

노랑가지 물추출물에 의한 생쥐 발바닥 부종의 억제효과

김대기 · 백옥선**** · 임종필* · 이영미**#

전북대학교 의과대학 면역학교실, *우석대학교 약학대학 한약학과, **원광대학교 약학대학 한약학과

(Received September 22, 2003; Revised October 7, 2003)

Inhibitory Effect of Mouse Paw Edema by *Solanum melongena* Aqueous Extract

Dae-Ki Kim, Ok-Seon Baek****, Jong-Pil Lim* and Young-Mi Lee**#

Department of Immunology, Chonbuk National University Medical School, Jeonju, Jeonbuk 561-182, Korea

*Department of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju, Jeonbuk 565-701, Korea

**Department of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk 570-749, Korea

Abstract — *Solanum melongena* L. (Solanaceae) has anti-oxidant, analgesic, and hypolipidemic effects. We previously showed that *Solanum melongena* (SM) aqueous extract inhibits mast cell-mediated allergic reactions. The activation of protease-activated receptor-2 (PAR-2) induces acute inflammation in rat hindpaw. In the present study, we investigated the effects of the SM aqueous extract on mouse paw edema induced by PAR2 agonists. Trypsin or *trans*-cinnamoyl-LIGRLO-NH₂ (*tc*-NH₂), PAR-2 agonists, was injected into the hind paw of mice to induce paw edema. SM aqueous extract (1, 5, 10, and 100 mg/kg) was orally administered 1 hr before induction of paw edema. SM aqueous extract (5, 10, and 100 mg/kg) significantly inhibited both paw edema and vascular permeability in the dose-dependent manner. Furthermore, SM aqueous extract (10 mg/kg) significantly inhibited PAR-2 agonist-induced myeloperoxidase (MPO) activity and tumor necrosis factor (TNF)- α expression in paw tissue compared to that of saline. These results suggest that SM aqueous extract may be useful for treatment of PAR-2-mediated inflammation.

Keywords □ *Solanum melongena*, trypsin, protease-activated receptor-2 (PAR-2), paw edema

이런 단백질효소들은 염증세포에 발현하는 프로테아제 활성 수용체의 N-말단의 특이적 인식부위를 절단하여 활성형으로 변화시킨다고 보고되었다.¹⁾ 프로테아제 활성 수용체는 7개의 transmembrane domain 구조를 가진 수용체로서 G단백질에 결합해 있으며, 현재까지 프로테아제 활성 수용체-1, 프로테아제 활성 수용체-2, 프로테아제 활성 수용체-3 및 프로테아제 활성 수용체-4 등 4가지가 클로닝되었다.²⁻⁶⁾ 이 중에서 프로테아제 활성 수용체-1, 프로테아제 활성 수용체-3 및 프로테아제 활성 수용체-4는 트루빈에 의해 활성화될 수 있고,⁶⁻⁸⁾ 프로테아제 활성 수용체-2는 트립신, 트립타제, 및 tethered ligand에 해당하는 합성펩타이드(SLIGRL-NH₂) 등에 의해 활성화될 수 있다.⁹⁻¹²⁾ 프로테아제 활성 수용체-2는 기도 상피세포, 섬유아세포, 단핵세포, 혈관관상세포 및 내피세포 등 대부분의 염증세포들에서 발현하며, 이 프로테아제 활성 수용체-2가 활성화되면 혈관투과성이 증가되고,

호중구가 침윤하며, 전염증성 사이토카인의 분비가 야기되어 염증반응과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹³⁻¹⁵⁾ 최근 보고에 의하면 프로테아제 활성 수용체-2에 의해 유도되는 염증반응이 트립신 억제제¹²⁾ 또는 트립타제 억제제¹⁶⁾에 의해 억제되었다. 또한 호중구 축적은 다양한 염증질환의 특징이며 호중구는 myeloperoxidase(MPO)라는 효소를 과립에 가지고 있다. 염증부위에 침윤된 호중구를 정량화하기 위해 MPO 활성을 측정한다.¹²⁾ 중앙괴사인자(TNF- α)는 호중구를 침윤시켜 염증을 유도하는 물질로 질병 발생과 진행에 중요한 역할을 하는 사이토카인이다.¹⁷⁾ 이와 같은 일련의 염증유도 과정에서 생성된 MPO나 TNF- α 의 활성측정은 항염증제 탐색에 유용한 약리학적 방법이 될 수 있을 것이다.

노랑가지는 흰가지(*Solanum melongena* L., Solanaceae)가 성숙하여 변한 열매로서는 전 세계적으로 널리 분포되어 있으며 주로 관상용으로 재배되고 있다. 이 노랑가지는 항산화 작용,¹⁸⁾ 진통¹⁹⁾ 및 혈중지질저하²⁰⁾ 등의 약리작용도 있다. 최근에 우리는 노랑가지의 물추출물이 면역적/비면역적 자극제로 유도한 과민성반응과 비만세포로부터 TNF- α 분비를 억제한다는 것을 제시

#본 글에 관한 문의는 저자에게로
(전화 063-850-6807 (팩스) 063-855-6807
(E-mail) ymlee@wonkwang.ac.kr

한 바 있다.²¹⁾

본 연구에서는 노랑가지의 물추출물이 프로테아제 활성 수용체-2의 작용물질인 트립신 또는 *trans*-cinnamoyl-LIGRLO-NH₂ (*tc*-NH₂)²²⁾를 생쥐 뒷발바닥에 주사하여 유발시킨 부종을 현저하게 억제하였음을 발견하였기에 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료

노랑가지 열매는 잘 건조한 후 증류수(100 g/l)로 2시간 달인 후 0.45 μm의 필터로 여과하여 동결건조한 다음 사용할 때까지 4°C에서 보관하였다. 건조된 추출물은 생쥐에 주사할 때 생리식염수에 용해하여 사용하였다. 노랑가지는 경상북도 청도의 김성경 농민으로부터 제공받았다.

시약 및 실험동물

트립신, 염산케타민, 염산질라진, MPO, hexa-decyltrimethylammonium bromide(HTAB), o-dianisidine, 에반스블루, 아크릴아미드, 탈지분유는 Becton Dickinson(MD, USA)에서 구입하였고, *trans*-cinnamoyl-LIGRLO-NH₂(*tc*-NH₂; 프로테아제 활성 수용체-2 tethered ligand, M.W. 812.59)는 (주)웹트론(대전, 한국)에서 구입하였다. *tc*-NH₂는 solid phase방법으로 합성하여 고속액체크로마토그래피로 정제하였다. Enhanced chemiluminescence(ECL) kit는 Amersham Biosciences(Seoul, Korea)에서 구입하였고, polyvinylidene fluoride(PVDF)는 Invitrogen(KDR Biotech Company Ltd, Korea)에서 구입하였다. Anti-mouse TNF-α 항체와 anti-goat IgG-HRP 항체는 Santa Cruz Biotech, Inc.(CA, USA)에서 구입하였고, 실험용 생쥐(ICR, 수컷, 23~30 g, 6주령)는 다물사이언스(대전, 한국)에서 구입하여 표준 실험용 사료와 물을 자유롭게 공급하였다. 실험동물의 사육온도는 22 ± 1°C로 유지하였고, 조명은 12시간 간격으로 밤과 낮을 조절하였다.

트립신 또는 *tc*-NH₂에 의한 부종과 혈관투과성의 유발

실험용 생쥐는 물을 자유롭게 공급하였으나 18시간 동안 절식시켰다. 생쥐의 발바닥에 트립신 또는 *tc*-NH₂를 주사하기 1시간 전에 노랑가지 물추출물(1, 5, 10, 100 mg/kg) 또는 생리식염수(0.9% w/v NaCl)를 경구투여하였다. 염산케타민(30 mg/kg)과 염산질라진(6 mg/kg)을 근육주사하여 마취시킨 후 트립신(100 pmol)과 *tc*-NH₂(100 μg)를 생리식염수에 녹여 20 μl씩 생쥐의 뒷발바닥에 주사하였다. 생쥐 발바닥 부종의 정도는 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질을 주사하기 직전과 주사 1시간 후의 발바닥의 두께를 측정된 값을 비교하여 평가하였다. 생쥐 발의 두께는 digimatic micrometer(Mitutoyo, Japan)를 이용하여 측정하였다.

트립신 또는 *tc*-NH₂의 주사에 의해 유도된 혈관투과성의 정도

는 에반스블루 누출기법을 이용하여 평가하였다. 노랑가지 물추출물(1, 5, 10, 100 mg/kg)과 생리식염수는 부종유발 1시간 전에 경구투여하였다. 생리식염수에 용해한 에반스블루(25 mg/kg)는 부종유발 직전에 정맥주사하였다. 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질을 주사하고 1시간 후 생쥐의 발을 취해 그 무게를 측정하였다. Katayama 등²³⁾의 방법으로 생쥐 발바닥에 누출된 색소의 양을 측정하였다. 요약해보면, 시험관에 1 N KOH 1 ml와 채취한 발조각을 넣어 마개를 한 후 37°C에서 하루동안 두었다. 그 다음 0.6 N H₃PO₄와 아세톤의 혼합액(5 : 13) 9 ml를 시험관에 첨가하고 몇 초 동안 강하게 진탕 후 3000 rpm으로 15분간 원심 분리하였다. 원심분리한 상층액은 620 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. 색소의 농도는 에반스블루 표준곡선으로부터 구하였고 에반스블루의 누출정도는 μg/발바닥g으로 나타내었다. 발바닥의 두께(부종의 정도)나 혈관 투과성의 억제율은 다음의 식을 사용하여 계산하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(A-B) \times 100}{A}$$

A는 노랑가지 물추출물을 투여하지 않은 군에서 발바닥두께의 값 또는 혈관투과성의 값이고, B는 노랑가지 물추출물을 투여한 군에서 발바닥두께의 값 또는 혈관투과성의 값이다.

Myeloperoxidase(MPO) 활성의 측정

부종이 유발된 조직중에 침윤된 호중구를 정량하기 위해 MPO 활성을 측정하였다. 트립신 또는 *tc*-NH₂를 발바닥에 주사하기 1시간 전에 생리식염수 또는 노랑가지 물추출물(10 mg/kg)을 경구 투여하였다. 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질을 주사하고 6시간 후에 발의 무게를 측정하고 MPO 활성을 측정하였다.²⁴⁾ 조직을 잘게 자른 후 0.5% HTAB를 포함한 KH₂PO₄/K₂HPO₄ 완충액(pH 6.0)에 넣어 조직분쇄기로 0°C에서 45초 동안 균질화 한 후 3000 rpm으로 20분간 원심분리하였다. MPO 활성을 측정하기 위해 96-well plate에 시료 50 μl, 0.5% HTAB 포함하는 인산완충액(pH 6.0) 50 μl, 증류수에 용해한 o-dianisidine 용액(0.68 mg/ml) 50 μl, 그리고 반응을 개시하기 위해 신선한 0.003% 과산화수소수 50 μl를 넣고 450 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. MPO 활성의 억제율은 다음의 식을 사용하여 계산하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(A-B) \times 100}{A}$$

A는 노랑가지 물추출물을 투여하지 않은 군의 MPO 값이고, B는 노랑가지 물추출물을 투여한 군의 MPO 값이다.

Western Blot을 이용한 TNF-α 발현의 측정

부종이 유발된 조직중에 증가된 염증성 사이토카인 TNF-α의 발

현을 Western blot으로 측정하였다. 트립신 또는 *tc-NH₂*를 발바닥에 투여하기 1시간 전에 생리식염수 또는 노랑가지 물추출물(10 mg/kg)을 경구투여하였다. 트립신을 주사하고 3시간 후에 발을 취하여 조직중의 TNF- α 단백질을 측정하기 위해 Western blot을 수행하였다. 생쥐의 발에서 단백질을 추출한 후, 12.5% 아크릴아미드겔에서 SDS-PAGE로 전기영동하고, PVDF막에 단백질을 이동시켰다. 5% 탈지유에서 1시간 처리한 후 anti-mouse TNF- α 항체로 1시간 동안 처리하였다. 막을 0.05% Tween 20을 함유하는 PBS(PBST)로 충분히 세척하고 anti-goat IgG-HRP로 45분 동안 반응시킨 후, 다시 PBST로 충분히 세척한 다음 ECL kit로 발색하였다.

통계처리

실험결과는 평균±표준편차로 표시하였으며, Student *t*-test를 사용하여 *p*값이 0.01 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

생쥐 발바닥 부종과 혈관투과성의 억제

노랑가지 물추출물이 트립신이나 *tc-NH₂*에 의해 유도된 부종과 혈관투과성을 억제하는지 알아보기 위해 발바닥두께와 에반스블루 누출을 측정하였다. 생쥐 발바닥의 부종은 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질을 발바닥에 주사하여 유발하였다. 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질인 트립신 또는 *tc-NH₂*를 주사하기 1시간 전에 노랑가지 물추출물 또는 대조군으로 생리식염수를 경

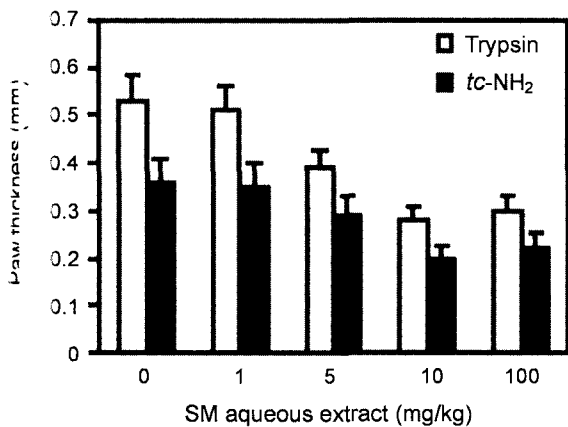


Fig 1 – Effect of the SM aqueous extract on the PAR-2 agonist-induced paw edema in the mice. The SM aqueous extracts (1, 5, 10 and 100 mg/kg) were orally administrated 1 hr before the subplantar injection of trypsin (100 pmol) or *tc-NH₂* (100 μ g). Saline was used as control. The levels of edema were assessed by measuring the thickness of the hindpaw immediately before and 1 hr after the PAR-2 agonist injection. Data show the mean \pm S.E from six mice. **p* < 0.01 compared to the control group.

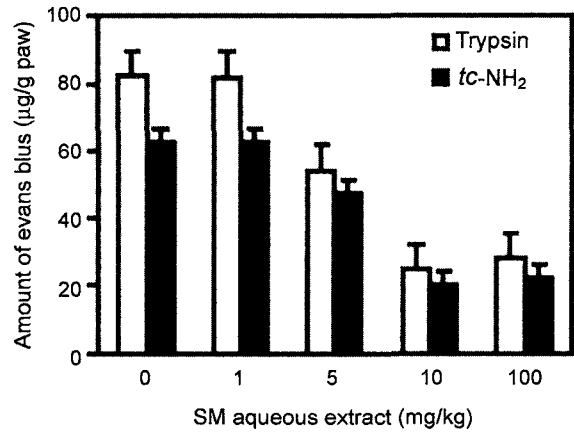


Fig. 2 – Effect of the SM aqueous extract on the PAR-2 agonist-induced vascular permeability in the paw of mice. The SM aqueous extracts (1, 5, 10 and 100 mg/kg) were orally administrated 1 hr before the subplantar injection of trypsin (100 pmol) or *tc-NH₂* (100 μ g). Saline was used as control. Mice received an intravenous injection of 25 mg/kg Evans blue in saline immediately before the agonist treatment. Data show the mean \pm S.E from six mice. **p* < 0.01 compared to the control group.

구투여하였다. 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질을 주사한 후 변화된 생쥐 발바닥 두께는 추출물을 투여한 군에서 현저하게 감소하였다. 트립신으로 유도한 군에서는 5 mg/kg 추출물은 26.4%, 10 mg/kg 추출물은 47.2%, 그리고 100 mg/kg 추출물은 43.4%를 억제하였다. *tc-NH₂*로 유도한 군에서는 5 mg/kg 추출물은 19.4%, 10 mg/kg 추출물은 44.4%, 그리고 100 mg/kg 추출물은 38.9%를 억제하였다(Fig. 1).

생쥐 발바닥에 트립신(100 pmol) 또는 *tc-NH₂*(100 μ g)을 주사하고 1시간 후에 에반스블루의 혈관투과성은 현저하게 증가하였다. 추출물(5, 10, 100 mg/kg)을 전처리하였을 때 생쥐 발바닥 조직에서 에반스블루 누출은 유의하게 억제되었다. 특히 추출물(10 mg/kg)은 트립신으로 유도한 혈관투과성을 69.4%, *tc-NH₂*로 유도한 혈관투과성을 67.9% 억제하였다(Fig. 2). 트립신으로 유도한 군과 *tc-NH₂*로 유도한 군 모두에서 추출물의 생쥐 발바닥의 부종과 혈관투과성에 대한 억제율은 100 mg/kg을 투여하였을 때가 10 mg/kg 투여하였을 때보다 낮았다.

조직내 MPO 활성의 억제

노랑가지 물추출물이 트립신이나 *tc-NH₂*에 의해 유도된 부종 조직중의 호중구 침윤을 억제하는지 알아보기 위해 MPO 활성을 측정하였다. 생쥐 발바닥에 트립신 또는 *tc-NH₂*를 주사하고 6시간 후에 생쥐 발바닥에는 많은 호중구가 침윤되었고, MPO 활성이 증가되었다. 추출물(10 mg/kg)은 트립신으로 유도한 조직내 MPO 활성을 56.2%, *tc-NH₂*로 유도한 조직내 MPO 활성을 48.2% 억제하였다(Fig. 3).

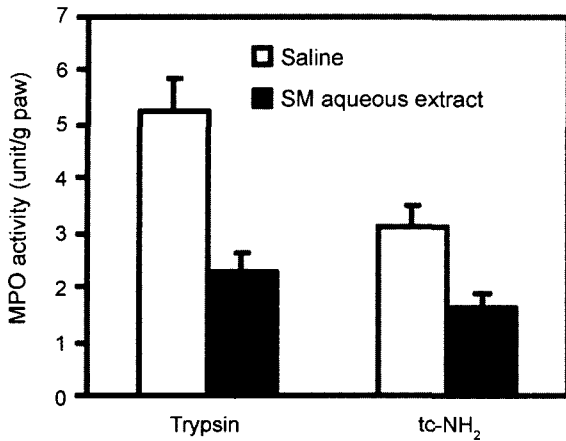


Fig. 3 – Effect of the SM aqueous extract on the PAR-2 agonist-induced MPO activity in the paw of mice. The SM aqueous extract (10 mg/kg) was orally administrated 1 hr before the subplantar injection of trypsin (100 pmol) or *tc*-NH₂ (100 μg). Saline was used as control. Six hrs after agonist injection, paw was weighed and assessed for the MPO activity. Data show the mean ± S.E from six mice. **p* < 0.01 compared to the control group.

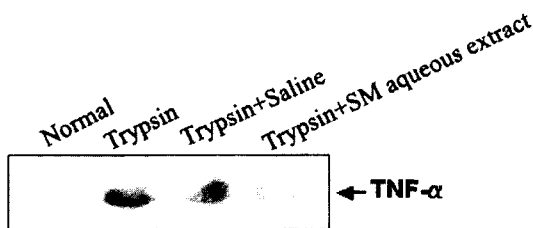


Fig. 4 – Effect of the SM aqueous extract on the trypsin-induced TNF- α expression in the paw of mouse. The SM aqueous extract (10 mg/kg) was orally administrated 1 hr before the subplantar injection of trypsin. Proteins were extracted from the paw tissues 3 hr after the subplantar injection of trypsin. Saline was used as control. The level of TNF- α expression was measured by Western blot as described in Materials and Methods.

조직내 TNF- α 발현의 억제

노랑가지 물추출물이 트립신이나 *tc*-NH₂에 의해 유도된 부종 조직에서 염증성 사이토카인 TNF- α 의 발현을 억제하는지 알아보기 위해 Western blot을 수행하였다. 트립신을 생쥐 발바닥 조직에 주사하고 3시간 후에 조직내에 TNF- α 단백질의 발현은 현저하게 유도되었으나 추출물(10 mg/kg)을 투여한 군의 조직에서는 트립신에 의해 유도된 TNF- α 의 발현을 정상조직수준으로 억제하였다(Fig. 4).

고 찰

세포표면에 발현하는 프로테아제 활성 수용체-2를 활성화시키는 트립신 또는 *tc*-NH₂를 생쥐 발바닥에 주사하면 부종 및 혈관

투과성을 유발할 뿐만 아니라 현저한 호중구의 침윤과 염증성 매개물질들을 분비하는 염증반응의 특징들이 나타난다.^{25,26)} 이와 같은 염증반응 유도모델은 항염증제들을 평가하는데 적합한 방법으로 이용될 수 있다. 본 연구에서는 노랑가지 물추출물이 농도의존적으로 트립신 또는 *tc*-NH₂로 유도한 염증반응을 억제시켰으며, 10 mg/kg 농도에서 최대억제효과를 보여주었다. 노랑가지 물추출물 1000 mg/kg(데이터는 나타나지 않았음)과 같은 고용량을 투여한 군은 10 mg/kg 용량을 투여한 군에 비하여 염증반응을 억제하지 못했다. 이것은 노랑가지 물추출물에 함유되어 있는 전염증성 특성을 가진 활성성분에 기인한 것으로 생각된다.

Kawabata 등²⁵⁾은 프로테아제 활성 수용체-2 활성펩타이드인 SLIGRL-NH₂를 투여했을 때 조직의 투과성(에반스블루 누출)이 비만세포에 의존적으로 빠르게(15분) 증가하였음을 보고하였다. 반면에 Vergnolle 등²⁶⁾은 *tc*-NH₂에 의해 유도된 급성염증반응이 비만세포의 탈과립과는 무관하다는 것을 증명하였다. 비만세포 뿐만 아니라 혈관내피세포,²⁷⁾ 호중구,²⁸⁾ 호산구²⁹⁾들은 프로테아제 활성 수용체-2를 발현하고 있기 때문에 이러한 세포들은 생쥐 발바닥에서 트립신과 *tc*-NH₂의 표적이 될 것이다. 이러한 보고들에 의하면 비만세포, 혈관내피세포, 호중구, 호산구에 발현하고 있는 프로테아제 활성 수용체-2는 염증반응에 중추적 역할을 할 수 있다는 것을 제시한다. 또한 Vergnolle 등²⁶⁾은 프로스타글란딘이나 산화질소가 *tc*-NH₂로 유도한 염증반응에 관여하지 않는다는 것을 증명하였다. 따라서 본 연구에서는 트립신이나 *tc*-NH₂로 유도한 염증조직에서 조직손상에 중요한 역할을 할 것으로 생각되는 MPO 활성 및 TNF- α 의 발현을 평가하였다. 그 결과 트립신이나 *tc*-NH₂로 유도한 염증조직에서는 MPO의 활성 및 TNF- α 의 발현이 현저히 증가하였으나, 노랑가지 추출물을 투여하였을 때는 MPO의 활성 및 TNF- α 의 발현이 정상수준까지 억제되었다.

노랑가지는 알칼로이드와 플라보노이드를 함유하고 있다. 노랑가지의 알칼로이드인 nasunin은 항산화활성이 있으며,¹⁸⁾ 노랑가지의 플라보노이드인 delphinidin은 *in vitro*에서 사람섬유종인 HT080 침윤성에 대해 억제효과를 갖는다.³⁰⁾ 또한 노랑가지의 알칼로이드 분획은 진통효과¹⁹⁾가 있으며 플라보노이드 분획은 혈중지질저하²⁰⁾효과도 있다. 따라서 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질에 의해 유도된 MPO의 활성과 TNF- α 의 발현을 억제하는 노랑가지의 주요 활성성분을 확인하고 정확한 억제기전을 규명해야 할 것이다.

결 론

노랑가지 물추출물은 프로테아제 활성 수용체-2 작용물질로 유도한 부종에서 발바닥 두께의 변화, 혈관투과성, 조직내 MPO의 활성, 조직내 TNF- α 의 발현 등을 농도의존적으로 현저하게 억

제하였다. 따라서 노랑가지 물추출물은 프로테아제 활성 수용체-2를 내개한 염증치료에 유용할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업(02-PJ2-PG3-216(1-0009)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

문헌

- 1) Vacfarlane, S. R., Seatter, M. J., Kanke, T., Hunter, G. D. and Flevin, R. : Proteinase-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* **53**, 245 (2001).
- 2) Vi, T. K., Hung, D. T., Wheaton, V. I. and Coughlin, S. R. : Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* **64**, 1357 (1991).
- 3) Nystedt, S., Emilsson, K., Wahlestedt, C. and Sundelin, J. : Molecular cloning of a potential proteinase activated receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 9208 (1994).
- 4) Bohm, S. K., Kong, W., Bromme, D., Smeekens, S. P., Anderson, D. C., Connolly, A., Kahn, M., Nelken, N. A., Coughlin, S. R., Payan, D. G. and Bunnett, N. W. : Molecular cloning expression and potential functions of the human proteinase-activated receptor-2. *Biochem. J.* **314**, 1009 (1996).
- 5) Hollenberg, M. D., Saifeddine, M. and Al-Ani, B. : Proteinase-activated receptor-2 in rat aorta: structural requirements for agonist activity of receptor-activating peptides. *Mol. Pharmacol.* **49**, 229 (1996).
- 6) Ishihara, H., Connolly, A. J., Zeng, D., Kahn, M. L., Zheng, Y. W., Timmons, C., Tram, T. and Coughlin, S. R. : Protease-activated receptor-3 is a second thrombin receptor in humans. *Nature* **386**, 502 (1997).
- 7) Kahn, M. L., Zheng, Y. W., Huang, W., Bigornia, V., Zeng, D., Moff, S., Farese, R. V. Jr., Tam, C. and Coughlin, S. R. : A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature* **394**, 690 (1998).
- 8) Coughlin, S. R. : How the protease thrombin talks to cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 11023 (1999).
- 9) Corvera, C. U., Dery, O., McConalogue, K., Bohm, S. K., Khitin, L. M., Caughey, G. H., Payan, D. G. and Bunnett, N. W. : Mast cell tryptase regulates rat colonic myocytes through proteinase-activated receptor-2. *J. Clin. Invest.* **100**, 1383 (1997).
- 10) Kong, W., Mcconalogue, K., Khitin, L. M., Hollenberg, M. D., Payan, D. G., Bohm, S. K. and Bunnett, N. W. : Luminal trypsin may regulate enterocytes through proteinase-activated receptor-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 8884 (1997).
- 11) Molino, M., Barnathan, E. S., Numerof, R., Clark, J., Dreyer, M., Cumashi, A., Hoxie, J. A., Schechter, N., Woolkalis, M. and Brass, L. F. : Interactions of mast cell tryptase with thrombin receptors and PAR-2. *J. Biol. Chem.* **272**, 4043 (1997).
- 12) Steinhoff, M., Vergnolle, N., Toung, S. H., Tognetto, M., Amadesi, S., Ennes, H. S., Trevisani, M., Hollenberg, M. D., Wallace, J. L., Caughey, G. H., Mitchell, S. E., Williams, L. M., Geppetti, P., Mayer, E. A. and Bunnett, N. W. : Agonists of protease-activated receptor-2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. *Nat. Med.* **6**, 151 (2000).
- 13) Emilsson, K., Wahlestedt, C., Sun, M. K., Nystedt, S., Owman, C. and Sundelin, J. : Vascular effects of proteinase-activated receptor-2 agonist peptide. *J. Vasc. Res.* **34**, 267 (1997).
- 14) Vergnolle, N., Macnaughton, W. K., Al-Ani, B., Saifeddine, M., Wallace, J. L. and Hollenberg, M. D. : Proteinase-activated receptor-2-activating peptides: identification of a receptor that regulates intestinal transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 7766 (1998).
- 15) Hou, L., Kapas, S., Cruchley, A. T., Macey, M. G., Harriott, P., Chinni, C., Stone, S. R. and Howells, G. L. : Immunolocalization of protease-activated receptor-2 in skin: receptor activation stimulates interleukin-8 secretion by keratinocytes *in vitro*. *Immunol.* **94**, 356 (1998).
- 16) Krishna, M. T., Chauhan, A., Little, L., Sampson, K., Hawksworth, R., Mant, T., Djukanovic, R., Lee, T. and Holgate, S. : Inhibition of mast cell tryptase by inhaled APC 366 attenuates allergen-induced late-phase airway obstruction in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **107**, 1039 (2001).
- 17) Leirisalo-Repo, M. : The present knowledge of the inflammatory process and the inflammatory mediators. *Pharmacol. Toxicol.* **75**, 1 (1994).
- 18) Noda, Y., Kaneyuki, T., Igarashi, K., Mori, A. and Packer, L. : Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **102**, 175 (1998).
- 19) Vohora, S. B., Kumar, I. and Khan, M. S. : Effect of alkaloids of *Solanum melongena* on the central nerve system. *J. Ethnopharmacol.* **11**, 331 (1984).
- 20) Sudheesh, S., Presannakumar, G., Vijayakumar, S. and Vijaylakshmi, N. R. : Hypolipidemic effect of flavonoids from *Solanum melongena*. *Plant Foods Hum. Nutr.* **51**, 321 (1997).
- 21) Lee, Y. M., Jeong, H. J., Na, H. J., Kim, D. K., Chae, H. J., Kim, H. R. and Kim, H. M. : Inhibition of immunologic and nonimmunologic stimulation-mediated anaphylactic shocks by water extract of white eggplant (*Solanum melongena*). *Pharmacol. Res.* **43**, 405 (2001).
- 22) Saifeddine, M., Roy, S. S., Al-Ani, B., Triggle, C. R. and Hollenberg, M. D. : Endothelium-dependent contractile actions of proteinase-activated receptor-2 activating peptides and human umbilical vein: release of a contracting factor via a

- novel receptor. *Br. J. Pharmacol.* **125**, 1445 (1998).
- 23) Katayama, S., Shionoya, H. and Ohtake, S. : A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. *Microbiol. Immunol.* **22**, 89 (1978).
- 24) Bradley, P. P., Priebe, D. A., Christensen, R. D. and Rothstein, G. : Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J. Invest. Dermatol.* **78**, 206 (1982).
- 25) Kawabata, A., Kuroda, R., Minami, T., Kataoka, K. and Taneda, M. : Increased vascular permeability by a specific agonist of protease-activated receptor-2 in rat hindpaw. *Br. J. Pharmacol.* **125**, 419 (1998).
- 26) Vergnolle, N., Hollenberg, M. D., Sharkey, K. A. and Wallace, J. L. : Characterization of the inflammatory response to proteinase-activated receptor-2 (PAR-2)-activating peptides in the rat paw. *Br. J. Pharmacol.* **127**, 1083 (1999).
- 27) Nystedt, S., Ramakrishnan, V. and Sundelin, J. : The proteinase-activated receptor-2 is induced by inflammatory mediators in human endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **271**, 14910 (1996).
- 28) Howells, G. L., Macey, M., Chinni, C., Hou, L., Fox, M. T., Harriott, P. and Stone, S. : Proteinase-activated receptor-2: expression by human neutrophils. *J. Cell Sci.* **110**, 881 (1997).
- 29) Miike, S., McWilliam, A. S. and Kita, H. : Trypsin induces activation and inflammatory mediator release from human eosinophils through protease-activated receptor-2. *J. Immunol.* **167**, 6615 (2001).
- 30) Nagase, H., Sasaki, K., Kito, H., Haga, A. and Sato, T. : Inhibitory effect of delphinidin from *Solanum melongena* on human fibrosarcoma HT-1080 invasiveness *in vitro*. *Planta Med.* **64**, 216 (1998).