

적복령 추출물의 심근염 유발 엔테로바이러스 증식 억제 효과

한재영¹ · 김진희^{2*} · 임병관^{1*}

¹중원대학교 의생명과학과, ²대구한의대학교 한방산업대학

The Effect of *Poria cocos* Extract to Inhibit Enterovirus Replication

Jae-Young Han¹, Jin Hee Kim^{2*} and Byung-Kwan Lim^{1*}

¹Department of Biomedical Science, Jungwon University, Goesan-gun, Chungbuk, 367-805, Korea

²College of Herbal Bio-industry, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

Abstract – Enterovirus is a common cause of several severe diseases such as myocarditis, hand-foot-mouth disease, and meningitis in children and adult. There are many try to develop new antiviral drug for direct treatment in virus infection. However, synthetic chemical antiviral drug is not working. To overcome this limitation, we examined plant extracts. The antiviral effect of plant extracts was screened by HeLa cell survival assay in coxsackievirus B3 (CVB3) infection. We observed a strong antiviral effect of *Poria cocos* extract in a dose-dependent manner (1 mg/ml~0.01 mg/ml). *P. cocos* extract (1 mg/ml) treatment was dramatically decreased virus protease 2A induced eIF4G-I cleavage and virus capsid protein VP1 production. CVB3 positive and negative strand RNA amplification were significantly reduced in *P. cocos* extract treatment. *P. cocos* extract completely blocked early time activation of ERK and AKT activity in CVB3 infection. Taken together these data indicate that the treatment of *P. cocos* extract strongly inhibit CVB3 replication. *Poria cocos* extract may possible to developed as a therapeutic agent for enterovirus.

Key words – Enterovirus, Coxsackievirus B3; Myocarditis; Plant extract, Replication

엔테로바이러스는 피코르나바이러스 과에 속하는 단일 양성가닥 RNA 바이러스로 7.4 kb의 매우 작은 유전자를 가지고 있는 장내바이러스의 일종으로 심근염, 수족구, 철허염과 같은 다양한 질병을 일으킨다.^{1,2)} 특히 증식이 빠르고 발열, 기침과 같은 단순 감기 증상으로 감염 증상이 나타나며 감염 기간도 비교적 짧은 2주정도로 초기 감염에 대한 대처가 매우 중요한 것으로 보고되고 있다. 바이러스에 대한 감수성에 따라 급격한 바이러스의 증식이 나타날 수도 있으며 콕사키바이러스 B3는 급성 심근염과 같은 급성염증 질환을 일으키고³⁻⁵⁾ 최근에는 엔테로바이러스 71이 어린이의 손발과 입에 수포가 유발되는 수족구의 원인 임이 밝혀져 그 치료와 증식 억제에 많은 연구가 진행되고 있다.⁶⁻⁸⁾ 이미 잘 알려져 있는 뇌염을 일으키는 폴리오바이러스와 유사한 유전자 구조와 생활사를 가지고 있어 동일한 방법의 백신 개발 연구가 진행되었으나 아직까지 효과적인 백신은 개발되지 않았고 제한적인 치료만이 이루어지고 있는 실정으로

현재로서는 감염 예방이 가장 좋은 방법으로 알려져 있다.⁹⁾

엔테로바이러스는 외부의 껍질이 없는 막단백질 만을 가지고 있으며 숙주세포의 면역반응에 대한 저항을 작게 받는다. 숙주 세포표면의 수용체에 결합하여 세포 내로 진입 후 lysosome과 결합하여 강한 산성상태에서 막단백질을 파괴하고 바이러스 유전자를 세포질로 꺼내 이를 주형으로 바이러스의 단백질을 합성하게 된다. 먼저 하나의 거대한 복합단백질을 만들고 이후 바이러스 자체의 protease 효소를 사용하여 각각의 막단백질과 활성을 갖는 효소 단백질로 분리시켜 만들게 된다. 이후 이러한 바이러스의 효소를 사용하여 바이러스의 유전자를 복제하고 만들어진 막단백질과의 조립 과정을 통해 바이러스를 생산하게 된다. 증식 된 바이러스는 성숙 과정을 통해 활성을 갖게 되고 이후 세포를 죽이고 세포 밖으로 나와 주변 세포로 이차 감염을 하게 된다.^{10,11)} 이러한 바이러스의 생활사의 모든 과정이 바이러스 증식 억제를 위한 항바이러스 치료제의 모든 표적이 될 수 있으며 특히 엔테로바이러스와 같은 RNA 유전자를 가지고 있는 면역에 대한 반응이 약해 백신 개발에 어려움이 있는 경우 더욱 다양하게 활용될 수 있다.

*교신저자(E-mail): bklim@jwu.ac.kr, jinheekim@dhu.ac.kr
(Tel): +82-43-830-8605

우리는 이전의 연구에서 다양한 천연물의 콕사키바이러스에 대한 항바이러스 효과를 실험하였으며 이 중 몇몇의 뛰어난 효과를 나타내는 물질을 확인하였다.¹²⁻¹⁴⁾ 적복령(*Poria cocos*)은 이중 매우 강력한 바이러스 증식억제 효과를 나타낸 물질로 소나무 뿌리에 기생하는 균체로서 혹처럼 크게 자라며 약으로 쓰기 위해 재배도 한다. 주로 심경을 다스리고 부인병증에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 다양한 장기의 염증 억제 효과가 검증된 약제이다.^{15,16)} 본 연구에서는 이러한 적복령 추출물의 대표적인 엔테로바이러스로 심근염을 일으키는 콕사키바이러스 B3에 대한 증식 억제 효과와 엔테로바이러스 증식과 관련된 세포 신호 조절을 확인하였다. 이를 통하여 엔테로바이러스 천연물 치료제 개발의 가능성을 규명하고 그 기반을 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

Virus and Cell lines – 콕사키바이러스 역가는 이전의 논문에서 묘사했던 것과 같이 HeLa cell에서 plaque forming unit(PFU) assay를 통해 결정하여 실험에 사용하였다.¹²⁾ 먼저 바이러스 감염 세포 상등액의 희석액을 준비하고 6-well plate에 배양된 HeLa 세포에 30분간 감염시킨 후 3% Difco agar/DMEM을 3 mm로 덮고 37°C CO₂ 배양기에서 이틀간 배양하여 바이러스 감염에 의한 세포사멸을 확인하고 plaque 숫자를 세어 PFU assay로 바이러스 역가를 측정하였다. HeLa cell은 10% fetal bovine serum이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle medium(DMEM)에서 배양하였다.¹⁷⁾

적복령(*Poria cocos*) 추출 – 적복령 추출물은 건조된 200 g 적복령을 분쇄한 후 95% 에탄올로 2주간 추출한 다음 감압 농축하여 에탄올 추출물 2.47 g을 획득하여 수율 1.2%로 확보하였으며 사용 용도에 따라 DMSO에 녹여 100 mg/ml의 고농도 시약을 제조하고 세포배양 액체 배지에 희석하여 실험에 사용하였다.¹⁶⁾ 적복령 추출물은 Ergosterol, histidine, caprylic acid, dodecanoic acid, lauric acid, palmitic acid, undecanoic acid 등의 화학물질이 주성분을 이루고 있으며 주로 항염증과 관련된 작용을 하는 물질을 다량함유하고 있다. 대구한의대학교 김진희 교수가 추출에 사용할 적복령을 감별하였다.

추출물의 바이러스 증식억제 실험 – Cell survival assay를 통해 다양한 천연 화합물의 항바이러스 활성을 실험하여 콕사키바이러스 증식 억제 물질을 선별하였다.¹⁸⁾ 본 실험방법은 이전의 논문에서 소개되었으며 다음과 같다. 먼저 HeLa cell을 96well-plate에 5×10⁴ 숫자로 배양하고 10⁴ PFU/ml의 콕사키바이러스를 30분간 감염시키고 5% FBS DMEM에 1 mg/ml부터 1 ng/ml까지 1/10으로 순차적으로 희석한 천연 화합물을 처리하였다. 18시간 감염 후, 세포 증식 검출 시약인 Cell Counting Kit 8(CCK-8) 8 μl를 넣고 2시간동안

더 배양한다. 세포의 생존에 따라 변화되는 세포배양액의 변화를 microplate reader(Molecular device, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포의 생존을 확인 천연물의 항바이러스 효능을 검증 하였다.

Western Blot Analysis – 세포의 단백질은 RIPA buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1% SDS, 1% NP40, 150 mM NaCl, 0.5% sodium deoxy-cholate)로 분리하였다. 전체 세포 추출물의 aliquot을 12% SDS-PAGE gel에 loading하였다. 전기영동을 한 후, 단백질을 Hybond-ECL nitrocellulose membrane으로 transfer하였다. membrane은 5% non-fat dry milk solution으로 block하고 anti-enterovirus VP1(1:1000, mouse monoclonal antibody)과 GAPDH antibodies(1:1000, rabbit polyclonal antibodies; Cell signaling, USA)로 probe 하였다.

바이러스 유전자 검출 – RNA 바이러스인 CVB4의 유전자 증폭을 검증하기 위해 TRIzol reagent(Invitrogen, USA)로 세포를 분리하여 RNA를 추출하고 전체 추출물의 aliquot 중 2 μl를 주형으로 Maxime Reverse-transcription(RT) kit (Intron Biotech, Inc. KOR)을 사용하여 RT를 수행한다. 이때 바이러스의 positive 가닥 증폭을 위해 VP1-antisense primer (5'-CACCGGATGGCCAATCCA-3')로 먼저 RT 반응을 수행하여 cDNA를 생산하고 생산된 cDNA를 주형으로 VP1-AS와 VP1-sense primer(5'-GCGAAGAGTCTATTGAGCTA-3')를 사용하여 Polymerase Chain Reaction(PCR)을 수행하고 1.5% agarose gel에 전기영동 하여 확인한다.

통계처리 – 모든 결과는 mean±SEM으로 나타났다. Control과 바이러스 감염 그룹 간의 결과는 Mann-Whitney nonparametric t-test(GraphPad Prism 4.0 for Windows; GraphPad Software, La Jolla, USA)를 사용하여 측정한다. P<0.05인 결과가 통계적으로 유의하다.

결과 및 고찰

바이러스 증식억제 식물 추출물 선정 – 엔테로바이러스 대표바이러스인 CVB3에 대한 항바이러스 효과를 HeLa cell의 생존을 분석을 통해 검증하였다. 식물 추출물들은 다양한 약용식물들에서 에탄올 추출법을 사용하여 동결 건조를 통해 획득하여 실험에 사용하였다. CVB3를 세포에 감염시키고 식물 추출물들을 1 mg/ml부터 희석하여 10 ng/ml까지 첨가하여 효능을 확인하였다. HeLa cell의 생존율은 이전의 연구에서 엔테로바이러스 증식 억제 효능을 검증하여 본지에 발표했던 오리방풀(*Isodon excisus*) 추출물에서 얻은 ORI¹³⁾를 positive control로 사용하여 적복령(*Poria cocos*) 추출물의 처리에 의해 1 mg/ml 농도에서 90% 이상 증가하였으며 처리 농도에 의존적으로 항바이러스 효과를 나타냈다(Fig. 1). 그러나 0.1 mg/ml 이하로 농도가 낮아 짐에 따

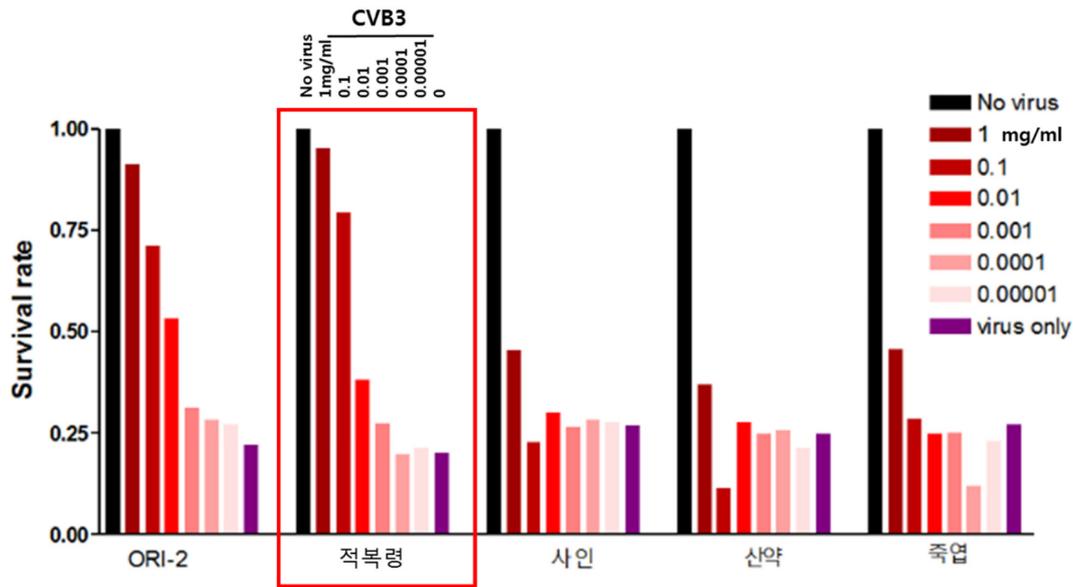


Fig. 1. Screening for anti-enterovirus plant extract. (A) Anti-enterovirus activity of plant extract was screened using in-vitro HeLa cell survival assay following coxsackievirus B3 infection. 1 mg/ml and 0.1 mg/ml concentration of *P. cocos* extract significantly increase virus infected cell survival. ORI-2 is a positive control.

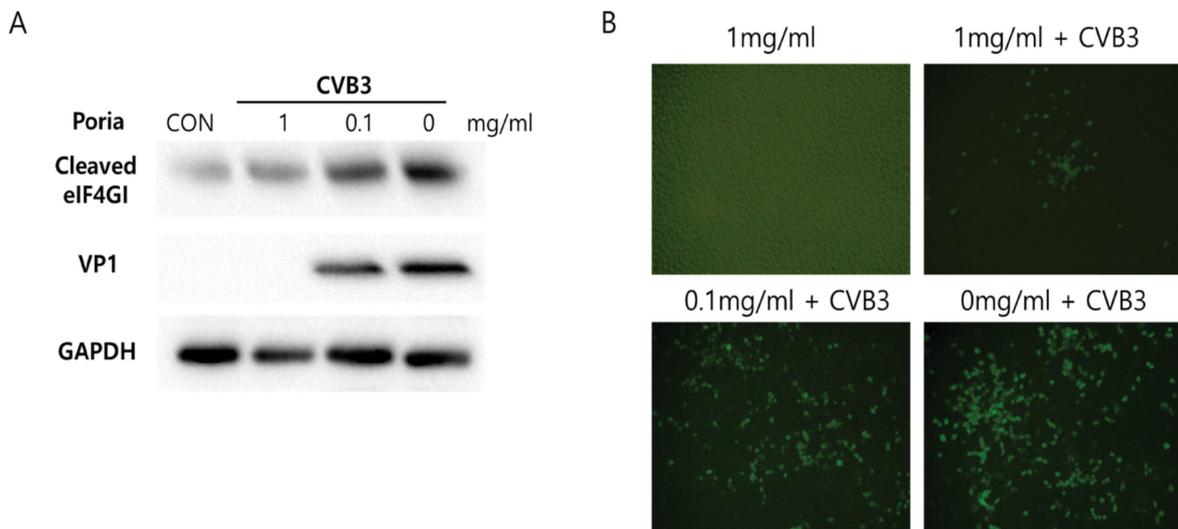


Fig. 2. *Poria cocos* extract inhibit CVB3 replication in HeLa cells. (A) *P. cocos* was significantly inhibited CVB3 replication. Viral capsid protein VP1 and cleaved eIF4GI were not detected in high concentration *P. cocos* extract treatment. (B) Live CVB3 replication was observed by CVB3-GFP infection. Virus replication correlated with GFP expression. 1 mg/ml of *P. cocos* extract was significantly reduced GFP expressed cell number.

라 세포의 생존이 급격이 감소하였다.

CVB3 바이러스 단백질 생산 억제 - HeLa cell을 12 well-plate에 단층으로 배양하고 10^4 PFU/ml CVB3를 30분간 감염 시킨 후 바이러스를 씻어내고 1 mg/ml, 0.1 mg/ml의 적복령 추출물을 처리하였다. 18시간이 지난 후, 전체 단백질을 추출하여 western blot analysis을 수행하였다. Fig. 2A) 에서와 같이 CVB3의 막단백질 VP1의 농도가 적복령 추출

물의 투여 농도에 따라 1 mg/ml 농도에서 100% 억제되는 것을 관찰하였으며 바이러스가 증식하는 동안 발현하는 단백질 분해효소 protease2A가 절단하는 전사개시 인자 단백질 eIF4GI도 적복령의 처리에 의해 단백질의 절단이 유의하게 감소하여 바이러스 증식의 억제를 확인 하였다. 또한 추가적으로 실제 바이러스 증식을 확인하기 위해 형광 단백질 GFP(Green fluorescent protein)가 삽입된 CVB3-GFP

를 감염하여 세포내의 바이러스 증식을 형광으로 확인했을 때 적복령 추출물 1 mg/ml이 CVB3 증식을 90%이상 억제하는 효과를 확인 하였다(Fig. 2B).

적복령 추출물의 CVB3 유전자 증폭 억제 - 적복령 추출물의 CVB3 증식억제가 바이러스 유전자의 증폭까지 억제할 수 있는지를 확인하기 위하여 배양세포에 CVB3를 16 시간 동안 적복령 추출물과 함께 감염 후 세포의 Total RNA를 추출하고 바이러스의 유전자를 primer로 reverse transcription(RT)을 수행하여 바이러스의 positive와 negative strand RNA의 증폭을 확인하여 실제 바이러스 유전자의 복제 억제 효능을 검증하였다. 엔테로바이러스는 positive strand RNA 바이러스로 바이러스 유전자 복제를 위해서는 negative strand의 생산이 필수적이다. 결과에서 보여주는 것과 같이 적복령 추출물의 처리는 1 mg/ml 농도에서 positive strand 80%, negative strand 100%로 강력하게 CVB3의 유전자 증폭을 억제하였다(Fig. 3). 이 결과를 통해 감염세포에서 바이러스의 유전자 복제와 단백질 생산 저해로 새로운 바이러스의 생성 억제에 매우 효과적으로 작용하고 있음을 알 수 있었다.

적복령 추출물 처리를 통한 세포 활성 신호 억제 - 이전의 연구에서 엔테로바이러스는 세포 감염 후 증식을 위해 세포 신호 물질인 ERK와 AKT의 활성을 조절한다고 보고되었다. 적복령 추출물의 바이러스 증식 억제 효능이 세포 신호 물질의 활성 조절을 통한 세포 생존의 유무를 ERK (pERK)와 AKT(pAKT)의 활성을 통해 검증하였다. 세포 활성 조절 신호 물질 pERK와 pAKT는 바이러스의 증식에도 1 mg/ml 농도의 적복령 추출물 처리 세포에서는 바이러스 감염 중에도 활성화 되지 않고 바이러스가 감염되지 않은 control 세포와 동일하게 정상상태로 유지되고 있었으며 0.1 mg/ml 농도에서는 3배이상 활성을 나타내 이전의 바이러스 증식과 동일한 양상을 나타냈다. 적복령 추출물의 처리는 세포 활성 조절 신호 물질의 억제를 통해 바이러스의 증식을 최소화하여 세포의 생존을 유지함을 확인 할 수 있었다(Fig. 4).

이 연구를 통해 식물 추출물로부터 만든 새로운 천연 항바이러스 물질을 도출 하고자 하였다. 우리나라는 예전부터 다양한 식물을 병의 치료제로 사용하여 왔으며 이러한 식물 약제에 대한 정보와 지식이 잘 정립되어 있다. 하지만 이

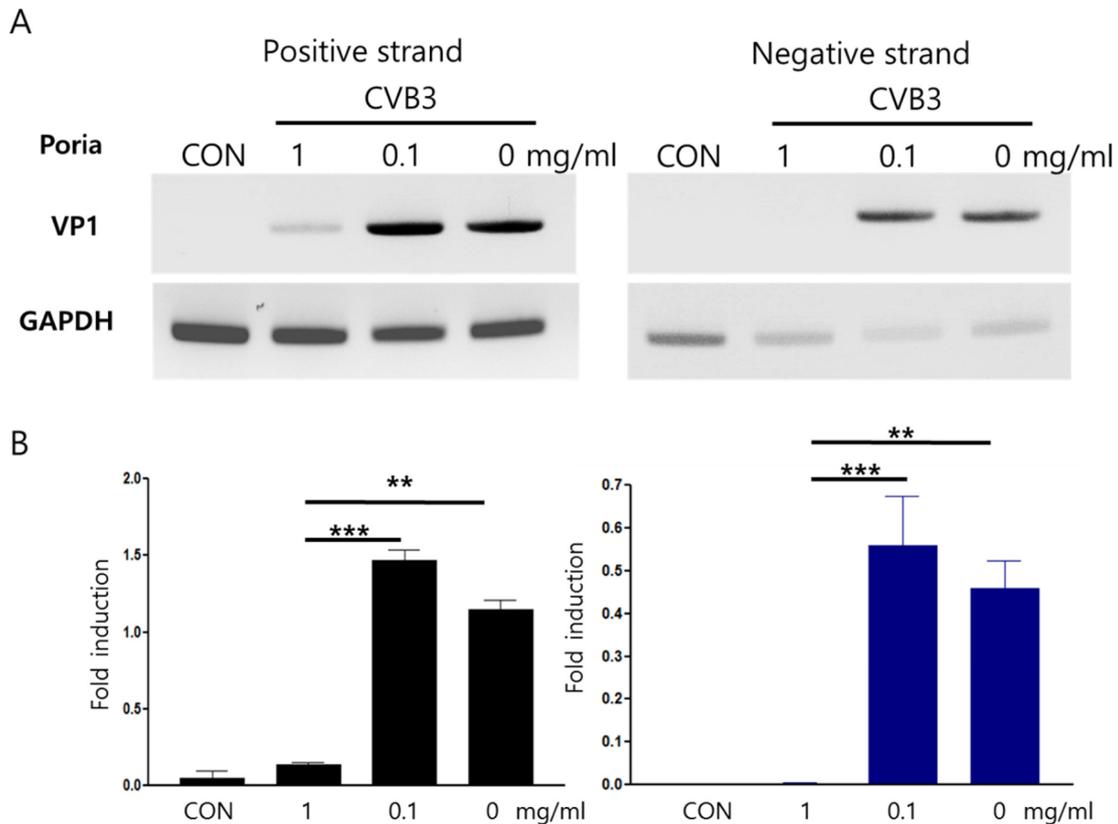


Fig. 3. *P. cocos* extract inhibit CVB3 gene amplification. CVB3 gene amplification was confirmed in CVB3 infected HeLa cells with *P. cocos* extract treatment. CVB3 capsid protein VP1 gene positive and negative strand were amplified by reverse transcription PCR. Both strand of VP1 gene was significantly decreased by extract treatment. Data are presented as the mean plus or minus the standard error of the mean from 3 independent experiments (***, $P < 0.01$; **, $P < 0.01$).

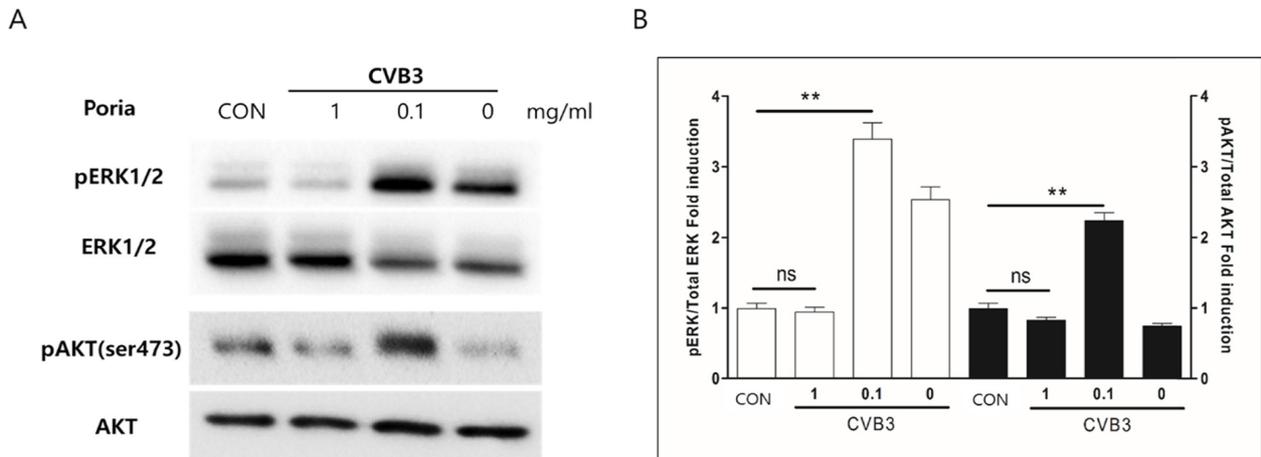


Fig. 4. *P. cocos* extract inhibits cell signaling molecule activity. (A, B) *P. cocos* extract was added to HeLa cells following CVB3 infection. ERK and AKT Ser473 phosphorylation were dramatically inhibited by *P. cocos* extract in a high concentration treatment. These signaling molecule activity may correlate with CVB3 replication in HeLa cells. Data are presented as the mean plus or minus the standard error of the mean from 3 independent experiments (**, $P < 0.01$).

러한 다양한 정보에도 불구하고 식물 추출물 내에 다양한 성분에 대한 분석의 어려움과 적용의 한계로 다양한 질병에 대한 폭넓은 연구는 미비한 실정이다. 특히 식물 추출물은 지금까지 직접적인 항바이러스 치료 약물로서 연구된 사례가 매우 드물며 아직도 많은 천연추출물질들의 효능은 검증되지 않은 실정이다. 최근 장내바이러스 속 바이러스들은 다양한 일반 질병들의 발병 원인이 되고 있으며 특히 아이들에게 다양한 전염병을 유발하는 원인이 되고 있다.^{10,11)} Enterovirus71은 수족구병의 주요 원인이며^{8,19)} 콕사키바이러스 B3(CVB3)는 사람과 동물에서 심근염과 장염을 일으키는 바이러스로 잘 알려져 있으며 드물지만 심한 경우 뇌수막염을 일으켜 사망에 이르게 한 사례도 보고 되고 있다.

우리 실험에서는 다양한 식물추출물들의 CVB3의 증식 억제 효과와 바이러스 세포독성 저하 효능에 대해 실험하였으며 적복령(*Poria cocos*) 추출물의 뛰어난 CVB3 증식 억제 효능을 확인하였다. 적복령 추출물은 CVB3 감염 HeLa cell의 생존을 유지를 실험하기 위해 사용되었으며 추출물의 농도에 의존적으로 CVB3의 증식을 강하게 억제 하였다. 특히 HeLa cell에서 바이러스 막 단백질의 생산이 유의하게 감소되었고 새로운 바이러스의 증식이 현저히 억제 됨이 확인 되었다. 또한 식물 추출물 처리에 의해 바이러스의 유전자 증폭이 현저히 감소되어 바이러스 증식 억제 효과가 유전자 복제 저해에 의해 유도 됨도 간접적으로 확인할 수 있었다. 그러나 식물 추출물이 가지고 있는 세포에 대한 독성과 물성의 한계는 높은 농도의 적용을 어렵게 하여 향후 추출물의 성분분석을 통한 지표 물질의 분리와 정제가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구팀은 몇몇 후보 화합물을 확보하였고, 그들의 항바이러스 활성을 평가하였다. 또한, 본 연구에서 엔테로바

이러스와 같은 장내바이러스인 CVB3에 대한 강력한 바이러스 증식 억제 효과를 보여주었다.

결론

본 연구에서는 적복령 추출물의 대표적인 엔테로바이러스로 심근염을 일으키는 CVB3에 대한 증식억제 효과와 증식과 관련된 세포신호 조절을 확인하였다. 특히 바이러스 감염 초기 일어나는 바이러스 증식과 관련된 유전자 증폭의 억제는 효과 적인 바이러스 증식 억제 작용이 가능하게 함을 알 수 있었다. 이를 통하여 향후 지표 물질의 분석을 통한 천연물 유래 엔테로바이러스 치료 물질 개발이 가능할 것으로 기대한다.

사사

Byung-Kwan Lim and Jin-Hee Kim contributed as co-corresponding for this study. This study was supported by grants from the National Research Foundation (NRF) of Korea provided by the Korean Government (No.NRF-2014R1A1A1002824) and was partly supported by the Technological Innovation R&D Program (S2361475) funded by the Small and Medium Business Administration (SMBA, Korea).

인용문헌

1. Feldman, A. M. and McNamara, D. (2000) Myocarditis. *N. Engl. J. Med.* **343**: 1388-1398.

2. Lim, B. K., Xiong, D., Dorner A., Youn, T. J., Yung, A., Liu, T. I., Gu, Y., Dalton, N. D., Wright, A. T., Evans, S. M., Chen, J., Peterson, K. L., McCulloch, A. D., Yajima, T. and Knowlton, K. U. (2008) Coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) mediates atrioventricular-node function and connexin 45 localization in the murine heart. *J. Clin. Invest.* **118**: 2758-2770.
3. Knowlton, K. U., Jeon, E. S., Berkley, N., Wessely, R. and Huber, S. (1996) A mutation in the puff region of VP2 attenuates the myocarditic phenotype of an infectious cDNA of the Woodruff variant of coxsackievirus B3. *J. Virol.* **70**: 7811-7818.
4. Knowlton, K. U. and Badorff, C. (1999) The immune system in viral myocarditis: maintaining the balance. *Circ. Res.* **85**: 559-561.
5. Xiong, D., Yajima, T., Lim, B. K., Stenbit, A., Dublin, A., Dalton, N. D., Summers-Torres, D., Molkentin, J. D., Duplain, H., Wessely, R., Chen, J. and Knowlton, K. U. (2007) Inducible cardiac-restricted expression of enteroviral protease 2A is sufficient to induce dilated cardiomyopathy. *Circulation* **115**: 94-102.
6. Chen, Y. C., Yu, C. K., Wang, Y. F., Liu, C. C., Su, I. J. and Lei, H. Y. (2004) A murine oral enterovirus 71 infection model with central nervous system involvement. *J. Gen. Virol.* **85**: 69-77.
7. Chen, Z., Sun, H., Yan, Y., Wang, Y., Zhu, C., Zhou, W., Huang, L., Wang, M., Mize, M., Tian, J. and Ji, W. (2015) Epidemiological profiles of hand, foot, and mouth disease, including meteorological factors, in Suzhou, China. *Arch. Virol.* **160**: 315-321.
8. Wang, S. M. and Liu, C. C. (2014) Update of enterovirus 71 infection: epidemiology, pathogenesis and vaccine. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **12**: 447-456.
9. Chen, T. C., Weng, K. F., Chang, S. C., Lin, J. Y., Huang, P. N. and Shih, S. R. (2008) Development of antiviral agents for enteroviruses. *J. Antimicrob. Chemother.* **62**: 1169-1173.
10. Racaniello, V. R. Chapter 24, *The picornaviridae; The Viruses and Their Replication. Fields. Virology.* (2007).
11. Huber, S. A. and Lodge, P. A. (1986) Coxsackievirus B-3 myocarditis. Identification of different pathogenic mechanisms in DBA/2 and Balb/c mice. *Am. J. Pathol.* **122**: 284-291.
12. Lim, B. K., Choi, J. H., Nam, J. H., Gil, C. O., Shin, J. O., Yun, S. H., Kim, D. K. and Jeon, E. S. (2006) Virus receptor trap neutralizes coxsackievirus in experimental murine viral myocarditis. *Cardiovasc Res.* **71**: 517-526.
13. Lim, B. K. and Kim, J. H. (2014) ORI2 inhibits coxsackievirus replication and myocardial inflammation in experimental murine myocarditis. *Biol. Pharm. Bull.* **37**: 1650-1654.
14. Lim, B. K., Yun, S. H., Ju, E. S., Kim, B. K., Lee, Y. J., Yoo, D. K., Kim, Y. C. and Jeon, E. S. (2015) Soluble coxsackievirus B3 3C protease inhibitor prevents cardiomyopathy in an experimental chronic myocarditis murine model. *Virus. Res.* **199**: 1-8.
15. Lee, S. M., Lee, Y. J., Yoon, J. J., Kang, D. G. and Lee, H. S. (2014) Effect of *Poria cocos* on puromycin aminonucleoside-induced nephrotic syndrome in rats. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* **2014**: 570420.
16. Choi, Y. H. (2015) Induction of apoptosis by an ethanol extract of *Poria cocos* Wolf. in human leukemia U937 cells. *Oncol. Rep.* **34**: 2533-2540.
17. Lim, B. K., Choe, S. C., Shin, J. O., Ho, S. H., Kim, J. M., Yu, S. S., Kim, S. and Jeon, E. S. (2002) Local expression of interleukin-1 receptor antagonist by plasmid DNA improves mortality and decreases myocardial inflammation in experimental coxsackieviral myocarditis. *Circulation* **105**: 1278-1281.
18. Yun, S. H., Lee, W. G., Kim, Y. C., Ju, E. S., Lim, B. K., Choi, J. O., Kim, D. K. and Jeon, E. S. (2012) Antiviral activity of coxsackievirus B3 3C protease inhibitor in experimental murine myocarditis. *J. Infect. Dis.* **205**: 491-497.
19. Pinkert, S., Westermann, D., Wang, X., Klingel, K., Dorner, A., Savvatis, K., Grossl, T., Krohn S., Tschöpe, C., Zeichhardt, H., Kotsch, K., Weitmann, K., Hoffmann, W., Schultheiss, H. P., Spiller, O. B., Poller, W. and Fechner, H. (2009) Prevention of cardiac dysfunction in acute coxsackievirus B3 cardiomyopathy by inducible expression of a soluble coxsackievirus-adenovirus receptor. *Circulation* **120**: 2358-2366.

(2016. 2. 11 접수; 2016. 3. 18 심사; 2016. 5. 13 게재확정)