

만성적인 에탄올 섭취로 인한 쥐의 위 조직 손상에서 방사무늬 김(*Pyropia yezoensis*)의 보호효과

Saeidi Soma · 최정욱 · 이민경 · 김영민 · 김인혜 · 남택정*

부경대학교 식품영양학과

Protective Effects of *Pyropia yezoensis* Glycoprotein against Ethanol-induced Chronic Gastric Injury in the Rat

Saeidi Soma, Jeong Wook Choi, Min Kyeong Lee, Young Min Kim, In Hye Kim and Taek Jeong Nam*

Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

We examined the protective effects of *Pyropia yezoensis* glycoprotein (PYGP) against ethanol-induced gastric damage. The experimental animals were divided into four groups. They were treated with distilled water (control), ethanol alone (EtOH), ethanol + PYGP 150 mg/kg BW (EtOH+150), or ethanol + PYGP 300 mg/kg BW (EtOH+300). The groups were treated for 4 weeks. We measured mitogen-activated protein kinase (MAPK), the apoptotic signaling pathway, and PARP activity in gastric tissues obtained from the rats. Ethanol consumption increased apoptotic signal activity and ERK, JNK, and p38 phosphorylation. PYGP reduced the apoptotic signaling pathway activity and ERK, JNK, and p38 phosphorylation. Furthermore, PYGP regulated Bcl-2 family expression. In light of these findings, PYGP appears to prevent ethanol-induced gastric injury and oxidative stress.

Key words: *Pyropia yezoensis*, Ethanol consumption, MAPK, Apoptosis

서 론

위 조직은 스트레스와 알코올, 감염, 흡연 등으로 손상을 받게 되며 이러한 손상이 장기적으로 이어질 경우 위궤양으로 발전하기 쉬운 조직 중 하나이다(Tulassay and Herszenyi, 2010). 그 중 알코올은 위점막 손상 또는 위궤양이 심할 경우 위암을 유발하는 주 인자 중 하나로서 위 손상과 관련된 질병을 예방 또는 치료하기 위한 보호물질의 효과를 실험하기 위한 독성모델로서 많은 연구자들이 채택하여 실험에 사용되고 있다(Szabo et al., 1985).

장기적인 알코올의 과다섭취는 위 조직의 괴사, 세포의 자살 그리고 산화적인 스트레스를 유발하여 조직의 손상을 일으키게 된다. 이중 조직의 괴사와 세포의 자살에 연관된 생체의 신호 기작은 다양한 경로를 통하여 이루어지지만, MAPKs와 apoptotic signal pathway가 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2005; Joza et al., 2002).

MAPK (mitogen activated protein kinase)는 ERK (extracel-

lular signal regulated kinase), JNK (c-jun N-terminal kinase), p38 세가지 단백질로 구성된 신호전달 경로로서 각각의 단백질이 인산화가 이루어 짐으로 활성화되어 역할을 수행하게 된다. 알코올로 인한 독성반응에서 각각의 단백질은 활성화 되어 염증반응과 조직의 괴사를 일으킨다고 한다. 또한 알코올의 지속적인 섭취는 염증반응과 독성반응을 통하여 세포에 복구하기 힘든 심각한 손상을 야기하고 이러한 손상으로 인하여 세포의 자살반응이 진행된다(Yang et al., 2008 ; Kim et al., 2004).

방사무늬 김(*Pyropia yezoensis*)은 홍조류에 속하는 해조류로서 한국, 중국, 일본에서 예로부터 섭취해온 식품재료 중 하나이다. 해조류의 탄수화물은 일반 야채류에 함유된 섬유소와는 달리 장의 활동을 원활하게 하고 중금속 배출 및 콜레스테롤의 혈관 내의 침착 방지 효과가 있다는 것이 밝혀졌으며(Choi et al., 2000), 해조류의 다당류 성분의 항암작용이 보고되고 있다(Nakazawa et al., 1974). 그러나 해조류 다당류의 연구에 비해서 단백질의 연구는 아직 미비한 실정이다. 김을 이용한 관련 연구에는 lipopolysaccharide (LPS)에 의한 항염증 효과(Shin

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0765>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Kor J Fish Aquat Sci 47(6) 765-769, December 2014

Received 2 October 2014; Revised 10 November 2014; Accepted 2 December 2014

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5846 Fax: +82. 51. 629. 5842

E-mail address: namtj@pknu.ac.kr

et al., 2011), 아세트아미노펜(Hwang et al., 2008), 사염화탄소(Guo et al., 2007)에 대한 간 독성 보호효과 등이 보고되어 있지만, 장기적인 알코올의 섭취에 의한 위장관 손상에 관련된 연구는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 김에서 추출한 당단백질(*Pyropia yezoensis* glycoprotein; PYGP)이 장기적인 알코올 섭취로 인한 위 조직 손상에서 알코올 독성과 연관된 MAPK와 apoptosis 신호경로에 어떠한 영향을 미치는지에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

시료 제작

본 연구에 사용한 방사무늬 김(*Pyropia yezoensis*)은 2012년 3월 기장군에서 구입하였다. 방사무늬 김은 수세하여 염분을 제거하고 동결 건조한 후 마쇄하여 분말형태로 제조하였다. 이후 증류수 1 L에 분말 40 g을 넣어 4시간 동안 교반하여 추출하였고 추출액은 원심분리(3,500 rpm, 20 min, 4°C)하여 분리된 상층액에 에탄올을 첨가하여 당을 침전시켰다. 침전된 당은 여과 과정을 통하여 제거하였으며, 여액은 감압 농축하여 동결 건조한 뒤 분말형태로 제조하였다. 제조된 분말을 SDS-PAGE를 이용한 단백질 분리와 염색을 실시한 결과 당단백질임을 선행연구를 통하여 확인하였다(Shin et al., 2011).

실험동물의 사육

실험에 사용된 쥐는 체중 130 ± 10 g의 5주령 Sprague Dawley계 수컷을 샘타코(SAMTAKO Co., LTD, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 사육실은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$, 12시간 명암주기로 일정한 조건을 유지하였다. 7일간의 순치사육기간을 거친 뒤 난괴법에 의하여 20마리의 쥐를 각 군당 5마리씩 대조군, ethanol 군(EtOH), ethanol과 150 mg/kg body weight (B.W.) PYGP를 함께 투여한 군(EtOH+150), ethanol과 300 mg/kg B.W. PYGP를 함께 투여한 군(EtOH+300), 총 4개의 군으로 분류하였다. 쥐는 물과 고형사료를 제한 없이 공급하였으며 4주의 실험기간 동안 대조군과 EtOH군은 김 당단백질 대신 증류수를 경구투여 하였다. 김 당단백질 투여군은 김 당단백질 건조분말을 150, 300 mg/kg B.W. 용량으로 증류수에 용해하여 투여하였다. 에탄올 투여는 매일 시료를 투여한 3시간 후 대조군을 제외한 실험군에 3.7 g/kg B.W.의 용량으로 경구투여하였다. 4주간의 실험 종료 후 실험동물은 에틸 에테르를 이용하여 흡입 마취시킨 뒤 단두하였으며, 적출된 위 조직은 생리식염수에서 혈액을 제거한 뒤 액체 질소로 급속 동결시켜 -70°C 에 보관하여 실험에 사용하였다.

Western Blot Analysis

단백질 발현의 분석은 위 조직을 lysis buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 150 mM NaCl, 1 mM ethylenediamine tetraacetic

acid (EDTA), 1 mM sodium fluoride (NaF), 1% NP-40, 1 mM sodium orthovanadate (Na_3VO_4), 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aprotinin, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ leupeptin, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pepstatin, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 0.25% Na-deoxycholate, 1% NP-40, 1 mM EGTA, 150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5)에 넣어 얼음 위에서 균질화시킨 뒤 원심분리(12,000 rpm, 10 min, 4°C)하였다. 이후 단백질 농도를 동일하게 정량하여 SDS-PAGE에 전기영동한 다음 PVDF membrane (Millipore Co., Billerica, MA, USA)으로 이동시켰다. 이때 표준 분자량은 dual color marker (Bio-rad laboratories, Gladesville, NSW, Australia)를 사용하였다. 전기영동 시킨 membrane은 실온에서 1% bovine serum albumin/Tris-buffered saline-Tween 20 (BSA/TBS-T)로 1시간 30분 동안 blocking 시킨 후 각각의 1차 antibody [anti-ERK (1:1,000), anti-p-ERK (1:1,000), anti-JNK (1:1,000), anti-p-JNK (1:1,000), anti-p38 (1:1,000), anti-p-p38 (1:1,000), BCL-2 (1:1,000), BAD (1:1,000), BAX (1:1,000), cytochrome C (1:1,000), caspase-9 (1:1,000), cleaved caspase-9 (1:1,000), caspase-3 (1:1,000), cleaved caspase-3 (1:1,000), pro-PARP (1:1,000), cleaved PARP (1:1,000); Santa Cruz Biotechnology Inc, Dallas, TX, USA]를 희석하여 4°C 에서 16시간 반응시키고 2차 antibody (peroxidase-conjugated goat, mouse, rabbit antibody; GE Healthcare Bio-Sciences, Piscataway, NJ, USA)를 1:10,000 비율로 희석하여 반응시킨 후 Super Signal West Pico Stable Peroxide Solution과 Super Signal West Pico Luminol/Enhancer solution (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA)을 사용하여 KODAK X-ray film에 감광시켜 현상하여 시각화하였다. 이후 각 단백질에 대한 western blot 음영을 densitometer 프로그램을 이용하여 정량분석을 실시하였다.

통계 처리

모든 실험의 분석 결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차 ($\text{mean} \pm \text{S.D.}$)로 나타내었으며 각 실험군 간의 유의성은 SPSS 프로그램(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 나타내었다. 반복 측정에 의한 ANOVA Test로 검증한 후, Duncan's multiple range test를 통하여 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 비교하였다.

결과 및 고찰

김 당단백질이 MAPK 신호경로에 미치는 영향

에탄올로 인한 위 조직의 손상은 다양한 신호전달을 통해 일어나게 되지만 그 중 MAPK 신호전달 경로가 중요한 역할을 담당한다(Gukovskaya et al., 2002). MAPK 경로는 산화적 스트레스와 염증반응에서 활성화하여 세포의 사멸유도와 염증반응을 일으킨다고 알려져 있다(Robinson and Cobb, 1997). 세가

지 단백질 중 ERK는 세포의 성장과 분열에 연관을 가지지만 동시에 염증반응에서 전사인자인 NF- κ B 또는 AP-1 (activator protein-1)의 활성화에 관여하여 전염증 물질의 발현과 산화적 스트레스에 관여하게 된다(Jonsson and Palmblad, 2001). 또한 JNK와 p38단백질은 활성화된 상태에서 apoptosis를 유발하는 신호전달이 발생하게 되며 염증반응에서 활성화되어 세포의 형태적 증대와 사이토카인 전사에 영향을 미치게 된다(Xia et al., 1995; Chen et al., 1996; Verheij et al., 1996).

본 연구에서는 김 당단백질과 에탄올이 MAPK 신호경로에 미치는 영향을 알아보기 위해 western blot을 통하여 단백질의 발현과 인산화를 확인하였다. 그 결과 ERK, JNK, p38단백질의 발현은 4개의 군에서 동일한 수준으로 발현하는 것이 확인되었지만 에탄올을 처리군에서는 각 단백질의 인산화가 대조군에 비해 JNK는 91%, ERK는 104% 그리고 p38은 70% 증가하는 것이 관찰되었고 이러한 인산화는 김 당단백질을 급이한 EtOH+150, EtOH+300군에서는 농도 유의적으로 감소하는 경향이 나타났다. 이는 에탄올로 인한 MAPK의 활성화가 김 당단백질로 인하여 저해되었음을 나타낸다(Fig. 1).

김 당단백질이 Bcl-2 family에 미치는 영향

Bcl-2 family는 apoptosis의 조절자 역할을 하는 단백질 family로서 미토콘드리아의 외막에 주로 존재하면서 cytochrome

c의 방출을 조절하여 apoptosis 조절자 역할을 수행하게 된다(Nagata, 1977; Chiarugi et al., 1994). 특히 Bcl-2는 apoptosis 신호에 의한 자극이 없을 경우 BH3 subfamily인 bid와 결합된 상태를 유지하고 있지만 apoptosis 신호가 들어올 경우 Bad가 Bcl-2에 결합하게 되고 Bcl-2로부터 떨어져 나온 Bid는 Bak, Bax에 결합하여 구조적인 변화를 유도하게 되며 미토콘드리아 외막에 작용하여 미토콘드리아 내부 물질을 외부로 유출시킨다. 이때 유출되는 cytochrome C, Apaf-1등은 apoptosis를 촉진시키는 물질들로 최종적으로 apoptosis가 유발된다. Bcl-2 family에는 다양한 단백질이 존재하는데 apoptosis를 촉진하는 Bax, Bac, Bad 등과 apoptosis를 억제하는 Bcl-2, Bcl-X, Bcl-w 등이 존재한다(Lu et al., 1996; Reed, 1994).

본 연구에서는 에탄올로 인한 apoptosis 과정 중에 apoptosis를 촉진하는 Bad와 Bax 단백질의 발현과 cytochrome c의 수준이 37% 증가하였고 apoptosis를 억제하는 Bcl-2의 발현은 72% 감소하였다. 그러나 김 당단백질을 동시에 투여한 군에서는 Bad, Bax, cytochrome c의 수준이 농도 유의적으로 감소하여 EtOH+300군에서는 대조군 수준으로 회복하였으며 Bcl-2의 발현은 농도 유의적으로 증가하여 EtOH+300군에서 대조군에 비해 60% 증가하였다. 이러한 결과로 미루어보아 김 당단백질은 에탄올로 인한 세포의 apoptosis 반응에서 Bcl-2 family중 Bad, Bax, cytochrome c, Bcl-2의 발현에 관여함으로써 apoptosis를 억제시키는 것으로 생각된다(Fig. 2).

김 당단백질이 caspase와 PARP에 미치는 영향

Apoptosis는 세포의 생존에 필수적인 현상으로서 apoptosis

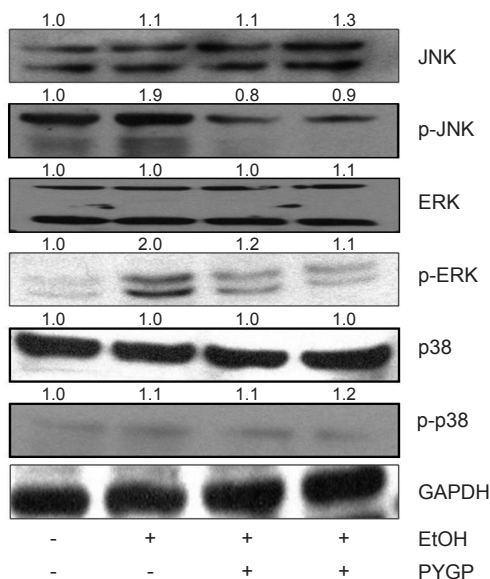


Fig. 1. Effect of *Pyropia yezoensis* glycoprotein (PYGP) in MAPK pathway regulators expression in rats. Animals were treated as materials and methods and collected stomach tissues. Protein of tissue was extracted with lysis buffer and analyzed protein expression by Western blot analysis. GAPDH was the loading control. Each lane represent sample from an individual rat.

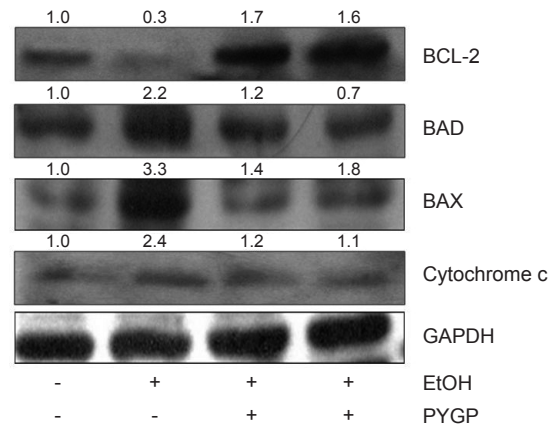


Fig. 2. Effect of *Pyropia yezoensis* glycoprotein (PYGP) on Bcl-2 family protein expression in rats. Animals were treated as materials and methods and collected stomach tissues. Protein of tissue was extracted with lysis buffer and analyzed protein expression by western blot analysis. GAPDH was the loading control. Each lane represent sample from an individual rat.

가 일어날 경우 세포는 예정된 경로를 통하여 신호를 전달하고 사멸되어 분해된다(Kamesaki, 1998; Pritchard and Butler, 1988). 이러한 apoptosis는 괴사와는 다르게 병적인 상황과 생리적 상황에서 세포의 수 조절에 영향을 미치게 된다. 에탄올은 이러한 apoptosis를 유발하는 물질로서 특히 apoptosis를 유발하는 신호경로 중 caspase-3, -8, -9 단백질의 활성화를 통하여 유발되는 것으로 알려져 있다. 이들 단백질은 직접적으로 apoptosis와 연관되어 있으며 각 단백질은 procaspase라는 불활성 전구물질형태에서 cleaved 형태로 전환되며, 활성화 되는데 활성화된 caspase는 DNA의 단편화와 death receptor의 활성화를 유도하게 된다(Kaufmann and Earnshaw, 2000). 특히 caspase-3은 caspase의 최하위 단계로서 apoptosis에서 핵심적인 역할을 하고 있으며 활성화될 경우 PARP (poly ADP ribose polymerase)와 같은 단백질의 분해를 통하여 신호를 전달하게 되어 최종적으로 apoptosis를 유발하게 된다(Kothakota et al., 1997; Soldani and Scovassi, 2002). 이에 EtOH와 김 당단백질이 caspase 신호경로에 미치는 영향을 분석해 본 결과, 에탄올은 쥐 위 조직의 caspase-3, -9, PARP 단백질들이 대조군에 비하여 불활성 전구물질형태에서 cleaved 형태로 전환된 활성화된 상태가 caspase-9는 179%, caspase-3은 55% 그리고 PARP는 132% 증가한 것이 확인되었고, 이에 비하여 김 당단백질을 경구투여한 EtOH+150, EtOH+300군에서는 이러한 활성화된 상태가 대조군 수준으로 감소하는 결과가 관찰되었다. 이는 김 당단백질이 위 조직중의 caspase 신호경로의 활성화를 억제하여 에탄올로 유발되는 세포의 사멸로부터 보호하는 효과를 가지는 것을 나타낸다(Figs. 3, 4).

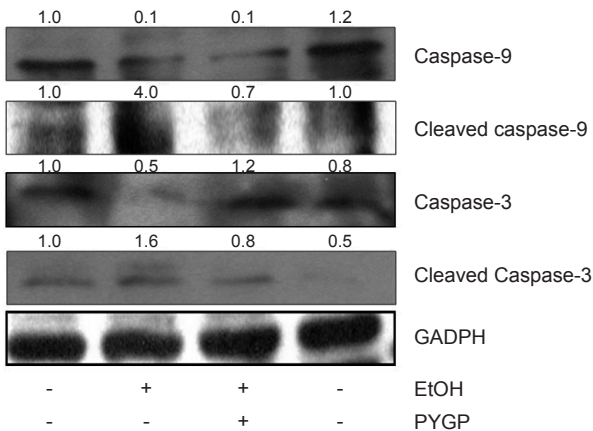


Fig. 3. Effect of *Pyropia yezoensis* glycoprotein (PYGP) in caspases regulators expression in rats. Animals were treated as materials and methods and collected stomach tissues. Protein of tissue was extracted with lysis buffer and analyzed protein expression by Western blot analysis. GADPH was the loading control. Each lane represent sample from an individual rat.

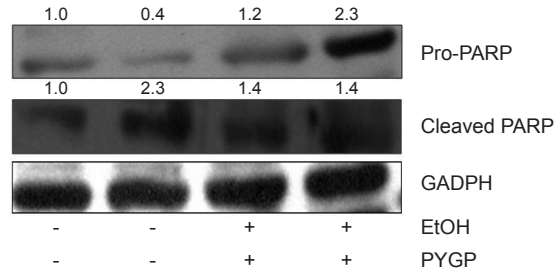


Fig. 4. Effect of PYGP in *Pyropia yezoensis* glycoprotein (PARP) and Cleaved PARP regulators expression in rats. Animals were treated as materials and methods and collected stomach tissues. Protein of tissues was extracted with lysis buffer and analyzed protein expression by Western blot analysis. GADPH was the loading control. Each lane represent sample from an individual rat.

이상으로 확인된 결과를 종합해 보았을 때, 장기적인 에탄올의 투여는 위 조직에서 MAPK, apoptosis 신호경로를 통하여 조직에 독성을 일으키는 것으로 나타났다. 동시에 장기적인 에탄올 투여와 김 당단백질의 투여를 병행하였을 때 김 당단백질은 위 조직의 MAPK의 ERK, JNK, p38의 인산화를 저해하여 대조군 수준으로 낮추어 주었고 apoptosis의 조절 단백질인 Bcl-2 family 중의 Bad, Bax, cytochrome c와 Bcl-2의 발현을 조절함으로써 최종적으로 caspase-3, -9의 활성을 저해하는 것을 확인하였다. 따라서 에탄올의 장기적인 섭취로 인한 위 조직의 손상 시 김 당단백질이 위 조직 기능 개선에 도움이 될 수 있을 것으로 여겨진다.

사 사

본 논문은 해양수산부의 수산실용화기술개발사업(김을 이용한 기능성 소재개발, 2012300734)에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

References

Chen YR, Wang X, Templeton D, Davis RJ and Tan TH. 1996. The role of c-Jun N-terminal kinase (JNK) in apoptosis induced by ultraviolet C and gamma radiation. Duration of JNK activation may determine cell death and proliferation. J Biol Chem 271, 31929-36.

Chiarugi V, L Magnelli and G Basi. 1994. Apoptosis and the cell cycle. Cell Mol Biol Res 40, 603-12

Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Kim CM and Koo JG. 2000. Effects of sea tangle (*Laminaria japonica*) extract and fucoidan components on lipid metabolism of stressed mouse. J Korean Fish Soc 33, 124-128

Gukovskaya AS, Mouria M, Gukovsky I, Reyes CN, Kasho VN, Faller LD and Pandol SJ. 2002. Ethanol metabolism

- and transcription factor activation in pancreatic acinal cells in rats. *Gastroenterology* 122, 106-118.
- Guo T, Xu H, Zhang L, Zhang J, Guo Y, Gu J and He P. 2007. *In vivo* protective effect of *Porphyra yezoensis* polysaccharide against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice. *Regul Toxicol Pharmacol* 49, 101-106. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.11.009>.
- Hwang HJ, Kwon MJ, Kim IH and Nam TJ. 2008. Chemoprotective effects of a protein from the red algae *Porphyra yezoensis* on acetaminophen-induced liver injury in rats. *Phytother Res* 22, 1149-1153. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.2368>.
- Jonsson AS and Palmblad JE. 2001. Effects of ethanol on NF-kappaB activation, production of myeloid growth factors, and adhesive events in human endothelial cells. *J Infect Dis* 184, 761-769.
- Joza N., Kroemer G. and penninger JM. 2002. Genetic analysis of the mammalian cell death machinery. *Trends Genet* 18, 142-149.
- Kamesaki H. 1998. Mechanism involved in chemotherapy-induced apoptosis and their implications in cancer chemotherapy. *Int J Hematol* 68, 29-43.
- Kaufmann SH and Earnshaw WC. 2000. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Exp Cell Res* 256, 42-49.
- Kim YS, Jhon DY and Lee KY. 2004. Involvement of ROS and JNK1 in selenite-induced apoptosis in Chang liver cells. *Exp Mol Med* 36, 157-164.
- Kothakota S, Azuma T, Reinhard C, Klippel A, Tang J, Chu K, McGarry TJ, Kirschner MW, Kothe K, Kwiatkowski DJ and Williams LT. 1997. Caspase-3-generated fragment of gelsolin: Effector of morphological change in apoptosis. *Science* 278, 294-298.
- Lee JS, Oh TY, Kim YK, Baik JH, So S, Hahm KB and Surh YJ. 2005. Protective effects of green tea polyphenol extracts against ethanol-induced gastric mucosal damages in rats: Stress-responsive transcription factors and MAP kinases as potential targets. *Mutation Res* 579, 214-224.
- Lu QL, Abel P, Foster CS and Lalani EN. 1996. Bcl-2: role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 27, 102-110.
- Nagata S. 1977. Apoptosis by death factor. *Cell* 88, 355-65.
- Nakazawa Y, Kuroda H, Abe F, Nishino T, Otsuki M and Umezaki I. 1974. Antitumor effect of water extracts from marine algae. *Chemotherapy* 22, 1435-1440.
- Pritchard DJ and Butler WH. 1988. The lectin binding characteristics of aflatoxin B, induced lesions in the rat liver. *J Pathol* 154, 269-276.
- Reed JC. 1994. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 124, 1-6.
- Robert A, J.E. Nezamis, C. Lancaster and A.J. Hanchar. 1979. Cytoprotection by prostaglandins in rats; prevention of gastric necrosis produced by alcohol. *Gastroenterology* 77, 433-443.
- Robinson MJ and Cobb MH. 1997. Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr Opin Cell Biol* 9, 180-186
- Shin ES, Hwang HJ, Kim IH and Nam TJ. 2011. A glycoprotein from *Porphyra yezoensis* produces anti-inflammatory effects in liposaccharide-stimulated macrophages via the TLR4 signaling pathway. *Int J Mol Cell Med* 28, 809-815. <http://dx.doi.org/10.3892/ijmm.2011.729>.
- Soldani C and Scovassi AI. 2002. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 cleavage during apoptosis: an update. *Apoptosis* 7, 321-328.
- Szabo S, Trier JS, Brown A and Schnoor J. 1985. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology* 88, 228-236.
- Tulassay Z. and Herszenyi L. 2010. Gastric mucosal defense and cytoprotection. *Best pract Res Clin Gastroenterol* 24, 99-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2010.02.006>.
- Verheij M, Bose R, Lin XH, Yao B, Jarvis WD, Grant S, Birrer MJ, Szabo E, Zon LI, Kyriakis JM, Haimovitz-Friedman A, Fuks Z and Kolesnick RN. 1996. Requirement for ceramide-initiated SAPK/JNK signaling in stress-induced apoptosis. *Nature* 380, 75-79.
- Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, Davis RJ and Greenberg ME. 1995. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science* 270, 1326-1331.
- Yang R, Liu A, Ma X, Li L, Su D and Liu J. 2008. Sodium tanshinone IIA sulfonate protects cardiomyocytes against oxidative stress-mediated apoptosis through inhibiting JNK activation. *J Cardiovasc Pharmacol* 51, 396-401. <http://dx.doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181671439>