

WK101에 의한 아나필락시의 억제효과와 작용기전

이영미[#] · 김형룡^{*}

원광대학교 의과대학, *원광대학교 치과대학

(Received September 26, 1995)

Inhibitory Effect of Anaphylaxis by WK101 and Mechanism of Action

Young Mi Lee[#] and Hyung Ryong Kim^{*}

School of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Chonbuk 507-749, Korea

*School of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Chonbuk 507-749, Korea

Abstract—The effect of WK101 on compound 48/80-induced anaphylaxis was studied in rat. WK101 was found to exhibit a inhibitory activity on the compound 48/80-induced anaphylaxis. WK101 also inhibited the serum histamine release induced in anaphylaxis by compound 48/80. The effect of WK101 on the histamine release from rat peritoneal mast cells was studied. WK101 (10^{-3} -1 mg/ml) inhibited the histamine release induced by compound 48/80 (5 μ g/ml) in rat peritoneal mast cells. To clarify the mechanism of these inhibitions, we investigated the effects of WK101 on cAMP and intracellular calcium content of rat peritoneal mast cell. The content of cAMP in mast cells, when WK101 was added, was increased transiently, and was significantly increased more 53 fold at 10 sec than that of basal cells. Moreover, WK101 inhibited intracellular calcium release induced by compound 48/80. This results suggest that WK101 may be useful for the prevention and treatment of allergy-related disease.

Keywords □ Anaphylaxis, Compound 48/80, Histamine, Mast cells.

비만세포는 즉시형 알레르기를 일으키는 필수 세포이다.^{1, 2, 3, 4} 비만세포의 탈과립을 유도하는 비만세포 활성화는 Fc수용체에 항원, anti-IgE, lectin 등의 결합에 의하거나, anaphylatoxin 등에 의한 자극, calcium ionophore, compound 48/80, codeine 및 합성 부신피질 자극 호르몬과 같은 약리적 복합물에 의하여 야기된다고 보고되어 있다.^{5, 6, 7, 8} 특히 compound 48/80은 비만세포의 칼슘수준을 증가시켜 비만세포의 탈과립을 유도하는 아나필락시 모델로서 많이 알려져 있다.⁹ 반면에 비만세포의 탈과립을 억제하는 물질에는 cAMP를 변형하는 약물, 인지질대사를 변화 시키는 약물, 칼슘과 calmodulin 길항제, cromoglycate와 플라보노이드, 스테로이드 등이 있다.^{10, 11, 12, 13}

WK101은 우리나라에서 광범위하게 자라고 있는 민간적으로 알레르기 질환에 사용되어 온 천연물이다. Chun 등¹⁴은 *Aurantii Fructus Immaturus*의 물추출액을 정맥주사하였을 때 랫트의 Passive cutaneous anaphylaxis (PCA)반응과 시험관내 히스타민 유리를 유의성 있게 억제하였음을 보고하였으며, Kubo 등¹⁵도 *Citrus unshiu*의 50% 에탄올 추출액과 물 추출액에서 동일한 실험 결과를 얻은 바 있다. 또한 Wen 등¹⁶은 개에서 endotoxin에 의해 유도된 shock을 *Aurantii Fructus Immaturus*으로 치료하였음을 보고하였다. 한편, Makino 등¹⁰은 항알레르기 약물인 AA-673의 작용기전을 cAMP의 생성이 증가되고, cAMP phosphodiesterase가 억제되므로서 결과적으로 비만세포내의 cAMP 함량이 증가되어 히스타민유리가 억제됨을 보고하였으며, Tasaka 등⁵은 히스타민 유리체에 의해 유도된 세포내 칼슘방출이 몇몇 항알레르기 약물에 의해

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0653-50-6774 (팩스) 0653-50-6811

억제된다고 보고 하였다. 따라서, 본 연구 결과는 WK 101이 compound 48/80에 의해 유도된 아나필락시에 미치는 효과 및 그 작용기전을 규명한 것이다.

실험방법

재료 및 기기

Compound 48/80, metrizamide와 poly-L-lysine 은 Sigma company 제품을 사용하였고, Fluo-3 AM은 Molecular Probe, Inc.에서 구입하였으며, cAMP kit 는 Amersham International plc.에서 구입하여 사용하였다. 기타 모든 시약은 특급시약을 사용하였다. 본 실험에 사용한 WK101은 시중 한의원에서 구입한 건조생약이다. 기기로는 Spectrofluorometer (Kontron, Germany), ACAS 570 Interactive Laser Cytometer (Meridian Inc., Okemos, MI), ELISA reader(Molecular Device, USA)등을 사용하였다.

실험동물

체중 200~300 g의 Sprague-Dawley계 수컷흰쥐를 사용하였다.

WK101의 추출

WK101의 추출은 건조 생약 100 g을 취하여 세절한 다음 증류수 500 ml를 가하여 수욕상에서 5시간씩 2회 추출하여 식힌 후 0.45 μ m 여과기로 여과한 후 동결 건조하여 -20°C에 보관하였다. 이 추출물은 사용하기전에 *in vivo* 실험에서는 신선한 생리식염수를 사용하였으며, *in vitro* 실험에서는 Tyrode buffer A (10 mM HEPES, 130 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.4 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5.6 mM glucose, 0.1% bovine serum albumin)를 사용하여 일정농도로 조제하였다.

생체내 실험

Compound 48/80(8 μ g/g 체중)을 흰쥐의 복강내에 투여하기 60분전, 5분후 및 10분 후에 생리식염수로 조제한 WK101은 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 (mg/g, 체중)의 용량으로 복강내에 주사하였다. 치사율은 아나필락시를 유발시킨 후 60분 동안 관찰하였다. 한편 compound 48/80 투여 60분전, 5분후, 및 10분후에 WK 101(1.6 mg/g, 체중)을 복강내에 투여하고 compound 48/80을 복강내 주사한 15분 후에 1.5 ml의 혈액을 심장

에서 취해 혈청을 분리하여 히스타민을 정량하였다.

시험관내 실험

흰쥐 복강 비만세포의 분리 - Kanemoto 등¹⁷⁾의 방법에 준하여 흰쥐 복강 비만세포를 분리하였다. 간단히 설명하면, 흰쥐를 에테르로 마취시킨 후 실온에서 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B (NaCl, NaHCO₃, KCl, NaH₂PO₄, glucose)약 20 ml을 복강내에 주입하고 90초간 복벽을 가볍게 맞사지한 후 복벽 중앙선을 약간 절개하여 복강세척액을 스포이드로 채취하여 150 g로 10분간씩 3회 반복, 원침시킨 후 상층 부유액을 버리고 동일 Tyrode buffer B로 재부유시켰다. 이 세포부유액중 비만세포는 Yurt 등¹⁸⁾의 방법으로 분리 정제하여 순도 90~95 %를 얻었다.

Compound 48/80에 의한 히스타민 유리 - 흰쥐 복강비만세포 부유액에 Tyrode buffer A로 조제한 WK 101(10⁻³-1 mg/ml)을 첨가하여 10분간 반응시킨 후 compound 48/80 용액 (5 μ g/ml)을 부가하여 10분후에 400 g로 4°C에서 5분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 비만세포 부유액에 WK101과 compound 48/80용액 대신 Tyrode buffer A를 첨가한 군을 blank로 하고, WK101대신 Tyrode buffer A를 첨가하고 compound 48/80 용액을 부가한 군을 대조군으로 하였다. 비만세포 부유액 1 ml에 들어 있는 히스타민의 총량은 비만세포가 들어 있는 부유액에 perchloric acid(최종농도, 0.4 N)를 넣어 100°C로 5분간 가열하여 비만세포를 파괴시킨 후 측정하였다. 세포, 배양 상층액 및 혈청중에 있는 히스타민은 Shore 등¹⁹⁾의 방법을 약간 수정하여 정량하였다. 히스타민 유리억제율 (%)은 다음과 같은 식으로 구하였다.

히스타민 유리 억제율(%)

$$= (\text{WK101을 부가하지 않았을 때의 히스타민 유리율} - \text{WK101을 부가하였을 때의 히스타민 유리율}) \times 100 / \text{WK101을 부가하지 않았을 때의 히스타민 유리율}$$

세포내 cAMP 측정 - Peachell 등²⁰⁾의 방법에 준하여 실시하였다. 간단히하면, Tyrode buffer A에 부유시킨 흰쥐 복강비만세포(5 \times 10⁵ 세포)에 Tyrode buffer A로 조제한 WK101 (1 mg/ml)을 넣어 37°C에서 배양하였다. 배양시간은 0, 10, 30, 60, 180, 300 초이며 산성화 에탄올(86% ethanol 0.9 ml: 1 M HCl=99:1)을 넣

Table I— Effect of time administered the WK101 on compound 48/80-induced anaphylaxis

Drug ^a	Compound 48/80 ^b	Mortality (%) ^c		
		60 min before	5 min later	10 min later
Saline	+	100	100	100
WK101	+	0	0	25
WK101	-	0	0	0

^a 200 μ l saline or WK101 was given with 1.6 mg/g B.W at 60 min before or 5 min, 10 min later (n=3/group) compound 48/80 injection. ^b Compound 48/80 solution (8 μ g/g B.W.) were intraperitoneally given in to the group of rats. ^c Mortality (%) within 60 min following compound 48/80 injection was represented as No. of dead rats \times 100/No. of total experimental rats.

어 세차게 혼합하여 반응을 정지시킨 후 액체질소에서 동결시켰다. 이 시료를 녹여서 혼합한 후 400 g로 4°C에서 5분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후 상층액 0.9 ml을 취해 감압 건조시켰다. 이 건조시료중의 cAMP 함량은 assay buffer 200 μ l에 용해시킨 후 cAMP 정량 kit (Amersham International plc.)를 사용하여 측정하였다.

세포내 칼슘농도 측정 - Ca^{2+} , Mg^{2+} 이 없는 PBS (CMF-PBS)에 부유시킨 흰쥐 복강비만세포(1×10^5 세포)를 poly-L-lysine을 코팅한 35-mm dish에 부착시켰다. Fluo-3 AM(최종농도, 3 μ M)으로 37°C에서 30분간 염색한 다음 신선한 CMF-PBS로 조심스럽게 2회 세척후 이 CMF-PBS 1 ml을 넣어 주었다. Tyrode buffer A로 조제한 WK101을 부가한 후 10분간 37°C에서 배양한 후 compound 48/80을 넣어 증가하는 세포내 칼슘은 200 mW 아르곤-이온 레이저 방출광원이 장착된 ACAS 570 Interactive Laser Cytometer(Meridian Inc., Okemos, MI)를 사용하여 형광강도로서 scanning 하여 측정하였다.

결과 및 고찰

WK101이 compound 48/80용액에 의하여 유도된 아나필락시에 미치는 영향 - Compound 48/80은 P-methoxy-N-methylphenethylamine의 저분자량의 polymer로서 비만세포의 탈과립을 유도하는 인자들 가운데 가장 많이 사용되는 약물로서 비만세포의 세포질내의 칼슘농도를 증가시켜 히스타민을 유리하는 물질이다. 생리식염수나 WK101만을 투여한 군(n=3)에서는 100% 모두 살았고, compound 48/80만을 투여한 군(n=3)에서는 20분 이내에 100% 모두 사망하였다. Compound 48/80을 투여하기 60분 전과 5분 후에 WK101을 복강내 투여한 군(n=3)은 전혀 사망하지 않

Table II— Effect of dose of WK101 on compound 48/80-induced anaphylaxis

Dose(mg/g B.W.) ^a	Compound 48/80 ^b	Mortality (%) ^c
Saline	+	100
WK101 0.05	+	100
0.10	+	50
0.20	+	25
0.40	+	0
0.80	+	0
1.60	+	0
1.60	-	0

^a Groups of rats were intraperitoneally pretreated with 200 μ l saline or WK101 was given with 0.05, 0.10, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 mg/g B.W at 60 min before (n=3/group) compound 48/80 injection. ^b Compound 48/80 solution (8 μ g/g B.W.) were intraperitoneally given in to the group of rats. ^c Mortality (%) within 60 min following compound 48/80 injection was represented as No. of dead rats \times 100/No. of total experimental rats.

았으며, 10분후에 투여한 군(n=3)은 25% 사망하였다 (Table I). Compound 48/80을 투여하기 60분전에 WK101을 계열 희석하여 복강내에 투여한 후 치사율을 관찰하였을 때 0.05 (mg/g, 체중)농도로 투여하였을 때는 모두 사망하였다. 그러나 0.1(mg/g, 체중)일 때는 50%, 0.2(mg/g, 체중)일 때는 25%만 사망하였고, 0.4(mg/g, 체중)이상에서는 전혀 사망하지 않았다 (Table II).

혈청중 히스타민 유리에 미치는 WK101의 효과 - Compound 48/80를 투여하기 60분전, 5분후, 10분후에 WK101(1.6 mg/g, 체중)을 복강내에 투여하고 compound 48/80을 복강내 주사한 15분 후에 심장에서 1.5 ml을 채혈하여 혈청을 분리한 다음 히스타민양을 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. Compound 48/80투여 60분 전 투여군의 혈청중 히스타민 유리 억제율은 $88.2 \pm 9.0\%$, 5분 후 투여군은 $74.0 \pm 8.5\%$, 10분 후 투여군은 $67.6 \pm 7.1\%$ 로 각각 현저한 억제율을 나타내었다. 그중 60분 전 투여군이 가장 효과적이었다. 이러한 결과들은 WK101이 compound 48/80의 투여에 의해 유도된 아

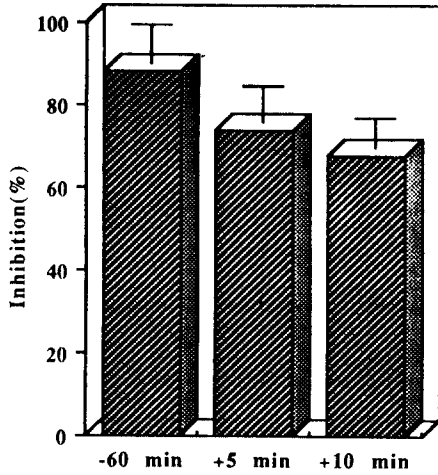


Fig. 1 — Inhibitory effect of WK101 on serum histamine release 15 min after compound 48/80 injection. WK101 was given with 1.6 mg/g B.W. at 60 min before or 5 min, 10 min later compound 48/80 injection. Groups of rats were intraperitoneally administered with 200 μ l of saline or WK101. Compound 48/80 solution (8 μ g/g, B.W.) were intraperitoneally given to the group of rats. Each bar shows the mean \pm S.E. (n=3).

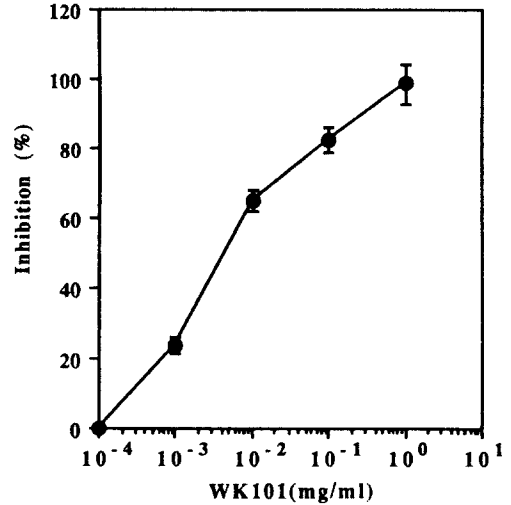


Fig. 2 — Inhibitory effect of WK101 on compound 48/80 induced histamine release from rat peritoneal mast cells. Rat peritoneal mast cells (2×10^5 cells/ml) were pretreated with saline or WK101 (10^{-3} – 1 mg/ml) for 10 min. Compound 48/80 solution (5 μ g/ml) were added to the rat peritoneal mast cell suspension pretreatment with the above agents. Each point shows the mean \pm S.E. (n=3).

나필락시 예방에 효과적임을 나타내 주고 있다. 이는 WK101중에 비만세포의 히스타민 유리를 억제하는 어떤 물질이 함유되어 있다는 사실을 시사해준다.

WK101이 시험관내에서 compound 48/80에 의한 흰쥐 복강비만세포의 히스타민 유리 억제효과 - 비만세포에 WK101을 1 mg/ml 농도까지 첨가하여도 세포독성이 관찰되지 않았다 (data not shown). 비만세포에 compound 48/80을 처리하면 수초 후에 세포막이 흐트러지면서 과립들이 세포밖으로 돌출되어 나온다. 그러나 비만세포를 WK101으로 전처리하고, compound 48/80을 처리하면 히스타민 유리가 일어나지 않는다. WK101 (10^{-3} – 1 mg/ml)은 용량 의존적으로 흰쥐 복강 비만세포의 히스타민 유리를 현저하게 억제시켰다(Fig. 2). WK101의 농도가 각각 10^{-3} mg/ml일 때는 $23.5 \pm 2.5\%$, 10^{-2} mg/ml일 때는 $64.9 \pm 3.1\%$, 10^{-1} mg/ml일 때는 $82.6 \pm 3.7\%$, 1 mg/ml일 때는 $98.7 \pm 5.7\%$ 로 현저하게 용량 의존적으로 히스타민 유리를 억제시켰다.

흰쥐 복강 비만세포의 cAMP함량에 미치는 WK101의 효과 - 본 실험의 목적은 WK101에 의한 비만세포내의 cAMP함량의 증가가 세포내 칼슘 저장고에서

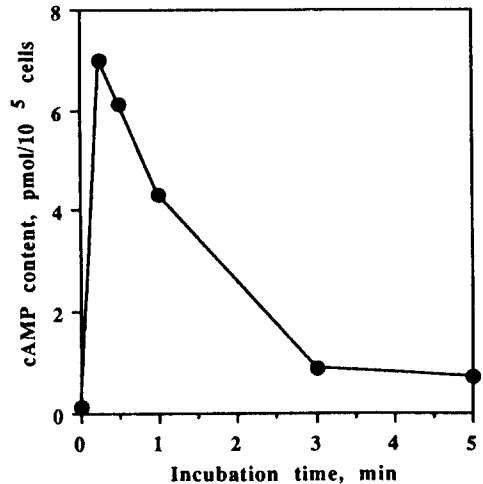


Fig. 3 — Time course of increase in the cyclic AMP level of rat peritoneal mast cells caused by WK101. Rat peritoneal mast cells (5×10^5 cells/ml) were pretreated with saline or WK101 (1 mg/ml) at 37°C. Each point represents the average of duplicate values.

칼슘방출을 억제하는지를 밝히는데 있다. 만약 그렇다면, WK101에 의한 흰쥐 복강비만세포에서 히스타민 억제 기전중의 하나가 cAMP 증가에 의한 것이라 것을

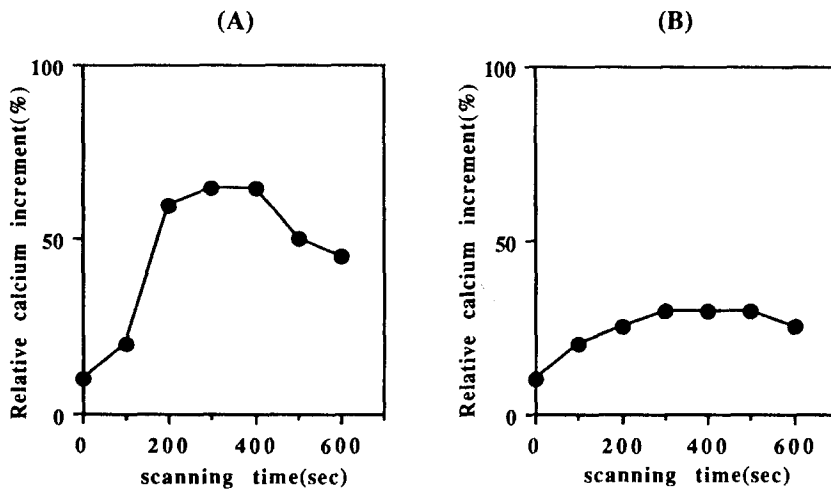


Fig. 4—Time course of the compound 48/80 (5 µg/ml)-induced relative calcium increment(%) in rat peritoneal mast cells (1×10^5 cells/ml). (A) after treatment with CMF-PBS only, (B) after treatment with WK101 (1 mg/ml) for 10 min at 37°C. The relative calcium increment(%) was measured at time intervals by using an ACAS Interactive Laser Cytometer. Each point represents the average of duplicate values.

설명할 수 있을 것이다. 따라서 WK101에 의한 히스타민 유리 억제 기전을 규명하기 위해 cAMP 함량과 세포내 칼슘농도를 분석하였다. 흰쥐 복강 비만세포에 WK101 (1 mg/ml)을 넣어 배양하였을 때 cAMP의 증가는 순간적이었으며, 최고치가 WK101을 넣었을 때는 WK101을 넣지 않았을 때보다 53배 증가하였다. WK101을 첨가한 후 10초에 정점에 이르다가 3분후에는 12.9%로 급격히 감소하였다. 이 결과는 비만세포의 cAMP 함량을 증가시키는 WK101의 농도(1 mg/ml)는 이들 세포로부터 히스타민 유리를 억제하는 농도와 같음을 보여준다. 이 사실은 cAMP가 히스타민 유리 조절인자로서 작용하며, 이러한 WK101에 의한 cAMP함량의 증가는 주로 cAMP의 생성의 증가와 phosphodiesterase의 억제에 의한 것으로 사료된다.¹⁰⁾

흰쥐 복강비만세포의 세포내 칼슘농도에 미치는 WK101의 효과 - 비만세포와 결합된 Fluo-3/AM은 유리 칼슘이온과 친화도가 매우 높은 Fluo-3로 분해된다. 칼슘이온과 킬레이트를 형성한 Fluo-3는 488 nm의 광선에 의하여 여기되었을 때 형광을 발산한다. Compound 48/80에 의한 흰쥐 복강비만세포내의 칼슘저장고로부터 칼슘방출에 미치는 WK101의 효과를 분석하였다. WK101을 1 mg/ml의 농도로 흰쥐 복강비만세포를 전처리하였을 때 compound 48/80에 의한 흰쥐 복강비만세포내의 칼슘증가는 현저히 억제되었다. 이러한 결

과들은 WK101이 비만세포막에 신속히 작용하여 복잡한 과정의 매개물질 생성이 방해되어 세포내의 cAMP 함량이 증가되고, 칼슘증가가 억제됨으로써 결과적으로 히스타민 유리가 억제될 가능성을 나타내 주고 있다.

결 론

비만세포막의 투과도 증가가 세포질의 매개물질 방출에 필수적인 계기이며, 이러한 의미에서 세포막 안정화 작용을 갖는 물질은 항알레르기 약물로 유용할 것으로 사료된다. 결론적으로 WK101은 아나필락시 및 알레르기 관련 질환 예방 및 치료에 유용할 것으로 기대된다. 현재 이러한 활성에 관여하는 분획을 분리 정제하여 실험중에 있다.

감사의 말씀

본 연구는 원광대학교 의약자원연구센터의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Gomes, J. C., Distasi, L. C., Sgarbosa, F. and Barata, L. E. S.: Pharmacological Evaluation

- of the Inhibitory Effect of Extracts from *Anchietia salutaris* on the histamine Release Induced in the Rat and the Guinea Pig. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **103**, 188 (1994).
- 2) Dombrowicz, D., Flamand, V., Brigman, K. K., Koller, B. H. and Kinet, J. P.: Abolition of Anaphylaxis by Targeted Disruption of the High Affinity Immunoglobulin E receptor α Chain gene. *Cell* **75**, 969 (1993).
 - 3) Martin, T. R., Ando, A., Takeishi, T., Katona, I. M., Drazen, J. M. and Galli, S. J.: Mast Cells Contribute to the Changes in Heart Rate, but not Hypotension or Death, Associated with Active Anaphylaxis in Mice. *J. Immunol.* **151**, 367 (1993).
 - 4) Ando, A., Martin, T. R. and Galli, S. J.: Effects of Chronic Treatment with the c-kit Ligand, Stem Cell Factor, on Immunoglobulin E-Dependent Anaphylaxis in Mice. *J. Clin. Invest.* **92**, 1639 (1993).
 - 5) Tasaka, K., Mitsunobu, M. I. O. and Masahiro, O.: Intracellular Calcium Release Induced by Histamine Releasers and Its Inhibition by Some Antiallergic Drugs. *Ann. Allergy* **56**, 464 (1986).
 - 6) Chand, N., Pillar, J., Diamantis, J., Perhach, J. R. and Duane Sofia, R.: Inhibition of Calcium Ionophore (A23187)-Stimulated Histamine Release from Rat Peritoneal Mast Cells by Azelastine: Implications Its Mode. *Eur. J. Pharmacol.* **96**, 227 (1983).
 - 7) Takei, M., Umeyama, A., Shoji, N., Arihara, S. and Endo, K.: Mechanism of Inhibition of IgE-Dependent Histamine Release from Rat Mast Cells by Penasterol and Penasterone. *J. Pharm. Sci.* **84**, 223(1995).
 - 8) Ohmori, Y., Ito, M., Kishi, M., Mizutani, H., Katada, T. and Konishi, H.: Antiallergic Constituents from Oolong Tea Stem. *Biol. Pharm. Bull.* **18**, 683 (1995).
 - 9) Amir, S. and English A. M.: An Inhibitor of Nitric Oxide Production, NG-Nitro-L-Arginine-Methyl Ester, Improves Survival in Anaphylactic Shock. *Eur. J. Pharmacol.* **203**, 125 (1991).
 - 10) Makino, H., Saijo, T., Ashida, Y., Kuriki, H. and Maki, Y.: Mechanism of Action of an Antiallergic Agent, Amlexanox(AA-673), in Inhibiting Histamine Release from Mast Cells. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* **82**, 66 (1987).
 - 11) Reanmongkol, W., Tohda, M., Matsumoto, K., Subhadhirasakul, S., Takayama H., Sakai S. I. and Watanabe, H.: Inhibitory Effect of Alkaloids Extracted From the Stem Bark of *Hunteria Zeylanica* on 5-Lipoxygenase Activity in vitro. *Biol. Pharm. Bull.* **18**, 910 (1995).
 - 12) Ashida, Y., Saijo, T., Kuriki, H. and Maki, Y.: Interaction of the Antiallergic Agent AA-344 with Biogenic Amines and Prostaglandins in Production of cyclic AMP in rat mast cells. *Int. Arch allergy appl. Immun.* **62**, 415 (1980).
 - 13) Graziani, Y. and Chayoth, R.: Elevation of Cyclic AMP Level in Ehrlich Ascites Tumor Cells by Quercetin. *Biochem. Pharmacol.* **26**, 1259 (1977).
 - 14) Chun, Y. T. and Sankawa, U.: Screening of Antiallergic Effect in Traditional Medicinal Drugs and Active Constituents of *Aurantii Fructus Immaturus*. *Shoyakugaku Zasshi* **43**, 314 (1989).
 - 15) Kubo, M., Yano, M. and Matsuda, H.: Pharmacological Study on Citrus Fruits. I. Anti-allergic Effect of Fruit of *Cirus unshiu* Markovich (1). *Yakugaku Zasshi* **109**, 835 (1989).
 - 16) Wen, Z. X., Xian, L. J., Rao, Z. Z., Qing, S. D. and Chun, L. S.: Anti-shock Effects of Synthetic Effective Compositions of *Aurantii Immaturus*. *Chinese Med. J.* **102**, 91 (1989).
 - 17) Kanemoto, T. J., Kasugai, T., Yamatodani, A., Ushio, H., Mochizuki, Tohya, K., Kimura, M., Nishimura, M. and Kitamura, Y.: Supernormal Histamine Release and Normal Cytotoxic Activity of Beige Rat Mast cells with Giant Granules. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **100**, 99 (1993).
 - 18) Yurt, R. W., Leid, R. W. and Austen K. F.: Native Heparin From Rat Peritoneal Mast Cells. *J. Biol. Chem.* **252**, 518 (1977).
 - 19) Shore, P. A., Burkhalter, A. and Cohn, V. H.: A Method for Fluorometric Assay of Histamine in Tissues. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **127**, 182 (1959).
 - 20) Peachell, P. T., Macglashan, D. W., Lichtenstein, L. M. and Schleimer, R. P.: Regulation of human basophil and lung mast cell function by cyclic adenosine monophosphate. *J. Immunol.* **140**, 571 (1988).