

Michael addition acceptor 그룹을 가지고 있는 phytochemicals의 toll-like receptor 신호전달체계 조절을 통한 항염증 효과

윤형선*

순천향대학교 의료과학대학 임상병리학과

Anti-inflammatory Effects of Phytochemicals Having Michael Addition Acceptors by the Modulation of Toll-like Receptor Signaling Pathways

Hyung-Sun Youn*

Department of Biomedical Laboratory Science, College of Medical Sciences, Soonchunhyang University

Abstract Toll-like receptors (TLRs) play a critical role in the induction of innate immune responses that are essential for host defense against invading microbial pathogens. In general, TLRs have two major downstream signaling pathways, namely MyD88- and TRIF-dependent pathways, leading to the activation of nuclear factor- κ B (NF- κ B) and interferon regulatory factor 3 (IRF3) and the expression of inflammatory mediators. TLR4 dimerization is required for the activation of downstream signaling pathways and may be one of the first lines of regulation in activating TLR-mediated signaling pathways. In this paper, the molecular targets of curcumin, 6-shogaol, and cinnamaldehyde in TLR signaling pathways will be discussed. Curcumin, 6-shogaol, and cinnamaldehyde with α,β -unsaturated carbonyl groups inhibit the dimerization of TLR4 induced by lipopolysaccharide, resulting in the downregulation of NF- κ B and IRF3. These results suggest that phytochemicals with the structural motif conferring Michael addition inhibit TLR4 dimerization, suggesting a novel mechanism for the anti-inflammatory activity of phytochemicals.

Key words: toll-like receptors, Michael addition, curcumin, 6-shogaol, cinnamaldehyde

서론

Toll-like receptors(TLRs)는 여러 병원체들이 숙주안에 침입하였을 때, 병원균들이 가지고 있는 pathogen-associated molecular patterns(PAMPs)을 인식하여 선천성 면역(innate immunity) 반응과 뒤이어 후천성 면역(acquired immunity) 반응을 유도하는 중요한 역할을 한다(1-5). 현재까지 최소한 13개의 TLRs가 포유동물 세포에서 발견되었으며, 각각의 TLRs는 미생물들이 가지고 있는 서로 다른 구조를 인식하는 것으로 알려져 있다. TLR2는 TLR1 또는 TLR6와 이합체를 형성하여 triacyl 또는 diacyl lipopeptide를 인식한다(6). TLR3는 double stranded RNA, TLR4는 lipopolysaccharide(LPS), TLR5는 flagellin, TLR7과 TLR8은 single stranded RNA, 그리고 TLR9은 박테리아와 바이러스 unmethylated CpG DNA를 인식하는 것으로 알려져 있다. 즉 TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, 그리고 TLR6는 세포막에 존재하며 박테리아가 가지고 있는 PAMPs를 인식하는 반면에, TLR3, TLR7, TLR8, 그리고 TLR9은 endosome과 같은 세포질에 있는 성분들의 막에 존재하

며 바이러스 핵산들을 인식한다(Fig. 1)(7). 또한 TLR9은 박테리아 핵산을 인식한다.

본 논문에서는 α,β -unsaturated carbonyl group(Michael addition acceptor)을 가지고 있는 phytochemicals이 어떻게 TLRs 신호전달 체계를 조절해서 항염증 효능을 가지고 있는지 기술하고자 한다. 이러한 설명에 의해서 앞으로 기능성 식품에 대해 연구하고자 하는 연구자들에게 TLRs 신호 전달 시스템에 의해서 조절되어지는 염증(inflammation)반응이나 뒤이어 발생하는 만성적인 질병들이, 우리가 흔히 먹는 식품이나 약초들에 포함되어 있는 phytochemicals에 의해서 어떻게 조절되는지를 이해하는데 도움이 될 것으로 기대한다.

Toll-like receptors

TLRs는 광범위하게 MyD88-과 TRIF-의존 신호전달 체계를 가지고 있다. TLRs가 pathogen associated molecular patterns(PAMPs)을 인식하면, PAMPs에 의해서 유도된 수용체의 이합체는 TLRs에 의해서 유도되는 신호 전달 체계의 활성화를 유도한다. TLRs는 일반적으로 myeloid differential factor 88(MyD88)과 Toll/IL-1R domain-containing adaptor inducing interferon- β (TRIF) 의존 신호전달 체계를 가지고 있다(Fig. 1)(2).

MyD88-dependent signaling pathway

MyD88은 TLR3를 제외한 모든 포유동물에서 발견되는 TLRs의 Toll/IL-1R(TIR) 도메인에 붙는 즉각적인 어댑터(adaptor) 분자이다(2). TLRs는 TIR domain에 최초의 어댑터 분자인 MyD88를

*Corresponding author: Hyung-Sun Youn, Department of Biomedical Laboratory Science, College of Medical Sciences, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam 336-745, Korea
Tel: 82-41-530-3086
Fax: 82-41-530-3085
E-mail: hyoun@sch.ac.kr
Received June 22, 2009; revised August 16, 2009;
accepted August 18, 2009

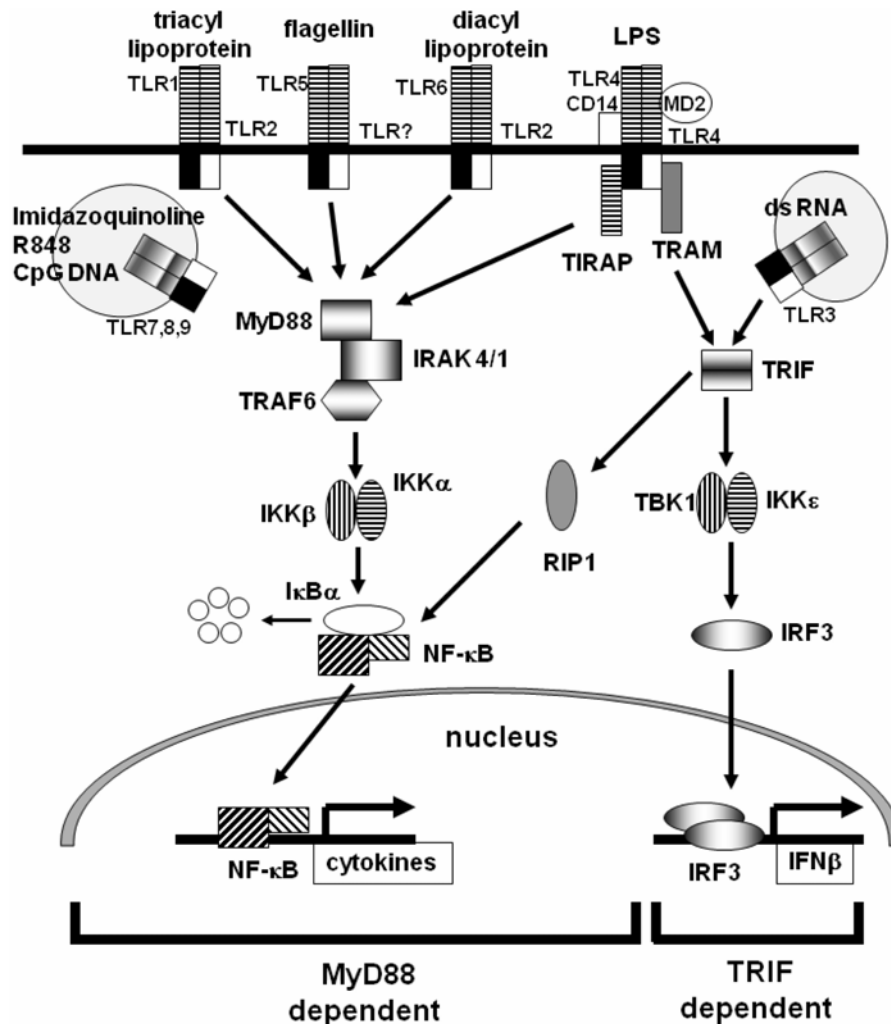


Fig. 1. Toll-like receptor (TLR) signaling pathways and their agonists. TLRs have two major downstream signaling pathways; MyD88- and TRIF-dependent pathways leading to the activation of NF- κ B and IRF3. TLR2 dimerized with TLR1 or TLR6 recognizes triacyl or diacyl lipopeptides of Gram-positive bacteria. TLR4 recognizes bacterial LPS. TLR5 recognizes bacterial flagellin. TLR3 recognizes double-stranded RNA (dsRNA). TLR7 recognizes imidazoquinolines and single-stranded viral RNA (ssRNA). TLR9 recognizes both viral and bacterial CpG DNA motifs. LPS, lipopolysaccharide; CpG DNA, cytosine phosphate guanine DNA; MyD88, myeloid differential factor 88; TRIF, TIR domain-containing adapter inducing IFN β ; IFN, interferon; TIRAP, TIR domain-containing adapter protein; TRAM, TRIF-related adapter molecule; I κ B α , inhibitor of κ B alpha; IKK, I κ B kinase; IRAK, IL-1 receptor-associate kinase; TBK1, TANK-binding kinase 1; RIP1, receptor interacting protein 1; IRF3, IFN-regulatory factor 3; NF- κ B, nuclear factor κ B.

homophilic interaction에 의해서 모은다(8). MyD88은 IL-1 receptor-associate kinase 4(IRAK-4)를 유도하고, IRAK-4는 IRAK-1을 인산화 시키며, 인산화된 IRAK-1은 TNF receptor-associated factor 6(TRAF6)를 유도하고, TRAF6는 I κ B kinase(inhibitor of κ B kinase, IKK)를 활성화 시켜, 전사요소 nuclear factor- κ B(NF- κ B)의 활성화를 유도한다. 두 개의 kinases(IKK α 와 IKK β)에 의해서 유발되는 I κ B α 의 인산화(phosphorylation)와 분해(degradation)가 NF- κ B 활성화를 유도한다. 연구에 의하면 IKK α 보다 IKK β 가 TLR signaling pathways 안에서 NF- κ B 활성화를 위해서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는 반면에, IKK α 는 NF- κ B 활성화를 종결시키는데 보다 더 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(9,10). NF- κ B는 Rel-homology domains(RHDs)을 포함하는 이합체(dimeric) 전사요소(transcription factor)이다. 모두 다섯 종류의 NF- κ B families[RelA(p65), RelB, C-Rel, p105(NF- κ B1; a precursor of p50), p100(NF- κ B2; a precursor of p52)]가 포유동물 세포

에서 발견되며, NF- κ B는 동중(homo)- 또는 이중(hetero)-이합체(dimers)를 형성해서 존재하는 것으로 알려져 있다(8). TLRs 신호 전달 체계에서 가장 종종 활성화되는 NF- κ B는 p65와 p50으로 구성된 이중이합체로 알려져 있다(11). 이렇게 TLRs를 시작으로 IKK kinases를 통해 NF- κ B 활성화를 유도하는 신호전달 체계를 'canonical pathway'라고 부르며, 이러한 신호전달 체계를 통해 cytokine이나 cyclooxygenase-2(COX-2)와 같은 염증 유전 물질들을 유도하여 알레르기(allergy)나 건선(psoriasis)과 같은 여러 질병을 유발하게 된다(12).

TRIF-dependent signaling pathway

NF- κ B 활성화에 부가적으로, TLR3에 의한 double stranded RNA(dsRNA)의 인식과 TLR4에 의한 LPS의 인식은 MyD88 대신에 어댑터 분자인 TRIF를 통하여 전사요소 interferon(IFN)-regulatory factor 3(IRF3)의 활성화를 유도한다(Fig. 1)(13). TRIF

는 kinase TBK1과 IKK ϵ 을 통하여 IRF3의 활성화를 유도한다. 활성화된 IRF3는 쉽게 인산화되고, 인산화된 IRF3는 이합체되어 핵(nucleus) 안으로 들어간다. 핵 안으로 들어간 IRF3는 IFN-stimulated response element(ISRE)나 regulated on activation normal T-cell Expressed and secreted(RANTES)로써 알려진 consensus DNA sequence에 결합한다(14,15). 전사요소 NF- κ B나 IRF3 양쪽 다 바이러스나 박테리아 감염에 의해서 활성화 되지만, 양쪽 전사요소들의 활성화에 의해서 유도되는 타겟 유전자는 서로 다른 것으로 알려져 있다. NF- κ B 활성화는 proinflammatory cytokines을 유도하지만, IRF3 활성화는 type I IFN 유전자들을 유도하는 것으로 알려져 있다(16-18).

TBK1과 IKK ϵ 이 구조적으로 또는 기능적으로 유사함에도 불구하고, 두 kinase의 발현 양식은 구별되는 것으로 알려졌다. TBK1은 여러 종류의 세포에서 계속적으로 발현되는 반면에, IKK ϵ 은 바이러스 감염에 의해 활성화된 면역세포나 non-hematopoietic cells에서 유도된다(19). TBK1 knockout mice 실험에 의하면 TBK1은 IRF3 활성화나 IFN β 생성에 관여하는 downstream signaling에 관여하는 것으로 보고 되었다(19,20). 하지만 IKK ϵ knockout mice 실험에 의하면 IKK ϵ 은 IRF3 활성화나 IFN β 생성에 분명한 변화를 보여주지 못하였다(19). 이러한 결과는 TBK1만이 IRF3 활성화나 IFN β 생성에 중요한 역할을 한다는 것을 보여주는 것이다. 부가적으로 TLRs를 통한 NF- κ B 활성화에 미치는 TBK1과 IKK ϵ 의 역할은 TBK1과 IKK ϵ double knockout mice 실험에 의해서 증명되었다(19). TBK1과 IKK ϵ double knockout mice 안에서, TLR3와 TLR4 agonists에 의해서 유도된 I κ B α 분해, NF- κ B와 DNA 결합, 그리고 inflammatory cytokines의 생성에 아무런 변화를 보여주지 못했다. 이러한 결과는 TBK1이나 IKK ϵ 이 바이러스나 박테리아 감염에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화에 중요한 역할을 가지고 있지 않다는 것을 보여주는 것이라 할 수 있겠다. 즉 TRIF는 TBK1과 IRF3를 통하여 IFN β 나 IFN ϵ 에 의해서 유도되는 유전자들을 유도한다. 하지만 TRIF의 C-말단 부분은 receptor interacting protein 1(RIP1)과 반응하여 지연된 NF- κ B 활성화를 유도하는 것으로 알려져 있다(21). 그래서 TRIF는 IRF3 활성화를 위해서 TBK1을 사용하고, NF- κ B 활성화를 위해서 RIP1을 사용하는 것으로 알려져 있다(Fig. 1)(13,22).

Phytochemicals

Curcumin

Curcumin은 *Curcuma longa* 안에서 발견되는 노란색을 띠는 물질이며, 우리가 흔히 먹는 카레의 주성분이다(Fig. 2). Curcumin은 IKK β 를 분자학적인 타겟으로 하여 여러 pro-inflammatory 자극에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화를 억제 시킨다(23-26). TLR 신호전달 체계에서 curcumin은 'canonical pathway'의 key kinase인 IKK β 의 조절을 통하여 MyD88-dependent 신호전달 체계를 조절한다고 알려져 있다(Fig. 3)(27).

TLRs의 이합체 형성은 TLRs에 의해서 유도되는 신호 전달 체계의 활성화와 뒤이어 발생하는 선천성 면역 반응을 유도하기 위해서 최초로 일어나는 반응으로 알려져 있다. TLRs는 세포막의 바깥쪽에 leucine이 반복적으로 나타나는 부위가 존재하고, cysteine이 풍부한 지역이 있으며, 또한 세포막 안쪽에는 TIR(Toll/IL-1R homologous) 지역을 가지고 있는 세포막을 통과하는 Type I 단백질이다. 그러므로 TLRs는 세포막의 안과 밖으로 여러 개의 cysteines을 가지고 있다. 이러한 cysteines은 이황화물(disulfide) 결합에 의해서 TLRs가 이합체를 형성하는데 필요한 것으로 알려

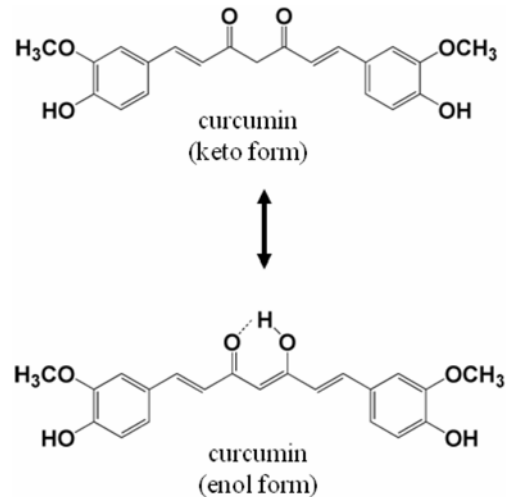


Fig. 2. The molecular structures of curcumin. Curcumin can exist in at least two tautomeric forms, keto (in solid phase) and enol (in solution).

져 있다(28). 많은 연구에 의하면 α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 phytochemicals은 Michael addition 반응에 의해서 cysteine의 thiol group에 붙어 단백질의 활성을 억제시킨다고 알려져 있다(29,30). 그러므로 α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 curcumin은 Michael addition 반응에 의해서 LPS에 의해 유도된 TLR4의 동종이합체를 억제한다고 알려졌다(27). 이러한 결과에 의해서 curcumin은 분자학적인 타겟이 IKK β 에 부가적으로 최초의 방어체계라 할 수 있는 수용체의 이합체 형성을 방해하여 NF- κ B 활성화를 억제시키는 것으로 밝혀졌다(Fig. 3)(27). 이와 같은 결과는 기능성 물질들이 신호전달 체계에 존재하는 단백질만을 분자학적인 타겟으로 하는 것이 아니라, 수용체 레벨을 타겟으로 하여 항염증 효과를 가질 수 있다는 것을 보여주는 결과라 할 수 있겠다.

6-Shogaol

웰빙 식품중 하나인 생강(*Zingiber officinale*, Rosecoe)은 오랫동안 herbal medicine으로 사용되어 왔으며, 전통적으로 신경성 질환(nervous diseases), 치은염(gingivitis), 치통(toothache), 천식(asthma), 뇌졸중(stroke), 변비(constipation) 그리고 당뇨(diabetes)에 효과적인 것으로 보고되어 있다(31). 특히 생강 추출물들은 항염증(anti-inflammatory)(32), 항산화(antioxidant)(33), 항혈전(anti-thrombotic)(34), 항암(anticancer)(35) 그리고 관절염 치료를(36) 위해서 효과적인 것으로 알려져 있다. 항염증 효과를 설명하기 위하여 생강에 포함되어 있는 중요한 물질들은 gingerols, shogaols, 그리고 paradols 등이 있다(Fig. 4). Gingerol은 가수분해에 의해서 생강가루의 주요 구성 물질인 shogaol로 쉽게 변형된다. Shogaol 또한 가수분해에 의해서 paradol로 전환된다. Shogaol은 신선한 생강에서는 적은 양만이 발견되지만, 건조된 생강가루에서는 많은 양이 존재한다. 특히 생강 추출물들 중에서 gingerols과 shogaols이 prostaglandin과 leukotriene 합성 효소의 효과적인 억제제로 보고되었다(37). 하지만 본 논문에서는 6-shogaol이 TLR 신호전달 체계에 미치는 효과에 대해서만 논의 하고자 한다.

많은 연구에 의하면 생강 추출물들은 여러 요인에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화와 COX-2 발현을 억제시킨다고 알려졌다며, side chain의 길이가 활성화 결정을 위해서 중요한 역할을 한다고

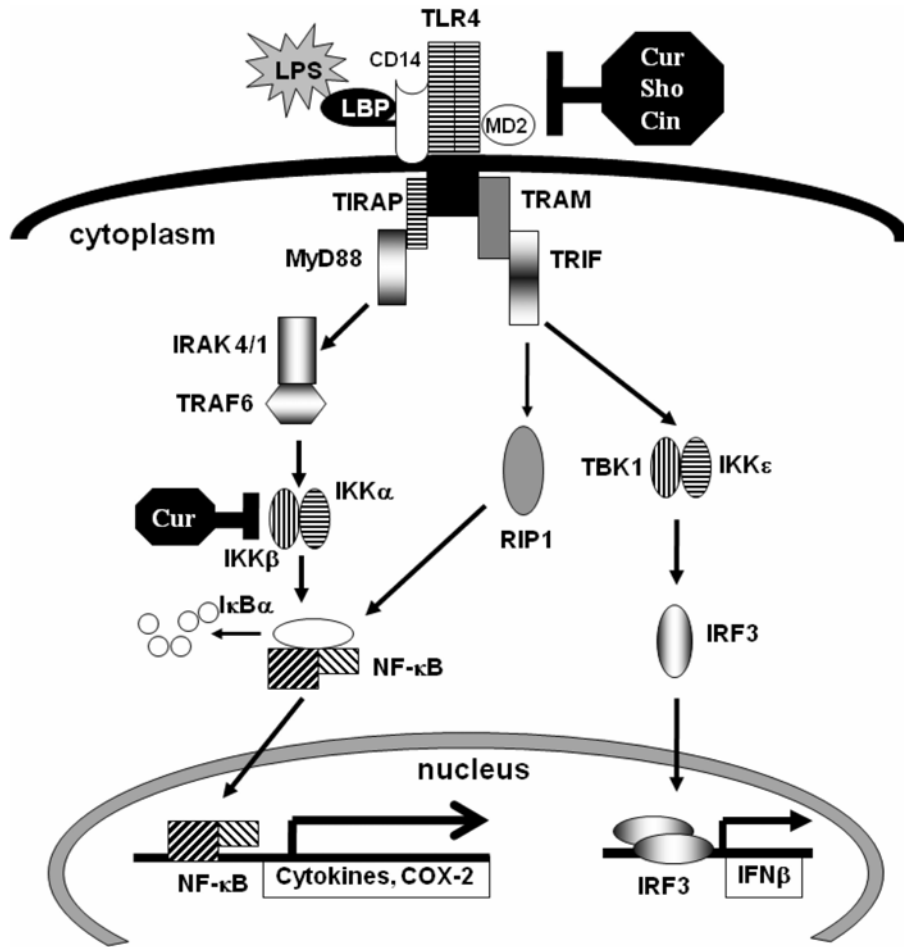


Fig. 3. The molecular targets of curcumin, 6-shogaol, and cinnamaldehyde in TLR4 signaling pathway. Cur; curcumin, Sho; 6-shogaol, Cin; cinnamaldehyde.

밝혀졌다(38,39). 6-shogaol은 macrophage-activating lipopeptide 2-kDa(MALP-2, TLR2 and TLR6 agonist), polyriboinosinic polyribocytidylic acid(poly[I:C], TLR3 agonist) 그리고 LPS(TLR4 agonist)에 의해서 유도된 NF-κB 활성화와 COX-2 발현을 억제시켰다. 6-Shogaol은 TLRs의 downstream 분자인 MyD88, IKKβ, 또는 p65에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제 시켰다(40). 이러한 결과들은 TLR 신호전달 체계에 대한 6-shogaol의 분자학적인 타깃이 적어도 하나는 IKKβ보다 아래쪽에 놓여 있다는 것을 보여주는 것이라 할 수 있겠다. 부가적으로 6-shogaol은 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 이합체 형성을 억제 시켰다(Fig. 3)(41). 이미 앞서 언급하였듯이, Michael addition 반응을 유도하는 α,β-unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 물질들은 cysteine의 thiol 구름에 결합하여 단백질의 활성을 억제 시키는 것으로 밝혀졌다. 즉 α,β-unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 6-shogaol은 TLR4의 cysteine에 결합하여 TLR4의 이합체 형성을 억제시키는 것이다. 이러한 결과는 6-shogaol이 수용체의 이합체 형성을 조절하여 염증 유전자 발현을 감소시킨다는 것을 보여주는 것이라 할 수 있겠다.

Cinnamaldehyde

계피는 *Cinnamomum* 나무로부터 분리된 나무 껍질을 말린 것으로 주성분은 계피유라고 하는 정유(essential oil)로 cinnamaldehyde(3-phenyl-2-propenal)가 주요한 구성물질이다(Fig. 5). α,β-

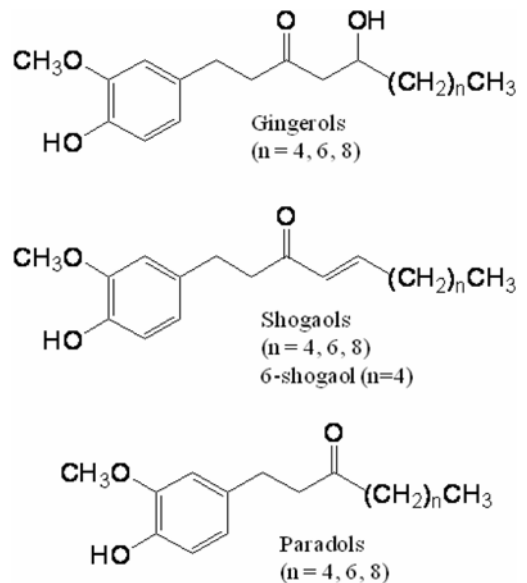


Fig. 4. The molecular structures of gingerols, shogaols, and paradols.

unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 cinnamaldehyde는 향수와 살균제의 구성물질로써 그리고 껌, 아이스크림, 캔디, 음료수

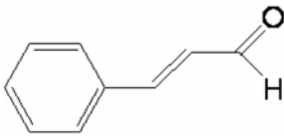


Fig. 5. The molecular structure of cinnamaldehyde.

등에서 맛을 내는 물질로써 널리 사용되고 있으며, 항염증과 항박테리아 성질을 포함한 여러가지 생물학적인 활성을 가지고 있다고 알려져 있다(42).

TLR4 신호전달 체계는 두 개의 중요한 전사요소 NF- κ B와 IRF3의 활성화를 유도한다(2). Cinnamaldehyde는 LPS에 의해서 유도된 NF- κ B와 IRF3의 활성화를 억제한다(43). 또한 cinnamaldehyde는 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 타깃 유전자인 COX-2와 IFN- β 의 발현을 감소시켰다. 그러나 cinnamaldehyde는 TLR4의 신호전달 체계의 구성요소인 MyD88과 IKK β 에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화와 TRIF와 TBK1에 의해서 유도된 IRF3 활성화를 억제시키지 못한다. 이러한 결과는 cinnamaldehyde의 분자화학적 타깃이 MyD88과 TRIF 위에 놓여있으며, 수용체 자체가 cinnamaldehyde의 분자화학적 타깃이라는 것을 의미한다고 할 수 있겠다. 수용체의 이합체 형성은 TLRs에 의해서 유도되는 신호 전달 체계의 활성화와 뒤이어 발생하는 선천성 그리고 후천성 면역 반응을 유도하기 위해서 최초로 일어나는 반응 중 하나로 알려져 있다. Cinnamaldehyde는 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 이합체 형성을 억제시켰으며(Fig. 3), 그 결과로 LPS에 의해서 유도된 IRAK-1 분해와 NF- κ B 활성화를 억제시키는 것으로 알려져 있다(43). 앞에 논의한 바와 같이 α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 cinnamaldehyde는 최초의 방어체계라 할 수 있는 수용체의 이합체 형성을 억제하여 NF- κ B와 IRF3 활성화 및 그것들에 의해서 조절되는 타깃 유전자들인 COX-2와 IFN β 를 억제시키는 것으로 알려져 있다.

요 약

TLRs는 여러 병원균들이 가지고 있는 PAMPs를 인식해서, 선천성 면역 반응을 유도하는 중요한 역할을 한다. TLR4의 이합체 형성은 신호전달 체계의 활성화와 뒤이어 발생하는 선천성 면역 반응을 유도하기 위해서 최초로 일어나는 반응으로 알려져 있다. 우리가 먹는 식품 중에는 항염증 효과가 있다고 널리 알려져 있는 phytochemicals이 포함되어 있다. 특히 α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 curcumin, 6-shogaol, 그리고 cinnamaldehyde는 Michael addition 반응에 의해서 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 이합체 형성을 억제시켜, 전사요소 NF- κ B와 IRF3 활성화 및 그것들에 의해서 조절되는 타깃 유전자들을 억제시킨다. 이러한 결과는 α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 curcumin, 6-shogaol, 그리고 cinnamaldehyde의 항염증 효능에 대한 새로운 기전을 설명해 주는 것이라 할 수 있겠다.

문 헌

- Beutler B, Jiang Z, Georgel P, Crozat K, Croker B, Rutschmann S, Du X, Hoebe K. Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu. Rev. Immunol.* 24: 353-389 (2006)
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol.* 17: 1-14 (2005)
- Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 1: 135-145 (2001)
- O'Neill LA. TLRs: Professor Mechnikov, sit on your hat. *Trends Immunol.* 25: 687-693 (2004)
- Vogel SN, Fitzgerald KA, Fenton MJ. TLRs: Differential adaptor utilization by toll-like receptors mediates TLR-specific patterns of gene expression. *Mol. Interv.* 3: 466-477 (2003)
- Hajjar AM, O'Mahony DS, Ozinsky A, Underhill DM, Aderem A, Klebanoff SJ, Wilson CB. Cutting edge: functional interactions between toll-like receptor (TLR) 2 and TLR1 or TLR6 in response to phenol-soluble modulins. *J. Immunol.* 166: 15-19 (2001)
- Kawai T, Akira S. Pathogen recognition with toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 17: 338-344 (2005)
- Kawai T, Akira S. Signaling to NF- κ B by toll-like receptors. *Trends Mol. Med.* 13:460-469 (2007)
- Karin M, Greten FR. NF- κ B: Linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 749-759 (2005)
- Li Q, Lu Q, Bottero V, Estepa G, Morrison L, Mercurio F, Verma IM. Enhanced NF- κ B activation and cellular function in macrophages lacking I κ B kinase 1 (IKK1). *P. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 12425-12430 (2005)
- Hayden MS, West AP, Ghosh S. NF- κ B and the immune response. *Oncogene* 25: 6758-6780 (2006)
- Rhee SH, Hwang D. Murine toll-like receptor 4 confers lipopolysaccharide responsiveness as determined by activation of NF κ B and expression of the inducible cyclooxygenase. *J. Biol. Chem.* 275: 34035-34040 (2000)
- Sato S, Sugiyama M, Yamamoto M, Watanabe Y, Kawai T, Takeda K, Akira S. Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN- β (TRIF) associates with TNF receptor-associated factor 6 and TANK-binding kinase 1, and activates two distinct transcription factors, NF- κ B and IFN-regulatory factor-3, in the toll-like receptor signaling. *J. Immunol.* 171: 4304-4310 (2003)
- Lin R, Heylbroeck C, Genin P, Pitha PM, Hiscott J. Essential role of interferon regulatory factor 3 in direct activation of RANTES chemokine transcription. *Mol. Cell. Biol.* 19: 959-966 (1999)
- Schafer SL, Lin R, Moore PA, Hiscott J, Pitha PM. Regulation of type I interferon gene expression by interferon regulatory factor-3. *J. Biol. Chem.* 273: 2714-2720 (1998)
- Stetson DB, Medzhitov R. Type I interferons in host defense. *Immunity* 25: 373-381 (2006)
- Wietek C, O'Neill LA. Diversity and regulation in the NF- κ B system. *Trends Biochem. Sci.* 32: 311-319 (2007)
- Honda K, Taniguchi T. IRFs: master regulators of signalling by toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. *Nat. Rev. Immunol.* 6: 644-658 (2006)
- Hemmi H, Takeuchi O, Sato S, Yamamoto M, Kaisho T, Sanjo H, Kawai T, Hoshino K, Takeda K, Akira S. The roles of two I κ B kinase-related kinases in lipopolysaccharide and double stranded RNA signaling and viral infection. *J. Exp. Med.* 199: 1641-1650 (2004)
- McWhirter SM, Fitzgerald KA, Rosains J, Rowe DC, Golenbock DT, Maniatis T. IFN-regulatory factor 3-dependent gene expression is defective in Tbk1-deficient mouse embryonic fibroblasts. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 233-238 (2004)
- Meylan E, Burns K, Hofmann K, Blancheteau V, Martinon F, Kellihier M, Tschopp J. RIP1 is an essential mediator of toll-like receptor 3-induced NF- κ B activation. *Nat. Immunol.* 5: 503-507 (2004)
- Fitzgerald KA, McWhirter SM, Faia KL, Rowe DC, Latz E, Golenbock DT, Coyle AJ, Liao SM, Maniatis T. IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nat. Immunol.* 4: 491-496 (2003)
- Pan MH, Lin-Shiau SY, Lin JK. Comparative studies on the suppression of nitric oxide synthase by curcumin and its hydrogenated metabolites through down-regulation of I κ B kinase and NF κ B activation in macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 60: 1665-1676 (2000)
- Jobin C, Bradham CA, Russo MP, Juma B, Narula AS, Brenner

- DA, Sartor RB. Curcumin blocks cytokine-mediated NF- κ B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- κ B kinase activity. *J. Immunol.* 163: 3474-3483 (1999)
25. Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 206: 533-540 (1995)
26. Kang G, Kong PJ, Yuh YJ, Lim SY, Yim SV, Chun W, Kim SS. Curcumin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression by inhibiting activator protein 1 and nuclear factor κ B bindings in BV2 microglial cells. *J. Pharmacol. Sci.* 94: 325-328 (2004)
27. Youn HS, Saitoh SI, Miyake K, Hwang DH. Inhibition of homodimerization of toll-like receptor 4 by curcumin. *Biochem. Pharmacol.* 72: 62-69 (2006)
28. Tao X, Xu Y, Zheng Y, Beg AA, Tong L. An extensively associated dimer in the structure of the C713S mutant of the TIR domain of human TLR2. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 299: 216-221 (2002)
29. Dinkova-Kostova AT, Massiah MA, Bozak RE, Hicks RJ, Talalay P. Potency of Michael reaction acceptors as inducers of enzymes that protect against carcinogenesis depends on their reactivity with sulfhydryl groups. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 3404-3409 (2001)
30. Siedle B, Garcia-Pineros AJ, Murillo R, Schulte-Monting J, Castro V, Rungeler P, Klaas CA, Da Costa FB, Kisiel W, Merfort I. Quantitative structure-activity relationship of sesquiterpene lactones as inhibitors of the transcription factor NF- κ B. *J. Med. Chem.* 47: 6042-6054 (2004)
31. Afzal M, Al-Hadidi D, Menon M, Pesek J, Dhami MS. Ginger: An ethnomedical, chemical, and pharmacological review. *Drug Metabol. Drug Interact.* 18: 159-190 (2001)
32. Chang CP, Chang JY, Wang FY, Chang JG. The effect of Chinese medicinal herb *Zingiberis rhizoma* extract on cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells. *J. Ethnopharmacol.* 48: 13-19 (1995)
33. Ippoushi K, Azuma K, Ito H, Horie H, Higashio H. [6]-Gingerol inhibits nitric oxide synthesis in activated J774.1 mouse macrophages and prevents peroxynitrite-induced oxidation and nitration reactions. *Life Sci.* 73: 3427-3437 (2003)
34. Thomson M, Al-Qattan KK, Al-Sawan SM, Alnaqeeb MA, Khan I, Ali M. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostag. Leukotr. Ess.* 67: 475-478 (2002)
35. Surh YJ. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: A short review. *Food Chem. Toxicol.* 40: 1091-1097 (2002)
36. Altman RD, Marcussen KC. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 44: 2531-2538 (2001)
37. Kiuchi F, Iwakami S, Shibuya M, Hanaoka F, Sankawa U. Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. *Chem. Pharm. Bull.* 40: 387-391 (1992)
38. Tjendraputra E, Tran VH, Liu-Brennan D, Roufogalis BD, Duke CC. Effect of ginger constituents and synthetic analogues on cyclooxygenase-2 enzyme in intact cells. *Bioorg. Chem.* 29: 156-163 (2001)
39. Kim SO, Chun KS, Kundu JK, Surh YJ. Inhibitory effects of [6]-gingerol on PMA-induced COX-2 expression and activation of NF- κ B and p38 MAPK in mouse skin. *Biofactors* 21: 27-31 (2004)
40. Kim JJ, Ahn SI, Lee JS, Yun SM, Lee MY, Youn HS. Suppression of the expression of cyclooxygenase-2 induced by toll-like receptor 2, 3, and 4 agonists by 6-shogaol. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 332-336 (2008)
41. Ahn SI, Lee JK, Youn HS. Inhibition of homodimerization of toll-like receptor 4 by 6-shogaol. *Mol. Cells* 27: 211-215 (2009)
42. Ooi LS, Li Y, Kam SL, Wang H, Wong EY, Ooi VE. Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. *Am. J. Chin. Med.* 34: 511-522 (2006)
43. Youn HS, Lee JK, Choi YJ, Saitoh SI, Miyake K, Hwang DH, Lee JY. Cinnamaldehyde suppresses toll-like receptor 4 activation mediated through the inhibition of receptor oligomerization. *Biochem. Pharmacol.* 75: 494-502 (2008)