

인간 혈관 내피세포에서 NF-κB 억제를 통한 엉겅퀴 추출물의 VCAM-1 및 ICAM-1 발현 억제효과

신재영^{1,2} · 조병옥² · 박지현² · 강은서² · 심재석³ · 심동준³ · 장선일^{2,4*}

¹전북대학교 농업생명과학대학 식품공학과, ²전주대학교 건강과학종합연구소,

³임실생약영농조합법인, ⁴전주대학교 의과대학 보건관리학과

Cirsium japonicum var. *Maackii* Extract Suppress VCAM-1 and ICAM-1 Expression in TNF-α-treated Human Vascular Endothelial Cells by Blocking NF-κB Activation

Jae Young Shin^{1,2}, Byoung Ok Cho², Ji Hyeon Park², Eun Seo Kang², Jae Suk Sim³, Dong Jun Sim³, and Seon Il Jang^{2,4*}

¹Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, 567, Baekje-daero, Deokjin-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 54896, Korea

²Institute of Health & Science, Jeonju University, 303, Cheonjam-ro, Wansan-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 55069, Korea

³Research Institute, Imsil Herbal Medicine Association, Imsil 55955, Korea

⁴Department of Health Management, Jeonju University, 303, Cheonjam-ro, Wansan-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 55069, Korea

Abstract – *Cirsium japonicum* var. *maackii* is a traditional Korean wild perennial herb used to treat blood circulation, high blood pressure, inflammation, diabetes, and kidney damage. However, it is not known whether *C. japonicum* var. *maackii* directly improves endothelial dysfunction. In this study, the effect of *C. japonicum* var. *maackii* (CJE) on tumor necrosis factor (TNF)-α-induced vascular inflammation was investigated in vitro using human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). As a result, CJE inhibited the production of VCAM-1, ICAM-1 and ROS increased by TNF-α in HUVECs. In addition, treatment with CJE attenuated IκB phosphorylation and translocation of NF-κB to the nucleus. These results suggest that CJE can suppress TNFα-induced adhesion molecule expression by blocking NF-κB signaling and inhibiting ROS generation. The results of this study show that CJE has the potential to be used to treat and prevent inflammation associated with endothelial cell damage.

Keywords – *Cirsium japonicum* var. *maackii*, Endothelial cell injury, Atherosclerosis, ICAM-1, VCAM-1, NF-κB

죽상동맥경화증은 관상동맥질환, 심부전, 뇌졸중, 허혈성 괴저, 복부 대동맥류 등과 같은 심혈관 질환의 근본 원인이며, 매년 유병률이 증가하고 있는 추세이다.¹⁾ 특히 전 세계 사망자의 31%는 심혈관 질환과 관련되어 있을 만큼 사회적 인 문제로 대두되고 있다.²⁾ 죽상동맥경화증의 발병에서 염증은 주된 원인으로 알려져 있다.³⁾ 초기 죽상동맥경화증의 특징은 혈관내피세포에서 백혈구를 모집하는 것인데, 이때 세포간 접착 분자-1(ICAM-1) 및 혈관 세포 접착 분자-1(VCAM-1)과 같은 접착 분자가 내피세포에 의해 분비되어

면역세포 및 단핵구 모집을 자극한다.⁴⁾ 종양괴사인자(TNF-α)는 강력한 전염증성 사이토카인 중 하나로 내피 세포 사멸 유도 뿐만 아니라 죽상동맥경화 병변의 발달과 진행에도 연관이 있다고 보고 되어있다.^{5,6)} 핵 인자-κB(NF-κB)는 전사인자로서 대부분의 염증과 관련된 유전자발현에 관련되어 있는 것으로 알려져 있으며,⁷⁾ 특히 내피세포에서 TNF-α에 의한 ICAM-1, VCAM-1 발현에는 절대적으로 의존적인 것으로 알려져 있다.⁸⁾

엉겅퀴(*Cirsium japonicum* var. *maackii*)는 국화과의 여러해살이풀이며, 한국 및 중국에서 자생하고 있다.⁹⁾ 엉겅퀴에는 루테올린, 루테올린 5-O-글루쿠사이드, 아피게닌 같은 플라보노이드가 포함되어 있으며 이로인해 항산화, 항염증, 항

*교신저자(E-mail): sonjjang@jj.ac.kr
(Tel): +82-63-220-3124

암, 항고혈압, 간보호 및 이노제 등 다양한 약리효과가 있다고 보고 되어있다.^{10,11,12} 그러나 내피세포 보호에 대한 엉겅퀴의 효과 및 분자 메커니즘은 명확하게 연구되어 있지 않다. 이 문제를 해결하기 위해 본 연구의 목적은 엉겅퀴 추출물이 인간 제대 정맥 내피세포(HUVEC)에서 TNF- α 에 의해 유도된 염증 반응을 억제할 수 있는지를 조사하고, 그 작용 메커니즘을 규명하는 것이었다.

재료 및 방법

시약 – Quanti-MAX™ WST-8 Cell Viability Assay Kit 그리고 WestGlow™ FEMTO ECL Chemiluminescent Substrate (BWF0100) BIOMAX(Guri-si, Gyeonggi-do, Korea)사에서 구입하여 사용하였다. Murine TNF- α (#315-01A) PeproTech (Cranbury, NJ, USA)사에서 구입하였다. Griess 시약은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사에서 구입하여 사용하였다. eNOS, VCAM-1, ICAM-1, p-NF- κ B, NF- κ B, p-I κ B, I κ B, β -actin 항체들과 goat anti-mouse IgG-HRP(sc-2031)항체는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)사에서 구입하여 사용하였다. Radio-immunoprecipitation assay buffer(RIPA buffer), Goat anti-mouse IgG(H+L) Alexa Fluor plus 488(A32723), Carboxy-H2DCFDA(general oxidative stress indicator 그리고 eBioscience™ Flow Cytometry Staining Buffer는 Invitrogen(Carlsbad, CA, USA)사에서 구입하였다. diamidino-2-phenylindole(DAPI)는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA)사에서 구입하였다. Bradford's assay 시약은 Bio-Rad Laboratories(Hercules, CA, USA)사에서 구입하였다. 5X SDS-PAGE loading buffer는 Biosesang(Seongnam-si, Gyeonggi-do, Korea)사에서 구입하였다.

엉겅퀴 추출물의 제조 – 실험에 사용된 엉겅퀴 전초는 임실군 삼계면에서 2022년 4월에 채집하였다. 동정은 국립수목원에서 동정하였으며, 표본(#2022-04-22)은 전주대학교 보건관리학과 표본실에 보관하였다. 채집한 시료는 음건조 후 분쇄하여 사용하였으며 시료 30 kg에 주정(30%)을 20배수로 첨가하여 80 °C에서 4시간 동안 추출하고, 추출액을 여과(55 μ m 백필터) 시킨 후 농축기(원심박막농축기(CEP-20S))로 농축시켰다. 농축액을 90 °C에서 30분 살균한 뒤 분무건조기를 이용하여 분무건조하였다. 건조된 분말의 무게는 5724 g 이었다. 제조된 추출물을 *Cirsium japonicum* var. *maackii* extract(CJE)라고 명명하였다.

세포배양 – 인간 제대 정맥 내피세포(HUVEC)세포 및 Human Large Vessel Endothelial Cell Basal Medium는 Thermo fisher(Waltham, MA, USA)에서 구입하였다. 세포는 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 배양되었다.

세포독성평가 – HUVEC을 96 well plate에 2×10⁵ cells/mL로 세포를 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후

CJE(0~200 μ g/mL) 또는 TNF- α (0~60 ng/mL)를 각각의 well에 주입하였다. 20시간 뒤 Quanti-Max™ 시약을 각각 10 μ L씩 주입한 후 4시간 뒤 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

일산화질소(Nitric oxide; NO)분석 – HUVEC을 48 well plate에 2×10⁵ cells/mL로 세포를 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후 CJE(50, 100 μ g/mL)를 처리한 후, 1시간 뒤 TNF- α (20 ng/mL)를 처리하였다. 20시간 뒤 세포 배양액을 수거 하여 Nitric oxide assay에 사용하였다.

웨스턴블롯 분석 – HUVEC을 48 well plate에 2×10⁵ cells/mL로 세포를 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후 CJE(50, 100 μ g/mL)를 처리한 후, 1시간 뒤 TNF- α (20 ng/mL)를 처리하였다. 그 후 30 분 또는 24 시간 뒤 RIPA buffer를 사용하여 단백질을 추출 후 정량 하였다. 동량의 단백질을 SDS PAGE를 통해 크기 별로 분리 후 PVDF membrane에 전이 시켰다. 그 후 5% 탈지분유에 1 시간 동안 blocking 한 뒤 1차항체를 4 °C에서 밤새 반응 시켰다. 그 후 TBST에 10 분간 3 회 반복 세척 후 실온에서 2차항체를 2 시간동안 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤 WestGlow™ FEMTO Chemiluminescent substrate를 사용하여 단백질 발현을 확인 하였다. 밴드의 밀도는 ImageJ gelanalysis software(National institutes of health, Maryland, USA)를 사용하여 분석하였다.

면역형광염색 – HUVEC을 Cell Culture Slide에 2×10⁵ cells/mL로 세포를 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후 CJE(50, 100 μ g/mL)를 처리한 후, 1시간 뒤 TNF- α (20 ng/mL)를 처리하였다. 30분 후 배양액을 제거 후 4% 포름알데하이드에 고정하였다. 그 후 0.1% Triton X-100에 10분간 배양하였다. 1% BSA에 1시간 동안 blocking 후 1차항체를 4 °C에서 밤새 반응 시켰다. 그 후 슬라이드를 세척한 뒤 2차항체를 실온에서 2시간 동안 배양하였다. 반응이 끝난 뒤 슬라이드를 형광현미경(ZEISS, Oberkochen, Germany)를 사용하여 관찰하였다.

유세포분석 – 세포내 활성산소종(ROS)는 유세포분석을 통해 수행되었다. HUVEC을 6 well plate에 2×10⁵ cells/mL로 세포를 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후 CJE(50, 100 μ g/mL)를 처리한 후, 1시간 뒤 TNF- α (20 ng/mL)를 처리하였다. 24시간 뒤 세포를 수거하여 Flow Cytometry Staining Buffer에 부유한 뒤 Carboxy-H2DCFDA(1 μ M)을 주입하여 30분간 배양하였다. 그 후 세포를 세척한 뒤 유세포분석기(Beckman coulter, Brea, CA, USA)를 사용하여 분석하였다.

통계처리 – 모든 실험값은 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 표시하였고, 통계학적 비교분석은 IBM SPSS statistics 22(IBM, New York, NY, USA)를 이용하였고 각 실험군간의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)로 처리하였으며, 실험군들과의 유의차를 알아보기 위한 다중비교방법

으로 Duncan's multiple range test 검정을 실시하였다. 검정 유의도는 P 값이 <0.05 수준일 때를 기준으로 하였다.

결과 및 고찰

CJE 및 TNF- α 가 HUVEC의 생존율에 미치는 영향 - CJE 및 TNF- α 의 세포독성 여부를 확인하기 위해 세포생존율시험을 진행하였다. 그 결과 CJE는 100 $\mu\text{g/mL}$ 까지 독성이 없는 것을 확인하였다(Fig. 1A). 따라서 이후 실험에서 CJE는 최대 100 $\mu\text{g/mL}$ 까지 사용하였다. 또한 TNF- α 는 60 ng/mL까지 독성이 없는 것을 확인하였다(Fig. 1B).

CJE가 산화질소(NO) 생성에 미치는 영향 - HUVEC에서 CJE가 산화질소 생성에 미치는 영향에 대해 조사하기 위해 nitric oxide 분석을 실시하였다. 그 결과 TNF- α 의 처

리는 NO생산량을 유의하게 감소시켰다. 반면 CJE의 처리는 농도 의존적으로 NO생산량을 증가시키는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 2A). eNOS(endothelial nitric oxide synthase) 효소의 발현은 웨스턴블롯을 통해 분석 되었다. 결과에 의하면 CJE의 처리는 TNF- α 에 의해 감소되었던 eNOS의 발현을 농도 의존적으로 증가시켰다(Fig. 2B). eNOS는 혈관 항상성 유지, 혈관 확장 유지, 혈소판 응집 및 백혈구 부착으로부터 내막 보호, 평활근 증식방지의 기능을 한다.^{13,14} 또한 일반적인 조건에서 혈관내피세포는 eNOS를 통해 혈관보호인자인 NO를 합성하며, NO는 죽종형성과 관련된 부착인자 유전자 발현을 조절한다.¹⁵ 따라서 CJE는 eNOS 발현증가를 통해 혈관내피세포의 혈관 확장 유지, 혈소판 응집과 같은 항상성 유지에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료 된다.

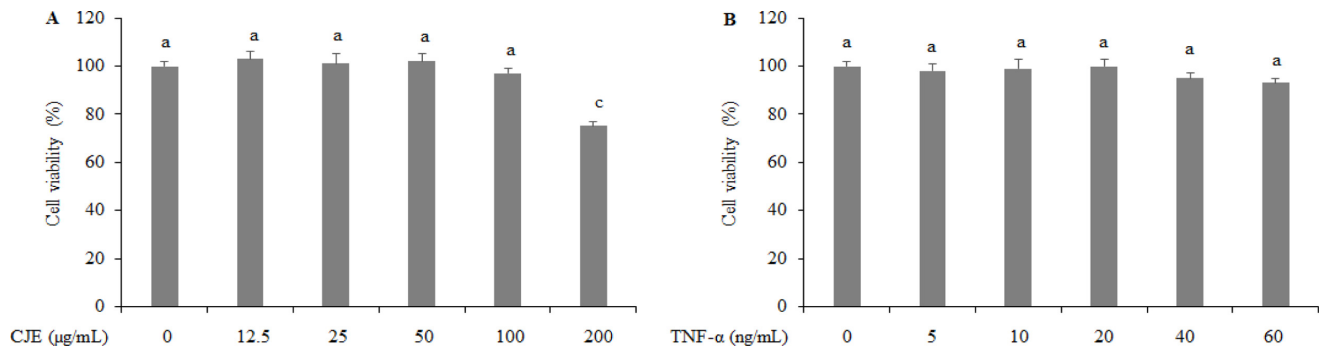


Fig. 1. Effect of CJE and TNF- α on cell viability in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). HUVECs were pre-treated with CJE (A) or TNF- α (B) at indicated concentrations for 24 h. Error bars represent the mean \pm SD (n=4). Means with the same alphabet are not significantly different at p < 0.05.

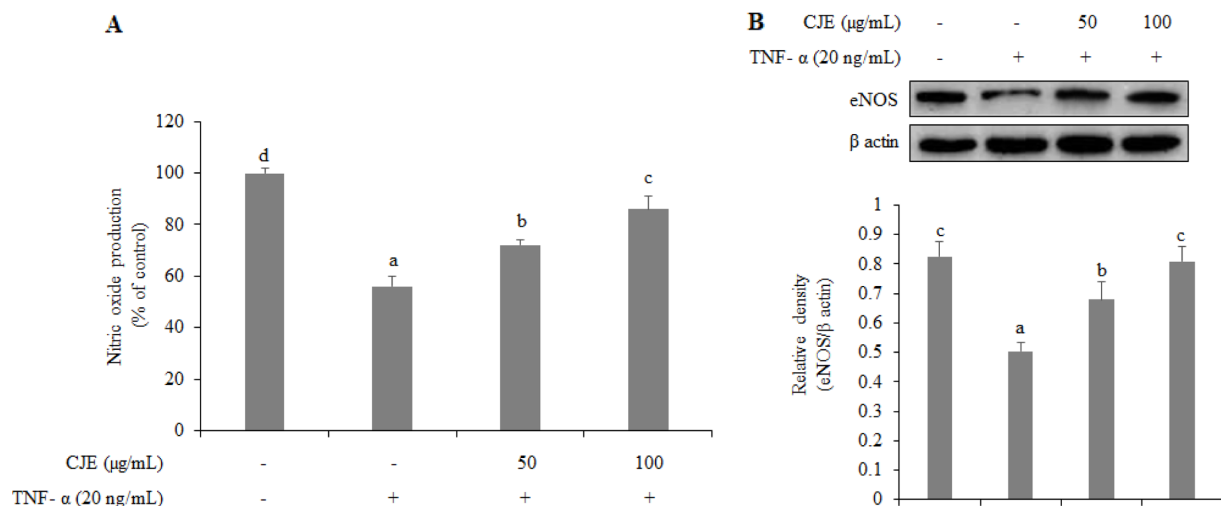


Fig. 2. Effect of CJE on nitric oxide production and protein expression level of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in tumor necrosis factor- α (TNF- α) stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). HUVECs were pre-treated with or without CJE (50 or 100 $\mu\text{g/mL}$) for 1 h prior to incubation with or without TNF- α for 24 h. Nitric oxide production was measured by griess reagent (A). eNOS protein expression level was measured by western blot analysis and analyzed using ImageJ software. Error bars represent the mean \pm SD (n=3). Means with the same alphabet are not significantly different at p < 0.05.

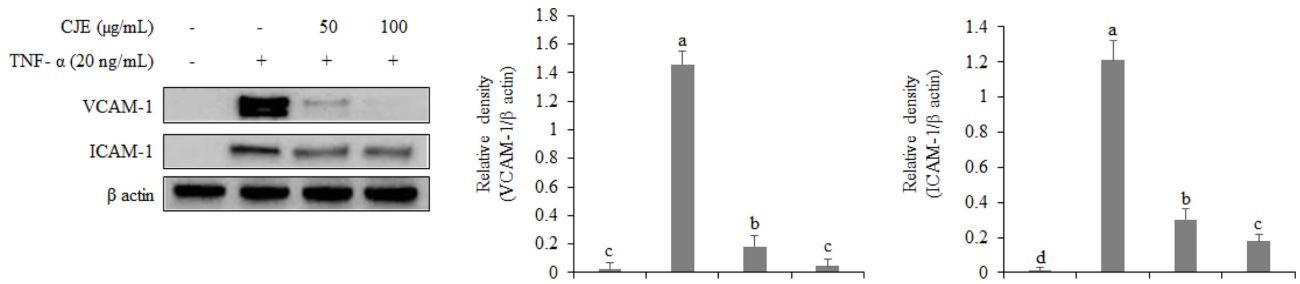


Fig. 3. Effect of CJE on protein expression level of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in tumor necrosis factor-α (TNF-α) stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). HUVECs were pre-treated with or without CJE (50 or 100 μg/mL) for 1 h prior to incubation with or without TNF-α for 24 h. protein expression levels were measured by western blot analysis and analyzed using ImageJ software. Error bars represent the mean ± SD (n=3). Means with the same alphabet are not significantly different at p < 0.05.

CJE가 혈관부착인자에 미치는 영향 - HUVEC에서 CJE가 VCAM-1 및 ICAM-1 과 같은 혈관부착인자 발현에 미치는 영향에 대해 조사하고자 웨스턴블롯을 수행하였다. 그 결과 TNF-α 자극에 의해 VCAM-1 및 ICAM-1의 발현량이 크게 증가하는 것을 확인하였다. 하지만 CJE의 처리는 VCAM-1 및 ICAM-1 단백질 발현량을 모두 농도의존적으로 억제하였다(Fig. 3). ICAM-1, VCAM-1은 백혈구의 혈관내피 접착 및 백혈구의 유주에 관여한다.^{16,17)} 특히 VCAM-1의 경우 죽상동맥경화증의 초기 발달과정에서 지배적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁸⁾ 따라서 CJE는 죽상동맥경화 병

변에서 백혈구 부착 억제를 통해 염증을 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

CJE가 전사인자에 미치는 영향 - CJE가 부착인자들의 발현을 억제하였기 때문에 CJE가 NF-κB 및 IκB 활성화에 미치는 영향을 웨스턴블롯 및 면역형광염색을 통해 조사하였다. 웨스턴블롯 결과에 의하면 CJE의 처리는 TNF-α 자극에 의해 증가한 NF-κB 및 IκB의 인산화 활성을 농도 의존적으로 억제한 것을 확인하였다(Fig. 4A). 또한 면역형광염색을 통해 CJE가 NF-κB의 핵으로의 전위를 억제하는 것을 확인하였다(Fig. 4B). 활성화된 NF-κB는 IκB에와 결합

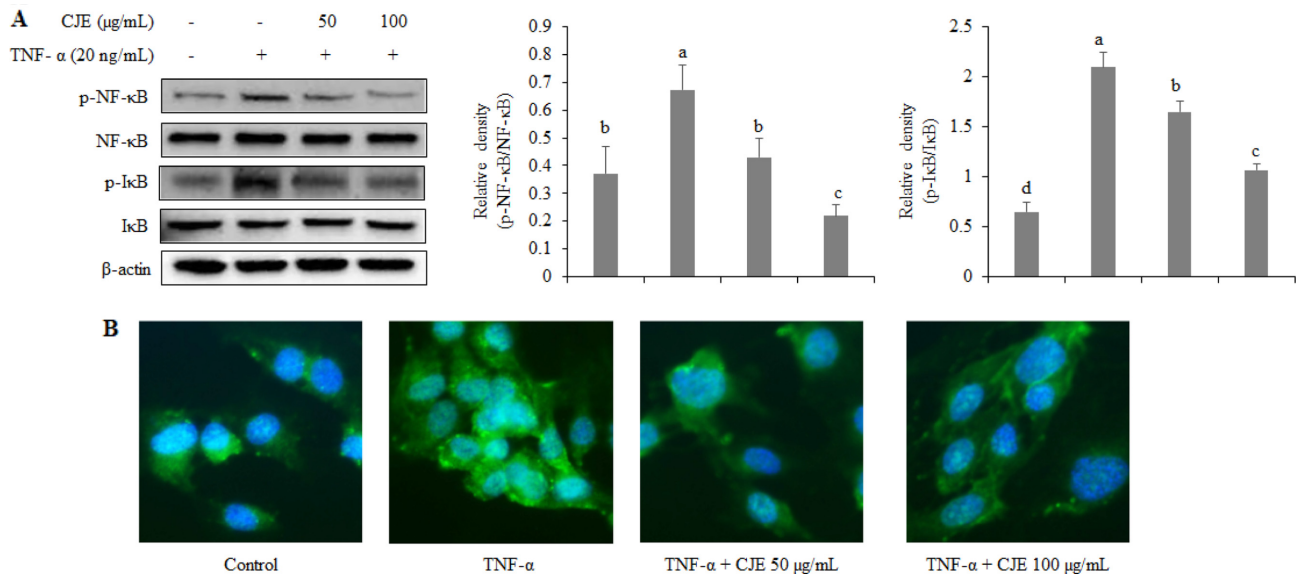


Fig. 4. Effect of CJE on nuclear factor-κB (NF-κB) activation in tumor necrosis factor-α (TNF-α)-stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). HUVECs were pre-treated with or without CJE (50 or 100 μg/mL) for 1 h prior to incubation with or without TNF-α for 30 min. Phosphorylation of NF-κB (A) were measured by western blot analysis and analyzed using ImageJ software. Translocation of NF-κB p65 (B) were determined by immunofluorescence staining. Representative fluorescence microscope images of NF-κB p65 staining (green) and nucleus (blue). Error bars represent the mean ± SD (n=3). Means with the same alphabet are not significantly different at p < 0.05.

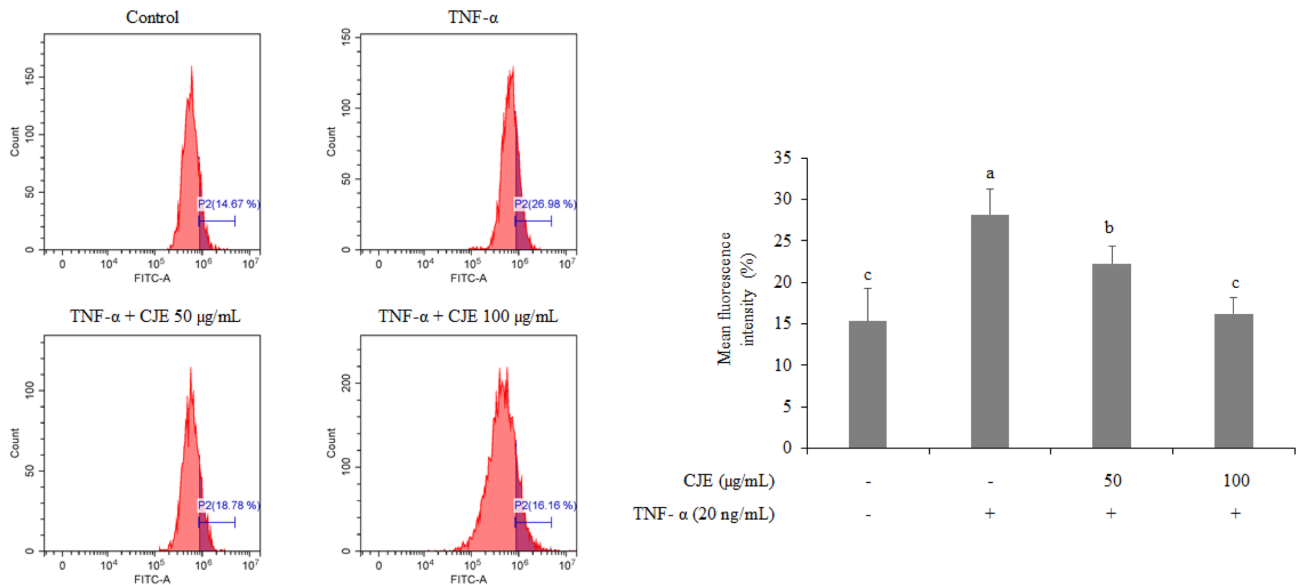


Fig. 5. Effect of CJE on intracellular ROS level in tumor necrosis factor- α (TNF- α) stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). HUVECs were pre-treated with or without CJE (50 or 100 $\mu\text{g/mL}$) for 1 h prior to incubation with or without TNF- α for 24 h. Intracellular ROS level was measured by flow cytometer. Error bars represent the mean \pm SD (n=3). Means with the same alphabet are not significantly different at $p < 0.05$.

되어 세포질에 위치한다. NF- κ B는 자극이 들어오면 인산화 또는 유비퀴틴화를 통해 I κ B와 분리되고 핵으로 전위되어 유전자 전사를 개시한다.¹⁹⁾ NF- κ B는 내피부착인자의 발현을 조절한다.^{20,21)} 이로 미루어보아 본 연구에서 나타난 CJE의 부착인자 억제 효과는 NF- κ B 활성 억제와 앞서 보여준 NO 생성 억제(Fig. 2A)와 관련되어 있을 것으로 사료된다.

CJE가 세포내 ROS 생성에 미치는 영향 – 유세포분석을 통해 TNF- α 자극받은 HUVEC에서 CJE가 ROS생성에 미치는 영향에 대해 조사하였다. 그 결과 CJE의 처리는 TNF- α 자극에 의해 증가한 ROS를 농도 의존적으로 감소시켰다. ROS는 혈관 항상성에 필수적이지만 통제되지 않고 과생성된 ROS는 혈관 손상과 관련이 있다.²²⁾ 또한 과도한 ROS는 eNOS 및 혈관 항산화 시스템의 필수 보조인자인 NADPH를 감소시킬 수 있다.²³⁾ 따라서 CJE는 ROS를 제거 함으로 혈관내피세포를 산화스트레스로부터 보호하고 eNOS효소 활성에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 또한 천연물 및 플라보노이드가 혈관내피세포에서 ROS를 제거하므로 항산화 활성을 나타낸다는 선행연구가 보고 되어있다.^{4,24)} 본 연구의 결과는 이와 일치하며, CJE가 혈행개선 소재로 사용 가능성이 있음을 시사한다.

결론

본 연구에서는 엉겅퀴 추출물을 사용하여 TNF- α 로 자극 받은 HUVEC에서 혈관 보호 및 혈행개선 효과를 조사하였

다. CJE의 전처리는 감소하였던 NO생산을 eNOS발현 증가를 통해 개선하였다. 또한 ICAM-1 및 VCAM-1과 같은 부착인자를 감소시켰다. 이러한 결과는 NF- κ B 활성 억제 및 ROS 제거에 의한 결과로 생각된다. 또한 CJE의 항산화 활성은 혈관 건강에 유익한 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 결론적으로 본 연구의 결과는 CJE가 심혈관 건강을 증진하기 위한 식이 보충제 또는 기능성 식품 성분으로 잠재적으로 응용될 수 있음을 시사한다. 그러나 이러한 효과의 작용기전을 완전히 이해하고 치료 사용을 위한 최적 용량 및 제형을 결정하기 위해서는 추가 연구가 요구된다고 사료된다.

사사

본 연구는 2022년도 중소벤처기업부의 기술개발사업 지원에 의한 연구임[S3236679].

인용문헌

- Hansson, G K., Robertson, A.-K. L. and Söderberg-Nauclér, C. (2006) Inflammation and atherosclerosis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 1: 297-329.
- WHO (2017) Cardiovascular diseases fact sheet.
- Pant, S., Deshmukh, A., GuruMurthy, G S., Pothineni, N. V., Watts, T. E., Romeo, F. and Mehta, J. L. (2014) Inflammation and atherosclerosis—revisited. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*

- Ther.* **19**: 170-178.
4. Zhu, Y.-P., Shen, T., Lin, Y.-J., Chen, B.-D., Ruan, Y., Cao, Y., Qiao, Y., Man, Y., Wang, S. and Li, J. (2013) Astragalus polysaccharides suppress ICAM-1 and VCAM-1 expression in TNF- α -treated human vascular endothelial cells by blocking NF- κ B activation. *Acta Pharmacologica Sinica* **34**: 1036-1042.
 5. Dimmeler, S., Hermann, C. and Zeiher, A. (1999) Apoptosis of endothelial cells. Contribution to the pathophysiology of atherosclerosis? *European Cytokine Network* **9**: 697-8.
 6. Meyer, J. W., Holland, J. A., Ziegler, L. M., Chang, M.-M., Beebe, G. and Schmitt, M. E. (1999) Identification of a functional leukocyte-type NADPH oxidase in human endothelial cells: a potential atherogenic source of reactive oxygen species. *Endothelium* **7**: 11-22.
 7. Beinke, S. and Ley, S. C. (2004) Functions of NF-kappaB1 and NF-kappaB2 in immune cell biology. *Biochem. J.* **382**: 393-409.
 8. Zhou, Z., Connell, M. C. and MacEwan, D. J. (2007) TNFR1-induced NF- κ B, but not ERK, p38MAPK or JNK activation, mediates TNF-induced ICAM-1 and VCAM-1 expression on endothelial cells. *Cellular Signalling* **19**: 1238-1248.
 9. Wagle, A., Seong, S. H., Shrestha, S., Jung, H. A. and Choi, J. S. (2019) Korean Thistle (*Cirsium japonicum* var. *maackii* (Maxim.) Matsum.): A potential dietary supplement against diabetes and Alzheimer's disease. *Molecules* **24**: 649.
 10. Kim, D.-Y., Kang, S.-H. and Ghil, S.-H. (2010) *Cirsium japonicum* extract induces apoptosis and anti-proliferation in the human breast cancer cell line MCF-7. *Molecular Medicine Reports* **3**: 427-432.
 11. Oh, K.-K., Adnan, M. and Cho, D.-H. (2021) Network pharmacology-based study to uncover potential pharmacological mechanisms of Korean thistle (*Cirsium japonicum* var. *maackii* (maxim.) Matsum.) flower against cancer. *Molecules* **26**: 5904.
 12. Jung, H. A., Abdul, Q. A., Byun, J. S., Joung, E. J., Gwon, W. G., Lee, M. S., Kim, H. R. and Choi J. S. (2017) Protective effects of flavonoids isolated from Korean milk thistle *Cirsium japonicum* var. *maackii* (Maxim.) Matsum on tert-butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *J. Ethnopharmacol.* **14**: 62-72.
 13. Li, H. and Förstermann, U. (2000) Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J. Pathol.* **190**: 244-54.
 14. Radomski, M. W., Palmer, R. M. and Moncada, S. (1987) The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **148**: 1482-1489.
 15. Li, H. and Förstermann, U. (2000) Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J. Pathol.* **190**: 244-254.
 16. Norman, M. U., James, W. G and Hickey, M. J. (2008) Differential roles of ICAM-1 and VCAM-1 in leukocyte-endothelial cell interactions in skin and brain of MRL/fas^{lpr} mice. *J. Leukoc. Biol.* **84**:68-76.
 17. Sumagin, R. and Sarelius, I. H. (2007) A role for ICAM-1 in maintenance of leukocyte-endothelial cell rolling interactions in inflamed arterioles. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **293**: H2786-98.
 18. Cybulsky, M. I., Iiyama, K., Li, H., Zhu, S., Chen, M., Iiyama, M., Davis, V., Gutierrez-Ramos, J.-C., Connelly, P. W. and Milstone, D. S. (2001) A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J. Clin. Investig.* **107**: 1255-1262.
 19. Bhattacharyya, S., Borthakur, A., Anbazhagan, A. N., Katyal, S., Dudeja, P. K. and Tobacman, J. K. (2011) Specific effects of BCL10 Serine mutations on phosphorylations in canonical and noncanonical pathways of NF- κ B activation following carrageenan. *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.* **301**: G475-G486.
 20. Zhong, L., Simard, M. J. and Huot, J. (2018) Endothelial microRNAs regulating the NF- κ B pathway and cell adhesion molecules during inflammation. *FASEB J.* **32**: 4070-4084.
 21. Astarci, E., Sade, A., Cimen, I., Savaş, B. and Banerjee, S. (2012) The NF- κ B target genes ICAM-1 and VCAM-1 are differentially regulated during spontaneous differentiation of Caco-2 cells. *FEBS J.* **279**: 2966-2986.
 22. Kattoor, A. J., Pothineni, N. V. K., Palagiri, D. and Mehta, J. L. (2017) Oxidative stress in atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep.* **19**: 1-11.
 23. Ushio-Fukai, M., Zafari, A. M., Fukui, T., Ishizaka, N. and Griendling, K. K. (1996) P22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* **271**: 23317-23321.
 24. Xia, F., Wang, C., Jin, Y., Liu, Q., Meng, Q., Liu, K. and Sun, H. (2014) Luteolin protects HUVECs from TNF- α -induced oxidative stress and inflammation via its effects on the Nox4/ROS-NF- κ B and MAPK pathways. *J. Atheroscler. Thromb.* **21**: 768-783.

(2022. 12. 27 접수; 2023. 2. 20 심사;
2023. 3. 15 게재확정)