

## NFAT(nuclear factor of activated T cells) 전사인자에 대한 천연물의 저해활성

이임선 · 원디엔닷 · 채홍복 · 심광해 · 김영호\*  
충남대학교 약학대학

### Inhibitory Effects of Natural Products against NFAT (nuclear factor of activated T cells) Transcription Factor

Im Seon Lee, Nguyen Tien Dat, Xing Fu Cai, Guanghai Shen, and Young Ho Kim\*  
College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Abstract** – The nuclear factor of activated T cells (NFAT) protein induce transcription of cytokine genes required for T-cell activation, including the IL-2 gene. Activation of NFAT normally plays a significant role in inducing immune response. However, excessive activation provokes immunopathological reactions including autoimmunity, transplant rejection and inflammation. Thus, several natural products were screened on the inhibitory activity against the NFAT transcription factor. Among them, *Euonymus sieboldiana* showed strong inhibitory activity against the NFAT transcription factor without affecting cell viability.

**Key words** – NFAT transcription factor, Natural products, *Euonymus sieboldiana*

외부로부터 병원체가 침입하면 T세포는 복잡한 신호전달 반응을 통하여 T세포를 활성화하여 병원성 물질을 제거한다. 이 과정동안 T세포는 autocrine growth factor인 interleukin-2 (IL-2)를 발현하여 IL-2수용체와 IL-2의 결합에 의해 더욱 더 많은 T세포의 증식을 일으킨다.<sup>1)</sup>

구조와 관련되어 NFATp/NFAT1, NFATc, NFAT3 및 NFATX/NFAT4/NFATc3등으로 구분되는 전사인자 NFAT은 비활성화 상태에서 인산화된 형태로 세포질에 존재하며 항원수용체의 자극에 의해서 유도된 세포내 Ca<sup>2+</sup> 농도의 증가로 calcineurin이 활성화되어 NFAT의 탈인산화를 일으킨다. 탈인산화된 NFAT은 핵내로 이동하여 활성화된 T세포에서 IL-2 promoter에 존재하는 antigen receptor response element에 결합함으로써 IL-2 발현 및 면역세포들에서 면역반응의 유도와 조절에 필수적인 여러 cytokine 유전자 (IL-3, -4, -5, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ )와 세포표면인자 (CD40L, FasL, IL-2R $\alpha$ )등의 발현에 중요한 역할을 한다.<sup>2,3)</sup> 그러나 지나친 NFAT의 활성화는 자가면역, 장기이식 거부반응 및

염증과 같은 면역질환을 야기시켜, 수혈, 약물투여, 장기이식 등 치료과정에서 장애요인이 되므로 임상 치료를 위해서 면역반응의 억제가 필요하다.<sup>1)</sup>

현재 임상에서 사용되고 있는 면역억제제로서 cyclosporin A와 FK-506은 다양한 신호전달과정에 관여 하는 calcineurin의 기능을 억제함에 따라 신장의 기능장애, 신경장애 및 위장장애 등과 같은 부작용을 일으킨다.<sup>3)</sup> 따라서 이들 약제들이 갖는 부작용을 최소화하고 보다 안전한 면역억제제를 개발하려는 많은 노력이 이루어지고 있으며, 특히 전사인자 NFAT에 대한 억제는 새로운 면역억제제 개발의 가능성으로 제시되고 있다.

NFAT 전사인자의 조절에 대한 연구로서 high-affinity calcineurin-binding peptide 및 3,5-bis (trifluoromethyl) pyrazoles 등이 보고 되어 있으나,<sup>4,5)</sup> 지금까지 천연물에서 NFAT전사인자의 조절제를 찾고자 하는 시도는 이루어지지 않았다. 천연물은 저분자로 구성 되어 있어 신약을 개발하는데 유용한 자원이 될 수 있을 뿐 만 아니라, 한방 또는 민간에서 오랜 기간 동안 사용되어 왔다는 점에서 안정성 측면도 확보되어 있다.

따라서 본 연구자들은 오미자 (*Schizandra chinensis*) 및

\*교신저자(E-mail) : yhk@cnu.ac.kr  
(FAX) : +82-42-821-5933

천궁 (*Cnidium officinale*)으로 부터 NFAT 전사인자에 대하여 우수한 저해활성을 갖는 성분들을 분리하여 보고한 바 있다.<sup>6,7)</sup> 또한 천연물로부터 더욱 우수한 NFAT 전사인자 조절제를 찾고자 천연물의 추출물을 대상으로 NFAT 전사인자에 대한 저해활성을 탐색하여 검팽나무, 산겨릅나무 및 십나무딸기 등의 우수한 활성을 보이는 3종의 천연물을 선별하였으며,<sup>8)</sup> 계속적인 연구로 또 다른 수종의 천연물을 대상으로 NFAT 전사인자에 대한 저해활성을 검색한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**시약 및 완충액 제조** - Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), *p*-nitrophenyl phosphate, cyclosporin A, diethanolamine 및 L-homoarginine 등은 Sigma사로부터, ionomycin 과 MTT cell proliferation kit는 Calbiochem사와 Roche사로부터 각각 구입하였다. Phenol red를 함유하지 않는 RPMI 1640 완충액은 RPMI 1640 (LM011-01, JBI)에 0.5% fetal bovine serum과 1% penicillin-streptomycin을 첨가하여 제조하였다. NFAT 세포를 활성화 하기 위한 stimulator로서, PMA와 ionomycin을 DMSO에 녹여 각각 100 µg/ml 및 1 mM의 stock solution으로 제조 후 phenol red를 함유하지 않는 RPMI 1640 완충액으로 희석하여 25 ng/ml과 0.5 µM로 하였다. 기질로서 *p*-nitrophenyl phosphate (120 mM)는 1 M diethanolamine, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub> 및 10 mM homoarginine으로 제조한 SEAP (Secreted alkaline phosphatase) 완충액에 녹여 사용하였다.

**리포터 세포주 제조** - NFAT이 결합하는 DNA의 염기배열을 5에서 10개가 연결되도록 두 개의 상보적 oligonucleotide를 합성하여 5'말단을 인산화 시키고 hybridization 한 후 ligation에 의해 여러 개가 연결된 DNA 단편을 얻었다. 이것을 Klenow효소로 blunt로 만든 후 pblueScript (pBS)백터에 삽입하여 *E. coli*에 transformation한 후 생성된 colony들을 miniprep하여 NFAT 결합 DNA부위가 반복된 단편을 획득하고 이것의 염기배열을 조사하여 다시 확인하였다. 얻어진 plasmid를 *Xba* I와 *Bam*HI으로 절단한 단편을 enhancer가 없는 pGL2-promoter백터 (Promega)의 SV40 promoter위쪽에 *Nhe* I과 *Bgl* II로 절단하여 삽입하였다. 만들어진 plasmid의 NFAT함유단편을 다시 *Mlu* I과 *Hind* III를 사용하여 alkaline phosphatase 유전자를 함유하는 pCMV/SEAP (Tropix) plasmid의 promoter 부분에 삽입함으로써 리포터 백터인 pNFAT-SEAP를 조제하였다.

**NFAT 활성 리포터 세포주 선별** - 리포터 백터인 pNFAT/SEAP들을 plasmid miniprep kit를 이용하여 깨끗이 purify

하여 fetal bovine serum과 penicillin-streptomycin이 첨가되지 않은 RPMI 1640 배지로 희석한 후 superfect (Qiagen)를 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 10분간 방치한 후, 10% fetal bovine serum과 1% penicillin-streptomycin이 보충된 RPMI 1640 배지를 첨가하여 T Jurkat 세포 위에 골고루 분주하고 48시간 동안 배양하였다. 배양 후 세포를 희석하여 selection배지(G418, 0.8 mg/ml)가 든 96 well plate로 옮겨 배양하면서 성장한 세포주를 분리하고, concanavalin A를 처리하고 처리하지 않은 세포와 비교하여 생성된 alkaline phosphatase의 활성정도를 조사하여 높은 활성을 나타내는 세포주를 선별하였다.

**세포 및 시료의 제조** - NFAT dependent transcriptional reporter gene, pCMV/SEAP을 함유한 Jurkat T cell line은 10% fetal bovine serum과 1% penicillin-streptomycin이 보충된 RPMI 1640 배지에서 배양하였다. NFAT 세포들을 PBS로 washing하여 phenol red를 제거한 후 phenol red를 함유하지 않는 RPMI 1640 배지에 현탁시켜 1×10<sup>4</sup> cells/well농도로 하였다. 한국생명공학연구원 자생식물사업단의 추출물은행에서 분양 받은 천연물 시료는 DMSO에 녹인 후 phenol red를 함유하지 않는 RPMI 1640으로 희석하여 최종 시료농도가 30 µg/ml이 되도록 하였다.

**NFAT 전사 인자에 대한 억제활성 검색** - NFAT에 대한 억제활성은 SEAP assay를 변형하여 측정하였다.<sup>9)</sup> 동시에 처리한 시료 및 stimulator 각 50 µl는 세포 100 µl와 함께 37°C에서 18시간 동안 배양하였다. 배양 후 반응물을 원심 분리한 후 100 µl 상등액은 65°C에서 1시간 동안 가열하였다. 가열 후 각 50 µl의 SEAP buffer와 기질을 첨가 하여 37°C에서 4시간 동안 배양하여 microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전사인자 NFAT에 대한 억제효과는 세 번 반복 실험한 평균값으로 하였으며, 대조군에 대한 억제율로 계산하였다. 양성대조군은 calcineurin의 phosphatase activity를 차단하는 cyclosporin A (IC<sub>50</sub>: 2.4×10<sup>-7</sup> M)를 사용하였다.<sup>10)</sup>

**세포독성** - 시료의 세포독성 여부는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)의 formazan으로 환원에 의해 세포독성을 측정하는 MTT cell proliferation Kit (1465007, Roche)를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

NFAT dependent transcriptional reporter gene, pCMV/SEAP을 함유한 Jurkat T cell line을 사용하여 변형된 SEAP assay<sup>9)</sup>에 의해 한국생명공학연구원에서 분양 받은 약 100여종의 천연물의 MeOH 추출물을 대상으로 NFAT 전사인자

**Table I.** Inhibitory effects of methanol extracts from natural products on NFAT transcription factor

Scientific name	Family	Used part	Inhibition (%)
<i>Acanthopanax sessilifolrus</i> (오갈피)	Araliaceae	stem	–
<i>Acer ginnala</i> (신나무)	Aceraceae	stem	30.0
<i>Acer mono</i> (고로쇠나무)	Aceraceae	leaf	89.4
<i>Acer okamotoanum</i> (우산고로쇠)	Aceraceae	leaf	63.4
<i>Acer takesimense</i> (섬단풍나무)	Aceraceae	leaf	35.4
<i>Acer tschonokii</i> var. <i>rubripes</i> (시닥나무)	Aceraceae	stem	–
<i>Actinodaphne lancifolia</i> (육박나무)	Lauraceae	branch	34.2
<i>Alnus maximowiczii</i> (두메오리나무)	Betulaceae	stem	56.5
<i>Amelanchier asiatica</i> (채진목)	Rosaceae	stem	62.1
<i>Angelica japonica</i> (갯강활)	Umbelliferae	root	–
<i>Aralia continentalis</i> (독활)	Araliaceae	stem	–
<i>Arisaema takesimense</i> (성인봉천남성/섬남성)	Araceae	stem	46.0
<i>Aster spathulifolius</i> (해국)	Compositae	leaf	–
<i>Calystegia soldanella</i> (갯메꽃)	Convolvulaceae	leaf	–
<i>Camellia japonica</i> (동백나무)	Theaceae	stem	–
<i>Campanula takesimana</i> (섬초롱꽃)	Campanulaceae	whole plant	–
<i>Cardamine flexuosa</i> (황새냉이)	Cruciferae	aerial part	43.4
<i>Carpesium abrotanoides</i> (담배풀)	Compositae	leaf	51.0
<i>Carpinus tschonokii</i> (개서어나무)	Betulaceae	stem	41.7
<i>Castanopsis cuspidata</i> var. <i>sieboldii</i> (구실잣밤나무)	Fagaceae	leaf	64.5
<i>Cayratia japonica</i> (거지덩굴)	Vitaceae	leaf	60.9
<i>Cephalotaxus koreana</i> (개비자나무)	Taxaceae	leaf	–
<i>Cinnamomum camphora</i> (녹나무)	Lauraceae	leaf	56.0
<i>Cinnamomum japonicum</i> (생달나무)	Lauraceae	stem	–
<i>Citrus dachibana</i> (홍귤)	Rutaceae	branch	49.1
<i>Clerodendrum trichotomum</i> (누리장나무)	Verbenaceae	stem	–
<i>Cleyera japonica</i> (비쭈기나무)	Theaceae	leaf	42.1
<i>Cocculus trilobus</i> (맹맹이덩굴)	Menispermaceae	leaf	–
<i>Cornus controversa</i> (층층나무)	Cornaceae	stem	40.3
<i>Corylus heterophylla</i> var. <i>thunbergii</i> (개암나무)	Betulaceae	leaf	54.3
<i>Crataegus pinnatifida</i> (산사)	Rosaceae	stem	73.6
<i>Daphne genkwa</i> (팔꽃나무)	Thymelaeaceae	root	–
<i>Daphniphyllum glaucescens</i> (좁굴거리)	Euphorbiaceae	stem	–
<i>Daphniphyllum macropodum</i> (굴거리)	Euphorbiaceae	fruit	–
<i>Dioscorea batatas</i> (마)	Dioscoreaceae	leaf	57.0
<i>Dystaenia takeshimana</i> (섬바디)	Umbelliferae	aerial part	47.5
<i>Elaeagnus glabra</i> (보리장나무)	Elaeagnaceae	stem	–
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파나무)	Rosaceae	stem	–
<i>Erysimum aurantiacum</i> (부지깽이나물)	Cruciferae	flower	–
<i>Euonymus japonicus</i> (사철나무)	Celastraceae	stem	–
<i>Euonymus sieboldiana</i> (참빛살나무)	Celastraceae	stem	90.8
<i>Eurya emarginata</i> (우목사스레피나무)	Theaceae	leaf	57.8
<i>Eurya japonica</i> (사스레피나무)	Theaceae	stem	–
<i>Fatsia japonica</i> (팔손이)	Araliaceae	stem	–
<i>Ficus erecta</i> (천선과나무)	Moraceae	fruit	–
<i>Ficus thunbergii</i> (애기모람)	Moraceae	leaf	44.5
<i>Forsythia nakaii</i> (장수만리화)	Oleaceae	stem	–
<i>Ginkgo biloba</i> (은행나무)	Ginkgoaceae	stem	83.5
<i>Hamamelis japonica</i> (풍년화)	Hamamelidaceae	branch	69.3

Table I. Continued

Scientific name	Family	Used part	Inhibition (%)
<i>Hepatica maxima</i> (섬노루귀)	Ranunculaceae	leaf	–
<i>Hovenia dulcis</i> (헛개나무)	Rhamnaceae	leaf	–
<i>Hydrangea serrata</i> for. <i>acuminata</i> (산수국)	Saxifragaceae	stem	30.7
<i>Ilex rotunda</i> (면나무)	Aquifoliaceae	stem	–
<i>Illicium religiosum</i> (복순나무)	Illiciaceae	leaf	–
<i>Juniperus rigida</i> (노간주나무)	Cupressaceae	leaf	76.6
<i>Kirengeshoma koreana</i> (나도승마)	Saxifragaceae	stem	–
<i>Lathyrus japonica</i> (갯완두)	Leguminosae	leaf	–
<i>Ligustrum foliosum</i> (섬쥐똥나무)	Oleaceae	leaf	36.9
<i>Ligustrum japonicum</i> (광나무)	Oleaceae	branch	–
<i>Lonicera insularis</i> (섬괴불나무)	Caprifoliaceae	stem	–
<i>Lonicera japonica</i> (인동)	Caprifoliaceae	stem	–
<i>Loranthus yadoriki</i> (참나무겨우살이)	Loranthaceae	stem	–
<i>Lycoris radiata</i> (석산)	Amaryllidaceae	leaf	–
<i>Machilus japonica</i> (센달나무)	Lauraceae	branch	42.2
<i>Myrica rubra</i> (소귀나무)	Myricaceae	leaf	58.4
<i>Neolitsea sericea</i> (참식나무)	Lauraceae	stem	–
<i>Osmanthus insularis</i> (박달목서)	Oleaceae	leaf	–
<i>Ostericum koreanum</i> (강활)	Umbelliferae	whole plant	41.4
<i>Philadelphus schrenckii</i> (고광나무)	Saxifragaceae	leaf	36.4
<i>Pinus parviflora</i> (섬잣나무)	Pinaceae	leaf	–
<i>Pinus thunbergii</i> (곰솔/해송)	Pinaceae	stem	98.7
<i>Pourthiaea villosa</i> (윤노리나무)	Rosaceae	stem	46.1
<i>Prunus padus</i> (귀룽나무)	Rosaceae	flower	31.5
<i>Prunus sargentii</i> (산벚나무)	Rosaceae	stem	45.9
<i>Pyrus calleryana</i> var. <i>fauriei</i> (콩배나무)	Rosaceae	stem	41.9
<i>Quercus acuta</i> (붉가시나무)	Fagaceae	leaf	45.7
<i>Quercus aliena</i> (갈참나무)	Fagaceae	leaf	59.1
<i>Quercus gilva</i> (개가시나무)	Fagaceae	stem	–
<i>Quercus glauca</i> (종가시나무)	Fagaceae	leaf	47.7
<i>Quercus salicina</i> (참가시나무)	Fagaceae	leaf	–
<i>Reynoutria sachalinensis</i> (왕호장)	Polygonaceae	stem	–
<i>Rhus trichocarpa</i> (개웃나무)	Anacardiaceae	stem	–
<i>Ribes fasciculatum</i> var. <i>chinense</i> (까마귀밥나무)	Saxifragaceae	fruit	–
<i>Rosa multiflora</i> (찔레꽃)	Rosaceae	leaf	39.4
<i>Salix glandulosa</i> (왕버들)	Salicaceae	stem	–
<i>Salix hulteni</i> (호랑버들)	Salicaceae	stem	71.4
<i>Sambucus sieboldiana</i> var. <i>pendula</i> (말오줌나무)	Caprifoliaceae	stem	–
<i>Scrophularia takesimensis</i> (섬현삼)	Scrophulariaceae	leaf	–
<i>Sedum takesimense</i> (섬기린초)	Crassulaceae	leaf	–
<i>Sorbus alnifolia</i> (팔배나무)	Rosaceae	stem	–
<i>Stauntonia hexaphylla</i> (멸꿀)	Lardizabalaceae	stem	39.5
<i>Styrax japonica</i> (때죽나무)	Styracaceae	leaf	33.2
<i>Styrax obassia</i> (쪽동백나무)	Styracaceae	stem	–
<i>Taxus cuspidata</i> (주목)	Taxaceae	stem	45.7
<i>Thea sinensis</i> (차나무)	Theaceae	leaf	57.3
<i>Tiarella polyphylla</i> (힐떡이풀)	Saxifragaceae	root	–
<i>Torreya nucifera</i> (비자나무)	Taxaceae	stem	–
<i>Tsuga sieboldii</i> (솔송나무)	Pinaceae	leaf	54.3

Table I. Continued

Scientific name	Family	Used part	Inhibition (%)
<i>Vaccinium bracteatum</i> (모새나무)	Ericaceae	stem	42.5
<i>Valeriana officinalis</i> var. <i>latifolia</i> (넓은잎취오줌풀)	Valerianaceae	stem	-
<i>Vitex negundo</i> var. <i>incisa</i> (좁목형)	Verbenaceae	stem	-
<i>Vitis coignetiae</i> (머루)	Vitaceae	leaf	-
<i>Xylosma congestum</i> (산유자나무)	Flacourtiaceae	stem	-
<i>Zanthoxylum ailanthoides</i> (머귀나무)	Rutaceae	stem	43.9

Samples were treated to cells at the final concentration of 30 µg/ml.

Data were expressed as mean of three experiments.

-: < 30% Inhibition.

에 대한 저해 활성을 조사하였다(Table I). 각 MeOH 추출 시료는 DMSO에 녹여 phenol red가 없는 RPMI 1640 배지로 희석하여 최종시료농도를 30 µg/ml로 하였다.

실험결과 거지덩굴, 구실잣나무, 산사, 채진목, 풍년화, 호랑버들 및 노간주나무 등은 NFAT 전사인자에 대하여 60-79%의 저해활성을 보였다. 반면 은행나무, 참빗살나무, 고로쇠나무 및 곰솔 등은 80% 이상의 우수한 활성을 보였다. 곰솔과 참빗살나무는 이전 연구<sup>8)</sup>에서 잎과 열매에 대한 NFAT 전사인자에 대한 저해활성은 각각 50%와 20% 이하였으나, 본 연구에 사용된 줄기에서는 각각 98.7%와 90.8%로 같은 시료이지만 사용부위에 따라 활성에 큰 차이를 보였다. 그러나 우수한 활성을 보인 4종의 시료 중 참빗살나무를 제외한 은행나무, 고로쇠나무, 곰솔등은 MTT assay 결과 실험농도에서 세포독성을 보여 저 농도에서 활성검색이 요구되었다.

따라서 검색결과 세포독성을 보이지 않고 NFAT 전사인자에 대하여 우수한 저해활성을 보인 참빗살나무의 MeOH 추출물로부터 활성물질의 분리가 요구된다. NFAT 전사인자에 대하여 우수한 활성성분으로 보고된 gomisin N, schiandrol A, gomisin E, schisandrin A, schisandrin C, benzoylisogomisin O 및 schisandrol B 등의 lignan은 EtOAc 분획에서 분리 되었으며, butyridenephthalide, senkyunolide A 등의 phthalide와 polyacetylen 구조를 갖는 faltarindiol 등은 천궁의 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획에서 분리되어, 활성 성분이 극성 분획 보다 비극성 분획으로 이행되는 경향을 보였다.<sup>6,7)</sup>

NFAT 전사인자의 지나친 활성화로 초래되는 자가면역, 장기이식거부반응 및 염증과 같은 면역질환을 치료하기 위하여 NFAT 전사인자에 대한 조절이 필요하다. 그러나 지금까지 천연물을 대상으로 NFAT 전사인자의 조절제에 대한 연구는 활발히 이루어지지 않았다. 따라서 검색결과 활성을 나타낸 천연물의 활성성분 분리와 구조 규명은 전사인자 NFAT을 조절하는 우수한 신약개발의 가능성을 높일 수 있으리라 사료된다.

## 결 론

전사조절인자 NFAT (nuclear factor of activated T cells) 은 세포질에 존재하는 단백질로서, 면역세포에서 면역반응의 유도과 조절에 필수적인 여러 cytokine 유전자 및 세포 표면인자의 발현에 중요한 역할을 한다. 그러나 지나친 NFAT의 활성화는 자가면역, 장기이식거부반응 및 염증과 같은 면역질환을 야기시킨다.

따라서 면역질환을 치료하기 위하여 약 100여종의 천연물을 대상으로 NFAT 전사인자에 대한 저해활성을 검색한 결과, *Acer mono* (고로쇠나무) *Euonymus sieboldiana* (참빗살나무), *Ginkgo biloba* (은행나무), 및 *Pinus thunbergii* (곰솔/해송) 등이 각각 89.4%, 90.8%, 83.5% 및 98.7%의 NFAT 저해활성을 나타내어 활성물질의 분리정제를 위한 후보천연물로 선별되었으며, 30 µg/ml의 농도에서 세포독성여부를 측정된 결과 참빗살나무 만이 세포독성을 나타내지 않는 농도에서 높은 NFAT 저해활성을 나타내었다.

## 사 사

본 연구는 한국과학재단(과제번호: R05-2001-000-00026-0)의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pober, J. S. (1997) Cellular and molecular immunology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 315-338.
2. Winter, G. and Harris, W. J. (1993) Humanized antibodies. *Immunology Today*. **14**: 243-246.
3. Crabtree, G. R. (1999) Generic signal and specific outcomes: signaling through Ca<sup>2+</sup>, calcineurin, and NF-AT. *Cell*. **96**: 611-614.
4. Aramburu, J., Yaffe, M. B., Lopez-Rodriguez, C., Cantly, L.

- C., Horgan, P. G. and Rao, A. (1999) Affinity-driven peptide selection of an NFAT inhibitor more selective than cyclosporin A. *Science*. **285**: 2129-2133.
5. Djuric, S. W., BaMaung, N. Y., Basha, A., Liu, H., Luly, J. R., Madar, D. J., Sciotti R. J., Tu, N. P., Wagenaar, F. L., Wiedeman, P. E., Zhou, X., Ballaron, S., Bauch, J., Chen, Y-W, Chiou, X. G., Fey, T., Gauvin, D., Gubbins, E., Hsieh, G. C., Marsh, K. C., Mollison, K. W., Pong, M., Shaughnessy, T. K., Sheets, M. P., Smith, M., Trevillyan, J. M., Warrior, U., Wegner, C. D. and Carter, G. W. (2000) 3,5-Bis (trifluoromethyl)pyrazoles: A novel class of NFAT transcription factor regulator. *J. Med. Chem.* **43**: 2975-2981.
6. Lee, I. S., Lee, H-K., Nguyen, T. D., Lee, M. S., Kim, J. W., Na, D. S. and Kim, Y. H. (2003) Lignans with inhibitory activity against NFAT transcription from *Schisandra chinensis*. *Planta Medica*. **69**: 63-64.
7. Lee, I. S., Dang, T. L. H., Lee, M. S., Kim, J. W., Na, D. S. and Kim, Y. H. (2002) NFAT transcription factor inhibitory constituents from *Cnidium officinale*. *Nat. Prod. Sci.* **8**: 94-96.
8. 이임선, 윈디엔닷, 채홍복, 심광해, 김영호(2003) 천연물로부터 NFAT(Nuclear factor of activated T cells)전사인자에 대한 저해활성 탐색. *충남대약학논문집*. **18**: 26-31.
9. Yang, T.T., Sinai, P., Kitts, P. A. and Kain, S. R. (1997) Quantification of gene expression with a secreted alkaline phosphatase reporter system. *Biotechniques*. **23**: 1110-1114.
10. Jain, J., Loh, C. and Rao, A. (1995) Transcriptional regulation of the IL-2 gene. *Current Opinion in Immunology*. **7**: 333-342.

(2003년 4월 15일 접수)