

Glucocorticoid에 의한 성상교세포와 미세신경교세포에서의 유전자 발현상의 변화

최연희, 정성철, 은수용

제주대학교 의학전문대학원 생리학교실

(Received November 20, 2012; Revised November 27, 2012; Accepted December 4, 2012)

Abstract

Effects of glucocorticoid treatment on gene expression in astrocytes and microglia

Yan-Ji Cui, Sung-Cherl Jung, Su-Yong Eun

Department of Physiology, Jeju National University School of Medicine, Jeju, Korea

In the present study, we investigated cell type-specific effects of glucocorticoid on cellular function and gene expression in different brain cells. Dexamethasone (DEX, 1 μ M), a synthetic glucocorticoid, was treated for 24 h in HT-22 neurons, C6 astrocytes and BV-2 microglial cells. DEX treatment significantly increased cellular mRNA levels of crystallin alpha B in C6 astrocytes, and the effects were reversed by glucocorticoid receptor (GR) antagonist RU486 (Mifepristone). Lipopolysaccharide (LPS, 200 ng/ml)-induced NO release, nuclei translocation of NF- κ B, degradation of cytosol I κ B, and mRNA expression of TNF- α in microglia, a well-known phenomenon presenting pro-inflammatory capacity of microglia, was suppressed by DEX treatment. These effects were reversed by RU486 treatment. Our results suggest that glucocorticoid might deteriorate neuronal survival and maintenance of function. Astrocytes and microglia might protect damaged neurons vulnerable to stress hormone. Taken together, we postulate neuron-glia interaction and the specific roles of neurons, astrocytes, and microglia in stress responses and stress-related psychiatric disorders such as depression. (J Med Life Sci 2012;9(2):97-102)

Key Words : Stress, Glucocorticoid, Neurons, Astrocytes, Microglia, Neuron-glia interaction.

서론

Stress란 stressful event나 stressor에 대한 유기체의 반응으로 특이적인 생화학적, 생리학적 및 행동면의 변화가 관찰되는 것으로 정의되고 있다¹⁾. 따라서 stress를 보다 근원적인 측면에서 이해하기 위해서는 사회, 문화적 요소를 포함한 심리적 변인에 대한 이해와 더불어 생물학적 연구가 보다 광범위하게 요구된다 하겠다²⁾. 생물학적인 측면에서 스트레스 기전을 살펴보면, 인체가 스트레스에 직면하면 즉각적인 반응으로 교감신경계가 작동되며 이후 부신수질에서 epinephrine을 분비하고, 이어서 시상하부 (hypothalamus)-뇌하수체 (pituitary gland)-부신피질 (adrenal gland)의 HPA 내분비축을 통하여 부신피질에서 glucocorticoid hormone 분비가 촉진되어 epinephrine과

glucocorticoid hormone에 의한 전신적 스트레스 반응이 나타난다³⁾.

인체의 스트레스 반응은 위급한 상황에 대하여 인체의 항상성 (homeostasis)을 유지하기 위하여 발생하나 지속적이고 정도가 과도한 경우 위궤양, 빈맥, 면역저하 등 전신적인 장기에 심각한 장애와 질병을 초래한다. 본 논문에서는 과도하고 지속적인 스트레스로 인하여 유발되는 우울증 등 정신질환에서 스트레스 호르몬이 뇌세포에 어떠한 영향을 끼칠 수 있는지를 분자 수준과 세포 수준에서 뇌세포의 스트레스 반응에 관심을 두고 있다. 스트레스 상황에서 뇌조직에 스트레스 호르몬이 증가하면 신경세포 (neuron) 뿐만 아니라 주요한 뇌세포인 성상교세포 (astrocyte), 미세신경교세포 (microglia) 등도 스트레스 호르몬의 영향을 받게 될 것이다. 각각의 세포가 독립적으로 반응하기도 하겠지만 신경세포-신경교세포 상호작용 (neuron-to-glia interaction)을 통하여 통합적인 스트레스 호르몬반응을 조절한다고 본다.

본 실험에서는 스트레스 상황에서의 뇌세포의 반응을 조사하기 위한 *in vitro* 세포배양 실험모델을 구축하기 위하여 Glucocorticoid Receptor (GR)에 특이적인 합성 스트레스 호르몬

Address for correspondence : Su-Yong Eun
Department of Physiology, Jeju National University School of Medicine,
102 Jejudaehakno, 690-756, Jeju, Korea
E-mail : syeun@jejunu.ac.kr

인 dexamethasone (DEX)을 1-2일 투여 및 반복 투여 등의 약물처리 방법을 시도하였다. Dose study 와 time course 실험 결과는 조사한 유전자에 따라 조금씩 달랐으나 일관된 경향성이 나타나서, 약물농도는 1 μ M로 결정하였고 약물처리 기간은 1일로 결정하였다. 뇌에는 신경세포 뿐만 아니라 성상교세포, 미세신경교세포가 존재하며 각각의 고유한 기능을 수행하고 또한 상호 작용 (neuron-glia interaction)을 하고 있기 때문에 뇌조직 내에서 스트레스 호르몬에 대한 반응도 각각의 기능과 관련되어 나타날 것이고 서로 유기적으로 연결되어 있을 것으로 생각되기 때문에 각각의 cell line인 HT-22 neurons, C6 astrocytes, BV-2 microglia 에서의 DEX 처리를 통한 스트레스 호르몬 반응의 비교 분석을 시도하였다.

재료 및 방법

세포배양

신경세포, 성상교세포, 미세신경교세포는 10%(v/v) fetal bovine serum (Gibco, Grand Island, NY, 16000-044)과 1% penicillin/streptomycin이 함유된 Dulecco's modified Eagle medium (DMEM, Gibco, Grand Island, NY) 배지를 사용하여 37°C 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, BV-2 microglia는 매일 계대 하였고 HT-22 neurons과 C6 astrocytes는 2일에 한번씩 계대 하였다.

Nitric Oxide 측정

Nitric Oxide의 생체 내 전변물질인 nitrite (NO₂⁻)를 간접적으로 측정함으로써 Nitric Oxide양을 측정하였다. 즉, sulfanilamide가 nitrite와 반응을 하게 되고, 여기에 다시 N-[1-naphthyl]-ethylenediamine dihydrochloride이 결합되게 되면서 colorimetric change가 일어나게 되는 원리로 되어 있다. 각 시료의 세포 상층액 100 μ l에 동량의 Griess reagent (1% sulfanilamide and 0.1% N-[1-naphthyl]-ethylenediamine dihydrochloride in 2.5% phosphoric acid)를 첨가 후 암실조건에서 10분간 반응시켰다. 다음 540nm에서 흡광도를 측정하였다. NO₂⁻의 농도는 NaNO₂ standard curve로 계산하였다.

역전사중합효소연쇄반응(RT-PCR)

Dexamethasone의 chronic treatment에 의한 유전자 발현을 조사하기 위하여 RT-PCR 기제를 사용하였다. 세포배양 plate에서 media를 제거한 후 1ml TRIZOL Reagent (Invitrogen, Molecular Research Center)로 세포에서 DNA와 RNA를 유리하였다. Oligo (dT)를 이용하여 역전사효소로 cDNA를 합성하고 이 cDNA를 주형 DNA로 하여 PCR 반응과 전기영동을 실시하였다. Primer의 염기서열은 아래와 같다: TNF- α : (F) ATG AGC ACA

GAA GCA TGA T; (R) TGA CTT TCT CCT GGT TGA, Crystalline B: (F) TTC CAC TCC CCA AGC CGC CTC TTT; (R) CTG ATG GGA AAC TTC CTT GT, GAPDH: (F) GTC CAC ATT GTT GCC ATC AAC GAC; (R) TTT CTC GTG GTT CAC ACC CAT CAC. 밴드의 optical densities는 image J로 분석하였고 해당하는 GAPDH로 보정하였다.

세포핵, 세포질의 단백질 분리 및 Western blot analysis

세포배양 plate에서 media를 제거한 다음 NE-PER[®] Nuclear and Cytoplasmic Extraction Reagents (PIERCE)를 이용하여 각각의 핵과 세포질을 분리, 단백질을 얻었다. 25 μ g 단백질을 SDS-PAGE를 이용하여 size 별로 분리하였다. 전기영동이 끝난 후 젤 상의 단백질을 nitrocellulose 막에 이동시켰다. 여기에 5% skim milk로 1h 처리하여 비 특이적인 반응을 줄인 다음 I κ B (Santa Cruz, 1:500), NF- κ B (Santa Cruz, 1: 500), GAPDH (cell signaling, 1:1000) 항체를 결합시키고 다시 그 항체에 특이적인 HRP-conjugated anti rabbit 2차 항체를 결합시켰다. ECL로 발색 반응이 나타나는 형광반응을 X-ray film으로 이미지화 하였다.

통계처리

실험결과는 Image J와 Origin50 프로그램으로 분석했다. 통계 처리한 후 평균 \pm 표준오차(standard error)로 나타내었다. 두 집단 사이의 평균을 비교할 때는 Student's-t-test를 실시하여 p 값을 비교했다. P<0.05인 경우를 통계적으로 유의 하다고 평가하였다.

결 과

1. HT-22 neurons과 C6 astrocytes에서의 dexamethasone에 의한 crystalline α B의 유전자 발현상의 변화

Crystallin α B는 Alzheimer's disease, cerebral abscess 등 여러 가지 병리적 상태에서 발현되는 것으로 알려져 있다^{1,2)}. 또 세포골격의 형성과 분자적 샤프론 (molecular chaperone)에서 중요한 작용을 할뿐만 아니라 세포 사멸로부터 보호해준다고 알려져 있다^{3,4)}. 때문에 먼저 스트레스 호르몬의 자극을 주었을 때 crystalline α B가 어떻게 변하는지 연구하여 보았다. HT-22 neurons (Figure 1A) 과 C6 astrocytes (Figure 1B) 에 1 μ M DEX을 24h 처리 혹은 DEX와 RU486을 함께 처리 하였을 때, 뉴런에서는 DEX에 의해 crystallin α B mRNA가 변화가 없게 나왔지만 astrocytes에서는 유의성 있게 증가하였고 GR antagonist인 RU486에 의해 감소됨을 확인함으로써 스트레스에 의해 성상교세포가 활성화됨을 보여준다.

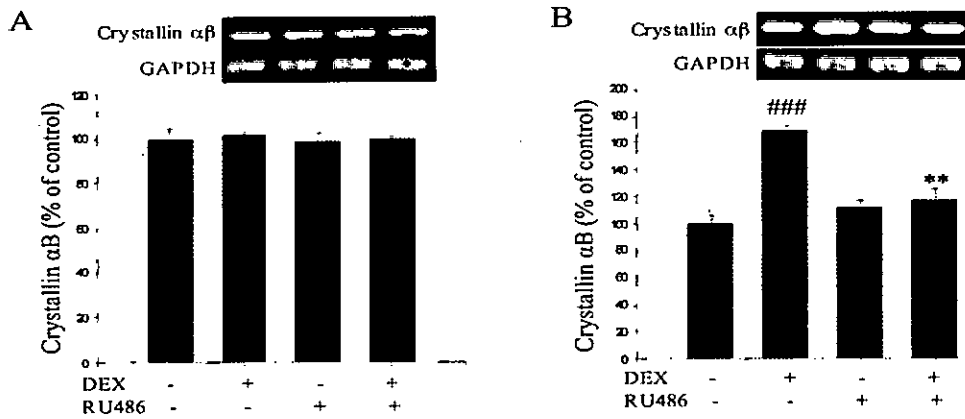


Figure 1. GR-mediated crystallin αB mRNA levels in HT-22 neurons and C6 astrocytes. HT-22 neurons (A) and C6 astrocytes (B) were pre-treated with GR antagonist RU486 (10 μM) for 3 h and then stimulated with 1 μM DEX in the presence or absence of RU486 for 24 h. The crystallin αB mRNA levels were determined by RT-PCR. Optical densities of individual mRNA bands were normalized to the corresponding levels of GAPDH. Values are the mean \pm S.E.M. of four samples in one independent experiment. The data were replicated in three repeated independent experiments. ### $P < 0.001$, as compared to untreated control group and ** $P < 0.01$ as compared to DEX alone-treated group.

2. C6 astrocytes의 dexamethasone에 의한 crystalline αB 발현 증가에 대한 PKC와 PI3 kinase 의 영향 조사

GR를 활성화 시키는 DEX의 작용에는 PKC와PI3 kinase가 관여한다는 보고가 있어 본 주제를 실험하기 위하여 우선적으로 PKC와PI3 kinase의 저해제를 사용해 보았다. C6 astrocytes에서 DEX에 의한 crystalline αB 의 발현증가에 PKC

와 PI3 kinase가 관여하는지 알아보기 위하여 PKC inhibitor인 Bisindolylmaleimide I, PI3 kinase inhibitor 인 Wortmannin과 LY294002를 처리하였다 (Figure 2). 본 실험 결과에 의하면 DEX 처리에 의한 astrocytes의 crystallin αB 유전자 발현에는 이 두 가지 pathway가 관여하지 않음을 알 수 있다.

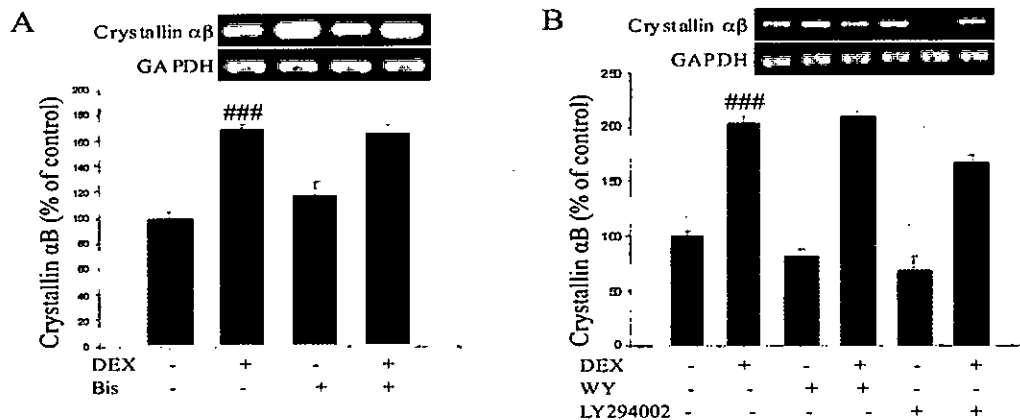


Figure 2. Inhibitor studies of PKC and PI3 Kinase on dexamethasone-induced crystallin αB mRNA expression in C6 astrocytes. C6 astrocytes were pre-treated with PKC inhibitor (A: Bisindolylmaleimide, 1 μM) or PI3 kinase inhibitors (B: Wortmannin, 100 nM and LY294002, 50 μM) for 3 h and then stimulated with 1 μM DEX for 24 h. The crystallin αB mRNA levels were determined by RT-PCR. Optical densities of individual mRNA bands were normalized to the corresponding levels of GAPDH. Values are the mean \pm S.E.M. of four samples in one independent experiment. The data were replicated in three repeated independent experiments. ### $P < 0.001$, as compared to untreated control group.

3. BV-2 microglia에서의 LPS에 의한 염증조절인자들에 대한 dexamethasone의 억제작용

뇌의 염증유발물질인 lipopolysaccharide (LPS) 약물처리에 의하여 분비된 NO는 신경세포의 손상과 사멸을 유도하는 것으로 알려져 있다⁹⁾. LPS가 유도하는 NO 분비 기능에 대한 DEX의 영향을 조사하기 위하여 BV-2 cell에서 분비하는 nitric oxide를 NO assay를 통하여 측정하였다. BV-2 cell에서 LPS 처리 전에 DEX를 전처리 하였을 때 LPS에 의한 NO 방출이 DEX에 의해 현저히 감소되었음을 알 수 있다 (Figure 3A). 이 효과는 DEX의 antagonist인 RU486에 의하여 사라진다. 이는 DEX에의 장시간 노출이 microglia의 손상을 초래했거나 세포 내 신호 전달계를 변경시켜 염증유발물질 LPS에 대한 NO방출을 억제하는 것으로

생각되고 이는 스트레스 호르몬이 신경염증에 대한 항염 효과가 있어 신경세포 보호작용이 있을 수 있음을 시사한다.

LPS에 의하여 분비되는 중요한 염증유발조절인자(pro-inflammatory agent)인 TNF- α 도 신경세포의 손상과 사멸을 유도한다^{10,11)}. DEX가 TNF- α 의 증가에 어떤 영향을 미치는가를 RT-PCR기계를 사용하여 유전자발현에서의 변화를 조사하였다. LPS 처리 전에 DEX를 전처리 하였을 때 LPS에 의한TNF- α mRNA 발현 증가가 DEX에 의해 되돌아옴을 확인하였다 (Figure 3B). DEX의 이러한 작용은 DEX의 antagonist인 RU486에 의하여 억제된다. DEX의 미세신경교세포의 기능 억제 반응은 LPS에 의해 유도되는 NO방출의 저해뿐만 아니라 LPS에 의해 유도되는 TNF- α 발현의 감소와도 관련이 있음을 시사한다.

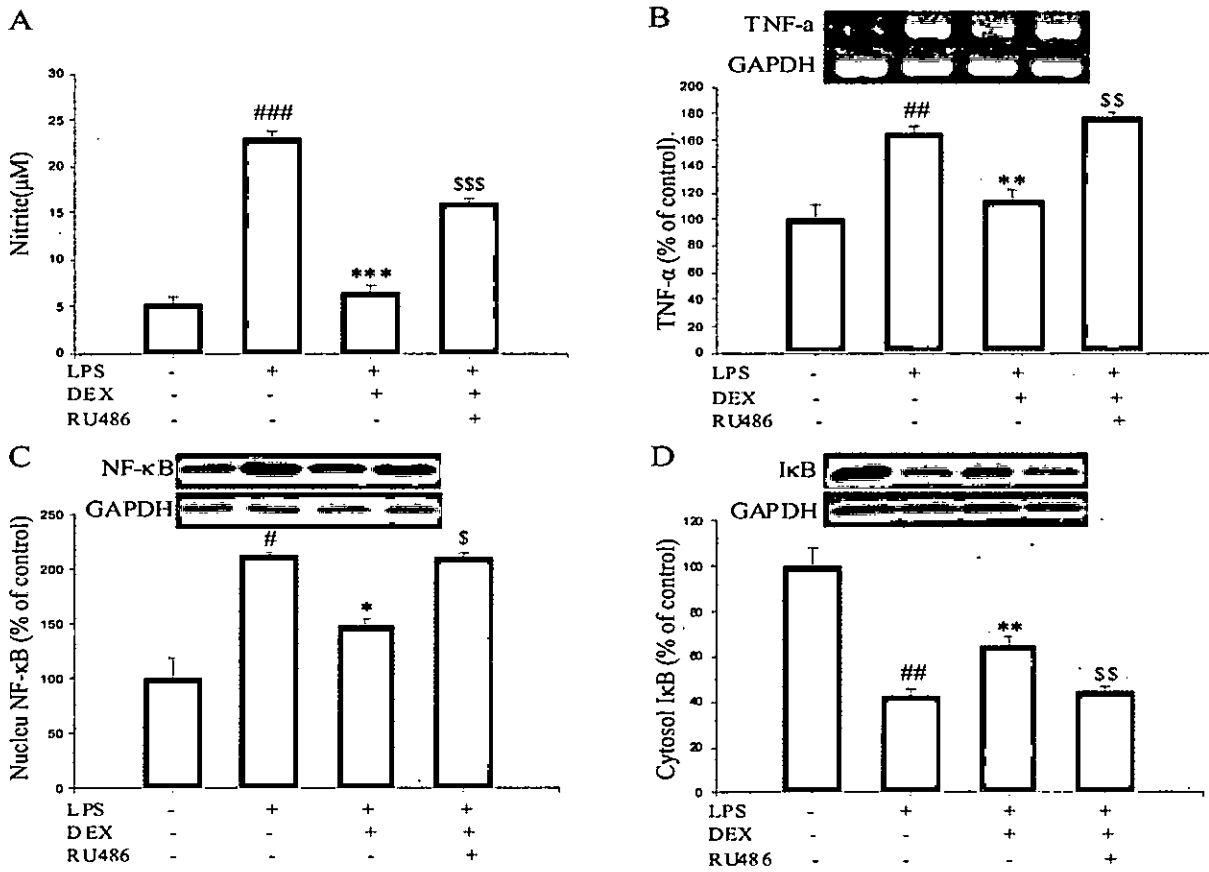


Figure 3. Effects of dexamethasone on the LPS-induced microglial activation. Microglial cells were pretreated with 1 μ M DEX for 3 h and then stimulated with LPS (200 ng/ml) in the presence or absence of DEX for 24 h. GR antagonist RU486 (10 M) was co-treated with DEX. (A) Effects of DEX on NO release were examined in LPS-stimulated BV-2 cells using Griess reagent. (B) The TNF- α mRNA levels were determined by RT-PCR. (C and D) BV-2 cells were pre-treated with DEX for 3 h and then stimulated with LPS (200 ng/ml) in the presence or absence of DEX for 30 min. Levels of NF- κ B p65 subunit in nuclear fraction (C) and IB in cytosol fraction (D) were determined using Western blotanalysis. Optical densities of individual protein bands were normalized to the corresponding levels of β -actin. Values are the mean \pm S.E.M. of four samples in one independent experiment. The data were replicated in three repeated independent experiments. # P < 0.05; ## P < 0.01; ### P < 0.001, as compared to untreated control group, * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001 as compared to LPS alone-treated group, and \$ P < 0.05; \$\$ P < 0.01; \$\$\$ P < 0.001 as compared to LPS+DEX-treated group.

4. BV-2 microglia에서의 LPS에 의한 NF- κ B와 I- κ B의 발현에 대한 dexamethasone의 작용

NF- κ B는 염증반응, 스트레스 등 상황에 반응하여 TNF- α 를 포함한 많은 유전자들을 활성화 시키는 중요 전사인자이다^{12,13,14}. 비활성 시에는 세포질에 NF- κ B/I κ B 결합체로 존재하다 각종 자극에 노출된 뒤 복합체에서 I κ B는 분리되고 활성화 된 NF- κ B는 핵 내로 들어가 각종 염증매개물질 등의 합성에 전사물질로 핵심적인 작용을 하는 것으로 알려져 있다¹⁵. NF- κ B의 활성을 억제한다면 TNF- α 의 활성을 억제할 가능성이 매우 크다는 관점에서 Western blot 방법으로 세포핵에서의 NF- κ B의 발현상 변화를 조사하였다. LPS 처리 전에 DEX를 전처리 하였을 때 그림에서 보여 주는 것처럼 DEX는 LPS에 의한 NF- κ B의 세포핵으로의 이동을 유의성 있게 억제하며 이는 GR antagonist 인 RU486에 의해 억제된다 (Figure 3C).

I κ B가 인산화 되어 degrade되면 I κ B와 결합하여 있던 NF- κ B가 분리 되어 핵 내로 이동함으로써 TNF- α 등 유전자들의 전사를 유도한다^{16,17}. LPS에 의하여 현저하게 감소되었던 I κ B가 DEX에 의하여 되돌아옴을 알 수 있다 (Figure 3D). 이는 NO 분비 및 TNF- α 발현과 같은 microglia 기능에 대한 DEX의 억제효과가 NF- κ B 신호전달 경로를 통하여 이루어 짐을 설명해준다.

고 찰

본 연구는 스트레스 호르몬인 glucocorticoid에 대한 neuron, astrocyte와 microglia의 유전자 발현을 비교함으로써 microglia의 NO 분비 기능, 스트레스 상황이 뇌에 있는 여러 세포들의 세포 특이적 유전자 발현과 세포기능을 조사하고자 하였으며 이를 통하여 neuron-glia간의 스트레스 상황에서의 상호작용과 네트워크를 이해하고자 하였다. 스트레스 호르몬 DEX 처치 (1 μ M, 24 h)에 의하여 C6 astrocytes의 구조단백질인 crystallin α B mRNA 발현이 증가하였음을 확인하였다. 또한 미세신경교세포는 염증유발물질인 LPS에 의한 NO 분비, TNF- α 발현증가, 염증유발 전사인자인 NF- κ B의 핵으로 이동, 세포질에서의 I κ B의 발현량 감소 등의 척도가 DEX 처치에 의해 억제됨을 확인하였다. 이는 스트레스 호르몬은 뇌의 면역세포인 미세신경교세포의 활성을 억제하여 신경염증에 대한 항염 작용을 억제할 수 있음을 말하며, 실제로 Glucocorticoid Steroid 제제가 고용량의 처치에 의하여 항염제, 면역억제제로 임상에서 그 약리적 효과를 활용하고 있는 점과 연관이 있다. 본 실험을 통해서 뇌조직에 거주하는 미세신경교세포가 혈액과 뇌 이외의 인체 조직에 상주하는 monocytes, macrophages와 유사한 작용기전이 존재함을 확인한 점이 의미가 있다. 미세신경교세포에 관한 이상의 연구 결과를 통하여 스트레스 상황에서 뇌조직에서는 미세신경교세포가 신경염증에 의한 항염 작용을 통하여 신경세포를 보호하는 기작 (neurotrophic effect 혹은 neuron-protective effect)을 가질 수 있음을 추측해 볼 수 있다.

성상교세포의 활성화와 관련된 crystallin α B 발현 증가에 관한 결과는 스트레스 상황에서의 신경보호 효과로 보여진다. 이는

활성화된 성상교세포의 기능을 수행하기 위하여 autocrine 방식으로 신경호보인자들을 방출하여 성상교세포의 확대된 기능을 강화한다고 볼 수도 있고, paracrine 방식으로 스트레스 상황에서 신경세포의 신경호보인자 발현 감소를 보완한다고 추측해 볼 수 있다.

성상교세포의 활성화에 관한 연구결과는 아주 고도의 스트레스 상황에서 성상교세포가 손상 받아서 성상교세포의 신경보호적 기능이 저하되면, 스트레스 상황에서 어느 정도 유지가 되고 있던 항상성이 깨져서 갑자기 신경세포의 기능이 소실되면 스트레스와 관련된 정신질환이 발생될 가능성이 있음을 추측해 볼 수 있게 한다. 이러한 결과는 성상교세포의 활성화 및 신경보호 효과가 스트레스 관련 질환의 치료제 개발의 표적이 될 수 있음을 시사한다.

본 연구결과를 종합하여 보면, 스트레스 상황에서 스트레스 호르몬이 증가하면 뇌에 존재하는 신경세포, 성상교세포와 미세신경교세포는 각각 GR에 매개하는 신호전달계를 통하여 반응하는데, 신경세포는 스트레스 취약성을 드러내며 성상교세포와 미세신경교세포는 일차적으로 스트레스 호르몬에 대한 신경세포 보호기능을 나타내어 전반적으로 신경세포, 성상교세포, 미세신경교세포 간의 상호작용과 네트워크 체계를 구성하는 것으로 이해된다. 신경세포를 보호하기 위한 이러한 상호작용체계가 손상되면 스트레스 호르몬에 의한 신경세포의 손상이 가속화되고 스트레스 유발성 정신질환의 발병률이 높아질 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Selye H. A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature* 1936;92(3):429-433.
- 2) 양병환, 백기정, 김정희, 백인호, 강병조, 김광수, 한창환, 원호택, 임기영. 스트레스 연구. *하나의학사* 1999;77-101.
- 3) Plotsky PM, Owens MJ, Nemeroff CB. Psychoneuroendocrinology of depression. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Psychiatr Clin North Am* 1998;21(2):293-307.
- 4) Renkawek K, Voortter CE, Bosman GJ, van Workum FP, de Jong WW. Expression of alpha B-crystallin in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1994;87(2):155-160.
- 5) Stege GJ, Renkawek K, Overkamp PS, Verschuure P, van Rijk AF, Reijnen-Aalbers A, Boelens WC, Bosman GJ, de Jong WW. The molecular chaperone alphaB-crystallin enhances amyloid beta neurotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;262(1):152-156.
- 6) Iwaki T, Iwaki A, Tateishi J, Goldman JE. Sense and antisense modification of glial alpha B-crystallin production results in alterations of stress fiber formation and thermoresistance. *J Cell Biol* 1994; 125(6):1385-1393.
- 7) Huot J, Houle F, Spitz DR, Landry J. HSP27

- phosphorylation-mediated resistance against actin fragmentation and cell death induced by oxidative stress. *Cancer Res* 1996; 56(2):273-279.
- 8) Kamradt MC, Chen F, Sam S, Cryns VL. The small heat shock protein alpha B-crystallin negatively regulates apoptosis during myogenic differentiation by inhibiting caspase-3 activation. *J Biol Chem* 2002; 277(41):38731-38736.
- 9) McCoy MK, Martinez TN, Ruhn KA, Szymkowski DE, Smith CG, Botterman BR, Tansey KE, Tansey MG. Blocking soluble tumor necrosis factor signaling with dominant-negative tumor necrosis factor inhibitor attenuates loss of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2006;26(37):9365-9375.
- 10) Yang MS, Ji KA, Jeon SB, Jin BK, Kim SU, Jou I, Joe E. Interleukin-13 enhances cyclooxygenase-2 expression in activated rat brain microglia: implications for death of activated microglia. *J Immunol* 2006;177(2):1323-1329.
- 11) Yan G, Huang J, Jarbadan NR, Jiang Y, Cheng H. Sequestration of NF-kappaB signaling complexes in lipid rafts contributes to repression of NF-kappaB in T lymphocytes under hyperthermia stress. *J Biol Chem* 2008;283(18):12489-12500.
- 12) Paul A, Wilson S, Belham CM, Robinson CJ, Scott PH, Gould GW, Plevin R. Stress-activated protein kinases: activation, regulation and function. *Cell Signal* 1997;9(6):403-410.
- 13) Liu H, Sidiropoulos P, Song G, Pagliari LJ, Birrer MJ, Stein B, Anrather J, Pope RM. TNF-alpha gene expression in macrophages: regulation by NF-kappa B is independent of c-Jun or C/EBP beta. *J Immunol* 2000;164(8):4277-4285.
- 14) Kim HY, Park EJ, Joe EH, Jou I. Curcumin suppresses Janus kinase-STAT inflammatory signaling through activation of Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 2 in brain microglia. *J Immunol* 2003;171(11):6072-6079.
- 15) Ha Y, Choi JU, Yoon DH, Cho YE, Kim TS. Nestin and small heat shock protein expression on reactive astrocytes and endothelial cells in cerebral abscess. *Neurosci Res* 2002;44(2):207-212.
- 16) Swantek JL, Cobb MH, Geppert TD. Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase (JNK/SAPK) is required for lipopolysaccharide stimulation of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) translation: glucocorticoids inhibit TNF-alpha translation by blocking JNK/SAPK. *Mol Cell Biol* 1997;17(11):6274-6282.
- 17) Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev* 2004;18(18):2195-2224.