

榆根皮가 全身的 및 局所的 아나필락시스에 미치는 效果

吳明鎭, 李彦政, 宋峰根, 金炯均, 金東赫, 金成宰*

I. 緒 論

榆根皮는 榆科(느릅나무과, Ulmaceae)에 속한 落葉喬木인 느릅나무의 樹皮 및 根皮이다. 味는 甘하고, 性은 平하며 利水, 通淋, 消腫의 效능이 있어 임상적으로 小便不通, 淋濁, 水腫, 癰疽發背, 丹毒, 疥癬의 치료에 쓰인다¹⁻⁴⁾. 또한 療小兒頭瘡, 療胸의 效능도 있다 하였으며, 최근에는 알레르기성 비염의 치료에도 활용되고 있다¹⁻⁴⁾.

알레르기는 항원과 의 접촉이 조직을 손상시키는 반응으로 발생기전에 따라 몇가지 형태로 분류된다.⁵⁻⁷⁾ 그 중 I형 알레르기는 비만세포 등의 탈과립현상 유발에 의한 아나필락시스를 일으키거나, 두드러기, 기관지 천식, 알레르기성 비염 등의 질환을 일으킨다.⁸⁻¹²⁾ 특히 생명을 위협하는 아나필락시스 반응은 감각된 사람에서 특이 항원을 투여 후 수분 이내에 나타나며 호흡곤란에 이어 혈관허탈이 되거나 또는 호흡곤란 없이 쇼크현상이 일어나기도 한다.¹³⁾

담마진, 알레르기성 비염 및 천식 등에서 나타나는 즉시형 과민반응은 비만세포로부터 방출되는 화학적 매개물질에 의하여 매개되어 일어난다.¹⁴⁾ 또한 비만세포로부터 매개물질의 분비반응은 IgE 항체에 대한 표면 특이적 수

용체에 IgE 항체의 결합 후 동일 항원의 자극에 의해서 유도될 수 있다²⁰⁻²²⁾. 이러한 항IgE 항체는 알레르기 피부반응에 있어서 즉시형 과민반응에 대한 전형적인 생체내 모델로서 수동적 피부 아나필락시스 (passive cutaneous anaphylaxis, PCA) 반응을 유도한다.²³⁾ 비만세포내 과립속에는 자연상태에서 적은 양의 tumor necrosis factor- α (TNF- α)가 존재하지만²⁴⁾ PCA 반응시와 마찬가지로 특이항원에 의한 IgE 항체 수용체가 교차 연결되면 그 양이 극적으로 증가한다.²⁵⁻²⁸⁾

이러한 알레르기 증상과 연관되는 것으로 생각되는 丹毒, 胸 등의 질환에 榆根皮가 사용되어 왔으며 최근 알레르기성 비염에 활용되는 것으로 미루어 보면 榆根皮는 알레르기 질환의 치료와 예방에 적절히 사용될 수도 있을 것으로 기대된다. 이에 저자들은 흰쥐를 이용하여 compound 48/80에 의하여 유도되는 전신성 아나필락시스 및 항 IgE 항체에 의해 유도되는 피부반응에 있어서 榆根皮의 效능을 평가하였다. 또한 흰쥐 복강 비만세포를 이용하여 榆根皮의 TNF- α 생성 및 cAMP 수준에 미치는 영향도 연구한 바 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

*원광대학교 한의학과 신계내과학교실

II. 材料 및 方法

1. 材料

楡根皮는 원광대학교 전주한방병원(전주, 전북)에서 구입하여 사용하였다. compound 48/80, anti-dinitrophenyl(DNP) IgE, DNP-human serum albumin(HSA)과 metrizamide는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, α -minimal essential medium (α -MEM)은 Flow Laboratories (Irvine, UK)에서, fetal calf serum(FCS)은 Life Technologys(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. recombinant tumor necrosis factor- α (rTNF- α) (1×10^5 U/ml)와 rabbit anti-murine TNF- α antibody는 Genzyme (Munche, Germany)에서 구입하였으며, phosphatase-labeled anti-rabbit IgG는 Serotec(Oxford, England)에서 구입하였다. Wistar계 흰쥐는 대한 실험동물센터(음성, 충북)에서 구입하여 실험에 이용하였다.

2. 楡根皮 水浸液의 調劑

楡根皮에 적량의 증류수를 넣고 70°C에서 5 시간동안 추출하였다. 水浸液은 0.45 μ m 여과지를 이용하여 여과한 다음 냉동건조하였다. 건조한 extract는 생리식염수 혹은 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)에 사용전에 용해시켰다.

3. Compound 48/80에 의한 全身性 아나필락시스

楡根皮는 compound 48/80을 (0.008 mg/g

체중) 투여하기 60분 전, 5분 후 및 10분 후에 복강내에 주사하였다. 치사율은 아나필락시스를 유발시킨 후 60분동안 관찰하여 결정하였다. 치사율의 관찰이 끝난 직후 생쥐의 심장에서 혈액을 취해 혈청을 분리하여 히스타민을 정량하였다.

4. 受動 皮膚 아나필락시스 (PCA)

IgE 의존적 피부반응인 수동 피부 아나필락시스는 피부에 anti-DNP IgE(100 μ g)를 피내 주사한 48시간 후에 흰쥐의 꼬리 정맥에 DNP-HSA(1 mg)와 4% Evans blue(1:4)를 주사하여 일으켰다. 약 30분후에 흰쥐를 마취시킨 후 피내주사한 피부를 절개하여 염색된 부위의 Evans blue의 양을 측정하였다.²⁹⁾

5. 히스타민 定量

세포배양 상층액 및 혈청 중에 있는 히스타민의 정량은 Shore 등³⁰⁾의 방법으로 하였다. 간단히 설명하면 에펜돌프 튜브에 시료 500 μ l를 넣고 60% 과염소산 용액 50 μ l를 넣고 혼합 후 원심분리(1,500 rpm, 20 min)하여 그 상층액 800 μ l를 5 N-NaOH 용액 500 μ l, 증류수 3ml, *n*-Butanol 10ml 및 NaCl 1.2 g을 혼합한 시험관에 넣고 진탕 후 원심분리(2,000 rpm, 10 min)하였다. Butanol층 8 ml를 50 ml 시험관에 넣고 0.1 N-HCl 용액 3 ml, *n*-Heptane 10 ml를 가하여 진탕 후 원심분리(2,000 rpm, 10 min)하였다. 여기에서 얻어진 수층 2 ml에 1 N-NaOH 용액 400 μ l와 1% *o*-Phthaldialdehyde 용액 100 μ l를 넣고 수욕상(37°C)에서 3 분동안 반응시킨 다음, 3 N-HCl 용액 200 μ l를 넣고 혼합 후 2 분 동안 방치하여 spectrofluorometer(λ_{ex} =360 nm, λ_{em} =440 nm)로 형광도를 측정하였다.

히스타민 유리 억제율(%)은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{\text{약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민양} - \text{약물을 부가했을때의 히스타민양}}{\text{약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민양}} \times 100$$

6. 腹腔 肥滿細胞 分離

Kanemoto 등³¹⁾의 방법에 준하여 흰쥐 복강 비만세포를 분리하였다. 간단히 설명하면 생쥐를 에테르로 마취시킨 후 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B(NaCl, NaHCO₃, KCl, NaH₂PO₄, glucose) 약 20 ml를 복강내에 주입하고 30 초간 복벽을 가볍게 마사지한 후 복벽 중앙선을 조심스럽게 절개하여 복강세포를 함유한 세척액을 파스퇴르 피펫으로 채취하였다. 복강세포를 150×g로 10 분간씩 3회 반복하여 원침시킨 후 상층 부유액을 버리고 동일 Tyrode buffer B로 재부유시켰다. 이 세포부유액중 비만세포는 22.5% w/v metrizamide를 이용하여 Yurt 등³²⁾의 방법으로 분리 정제하였다.

7. TNF-α 生成 定量

배양액내 생성된 TNF-α의 측정은 Scuderi 등³³⁾이 기술한 방법에 준하여 약간 변형된 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)로 실시하였다. 즉 anti-murine TNF-α capture mAb는 flat-bottomed 96-well plate(Corning, Rochester, NY)에 coating buffer (0.02% sodium azide를 함유한 PBS, pH = 7.2)를 이용하여 각 well당 최종농도 6.25 ng으로 처리한 후 4℃에서 12시간동안 코팅하였다. 코팅 후, 비특이적 결합부위를 막기 위하여 2%

BSA를 함유한 PBS로 구성된 blocking buffer를 첨가하여 37℃에서 2시간동안 blocking하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 조성된 washing buffer로 4회 세척후 recombinant mouse TNF-α 표준액과 각 sample의 배양상등액을 각 well에 100 μl씩 가하여 37℃에서 2시간동안 배양하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척후 rabbit anti-murine TNF-α를 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 7.8 ng/ml 농도로 희석한 후 well에 처리하여 37℃에서 2시간동안 배양하였다. 다시 washing buffer로 7회 세척후 phosphatase가 결합된 goat anti-rabbit IgG (Sigma Co.)를 100 ng/ml 농도로 각 well에 처리한 다음 37℃에서 2시간 배양한 후 7회 세척하였다. 마지막 세척후 0.05 M NaHCO₃와 0.05 mM MgCl₂로 조성된 buffer에 용해시킨 *p*-nitrophenyl phosphate (PNPP) 발색제를 100 μl씩 각 well에 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 TNF-α의 양을 측정하였다.

8. cAMP 測定

cAMP 수준은 Peachell 등³⁴⁾의 방법에 따라 측정하였다. 간단히 설명하면, 순수 분리한 복강 비만세포를 미리 37℃에서 가온시킨 Tyrode buffer A에 부유한 다음 에펜돌프 튜브에 5×10⁵ cell씩 일정하게 나누어 약물을 처리하였다. 반응은 지정한 시간 간격으로 진행시키고, 짧고 강하게 vortex한 다음 산성화 에탄올(86% ethanol/1 M HCl의 0.9 ml, 99:1)을 가하여 반응을 종료시켰고 액체질소로 순간 냉동시켰다. 샘플을 vortex한 다음 speed vaccum evaporator에서 건조시켰다. 건조한 샘플에 측정용 완충액(150-200 μl)을 넣고 냉동 보관하였다. cAMP 수준은 Amersham International Plc.의 kit를 이용하여 효소면역측정법으로 결정하였다.

9. 統計學的 分析

모든 결과는 실험회수에 대한 means ± S.E.로 나타내었으며, 통계학적 분석은 student's t-test로 행하였다. 유의성 검증은 $P < 0.01$ 로 하였다.

III. 實驗結果

1. 全身的 아나필락시스에 있어서 楡根皮의 抑制 效果

먼저 전신적 아나필락시스에서 楡根皮의 효과를 실험하기 위하여 치사적 아나필락시스 유도제로써 compound 48/80을 사용하였다. 치사율은 compound 48/80(0.008 mg/g, 체중)을 복강내 주사한 다음 1시간동안 감시하여 결정하였다. Table 1에 나타낸 바와 같이 대조군으로 200 μ l의 생리식염수를 주사한 다음 compound 48/80의 주사한 결과 치명적인 속반응으로 100% 치사율을 나타냈다. 그러나 楡根皮를 compound 48/80 투여 1시간전에 0.001-1.0 mg/g 체중의 농도범위에서 전처리했을 때, compound 48/80에 의한 치사율이 용량의존적으로 감소하였다(n=10/group). 楡根皮(1.0 mg/g 체중)를 compound 48/80 투여후 5분, 10분 후에 투여하였을 때 흰쥐의 치사율은 시간의존적으로 증가하였다(Table 2). 楡根皮(1.0 mg/g 체중) 투여에 의한 의견상 생리적인 이상은 관찰되지 않았다.

Table 1. Effect of aqueous extract of *Ulmı radıcıs cortex*(URC) on compound 48/80- induced systemic anaphylaxis

URC addition (mg/g BW)	Compound 48/80 (0.008 mg/g BW)	Mortality (%)
None(Saline)	+	100
0.001	+	100
0.01	+	70
0.1	+	40
1.0	+	0
1.0	-	0

Mortality (%) within 1 hr following the compound 48/80 injection is presented as the No. of dead rats \times 100/total No. of experimental rats.

Table 2. Time-dependent effect of aqueous extract of *Ulmı radıcıs cortex*(URC) on compound 48/80-induced systemic anaphylaxis

URC addition (mg/g BW)	Compound 48/80 (0.008 mg/g BW)	Mortality (%)	
		5 min after	10 min after
None(Saline)	+	100	100
1.0	+	20	60
1.0	-	0	0

Mortality (%) within 1 hr following the compound 48/80 injection is presented as the No. of dead rats \times 100/total No. of experimental rats.

2. 血清中 히스타민의 遊離에 있어서 楡根皮의 抑制 效果

다음은 compound 48/80 투여에 의한 혈청 중 히스타민의 유리에 있어서 楡根皮의 효능

을 실험하였다. 흰쥐 복강에 compound 48/80을 투여하기 1시간 전에 榆根皮(0.001 - 1.0 mg/g 체중)를 복강내에 주사하였다. compound 48/80을 주사한 15분 후에 흰쥐의 심장에서부터 혈액을 얻어 혈청을 분리하였다. 그 결과 榆根皮는 농도의존적으로 혈청내 히스타민의 방출을 억제시켰다 (Fig. 1). 특히 榆根皮 1.0 mg/g 체중에서는 그 효과가 현저하였다 ($P < 0.01$).

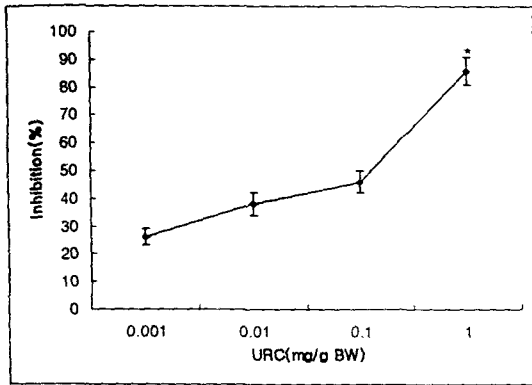


FIGURE 1. Effect of aqueous extract of *Ulmi radice cortex*(URC) on compound 48/80-induced serum histamine release. Data are presented as the mean \pm SE of three independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

3. 局所的 아나필락시스에 있어서 榆根皮의 抑制 效果

생체내 국소 알레르기 반응에 미치는 榆根皮의 효과를 실험하기 위하여 전형적인 수동 피부 아나필락시스 실험동물 모델을 이용한 榆根皮의 효능을 연구하였다. 수동 피부 아나필락시스는 비만세포 표면에 존재하는 IgE 수용체에 결합하는 특이 IgE 항체를 생체 국소에

수동적으로 투여한 다음 항원을 주사하여 일으키는 피부반응이다.³⁵⁾ 동일한 조건에서 榆根皮의 효능을 분석하기 위하여 동일한 조건의 실험동물을 사용하여 생리식염수를 주사하여 대조군으로 하였다. 항체 주사 48시간 후에 항원인 DNP-HSA 및 evans blue를 꼬리 정맥에 주사하여 색소의 국소 누출을 정량하여 비교하였다. 그 결과 榆根皮는 항원으로 야기하기 1시간 전에 투여하여 누출된 색소를 정량한 결과 Table 3에 나타낸 바와 같이 榆根皮 0.1, 1.0 mg/g 체중에서 현저한 억제율을 나타냈다 ($P < 0.01$).

Table 3. Effect of aqueous extract of *Ulmi radice cortex*(URC) on the 48-hr PCA in rats

URC addition (mg/g BW)	Amount of dye (g/site)	Inhibition (%)
None (Saline)	12.817 \pm 0.032	-
0.1	7.144 \pm 0.026*	44.3
1.0	2.679 \pm 0.058*	79.1

Data are presented as the mean \pm SE of four independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

4. 흰쥐 腹腔 肥滿細胞로 부터 히스타민 遊離에 있어서 榆根皮의 抑制 效果

이번에는 생체의 실험에 사용한 비만세포 탈과립 물질인 compound 48/80과 IgE 수용체 응집에 의한 히스타민의 유리 조건을 복강 비만세포를 분리하여 생체의 실험으로 확인하고자 하였다. 분리한 복강 비만세포에 榆根皮를 처리하고 10분 후에 compound 48/80 처리 및 DNP-HSA로 야기하여 히스타민의 유리량

을 측정하였다. 그 결과 楡根皮(0.001 - 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)는 농도의존적으로 compound 48/80 유도성 및 IgE 매개성 히스타민 방출을 억제하였다 (Fig. 2).

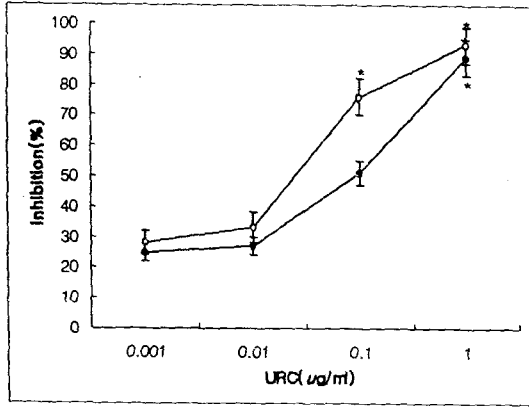


FIGURE 2. Effect of aqueous extract of *Ulmi radialis cortex*(URC) on compound 48/80-induced (●) or IgE-mediated (○) histamine release from RPMC. Data are presented as the mean \pm SE of three independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

5. 흰쥐 腹腔 肥滿細胞로 부터 TNF- α 分泌에 있어서 楡根皮의 抑制 效果

楡根皮가 생체내에서 중요한 염증성 세포활성물질로 알려진 TNF- α 의 분비에 미치는 영향을 실험하였다. 먼저 흰쥐 복강 비만세포를 anti-DNP IgE(1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 감작시켰다. 그 후 DNP-HSA(0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 자극하기 4시간 전에 楡根皮를 부가하였다. 그 결과 楡根皮(1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)는 흰쥐 복강 비만세포로부터 IgE 매개성 TNF- α 생성을 현저히 억제시켰다 (Table 4).

Table 4. Effect of aqueous extract of *Ulmi radialis cortex* (URC) on IgE-mediated TNF - production from RPMC

URC addition ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Anti-DNP IgE + DNP-HSA	TNF- α production (ng/ml)
None(Saline)	-	0.271 \pm 0.040
None(Saline)	+	0.749 \pm 0.055
1.0	+	0.396 \pm 0.082*

Data are presented as the mean \pm SE of three independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

6. 흰쥐 腹腔 肥滿細胞內 cAMP 水準에 있어서 楡根皮의 效果

마지막으로 저자들은 楡根皮가 흰쥐 복강 비만세포로부터 히스타민의 방출을 억제하는 기작을 규명하기 위하여 cAMP 수준을 실험하였다. 흰쥐 복강 비만세포를 楡根皮와 함께 배양했을 때, 세포내 cAMP 함량의 증가에 compound 48/80의 부가는 별다른 영향을 미치지 못하였다. 위의 모든 실험에서 楡根皮에 의한 세포 독성은 거의 없었다(trypan blue uptake).(Table 5)

Table 5. Effect of aqueous extract of *Ulmi radialis cortex* (URC) on compound 48/80-induced cAMP content in RPMC

UAC addition ($\mu\text{g/ml}$)	Compound 48/80 (5 $\mu\text{g/ml}$)	cAMP ($\text{pmol}/2 \times 10^5 \text{ cells}$)
None (Saline)	-	15 \pm 3
None (Saline)	+	6 \pm 3
1.0	-	127 \pm 9*
1.0	+	113 \pm 6*

Data are presented as the mean \pm SE of three independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

IV. 考 察

榆根皮는 榆白皮, 零榆, 白榆, 榆錢樹라고도 불리며¹⁾ 性味는 “甘, 平, 滑利, 無毒”, “甘, 平”, “甘, 寒” 등으로 대개 甘平으로 나타나고¹⁻⁴⁾ 효능에 있어서는 <神農本草經>에서 “主大小便不通, 利水道, 除邪氣”, <名醫別錄>에서 “主腸胃邪熱氣, 消腫, 療小兒頭瘡”, <藥性論>에서 “主利五淋, 治不眠, 療胸”, <本草綱目>에서 “利竅, 滲濕熱, 行津液, 消癰腫”이라 하였다.^{1-4, 42-44)}

알레르기는 발생기전에 따라 I-V형으로 나누는데, 제 I형 과민면역반응의 특징은 감작된 개체가 동일한 항원(allergen)에 다시 노출되면 즉시 알레르기반응이 일어난다. 이러한 알레르기반응인 아나필락시스(anaphylaxis)는 ‘어떤 항원이 이항원으로 이미 감작되어 있는 개체에서 비만세포 또는 호염구에 부착되어 있는 항체와 결합하게 되면 수분내에 신속히 일어나는 면역반응’으로 정의될 수 있는데 이 반응은 전신성 질환 또는 국소성 반응으로 나타날 수 있다.

전신성 반응은 이미 감작되어 있는 개체에

게 해당 항원을 혈관내에 주사함으로써 발생한다. 흔히 수분내에 속 상태에 빠지며 간혹 치사적이다. 국소성 반응은 항원 즉 allergen의 체내 진입구에 따라 다르며, 국소성 피부종창, 알레르기성 비염, 결막염, 고초열, 기관지 천식증, 알레르기성 위장염 등의 형을 취한다.¹⁰⁾

비만세포의 탈과립 반응은 세포내 Ca^{++} 의 농도 증가에 기인하는데 Ca^{++} 농도 증가는 3가지 기전에 의한다. 첫째는 IgE 수용체의 자극으로 세포막의 Ca^{++} channel을 활성화 시켜 Ca^{++} uptake를 증가시키는 것이고, 둘째는 IgE 수용체가 G-단백을 자극한 후 adenylate cyclase가 활성화 되어 cAMP를 생산하는 것으로 cAMP는 세포내에 저장된 Ca^{++} 를 방출시킨다. 셋째는 phospholipase C를 활성화 시켜 phosphatidylinositol 4,5-biphosphate(PIP_2)를 생산하여 Ca^{++} 의 방출을 유도하는 것이다.¹⁵⁾

제 I형 과민면역반응 매개인자는 세포내 과립이 파괴되면서 유리되는 매개인자와 세포활성으로 생산되는 매개인자로 구분된다. 과립안에 이미 만들어져 있다가 알려진 자극으로 과립이 파괴되면서 분비되는 매개인자는 histamine, serotonin, protein kinase 그리고 eosinophil chemotactic factor이며 자극후 생산되는 매개인자는 platelet-activating factor, leukotriene, prostaglandin 그리고 bradykinin 등이다.⁷⁾

비만세포의 탈과립으로 방출되는 이미 형성된 물질 및 새로이 합성된 염증성 물질 중에서 히스타민은 아나필락시스를 일으키는 가장 강력한 매개물질 중의 하나로서 알려져 있다.¹⁶⁾ 비만세포의 탈과립은 비만세포의 표면에 작용하는 자극물질에 의해 유발된다.¹⁷⁾ 가장 강력한 자극물질로는 기본 아미노산 중 합체인 합성 compound 48/80이 있다.¹⁸⁾ 고농도의 compound 48/80은 비만세포로부터 거의 90%까지 히스타민의 방출을 유도시키기 때문에 적당한 양의 compound 48/80의 사용

으로 아나필락시스의 기작을 연구하는 데 사용되는 편리한 시약이다.¹⁹⁾

본 연구에서 저자들은 楡根皮가 다양한 자극제에 의한 전신 및 국소 아나필락시스를 현저히 억제하는 것을 발견했다. 또한 楡根皮는 흰쥐에서 혈청중 히스타민 수준을 감소시켰을 뿐 아니라 compound 48/80 혹은 anti-DNP IgE로 자극하여 복강 비만세포로부터 분비되는 히스타민의 수준도 현저히 감소시켰다. 이러한 결과는 생체내외에서 楡根皮가 비만세포의 자극에 의한 급성 탈과립 반응을 억제하는 효과를 가지고 있는 것을 암시하고 있다. compound 48/80에 의해 비만세포로부터 히스타민의 방출을 유도하는 신호전달과정의 활성화는 의심의 여지가 없다. 최근에 보고된 compound 48/80 및 이와 유사한 다른 화합물들이 거의 직접적으로 G-proteins를 활성화시키는 것이 밝혀졌기 때문이다.^{36,37)} 이 분자는 Gi-유사 단백질이고 benzalkonium chloride에 의해 활성이 억제된다.³⁸⁾ 알레르기성 질환의 진행에는 여러 가지 다른 매개물질의 중요성이 인정되고는 있으나 히스타민은 항원 유도성 피부 반응의 가장 근본적인 매개물질인 것으로 인식되고 있다. 화학적 매개물질의 피내 혹은 비강내 적용 및 화학적 매개물질 유도제의 투여에 의해서도 알레르기 모델과 유사한 양상으로 혈관 투과성이 증가한다.^{39,40)} 楡根皮를 투여한 흰쥐에서 IgE 매개성 국소 아나필락시 반응이 현저히 억제되었다(Table 3). 이러한 결과는 楡根皮가 각종 항원에 의한 국소 피부 알레르기 반응을 예방할 수 있다는 것을 의미한다.

본 연구에서 저자들은 楡根皮의 투여에 의해 복강 비만세포의 면역학적 자극에 의한 TNF- α 의 분비가 억제되는 것을 증명하였다(Table 4). 楡根皮의 생체내에서 염증 및 면역반응중에 비만세포로부터 TNF- α 분비 억제 효과는 알레르기 질환의 병리학적 진행 과정을 차단하는 것을 의미하기 때문에 중요성이 매우 크며 지속적인 연구가 필요한 부분으

로 사료된다. 비만세포로부터 탈과립 반응의 억제 기작에 세포내 adenylyate cyclase의 활성화에 관련한 cAMP양의 증가가 알려져 있다.⁴¹⁾ 楡根皮와 함께 배양했을 때 세포내 cAMP 함량은 대조군과 비교했을 때 8배 이상 증가하였다(Table 5). 이러한 결과는 비만세포의 탈과립에 있어서 楡根皮의 억제 효과는 cAMP 수준의 증가를 통하여 매개되고 있는 것을 암시한다. 楡根皮의 히스타민의 방출 억제에 의한 아나필락시스 억제 기작 규명을 위해 비만세포내 히스타민을 합성하는 효소인 L-histidine decarboxylase의 활성화도, 유전자의 발현 및 조절 기작 등을 계속 연구할 필요가 있으며 위의 결과로 보아 유근피는 한 의학적으로 담마진, 알레르기성 비염, 알레르기성 천식, 결막염, 국소적 피부종창, 알레르기성 위장염 등에 사용되는 실험적 근거를 제시하여 앞으로 제 I 형 알레르기 질환의 치료에 응용할 수 있을 것으로 사료된다.

V. 結 論

본 연구에서 저자들은 임상적으로 알레르기 질환에 사용되고 있는 楡根皮의 효능에 대한 실험적 근거 및 부분적인 작용 기작을 밝히려고 시도하였다. 이러한 실험을 통하여 발견한 내용은 다음과 같이 요약할 수 있다.

1. 楡根皮는 전신적 아나필락시스를 억제한다. 특히 楡根皮를 체중당 1.0 mg 투여 시에는 100% 억제율을 보였다.
2. 楡根皮는 국소적 피부 아나필락시스를 현저히 억제하였다($P < 0.01$).
3. 楡根皮는 생체내외에서 비만세포의 자극에 의한 히스타민의 방출을 현저히 억제하였다($P < 0.01$).
4. 楡根皮는 면역학적 자극에 의한 비만세

포로 부터 TNF- α 의 분비를 억제하였다.
5. 榆根皮에 의한 비만세포로부터 히스타민 방출의 억제는 부분적으로 세포내 cAMP 수준의 상승에 기인한다.

이와 같은 결과는 비만세포에 의해 매개되는 아나필락시스 반응을 榆根皮가 강력하게 억제하는 효능을 갖고 있는 것을 암시한다.

參考文獻

- 1) 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林社, pp. 614-615, 1991.
- 2) 新文豐出版公司 : 中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, pp. 2186-2187, 1978.
- 3) 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp. 2039-2042, 1982.
- 4) 최옥자 : 약초의 성분과 이용, 서울, 일월서각, pp. 143-144, 1991.
- 5) 丁奎萬 : 알레르기와 韓方, 서울, 第一路, pp. 15-20, 1990.
- 6) 康秉秀 : 韓方臨床 알레르기, 서울, 成輔社, pp. 22-23, 1988.
- 7) 김세종 : 면역학, 서울, 고려의학, pp. 260-265, 1994.
- 8) 康晰榮 : 알레르기疾患의 診斷과 治療, 서울, 一潮閣, pp. 209-220, 1987.
- 9) 金周德 外 : 로이트 必須免疫學, 서울, 고문사, pp. 227-230, 1991.
- 10) 서울대 의과대학 : 면역학, 서울, 서울대학교출판부, pp. 135-142, 1989.
- 11) 정헌택 외 : 免疫學入門, 서울, 고문사, pp. 337-342, 1988.
- 12) 하대유 외 : 그림으로 본 면역학, 서울, 고문사, pp. 279-281, 1994.
- 13) 해리슨 번역편찬위원회 : harrison's 내과학, 서울, 도서출판 정담, pp. 1757-1766, 1997.
- 14) Wasserman S. I. and Marquardt D. L. : *Anaphylaxis in Allergy : Principles and Practice*. C. V. Mosby Co, St. Louis. 1988.
- 15) Jan Klein : *Immunology*, Massachusetts, Blackwell, pp. 429-438, 1990.
- 16) Petersen L. J., Mosbech H. and Skov P. : Allergen-induced histamine release in intact human skin in vivo assessed by skin microdialysis technique: Characterization of factors influencing histamine releasability. *J. Allergy Clin. Immunol.* **97** : 672-679, 1996
- 17) Lagunof D., Martin T. W. and Read G. : Agents that release histamine from mast cells. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **23** : 331-351, 1983.
- 18) Ennis M., Pearce F. L. and Weston P. M. : Some studies on the release of histamine from mast cells stimulated with polylysine. *Br. J. Pharmacol.* **70** : 329-334, 1980.
- 19) Allansmith M. R., Baird R. S., Ross R. N., Barney N. P. and Bloch K. J. : Ocular anaphylaxis induced in the rat by topical application of compound 48/80. Dose response and time course study. *Acta Ophthalmol.* **67** : 145-153, 1989.
- 20) Segal D. M., Taurog J. and Metzger H. : Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74** : 2993-2997, 1997.
- 21) Metzger H., Alcaraz G., Hohman R., Kinet J. P., Pribluda V. and Quarto R. : The receptor with high affinity for immunoglobulin E. *Annu. Rev. Immunol.* **4** : 419-470, 1986.

- 22) Alber G., Miller L., Jelsema C., Varin-Blank N. and Metzger H. : Structure/function relationships in the mast cell high-affinity receptor for IgE (FcεRI) : Role of cytoplasmic domains. *J. Biol. Chem.* **266** : 22613-22620, 1991.
- 23) Saito H. and Nomura Y. : Screening methods for drug evaluation 3. In: *Development (Eds. Suzuki L., Tanaka Pharmaceutical Research and H., Yajima H., Fukuda H., Sezaki H., Koga K., Hirobe M. and Nakajime T.), p. 22. Hirokawa, Tokyo, 1989.*
- 24) Gordon J. R. and Galli S. J. : Mast cell as a source of both preformed and immunologically inducible TNF-α/cachectin. *Nature* **346** : 274-276, 1990.
- 25) Plaut M., Pierce J. H., Watson C. J., Hanley-Hyde J., Nordon R. P. and Paul W. E. : Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of FcεRI or to calcium ionophores. *Nature* **339** : 6467, 1989.
- 26) Wodnar-filipowicz A., Heusser C. H. and Moroni C. : Production of the haemopoietic growth factors GM-CSF and interleukin-3 by mast cells in response to IgE receptor-mediated activation. *Nature* **339** : 150-152, 1989.
- 27) Burd P. R., Rogers H. W., Gordon J. R., Martin C. A., Jayaraman S., Wilson S. D., Dvorak A. M., Galli S. J. and Dorf M. E. : Interleukin 3-dependent and -independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J Exp Med* **170** : 245-257, 1989.
- 28) Gurish M. F., Ghildyal N., Arm J., Austen K. F., Avraham S., Reynolds D. S. and Stevens R. L. : Cytokine mRNA are preferentially increased relative to secretory granule protein mRNA in mouse bone marrow-derived mast cells that have undergone IgE-mediated activation and degranulation. *J Immunol* **146** : 1527-1533, 1991.
- 29) 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** : 89-101, 1978.
- 30) Shore P. A., Burkhalter A. and Cohn V. H. : A method for fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **127** : 182-186, 1959.
- 31) Kanemoto T. J., Kasugai T., Yamatodani A., Ushio H., Mochizuki T., 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** : 99-106, 1993.
- 32) Yurt R. W., Leid R. W. and Austen K. F. : Native heparin from rat peritoneal mast cells. *J. Biol. Chem.* **252** : 518-521, 1977.
- 33) Scuderi P., Sterling R. E., Lam K. S., Finley P. R., Ryan, K. J., Ray C. G., Petersen E., Slymen D. J. and Salmon S. E. : Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infections. *Lancet* **2** : 1364-1365, 1986.
- 34) 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 : 571-579, 1988.
- 35) Wershil B. K., Mekori Y. A., Murakami T. and Galli S. J. : 125 I-fibrin deposition in IgE-dependent immediate hypersensitivity reactions in mouse skin: demonstration of the role of mast cells using genetically mast cell-deficient mice locally reconstituted with cultured mast cells. *J. Immunol.* 139 : 2605-2614, 1987.
- 36) Mousli M. C., Bronner C., Bockaert J., Rouot B. and Landry Y. : Interaction of substance P, compound 48/80 and mastoparan with α -subunit C-terminal of G protein. *Immunol. Lett.* 25 : 355-358, 1990.
- 37) Mousli M. C., Bronner C., Landry Y., Bockaert J. and Rouot B. : Direct activation of GTP-binding regulatory proteins (G proteins) by substance P and compound 48/80. *FEBS Lett.* 259 : 260-262, 1990.
- 38) Bueb J. -L., Mousli M. C., Bronner C., Rouot B. and Landry Y. : Activation of Gi-like proteins, a receptor-independent effect of kinins in mast cells. *Mol. Pharmacol.* 38 : 816-822, 1990.
- 39) Inagaki N., Miura T., Daikoku M., Nagai H. and Koda A. : Inhibitory effects of β -adrenergic stimulants on increased vascular permeability caused by passive cutaneous anaphylaxis, allergic mediators and mediator releasers in rats. *Pharmacology* 39 : 1927, 1989.
- 40) Inagaki N., Miura T., Ohira K., Nagai H., Xu, Q. and Koda A. : Effect of CV-3988, a specific antagonist against platelet activation factor, on homologous passive cutaneous anaphylaxis in the mouse ear. *J. Pharmacobiodyn* 13 : 272-277, 1990.
- 41) Makino H., Saijo T., Ashida Y., Kuriki H. H. and Maki Y. : Mechanism of action of an antiallergic agent, Amlexanox (AA-673), in inhibiting histamine release from mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 82 : 6671, 1987.
- 42) 小泉榮次郎 : 和漢藥考, 東京, 生生舎出版部, pp. 396-398,
- 43) 朴鐘甲 : 增補本草備藥, 大邱, 東洋綜合通信教育院出版部, p. 123, 1985.
- 44) 金昌謙 : 本草從新, 서울, 杏林書院, p. 124, 1982.

ABSTRACT

Effect of *Ulmi radidis* Cortex Extract on Systemic and Local Anaphylaxis in Rats

Oh Myung Jin, Lee Eon Jeong, Song Bong Keun, Kim Hyeong Kyun,
Kim Dong Hyuk, Kim Seong Jae

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,
Wonkwang University, Iksan, Korea.

Ulmi radidis cortex is a herb medicine which has been used for the treatment of such allergic disease as urticaria, allergic rhinitis and athma.

To assess the contribution of an aqueous extract of *Ulmi radidis* cortex(URC) in systemic anaphylaxis, we used compound 48/80 as a fatal anaphylaxis inducer in rats. URC inhibited anaphylactic shock 100% with a dose of 1.0 mg/g body weight (BW) 1 hr before injection of compound 48/80. URC significantly inhibited serum histamine levels induced by compound 48/80. URC (1.0 mg/g BW) also inhibited to 79.1% passive cutaneous anaphylaxis activated by anti-dinitrophenyl (DNP) IgE. URC dose-dependently inhibited the histamine release from the rat peritoneal mast cells (RPMC) by compound 48/80. Moreover, URC had a significant inhibitory effect on anti-DNP IgE-induced histamine release or tumor necrosis factor- α production from RPMC. The level of cAMP in RPMC, when URC was added, significantly increased compared with that of normal control. These results indicate that URC may possess strong antianaphylactic effect.

Key words *Ulmi radidis* cortex, allergic disease, anaphylaxis, histamine, tumor necrosis factor- α , antianaphylactic effect