

생쥐 미세아교세포(BV2)에서 Corticotropin-releasing Hormone (CRH)에 의한 Nitric Oxide (NO) 생성의 증가

¹숙명여자대학교 이과대학 생명과학과 면역학실험실, 한국 생명과학연구소 면역학실험실

양윤희¹ · 양 영 · 조대호¹

Enhancement of Nitric Oxide Production by Corticotropin-releasing Hormone (CRH) in Murine Microglial Cells, BV2

Yool-hee Yang¹, Young Yang and Dae-Ho Cho¹

¹Department of Life Science, Sookmyung Women's University, Laboratory of Immunology, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

ABSTRACT

Background: Microglial cells, major immune effector cells in the central nervous system, become activated in neurodegenerative disorders. Activated microglial cells produce proinflammatory mediators such as nitric oxide (NO), tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β (IL-1 β). These proinflammatory mediators have been shown to be significantly increased in the neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease. It was known that one of the neurodegeneration source is stress and it is important to elucidate mechanisms of the stress response for understanding the stress-related disorders and developing improved treatments. Because one of the neuropeptide which plays a main role in regulating the stress response is corticotropin-releasing hormone (CRH), we analyzed the regulation of NO release by CRH in BV2 murine microglial cell as macrophage in the brain. **Methods:** First, we tested the CRH receptor expression in the mRNA levels by RT-PCR. To test the regulation of NO release by CRH, cells were treated with CRH and then NO release was measured by Griess reagent assay. **Results:** Our study demonstrated that CRH receptor 1 was expressed in BV2 murine microglial cells and CRH treatment enhanced NO production. Furthermore, additive effects of lipopolysaccharide (LPS) and CRH were confirmed in NO production time dependantly. **Conclusion:** Taken together, these data indicated that CRH is an important mediator to regulate NO release on microglial cells in the brain during stress. (*Immune Network* 2004;4(1):60-64)

Key Words: Corticotropin-releasing hormone, nitric oxide, microglial cells

서 론

활성화된 마우스 미세아교세포에서는 자유유리기 (free radical), nitric oxide, tumor necrosis factor- α (TNF- α) 등과 같은 염증반응 매개체를 분비한다(1). 마우스 미세아교세포의 활성화와 그로 인한 염증반응 매개체 분비는 여러 가지 다양한 퇴행성 질환과 밀접한 관계가 있다

고 보고되었으며(2,8), 이러한 마우스 미세아교세포 활성화 결과는 면역체계 전반의 항상성을 유지하는데 있어 문제를 발생시킬 수 있는 가능성이 있다. 박테리아의 내독소로 알려진 Lipopolysaccharide (LPS)는 마우스 미세아교세포를 활성화시키는 것으로 알려져 있으며(3), 이렇게 다양한 매개체를 통한 마우스 미세아교세포의 활성화는 뇌에서 발생할 수 있는 여러가지 질환과 직·간접적으로 연관되어 있다. 파킨슨병이나 알츠하이머병의 정확한 원인은 아직까지 잘 밝혀지지 않았지만 표적 세포가 자유 유리기에 의해 손상받음으로써 발생되는데, 가장 흔한 세포의 자유 유리기가 바로 hydroxyl radical, superoxide radical, nitric oxide이다(2,4). 이 중에서도 특히

책임저자 : 조대호, 숙명여자대학교 이과대학 생명과학과 면역학실험실
☎ 140-742, 서울시 용산구 청파동 2가 53-12
Tel: 02-710-9416, Fax: 02-6359-6789
E-mail: cdhkor@sookmyung.ac.kr

이 논문은 2002년도 한국 학술진흥 재단의 지원에 의하여 연구되었음 (KRF-2002-042-E00023).

Nitric Oxide (NO)는 작고 불안정하며 독성이 강한 자유 유리기로서 신체 내에서 정상적으로 중추 신경계와 말초 신경계에 존재한다. NO는 신체 내에서 때에 따라 부정적, 긍정적으로 작용하는 두 가지 측면을 모두 가지고 있다. 긍정적인 측면에서는 세포 내 신호 전달 및 면역계에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있으나, 부정적인 측면으로는 과량의 NO가 생성될 경우 신체에 유해한 영향을 미치게 되어 세포손상을 초래할 뿐만 아니라 염증 반응을 비롯한 뇌막염, 알츠하이머병이나 파킨슨병과 같은 퇴행성 질환 등과 연관되어 있으며 세포 자멸사에 의한 신경세포사를 유도하는 것으로 알려져 있다(4). 최근 대부분의 질환 원인이 스트레스에 있다는 연구가 많이 보고되고 있는데, 특히 알츠하이머병이나 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환에 있어 스트레스는 무엇보다 중요한 원인으로 대두되고 있다(5-8). 이 중에서도, 스트레스 반응을 조절하는 중요 매개체인 corticotropin-releasing hormone (CRH)는 처음 뇌하수체의 adrenocorticotrophic hormone (ACTH)를 자극하는 호르몬으로 밝혀졌으며, 부신피질에서 glucocorticoids (GC)의 합성과 분비를 조절한다(9). 최근 보고에 의하면, CRH가 알츠하이머병이나 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환의 발생과정에 관여한다는 보고가 있으며, 특히, Roe 등(1998)은 이러한 신경퇴행성 질환에서 실제로 CRH와 CRH-receptor (CRH-R)가 증가된다고 보고하였다(6,7,10). 또한 CRH가 대식세포로부터 여러가지 proinflammatory cytokine을 증가시킨다는 연구 결과를 볼 때(11), 스트레스 조절 매개체인 CRH, 미세아교세포의 활성화와 염증반응 매개체 중 하나인 NO는 각각 독립적으로도 신경퇴행성 질환과 밀접한 연관이 있으며 이들의 상호 작용을 통해 신경퇴행성 질환이 더욱 가속될 수 있는 환경을 제공할 가능성이 추정된다.

이와 관련하여 본 연구는 스트레스 매개체인 CRH가 마우스 미세아교세포에서 NO 분비에 어떠한 영향을 미치는가를 규명함으로써 신경퇴행성 질환과 스트레스가 중요한 관계가 있음을 밝히고자 한다. 이를 위하여 본 연구에서는, 마우스 미세아교세포에서의 CRH-R의 발현을 알아보고 CRH를 처리했을 경우 NO 생성이 어떻게 변하는지를 살펴보았다.

재료 및 방법

세포 배양 및 시약. 마우스 미세아교세포인 BV2 세포를 2 mM L-글루타민, 100 units/ml 페니실린, 100µg/ml 스트렙토마이신, 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS)이 포함된 RPMI 1640 배지(GIBCO BRL, USA)를 사용하였고 배양 기간 동안 37°C, 5% CO₂ 상태를 유지하였다. 배양세포가 바닥 면적의 90% 가량 차도록 자라면서 배양을 하고 대수 성장기의 세포를 실험에 사용하였다.

RT-PCR. Total RNA는 RNAzol을 사용하여 BV2 세포로부터 추출하였으며, 이후 역전사 과정을 거쳐 생성된 cDNA를 CRH receptor-1 primers (sense, 5'-GCTCCCTCCAGGATCAGCAGTGTGAG-3'; antisense, 5'-GGTAGTTGATGATGACGGCAATGTGG-3')과 β-actin primers (sense, 5'-CATCCATCATGAAGTGTGACG-3'; antisense, 5'-CATCTCTGCTTGCTGATGG-3')를 각각 사용하여 PCR 증폭하였다. 증폭 cycling 조건은 CRH receptor-1은 94°C에서 30초, 61.5°C에서 1.5분, 72°C에서 30초로 35회, β-actin은 95°C에서 30초, 52.5°C에서 30초, 72°C에서 30초로 25회 실시하였다.

Nitric Oxide (NO)의 측정. 특이적 또는 비특이적 면역반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO는 세포 배양액에서 NO₂⁻와 NO₃⁻의 형태로 축적된다. 배양액에 녹아 있는 NO₂⁻량의 측정은 Weinberger 등의 방법에 준하여 실시하였다(12,13). BV2세포를 24-well plate에 3×10⁵ cell/well씩 넣어 준 다음 LPS와 CRH를 각각의 농도에 따라 배양 세포에 첨가하고 37°C에서 12시간 동안 배양한 다음 각 well로부터 100µl씩의 배양액을 취하여 96-well plate에 옮기고 동량의 Griess Reagent (N-1-naphthylethylene diamine 0.1% in H₂O, sulfanilamide 1% in 5% H₃PO₄)를 첨가하고 10분간 실온에 두었다. 전체 NO₂⁻생성 정도는 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 이때 NO₂⁻농도에 대한 표준 곡선은 NaNO₂를 serial dilution하여 작성하였다.

결과

마우스 미세아교세포에서의 CRH-R1 발현. CRH가 세포 내에서 어떠한 영향을 갖기 위해서는 세포표면에 CRH를 받아들일 수 있는 수용기가 발현되어야만 한다. CRH 수용기로는 크게 CRH-R1과 R2로 나뉘는데 CRH-R1은 cerebral cortex, cerebellum과 brain stem을 포함한 다양한 뇌 부위와 뇌하수체에서 주로 발현되는 것으로 보고된 바 있으며 CRH와의 결합 친화력이 CRH-R2와 비교하여 약 10배 이상 높은 것으로 보고되었다(14-16). 반면, CRH-R1과 약 69%의 염기서열이 동일한 CRH-R2의 경우 심장, 골격근, 소화기관과 동맥 등을 포함한 말초기관에서 발현이 확인되었으며 이 수용기는 CRH 보다 urocortin과의 결합 친화력이 약 40배가 높은 것으로 알려져 있다(14,15). 본 실험에서는 먼저 CRH와 결합력이 높은 것으로 알려진 CRH-R1 mRNA 발현 정도를 마우스 미세아교세포에서 조사하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이, 마우스 미세아교세포에서 CRH-R1 mRNA 발현이 확인되었다(Fig. 1).

CRH처리 시 NO 생성의 증가. CRH가 염증 매개체인 NO 생성을 조절할 수 있는지를 알아보하고자, NO 생성을 Griess 방법에 의하여 측정하였다. NO 생성을 측정하는

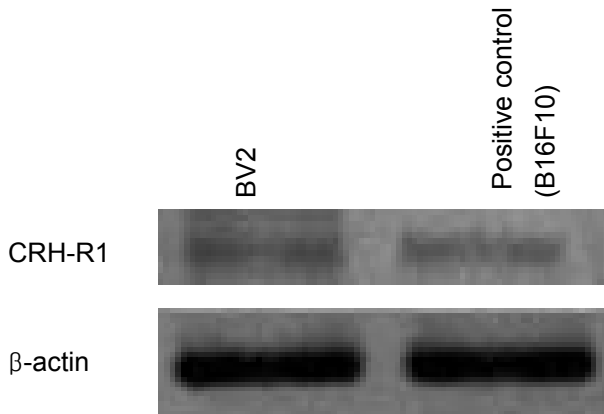


Figure 1. Expression of CRH Receptor 1 mRNA in BV2. Total RNA (5 μ g) was extracted from BV2 microglial cells and B16F10 melanoma cells (4×10^5 cells/ml). B16F10 melanoma cells were used as a positive control. After culture, cells were harvested and total RNA was examined for RT-PCR. RT-PCR was performed with primers for CRH-R1 or β -actin. PCR products were analyzed on 2% agarose gel electrophoresis.

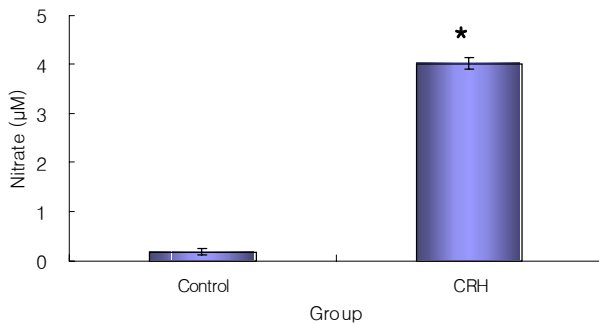


Figure 2. CRH-induced NO production in BV2. Murine microglial cells (3×10^5 /ml) were treated with 100 nM CRH and then incubated for 12 hr. After incubation, the culture supernatants were harvested for nitrite assay. NO production was determined by measuring nitrite, a stable oxidation product of NO, by the Griess method. Sodium nitrite, diluted in culture media at concentrations of 10~100 μ M, was used to make a standard curve. Data are mean \pm SD. * $P < 0.01$ versus control.

방법으로 사용한 Griess 방법은 아질산염을 측정하는 방법으로, 이는 아질산염이 NO의 분해산물로서 안정하고 비휘발성이기 때문에 측정에 용이하기 때문이다. Diazotization reaction을 기본으로 하는 이 방법은 1879년에 처음으로 Griess 등에 의해 제안되었다(12,13). 본 실험에서는, 배양된 BV2 세포에 CRH 처리한 결과, CRH 단독 처리만으로도 NO 생성을 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 2). CRH 농도에 따른 NO 생성을 관찰하기 위하여 CRH를 50 nM에서 200 nM까지 2배씩 희석하여 처리한 결과 CRH 농도에 의존적으로 NO 생성이 증가하는 경향을 보였으며, CRH 100 nM이 가장 적합한 것으로 나타났

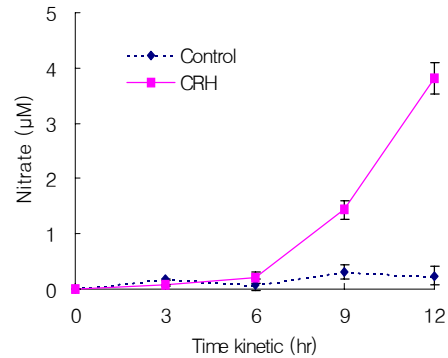


Figure 3. Time kinetics of CRH-induced NO production. BV2 cells (3×10^5 /ml) were treated with CRH and then incubated for indicated time. Representative example of NO $_2^-$ accumulation in culture media. Control indicated CRH untreated group and 100 nM of CRH was used for CRH treatment.

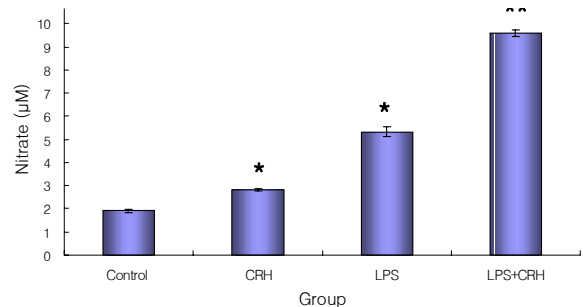


Figure 4. Effect of CRH on LPS-induced NO production. BV2 cells (3×10^5 /ml) were treated with 250 ng/ml LPS and 100 nM CRH for 12 hr. After incubation, the culture supernatants were harvested for nitrite assay. NO production was determined by measuring nitrite, a stable oxidation product of NO, by the Griess method. Data are mean \pm SD. * $P < 0.05$ versus control, ** $P < 0.01$ versus LPS.

다(data not shown). 시간에 따른 분석을 하기 위하여 CRH를 BV2 세포에 처리한 후 3시간부터 12시간까지 3시간 간격으로 NO를 측정한 결과 시간 경과에 비례하여 NO 생성이 점점 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 또한 마우스 미세아교세포를 활성화시키는 것으로 알려진 LPS로 먼저 처리한 후 CRH에 의한 영향을 확인한 결과, LPS 단독 처리한 실험군보다 CRH와 함께 처리하였을 경우 상승적인 NO 생성을 관찰하였고(Fig. 4), 처리 시간에 비례하여 NO 생성이 점점 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

고찰

본 실험에서는 스트레스 호르몬인 CRH가 마우스 미세아교세포에서 NO 생성에 미치는 영향에 대해 알아보았

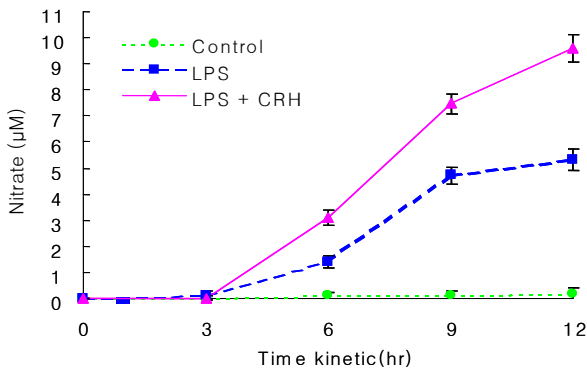


Figure 5. Time kinetics of CRH effect on LPS-induced NO production. BV2 cells (3×10^5 /ml) were pretreated with LPS and then treated with or without CRH. After incubated for indicated time and NO production was determined by the Griess method. Control indicated CRH untreated group and LPS single dose was used 250 ng/ml LPS. Cotreatment of LPS and CRH indicated 250 ng/ml LPS and 100 nM CRH treated group.

다. 마우스 미세아교세포를 이용하여 실험을 진행하였을 때, CRH 단독 처리만으로도 NO 생성을 증가시키는 결과를 보였으며, LPS와 함께 처리한 경우 상승효과를 보였다. 뇌세포 중에는 마우스 미세아교세포 뿐 아니라 활성화된 별아교세포(astrocytes)도 신경퇴행성 질환에서 발견되며, 이 세포 역시 NO 생성에 관여한다고 보고된 바 있다(3). 그러나 별아교세포는 마우스 미세아교세포에 비교하여 NO 생성 정도가 낮기 때문에, 단지 별아교세포 자체만으로는 NO와 관련하여 질환의 발생원인을 논의하기는 어렵다. 별아교세포 경우에는 NO를 통하기 보다는 IL-1 β , TNF- α , IL-8과 IL-18 등과 같은 다른 proinflammatory cytokine에 의한 퇴행성 질환 발생에 원인을 찾을 수 있다고 알려져 있으며(17-19), 최근 Sola 등 (2002)의 보고에 의하면 별아교세포가 마우스 미세아교세포와 동시 배양 시 각각의 단독 배양 시보다 LPS에 의한 NO 생성을 더욱 증가시키는 것으로 보고되었는데 (3), 이러한 연구 결과를 토대로 볼 때, 스트레스 호르몬인 CRH에 의한 NO 생성에도 별아교세포가 보조적인 역할을 하여 NO생성을 더욱 촉진시킬 수 있을 것이라 생각된다.

LPS는 마우스 미세아교세포와 별아교세포를 활성화시키고 여러가지 다양한 염증성 사이토카인을 유도하는 것으로 알려져 왔다. 이러한 LPS나 CRH는 화학적 스트레스인 반면 저온, 한랭 스트레스와 같은 물리적 스트레스 종류도 작동할 수 있는 것으로 보고되고 있다(20). 본 실험에서는, LPS나 CRH는 화학적 스트레스에 초점을 맞춰 시험관내 실험을 진행한 결과, 스트레스에 의해 NO 생성이 뚜렷하게 증가하는 것을 증명하였다. 그러나 이전 연구에 의하면 저온 스트레스에 의해 마우스 NO 생성이 저하된다고 보고하고 있으며 반면, 햄스터의 경

우에는 저온 스트레스에 의한 NO 생성에 아무런 영향이 없었다고 보고하였다(20). 이는 스트레스 종류나 iNOS 발현의 조절에 따른 NO 생성의 차이에 의해 그 결과가 달라지는 것으로 사료된다.

CRH가 세포 내에서 생물학적인 효과를 갖기 위해서는 CRH 수용기 1이나 2와 같은 G 단백질 연결 수용기와 결합을 통하여 이루어진다. 본 연구에서는 뇌에서 CRH와 결합하는 CRH-R1 mRNA의 발현을 마우스 미세아교세포인 BV2에서 확인하였다. 이러한 결과는 CRH-R1이 흰쥐 뇌에서 발현되며 CRH-R2와 비교하여 주된 수용기로서 작용하고 있다는 이전의 보고와 일치한다 (14). CRH-R1은 소뇌, 대뇌 피질, 뇌간을 포함하는 뇌 영역에서 발현되고 있으며 특히 산화적 스트레스로 야기되는 퇴행성 질환과 밀접한 연관이 있다고 보고되었다 (7). 이러한 사실은 CRH-R1이 신경퇴행성 질환을 비롯한 전반적인 뇌 관련 질병에 중요하게 관여할 수 있는 인자가 될 수 있음을 시사한다. 더 나아가 염증 질환에서의 CRH-R1의 발현이 증가한다는 사실은 알츠하이머 환자를 비롯한 퇴행성 질환뿐 아니라 여러가지 다양한 염증 질환에서 CRH 수용체의 길항제와 작용제를 이용하여 잠재적인 치료제로서 사용이 가능할 것으로 생각된다.

스트레스 호르몬 중에서 본 실험에서 사용한 CRH 이외의 다른 호르몬에 대한 연구도 활발히 진행되고 있는데, 예를 들면 CRH와 마찬가지로 스트레스 반응의 중요한 매개체인 arginine vasopressin (AVP)에 대한 연구도 보고되고 있다(21-23). 최근에는, 흰쥐에서 LPS로 유도된 AVP의 생성에 NO가 억제 역할을 한다고 보고된 바 있으며, 이는 NO가 AVP를 조절하는데 연구의 초점이 맞춰진 것으로 CRH가 NO 생성 조절에 영향이 있었던 만큼, NO 생성에 영향을 미칠 수 있다는 가능성을 배제할 수 없다. 더 나아가 흰쥐의 신장속질(renal medulla)에서 AVP가 nitric oxide synthase (NOS) 중 하나인 neuronal NOS를 조절한다는 사실은 AVP가 NO 생성을 야기시킬 수 있는 하나의 가능성을 제시하며(21), CRH와 함께 신경퇴행성 질병을 비롯한 스트레스 관련 질병에 중요한 인자가 될 수 있음을 시사한다.

최근 Wang 등은 CRH에 의해 마우스 미세아교세포에서 TNF- α 의 분비가 유도되고 이러한 메커니즘은 MAP kinase 신호 전달 과정을 거친다고 보고하였다(18). 미세아교세포에서 TNF- α 의 분비와 NO의 생성은 염증 매개체로서 작용한다는 점에서 알츠하이머병이나 파킨슨병을 비롯한 퇴행성 질환의 병인을 더욱 가속화시킬 수 있는 원인으로 작용할 수 있다. CRH에 의해 유도되는 신호전달에 있어 그 밖의 다른 연구에서도 CRH가 마우스 thymocytes나 피부 각질세포, 흰쥐 미세아교세포에서 NF-Kappa이나 cAMP/CREB를 조절한다고 보고되었다 (24,25). 본 연구에서는 CRH와 CRH-R1의 결합 후의 세

포 내 신호전달에 대하여 자세히 연구되지는 않았으나, 이후에는 CRH와 CRH-R1의 결합 후의 하위 신호전달에 대한 연구가 고려되어야 할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 CRH 단독으로도 NO를 생성시킬 수 있으며, LPS와 함께 처리하였을 경우, 상승적으로 NO를 생성시킬 수 있음을 알 수 있었다. 결론적으로 CRH가 마우스 미세아교세포에서 NO 분비를 증가하는데 중요한 역할을 담당하고 신경퇴행성 질환과 관련하여 CRH가 질환 발생의 하나의 인자가 될 수 있음을 제시하고 있다. 더 나아가 다른 면역 질환의 병인에도 중요하게 관여할 수 있음을 시사하며 스트레스 관련 질병에 대한 이해 및 좋은 정보로서 활용될 수 있는 가능성을 제공하고 있다. 이후 연구로는 CRH가 어떠한 메커니즘을 통해 NO 생성에 직·간접적으로 관여하는지에 대해서 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Han IO, Kim KW, Ryu JH, Kim WK: p38 mitogen-activated protein kinase mediates lipopolysaccharide, not interferon-gamma, -induced inducible nitric oxide synthase expression in mouse BV2 microglial cells. *Neurosci Lett* 325;9-12, 2002
- Arimoto T, Bing G: Up-regulation of inducible nitric oxide synthase in the substantia nigra by lipopolysaccharide causes microglial activation and neurodegeneration. *Neurobiol Dis* 12; 35-45, 2003
- Sola C, Casal C, Tusell JM, Serratos J: Astrocytes enhance lipopolysaccharide-induced nitric oxide production by microglial cells. *Eur J Neurosci* 16;1275-1283, 2002
- Emerit J, Edeas M, Bricaire F: Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomed Pharmacother* 58;39-46, 2004
- Kasckow JW, Aguilera G, Mulchahey JJ, Sherif S, Herman JP: In vitro regulation of corticotropin-releasing hormone: *Life Sci* 73;769-781, 2003
- Ward A, Persen, Deanna McCullers, Carsten Culmsee, Mark P. Mattson: Corticotropin-releasing hormone protects neurons against insults relevant to the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease* 8;492-503, 2001
- Lezoualc'h F, Engert S, Berning B, Behl C: Corticotropin-releasing hormone-mediated neuroprotection against oxidative stress is associated with the increased release of non-amyloidogenic amyloid beta precursor protein and with the suppression of nuclear factor-kappaB. *Mol Endocrinol* 14;147-159, 2000
- Depino AM, Earl C, Kaczmarczyk E, Ferrari C, Besedovsky H, del Rey A, Pitossi FJ, Oertel WH: Microglial activation with atypical proinflammatory cytokine expression in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 18;2731-2742, 2003
- Elenkov, Ilia J., Webster, Elisabeth L, Torpy, Geore P: Stress, corticotropin-releasing hormone, glucocorticoids, and the immune/inflammatory response: Acute and chronic effects. *Annals of the New York Academy of Science* 876;1-13, 1999
- Roe S. Y., McGowan E. M. and Rothwell N. J: Evidence for the involvement of corticotropin-releasing hormone in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Eur. J Neurosci* 10;553-559, 1998
- Sofia Agelaki, Christos Tsatsanis, Achille Gravanis, and Andrew N. Margioris: Corticotropin-Releasing Hormone Augments Pro-inflammatory Cytokine Production from Macrophages In Vitro and in Lipopolysaccharide-Induced Endotoxin Shock in Mice. *Infection and immunity* 70;6068-6074, 2002
- Ricart-Jane D, Llobera M, Lopez-Tejero MD: Anticoagulants and other preanalytical factors interfere in plasma nitrate/nitrite quantification by the Griess method. *Nitric Oxide* 6;178-185, 2002
- Weinberger B, Fakhrzadeh L, Heck DE, Laskin JD, Gardner CR, Laskin DL: Inhaled nitric oxide primes lung macrophages to produce reactive oxygen and nitrogen intermediates: *Am J Respir Crit Care Med* 158;931-938, 1998
- Wang W, Ji P, Riopelle RJ and Dow KE: Functional expression of corticotropin-releasing hormone receptor 1 in cultured rat microglia. *J Neurochem* 80;287-294, 2002
- Coste SC, Heldwein KA, Stevens SL, Tobar-Dupres E, Stenzel-Poore MP: IL-1alpha and TNFalpha down-regulate CRH receptor-2 mRNA expression in the mouse heart. *Endocrinology* 142;3537-545, 2001
- Radulovic M, Dautzenberg FM, Sydow S, Radulovic J, Spiess J: Corticotropin-releasing factor receptor 1 in mouse spleen: expression after immune stimulation and identification of receptor-bearing cells. *J Immunol* 162;3013-3021, 1999
- Park J, Kwon D, Choi C, Oh JW, Benveniste EN: Chloroquine induces activation of nuclear factor-kappaB and subsequent expression of pro-inflammatory cytokines by human astroglial cells. *J Neurochem* 84;1266-1274, 2003
- Wang W, Ji P, Dow KE: Corticotropin-releasing hormone induces proliferation and TNF-alpha release in cultured rat microglia via MAP kinase signalling pathways. *J Neurochem* 84;189-195, 2003
- Pyo H, Yang MS, Jou I, Joe EH: Wortmannin enhances lipopolysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase expression in microglia in the presence of astrocytes in rats. *Neurosci Lett* 346;141-144, 2003
- Hey-kyung Jeon, Noh-Pal Jung, In-Ho Choi, Byoung-Joo Gwag: Comparison of macrophage activation and tumor-cytotoxicity in mouse and hamster peritoneal macrophages by cold stress. *Korean J Immunol* 19;505-512, 1997
- Martin PY, Bianchi M, Roger F, Niksic L, Feraille E: Arginine vasopressin modulates expression of neuronal NOS in rat renal medulla. *Am J Physiol Renal Physiol* 283;559-568, 2002
- Szentivanyi M Jr, Park F, Maeda CY, Cowley AW Jr: Nitric oxide in the renal medulla protects from vasopressin-induced hypertension. *Hypertension* 35;740-745, 2000
- Giusti-Paiva A, Ruginsk SG, de Castro M, Elias LL, Carnio EC, Antunes-Rodrigues J: Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced release of vasopressin in rats. *Neurosci Lett* 346;21-24, 2003
- Zbytek B, Pfeffer LM, Slominski AT: Corticotropin-releasing hormone inhibits nuclear factor-kappaB pathway in human HaCaT keratinocytes. *J Invest Dermatol* 121;1496-1499, 2003
- Zhao J, Karalis KP: Regulation of nuclear factor-kappaB by corticotropin-releasing hormone in mouse thymocytes. *Mol Endocrinol* 16;2561-2570, 2002