

## 총설

## Toll-like receptors 신호전달체계 조절을 통한 resveratrol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, curcumin의 항염증 효과

윤형선\*

순천향대학교 의료과학대학 임상병리학과

### Anti-inflammatory Effects of Resveratrol, (-)-Epigallocatechin-3-gallate and Curcumin by the Modulation of Toll-like Receptor Signaling Pathways

Hyung-Sun Youn\*

Department of Biomedical Laboratory Science, College of Medical Sciences, Soonchunhyang University

**Abstract** Toll-like receptors (TLRs) induce innate immune responses that are essential for host defenses against invading microbial pathogens, thus leading to the activation of adaptive immune responses. In general, TLRs have two major downstream signaling pathways: the MyD88- and TRIF-dependent pathways, which lead to the activation of NF- $\kappa$ B and IRF3. Numerous studies have demonstrated that certain phytochemicals possessing anti-inflammatory effects inhibit NF- $\kappa$ B activation induced by pro-inflammatory stimuli, including lipopolysaccharides and TNF $\alpha$ . However, the direct molecular targets for such anti-inflammatory phytochemicals have not been fully identified. Identifying the direct targets of phytochemicals within the TLR pathways is important because the activation of TLRs by pro-inflammatory stimuli can induce inflammatory responses that are the key etiological conditions in the development of many chronic inflammatory diseases. In this paper, we discuss the molecular targets of resveratrol, (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), and curcumin in the TLR signaling pathways. Resveratrol specifically inhibited the TRIF pathway in TLR3 and TLR4 signaling, by targeting TBK1 and RIP1 in the TRIF complex. Furthermore, EGCG suppressed the activation of IRF3 by targeting TBK1 in the TRIF-dependent signaling pathways. In contrast, the molecular target of curcumin within the TLR signaling pathways is the receptor itself, in addition to IKK $\beta$ . Together, certain dietary phytochemicals can modulate TLR-derived signaling and inflammatory target gene expression, and in turn, alter susceptibility to microbial infection and chronic inflammatory diseases.

**Key words:** innate immunity, Toll-like receptors, phytochemicals, resveratrol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, curcumin, MyD88, TRIF

### 서 론

선천성 면역(innate immunity) 반응은 식물로부터 사람에 이르기까지 거의 모든 생물체 안에 존재하는 숙주의 방어 체계이다

**Abbreviations:** TLRs, Toll-like receptors; PAMP, pathogen associated molecular patterns; PRR, pattern recognition receptor; LPS, lipopolysaccharide; PGN, peptidoglycan; LTA, lipoteichoic acid; MALP-2, macrophage-activating lipopeptide 2-kDa; Poly[I:C], polyribonucleic polyribocytidylic acid; CpG DNA, cytosine phosphate guanine DNA; MyD88, myeloid differential factor 88; TRIF, TIR domain-containing adapter inducing IFN $\beta$ ; IFN, interferon; IKB, inhibitor of kappa B; IKK, IKB kinase; IRAK, IL-1 receptor-associate kinase; TBK1, TANK-binding kinase 1; RIP1, receptor interacting protein 1; IRF3, IFN-regulatory factor 3; NF- $\kappa$ B, nuclear factor  $\kappa$ B; AP-1, activator protein 1; EGCG, (-)-epigallocatechin-3-gallate; COX-2, cyclooxygenase-2; iNOS, inducible nitric oxide synthase.

\*Corresponding author: Hyung-Sun Youn, Department of Biomedical Laboratory Science, College of Medical Sciences, Soonchunhyang University, 646 Eupnae-ri, Shinchang-myun, Asan-si, Chungnam 336-745, Korea

Tel: 82-41-530-3086

Fax: 82-41-530-3085

E-mail: hyoun@sch.ac.kr

Received July 4, 2007; accepted September 8, 2007

(1-3). 선천성 면역 반응은 무척추 동물에 있어서는 병원균에 대항하기 위한 숙주의 유일한 방어 체계이지만, 고등동물에 있어서는 병원균에 대항하기 위한 숙주의 최초 방어 체계라 할 수 있다. 선천성 면역 반응이 활성화되기 위해서는 다음의 조건들이 만족되어야만 한다. 첫째, 선천성 면역 체계에 의해서 인식되어지는 molecular pattern들은 어떤 병원균 하나만이 특별히 가지고 있는 구조가 아니라 여러 병원균들이 공통으로 가지고 있는 구조이어야 한다. 둘째, 이러한 molecular pattern들은 병원체의 생명을 유지하거나 병원성(pathogenicity)을 유지하기 위해서 필수적인 물질인 만큼 변형되어서는 안된다. 셋째, 병원체의 molecular pattern들은 숙주의 self antigen들로부터 구별되어야 한다. 즉 선천성 면역 반응을 유도하기 위해서는 숙주가 self antigen들부터 병원체의 nonself antigen들을 구별할 수 있어야만 한다(3).

이러한 병원균들이 가지고 있는 molecular pattern들은 pathogen associated molecular patterns(PAMPs)라고 불리운다(4,5). 선천성 면역반응을 유도하는 PAMPs의 흔한 구조들로는 lipopolysaccharide(LPS), peptidoglycan(PGN), lipoteichoic acid(LTA), double stranded RNA(dsRNA), flagellin, unmethylated CpG(cytosine phosphate guanine) DNA 등이 있다(4-8). 병원균들의 PAMPs는 숙주안에 있는 pattern recognition receptors(PPR)에 의해서 인식되어지는데, 선천성 면역 반응을 위해서 중요한 역할을 하는 Toll-like receptors(TLRs)가 PPR 역할을 하게 된다(4,9,10).

## Toll-like Receptor

Toll-like receptor는 선천성 면역반응 조절을 위해 중요한 역할을 한다.

Toll-like receptors는 박테리아나 바이러스 등 병원체들이 숙주안에 침입하였을 때, 병원균들만이 가지고 있는 구조를 인식하여 선천성 면역 반응과 뒤이어 후천성 면역(acquired immunity) 반응을 유도하는 중요한 역할을 한다(10-14). Toll이 발견되기 이전까지는 면역하면 주로 후천성 면역을 이야기하였지만, Toll이 발견된 이후로 선천성 면역에 많은 관심을 가지게 되었다. Toll은 1991년에 초파리(*Drosophila melanogaster*) 안에서 처음으로 발견되었으며, 1997년에 초파리 Toll과 유사한 human Toll이 발견되었다(15). 이러한 포유동물이 가지고 있는 Toll을 초파리 Toll과 구별하기 위하여 Toll-like receptor라 명명하게 되었다. 현재까지 13개의 TLRs가 포유동물 안에서 발견되었으며, 각각의 TLRs은 미생물들이 가지고 있는 서로 다른 구조를 인식하는 것으로 알려져 있다(Fig. 1).

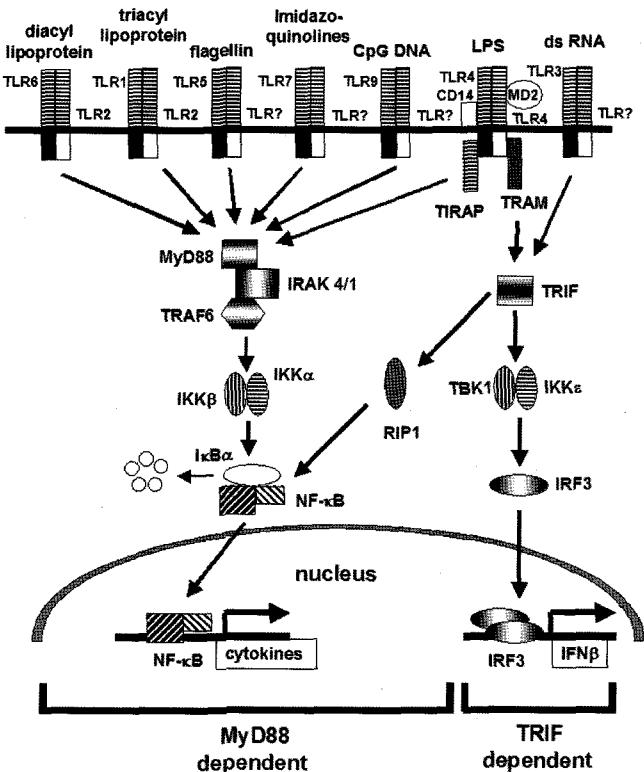
TLRs은 광범위하게 MyD88-과 TRIF-dependent 신호전달 체계를 가지고 있다.

TLRs은 여러 병원균들에 의한 첫 번째 반응으로서 dimerization을 형성하는 것으로 알려져 있다(5). TLR4는 다른 TLR4와 homodimerization을 형성해서 LPS를 인식하고(16), TLR2는 TLR1이나 TLR6와 heterodimerization을 형성해서 각각 tri-acyl 또는 di-acyl lipopeptides를 인식하는 것으로 알려져 있다(17). 하지만 그 이외의 TLRs는 아직 어떤 TLRs와 dimerization을 형성하는지 정확히 알려져 있지 않다. Agonists에 의해서 유도된 receptor의 dimerization은 TLRs에 의해서 유도되는 신호 전달 체계의 활성화와 뒤이어 발생하는 선천성 그리고 후천성 면역 반응을 유도하게 된다. TLRs는 광범위하게 두 개의 신호 전달 체계인 MyD88(myeloid differential factor 88)과 TRIF(Toll/IL-1R domain-containing adaptor inducing IFN- $\beta$ ) dependent 신호전달 체계를 가지고 있다(Fig. 1)(10). MyD88은 TLR3를 제외한 모든 포유동물에서 발견되는 TLRs의 TIR(Toll/IL-1R) 도메인에 붙는 즉각적인 어댑터(adaptor) 분자이다(10). MyD88은 IRAK-4(IL-1 receptor-associated kinase 4)를 유도하고, IRAK-4는 IRAK-1을 인산화시키며, 인산화된 IRAK-1은 스스로 분해된다. 또한 인산화된 IRAK-1은 TRAF6(TNF receptor-associated factor 6)를 유도하며, TRAF6는 I $\kappa$ B kinase(inhibitor of kappa B kinase, IKK)를 활성화시켜, 전사요소 NF- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B)의 활성화를 유도한다. MyD88 신호전달 체계를 통한 NF- $\kappa$ B 활성화는 결국 cytokine이나 cyclooxygenase-2(COX-2)와 같은 inflammatory gene products 유도하여 여러 질병을 유발하게 된다(18).

TLR3와 TLR4는 MyD88 대신에 adaptor molecule인 TRIF를 통하여 interferon(IFN)이나 IFN에 의해서 유도되는 유전체들을 이끄는 신호 전달 체계를 활성화 시킨다(Fig. 1)(19). TRIF는 TBK1(TANK-binding kinase 1)과 IRF3(IFN regulatory factor 3)를 통하여 IFN $\beta$ 나 IFN에 의해서 유도되는 유전체들을 유도한다. 또한 TRIF의 C-말단 부분은 RIP1(receptor interacting protein 1)과 반응하여 delayed된 NF- $\kappa$ B 활성화를 유도한다(20). 그래서 TRIF는 IRF3 활성화를 위해서 TBK1을 사용하고, NF- $\kappa$ B 활성화를 위해서 RIP1을 사용한다(19,21).

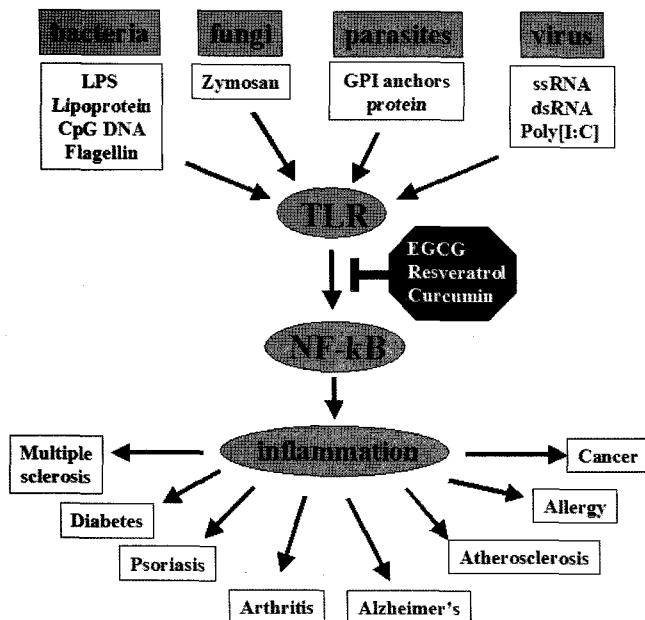
NF- $\kappa$ B는 인간의 면역반응을 위해 중요한 역할을 하는 전사요소(transcription factor)이다.

NF- $\kappa$ B는 거의 모든 알려져 있는 세포에서 발견되는 중요한 전



**Fig. 1. Toll-like receptor(TLR) signaling pathways and their agonists.** TLRs have two major downstream signaling pathways; MyD88- and TRIF-dependent pathways leading to the activation of NF- $\kappa$ B and IRF3. TLR2 dimerized with TLR1 or TLR6 recognizes triacyl or diacyl lipopeptides of Gram-positive bacteria. TLR4 recognizes bacterial LPS. TLR5 recognizes bacterial flagellin. TLR3 recognizes double-stranded RNA (dsRNA). TLR7 recognizes imidazoquinolines and single-stranded viral RNA (ssRNA). TLR9 recognizes both viral and bacterial CpG DNA motifs. LPS, lipopolysaccharide; CpG DNA, cytosine phosphate guanine DNA; MyD88, myeloid differential factor 88; TRIF, TIR domain-containing adapter inducing IFN- $\beta$ ; IFN, interferon; TIRAP, TIR domain-containing adapter protein; TRAM, TRIF-related adapter molecule; I $\kappa$ B $\alpha$ , inhibitor of kappa B alpha; IKK, I $\kappa$ B kinase; IRAK, IL-1 receptor-associated kinase; TBK1, TANK-binding kinase 1; RIP1, receptor interacting protein 1; IRF3, IFN-regulatory factor 3; NF- $\kappa$ B, nuclear factor  $\kappa$ B.

사 요소(transcription factor)이다(22). NF- $\kappa$ B는 발달(development), 염증(inflammation), 면역(immunity)을 위해서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 많은 종류의 박테리아나 바이러스가 NF- $\kappa$ B를 활성화시키며, 그렇게 활성화된 NF- $\kappa$ B는 cytokine과 chemokine을 포함한 immune/inflammatory에 관여하는 여러 종류의 타깃 유전자의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다(22). NF- $\kappa$ B는 주로 heterodimerization의 형태로 NF- $\kappa$ B 억제제 I $\kappa$ B $\alpha$ (inhibitor of kappa B alpha)와 결합하여 세포질(cytoplasm) 안에 존재한다(23). 여러 병원체들에 의해 활성화된 신호들은 I $\kappa$ B $\alpha$ 를 인산화시키며, 인산화된 I $\kappa$ B $\alpha$ 는 26S proteasome에 의해서 분해되어 NF- $\kappa$ B를 자유롭게 만든다. 자유롭게 된 NF- $\kappa$ B는 핵 안으로 translocation되어 DNA에 결합하여 타깃 유전자의 발현을 자극해 암이나 질병을 유발하게 된다(22,23). 병원균들이 숙주 안에 들어왔다면, TLRs가 병원균들을 인식해서, 신호를 아래로 보내 NF- $\kappa$ B를 활성화 시켜 cytokine 등 inflammatory gene products를 유도한다. 일반적으로 inflammatory gene products는 후천성 면역 반응을 유도해서



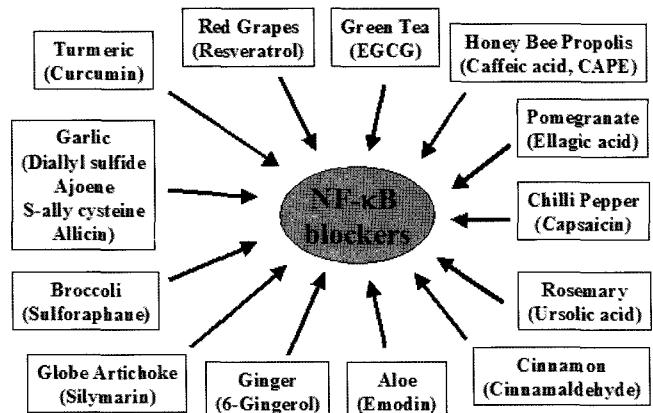
**Fig. 2. Several diseases caused by the NF-κB activation mediated through Toll-like receptors.** Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) induce NF-κB activation mediated through TLRs. NF-κB activation induces inflammation and then many inflammatory diseases. Resveratrol, (-)-epigallocatechin-3-gallate and curcumin, which have anti-cancer and anti-inflammatory effects, inhibit NF-κB activation induced by PAMPs.

병원균들에 의해서 유도되는 여러 질병으로부터 숙주를 보호하여 준다. 하지만 계속된 병원균의 자극에 의해 숙주의 면역시스템에 과부하가 걸렸을 때에는 inflammatory gene products는 오히려 염증을 유발해 암이나 여러 질병을 유발하게 된다. Fig. 2는 여러 병원균들이 TLRs와 NF-κB 활성화를 통해 어떻게 여러 질병을 유발하는지, 또한 phytochemicals 등이 NF-κB 활성화를 억제하여 어떻게 anti-cancer, anti-inflammatory effects를 가지고 있는지를 보여주고 있다. 그러므로, 병원균들에 의해 유도된 NF-κB 활성화를 억제시킬 수 있다면, NF-κB 활성화에 의해 유도되는 inflammatory gene products의 양을 감소시켜, 그 결과로 암이나 질병들을 예방할 수 있게 되는 것이다. 본 논문에서는 TLRs 신호전달 체계 안에서 molecular targets이 밝혀진 phytochemicals에 대해서 기술하고자 한다. 그 중에서도 포도껍질에 주로 포함되어 있는 resveratrol(24), 녹차에 포함되어 있는(-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG)(25), 그리고 카레의 주성분인 curcumin에(26) 대해 소개하고자 한다. 이러한 설명에 의해서 앞으로 기능성 식품에 대해 연구하고자 하는 연구자들에게 TLRs에 의해서 조절되어지는 염증반응이나 또는 뒤이어 발생하는 만성적인 질병들이, 우리가 흔히 먹는 식품이나 약초들에 포함되어 있는 phytochemicals에 의해서 어떻게 조절되는지를 이해하는데 실질적인 도움이 되었으면 한다.

## Phytochemicals

많은 phytochemical들은 병원균들에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제시킨다.

우리가 흔히 먹는 여러 식품중에는 많은 phytochemical들이 포함되어 있다. 이러한 phytochemical들은 TNF $\alpha$ , LPS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 같



**Fig. 3. NF-κB inhibitors found in dietary agents.**

은 여러 pro-inflammatory 자극에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제시킨다(Fig. 3)(24,26-28). 또한 선천성 면역 반응을 조절하기 위해서 중요한 역할을 하는 TLRs를 통한 NF-κB 활성화는 현재 매우 체계적으로 잘 알려진 신호전달 체계이다. 그래서 NF-κB 활성화 억제 효과가 있다고 알려져 있으며 식품이나 약초에 많이 포함되어 있는 phytochemical들이 어떻게 TLRs 신호전달 체계를 조절하여 항암, 항염증효과를 가지고 있는지를 설명하고자 한다.

## Resveratrol

Resveratrol(3,4',5-trihydroxy-trans-stilbene)은 포도의 껍질이나 쪽포도주와 같이 포도로 만든 것에서 주로 발견되는 polyphenol이다(Fig. 4). Resveratrol은 포도가 외부의 손상이나 곰팡이, 세균, 바이러스, 자외선 조사, 화학물질들의 자극에 대항하기 위해서 식물체 스스로가 분비하는 phytoalexins 중의 하나로 알려져 있다(29,30). 포유동물 안에서 resveratrol은 항염증효과와 chemopreventive 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. Resveratrol은 전립선(prostate), 유방(breast), 결장(colon) 암세포를 포함한 여러 암세포의 성장과 발암성을 억제시키는 것으로 알려져 있으며(31), 특히 “French Paradox”를 설명하는 물질로 밝혀졌다(32). 프랑스 사람들은 육류나 기름진 음식을 많이 섭취하면서도 심장병으로 인한 사망률이 주변국가들에 비해서 낮았다. 그래서 그 이유를 찾아보았더니 바로 적포도주 때문이라는 것이 밝혀졌다. 이와같이 프랑스인들에게서 나타나는 기이한 현상을 “French Paradox”라고 부르게 되었다. 또한 최근의 연구에 의하면 resveratrol은 sirtuin 유전자를 조절하여 혈관의 생장을 연장시키는 물질로 알려졌다(33). Resveratrol은 TPA, LPS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 같은 여러 pro-inflammatory 자극제에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제 시켜, 염증을 유발하는 물질인 cytokines, COX-2, iNOS의 발현을 억제시키는 것으로 알려져 있다(34-39). 그러나 resveratrol의 정확한 molecular target은 우리가 선천성 면역 반응을 위해서 중요한 역할을 하는 TLRs 신호전달 체계 안에서 찾기 전까지는 잘 알려져 있지 않았다(24).

Resveratrol은 LPS(TLR4 agonist) 또는 Poly[I:C](polyriboinosinic polyribocytidyllic acid, TLR3 agonist)에 의해서 유도된 NF-κB 활성화와 COX-2 발현을 억제시킨다고 알려져 있다(24). 하지만 resveratrol은 MALP-2(Macrophage-activating lipopeptide 2-kDa, TLR2 agonist) 또는 unmethylated CpG DNA(TLR9 agonist)에 의해서 유도된 NF-κB 활성화와 COX-2 발현을 억제시키지 못한

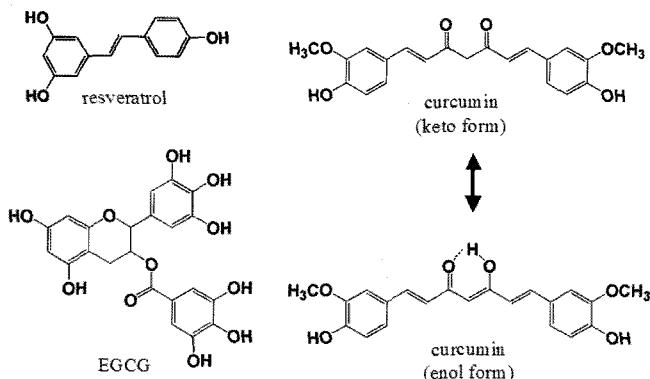


Fig. 4. The molecular structures of resveratrol, (-)-epigallocatechin-3-gallate and curcumin.

다고 알려져 있다(24). 또한 resveratrol은 대식세포(RAW264.7) 안에서 TLRs 신호전달 체계의 downstream molecules인 MyD88 또는 IKK $\beta$ 의 과발현에 의해서 유도된 NF- $\kappa$ B 활성화를 억제시키지 못한다고 알려져 있다(24). TLR4는 MyD88-과 TRIF-dependent 양쪽 신호전달 체계를 통하여 NF- $\kappa$ B 활성화를 유도할 수 있다. 하지만 TLR2와 TLR9은 MyD88-dependent 신호전달 체계만을 통하여, TLR3은 TRIF-dependent 신호전달 체계만을 통하여 NF- $\kappa$ B 활성화를 유도한다. Murakami 등(40)은 resveratrol이 LPS와 IFN $\gamma$ 에 의해서 유도된 I $\kappa$ B $\alpha$ 의 분해를 억제시키지 못한다고 보고하였다. 또한 Manna 등(41)은 resveratrol이 TNF에 의해서 유도된 I $\kappa$ B $\alpha$ 의 인산화와 분해를 억제시키지 못한다고 보고하였다. 그러므로 모든 결과에 의해서 resveratrol의 molecular target은 MyD88-dependent 신호전달 체계가 아니라, TRIF-dependent 신호전달 체계 안에 놓여 있다는 것이 밝혀졌다.

Resveratrol은 TRIF-dependent 신호전달 체계를 사용하는 TLR3와 TLR4의 agonists에 의해서 유도된 IFN $\beta$ 의 발현을 억제시키며, 또한 TRIF-dependent pathway의 signaling molecules인 TRIF 또는 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN $\beta$ 의 발현을 억제시킨다고 알려져 있다(24). 하지만 resveratrol은 IRF3의 과발현에 의해서 유도된 IFN $\beta$ 의 발현을 억제시키지 못한다(24). 이러한 결과는 resveratrol의 molecular target이 IRF3의 upstream, 즉 TBK1이 resveratrol의 molecular target이라는 것을 제기하였고, 그래서 TBK1 kinase assay에 의해서 TBK1이 resveratrol의 분자학적인 타깃이라는 것이 확인되었다(24). 또한 resveratrol은 downstream molecules인 TRIF 또는 RIP1의 과발현에 의해서 유도된 NF- $\kappa$ B 활성화를 억제시킨다(24). 이러한 모든 결과에 의해서 resveratrol의 분자학적인 타깃이 TBK1과 RIP1을 포함한 TRIF complex라는 사실이 밝혀졌다(Fig. 5)(24).

### EGCG

우리가 즐겨 마시는 녹차에는 항염증, chemopreventive 효과를 가지고 있는 여러 종류의 플라보노이드(flavonoids)가 포함되어 있다. Catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin-3-gallate, (-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG) 등이 주로 포함되어 있다(25,42). 이 중에서도 EGCG(Fig. 4)가 가장 강한 anti-oxidative, chemopreventive 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. EGCG의 galloyl group이 항염증 효과를 위해서 중요한 역할을 한다(43,44). EGCG는 UV, LPS, IL- $\beta$  같은 pro-inflammatory 자극제에 의해서 유도된 전사요소 NF- $\kappa$ B와 AP-1(activator protein 1)의 활

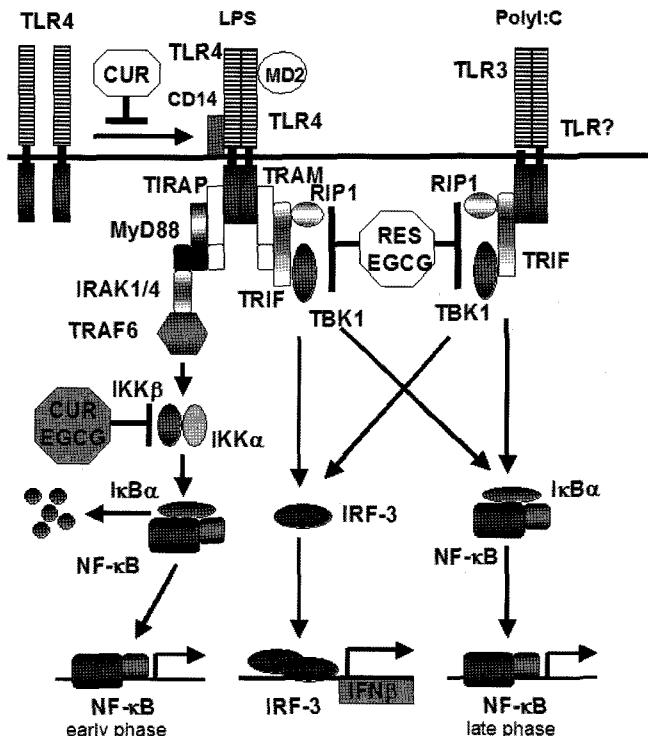


Fig. 5. The molecular targets of resveratrol, (-)-epigallocatechin-3-gallate and curcumin in TLR signaling pathways. TBK1 is the molecular target of resveratrol and EGCG. IKK $\beta$  is the molecular target of curcumin and EGCG. Curcumin also inhibits the dimerization of TLR4 induced by lipopolysaccharide. EGCG, (-)-epigallocatechin-3-gallate; RES, resveratrol; CUR, curcumin.

성화를 억제시킨다(45-47). 그 결과 lipoxygenase(48), COX-2(49,50), iNOS(51,52), TNF $\alpha$ (46) 포함한 inflammatory gene products의 발현을 억제시킨다. EGCG는 IKK $\beta$ 를 분자학적인 타깃으로 삼아서 pro-inflammatory 자극제에 의해서 유도된 NF- $\kappa$ B 활성화를 억제시킨다(53,54). 즉 EGCG는 key kinase인 IKK $\beta$ 의 조절을 통하여 MyD88 dependent 신호전달 체계를 조절한다.

EGCG는 LPS(TLR4 agonist) 또는 PolyI:C(TLR3 agonist)에 의해서 유도된 IFN $\beta$ 의 발현과 IRF3 인산화를 억제시킨다(25). 또한 EGCG는 TRIF와 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFN $\beta$ 의 발현을 억제시킨다(25). 하지만 EGCG는 IRF3의 과발현에 의해서 유도된 IFN $\beta$ 의 발현을 억제시키지 못한다. 이러한 결과 또한 EGCG의 분자학적인 타깃이 TBK1이 될 거라는 것을 제기하였고, TBK1 kinase assay에 의해서 EGCG의 분자학적인 타깃이 TBK1이라는 것이 확인되었다(25). 그래서 EGCG는 IKK $\beta$ 와 TBK1을 molecular target으로 하여 각각 MyD88-과 TRIF-dependent 신호전달 체계를 조절하는 것이 밝혀졌다(Fig. 5)(25).

### Curcumin

Curcumin은 *Curcuma longa* 안에서 발견되는 노란색을 띠고 있는 phytochemicals 중의 하나이다. Curcumin은 고체 상태에서는 keto형으로, 액체 안에서는 enol form으로 존재한다(Fig. 4) (55,56). Ketone group의 산소와 hydroxy group의 수소가 서로 hydrogen bond를 형성해서 보다 안정된 상태로 존재 할 수 있기 때문에, curcumin이 액체 상태에서는 enol형으로 존재하는 것이다. Curcumin은 IKK $\beta$ 를 분자학적인 타깃으로 하여 여러 pro-inflammatory

자극제에 의해서 유도된 NF-κB 활성화를 억제 시킨다(57-60). Curcumin 또한 key kinase인 IKKβ의 조절을 통하여 MyD88 dependent 신호전달 체계를 조절한다(26).

Curcumin은 LPS(TLR4 agonist)에 의해서 유도된 IFNβ의 발현을 억제시키지만, TRIF나 TBK1의 과발현에 의해서 유도된 IFNβ의 발현을 억제시키지 못한다고 알려져 있다(26). 이러한 결과는 curcumin의 molecular target이 TRIF 위에 놓여있으며, 수용체 자체가 curcumin의 molecular target이라는 것을 제기한다. 수용체의 dimerization은 TLRs에 의해서 유도되는 신호 전달 체계의 활성화와 뒤이어 발생하는 선천성 그리고 후천성 면역 반응을 유도하기 위해서 최초로 일어나는 반응중 하나로 알려져 있다. 또한 TLR4는 ligand에 독립적으로 homodimerization을 형성해서 NF-κB 활성화를 유도한다(15,18,61). Curcumin은 LPS 또는 ligand에 독립적으로 유도된 TLR4의 homodimerization을 억제 시킨다(26). 또한 curcumin은 LPS에 의해서 유도된 IRAK-1 분해를 억제 시킨다(26). 이러한 결과에 의해서 curcumin의 분자학적인 타깃이 IKKβ에 부가적으로 IRAK-1위에 놓여 있다는 것이 밝혀졌으며, curcumin이 최초의 방어체계라 할 수 있는 수용체의 dimerization을 억제하여 NF-κB 활성화를 억제시키는 것이 밝혀졌다(26). 이와 같은 결과는 phytochemical이 신호전달 체계 안에서 중간에 존재하는 어떤 signaling 단백질만을 molecular target으로 하는 것이 아니라, 수용체 level을 타깃으로 할 수 있다는 것을 보여주는 결과이다.

많은 식물들에는 병원균들에 의해서 유도된 NF-κB의 활성화를 억제하는 효과를 가지고 있는 phytochemical들이 포함되어 있다(24,26-28,62). 이러한 phytochemicals 중에서 Michael addition에 의해서 cysteine 잔기의 sulphydryl 그룹에 반응할 수 있는 구조를 가지고 있는 polyphenol이나 sesquiterpene lactone 등이 많이 있다(63-66). α,β-Uncsaturated carbonyl group을 가지고 있는 curcumin은 IKKβ에 있는 cysteine의 sulphydryl(-SH) 그룹에 붙어서 IKKβ 인산화 효소의 효과를 억제시킨다(57,67). Sesquiterpene lactone 중의 하나인 helenalin은 p65/NF-κB 안에 있는 두 개의 cysteine(Cys38, Cys120)에 붙어서 NF-κB의 DNA 결합을 억제시킨다(63,66). 그 외에도 많은 연구에 의하면 α,β-unsaturated carbonyl group을 가지고 있는 phytochemical들은 Michael addition에 의해서 cysteine의 sulphydryl 그룹에 붙어 단백질의 활성을 억제시킨다고 알려져 있다(64,65). TLRs는 세포막의 바깥쪽에 여러 개의 leucine이 반복적으로 나타나고, cysteine이 풍부한 지역이 있으며, 또한 세포막 안쪽에는 TIR(Toll/IL-1R homologous) 지역을 가지고 있는 세포막을 통과하는 Type I 단백질이다. 그러므로 TLRs는 세포막의 안과 밖으로 여러 개의 cysteine 잔기를 가지고 있다. 이러한 cysteine 잔기는 아마도 두 개의 TLRs가 결합하기 위하여 이황화물(disulfide) 결합을 형성할 것으로 알려져 있다(68). 그러므로 curcumin과 같이 Michael addition 반응을 유도할 수 있는 구조를 가진 phytochemicals는 TLRs의 cysteine 잔기에 결합을 해서 TLRs의 dimerization을 억제시켜 항염증 효과를 가지고 있다는 것이 밝혀졌다.

## 결 론

선천성 면역반응을 조절하는데 있어서 중요한 역할을 하는 TLRs 신호전달 체계는, 최근 세계 각국에서 최소한 매주 한편 이상의 논문이 발표될 정도로 많은 연구가 활발하게 진행되고 있는 분야이다. 또한 TLRs를 통한 NF-κB 활성화는 현재 매우 체계적으로 잘 정리된 신호전달 체계이다. 우리가 흔히 먹는 여러

식품 중에는 phytochemicals이라고 불리 우는 여러 기능성 소재들이 포함되어 있다. 특히 phytochemicals 중에서 항염증 효과가 있다고 널리 알려져 있는 resveratrol, EGCG, curcumin의 분자학적인 타깃이 TLRs 신호전달 체계 안에서 밝혀졌다. 기존의 논문들은 phytochemical들이 암이나 염증을 억제시킨다는 결과를 관찰하는데 중점을 두었지만, 본 논문에서는 phytochemical들이 어느 곳을 molecular target으로 하여 어떻게 항염증 효과를 가지고 있는지를 서술하는데 중점을 두었다. 기능성 식품의 주된 목적은, 일반적인 약들과 다르게 질병을 치료하는데 중점을 두는 것이 아니라, 질병을 예방하는 것이 주된 목적이기 때문에, 선천성 면역반응을 위해서 필수적인 역할을 하는 TLRs 신호전달 체계 안에서 phytochemical들의 molecular targets의 발견은 기능성 식품의 주된 목적을 잘 설명해 주는 것이라 할 수 있겠다.

## 문 헌

- Ulevitch RJ. Molecular mechanisms of innate immunity. *Immunol. Res.* 21: 49-54 (2000)
- Ulevitch RJ. Therapeutics targeting the innate immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 4: 512-520 (2004)
- Hoebe K, Janssen E, Beutler B. The interface between innate and adaptive immunity. *Nat. Immunol.* 5: 971-974 (2004)
- Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunol. Lett.* 85: 85-95 (2003)
- Liew FY, Xu D, Brint EK, O'Neill LA. Negative regulation of Toll-like receptor-mediated immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 446-458 (2005)
- Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tlr4 gene. *Science* 282: 2085-2088 (1998)
- Underhill DM, Ozinsky A, Hajjar AM, Stevens A, Wilson CB, Bassetti M, Aderem A. The Toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. *Nature* 401: 811-815 (1999)
- Rezaei N. Therapeutic targeting of pattern-recognition receptors. *Int. Immunopharmacol.* 6: 863-869 (2006)
- Beutler B, Hoebe K, Du X, Ulevitch RJ. How we detect microbes and respond to them: The Toll-like receptors and their transducers. *J. Leukocyte Biol.* 74: 479-485 (2003)
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol.* 17: 1-14 (2005)
- Beutler B, Jiang Z, Georgel P, Crozat K, Croker B, Rutschmann S, Du X, Hoebe K. Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu. Rev. Immunol.* 24: 353-389 (2006)
- Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 1: 135-145 (2001)
- O'Neill LA. TLRs: Professor Mechnikov, sit on your hat. *Trends Immunol.* 25: 687-693 (2004)
- Vogel SN, Fitzgerald KA, Fenton MJ. TLRs: Differential adapter utilization by Toll-like receptors mediates TLR-specific patterns of gene expression. *Mol. Interv.* 3: 466-477 (2003)
- Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 388: 394-397 (1997)
- Miyake K. Innate recognition of lipopolysaccharide by Toll-like receptor 4-MD-2. *Trends Microbiol.* 12: 186-92 (2004)
- Hajjar AM, O'Mahony DS, Ozinsky A, Underhill DM, Aderem A, Klebanoff SJ, Wilson CB. Cutting edge: Functional interactions between Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR1 or TLR6 in response to phenol-soluble modulin. *J. Immunol.* 166: 15-19 (2001)
- Rhee SH, Hwang D. Murine Toll-like receptor 4 confers lipopolysaccharide responsiveness as determined by activation of NF kappa B and expression of the inducible cyclooxygenase. *J.*

- Biol. Chem. 275: 34035-34040 (2000)
19. Sato S, Sugiyama M, Yamamoto M, Watanabe Y, Kawai T, Takeda K, Akira S. Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN-beta (TRIF) associates with TNF receptor-associated factor 6 and TANK-binding kinase 1, and activates two distinct transcription factors, NF-kappa B and IFN-regulatory factor-3, in the Toll-like receptor signaling. J. Immunol. 171: 4304-4310 (2003)
  20. Meylan E, Burns K, Hofmann K, Blancketeau V, Martinon F, Kelliher M, Tschoop J. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. Nat. Immunol. 5: 503-507 (2004)
  21. Fitzgerald KA, McWhirter SM, Faia KL, Rowe DC, Latz E, Golenbock DT, Coyle AJ, Liao SM, Maniatis T. IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. Nat. Immunol. 4: 491-496 (2003)
  22. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. Oncogene 18: 6853-6866 (1999)
  23. Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. Cell 109: S81-S96 (2002)
  24. Youn HS, Lee JY, Fitzgerald KA, Young HA, Akira S, Hwang DH. Specific inhibition of MyD88-independent signaling pathways of TLR3 and TLR4 by resveratrol: Molecular targets are TBK1 and RIP1 in TRIF complex. J. Immunol. 175: 3339-3346 (2005)
  25. Youn HS, Lee JY, Saitoh SI, Miyake K, Kang KW, Choi YJ, Hwang DH. Suppression of MyD88- and TRIF-dependent signaling pathways of Toll-like receptor by (-)-epigallocatechin-3-gallate, a polyphenol component of green tea. Biochem. Pharmacol. 72: 850-859 (2006)
  26. Youn HS, Saitoh SI, Miyake K, Hwang DH. Inhibition of homodimerization of Toll-like receptor 4 by curcumin. Biochem. Pharmacol. 72: 62-69 (2006)
  27. Surh YJ. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat. Rev. Cancer 3: 768-780 (2003)
  28. Zingarelli B, Sheehan M, Wong HR. Nuclear factor-kappaB as a therapeutic target in critical care medicine. Crit. Care Med. 31: S105-S111 (2003)
  29. Hain R, Bieseler B, Kindl H, Schroder G, Stocker R. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. Plant Mol. Biol. 15: 325-335 (1990)
  30. Hain R, Reif HJ, Krause E, Langebartels R, Kindl H, Vornam B, Wiese W, Schmelzer E, Schreier PH, Stocker RH, Stenzel K. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. Nature 361: 153-156 (1993)
  31. Pervaiz S. Resveratrol: From grapevines to mammalian biology. FASEB J. 17: 1975-1985 (2003)
  32. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? Eur. J. Endocrinol. 138: 619-620 (1998)
  33. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. Nature 425: 191-196 (2003)
  34. Bhat KP, Pezzuto JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol. Ann. NY Acad. Sci. 957: 210-229 (2002)
  35. Martinez J, Moreno JJ. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. Biochem. Pharmacol. 59: 865-870 (2000)
  36. Subbaramiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, Jang M, Pezzuto JM, Dannenberg AJ. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. J. Biol. Chem. 273: 21875-1882 (1998)
  37. Tsai SH, Lin-Shiau SY, Lin JK. Suppression of nitric oxide synthase and the down-regulation of the activation of NFkappaB in macrophages by resveratrol. Brit. J. Pharmacol. 126: 673-680 (1999)
  38. Wadsworth TL, Koop DR. Effects of the wine polyphenolics quercetin and resveratrol on pro-inflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages. Biochem. Pharmacol. 57: 941-949 (1999)
  39. Chan MM, Mattiacci JA, Hwang HS, Shah A, Fong D. Synergy between ethanol and grape polyphenols, quercetin, and resveratrol, in the inhibition of the inducible nitric oxide synthase pathway. Biochem. Pharmacol. 60: 1539-1548 (2000)
  40. Murakami A, Matsumoto K, Koshimizu K, Ohigashi H. Effects of selected food factors with chemopreventive properties on combined lipopolysaccharide- and interferon-gamma-induced IkappaB degradation in RAW264.7 macrophages. Cancer Lett. 195: 17-25 (2003)
  41. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. J. Immunol. 164: 6509-6519 (2000)
  42. Fujiki H. Green tea: Health benefits as cancer preventive for humans. Chem. Rec. 5: 119-132 (2005)
  43. Ikeda I, Tsuda K, Suzuki Y, Kobayashi M, Unno T, Tomoyori H, Goto H, Kawata Y, Imaizumi K, Nozawa A, Kakuda T. Tea catechins with a galloyl moiety suppress postprandial hypertriacylglycerolemia by delaying lymphatic transport of dietary fat in rats. J. Nutr. 135: 155-159 (2005)
  44. Wang X, Song KS, Guo QX, Tian WX. The galloyl moiety of green tea catechins is the critical structural feature to inhibit fatty-acid synthase. Biochem. Pharmacol. 66: 2039-2047 (2003)
  45. Barthelman M, Bair WB 3rd, Stickland KK, Chen W, Timmermann BN, Valcic S, Dong Z, Bowden GT. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibition of ultraviolet B-induced AP-1 activity. Carcinogenesis 19: 2201-2204 (1998)
  46. Yang F, de Villiers WJ, McClain CJ, Varilek GW. Green tea polyphenols block endotoxin-induced tumor necrosis factor-production and lethality in a murine model. J. Nutr. 128: 2334-2340 (1998)
  47. Wheeler DS, Catravas JD, Odoms K, Denenberg A, Malhotra V, Wong HR. Epigallocatechin-3-gallate, a green tea-derived polyphenol, inhibits IL-1 beta-dependent proinflammatory signal transduction in cultured respiratory epithelial cells. J. Nutr. 134: 1039-1044 (2004)
  48. Yang TT, Koo MW. Inhibitory effect of Chinese green tea on endothelial cell-induced LDL oxidation. Atherosclerosis 148: 67-73 (2000)
  49. Metz N, Lobstein A, Schneider Y, Gosse F, Schleifer R, Anton R, Raul F. Suppression of azoxymethane-induced preneoplastic lesions and inhibition of cyclooxygenase-2 activity in the colonic mucosa of rats drinking a crude green tea extract. Nutr. Cancer 38: 60-64 (2000)
  50. Soriani M, Rice-Evans C, Tyrrell RM. Modulation of the UVA activation of haem oxygenase, collagenase and cyclooxygenase gene expression by epigallocatechin in human skin cells. FEBS Lett. 439: 253-257 (1998)
  51. Chan MM, Fong D, Ho CT, Huang HI. Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity by epigallocatechin gallate, a natural product from green tea. Biochem. Pharmacol. 54: 1281-1286 (1997)
  52. Lin YL, Lin JK. (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks the induction of nitric oxide synthase by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of transcription factor nuclear factor-kappaB. Mol. Pharmacol. 52: 465-472 (1997)
  53. Pan MH, Lin-Shiau SY, Ho CT, Lin JH, Lin JK. Suppression of lipopolysaccharide-induced nuclear factor-kappaB activity by theaflavin-3,3'-digallate from black tea and other polyphenols through down-regulation of IkappaB kinase activity in macrophages. Biochem. Pharmacol. 59: 357-367 (2000)
  54. Yang F, Oz HS, Barve S, de Villiers WJ, McClain CJ, Varilek GW. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate blocks nuclear factor-kappa B activation by inhibiting I kappa B kinase activity in the intestinal epithelial cell line IEC-6. Mol. Pharmacol. 60: 528-533 (2001)
  55. Payton F, Sandusky P, Alworth WL. NMR study of the solution structure of curcumin. J. Nat. Prod. 70: 143-146 (2007)
  56. Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: The story so

- far. Eur. J. Cancer 41: 1955-1968 (2005)
57. Pan MH, Lin-Shiau SY, Lin JK. Comparative studies on the suppression of nitric oxide synthase by curcumin and its hydrogenated metabolites through down-regulation of IκB kinase and NF-κB activation in macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 60: 1665-1676 (2000)
58. Jobin C, Bradham CA, Russo MP, Juma B, Narula AS, Brenner DA, Sartor RB. Curcumin blocks cytokine-mediated NF-κB activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I-κB kinase activity. *J. Immunol.* 163: 3474-3483 (1999)
59. Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys. Res. Co.* 206: 533-540 (1995)
60. Kang G, Kong PJ, Yuh YJ, Lim SY, Yim SV, Chun W, Kim SS. Curcumin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression by inhibiting activator protein 1 and nuclear factor κB bindings in BV2 microglial cells. *J. Pharmacol. Sci.* 94: 325-328 (2004)
61. Zhang H, Tay PN, Cao W, Li W, Lu J. Integrin-nucleated Toll-like receptor (TLR) dimerization reveals subcellular targeting of TLRs and distinct mechanisms of TLR4 activation and signaling. *FEBS Lett.* 532: 171-176 (2002)
62. Jeong WS, Kim IW, Hu R, Kong AN. Modulatory properties of various natural chemopreventive agents on the activation of NF-κB signaling pathway. *Pharm. Res.* 21: 661-670 (2004)
63. Rungeler P, Castro V, Mora G, Goren N, Vichnewski W, Pahl HL, Merfort I, Schmidt TJ. Inhibition of transcription factor NF-κB by sesquiterpene lactones: A proposed molecular mechanism of action. *Bioorg. Med. Chem.* 7: 2343-2352 (1999)
64. Dinkova-Kostova AT, Massiah MA, Bozak RE, Hicks RJ, Talalay P. Potency of Michael reaction acceptors as inducers of enzymes that protect against carcinogenesis depends on their reactivity with sulphydryl groups. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 3404-3409 (2001)
65. Siedle B, Garcia-Pineres AJ, Murillo R, Schulte-Monting J, Castro V, Rungeler P, Klaas CA, Da Costa FB, Kisiel W, Merfort I. Quantitative structure-activity relationship of sesquiterpene lactones as inhibitors of the transcription factor NF-κB. *J. Med. Chem.* 47: 6042-6054 (2004)
66. Garcia-Pineres AJ, Castro V, Mora G, Schmidt TJ, Strunck E, Pahl HL, Merfort I. Cysteine 38 in p65/NF-κB plays a crucial role in DNA binding inhibition by sesquiterpene lactones. *J. Biol. Chem.* 276: 39713-39720 (2001)
67. Singh S, Aggarwal BB. Activation of transcription factor NF-κB is suppressed by curcumin (diferuloylmethane). *J. Biol. Chem.* 270: 24995-25000 (1995)
68. Tao X, Xu Y, Zheng Y, Beg AA, Tong L. An extensively associated dimer in the structure of the C713S mutant of the TIR domain of human TLR2. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 299: 216-221 (2002)