

알레르기성 비염은 정상적인 면역반응의 저하로 인해 항원이 몸 안으로 들어올 때 이에 대한 코의 비정상적인 과다한 반응으로 인해 나타나는 염증 현상으로, 반복되는 재채기, 콧물, 코막힘의 3대 증상을 특징적인 증상으로 나타낸다. 원인 물질인 항원으로는 먼지 진드기가 가장 흔한 항원으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 또한 스트레스 자체가 알레르기 반응에 중요한 영향을 끼치는 요인으로 생각되고 있는데 만성적인 스트레스가 알레르기 반응을 증강시킨다는 Datti F.의 보고라든가<sup>3)</sup> 스트레스와 각종 cytokines의 관계에 대한 Schmid-Ott G.의 보고<sup>4,5)</sup> 및 그 밖에 많은 보고들이<sup>6-9)</sup> 현대사회에서 스트레스와 알레르기 반응과의 연관성을 제시하고 있다.

한의학과 서양의학의 질병분류체계가 다르기 때문에 알레르기성 비염을 특정 한방 명명에 대응시킬 수는 없지만 '비구(鼻飶)', '비체(鼻涕)', '비색(鼻塞)', '비연(鼻淵)'이 이에 해당한다고 볼 수 있다<sup>12)</sup>.

「동의보감」에서 "鼻飶란 맑은 콧물이 나오는 병이다"라고 하였고 그 원인으로 肺寒과 傷風을 언급하였다<sup>13)</sup>. 따라서 肺寒과 傷風으로 인한 鼻飶의 증상은 맑은 콧물 외에 가려움, 재채기, 오한, 발열, 두통 등의 증상을 동반함을 유추할 수 있다. 이는 현재 급성비염, 알레르기성 비염과 혈관운동성비염의 일상증상에서 유사성을 찾을 수 있다<sup>14)</sup>.

「동의보감」에서는 鼻飶에 대한 치료법으로 내치제와 외치법을 소개하였다. 그 중 내치제인 이진탕과 함께 소개한 외치제인 세신고(SESHINGO, SSG)는 "治鼻塞, 腦冷涕湧不止"라 하여 코가 막히고 뇌가 차서 맑은 콧물이 멎지 않은 것을 치료한다고 소개하였다<sup>13)</sup>. RBL-2H3 세포의 항알러지효과에 대한 내복약이나 본초에대한 연구<sup>15-16)</sup>는 다양하게 있어 왔으나 외치제에 대한 연구는 없다.

본 논문에서는 RBL-2H3 세포에서의 세신고의  $\beta$ -hexosaminidase release 정도, inflammatory cytokines 분비량 및 mRNA 발현에 미치는 영향에

관하여 실험하였고 SSG가 항알러지에 유의한 효과가 있어 이에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 약재

SSG를 구성하는 약재는 세신, 천초, 건강, 천궁, 오수유, 부자, 조협, 계심이고 전량 누리 제약에서 구입하였다.

### 2. 세포 배양

RBL-2H3세포는 한국세포주은행(Korea Cell Line Bank, KCLB)에서 분양받았으며 세포의 배양을 위하여 10 % heat-inactivated fetal bovine serum과 100U/ml penicillin 및 100 $\mu$ g/ml streptomycin을 포함한 DMEM에서 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>의 조건 하에 배양하였다.

### 3. 시약

본 실험에 사용된 phorbol 12-myristate (PMA), calcium ionophore A23187, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltriazolium bromide (MTT)와 p-nitro-phenyl-N- $\beta$ -D-glucosaminide는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)로부터, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)과 fetal bovine serum (FBS)는 HyClone사(Logan, UT)로부터, TNF- $\alpha$  ELISA kit, IL-4 ELISA kit와 INF- $\gamma$  ELISA kit는 BD Biosciences사(Frankline Lakes, NJ)에서 구입하여 사용하였다.

### 4. 검액의 조제 및 투여

SSG에 들어가는 약재인 세신, 천초, 건강, 천궁, 오수유, 부자 각각 30g 조협 20g 계심 40g 을 전탕하여 물 900ml를 넣고 1시간 반동안 전탕하여

450ml 용액으로 만들었다.

SSG 추출액 450ml을 동결 건조하여 14.01g의 파우더를 얻어 4°C에서 보관하였다. 실험하기 직전에 생리 식염수나 PBS(phosphate buffered saline)에 녹여 실린지 필터 0.22 μM에 여과하여 사용하였다.

## 5. MTT assay

RBL-2H3 세포를 3×10<sup>5</sup>cells/well의 농도가 되도록 24 well plate에 분주하여 24시간 동안 안정화시킨 후, SSG를 농도별(0,0.5 및 1.0 μg/ml)로 처리한 후 3시간 동안 반응시켰다. 배양액을 제거한 후 5.0mg/ml MTT solution을 300 μl씩 각 well에 처리한 후, 4시간동안 37°C incubator에서 반응시키고, MTT solution을 제거한다. 그 후, DMSO를 300 μl씩 분주하여 well에 생성된 formazin이 잘 녹을 수 있게 충분히 흔들어서 모두 녹인 후 96 well plate에 100 μl씩 옮겨 microplate reader로 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 6. β-hexosaminidase assay

β-hexosaminidase release는 Schwartz et al<sup>17)</sup>의 방법에 의하여 측정하였다. RBL-2H3 세포를 3×10<sup>5</sup>cells/well의 농도로 24 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24 시간 배양하였다. 각 well의 세포들을 extracellular buffer로 2번 세척한 다음 각 well 당 extracellular buffer와 SSG(0,0.5 및 1.0 μg/ml)를 처리한 후 1시간 동안 반응시켰다. 이후 50 nM PMA와 1 μM A23187을 사용하여 세포를 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 1시간동안 자극시킨 후, ice에서 10분간 incubation시켜 반응을 종결시켰다.

각 well의 상청액 20 μl를 96 well plate에 옮기고 상청액을 모두 제거하였다. 그 후 0.1% triton X-100 를 세포가 부착되어 있는 24 well plate에

각각 1ml씩 첨가하여 pellet을 녹인 후 96 well plate에 20 μl씩 넣었다. 96 well plate에 substrate buffer (4-p-Nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminidase 1mM, sodium citrate 0.05M, pH 5) 100 μl를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 암조건으로 1시간동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 0.1M carbonate buffer(pH 10.5)를 첨가하여 반응을 종결한 후 Microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. β-hexosaminidase release (%)값은 측정된 대조군과 실험군의 흡광도값을 이용하여 산출하였다.

$$\beta\text{-hexosaminidase release (\%)} = \frac{A_{405} \text{ of sup.}}{A_{405} \text{ of sup.} + A_{405} \text{ of pellet}} \times 100$$

A<sub>405</sub>는 405 nm에서 측정된 대조군 및 실험군 각각의 흡광도 값이고, sup.는 supernatant (상청액)를 의미한다.

## 7. Enzyme-linked immunosorbent assay (TNF-α, IL-4, and IFN-γ)

RBL-2H3 세포를 6 well plate에 5×10<sup>5</sup>cells/well의 농도로 분주한 후 24시간 동안 배양한 후, 새 DMEM 배지에 SSG를 농도별 (0,0.5 및 1.0 μg/ml)로 처리하였다. 1시간 동안 배양한 후 50 μM PMA와 1 μM A23187을 첨가한 군과 첨가하지 않은 군으로 나누어 처리하고, 10 시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후에 상청액을 분리하여 5,000rpm에서 3분간 원심분리하고, 분리된 상청액을 -20°C에 보관하였다. 부착된 세포는 Total RNA를 분리하기 위해 사용되었다. TNF-α, IL-4와 IFN-γ ELISA set(BD OptEIA™)를 사용하여 manufacture's protocol에 따라 실험을 실시하였다. microplate reader로 450~450nm에서 흡광도를 측정하여 각 cytokine의 누출량을 확인하였다.

### 8. Total RNA 분리 및 RT-PCR

Total RNA는 Trizol법으로 분리하였다. RBL-2H3 세포에 Trizol reagent(Invitrogen, Carlsbad, CA)를 첨가하여 용해시킨 후 e-tube에 담아 -80℃에 보관하였다. total RNA분리를 위해 Chloroform 0.2ml을 첨가하여 잘 혼합한 후, 실온에서 2-3분간 반응시켰다. 반응이 끝난 샘플은 4℃, 14,000rpm에서 20분간 원심 분리한 후, 상청액을 멸균된 새e-tube로 옮겨 상청액과 동량의 isopropanol을 첨가하고, 잘 혼합한 후, 실온에서 15분간 침전시켰다. 4℃, 14,000rpm에서 20분간 원심 분리하여 상청액을 제거하고 75% ethanol 0.5ml을 첨가하여 4℃, 7,500rpm에서 5분간 원심 분리한 후 상청액을 완전히 제거하였다. RNA pellet은 실온에서 건조시켜, RNase free water에 현탁하였다. 분리된 total RNA는 -70℃에서 보관하였다.

Total RNA의 양은 분광 광도계(Spectrophotometer, BioPhotometer, Eppe-ndorf)를 사용하여 측정하였고 PCR amplification은 PCR machine(ASTEC PC802)을 사용하였다. 그 후 역전사효소인 M-mlV reverse transcriptase(Promega, Madison, WI)를 이용하여 cDNA를 합성하였고, 합성된 cDNA를 PCR template로 하여 PCR amplification을 실시하였다.

10mM Tris-HCl, 40mM KCl, 1.5mM MgCl, 250 μM dNTP, 1unit of Taqpolymerase가 첨가되어 있는 PCR PreMix(Bioneer, Korea)에 5 μg의 RNA으로 합성된 각각의 cDNA template와 Table 1.에 표기한 primers를 첨가하고, distilled water로 PCR mixture 최종 volume이 20 μl가 되게 하였다. PCR amplification 조건은 다음과 같다. 95℃에서 5분간 pre-denaturation 시킨 후, 95℃에서 60초 denaturation, 52℃ (COX-1, COX-2 : 55℃)에서 60초 annealation, 72℃에서 60초 extension의 반응을 1 cycle로 하여, 30cycles (TNF-α, COX-1 : 35 cycles)를 반응시켰다. 그 후, 72℃에서 7분간 post-extension 시켰다.

PCR 후 증폭된 산물은 0.5% agarose gel을 이용하여 0.5X TBE buffer에서 전기영동을 실시하였고, 전기영동이 끝난 gel을 EtBr(Ethidium Bromide)에 염색하여 UV에서 증폭산물을 확인하였다. GAPDH를 internal control로 사용하였다.

### 9. 통계처리

결과는 평균 (mean) ± 표준오차 (standard error)로 나타내었고 실험군 간의 유의성은 Student's *t*-test를 이용하여 검정하였으며, *P* 값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다. 통계처리는 SPSS12.0을 사용하였다.

Table 1. Oligonucleotide primers used for PCR in this study.

Targer gene	Oligonucleotide sequences (5' to 3' direction)	Expected size	Accession number
TNF-α	CGTCTACTCCTCAGAGCCC TCCACTCAGGCATCGACATT	226 bp	NM012675
IL-4	AACACTTTGAACCAGGTCAC AGTGCAGGACTGCAAGTATT	330 bp	X16058
COX-1	ACTGGTCTGCCTCAACACCA CAAGGGTGAGACCCCAAGTT	223 bp	S67721
COX-2	TGACCAGAGCAGAGAGATGA CATAAGGCCTTCAAGGAGA	250 bp	S67722
GAPDH	GGCCAAAAGGGTCATCATCT GTGATGGCATGGACTGTGGT	201 bp	NM017008

### III. 결 과

#### 1. 세포 생존율에 미치는 영향

세포 생존율을 관찰하기 위하여 RBL-2H3 cells 에 SSG를 각각 0.5와 1.0 $\mu\text{g/ml}$  농도로 처리하여 MTT assay를 실시하였다. MTT assay 결과, SSG를 농도별로 처리한 실험군과 아무것도 처리하지 않은 대조군에서 유의성있는 세포 생존율이 확인 되었다(Fig. 1).

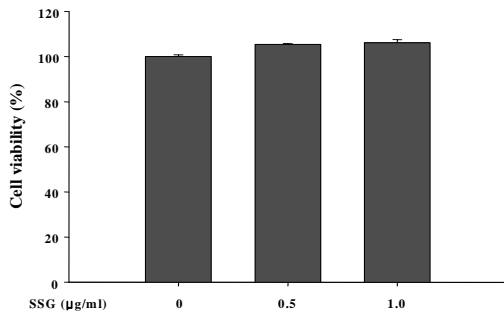


Fig. 1. Effect of SSG on the cell viability in RBL-2H3 cells.

Cell viability was evaluated by the MTT assay. Each value indicates the mean  $\pm$  S.E. (Standard Error) and is representative of results obtained from three independent experiments.

#### 2. 세포의 탈과립에 미치는 영향

RBL-2H3 cells에서의 탈과립을 확인하기 위하여  $\beta$ -hexosaminidase 누출 정도를 측정하였다.  $\beta$ -hexosaminidase 누출량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서 3.52 $\pm$ 0.10%였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에서 13.72 $\pm$ 0.46%로 유의성있게 증가하였으며, 자극 전 SSG를 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 와 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 세포에서는 각각 8.90 $\pm$ 0.14%, 7.37 $\pm$ 0.12%로 유의성( $P < 0.005$ ) 있는 감소를 보였다(Fig. 2).

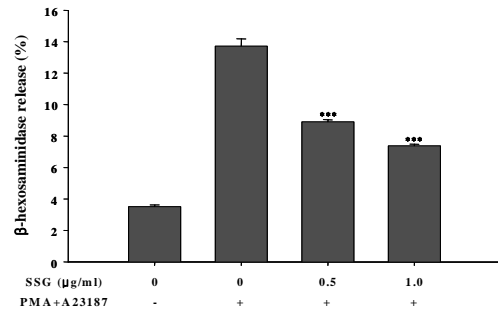


Fig. 2. Effect of SSG on degranulation in RBL-2H3 cells. Cells were treated with the indicated concentration of SSG. Degranulation was assessed by  $\beta$ -hexosaminidase release into the supernatant.  $\beta$ -hexosaminidase released into the medium is presented as mean  $\pm$  S.E. (n=3). \*\*\* $P < 0.005$ ; significantly different from the stimulated group.

#### 3. TNF- $\alpha$ 분비에 미치는 영향

ELISA method로 측정된 TNF- $\alpha$ 의 분비량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서 5.39 $\pm$ 0.09pg/ml였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에는 1054.44 $\pm$ 6.79pg/ml로 유의성있게 증가하였으며, 자극 전 SSG를 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 와 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 세포에서는 각각 858.45 $\pm$ 15.74pg/ml, 763.23 $\pm$ 17.73pg/ml로 유의성있는 감소를 보였다(Fig. 3).

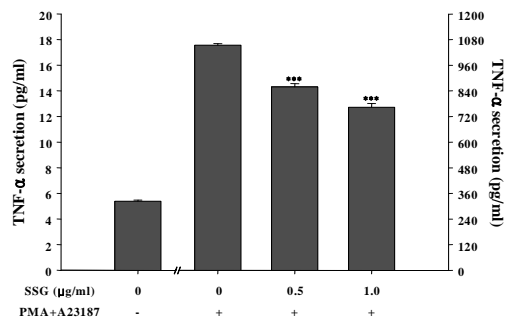


Fig. 3. Effects of SSG on TNF- $\alpha$  production in RBL-2H3 cells.

TNF- $\alpha$  concentration was measured from cell supernatants using ELISA method. Vertical bars represent as the mean  $\pm$  S.E. from 4 wells. \*\*\*  $P < 0.005$ ; signific

#### 4. IL-4 분비에 미치는 영향

ELISA method로 측정된 IL-4의 분비량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서  $1.41 \pm 0.02 \text{ pg/ml}$ 였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에는  $1840.56 \pm 7.49 \text{ pg/ml}$ 로 현저히 증가하였으며, 자극 전 SSG를  $0.5 \mu\text{g/ml}$ 와  $1.0 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 세포에서는 각각  $1760.89 \pm 16.11 \text{ pg/ml}$ ,  $1405.07 \pm 22.00 \text{ pg/ml}$ 로 유의성 있는 감소를 보였다(Fig. 3), antly different from the stimulated group.

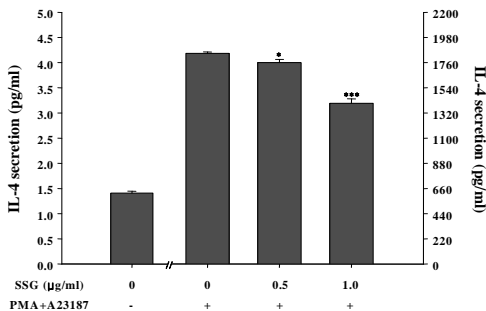


Fig. 4. Effects of SSG on IL-4 production in RBL-2H3 cells.

IL-4 concentration was measured from cell supernatants using ELISA method. Vertical bars represent as the mean  $\pm$  S.E. from 4 wells.

\*P < 0.05, \*\*\* P < 0.005; significantly different from the stimulated group.

#### 5. IFN-γ 분비에 미치는 영향

ELISA method로 측정된 IFN-γ의 분비량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서  $6.81 \pm 0.17 \text{ pg/ml}$ 였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에는  $6.99 \pm 0.16 \text{ pg/ml}$ 였다. 자극 전 SSG를  $0.5 \mu\text{g/ml}$ 와  $1.0 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 세포에서는 각각  $6.95 \pm 0.09 \text{ pg/ml}$ ,  $6.99 \pm 0.23 \text{ pg/ml}$ 로 유의한 변화는 확인할 수 없었다(Fig. 5).

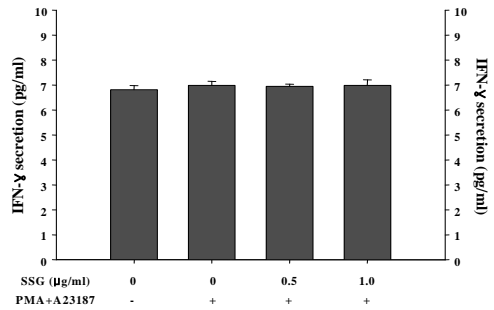


Fig. 5. Effects of SSG on IFN-γ production in RBL-2H3 cells.

IFN-γ concentration was measured from cell supernatants using ELISA method. Vertical bars represent as the mean  $\pm$  S.E. from 4 wells.

#### 6. TNF-α 와 IL-4 mRNA 발현에 미치는 영향

SSG의 pro-inflammatory cytokines(TNF-α, IL-4) mRNA 발현에 미치는 영향을 알아보기로자 RT-PCR을 실시하였다(Fig. 6). 각각의 cytokine은 PMA와 A23187에 의해 mRNA 발현이 상당히 증가되었으나(lane 2), SSG를 전 처리한 경우에는 mRNA 발현이 세신고 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다(lane 3, 4).

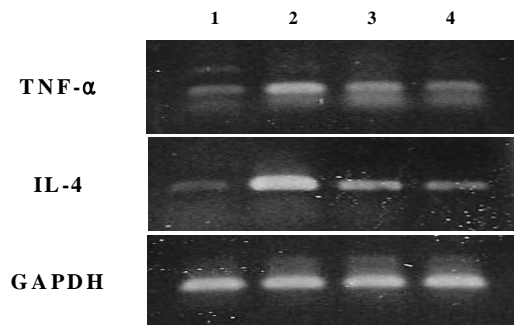


Fig. 6. Effects of SSG on pro-inflammatory cytokines in RBL-2H3 cells.

Total RNA was isolated, TNF-α and IL-4 mRNA expression was detected by RT-PCR analysis (C). Lane 1, negative control group; lane 2, positive control group (only treated stimulus); lane 3, SSG  $0.5 \mu\text{g/ml}$ +stimulus; lane 4, SSG  $1.0 \mu\text{g/ml}$ +stimulus.

### 7. COX-1,2 mRNA 발현에 미치는 영향

COX-1,2 mRNA 발현에 미치는 영향을 알아보기로 RT-PCR을 실시하였다(Fig. 7). TNF- $\alpha$ , IL-4의 결과와 동일하게 COX-1,2 또한 PMA와 A23187에 의해 mRNA 발현이 상당히 증가되었으나(lane 2), SSG를 전 처리한 경우에는 mRNA 발현이 세신고 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다(lane 3, 4). 그러나 COX-1,2에서는 mRNA 발현의 차이를 확인할 수 없었다.

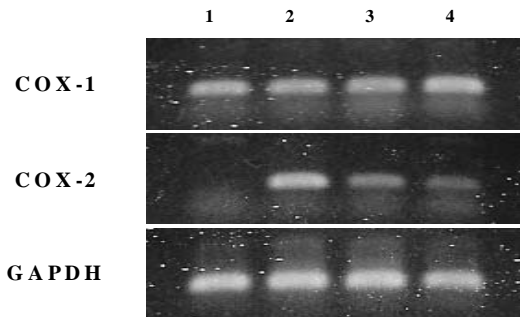


Fig. 7. Effects of SGT on the expression of COX-2 on RBL-2H3 cells.

Total RNA was isolated, COX-1, COX-2 mRNA was analyzed by RT-PCR analysis. Lane 1, negative control group; lane 2, positive control group(only treated stimulus); lane 3, SSG 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ +stimulus; lane 4, SSG 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ +stimulus.

## IV. 고 찰

알레르기 비염은 한의학적 관점에서 볼때 鼻鼽, 噴嚏<sup>18)</sup>등의 증상에 해당하는데 《素問玄機原病式六氣爲病編》<sup>19)</sup>에서는 ‘鼽爲鼻出清涕也’, ‘嚏, 鼻中因痒而氣噴作于聲也’라 하여 ‘鼽’는 알레르기 비염의 水樣性 鼻漏의 증상과, ‘嚏’는 發作性 噴嚏의 증상과 유사하다. 그 원인으로는 脾, 肺, 腎의 虛損 및 七情內鬱의 內因과, 飲食勞役의 不內外因, 風寒邪氣의 침범, 運氣, 六淫外傷 등의 外因으로 구분할

수있다<sup>20)</sup>. 따라서 알레르기 비염의 治法은 대부분 脾肺의 正氣와 陽氣를 도와주고 免疫力을 강화하는 데중점을 두는 扶正祛邪의 방법을 쓰며, 病因에 따라 溫補肺臟, 祛風散寒, 健脾益氣, 補腎納氣의 치료법을 사용한다<sup>21-23)</sup>.

鼻疾患 치료에 상용되고 있는 처방 중 실험적으로 抗알레르기 효능이 입증된 것으로 내복 약물인 麗澤通氣湯<sup>23)</sup>, 細辛散<sup>24)</sup>, 辛夷散<sup>25)</sup>, 蒼耳散<sup>26)</sup>, 截敏蜜梅湯<sup>27)</sup>, 理中湯, 合敗毒散<sup>28)</sup>, 加味桂枝湯<sup>23-30)</sup>, 小青龍湯<sup>31-33)</sup>, 補中益氣湯<sup>34)</sup>, 十全大補湯<sup>35)</sup>, 防風通聖散<sup>36)</sup>, 去痰補肺湯<sup>37-38)</sup>, 通竅湯<sup>39-40)</sup>, 通關散<sup>41-43)</sup> 등이 유의한 효과가 있음이 연구되었다. 그러나 알레르기 비염의 대표 증상인 鼻鼽에 쓰이는 외용약물에 대한 연구가 적은바 동의보감에 인용된 비구 치료의 외치약인 SSG를 연구에 이용하게 되었다.

SSG의 약물은 대부분 溫裏藥이 많다. 이는 鼻鼽의 원인이 일차적으로 肺寒에 있음을 의미한다<sup>13)</sup>. SSG를 구성하고 있는 溫裏藥은 다음과 같다. SSG에서 細辛은 外로는 風寒의 邪氣를 發散시키고 內로는 寒飲을 化하고 아울러 開竅하여 止痛시키는 효능이 있어 外感風寒으로 인한 頭痛 身痛, 肺寒停飲, 痰多咳嗽等 증을 치료하는 要藥이 된다. 川椒는 辛熱하고 陰寒의 邪氣를 잘 제거 하며 능히 溫中해서 止痛하며 暖脾 해서 止瀉하여 脾胃虛寒을 다스리는 약이다. 乾薑은 裏寒을 제거하여 脾胃의 陽을 溫하게 유도한다. 陰寒內盛하여 陽氣衰微하거나 脾胃虛寒하여 吐瀉冷痛을 일으키는 證에 응용된다. 吳茱萸는 溫中祛寒하고 降逆止嘔하며 또한 舒肝解鬱하고 行氣燥濕한다. 그러므로 肝胃虛寒으로 濁陰이 上逆하여 된 頭痛이나 嘔吐涎沫과 肝胃不和로 脇痛, 嘔吐, 吞酸 또는 寒濕脚氣 등 證에 응용한다. 附子는 위로는 心陽을 도와 通脈하고, 가운데는 脾陽을 溫하게 하여 建運시키고, 아래로는 腎陽을 보하여 益火하며 밖으로는 衛陽을 固하여 祛寒하므로 溫裏, 扶陽, 祛寒의 要藥이 된다. 皂莢은 祛痰開竅시키고 散結消腫시키는 효능이 있

어 頑痰이 壅塞되어 胸悶喘咳하고 咯痰이 不爽한 증에 비교적 강한 去痰작용이 있고 또한 갑자기 昏迷하여 口噤不開하거나 혹은 癲癇에 痰의 壅塞으로 關竅가 壅閉한 證과 腸燥便秘를 치료한다<sup>44)</sup>.

비만세포는 혈관이 발달되어 있는 조직에 있는 조혈 전구세포에서 유도된다. 항원의 주 표적이 되는 기관의 조직 (피부, 기도의 점막, 위장관, 혈관 및 심근 외막 등)에는 특히 비만세포가 많이 분포되어 있다. 비만세포와 호염기구는 T-helper 2 (Th2) 세포 의존성 IgE 매개 알레르기성 질환과 기생충에 의한 면역반응에 중요하다. 이러한 비만세포는 보통 두 가지 형으로 나뉜다. 하나는 rat basophilic leukemia (RBL-2H3) 세포와 같은 mucosal-type과 또 다른 하나는 rat peritoneal mast cells (RPMCs)와 같은 connective tissue-type이다. RBL-2H3 세포는 비만세포의 생물학적 연구에 종종 사용된다<sup>45-47)</sup>.

이들 세포는 알레르기성 비염, 피부염, 천식, 음식 알레르기 등과 같은 다양한 알레르기성 질환과 곤충 (벌레)과 몇몇의 약물에 의한 아나필락시스 반응의 원인이 된다. 세포 표면의 고친화성의 IgE 수용체 (FcεRI)와 교차 결합되어 있는 IgE에 세포에 외부로부터 유입된 항원 (allergen)이 결합하게 되면, FcRI를 통해 일련의 신호가 세포내로 전달된다. 그 결과 염증 매개물질 역할을 하는 과립 (histamine)이 방출되고, 또한 염증 지질 매개물질과 cytokines가 분비된다<sup>48-51)</sup>.

이에 저자는 RBL-2H3 세포를 사용하여 세포 생존율에 영향을 미치지 않는 범위 내에서 β-hexosaminidase release 정도를 확인하고, pro-inflammatory cytokines의 분비량 및 mRNA 발현을 확인하여 SSG의 영향을 관찰하였다.

Allergen이나 탈과립 유도 인자에 의해 자극받은 비만세포에서 분비되는 histamine은 *in vitro* 실험에서의 즉시형 알레르기 반응확인에 주요한 marker이다<sup>52)</sup>. 비만세포의 분비 세포에 저장되어

있는 β-hexosaminidase라는 효소 또한 탈과립의 marker이다<sup>53-54)</sup>. 비만세포의 분비세포에 저장되어 있는 β-hexosaminidase 누출량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서 3.52±0.10 %였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에서 13.72±0.46%로 현저히 증가하였다. 자극 전 SSG를 0.5 μg/ml를 처리한 세포에서는 8.90±0.14%로 누출량이 35.15% 감소하였으며, 또한 1.0 μg/ml의 농도로 처리한 세포에서는 7.37±0.12%로 자극제만 처리한 세포보다 46.29% 감소된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 그러므로 RBL-2H3 세포의 탈과립 정도가 SSG에 의해 감소된 것이라 할 수 있다.

이미 형성되어 있거나 새로이 합성된 histamine, protease, leukotrienes, prostaglandins와 다양한 cytokines과 같은 매개 인자를 방출함으로써 활성화된 비만세포는 그 생물학적 효과를 발휘한다<sup>55)</sup>. Th2 cytokines (interleukin (IL)-4, -5, -10, -13)는 Th2 세포를 포함하는 다양한 세포로부터 생산되고, 활성화된 T 세포로부터 생산되는 산물은 알레르기성 질환의 병인에 중요하다. 비만세포에서는 즉시형 과민반응에 영향을 주는 IL-3, -4, -6, -13, tumor necrosis factor (TNF)-α가 분비된다<sup>56-57)</sup>. TNF-α는 염증, 백혈구 침윤, 육아종 형성, 조직 섬유화 등을 촉진시킨다<sup>58-59)</sup>. IL-4는 다면 발현성을 나타내며, 활성화된 T 세포, 비만세포, 호염기구에서 생산되는 다양한 기능을 나타내는 cytokine으로, B 세포의 활성화 및 isotype swiching에 주요하게 작용하며, 이로 인해 IgE 항체의 발생에 영향을 미치게 된다<sup>60-61)</sup>. 본 실험에서 TNF-α 분비량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서 5.39±0.09 pg/ml였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에는 1054.44±6.79 pg/ml로 현저히 증가하였으며, 자극 전 SSG를 0.5 μg/ml, 1.0 μg/ml의 농도로 처리한 세포에서는 각각 858.45±15.74 pg/ml, 763.23±17.73 pg/ml로 유의성(P<0.005)있는 감소를 보였다. 이는 자극제만 처리한 세포보다 분비



량이 각각 19.59% (SSG 1.0 $\mu$ g/ml 전 처리 세포), 27.62% (SSG 2.0 $\mu$ g/ml 전 처리 세포) 감소하였음을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 또한 IL-4 분비량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서 1.41 $\pm$  0.02pg/ml였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에는 1840.56 $\pm$ 6.79pg/ml로 현저히 증가하였으며, 자극 전 SSG를 0.5 $\mu$ g/ml, 1.0 $\mu$ g/ml의 농도로 처리한 세포에서는 각각 1760.89 $\pm$ 16.11 pg/ml, 1405.07 $\pm$  22.00pg/ml로 유의성( $P$ <0.05,  $P$ <0.005) 있는 감소를 보였다. 이는 자극제만 처리한 세포보다 분비량이 각각 4.33% (SSG 1.0 $\mu$ g/ml 전 처리 세포), 23.66 % (SSG 2.0  $\mu$ g/ml 전 처리 세포) 감소하였음을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 그리고 RBL-2H3 세포에서의 pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-4) mRNA 발현 또한 전처리한 SSG의 농도 의존적으로 감소함을 확인할 수 있었다(Fig. 6).

주효세포(effector cells), Th2 세포와 IL-4, -5, -13과 같은 cytokine의 패턴을 매개로 하는 비정상적인 면역 반응에 의해 알레르기성 질환은 나타난다. 그러므로 알레르기 치료에 관한 연구는 대부분 이러한 Th2 면역 작용기의 조절과 직접적으로 연관되어 있다. Th2 세포에서는 Th1 cytokines, IL-2, Interferon (IFN)- $\gamma$ 를 생산하지 않는다. 이들 cytokines는 Th1 세포의 특성을 나타내며, 또한 Th1 세포에서는 Th2-type cytokines가 발현되지 않는다<sup>62-65)</sup>. 본 연구에서 측정된 IFN- $\gamma$ 의 분비량은 아무런 처치를 하지 않은 세포에서 6.81 $\pm$ 0.17pg/ml였으며, PMA와 A23187로 자극한 세포에는 6.99 $\pm$ 0.16pg/ml였다. 자극 전 SSG를 0.5 $\mu$ g/ml, 1.0 $\mu$ g/ml의 농도로 처리한 세포에서는 각각 6.95 $\pm$ 0.09pg/ml, 6.99 $\pm$ 0.23pg/ml로 TNF- $\alpha$  및 IL-4 ELISA 결과에서 확인되었던 유의한 변화는 확인할 수 없었다(Fig. 5).

Cyclooxygenase (COX)와 prostaglandin 합성 효소에 의해 arachidonic acid 물질 대사가 일어나고, 이에 의해 prostaglandins가 생성된다<sup>66)</sup>. COX

는 두 개의 아형으로 나뉘는데, COX-1은 다양한 세포에서 발현되며, normal cellular function에서 housekeeping activities를 가지는 효소로 알려져 있다. 그러나 COX의 또 다른 아형인 COX-2는 다양한 염증 자극제에 의해 특정 세포가 자극을 받아야 발현된다. 따라서 COX-1이 아닌 COX-2의 유도가 inflammatory response와 연관성이 있다<sup>67-69)</sup>. Pro-inflammatory cytokines mRNA 발현의 결과와 같이 COX-2의 mRNA 발현 또한 전 처리한 SSG농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 7).

RBL-2H3 세포에서의 SSG의  $\beta$ -hexosaminidase release 정도, inflammatory cytokines 분비량 및 mRNA 발현에 미치는 영향에 관하여 실험한 결과 알레르기성 염증반응에 세신고가 유의한 효과가 있음을 알 수 있었다.

## V. 결 론

본 연구에서는 RBL-2H3세포에서의 SSG의  $\beta$ -hexosaminidase release 정도, inflammatory cytokines 분비량 및 mRNA 발현에 미치는 영향에 관하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. SSG는 RBL-2H3 세포에서  $\beta$ -hexosaminidase release 정도를 유의성있게 감소시켰다.
2. SSG는 RBL-2H3 세포에서 TNF- $\alpha$ 의 분비량을 유의성 있게 억제시켰다.
3. SSG는 RBL-2H3 세포에서 IL-4 분비량을 유의성 있게 억제시켰다.
4. RBL-2H3 세포에서 TNF- $\alpha$  mRNA 발현을 농도 의존적으로 감소시켰다.
5. RBL-2H3 세포에서 IL-4 mRNA 발현을 농도 의존적으로 감소시켰다.

6. RBL-2H3 세포에서 COX-2 mRNA 발현을 감소시켰다.

SSG는 알레르기성 염증반응에 유의한 치료효과가 있음을 알 수 있다. 이는 SSG가 한방외치에 있어 침구 뜸 치료 이외에 추가적인 알레르기성 비염의 치료요법이 될 수 있다는 의의를 가진다.

### 감사의 글

본 연구는 2008년도 동의대학교 교내연구비지원에 의해서 수행되었습니다.(2008AA124)

### VI. 참고문헌

1. Pawankar R, Allergic rhinitis and asthma: the link, the new ARIA classification and global approaches to treatment, *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2004;4:1-4.
2. 失數道明, 大塚敬節, 清水藤太郎. 漢方診療醫典. 高文社. 1971;291-2.
3. Datti F, Datti M, Antunes E, Teixeira NA, Influence of chronic unpredictable stress on the allergic responses in rats, *Physiol Behav*, 2002;77:79-83.
4. Schmid-Ott G, Jaeger B, Meyer S, Stephan E, Kapp A, Werfel T. Different expression of cytokine and membrane molecules by circulating lymphocytes on acute mental stress in patients with atopic dermatitis in comparison with healthy controls, *J Allergy Clin Immunol*, 2001;108:455-62.
5. Schmid-Ott G, Jaeger B, Adamek C, Koch H, Lamprecht F, Kapp A, Werfel T. Levels of circulating CD8+ T lymphocytes,

natural killer cells, and eosinophils increase upon acute psychosocial stress in patients with atopic dermatitis, *J Allergy Clin Immunol*, 2001;107:171-7.

6. Chrousos GP. Stress, chronic inflammation, and emotional and physical well-being: Concurrent, effects and chronic sequelae. *Allergy Clin Immunol*, 2000;106:S275-91.
7. Theoharides TC, Donelan J, Kandere-Grzybowska K, Konstantinidou A. The role of mast cells in migraine pathophysiology. *Brain Res Rev*, 2005;49:65-76.
8. Wamboldt MZ, Laudenslager M, Wamboldt FS, Kelsay K, Hewitt J. Adolescents with atopic disorders have an attenuated cortisol response to laboratory stress, *J Allergy Clin Immunol*, 2003;111:509-14.
9. Schleimer RP. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and allergic inflammation, *J Allergy Clin Immunol*, 2000;106:S270-4.
10. 양재하, 박재현, 한영선. Allergy성 비염에 대한 양·한방적 고찰. 경산대학교 한의과대 학교부설 제한동의학술원 논문집. 1999;4(1):436-48.
11. 강선미, 유혜영, 이재호. 알레르기성 비염 면역반응에서의 Interleukin-12 작용효과. 소아 알레르기 및 호흡기학회지. 2001;11(3):213-23.
12. 염승철. 알레르기비염 치료의 최신경향에 관한 동서의학적 고찰. 선무학술논문집. 2006;17(1):191-214.
13. 허준 저. 동의보감. 동의보감 출판사. 1999:591.
14. 이상근 저. 신한방이비인후과. 정담출판사. 2007:151-3.
15. 강호건, 류지효, 유선애, 강경화, 윤화정, 김영희, 김기영, 이승연, 고우신. RBL-2H3 세포에서 백선피의 항알레르기 효과. 2007;20(1):

- 201-8.
16. 조주흠, 류지효, 김철홍, 강경화, 윤화정, 이승연, 고우신, 김원일. RBL-2H3 세포서 포공영의 항알레르기 효과. 2007;20(1):209-17.
  17. (Schwartz LB, Austen KF, Wasserman SI. Immunologic release of-hexosaminidase from purified rat serosal mast cells. *Journal of Immunology*. 1979;123:1445-50
  18. 蔡炳允. 東醫眼耳鼻咽喉科學. 서울:集文堂. 1997: 290-307,321-31.
  19. 劉完素. 河間三六書. 서울. 성보사. 1976:275-6.
  20. 張梅芳, 李云英. 眼科與耳鼻咽喉科專病中醫臨床診治. 北京. 人民衛生出版社. 2000:410-39.
  21. 강기영. 임상 알레르기학. 서울:여문각. 1984: 10-9.
  22. 王凍應. 中醫耳鼻咽喉科學. 北京:科學出版社 1993:132-6.
  23. 박진구, 채병윤. 여택통기탕과 여택통기탕가미방의 항 알레르기 효과에 대한 실험적연구. 동의학회지. 2001;5(1):76-97.
  24. 이태현, 채병윤. 細辛散의 항알레르기 효과에 관한 실험적 연구. 동의학회지. 2000;4(1):70-85.
  25. 최은성, 채병윤. 辛夷散과 辛夷散加味方的 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 동의학회지. 1999;3(1):31-47.
  26. 윤근찬, 채병윤. 蒼耳散이 진통, 소염, 해열, 수면시간 및 히스타민 치사에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1986;9:401-10.
  27. 황학수, 최인화. 알레르기성 비염 동물모델에서截敏蜜梅湯이 비염치료에 미치는 영향. 대한안이비인후피부과학회지. 2003;16(3):116-28
  28. 이상문, 최인화. 알레르기성 비염 흰쥐모델에서理中湯合敗毒散이 비염치료에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지. 2004;17(2):72-80.
  29. 박진미, 심성용, 변학성, 김경준. 加味桂枝湯이 알레르기 비염에 미치는 효과에 대한 연구. 한방안이비인후피부과학회지. 2005;18(1):234-40.
  30. 심성용, 김경준. 加味桂枝湯이 알레르기 비염에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 한방안이비인후피부과학회지. 2004;17(1):45-54.
  31. 박진미, 심성용, 변학성, 김경준. 加味桂枝湯이 알레르기 비염에 미치는 효과에 대한 연구. 한방안이비인후피부과학회지. 2005;18(1):234-40
  32. 박주호, 심성용, 엄유식, 남혜정, 김경준. 小青龍湯이 알레르기 비염에 미치는 효과에 대한 실험적 연구. 한방안이비인후피부과학회지. 2004; 17(1):55-65.
  33. 송생엽, 심성용, 김경준. 小青龍湯이 알레르기 비염 유발 백서의 과립구 및 조직학적 변에 미치는 효과. 한방안이비인후피부과학회지. 2004; 17(1):75-81.
  34. 김종성, 심성용, 엄유식, 남혜정, 김경준. 補中益氣湯이 알레르기 비염 유발 白鼠의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 효과. 한방안이비인후피부과학회지. 2004;17(1):66-74.
  35. 박봉규, 박동일. 十全大補湯이 알레르기 반응에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2002;17 (2):308-15.
  36. 김희정, 김윤범. 알리지성비염 병태 모델에 대한 防風通聖散의 항알러지효과. 대한한방안이비인후과학회지. 2006;19(1):21-30.
  37. 양희연, 김윤범. 去痰補肺湯이 알레르기성 비염모델 생쥐의 cytokine 변화에 미치는 영향. 대한안이비인후피부과학회지. 2005;18(2):28-35.
  38. 정세연. 去痰補肺湯이 알레르기비염 모델 흰쥐에 미치는 영향. 경희대학교대학원. 2005.
  39. 정진영, 김윤범. 通竅湯이 알레르기 비염 모델 흰 쥐에 미치는 영향. 대한안이비인후피부과학회지. 2005;18(2):35-6.
  40. 천승철, 이상곤, 지선영. 通竅湯加味方を 투여하여 치료한 알레르기성비염환자의 만족도에 대한 임상보고. 대한안이비인후피부과학회지.

- 2002;15(2):145-55.
41. 박종원, 김윤범. 通關散이 알레르기성 비염 동물모델의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 한의학과 석사논문. 2006
  42. 채병윤. 알레르기성 비염에 이용되는 通關散의 藥效學的 研究. 대한한의학회지. 1990;11(1) 165-79.
  43. 채병윤, 홍남두, 김남재, 김진식. 생약복합제제 약효연구 通關散의 效能에 대하여. 생약학회지. 1990;21(2):163-72
  44. 전국한의과대학 본초학교실. 영림사. 2000: 135,334,339,455
  45. Seldin DC, Adelman S, Austen KF, Stevens RL, Hein A, Caulfield JP. Homology of the rat basophilic leukemia cell and the rat mucosal mast cell. Proc Natl Acad Sci. 1985;82:3871-5.
  46. Eccleston E, Leonard BJ, Lowe JS, Welford HJ. Basophilic leukemia in the albino rat and a demonstration of the basopoietin. Nat New Biol. 1973;244(133):73.
  47. Siraganian RP. Mast cells and basophils. In: Gallin JI, Goldstein IM, Snyderman R, editors. Inflammation: basic principles and clinical correlates. New York: Raven Press. 1988:513.
  48. Kawakami, T., Galli, S., Regulation of mast cell and basophil function and survival by IgE. Nature Reviews Immunology 2002;2: 773-86.
  49. Kay, A.B., Allergy and allergic diseases. New England Journal of Medicine 2001; 344(a):30-7.
  50. Kay, A.B., . Allergy and allergic diseases. New England Journal of Medicine 2001;344(b):109-13.
  51. Lee JH, Seo JY, Ko NY, Chang SH, Her E, Park TK, Lee HY, Han JW, Kim YM, Choi WS. Inhibitory activity of *Chrysanthemi sibirici herba* extract on RBL-2H3 mast cells and compound 48/80-induced anaphylaxis. Journal of Ethnopharmacology. 2004;95:425-30.
  52. Marquardt DL, Wasserman SI. Mast cells in allergic diseases and mastocytosis. West J Med. 1982;37(3):195-212.
  53. Razin E, Mencia-Huerta JM, Steven RL, Lewis RA, Liu FT, Corey E, Austen KF. IgE-mediated release of leukotriene C<sub>4</sub>, chondroitin sulfate E proteoglycan, beta-hexosaminidase, and histamine from cultured bone marrow-derived mouse mast cells. J Exp Med. 1983;157:189.
  54. Abassi YA, Jackson JA, Zhu J, O'Connell J, Wang X, Xu X. Label-free, real-time monitoring of IgE-mediated mast cell activation on microelectronic cell sensor array. J Immuno Methods. 2004;292: 195-205.
  55. Lee JH, Seo JY, Ko NY, Chang SH, Her E, Park TK, Lee HY, Han JW, Kim YM, Choi WS. Inhibitory activity of *Chrysanthemi sibirici herba* extract on RBL-2H3 mast cells and compound 48/80-induced anaphylaxis. Journal of Ethnopharmacology. 2004;95:425-30.
  56. Bradding, P., Roberts, J.A., Britten, K.M., Montefort, S., Djukanovic, R, Mueller, R. Interleukin-4, -5, and -6 and tumor necrosis factor-alpha in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines.

- American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology 1994;10:471-80.
57. Ji-Sook Lee, In Sik Kim, Joo-Hwan Kim, Jin Sook Kim, Dong-Hee Kim, Chi-Young Yun. Suppressive effects of *Houttuynia cordata* Thunb (Saururaceae) extract on Th2 immune response. Journal of Ethnopharmacology. 2008;117:34-40.
  58. Baumgartner, R.A., Yamada, K., Deramo, V.A., Beaven, M.A. Secretion of TNF- $\alpha$  from a rat mast cell line is a brefeldin A-sensitive and a calcium/protein kinase C-regulated process. J. Immunol. 1994; 153:2609-17.
  59. Phil-Dong Moon, Byung-Hee Lee, Hyun-Ja Jeong, Hyo-Jin An, Seok-Jae Park, Hyung-Ryong Kim, Seong-Gyu Ko, Jae-Young Um, Seung-Heon Hong, Hyung-Min Kim. Use of scopoletin to inhibit the production of inflammatory cytokines through inhibition of the I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B signal cascade in the human mast cell line HMC-1. European Journal of Pharmacology. 2007;555:218-25.
  60. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature (Lond). 383:787-793, 1996; Paul WE. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. Blood. 1991; 77:1859-70.
  61. Ji-Sook Lee, In Sik Kim, Joo-Hwan Kim, Jin Sook Kim, Dong-Hee Kim, Chi-Young Yun. Suppressive effects of *Houttuynia cordata* Thunb (Saururaceae) extract on Th2 immune response. Journal of Ethnopharmacology. 2008;117:34-40.
  62. Heijink, I.H., Van Oosterhout, A.J., Targeting T cells for asthma. Current Opinion in Pharmacology. 2005;5:227-31
  63. Homey, B., Steinhoff, M., Ruzicka, T., Leung, D.Y., Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2006; 118:178-89.
  64. Chatila, T.A., Interleukin-4 receptor signaling pathways in asthma pathogenesis. Interleukin-4 receptor signaling pathways in asthma pathogenesis. Trends in Molecular Medicine. 2004;10:493-9.
  65. Ji-Sook Lee, In Sik Kim, Joo-Hwan Kim, Jin Sook Kim, Dong-Hee Kim, Chi-Young Yun. Suppressive effects of *Houttuynia cordata* Thunb (Saururaceae) extract on Th2 immune response. Journal of Ethnopharmacology. 2008;117:34-40.
  66. Hata AM, Breyer RM. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: Multiple roles in inflammation and immune modulation. Pharmacology & Therapeutics. 2004;103:147-66.
  67. Mitchell JA., S. Lakin, TJ. Williams. Cyclooxygenase-2: regulation and relevance inflammation. Biochem. Pharmacol. 1995; 50:1535.
  68. Herschman HR. Prostaglandin synthase 2. Biochem. Biophys. Acta. 1996;1299:125.
  69. Guan Z, SY. Buckman, AP. Pentland, DY. Templeton, and AR. Morrison. Induction of cyclooxygenase-2 by the activated MEKK-1  $\rightarrow$  SEK1/MKK4  $\rightarrow$  p38 mitogen-activated protein kinase pathway. J. Bio. Chem., 1998;273:12901.