

The Anti-Inflammatory Effects of Phytochemicals by the Modulation of Innate Immunity

Hyung-Sun Youn[†]

Department of Biomedical Laboratory Science, College of Medical Sciences, Soonchunhyang University,
Asan-Si, Chungnam 336-745, Korea

Toll-like receptors (TLRs) induce innate immune responses that are essential for host defense against invading microbial pathogens. In general, TLRs have two major downstream signaling pathways; myeloid differential factor 88 (MyD88) and Toll/IL-1R domain-containing adaptor inducing IFN- β (TRIF) leading to the activation of NF- κ B and IRF3. Numerous studies demonstrated that certain phytochemicals possessing anti-inflammatory effects inhibit NF- κ B activation induced by pro-inflammatory stimuli including lipopolysaccharide and tumor necrosis factor- α (TNF α). However, the direct molecular targets for such anti-inflammatory phytochemicals are not fully identified. In this paper, we will discuss about the molecular targets of phytochemicals in TLRs signaling pathways. These results present a novel anti-inflammatory mechanism of phytochemicals in TLRs signaling.

Key Words: Innate immunity, Toll-like receptors, Phytochemicals, Anti-inflammatory, NF- κ B

1. 서론

본 논문에서는 약초나 식물에 포함되어 있는 phytochemicals이 선천성 면역반응을 위해서 중요한 역할을 한다고 알려져 있는 toll-like receptors (TLRs) 신호전달 체계를 어떻게 조절해서 항염증 효능을 가지고 있는지 기술하고자 한다. 이러한 연구는 식품이나 약초들에 포함되어 있는 phytochemicals이 염증 (inflammation)반응이나 만성적인 질병들을 어떻게 조절해서 항염증 효능을 가지고 있는지, 앞으로 기능성 식품에 대해 연구하고자 하는 연구자들에게 많은 도움이 될 것으로 기대한다.

2. Toll-Like Receptors

외부에서 침입하는 각종 병원성미생물 (bacteria, virus 등) 및 이물질 등이 숙주로 유입되면 이러한 자극에 저항하기 위한 방어시스템으로 진행되는 면역반응은 선천성 면역 (innate immunity)과 후천성 면역 (acquired immunity)으로 분류될 수 있다 (Takeda and Akira, 2005). 선천성 면역반응은 병원균에 대항하기 위한 숙주의 최초 방어체계이며, 특히 무척추 동물에 있어서는 병원균에 대항하기 위한 숙주의 유일한 방어체계라 할 수 있다 (Medzhitov et al., 1997; Janeway, 1989). 병원균들만이 특이하게 가지고 있는 분자 구조 (molecular patterns)를 Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMP)이라고 부른다. PAMPs가 숙주 안에 들어오면 숙주 안에 있는 pattern recognition receptors (PRRs)에 의해서 최초로 인식되는데, Toll-like receptor (TLR), NOD-like receptor, RIG-like receptor가 PRRs 역할을 하는 대표적인 수용체들로 알려져 있다 (Kumar et al., 2009; Medzhitov, 2007). 특히 선천성 면역반응을 위해서 중요한 역할을 한다고 알려져 있는 TLRs가 중요한 PRR 역할을 한다고 알려져 있다. 1991년 초파리에서 Toll이 처음으로 발견되었으며, 1997년 포유동물에서 발견한 Toll

*Received: January 26, 2012 / Revised: April 2, 2012
Accepted: June 7, 2012

[†]Corresponding author: Hyung-Sun Youn. Department of Biomedical Laboratory Science College of Medical Sciences Soonchunhyang University 646 Eupnae-Ri, Shinchang-Myun, Asan-Si, Chungnam 336-745, Korea.
Tel: +82-41-530-3086, Fax: +82-41-530-3085
e-mail: hyoun@sch.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

을 초과리 Toll과 구별하기 위하여 Toll-like receptor라 명명하게 되었다 (Medzhitov et al., 1997). 현재까지 최소한 열 세 개의 TLRs가 포유동물 안에서 발견되었으며, 각각의 TLRs는 미생물들이 가지고 있는 각각의 독특한 구조를 인식하여 선천성 면역반응과 뒤이어 후천성 면역반응을 유도하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Akira et al., 2006). 병원균들이 숙주 안에 들어오면, TLRs가 병원균들을 인식해서, 신호를 아래로 보내 전사인자 (transcription factor) nuclear factor-kappa B (NF-κB)를 활성화 시켜 염증 유전자 물질들을 유도하여 여러 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다 (Fig. 1) (Baeuerle and Henkel, 1994).

NF-κB는 거의 모든 알려져 있는 세포 (cells)에서 발견되며, 인간의 면역반응을 위해서 중요한 역할을 한다고 알려져 있는 전사인자이다 (Baeuerle and Henkel, 1994). NF-κB는 발달 (development), 염증 (inflammation), 면역 (immunity)을 위해서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 많은 종류의 박테리아나 바이러스가 NF-κB를 활성화 시키며, 그렇게 활성화된 NF-κB는 cytokine과 chemokine을 포함한 면역 (immune)·염증 (inflammatory)에 관여하는 여러 종류의 타깃 유전자의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다 (Osborn et al., 1989; Lenardo et al., 1989). NF-κB는 주로 이종이합체 (heterodimerization)의 형태로 NF-κB 억제제 IκBα (inhibitor of kappa B alpha)와 결합하여 세포질 (cytoplasm) 안에 존재한다. 여러 병원체들에 의해 활성화된 신호들은 IκBα를 인산화 (phosphorylation) 시키며, 인산화된 IκBα는 26S proteasome에 의해서 분해되어 NF-κB를 자유롭게 만들게 된다. 자유롭게 된 NF-κB는 핵 (nucleus) 안으로 전좌 (translocation)되어 DNA에 결합하며, 결국 타깃 유전자의 발현을 자극해 암이나 질병을 유발하게 된다 (Ghosh and Karin, 2002; Pahl, 1999).

TLRs는 일반적으로 myeloid differential factor 88 (MyD88)과 Toll/IL-1R domain-containing adaptor inducing IFN-β (TRIF)에 의지한 신호전달 체계를 가지고 있다 (Fig. 1) (Hultmark, 1994; Fitzgerald et al., 2003b). MyD88은 TLR3를 제외한 모든 포유동물에서 발견되는 TLRs의 TIR (Toll/IL-1R) 도메인에 붙는 즉각적인 어댑터 (adaptor) 분자이며, 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 inhibitor of kappa B kinase (IκB kinase,

IKK)를 활성화 시켜, NF-κB의 활성화를 유도한다. 이렇게 TLRs를 시작으로 IKK kinases를 통해 NF-κB 활성화를 유도하는 신호전달 체계를 'canonical pathway'라고 부른다. 이러한 신호전달 체계를 통해 cytokine, cyclooxygenase-2 (COX-2), inducible nitric oxide synthase (iNOS) 등의 염증 유전자 물질 (inflammatory gene products)들이 유도되어 알려지 (allergy), 건선 (psoriasis), 암 (cancer) 등과 같은 여러 질병이 유발하는 것으로 알려져 있다 (Takeda and Akira, 2005).

NF-κB 활성화에 부가적으로, TLR3에 의한 이중가닥 RNA (double stranded RNA, dsRNA)의 인식과 TLR4에 의한 lipopolysaccharide (LPS)의 인식은 MyD88 대신에 어댑터 분자인 TRIF를 통하여 전사인자 interferon (IFN)-regulatory factor 3 (IRF3)의 활성화를 유도한다 (Fitzgerald et al., 2003b). TRIF는 kinase인 TBK1과 IKKε를 통하여 IRF3의 활성화를 유도하며, 활성화된 IRF3는 IFN-stimulated response element (ISRE)나 regulated on activation normal T-cell Expressed and secreted (RANTES)로써 알려진 consensus DNA sequence에 결합하여 type I IFN 유전자들을 유도한다. 또한 TRIF의 C-말단 부분은 receptor interacting protein 1 (RIP1)과 반응하여 늦은 NF-κB 활성화를 유도한다 (Meylan et al., 2004). 그래서 TRIF는 IRF3 활성화를 위해서 TBK1을 사용하고, NF-κB 활성화를 위해서 RIP1을 사용한다 (Fig. 1) (Sato et al., 2003; Fitzgerald et al., 2003a).

TLRs가 숙주 안으로 들어온 병원균들을 인식해서, 신호를 아래로 보내 NF-κB를 활성화 시켜 cytokine 등 염증 유전자 물질들을 유도하고, 뒤이어 후천성 면역반응을 유도해서 여러 질병으로부터 숙주를 보호하여 준다. 하지만 계속된 병원균의 자극에 의해 숙주 면역시스템에 과부하가 걸렸을 때에는 오히려 염증 유전자 물질들은 염증을 유발시켜 암이나 여러 질병을 일으키게 된다. 그러므로, 병원균들에 의해 유도된 NF-κB 활성화를 억제시킬 수 있다면, NF-κB 활성화에 의해 유도되는 암이나 질병을 예방할 수 있게 되는 것이다 (Pahl, 1999).

3. Phytochemicals

3.1 많은 phytochemicals은 병원균들에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제시킨다.

우리가 흔히 먹는 여러 식품 중에는 LPS, 이중가닥 RNA와 같은 여러 병원균들의 자극에 의해서 유도된 NF-

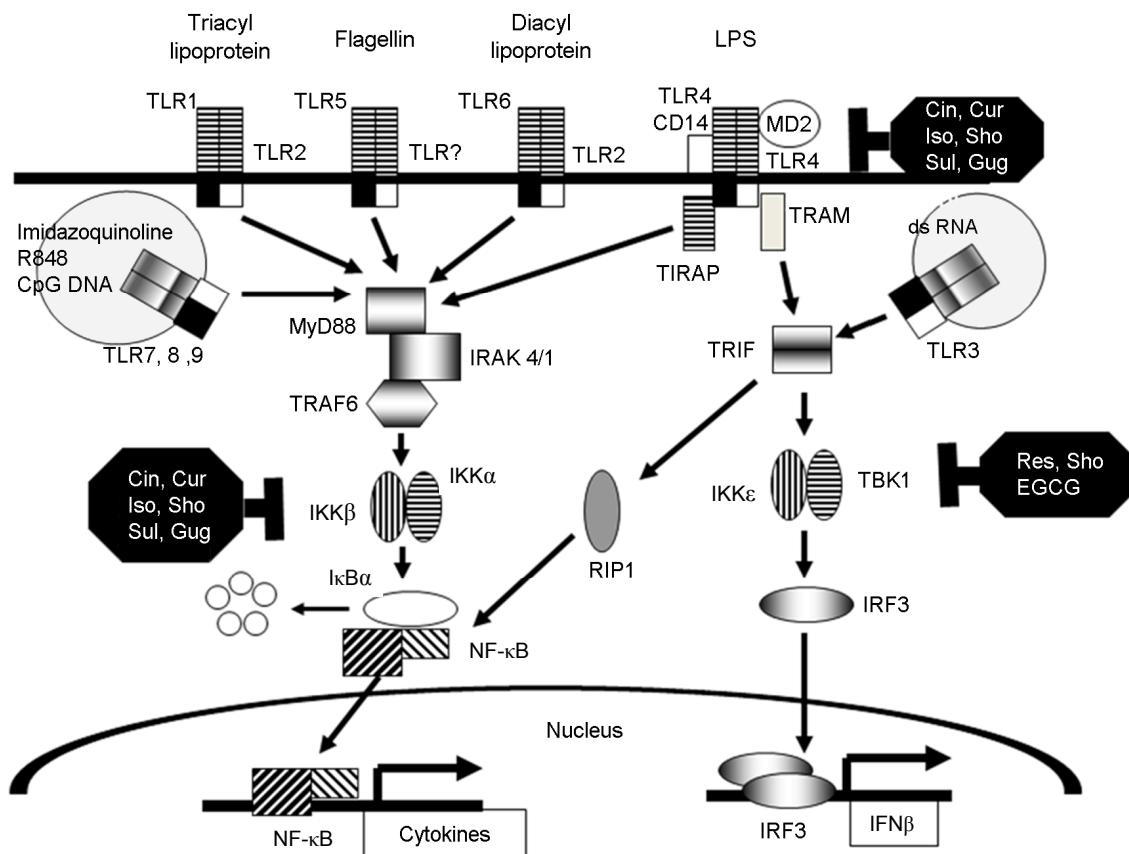


Fig. 1. Toll-like receptor (TLR) signaling pathways and the molecular targets of phytochemicals. TLRs have two major downstream signaling pathways; MyD88- and TRIF-dependent pathways leading to the activation of NF- κ B and IRF3. TLR2 dimerized with TLR1 or TLR6 recognizes triacyl or diacyl lipopeptides 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 kappa 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; Res, resveratrol; Cin, cinnamaldehyde; Cur, curcumin, EGCG, (-)-epigallocatechin-3-gallate; Gug, guggulsterone; Iso, isoliquiritigenin; Sho, 6-shogaol; Sul, sulforaphane.

κ B 활성화를 억제시키는 phytochemicals이 많이 포함되어 있다 (Youn et al., 2006b; Youn et al., 2005; Surh, 2003; Zingarelli et al., 2003; Youn et al., 2006a; Youn et al., 2008; Youn et al., 2009; Park et al., 2009b). 또한 선천성 면역반응을 조절하기 위해서 중요한 역할을 하는 TLRs를 통한 NF- κ B 활성화는 현재 매우 체계적으로 잘 알려진 신호전달 체계다. 그래서 본 논문에서는 이전 연구를 통하여 밝혀낸 식품이나 약초에 포함되어 있는 phytochemicals이 어떻게 TLRs 신호전달 체계를 조절하여 NF- κ B 활성화를 억제하며, 그 결과로 항염증 효능을 가지고 있는지 설명하고자 한다.

3.2 Resveratrol

Resveratrol (3,4',5-trihydroxy-*trans*-stilbene) (Fig. 2)은 포도가 외부의 손상이나 곰팡이 (fungi), 박테리아 (bacteria), 바이러스 (virus) 등 외부의 자극에 대항하기 위해서 식물체 스스로가 분비하는 phytoalexins 중의 하나로 알려져 있다 (Hain et al., 1990; Hain et al., 1993). 프랑스 사람들은 육류나 기름진 음식을 많이 섭취하면서도 심장병으로 인한 사망률이 주변국가들에 비해서 현저히 낮았다. 그래서 그 이유를 찾아보았더니 프랑스 사람들이 적포도주를 많이 마시기 때문이라는 것이 밝혀졌다. 이와 같이 프랑스인들에게서 나타나는 기이한 현상을 "French Paradox"

라고 부르게 되었으며, 바로 적포도주에 포함되어 있는 resveratrol이 "French Paradox"를 설명하는 물질로 밝혀졌다 (Kopp, 1998). Resveratrol은 전립선 (prostate), 유방 (breast), 결장 (colon) 암세포를 포함한 여러 암세포의 성장과 발암성을 억제시키는 것으로 알려져 있다 (Pervaiz, 2003). 포유동물 안에서 resveratrol은 항염증 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. Resveratrol은 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA), LPS, hydrogen peroxide (H₂O₂)와 같은 여러 pro-inflammatory 자극제에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제시켜, 염증을 유발하는 물질인 cytokines, COX-2, iNOS의 발현을 억제시키는 것으로 알려져 있다 (Bhat and Pezzuto, 2002; Martinez and Moreno, 2000; Subbaramaiah et al., 1998; Tsai et al., 1999; Wadsworth and Koop, 1999; Chan et al., 2000; Nakata et al., 2012). 그러나 resveratrol의 정확한 분자화학적 타겟은 우리가 TLRs 신호전달 체계 안에서 찾아내기 전까지는 잘 알려져 있지 않았다 (Youn et al., 2005).

Resveratrol은 LPS (TLR4 agonist) 또는 poly[I:C] (polyriboinosinic polyribocytidylic acid, TLR3 agonist)에 의해서 유도된 NF-κB 활성화와 COX-2 발현을 억제시켰

다 (Youn et al., 2005). 하지만 resveratrol은 MALP-2 (Macrophage-activating lipopeptide 2-kDa, TLR2 agonist) 또는 unmethylated CpG DNA (TLR9 agonist)에 의해서 유도된 NF-κB 활성화와 COX-2 발현을 억제시키지 못하였다 (Youn et al., 2005). 또한 resveratrol은 대식세포 (RAW264.7) 안에서 TLRs 신호전달 체계 아래에 있는 분자들인 MyD-88 또는 IKKβ의 과발현 (overexpression)에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제시키지 못하였다 (Youn et al., 2005). TLR4는 MyD88-과 TRIF에 의지한 양쪽 신호전달 체계를 통하여 NF-κB 활성화를 유도할 수 있다. 하지만 TLR2와 TLR9은 MyD88에 의지한 신호전달 체계만을 통하여, TLR3는 TRIF에 의지한 신호전달 체계만을 통하여 NF-κB 활성화를 유도한다 (Uematsu and Akira, 2006). Murakami (Murakami et al., 2003) 등은 resveratrol이 LPS와 IFNγ에 의해서 유도된 IκBα의 분해를 억제시키지 못한다고 보고하였으며, Manna (Manna et al., 2000) 등은 resveratrol이 TNF에 의해서 유도된 IκBα의 인산화와 분해과정을 억제시키지 못한다고 보고하였다. 그러므로 모든 결과에 의해서 resveratrol의 분자화학적 타겟은 MyD-88에 의지한 신호전달 체계가 아니라, TRIF에 의지한 신

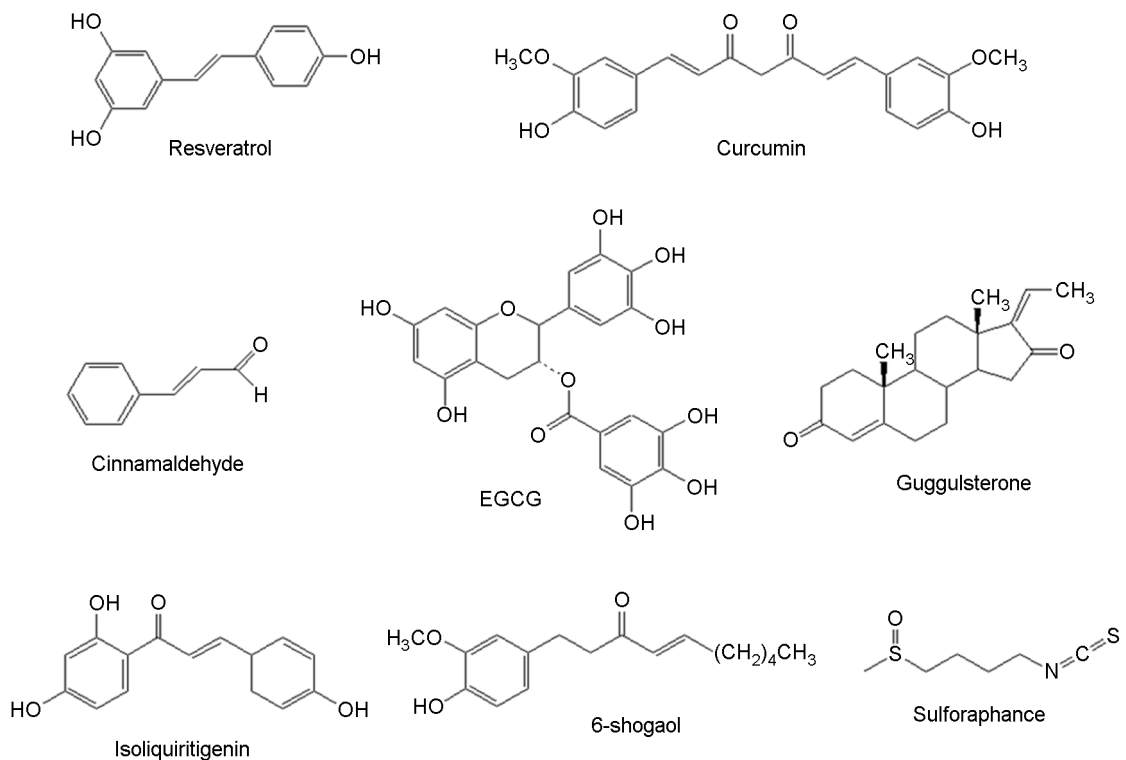


Fig. 2. The molecular structures of resveratrol, cinnamaldehyde, curcumin, EGCG, guggulsterone, isoliquiritigenin, 6-shogaol, and sulforaphane.

호전달 체계 안에 놓여 있다는 것이 밝혀졌다 (Youn et al., 2005).

Resveratrol은 TRIF에 의지한 신호전달 체계를 사용하는 TLR3와 TLR4의 자극제에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰으며, TRIF에 의지한 신호전달 체계 아래 있는 물질들인 TRIF 또는 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰다 (Youn et al., 2005). 하지만 resveratrol은 IRF3의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시키지 못하였다 (Youn et al., 2005). 이러한 결과는 resveratrol의 분자학적인 타겟이 IRF3보다 위에 놓여있다는 것을 의미한다고 할 수 있으며, TBK1 kinase assay에 의해서 TBK1이 resveratrol의 분자학적인 타겟이라는 것을 확인하였다 (Youn et al., 2005). 또한 resveratrol은 TRIF 또는 RIP1의 과발현에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화를 억제시켰다 (Youn et al., 2005). 이러한 모든 결과에 의해서 resveratrol의 분자학적인 타겟은 TBK1과 RIP1을 포함한 TRIF 복합체 (complex)라는 것이 밝혀졌다 (Fig. 1) (Youn et al., 2005).

3.3 Cinnamaldehyde

계피는 *Cinnamomum* 나무로부터 분리된 나무 껍질을 말린 것으로, 주성분은 계피유라고 하는 정유 (essential oil)로 cinnamaldehyde (3-phenyl-2-propenal) (Fig. 2)이 주요한 구성물질이다. α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 cinnamaldehyde는 향수와 살균제의 구성 물질로써, 또한 껌, 아이스크림, 캔디, 음료수 등에서 맛을 내는 물질로써 널리 사용되고 있으며, 항염증과 항박테리아를 포함한 여러 가지 생물학적인 활성을 가지고 있다고 널리 알려져 있다 (Ooi et al., 2006; Jayaprakasha and Rao, 2011).

TLR4 신호전달 체계는 두 개의 중요한 전사인자 NF- κ B와 IRF3의 활성화를 유도한다 (Takeda and Akira, 2005). Cinnamaldehyde는 LPS에 의해서 유도된 NF- κ B와 IRF3의 활성화를 억제하였다 (Youn et al., 2008). Cinnamaldehyde는 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 타겟 유전자인 COX-2와 IFN β 의 발현을 감소시켰다. 하지만 cinnamaldehyde는 TLR4의 신호전달 체계의 구성요소인 MyD88과 IKK β 에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화와 TRIF와 TBK1에 의해서 유도된 IRF3 활성화를 억제시키지 못하였다 (Youn et al., 2008). 이러한 결과는 cinnamaldehyde의 분자학적인 타겟이 MyD88과 TRIF 위에 놓여 있으며, 수용체 자체가 cinnamaldehyde의 분자학적인 타겟이라는 것을 의미한다고 할 수 있겠다. 수용체의 이합체 형성은 TLRs에 의해

서 유도되는 신호전달 체계의 활성화와 뒤이어 발생하는 선천성과 후천성 면역반응을 유도하기 위해서 최초로 일어나는 반응 중 하나로 알려져 있다 (Saitoh et al., 2004). Cinnamaldehyde는 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 이합체 형성을 억제시켰으며, 그 결과로 LPS에 의해서 유도된 IRAK-1의 분해와 NF- κ B 활성화를 억제시켰다 (Fig. 1) (Youn et al., 2008). 이와 같은 결과는 phytochemical이 신호전달 체계 중간에 존재하는 어떤 단백질만을 분자학적인 타겟으로 하는 것이 아니라, 수용체 레벨을 타겟으로 할 수 있다는 것을 보여주는 결과이다.

3.4 Curcumin

Curcumin [(1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione] (Fig. 2)은 *Curcuma longa* 안에서 발견되는 노란색을 띄고 있는 phytochemicals 중의 하나이다. Curcumin은 고형상태에서는 keto 형태로, 수용액 안에서는 enol 형태로 존재한다 (Payton et al., 2007; Sharma et al., 2005). Ketone 그룹의 산소와 하이드록시 그룹 (hydroxy group)의 수소이온이 서로 수소결합을 형성해서 보다 안정된 상태로 존재할 수 있기 때문에, curcumin이 수용액 상태에서는 enol 형태를 선호하는 것이다. Curcumin은 IKK β 를 분자학적인 타겟으로 하여 LPS, phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), TNF α , H $_2$ O $_2$ 등의 자극제에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화를 억제시키는 것으로 보고되었다 (Pan et al., 2000b; Jobin et al., 1999; Brouet and Ohshima, 1995; Kang et al., 2004; Zhao et al., 2011).

TLR4 신호전달 체계는 MyD88-과 TRIF에 의지한 신호전달 체계를 통하여 두 개의 중요한 전사인자 NF- κ B와 IRF3의 활성화를 유도한다 (Takeda and Akira, 2005). Curcumin은 key kinase인 IKK β 의 조절을 통하여 TLRs의 MyD88에 의지한 신호전달 체계를 조절하는 것으로 알려져 있다 (Youn et al., 2006b). Curcumin은 LPS에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰지만, TRIF나 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시키지 못하였다 (Youn et al., 2006b). 이러한 결과는 curcumin의 분자학적인 타겟이 TRIF 위에 놓여 있으며, 수용체 자체가 curcumin의 분자학적인 타겟이라는 것을 추측할 수 있었다. 또한 curcumin은 LPS에 의해서 유도된 IRAK-1 분해를 억제시켰다 (Youn et al., 2006b). 이러한 결과에 의해서 curcumin의 분자학적인 타겟이 IKK β 에 부가적으로 IRAK-1위에 놓여 있다는 것이 밝혀졌으며, curcumin은 최초의 방어체계가 할 수 있는 수용체의 이합체 형성을

억제하여 NF- κ B와 IRF3 활성화 및 그것들에 의해서 조절되는 타겟 유전자들을 억제시키는 것으로 밝혀졌다 (Fig. 1) (Youn et al., 2006b).

3.5 EGCG

우리가 즐겨 마시는 녹차에는 항염증 효과를 가지고 있는 여러 종류의 플라보노이드 (flavonoids)가 포함되어 있다. Catechin, (-)-epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) (Fig. 2) 등이 주로 포함되어 있다 (Youn et al., 2006a; Fujiki, 2005). 이 중에서도 EGCG가 가장 강한 항산화, 항염증 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. EGCG의 galloyl group이 항염증 효과를 위해서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다 (Ikeda et al., 2005; Wang et al., 2003). EGCG는 UV, LPS, IL- β 와 같은 pro-inflammatory 자극제에 의해서 유도된 전사인자 NF- κ B와 activator protein-1 (AP-1)의 활성화를 억제시킨다고 알려져 있다 (Barthelman et al., 1998; Yang et al., 1998; Wheeler et al., 2004; Zhao et al., 2011). 그 결과 lipoygenase (Yang and Koo, 2000), COX-2 (Metz et al., 2000; Soriani et al., 1998), iNOS (Chan et al., 1997; Lin and Lin, 1997), TNF α (Yang et al., 1998)를 포함한 염증 유전자의 발현을 억제시키는 것으로 알려져 있다. EGCG는 IKK β 를 분자학적인 타겟으로 삼아서 pro-inflammatory 자극제에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화를 억제시킨다고 알려져 있다 (Pan et al., 2000a; Yang et al., 2001). 즉 EGCG는 key kinase인 IKK β 의 조절을 통하여 MyD88에 의지한 신호전달 체계를 조절한다고 알려져 있다.

EGCG는 LPS 또는 poly[I:C]에 의해서 유도된 IFN β 의 발현과 IRF3 인산화를 억제시켰다 (Youn et al., 2006a). 또한 EGCG는 TRIF와 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰다 (Youn et al., 2006a). 하지만 EGCG는 IRF3의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시키지 못하였다. 이러한 결과는 EGCG의 분자학적인 타겟이 TBK1이 될거라는 것을 제기하였고, TBK1 kinase assay에 의해서 EGCG의 분자학적인 타겟이 TBK1이라는 것을 확인하였다 (Fig. 1) (Youn et al., 2006a). 그래서 EGCG는 IKK β 와 TBK1을 분자학적인 타겟으로 하여 각각 MyD88과 TRIF에 의지한 신호전달 체계를 조절하는 것으로 밝혀졌다 (Youn et al., 2006a).

3.6 Guggulsterone

Myrrh는 *Boswellia* species (Burseraceae)와 같은 과 (family)에 속해 있는 짧고 가시가 많은 나무인 *Commiphora myrrh*로부터 얻어진 붉은 색을 띠고 있는 기름 수지 (oily resin)이다 (Michie and Cooper, 1991). 여러 종류의 *Commiphora* species가 수지를 만들어 낼 뿐만 아니라, *C. habessinica*로 부터는 African myrrh, *C. mukul* (*C. wightii*)로 부터는 gugguluresin 등이 만들어진다 (Michie and Cooper, 1991). Guggulu로써 알려진 Indian myrrh의 의학적인 가치는 Ayurvedic texts (the ancient Indian medical system) 안에서 발견된다 (Deng, 2007). Guggulu는 순환장애 (circulatory problems), 신경장애 (nervous system disorders), 류마티스 성 호소증상 (rheumatic complaints)의 치료를 위한 최고의 물질로서 고려되었다 (Deng, 2007). Gum guggul의 항관절과 항염증 효과는 1960년 Gujral에 의해서 처음으로 증명되었다 (Gujral et al., 1960).

Guggulu의 가장 생물학적으로 활성있는 성분은 guggulsterone으로 밝혀졌다 (Wu et al., 2002). Guggulsterone [4,17(20)-pregnadiene-3,16-dione] (Fig. 2)은 *Commiphora mukul* 나무의 고무수지 [gum resin (*guggulu*)]로부터 유도된 식물 sterol이다. Guggulsterone은 콜레스테롤이나 담즙산 항상성 유지에 중요한 전사 조절자인 nuclear receptor farnesoid X receptor (FXR)에 길항약으로 알려졌다 (Urizar et al., 2002). 또한 많은 연구에 의하면 guggulsterone은 mineralocorticoid receptor (MR), glucocorticoid receptor (GR), androgen receptor에 길항약으로 밝혀졌다 (Wu et al., 2002; Owsley and Chiang, 2003). 최근의 연구에 의하면 guggulsterone은 간으로부터 콜레스테롤 대사 물질인 담즙산을 감소시키기 위해서 담즙산염수송펌프 (bile salt export pump)의 발현을 상향조절하는 것으로 증명되었다 (Deng et al., 2007). Guggulsterone은 염증반응에 중요한 역할을 하는 NF- κ B 활성화를 억제하고, 관절염을 일으키는 데 주요한 역할을 하는 COX-2와 MMP-9과 같은 염증을 일으키는 유전자 물질의 발현을 감소시키는 것으로 밝혀졌다 (Shishodia and Aggarwal, 2004).

Guggulsterone은 IKK β 를 분자학적인 타겟으로 삼아서 TLRs 신호전달 체계의 MyD88에 의지한 신호전달 체계를 조절하는 것으로 알려져 있다 (Cheon et al., 2006). 또한 guggulsterone은 LPS 또는 poly[I:C]에 의해서 유도된 NF- κ B와 IRF3 활성화를 억제시켰다 (Youn et al., 2009). Guggulsterone은 LPS에 의해서 유도된 IRF3의 인산화를

억제하였다 (Youn et al., 2009). 또한 Guggulsterone은 TRIF, TBK1, IRF3의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰다 (Youn et al., 2009). 이러한 결과를 종합해 볼 때 guggulsterone은 TLRs의 양쪽 신호전달 체계인 MyD88과 TRIF에 의지한 신호전달 체계를 조절하는 것으로 밝혀졌다.

3.7 Isoliquiritigenin

오래전부터 의약품으로 사용되는 많은 식물들 중에는 항암, 항염증 효과를 가지고 있다고 알려져 있는 많은 기능성 소재들이 포함되어 있다. 그러한 식물들 중의 하나가 감초 (Licorice, *Glycyrrhiza uralensis*)이다. 약방의 감초라는 말이 있듯이, 감초는 한약재에 널리 사용되어 왔다. 감초는 오랫동안 음식, 음료수, 담배 등의 맛을 내는 성분으로 사용되었으며, 또한 위궤양 (gastric ulcers), 십이지장 궤양 (duodenal ulcers), 후두염 (sore throats), 감기 (coughs), 기관지염 (bronchitis), 관절염 (arthritis), 부신병 (adrenal insufficiency), 알러지 (allergies) 등의 치료에 사용되었다 (Fintelmann, 1991; Kim et al., 2008; Kamei et al., 2005; Haggag et al., 2003). 감초는 의학적으로 효과를 가지고 있는 glycyrrhizin, glabridin, isoliquiritigenin과 같은 성분들을 포함하고 있다고 많은 연구에 의해서 밝혀졌다 (Fukai et al., 2003; Yokota et al., 1998; Zhou et al., 2004). 그 중에서도 chalcone 구조를 가지고 있는 flavonoid 중의 하나인 isoliquiritigenin은 혈관이완제 (vasorelaxant) (Yu and Kuo, 1995), 항혈소판 응집작용 (anti-platelet aggregation) (Tawata et al., 1992), 항알러지 효과 (anti-allergic activity)를 (Kakegawa et al., 1992) 가지고 있다고 알려져 있다.

Isoliquiritigenin [(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one] (Fig. 2)은 대식세포에서 LPS에 의해서 유도된 iNOS와 COX-2의 발현을 억제하여 항염증 효과를 가지고 있다고 보고되었다 (Kim et al., 2008). Isoliquiritigenin은 IKK β 를 분자학적인 타깃으로 삼아서 TLRs 신호전달 체계의 MyD88에 의지한 신호전달 체계를 조절하는 것으로 알려져 있다 (Fig. 1) (Kumar et al., 2007). 또한 isoliquiritigenin은 LPS 또는 poly[I:C]에 의해서 유도된 NF- κ B와 IRF3 활성화를 억제시켰다 (Park et al., 2009b). IP-10은 IRF3에 의해서 유도되는 유전자이다 (Fitzgerald et al., 2003a). Isoliquiritigenin은 LPS 또는 poly[I:C]에 의해서 유도된 IP-10의 발현을 억제시켰다 (Park et al., 2009b). Isoliquiritigenin은 TRIF와 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰으며, TBK1

을 분자학적인 타깃으로 하였다 (Fig. 1) (Park and Youn, 2010). 그래서 isoliquiritigenin은 IKK β 와 TBK1을 분자학적인 타깃으로 하여 각각 MyD88과 TRIF에 의지한 신호전달 체계를 조절하는 것으로 밝혀졌다 (Park and Youn, 2010). 또한 α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 isoliquiritigenin은 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 이합체 형성을 억제시켰다 (Fig. 1) (Park and Youn, 2010). 그 결과로 isoliquiritigenin은 최초의 방어체제라 할 수 있는 수용체의 이합체 형성을 억제하여 NF- κ B와 IRF3 활성화 및 그것들에 의해서 조절되는 타깃 유전자들을 억제시키는 것으로 밝혀졌다.

3.8 6-Shogaol

웰빙 식품 중 하나인 생강 (*Zingiber officinale*, Rosecoe)은 오랫동안 한약재 (herbal medicine)로 사용되어 왔다. 생강은 전통적으로 신경성 질환 (nervous diseases), 치은염 (gingivitis), 치통 (toothache), 천식 (asthma), 뇌졸중 (stroke), 변비 (constipation), 당뇨 (diabetes)에 효과적인 것으로 보고되었다 (Afzal et al., 2001). 생강 추출물들은 항염증 (anti-inflammatory) (Chang et al., 1995), 항산화 (antioxidant) (Ippoushi et al., 2003), 항혈전 (anti-thrombotic) (Thomson et al., 2002), 항암 (anticancer) (Surh, 2002) 효과를 가지고 있다고 알려져 있다. 또한 생강 추출물은 관절염 치료를 위해서 효과적인 것으로 알려져 있다 (Altman and Marcussen, 2001). 생강은 gingerols, shogaols, paradols, gingerdiols과 같은 성분을 포함하고 있다. 이것들 중에서 gingerols과 gingerols의 가수분해산물인 shogaols이 prostaglandin (PG)과 leukotriene 합성 효소의 효과적인 억제제로 보고되었다 (Kiuchi et al., 1992). 생강 추출물 중의 하나인 6-gingerol은 COX-2 활성을 효과적으로 억제한다고 밝혀졌으며, 곁사슬 (side chain)의 길이가 활성화 결정을 위해서 중요한 역할을 한다고 밝혀졌다 (Tjendraputra et al., 2001).

α,β -unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 6-shogaol [(E)-1-(4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl)dec-4-en-3-one] (Fig. 2)은 TLRs의 MyD88에 의지한 신호전달 체계에 놓여있는 MyD88, IKK β , p65의 과발현에 의해서 유도된 NF- κ B 활성화를 억제하였다 (Ahn et al., 2009). 또한 6-shogaol은 LPS에 의해서 유도된 IRAK-1의 분해를 억제하였다 (Ahn et al., 2009). 이러한 결과는 6-shogaol의 분자학적인 타깃이 IRAK-1보다 위에 놓여 있다는 것을 의미하며, Michael addition acceptor 그룹을 가지고 있는 6-shogaol은 LPS에 의해서 유도된 TLR4의 이합체 형성을 억제하였다 (Fig.

1) (Ahn et al., 2009). 또한 6-Shogaol은 LPS 또는 poly[I:C]에 의해서 유도된 NF- κ B와 IRF3 활성화를 억제시켰으며, IP-10의 발현을 억제시켰다 (Park et al., 2009a). 6-shogaol은 TRIF와 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰으며, TBK1을 분자학적인 타깃으로 하였다 (Fig. 1) (Park et al., 2009a). 이러한 결과들은 6-shogaol이 수용체뿐만이 아니라 kinase인 IKK β 와 TBK1을 포함하여 여러 분자들을 타깃으로 하고 있다는 것을 보여준다고 할 수 있겠다.

3.9 Sulforaphane

Sulforaphane (1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl)-butane) (Fig. 2)은 브로콜리, 꽃양배추 (cauliflower)와 같은 십자화과 식물 (cruciferous vegetables)에 풍부한 isothiocyanate 유도체 중의 하나이다. Sulforaphane은 항암, 항염증 효과를 가지고 있다고 널리 알려져 있다 (Clarke et al., 2008). Sulforaphane은 LPS에 의해서 유도된 iNOS, COX-2, TNF α 의 발현을 억제하는 것으로 알려져 있다 (Heiss et al., 2001). Sulforaphane은 내피 세포에서 LPS에 의해서 유도된 inter-cellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)의 발현을 억제시켰다 (Liu et al., 2008). Sulforaphane은 p65의 핵전좌 (nuclear translocation), I κ B α 의 분해, IKK β 의 kinase 활성을 억제시켜 NF- κ B 활성화를 억제시키는 것으로 알려져 있다 (Xu et al., 2005). Sulforaphane은 key kinase인 IKK β 의 조절을 통하여 TLRs 신호전달 체계의 MyD88에 의지한 신호전달 체계를 조절하는 것으로 알려져 있다 (Xu et al., 2005).

흥미롭게도 sulforaphane은 LPS에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시켰지만, TRIF에 의지한 신호전달 체계 아래에 있는 분자들인 TRIF나 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN β 의 발현을 억제시키지 못하였다 (Youn et al., 2010). 이러한 결과는 sulforaphane의 분자학적인 타깃이 TRIF 위에 놓여있으며, 수용체 자체가 sulforaphane의 분자학적인 타깃이라는 것을 제기하였다. TLRs의 이합체 형성은 TLRs에 의해서 유도되는 신호전달 체계의 활성화와 뒤이어 발생하는 선천성 면역반응을 유도하기 위해서 최초로 일어나는 반응으로 알려져 있다. TLRs는 세포막의 바깥쪽에 leucine이 반복적으로 나타나는 부위가 존재하고, cysteine이 풍부한 지역이 있으며, 또한 세포막 안 쪽에는 TIR (Toll/IL-1R homologous) 지역을 가지고 있는 세포막을 통과하는 Type I 단백질이다. 그러므로 TLRs는 세포막의 안과 밖으로 여러 개의 cysteines을 가지고 있

다. 이러한 cysteines은 이황화 (disulfide) 결합에 의해서 TLRs가 이합체를 형성하는데 필요한 것으로 알려져 있다 (Tao et al., 2002). Sulforaphane의 isothiocyanate는 단백질의 thiols 그룹에 결합해서 이황화 결합을 방해하는 것으로 알려져 있다 (Hong et al., 2005). LC-MS/MS를 사용해서 sulforaphane이 TLR4의 cysteine 안에 있는 thiols 그룹에 결합하는 것을 밝혀내었다 (Fig. 1) (Youn et al., 2010). 그래서 sulforaphane에 의한 TLR4 이합체 형성 억제 효과는 TLR4 cysteines 안에 있는 thiols의 결합 능력에 의해서 결정된다고 할 수 있겠다.

4. 결론

선천성 면역반응을 조절하는데 있어서 중요한 역할을 하는 TLRs 신호전달 체계는 현재 많은 연구가 활발하게 진행되고 있는 분야이다. 약초나 식물에는 phytochemicals이라고 불리우는 많은 기능성 소재들이 포함되어 있다. 특히 phytochemicals 중에서 항염증 효과가 있다고 널리 알려져 있는 resveratrol, cinnamaldehyde, curcumin, guggulsterone, EGCG, isoliquiritigenin, 6-shogaol, sulforaphane의 분자학적인 타깃을 TLRs 신호전달 체계 안에서 밝혀내었다. 기존의 연구들은 phytochemicals이 암이나 염증을 억제시킨다는 결과를 관찰하는데 중점을 두었지만, 본 연구들에서는 phytochemicals이 TLRs 신호전달 체계를 어떻게 조절하여 항염증 효능을 가지고 있는지 분자학적인 타깃을 밝혀 내는데 중점을 두었다. 질병 치료보다는 질병을 예방하는 것이 기능성 식품의 주된 목적이기 때문에, 선천성 면역반응을 위해서 중요한 역할을 하는 TLRs 신호전달 체계 안에서 phytochemicals의 항염증 효능을 위한 분자학적인 타깃의 발견은 기능성 식품의 주된 목적을 잘 설명해 주는 것이라 할 수 있겠다.

REFERENCES

- Afzal M, Al-Hadidi D, Menon M, Pesek J, Dhama MS. Ginger: an ethnomedical, chemical and pharmacological review. *Drug Metabol Drug Interact.* 2001. 18: 159-190.
- Ahn SI, Lee JK, Youn HS. Inhibition of homodimerization of toll-like receptor 4 by 6-shogaol. *Mol Cells.* 2009. 27: 211-215.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006. 124: 783-801.

- Altman RD, Marcussen KC. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2001. 44: 2531-2538.
- Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol*. 1994. 12: 141-179.
- Barthelman M, Bair WB 3rd, Stickland KK, Chen W, Timmenmann BN, Valcic S, Dong Z, Bowden GT. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibition of ultraviolet B-induced AP-1 activity. *Carcinogenesis*. 1998. 19: 2201-2204.
- Bhat KP, Pezzuto JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Ann NY Acad Sci*. 2002. 957: 210-229.
- 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 Commun*. 1995. 206: 533-540.
- Chan MM, Fong D, Ho CT, Huang HI. Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity by epigallocatechin gallate, a natural product from green tea. *Biochem Pharmacol*. 1997. 54: 1281-1286.
- Chan MM, Mattiacci JA, Hwang HS, Shah A, Fong D. Synergy between ethanol and grape polyphenols, quercetin, and resveratrol, in the inhibition of the inducible nitric oxide synthase pathway. *Biochem Pharmacol*. 2000. 60: 1539-1548.
- 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*. 1995. 48: 13-19.
- Cheon JH, Kim JS, Kim JM, Kim N, Jung HC, Song IS. Plant sterol guggulsterone inhibits nuclear factor-kappaB signaling in intestinal epithelial cells by blocking IkappaB kinase and ameliorates acute murine colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2006. 12: 1152-1161.
- Clarke JD, Dashwood RH, Ho E. Multi-targeted prevention of cancer by sulforaphane. *Cancer Lett*. 2008. 269: 291-304.
- Deng R. Therapeutic effects of guggul and its constituent guggulsterone: cardiovascular benefits. *Cardiovasc Drug Rev*. 2007. 25: 375-390.
- Deng R, Yang D, Radke A, Yang J, Yan B. The hypolipidemic agent guggulsterone regulates the expression of human bile salt export pump: dominance of transactivation over farnesoid X receptor-mediated antagonism. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007. 320: 1153-1162.
- Fintelmann V. Modern phytotherapy and its uses in gastrointestinal conditions. *Planta Med*. 1991. 57: S48-52.
- 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*. 2003a. 4: 491-496.
- Fitzgerald KA, Rowe DC, Barnes BJ, Caffrey DR, Visintin A, Latz E, Monks B, Pitha PM, Golenbock DT. LPS-TLR4 signaling to IRF-3/7 and NF-kappaB involves the toll adapters TRAM and TRIF. *J Exp Med*. 2003b. 198: 1043-1055.
- Fujiki H. Green tea: Health benefits as cancer preventive for humans. *Chem Rec*. 2005. 5: 119-132.
- Fukai T, Satoh K, Nomura T, Sakagami H. Preliminary evaluation of antinephritis and radical scavenging activities of glabridin from *Glycyrrhiza glabra*. *Fitoterapia*. 2003. 74: 624-629.
- Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell*. 2002. 109 Suppl: S81-96.
- Gujral ML, Sareen K, Tangri KK, Amma MK, Roy AK. Antiarthritic and anti-inflammatory activity of gum guggul (*Balsamodendron mukul Hook*). *Indian J Physiol Pharmacol*. 1960. 4: 267-273.
- Haggag EG, Abou-Moustafa MA, Boucher W, Theoharides TC. The effect of a herbal water-extract on histamine release from mast cells and on allergic asthma. *J Herb Pharmacother*. 2003. 3: 41-54.
- Hain R, Bieseler B, Kindl H, Schroder G, Stocker R. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. *Plant Mol Biol*. 1990. 15: 325-335.
- Hain R, Reif HJ, Krause E, Langebartels R, Kindl H, Vornam B, Wiese W, Schmelzer E, Schreier PH, Stocker RH, Stenzel K. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature*. 1993. 361: 153-156.
- Heiss E, Herhaus C, Klimo K, Bartsch H, Gerhauser C. Nuclear factor kappa B is a molecular target for sulforaphane-mediated anti-inflammatory mechanisms. *J Biol Chem*. 2001. 276: 32008-32015.
- Hong F, Freeman ML, Liebler DC. Identification of sensor cysteines in human Keap1 modified by the cancer chemopreventive agent sulforaphane. *Chem Res Toxicol*. 2005. 18: 1917-1926.
- Hultmark D. Macrophage differentiation marker MyD88 is a member of the Toll/IL-1 receptor family. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994. 199: 144-146.
- Ikeda I, Tsuda K, Suzuki Y, Kobayashi M, Unno T, Tomoyori H, Goto H, Kawata Y, Imaizumi K, Nozawa A, Kakuda T. Tea catechins with a galloyl moiety suppress postprandial hypertriglycerolemia by delaying lymphatic transport of dietary

- fat in rats. *J Nutr*. 2005. 135: 155-159.
- 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*. 2003. 73: 3427-3437.
- Janeway CA. Autoimmune disease: immunotherapy by peptides? *Nature*. 1989. 341: 482-483.
- Jayaprakasha GK, Rao LJ. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2011. 51: 547-562.
- Jobin C, Bradham CA, Russo MP, Juma B, Narula AS, Brenner DA, Sartor RB. Curcumin blocks cytokine-mediated NF-kappa B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I-kappa B kinase activity. *J Immunol*. 1999. 163: 3474-3483.
- Kakegawa H, Matsumoto H, Satoh T. Inhibitory effects of some natural products on the activation of hyaluronidase and their anti-allergic actions. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1992. 40: 1439-1442.
- Kamei J, Saitoh A, Asano T, Nakamura R, Ichiki H, Iiduka A, Kubo M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of the antitussive principles of *Glycyrrhizae radix* (licorice), a main component of the Kampo preparation Bakumondo-to (Mai-men-dong-tang). *Eur J Pharmacol*. 2005. 507: 163-168.
- 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 kappa B bindings in BV2 microglial cells. *J Pharmacol Sci*. 2004. 94: 325-328.
- Kim JY, Park SJ, Yun KJ, Cho YW, Park HJ, Lee KT. Isoliquiritigenin isolated from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* inhibits LPS-induced iNOS and COX-2 expression via the attenuation of NF-kappaB in RAW 264.7 macrophages. *Eur J Pharmacol*. 2008. 584: 175-184.
- Kiuchi F, Iwakami S, Shibuya M, Hanaoka F, Sankawa U. Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1992. 40: 387-391.
- Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? *Eur J Endocrinol*. 1998. 138: 619-620.
- Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009. 388: 621-625.
- Kumar S, Sharma A, Madan B, Singhal V, Ghosh B. Isoliquiritigenin inhibits IkappaB kinase activity and ROS generation to block TNF-alpha induced expression of cell adhesion molecules on human endothelial cells. *Biochem Pharmacol*. 2007. 73: 1602-1612.
- Lenardo MJ, Fan CM, Maniatis T, Baltimore D. The involvement of NF-kappa B in beta-interferon gene regulation reveals its role as widely inducible mediator of signal transduction. *Cell*. 1989. 57: 287-294.
- Lin YL, Lin JK. (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks the induction of nitric oxide synthase by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of transcription factor nuclear factor-kappaB. *Mol Pharmacol*. 1997. 52: 465-472.
- Liu YC, Hsieh CW, Weng YC, Chuang SH, Hsieh CY, Wung BS. Sulforaphane inhibition of monocyte adhesion via the suppression of ICAM-1 and NF-kappaB is dependent upon glutathione depletion in endothelial cells. *Vascul Pharmacol*. 2008. 48: 54-61.
- Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *J Immunol*. 2000. 164: 6509-6519.
- Martinez J, Moreno JJ. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol*. 2000. 59: 865-870.
- Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*. 2007. 449: 819-826.
- Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997. 388: 394-397.
- Metz N, Lobstein A, Schneider Y, Gosse F, Schleiffer R, Anton R, Raul F. Suppression of azoxymethane-induced preneoplastic lesions and inhibition of cyclooxygenase-2 activity in the colonic mucosa of rats drinking a crude green tea extract. *Nutr Cancer*. 2000. 38: 60-64.
- Meylan E, Burns K, Hofmann K, Blancheteau V, Martinon F, Kelliher M, Tschopp J. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol*. 2004. 5: 503-507.
- Michie CA, Cooper E. Frankincense and myrrh as remedies in children. *J R Soc Med*. 1991. 84: 602-605.
- Murakami A, Matsumoto K, Koshimizu K, Ohigashi H. Effects of selected food factors with chemopreventive properties on combined lipopolysaccharide- and interferon-gamma-induced IkappaB degradation in RAW264.7 macrophages. *Cancer*

- Lett. 2003. 195: 17-25.
- Nakata R, Takahashi S, Inoue H. Recent advances in the study on resveratrol. *Biol Pharm Bull.* 2012. 35: 273-279.
- 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.* 2006. 34: 511-522.
- Osborn L, Kunkel S, Nabel GJ. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 stimulate the human immunodeficiency virus enhancer by activation of the nuclear factor kappa B. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989. 86: 2336-2340.
- Owsley E, Chiang JY. Guggulsterone antagonizes farnesoid X receptor induction of bile salt export pump but activates pregnane X receptor to inhibit cholesterol 7alpha-hydroxylase gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003. 304: 191-195.
- Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene.* 1999. 18: 6853-6866.
- Pan MH, Lin-Shiau SY, Ho CT, Lin JH, Lin JK. Suppression of lipopolysaccharide-induced nuclear factor-kappaB activity by theaflavin-3,3'-digallate from black tea and other polyphenols through down-regulation of IkappaB kinase activity in macrophages. *Biochem Pharmacol.* 2000a. 59: 357-367.
- 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 IkappaB kinase and NFkappaB activation in macrophages. *Biochem Pharmacol.* 2000b. 60: 1665-1676.
- Park SJ, Lee MY, Son BS, Youn HS. TBK1-targeted suppression of TRIF-dependent signaling pathway of Toll-like receptors by 6-shogaol, an active component of ginger. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2009a. 73: 1474-1478.
- Park SJ, Song HY, Youn HS. Suppression of the TRIF-dependent signaling pathway of toll-like receptors by isoliquiritigenin in RAW264.7 macrophages. *Mol Cells.* 2009b. 28: 365-368.
- Park SJ, Youn HS. Suppression of homodimerization of toll-like receptor 4 by isoliquiritigenin. *Phytochemistry.* 2010. 71: 1736-1740.
- Payton F, Sandusky P, Alworth WL. NMR study of the solution structure of curcumin. *J Nat Prod.* 2007. 70: 143-146.
- Pervaiz S. Resveratrol: from grapevines to mammalian biology. *Faseb J.* 2003. 17: 1975-1985.
- Saitoh S, Akashi S, Yamada T, Tanimura N, Kobayashi M, Konno K, Matsumoto F, Fukase K, Kusumoto S, Nagai Y, Kusumoto Y, Kosugi A, Miyake K. Lipid A antagonist, lipid IVa, is distinct from lipid A in interaction with Toll-like receptor 4 (TLR4)-MD-2 and ligand-induced TLR4 oligomerization. *Int Immunol.* 2004. 16: 961-969.
- Sato S, Sugiyama M, Yamamoto M, Watanabe Y, Kawai T, Takeda K, Akira S. Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN-beta (TRIF) associates with TNF receptor-associated factor 6 and TANK-binding kinase 1, and activates two distinct transcription factors, NF-kappa B and IFN-regulatory factor-3, in the Toll-like receptor signaling. *J Immunol.* 2003. 171: 4304-4310.
- Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer.* 2005. 41: 1955-1968.
- Shishodia S, Aggarwal BB. Guggulsterone inhibits NF-kappaB and IkappaB kinase activation, suppresses expression of anti-apoptotic gene products, and enhances apoptosis. *J Biol Chem.* 2004. 279: 47148-47158.
- Soriani M, Rice-Evans C, Tyrrell RM. Modulation of the UVA activation of haem oxygenase, collagenase and cyclooxygenase gene expression by epigallocatechin in human skin cells. *FEBS Lett.* 1998. 439: 253-257.
- Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, Jang M, Pezzuto JM, Dannenberg AJ. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J Biol Chem.* 1998. 273: 21875-21882.
- Surh YJ. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review. *Food Chem Toxicol.* 2002. 40: 1091-1097.
- Surh YJ. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer.* 2003. 3: 768-780.
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol.* 2005. 17: 1-14.
- 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 Commun.* 2002. 299: 216-221.
- Tawata M, Aida K, Noguchi T, Ozaki Y, Kume S, Sasaki H, Chin M, Onaya T. Anti-platelet action of isoliquiritigenin, an aldose reductase inhibitor in licorice. *Eur J Pharmacol.* 1992. 212: 87-92.
- 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. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2002. 67: 475-478.
- 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.* 2001. 29: 156-163.
- Tsai SH, Lin-Shiau SY, Lin JK. Suppression of nitric oxide synthase and the down-regulation of the activation of NF-kappaB in macrophages by resveratrol. *Br J Pharmacol.* 1999. 126: 673-680.
- Uematsu S, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *J Mol Med (Berl).* 2006. 84: 712-725.
- Urizar NL, Liverman AB, Dodds DT, Silva FV, Ordentlich P, Yan Y, Gonzalez FJ, Heyman RA, Mangelsdorf DJ, Moore DD. A natural product that lowers cholesterol as an antagonist ligand for FXR. *Science.* 2002. 296: 1703-1706.
- Wadsworth TL, Koop DR. Effects of the wine polyphenolics quercetin and resveratrol on pro-inflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages. *Biochem Pharmacol.* 1999. 57: 941-949.
- Wang X, Song KS, Guo QX, Tian WX. The galloyl moiety of green tea catechins is the critical structural feature to inhibit fatty-acid synthase. *Biochem Pharmacol.* 2003. 66: 2039-2047.
- Wheeler DS, Catravas JD, Odoms K, Denenberg A, Malhotra V, Wong HR. Epigallocatechin-3-gallate, a green tea-derived polyphenol, inhibits IL-1 beta-dependent proinflammatory signal transduction in cultured respiratory epithelial cells. *J Nutr.* 2004. 134: 1039-1044.
- Wu J, Xia C, Meier J, Li S, Hu X, Lala DS. The hypolipidemic natural product guggulsterone acts as an antagonist of the bile acid receptor. *Mol Endocrinol.* 2002. 16: 1590-1597.
- Xu C, Shen G, Chen C, Gelinas C, Kong AN. Suppression of NF-kappaB and NF-kappaB-regulated gene expression by sulforaphane and PEITC through I kappa B alpha, IKK pathway in human prostate cancer PC-3 cells. *Oncogene.* 2005. 24: 4486-4495.
- Yang F, de Villiers WJ, McClain CJ, Varilek GW. Green tea polyphenols block endotoxin-induced tumor necrosis factor-production and lethality in a murine model. *J Nutr.* 1998. 128: 2334-2340.
- Yang F, Oz HS, Barve S, de Villiers WJ, McClain CJ, Varilek GW. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate blocks nuclear factor-kappa B activation by inhibiting I kappa B kinase activity in the intestinal epithelial cell line IEC-6. *Mol Pharmacol.* 2001. 60: 528-533.
- Yang TT, Koo MW. Inhibitory effect of Chinese green tea on endothelial cell-induced LDL oxidation. *Atherosclerosis.* 2000. 148: 67-73.
- Yokota T, Nishio H, Kubota Y, Mizoguchi M. The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. *Pigment Cell Res.* 1998. 11: 355-361.
- Youn HS, Ahn SI, Lee BY. Guggulsterone suppresses the activation of transcription factor IRF3 induced by TLR3 or TLR4 agonists. *Int Immunopharmacol.* 2009. 9: 108-112.
- Youn HS, Kim YS, Park ZY, Kim SY, Choi NY, Joung SM, Seo JA, Lim KM, Kwak MK, Hwang DH, Lee JY. Sulforaphane suppresses oligomerization of TLR4 in a thiol-dependent manner. *J Immunol.* 2010. 184: 411-419.
- 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.* 2008. 75: 494-502.
- Youn HS, Lee JY, Fitzgerald KA, Young HA, Akira S, Hwang DH. Specific inhibition of MyD88-independent signaling pathways of TLR3 and TLR4 by resveratrol: molecular targets are TBK1 and RIP1 in TRIF complex. *J Immunol.* 2005. 175: 3339-3346.
- Youn HS, Lee JY, Saitoh SI, Miyake K, Kang KW, Choi YJ, Hwang DH. Suppression of MyD88- and TRIF-dependent signaling pathways of Toll-like receptor by (-)-epigallocatechin 3-gallate, a polyphenol component of green tea. *Biochem Pharmacol.* 2006a. 72: 850-859.
- Youn HS, Saitoh SI, Miyake K, Hwang DH. Inhibition of homodimerization of Toll-like receptor 4 by curcumin. *Biochem Pharmacol.* 2006b. 72: 62-69.
- Yu SM, Kuo SC. Vasorelaxant effect of isoliquiritigenin, a novel soluble guanylate cyclase activator, in rat aorta. *Br J Pharmacol.* 1995. 114: 1587-1594.
- Zhao L, Lee JY, Hwang DH. Inhibition of pattern recognition receptor-mediated inflammation by bioactive phytochemicals. *Nutr Rev.* 2011. 69: 310-320.
- Zhou S, Koh HL, Gao Y, Gong ZY, Lee EJ. Herbal bioactivation: the good, the bad and the ugly. *Life Sci.* 2004. 74: 935-968.
- Zingarelli B, Sheehan M, Wong HR. Nuclear factor-kappaB as a therapeutic target in critical care medicine. *Crit Care Med.* 2003. 31: S105-111.