

천연물 복합체 추출물(알러큐)의 알러지 유발 흰쥐에 대한 항알러지 효과

서경석¹ · 권명상² · 조정순^{1*}

¹명지대학교 식품영양학과, ²강원대학교 수의학부

Anti-Anaphylactic Effects of Natural Extract Compounds(AllerQ) in the Rats

Kyong-Suk Suh¹, Myung-Sang Kwon² and Jung-Soon Cho^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Myongji University, Yongin 449-728, Korea

²Dept. of Immunopharmacology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract

Medicinal plants are of great importance in providing healthcare to a large portion of the population in Korea. A number of plants are described in Dong-Ui-Bo-Gam for use in the treatment of allergic disorders, namely psoriasis, eczema, bronchial asthma, etc. In this study, we evaluated the effect of AllerQ, which is multi-complexes of various plants extracts such like *Mori folium*, *Scutellaria baicalensis*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Mentha sacharinensis* and *Poncirus trifoliata* on compound 48/80 induced anaphylactic shock, ovalbumin induced asthma *in vivo* and anti-IgE antibody induced hypersensitivity *in vitro*. We found antianaphylactic or antiallergic properties of AllerQ when given orally. AllerQ for prophylactic treatment for anaphylactic shocks have produced good results. AllerQ may modulate various aspects of immune function and allergic inflammation. In the present study, we analyse the effects of AllerQ on mast cell degranulation, mortality, cAMP/cGMP, O₂⁻, H₂O₂ level, cytokine production and on the elicitation of IgE-mediated mast cell-dependent allergic inflammation *in vivo* and *in vitro*. We have established that AllerQ inhibited histamine release, cAMP/cGMP, O₂⁻, H₂O₂ level, IL-4, tumor necrosis factor-alpha(TNF- α) and IL-6 production without having any significant physical change. These effects have been observed in mast cell(*in vitro*) and serum(*in vivo*) derived from three different origins that were activated by either immunological or non-immunological stimuli. These results suggest that the antianaphylactic and antiasthmatic action of AllerQ may be associated with an increase in the intracellular inhibition of the cAMP phosphodiesterase. Furthermore, AllerQ identified as potent inhibitors on O₂⁻, H₂O₂ and cytokine activity. these data suggest that AllerQ may have an inhibitory role in mast cell-mediated allergic inflammation, and thus might be considered as an useful functional food.

Key words: AllerQ, rat peritoneal mast cell, ovalbumin, compound 48/80, anti-DNP IgE.

서 론

현대의 식생활 환경이 식품의 기호적인 면을 강조하게 되면서 과잉 섭취나 편식 등으로 인한 여러 종류의 생체조절계, 즉 신경계, 세포분화계, 면역 및 생체방어계의 이상을 초래하게 되었다. 이로 인하여 현대인들에게는 돌연변이 유발성 및 발암성, 식품 알레르기(allergy) 등과 같은 요인들이 성인병을 유발시키게 하였다(홍수중 2000, 민경업 1998).

이러한 이유에서 건강상태의 유지 및 증진과 질병 예방과 같은 생리 조절 기능이 부여된 건강기능식품은 건강에 대한 사회적 관심이 고조되는 입장에서 발생한 식품의 새로운 측면이라 할 수 있다.

약용 식물들은 한국에서 질병에 대한 예방약으로서 그 중요성이 커지고 있다(김 등 1997, Kim et al 1999, 김과 김 1971, Chung et al 1995, Choi et al 1998, Shin et al 2002). 많은 식물들이 알레르기성 질병, 피부 소양, 기관지 천식, 두드러기, 담마진(urticaria)의 치료에 이용되었다는 것이 동의보감(허준 1596)에 알려져 있으며 그 중에서도 상엽, 황금, 감초, 박하, 등은 오래 전부터 민간요법으로 사용되어 왔다(김 등 1998, 생약연구회 1992, 동의학사전편찬위원회 2001).

비만세포는 알레르기 반응 중에 일어나는 다양한 생리학적, 면역학적, 병리학적 과정 즉, 창상 치유, 혈관 생성, 기생충과 신생물에 대한 숙주의 반응, 급·만성 염증 및 IgE (immunoglobulin E) 매개 즉발성 과민 반응에 관여한다.

비면역 아나필락시스(anaphylaxis)는 항히스타민 약물에 의하여 그 증상이 경감되고 있다. 그러나 면역학적 아나필락시스는 항히스타민 약물에 의하여 완전히 치료되지는 않는다

* Corresponding author : Jung-Soon Cho, Tel: +82-31-330-6201, E-mail: chojs@mju.ac.kr

(Singh et al 1997, Speyer et al 1999, Hirayama et al 2003).

비만세포 분비를 억제시키는 접근법으로 일반적인 단계에는 다음의 두 가지 단계에 따른다. 첫째 IgE와 allergen이 Fc_ε 수용체-항 IgE 항체에 부착하는 것을 억제함에 의한 것이며, 둘째 부착 후 Fc_ε 수용체의 신호 전달계를 억제함에 의한 방법이 있다(최병희 1999, 하대유 1992, Siraganian R.P 2003, Foetisch et al 2003).

최근의 연구에서 compound 48/80은 비만세포에서 O₂⁻ 생성을 한다고 보고되고 있다(Lee et al 1992). 이런 결과들은 비만세포의 역할이 염증의 유도뿐 아니라 염증 조직에서 국소 순환 조절에 의한 면역과정의 조절에도 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다(Peden & Dailey 1995).

항원 매개 알레르기 반응들은 기관지 천식에 있어서 깊은 연관성이 있다고 연구되고 있다. IgE 항체 매개 알레르기 천식은 사람에게 있어서 아나필락시스 증상의 유일한 특성이다. Allergen에 의한 첫 번째 노출 시, 생체는 비만세포 수용체에 친화성이 고도로 높은 IgE 항체를 생성한다. IgE 분자들은 분자들의 Fc_ε 부위를 통하여 표적세포와 결합한다. 비만세포는 2차 노출 시 비만세포와 IgE가 결합하며, 폭발적인 매개물들의 분비에 의하여 알레르기 반응들이 일어난다(Kim et al 1997, Baram et al 1997). IgE 매개 알레르기 반응은 Th2(T-helper 2) 세포에 의하여 활성화된다(Kato et al 1999). IL-4(interleukin-4)는 Th₂ 세포의 대표적 사이토카인으로서, 이는 B 림프구내 IgE 생합성의 class-switching의 주요 유도인자로서 작용한다(Hultner et al 2000, Fukuishi et al 1997).

본 연구에서는 compound 48/80에 의하여 유도된 아나필락시스, ovalbumine (OA)에 의하여 유도된 천식과 항 IgE 항체 유도의 *in vivo* 및 *in vitro* 과민반응에 대한 상업, 황금, 감초, 박하 및 지실의 천연물복합체 추출물인 알러큐의 효과를 관찰하였다. 이를 위하여 알레르기성 염증의 개시와 유도에서 비만세포 유도 사이토카인의 변화를 관찰하였으며, 비만세포 탈과립과 사이토카인 분비에 대한 알러큐의 효과를 검증하였다. 또한 compound 48/80, 항-DNP IgE, ovalbumin에 의해 유도된 세포내 cAMP(cyclic adenosine monophosphates) 및 cGMP(cyclic guanosine monophosphates)와 O₂⁻ 및 H₂O₂ 수준의 변화 등을 관찰하여 알러큐의 이에 대한 효능 실험을 실시하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 알러큐(AllerQ)의 제조

본 실험에 사용된 알러큐의 재료인 상업(*Morus bombycis*

Koidzumi), 황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi), 감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch), 박하(*Mentha arvensis* var. *piperasciens* Malinvaud) 및 지실은 시중 건재 약국에서 구입 정선한 후 사용하였고 이의 제조는 상업 6 kg과 황금 1 kg, 감초 1 kg, 박하 1 kg 및 지실 1 kg을 세절 혼합한 후 10 L의 증류수로 3회 열탕하여 2일간 실온에서 magnet stirrer(DMS, DH 201-HS, Korea)에 혼합 추출하고 Whatman filter No.3로 여과하여 진공 농축기(rotary vacuum evaporator : Heidolph VV2011, Germany)로 농축하여 1% 수율로 하여 100g 만들고 이를 4℃ 보관하였다가 필요에 따라 사용하였다.

2) 실험동물

본 실험에 사용된 8주령된 82마리의 Sprague-Dawley (SD) 계 수컷 흰쥐들은 경기도 가평 소재 (주)바이오체노믹스로부터 분양을 받았다. 흰쥐들은 23± 3℃, 12시간의 밤낮 순환과 60~70 %의 적절한 습도의 실험동물실에서 사육하였다.

모든 흰쥐들은 10주간 쥐용 기본 펠렛 사료(Purina, Korea)를 급여하였다.

3) Compound 48/80의 조제

Compound 48/80 (Sigma, USA)을 Ca⁺⁺-Locke(Sigma, USA) 용액에 용해시켜 실험목적에 따라 여러 가지 농도로 만들어 사용하였다.

4) Ca⁺⁺-Locke 용액의 조제

150 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 1.0 mg/mL bovine serum albumin, 1.0 mg/mL glucose 및 1.0 mg/mL heparin을 멸균된 3차 증류수에 녹여 pH 7.4로 적정한 후 복강 비만세포의 분리 탈과립, 히스타민 및 칼슘 유입 cAMP, cGMP의 양을 측정하는 실험에 사용하였다.

2. 실험 방법

1) Compound 48/80 유도 전신성 아나필락시스

48 마리의 흰쥐에 비만세포 탈과립 물질인 compound 48/80을 마리당 10 mg/kg 씩 복강 내 주사하였다. 알러큐는 0.25 mg/kg, 2.5 mg/kg, 25 mg/kg, 250 mg/kg 및 500 mg/kg 씩 존대(zonde)를 이용하여 compound 48/80 주사 1시간 전 경구로 투여하였다. 무처리 대조군에는 생리적인 식염수를 경구로 투여하였다. 폐사율은 쇼크 유도 후 1시간 동안 결정하였다. Compound 48/80 주사 20분 후 균별로 심체혈하고 혈액은 얼음 위 Eppendorf 튜브에 채취하여 혈청은 2,000×g에서 10분 동안 4℃에서 원심분리 하였다.

2) 복강내 비만세포 분리

흰쥐들은 ether로 마취한 후 방혈에 의하여 사망시킨 후 20 mL의 phosphate buffer solution (PBS, 154 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1mM CaCl₂, 5.6 mM glucose 및 5.0 mM Hepes(pH 7.4), Difco, USA)를 복강내 주입하였다. 복강은 90초간 부드럽게 마사지 하였다. 복강을 조심스럽게 개방한 후 복강액을 파스퇴르 파이펫으로 수확하였다. 복강 세포는 150 × g, 실온에서 10분간 원심분리 하였고, PBS에 재부유시켰다. 비만세포들은 Fukuishi et al(1997)의 방법에 의하여 분리하였다.

PBS 부유 복강액은 22.5 % w/v metrizamide(density, 1.120g mL⁻¹, Sigma, USA) 2 mL를 첨가한 후, 실온에서 400×g, 15분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 비만세포를 수확한 후 나머지는 제거하였다. 펠렛 내 세포들은 Hank's balanced salt solution (HBSS; Gibco, USA)에 의해 세척하고, 1 mL의 PBS에 재부유시키고 이 과정은 두 번 반복하였으며, 비만세포는 ≥99 % 수확하였다.

3) 항원 유도 SD 흰쥐의 천식 모형

SD 흰쥐들은 ovalbumin (OA; Sigma, USA) 10 µg을 생리 식염수 1 mL에 희석시켜 피하주사하고, 동시에 adjuvant로 aluminium hydroxide(Sigma, USA) 200 mg과 백일해(Pertussis) 백신(Sigma, USA) 1 mL를 피하주사하여 감작시켰다. 14일 후 5 % ovalbumin를 흡입시켰다.

4) 탈과립 인자 등의 처리

수확된 비만세포들은 anti-dinitrophenyl(DNP) IgE 항체로 감작시켰다. 비만세포는 10 % FBS(fetal bovine serum; Gibco USA) 첨가 α-minimal essential medium (α-MEM; Difco, USA) 배지에 부유시켰으며, 37°C에서 16시간동안 30 µg/mL anti-DNP IgE(Sigma, USA) 항체 첨가하여 5 % CO₂ 배양기(Sanyo, MCO-175, Japan)에서 처리하였다. 비만세포들은 3번 세척한 후, 1 µg/mL DNP-HSA(human serum albumin) 처리하여 37°C, 30분 동안 실험하였다. 본 실험에 사용된 DNP-HSA는 10 % FBS 첨가 α-MEM 배지에 용해시켰다.

수확된 비만세포들은 2 % FBS 첨가 α-MEM 배지에 재부유시켜서 1 µg/mL의 compound 48/80으로 처리하였다. 비만세포 부유액은 탈과립 인자들 처리 전 37°C, 10 분간 전처리 하였다.

현탁액은 수확하여 총 히스타민 양 측정에 이용되었으며, 남은 현탁액은 4°C, 400×g에서 5분간 원심분리 하였다. 상층액은 히스타민 유리의 측정에 사용되었다.

5) 히스타민 유리 억제

분리된 비만 세포들은 PBS 용액에 재부유시켜 compound

48/80로 처리하였다. 2×10⁵ 비만세포 부유액은 탈과립 인자 투여 전 37°C에서 10 분간 전처리하였다. 비만세포들은 2.5~250 µg/mL의 용량별로 알러큐로 처리한 compound 48/80로 10분간 처리하였다. 반응은 4°C, 400×g로 5분간 원심분리하여 관찰하였다. 세포내 히스타민은 perchloric acid (Sigma, USA)로 중지시킨 후 4°C에서 400×g에서 5분간 원심분리 하였다.

6) 유리된 히스타민의 측정

흰쥐 복강 비만세포 부유액을 micro tube에 넣고 각각의 시료를 첨가하여 30분 동안 37°C 항온조에서 배양시킨 다음, 800×g로 5분간 원심시켜 얻은 상층액에서 히스타민을 정량하였다. 비만세포 부유액에 각 시료대신에 Ca⁺⁺-Locked 용액을 첨가한 균을 정상대조군으로 간주하였다. 비만세포 부유액 450 µL에 들어 있는 히스타민 총량은 비만세포가 들어 있는 부유액을 100°C로 10분간 가열하여 비만세포를 파괴시킨 후 측정하였다. 히스타민 측정은 Shin et al(2002)의 방법을 변형, 보완하여 다음과 같이 정량하였다. 즉, 반응액 500 µL를 4°C에서 800×g로 5분간 원심분리하여 상층액 400 µL를 첨가하여 약 20초간 혼합한 후 n-butanol 1 mL를 첨가하여 3분간 혼합시킨 뒤 800×g로 5분간 원심분리하였다. 피펫으로 하층액 750 µL정도를 제거한 뒤 salt-saturated 0.1N- NaOH 500 µL를 첨가하고 1분동안 혼합하여 800×g로 5분간 원심 분리하였다. 상층액 800 µL를 얻어 0.1N-KCl 450 µL와 n-Heptane 1.5 mL를 혼합하여 1분간 반응시킨 뒤 800×g로 5분간 원심시켜 하층액 400 µL를 얻어 0.1N-HCl 1.6mL를 첨가하였다. 1N-NaOH 400 µL를 재첨가하여 혼합한 뒤 1% o-phthalaldehyde(o-PT) 100 µL를 부가하여 냉수조에서 4분간 반응시킨 다음 3N-HCl 200 µL를 혼합하여 Shore등의 방법에 의하여 spectrofluorometer (Berthold, Germany)로 438 nm (excitation at 353nm)에서 측정하여 히스타민을 정량하였다. 모든 유리 히스타민량은 아래의 공식에 의하여 히스타민 총량에 대한 백분율로 표시하였다.

유리 히스타민량(%)

$$= \{(\text{알러큐 처리하지 않은 히스타민량} - \text{알러큐 처리 유리 히스타민량}) / \text{알러큐 처리하지 않은 유리 히스타민량}\} \times 100$$

7) 화학발광 측정

Kwon(Kwon MS 1992) 및 Lee et al(1992)의 법을 이용하여 40 mg의 luminol(Sigma, USA)을 20 mL PBS에 우선적으로 녹인 후 160 µg의 triethylamine(Sigma, USA)을 첨가하고 ultrasonicator에서 완전히 용해시킨 다음 0.45 µm의 Millipore filter

로 여과한다. 그리고 Eppendorf tube에 300~500 μ L씩 소분하여 냉동실에 보관하였다가 CL 측정시 10 μ L씩을 분리된 복강비만세포와 혼합하여 사용하였다. 그리하면 세포가 유리하는 H_2O_2 를 선택적으로 증폭시킨다.

Lucigenin(Sigma, USA) 역시 Kwon(Kwon M.S 1992)의 방법을 이용하여 40 mg을 20 mL의 PBS에 용해시켜 준비하고, 1N-NaOH로 pH 8.0으로 조정 후 ultrasonicator에서 완전히 용해시킨 다음 0.45 μ m의 Millipore filter로 여과한다. 그리고 Eppendorf tube에 300~500 μ L씩 소분하여 냉동실에 보관하였다가 CL 측정시 10 μ L씩을 분리된 호염기구(basophils)과 혼합하여 사용하였다. 그리하면 세포가 유리하는 O_2 를 선택적으로 증폭시킨다.

복강 비만세포로부터 O_2^- , H_2O_2 생성은 luminometer (Berthold, LB9505C, Germany)를 이용하여 chemiluminescence (CL; 화학발광) 발생 여부를 통하여 측정하였다. 복강 세포 부유액은 Rosewell park memorial institute-1640(RPMI-1640; Sigma, USA)에서 compound 48/80 또는 알러큐를 투여하여 37°C에서 10분간 전처리 하였다.

8) ELISA에 의한 cytokine 측정

사이토카인 분비는 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)에 의하여 측정하였다. ELISA는 murine monoclonal 항체인, murine IL-4(Serotec, UK), TNF- α (Serotec, UK) 및 IL-6(Serotec, UK)에 의해 96-well plate에 코팅된 것으로 준비하였다.

4°C, 얼음위에서 상층액을 처리하였다. 흰쥐 사이토카인의 회색은 각 플레이트마다 기본 커브를 포함한다. 각 플레이트들은 세척하였고, PBS/T/1%에 0.25 μ g/mL biotin-conjugated rat 사이코카인으로 처리하였다. 세척 후, 0.1 mg/mL의 tetramethylbenzidine(TMB, Sigma, USA) 기질을 가지고 H_2SO_4 로 10분 처리하여 반응 정지시켰다. 그리고 사이토카인은 ELISA reader(Perkin Elmer HYS-7000, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

9) cAMP 와 cGMP 분석

Cyclic adenosine monophosphate(cAMP)와 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)분석은 Weston & Peachell(1998)의 방법에 따랐다. 이를 간략하면, 분리된 비만세포는 전처리된 PBS에 채부유시키고 2×10^5 세포들은 Eppendorf 튜브내 agonist나 anti-IgE 포함 전처리된 버퍼를 동량으로 가했다.

cAMP, cGMP 수준은 EIA(enzyme immunoassay kit, Amersham, Nederland)로 측정하였으며 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 통계처리

대조군과 처리군의 최고치 비교는 항원 또는 compound 48/80에 의해 유도된 반응에 대한 알러큐의 효과를 결정함에 있어서 짝비교 *t* test를 사용하였다.

결과는 Duncan's multiple-range test와 일원분석에 의했다. 군간의 차이는 $p < 0.05$ 때, 유의성이 있다고 판단하였으며 모든 통계분석은 Statistical Analysis Software(SAS institute)를 이용하였다(Sendecor & Cochrane 1967).

결과 및 고찰

1. Compound 48/80 유도 아나필락시스에서의 알러큐의 효과

10 mg/kg의 compound 48/80을 피하로 투여한 8마리의 흰쥐에 있어서는 아나필락시스 유도에 의해 투여군 전체에 100% 폐사율을 나타내었다(Table 1). 그리고 저용량인 0.25 mg/kg의 알러큐를 투여한 군에서는 여전히 8마리의 흰쥐가 모두 폐사하여 그 효과를 관찰할 수 없었으나, 알러큐의 농도를 점차 증가시켜 2.5 mg/kg으로 하였을 때는 폐사율이 compound 48/80 단독 투여군에 비하여 25% 감소하였고 알러큐의 농도를 더욱 증가시켜 25 mg/kg으로 하였을 때는 폐사율이 더욱 감소하여 50%로 줄어들었고 알러큐의 농도를 더욱 증가시켜 250 mg/kg으로 하였을 때 폐사율은 더욱 현저하게 감소하여 25%에 불과하였다. 특히 알러큐 용량 500 mg/kg에서 compound 48/80에 의하여 유도된 아나필락시스를 100% 억제시킴으로 전혀 폐사된 흰쥐가 관찰되지 않았다.

이와 같은 알러큐의 용량 의존적인 항아나필락시스 효과는 알러큐의 주성분인 상업, 황금, 감초, 박하 및 지실들의 복합적인 항알레르기 효과에 의한 것으로 사료된다. 그리고 이

Table 1. Effect of AllerQ on systemic anaphylaxis shock induced by compound 48/80 treatment in rats

Concentration of AllerQ	Mortality					
	Control	0.25 mg/kg	2.5 mg/kg	25 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg
No. of dead rat/	8/8	8/8	6/8	4/8	2/8	0/8
No. of tested rat (%)	(100)	(100)	(75)	(50)	(25)	(0)

Rats of control group were intraperitoneally pretreated with 200 μ L PBS.

Rats of test group intraperitoneally pretreated with 200 μ L of AllerQ(at various doses).1hr before (n = 8/group) the intraperitoneal injection of compound 48/80(10 mg/kg).

Mortality (%) within 1hr following the injection of compound 48/80 was represented as the number of dead rats \times 100 / total number of experimental rats.

러한 결과는 Shin & Kim(2002)과 Shin et al(1998) 보고와 일치하는 것을 알 수 있다.

2. 복강 비만세포의 히스타민 분비에 대한 알러큐의 *in vitro* 효과

복강 비만세포에서 compound 48/80 또는 anti-DNP IgE 매개 히스타민 분비에 대한 알러큐의 효과는 10분간 전 처리 후 관찰하였으며 그 결과는 Fig. 1과 같다.

Compound 48/80, IgE 매개 히스타민 분비 억제 효과는 알러큐 2.5~250 µg/mL의 용량에서 숫자적으로 용량 의존적으로 억제되었으나 통계적으로 유의적 차이는 없었다. 복강 비만세포는 48/80 또는 anti-DNP IgE 투여 후 37°C, 10분간 전처리 하였다.

본 연구결과는 Shin et al(1998)의 박하에 대한 항알레르기 활성에 대한 보고와 Chung et al(1991)의 황금에 대한 약리작용의 연구 결과 및 소 등(소 등 1990)의 연구결과인 상백피 추출물의 항알레르기 효과에 대한 보고와도 유사하여 이러한 효능효과는 천연물 복합체인 알러큐내의 다양한 flavonoids 성분의 복합적인 작용에 의한 것으로 사료된다.

3. 혈청에서 히스타민 분비에 대한 알러큐의 효과

ovalbumin 유도 천식 모델을 통하여 혈청내 히스타민 분비에 대한 알러큐의 효과에 대하여 관찰하였다. 알러큐는 경구로 10주 동안 투여하였다. 흰쥐는 ovalbumin 피하주사와 동시에 200 mg의 aluminium hydroxide와 백일해 백신으로 감작시켰으며, 14일 후 5% ovalbumin에 흡입시켜 노출시켰다. 혈

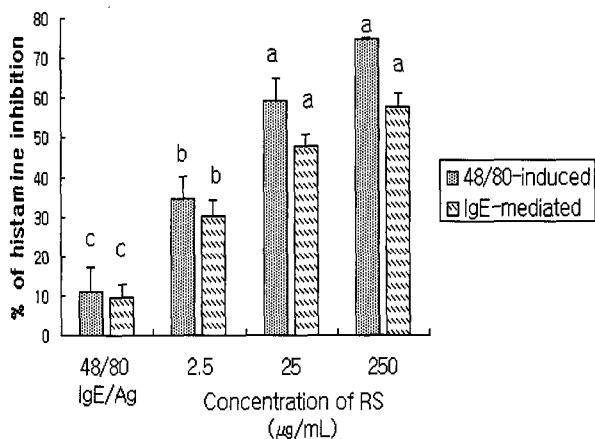


Fig. 1. Effect of AllerQ on compound 48/80 or anti-DNP IgE-induced histamine release from rat peritoneal mast cells. Rat peritoneal mast cells(2×10^5 cells/mL) were preincubated with the different concentration of AllerQ at 37°C for 10 min prior to incubation with compound 48/80 or anti-DNP IgE. Different alphabets in each values show statistically difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

청내 히스타민량은 모든 군에서 ovalbumin 투여 후 높아졌다. 알러큐 경구 투여군에서 혈청내 히스타민량은 ovalbumin을 흡입시킨 대조군에 비하여 감소되었으며 특히 100mg/kg의 군이 250 mg/kg 투여군보다 오히려 히스타민의 생성 억제 효과가 더 좋은 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 이상의 결과는 Knippels et al(1999)의 식품 알레르기 모델을 위하여 사용한 ovalbumin의 결과와도 유사하며 한편 히스타민의 억제를 위하여 사용한 제제는 상이하지만 Lee et al(1996)의 결과 및 Lie et al(1999)의 연구 결과와도 그 경향에서 매우 유사하였다.

4. Compound 48/80에 의하여 유도된 복강비만 세포에서 알러큐의 탈과립억제 효과

Compound 48/80 에 의하여 유도되는 비만세포의 탈과립에 대한 경향은 Fukuishi et al(1997)에 의해서 보고되었다. 즉 compound 48/80은 P-methoxy-N- methylphenethylamine의 저분자량의 polymer로서 비만세포의 탈과립을 유도하는 인자들 가운데 가장 많이 사용되는 물질이다. 본 실험에서는 compound 48/80에 의하여 유도된 흰쥐의 복강 비만세포의 탈과립에 미치는 알러큐의 효과를 검증하고자 그 현상을 현미경을 통하여 관찰하였다.

PBS로만 처리한 정상군에서는 비만세포의 탈과립이 관찰되지 않았으며 구형 또는 난원형의 정상적인 형태를 나타내었으며(Fig. 3, A), 이때 비만세포의 탈과립율은 2.97%였다 (Table 2).

Compound 48/80을 처리하고 알러큐를 처리하지 않은 무처리 대조군의 비만세포에서는 수 초 후에 세포질내 과립들의 광굴절율이 전체적으로 약해지며 공포양의 구조가 나타나고 곧이어 과립들이 세포면으로 돌출되는 다량의 탈과립현상이 관찰되었다(Fig. 3, B).

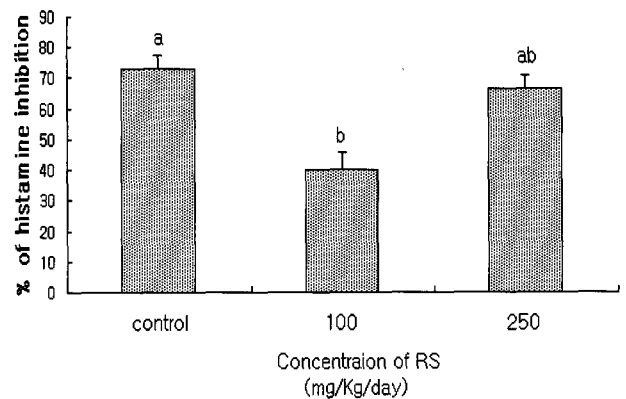


Fig. 2. Inhibitory effect of AllerQ on serum histamine release after ovalbumin provocation (murine asthma model). Each bar shows the mean of the three experiments, and vertical bars indicate S.E. $b_p < 0.05$; significantly different from control.

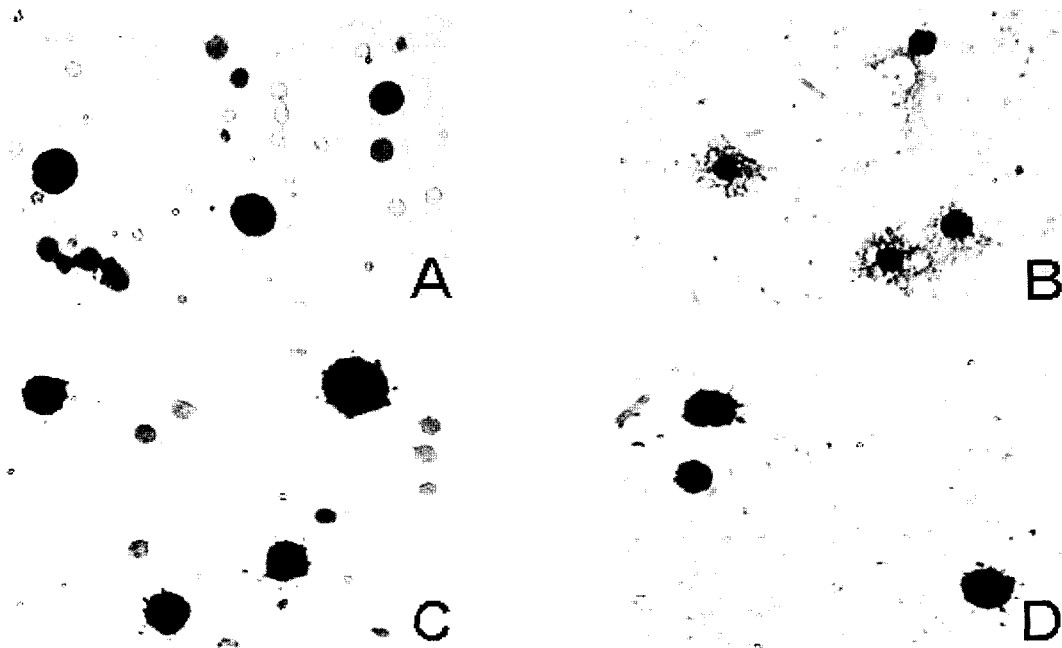


Fig. 3. Representative photo micrographs of rat peritoneal mast cells with toluidine blue staining (magnification×400).

Normal rat peritoneal mast cells(A), shows clear and smooth outline and contains refractile granules.

A rat peritoneal mast cell observed within 10 minutes after the addition of compound 48/80, shows swelling and disrupted boundary and beside the granule, vacuoles are present, which are interpreted as degranulation of mast cell(B).

A rat peritoneal mast cell observed within 30 minutes after the addition of AllerQ 50 mg/mL, shows swelling and irregular boundary, nucleus shows clear, which are interpreted as a mode degranulation of mast cell(C). A rat peritoneal mast cell(D) observed within 30 minutes after the addition of AllerQ 100 mg/ml, shows similar findings as seen in C.

Table 2. Degranulation rate of rat peritoneal mast cells affected by each experimental agents

Agents ^a	Mast cell type		Total ^b	% of DR ^c
	Normal	Degranulated		
Control	98	3	101	2.97
Compound 48/80	4	97	101	96.04
AllerQ 50mg/ml	88	12	100	12.00
AllerQ 100mg/ml	94	8	102	7.84

^a Rat peritoneal mast cells(2.0×10^5 cells/0.2 mL) were treated with 100 μ L of PBS buffer(control), AllerQ 50mg/mL, AllerQ 100 mg/mL, and compound 48/80(10 mg/mL)at 37°C for 10 minutes.

^b No. of peritoneal mast cells in 10 fields(magnification×400).

^c % of DR(degranulation rate) = (No. of degranulated mast cells/No. of total mast cells)×100

이때 비만세포의 탈과립율은 96.04%였다(Table 2). 알러큐 50 mg/mL, 100 mg/mL 처리 후 compound 48/80로 처리한 군에서는 compound 48/80처리군에 비하여 비만세포의 탈과립 현상이 현저하게 감소되어 있음이 관찰되었으며 형태, 크기 및 효면 윤곽은 정상 비만세포와 유사하였다(Fig. 3, C, Fig. 3, D). 이때 비만세포의 탈과립율은 각각 12%와 7.84%였다(Table 2). 이는 알러큐가 *in vivo*에서 compound 48/80의 투여에 의한 흰쥐의 복강내 비만세포의 탈과립을 효과적으로 억

제하는 작용이 있음을 시사한다.

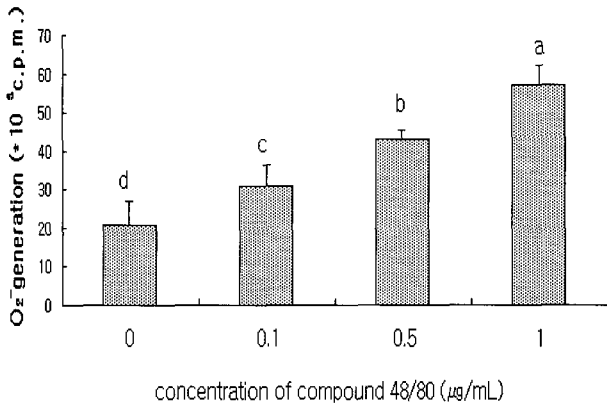
이와 같은 알레르기시 발생하는 비만세포의 탈과립의 감소 효과는 비록 대상물질은 동일하지 않지만 Shin et al(2002)의 *Rubus coreanus* 추출물에 의한 항 anaphylaxis 작용과 무관하지 않으며 또한 본 실험에서는 항알레르기 효과를 나타내는 상엽, 황금, 박하 및 감초 및 지실의 복합물질로 구성된 알러큐가 endoplasmic reticulum 내 stimulation-secretion 해리에 관여하며, 따라서 탈과립시 세포내 Ca^{++} -influx를 막는 것과

관계가 있는 것으로 사료된다(Kishi et al 1996).

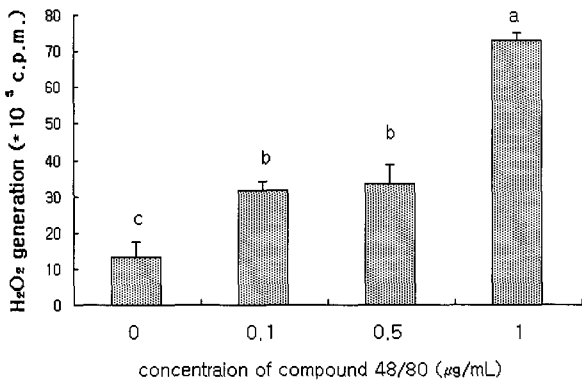
5. Compound 48/80 유도 비만세포의 O₂⁻, H₂O₂ 생성에 대한 알리퀸의 효과

Lucigenin에 의한 화학발광(chemiluminescence)은 O₂가 superoxide anion(O₂⁻)와 H⁺를 생성하는 reductive deoxygenation 과정에 의한다. Glucose oxidase계는 O₂⁻-independent 기전에서 luminol에 의하여 증폭된 화학발광은 hydrogen peroxide (H₂O₂)를 생성하고 이에 의한 빛 발광에 의하여 관찰한다.

Fig. 4에서는 compound 48/80 처리군에서 비만세포의 화학발광을 luminol을 증폭제로 사용한 O₂⁻ 그리고 lucigenin을 증폭제로 사용한 H₂O₂ 생성을 측정하였다. 본 결과를 분석하여 볼 때 비만세포의 탈과립의 정도가 늘어날수록 즉 compound 48/80의 용량이 증가할수록 O₂⁻의 생성에 의한 화학발광과 H₂O₂의 생성에 의한 화학발광이 증가함을 알 수 있어 이러한 현상은 compound 48/80의 용량 즉 농도에 의존적인 경향이 있었다.



(A)



(B)

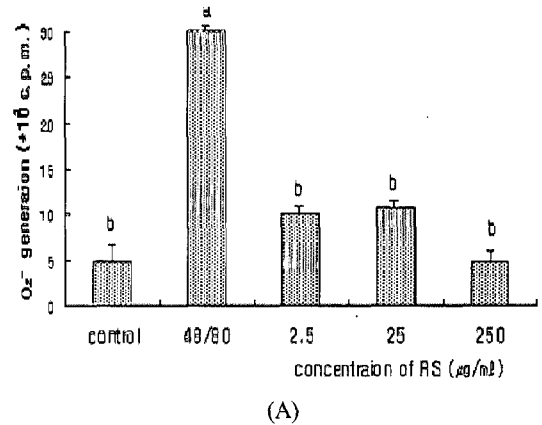
Fig. 4. Effect of compound 48/80 on superoxide anion (A) or hydrogen peroxide (B) generation in RPMCs.

^{abc} *p* < 0.05 ; significantly different from control.

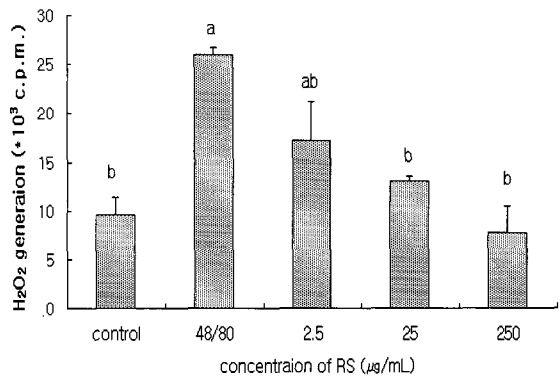
그런데 Fig. 5에서의 결과를 분석하여 보면 compound 48/80 처리군에서 알리퀸의 투여는 완벽하게 화학발광을 억제하였다. 생성량은 분비 후 1분내 기시하여 최고치는 2~3분내 도달하였다.

염증조직에서 호중구 및 단핵구와 같은 탐식 세포들은 O₂⁻을 생성하며, 이런 활성화된 산소들은 염증을 유도한다(Kwon M.S. 1992). 호중구에서 O₂⁻는 NADPH oxidase system에 의하여 생성되어진다(Liu and Ng 2000, Lee et al 1992, Kwon 1992, Mates et al 1999). 호중구는 특이 자극제의 존재 하에서 O₂⁻를 생성하며, 그 O₂⁻는 사이토카인 분비와 혈관조절에 대한 2차 전령으로서 기능을 발휘하며, 또한 염증 조직에서 혈관수축 역할을 한다. 그러나 비만세포에서 O₂⁻생성과 그 조절에 대한 보고는 거의 없다.

이전 보고에서 arachidonate는 호중구, cell-free system에서 O₂⁻을 유도하며 복강 비만세포에서 compound 48/80 투여에



(A)



(B)

Fig. 5. Inhibitory effect of AllerQ on compound 48/80 induced O₂⁻ and H₂O₂ chemiluminescence in rat peritoneal mast cells.

^b *p* < 0.05 ; significantly different from compound 48/80.

Mast cells were incubated with saline or drug at 37°C for 10 min.

Compound 48/80-induced (1 μg/mL) O₂⁻ (A) or H₂O₂ (B) generation was inhibited by AllerQ.

의하여 arachidonic acid가 분비되어진다고 하였다(Liu and Ng 2000). 이런 결과들은 비만세포의 역할이 염증의 유도뿐만 아니라 염증조직에서 국소 순환 조절에 의한 면역과정의 조절에도 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다(고 등 1994, Peden & Dailey 1995, 전과 이 1984). 본 연구에서는 비만세포에서 compound 48/80은 O₂, H₂O₂의 방출을 유의적으로 증가시켰으며 알러큐의 투여에 의하여 이들 값이 용량 의존적으로 감소됨이 관찰되어 알러큐가 compound 48/80 유도 비만세포에서의 O₂, H₂O₂ 생성을 효과적으로 억제하는 작용이 있는 것으로 나타났다.

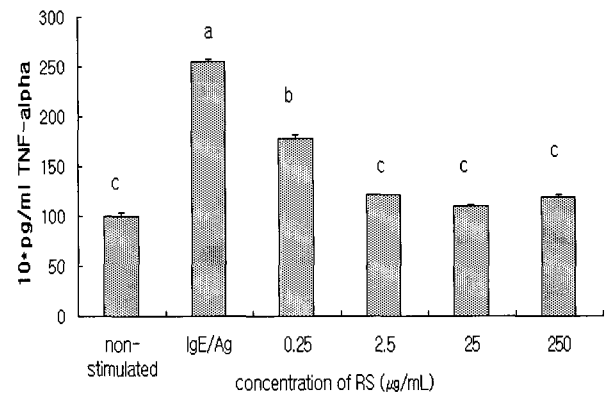
또한 비만세포에서 compound 48/80 유도 O₂, H₂O₂를 용량 의존적으로 생성함을 관찰하였다. 게다가 compound 48/80 유도 O₂, H₂O₂ 생성은 알러큐에 의하여 용량 의존적으로 억제되었다. 이러한 알러큐에 의한 비만세포에서의 compound 48/80 처리에 대한 화학발광의 억제효과는 이들 항알레르기 복합물질이 지닌 항염작용과도 무관하지 않음으로 사료되며 이와 같은 천연물들에 대한 항산화 작용에 관한 Liu & Ng(2000)의 보고와도 유사한 결과를 나타냄을 알 수 있다.

6. *In vitro* 및 *in vivo*에서의 사이토카인 분비

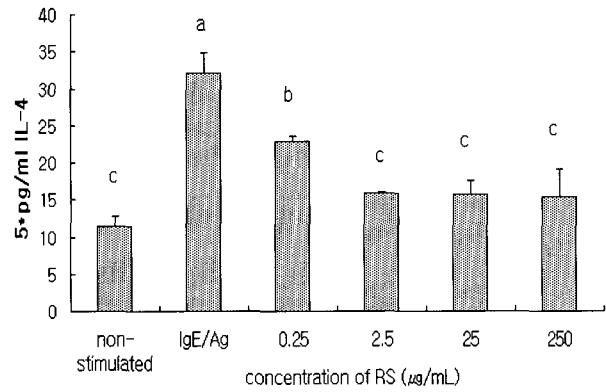
In vitro 상에서 DNP-IgE 감작시 각 군간 TNF- α , IL-4, IL-6 수준은 Fig. 6과 같다. DNP-IgE 감작시 염증 및 발열과 관련 있는 사이토카인인 TNF- α 와 IL-6의 유리량은 알러큐 처리군의 경우 DNP-IgE 매개군에 비하여 현저하게 감소함을 알 수 있었는데 TNF- α 의 경우를 살펴보면 알러큐를 처리하지 않은 군의 경우 250 pg/mL 정도로 높게 유리되었으나 알러큐 처리군의 경우는 거의 용량의존적인 TNF- α 의 유리가 감소됨을 알 수 있었고(Fig 6, A), IL-6의 경우도 DNP-IgE 감작시 알러큐 무처리군에서는 60 pg/mL를 나타내었으나 알러큐 처리군의 경우도 TNF- α 와 유사하게 거의 알러큐의 용량 의존적으로 IL-6의 유리가 감소됨을 알 수 있었다(Fig. 6, C).

그리고 Th-2세포가 분비하는 것으로 알려진 알레르기의 중요한 marker인 IL-4의 경우도 DNP-IgE 감작시 그의 양이 정상군에 비하여 그의 유리가 약 3배 증가하였고 알러큐 처리군에서는 250 μ g/mL의 고농도 처리군에서 거의 정상군과 유사한 수준으로 되돌아감을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 분석하여 보면 알러큐가 면역 반응, 전염병, 특히 알레르기 질환의 과정에서 사이토카인 생성을 억제하는 것으로 추정된다. 이는 아마도 비만세포가 사이토카인의 분비를 증가시킴으로써 면역 과정을 증대시키는 것으로 생각된다. 이상의 결과는 Kato et al(1999)와 Wang et al(1999)의 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

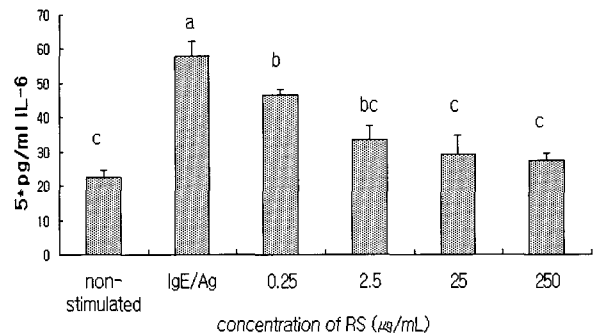
비만세포는 IgE-의존 알레르기 질병에서 그 역할이 크다. 이런 점에서, 비만세포는 IgE-매개 알레르기 반응시 TNF- α ,



(A)



(B)



(C)

Fig. 6. Effects of AllerQ on the levels of cytokine after DNP-IgE treatment.

AllerQ on the inhibition of TNF- α (A), IL-4 (B) and IL-6 (C). All experiments were done in triplicate, and SE is indicated. ^{bc}p < 0.05 ; significantly different from mast cell stimulant group.

IL-4, IL-6 분비를 기시하며, 이는 항원 접촉 부위의 백혈구 보충을 유도한다. 따라서 본 실험의 결과에서 비만 세포 유래 사이토카인 생성 억제가 알레르기 질환의 억제에 효과적일 것이라고 생각한다.

Compound 48/80 유도 시 알레르기와 관련된 Th-2 세포가 분비하는 중요한 cytokine인 IL-4의 분비가 현저하게 증가되

었다. 그러나 compound 48/80 유도군에서 알러큐 처리군의 경우 처리 후 5분이 경과한 후부터 시작하여 실험이 종료된 180분까지 지속적으로 IL-4의 유리가 compound 48/80 단독처리군에 비하여 지속적으로 감소됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 7).

그리고 Fig. 8에서 *in vivo*상에서 10주간 알러큐를 급여하고 compound 48/80을 처리한 군에서의 IL-4의 유리를 알러큐 100 mg/kg/day군과 50 mg/kg/day를 투여한 두 군과 비교할 때 공히 3.5배에 달하는 낮은 농도를 유지하고 있어 알러큐의 강력한 IL-4 유리 억제 효과를 인지할 수 있었으며 또한 Fig. 9의 경우 ovalbumin을 처리한 경우 IL-4의 유리에 미치는 알러큐의 효과는 ovalbumin 자체가 compound 48/80에 비하면 상대적으로 알레르기 유발 효과가 낮아 IL-4의 유리가 낮으며 알러큐의 IL-4 유리 억제 효과도 알러큐의 농도와 무관하게 전반적으로 205정도의 억제 효과를 나타내었다.

본 연구 결과는 Lee et al(1998)의 상백피로 추출한 polysaccharide에 대한 compound 48/80로 유도된 비만세포의 억제

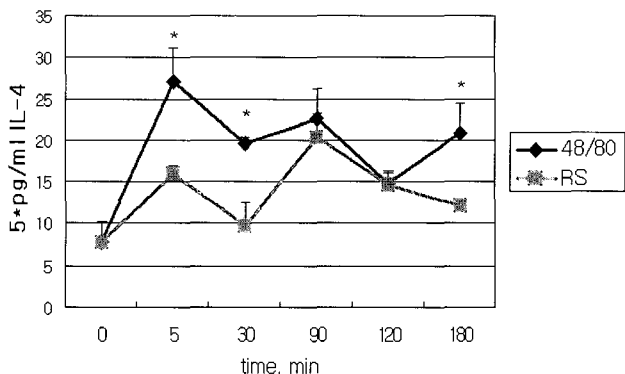


Fig. 7. Effects of AllerQ on the level of plasma IL-4 after compound 48/80 administration in the time course of change. * $p < 0.05$; significantly different from AllerQ.

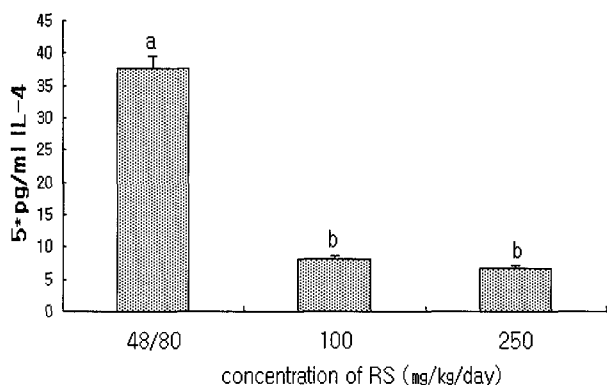


Fig. 8. Effects of AllerQ on the level of plasma IL-4 after compound 48/80 administration *in vitro*. ^b $p < 0.05$; significantly different from compound 48/80.

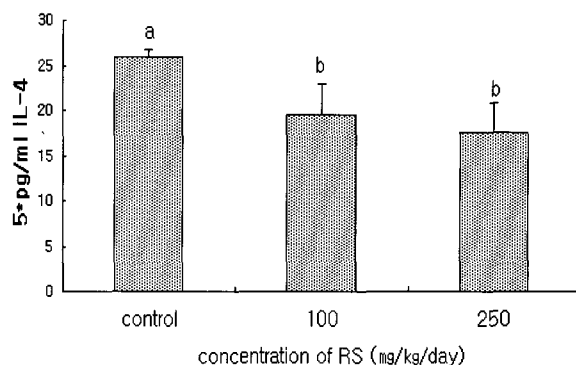


Fig. 9. Effects of AllerQ on the level of plasma IL-4 after ovalbumin exposure *in vivo*. ^b $p < 0.05$; significantly different from control.

효과에 대한 보고와 유사하였다.

7. cAMP 또는 cGMP 수준에 대한 알러큐의 효과

일반적으로 비만세포내에는 탈과립 및 활성매개물질의 유리에 있어서 inhibitory messenger로 알려진 cyclic adenosine monophosphate(cAMP)와 excitatory messenger로 알려진 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)가 있다. 이들은 각각 세포막에 존재하는 β -수용체, PGE 및 히스타민 수용체의 자극에 의하여 활성화되는 adenylate cyclase와 guanylate cyclase들에 의해 활성화되어 상호증가 및 감소의 평형을 유지하여 세포내 각각의 표적단백들을 인산화시키고 세포내 칼슘 농도에 영향을 주어 비만세포의 안정화 및 탈과립 상호조절에 관여한다고 알려져 있다(Plyfair & Chain 2001).

본 실험에서는 복강 비만세포 히스타민 분비에 대한 알러큐의 억제효과에 대한 그 기전을 밝히기 위하여 cGMP 또는 cAMP 수준을 *in vitro*상에서 관찰하였다(Fig. 10). cGMP의 측정을 위하여서는 분리한 복강 비만세포를 알러큐 0.25 $\mu\text{g/mL}$, 2.5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$ 및 250 $\mu\text{g/mL}$ 의 용량으로 전 처리한 후 DNP-HSA로 감작시키고 cGMP를 측정할 결과 DNP-HSA로 감작된 세포들의 경우 무처리 대조군의 170 pmol을 나타내었으며 알러큐 처리군의 경우 용량 의존적으로 증가하여 알러큐 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 처리군에서는 120 pmol을 나타내었으며 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 처리군에서는 140 pmol로 점차 cAMP의 유리가 증가되었고 알러큐 25 $\mu\text{g/mL}$ 처리군에서 150 pmol을 나타내었고 알러큐 125 $\mu\text{g/mL}$ 및 250 $\mu\text{g/mL}$ 처리군의 경우는 cGMP의 양이 공히 160 pmol 정도로 유사한 결과를 나타내었다. 한편 cAMP의 측정을 위하여서는 분리한 복강 비만세포를 알러큐 0.25 $\mu\text{g/mL}$, 2.5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$ 및 250 $\mu\text{g/mL}$ 의 용량으로 전 처리한 후 DNP-IgE로 감작시키고 cAMP를 측정할 결과, DNP-IgE로 감작된 세포들의 경우 무처리 대조군의 140 pmol에 비하여 높은 200

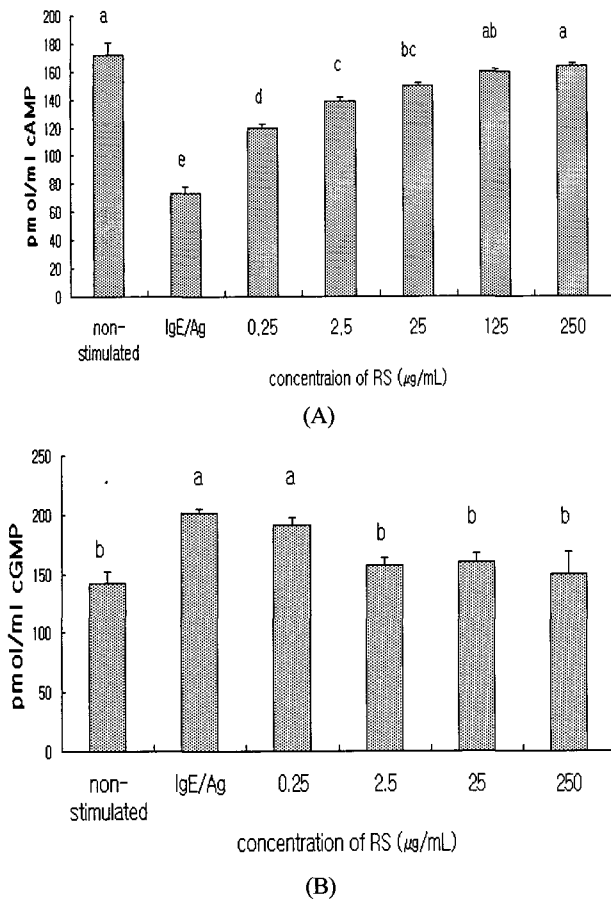


Fig. 10. Effects of AllerQ on the level of cAMP and cGMP after DNP-IgE exposure in rat peritoneal mast cells.

cAMP (A)/ cGMP (B) levels of RPMCs suspension were measured by ELISA.

^{bcd}*p* < 0.05 ; significantly different from mast cell stimulant group.

pmol을 나타내었으며 알러큐 처리군의 경우 점차적으로 감소하여 알러큐 0.25 µg/mL 처리군에서는 180 pmol을 나타내었으며 2.5 µg/mL 처리군에서는 150 pmol로 더욱 감소하였으나 알러큐 25 µg/mL 처리군과 125 µg/mL 처리군에서는 및 2.5 µg/mL 처리군과 거의 동일한 수준에서의 cAMP의 감소를 나타내었다.

한편 *in vivo* 상에서 compound 48/80을 처리한 군에서의 cGMP와 cAMP의 유리에 미치는 알러큐의 효과를 관찰하기 위하여 알러큐를 10주간 100 mg/kg/day 및 250 mg/kg/day 투여한 후 본 실험 1시간 전에 각 개체당 compound 48/80을 10 mg/kg 복강내로 주사하였다. cGMP의 유리량의 경우 무처리 대조군의 110 pmol에 비하여 compound 48/80 단독처리군은 95 pmol을 나타내었고(Fig. 11) 알러큐 100 mg/mL 투여군은 103 pmol을 그리고 250 mg/kg에서는 무처리 대조군과 유사한 수준으로 거의 compound 48/80의 처리에 영향을 받지 않

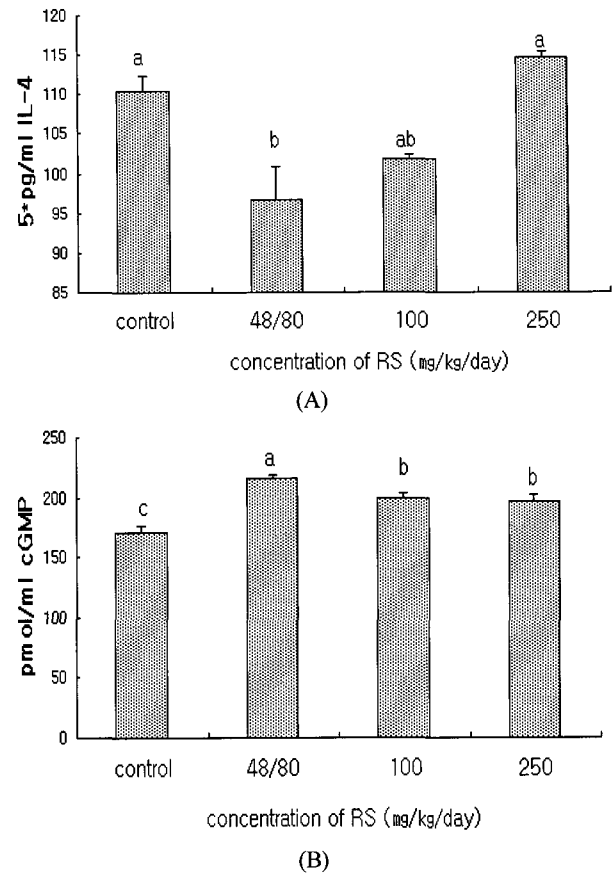


Fig. 11. Effect of AllerQ on the level of cAMP or cGMP after compound 48/80 administration.

^{abc}*p* < 0.05 ; significantly different from compound 48/80.

음을 알 수 있었다. 한편 cGMP의 경우는 cAMP와 반대로 무처리 대조군의 160 pmol에 비하여 compound 48/80 단독처리군은 220 pmol로 증가됨을 알 수 있었고 알러큐 100 mg/kg 투여군과 250 mg/kg 투여군 공히 200 pmol로 cAMP의 억제 효과를 관찰할 수 있었다.

본 실험 결과를 종합하여 분석하여 보면 compound 48/80에 의한 비만세포내의 cAMP 및 cGMP량에 미치는 효과에 대한 실험에서, compound 48/80은 세포내 cAMP량을 증가시키고 cGMP량을 감소시켰으며, 알러큐는 compound 48/80의 이러한 작용을 억제하였을 뿐만 아니라 비만세포내의 cAMP량을 감소시키고 cGMP량을 증가시키는 결과를 보여주었다. 이러한 실험결과는 알러큐가 compound 48/80에 의한 cAMP-phosphodiesterase 파괴로 인하여 유발될 수 있는 cAMP의 과대한 유리를 방지하여 cAMP의 유리가 정상수준으로 회복되는데 도움을 주는 것으로 사료되며 세포내 cGMP에 대한 상반적인 실험결과들로 보아 알러큐는 compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립 작용을 현저히 억제하는 것으로 추측된다. 비만세포의 칼슘 저장고로부터 칼슘분비 억제와 관련된 알

러큐의 기전은 아마도 cAMP phosphodiesterase의 억제에 의하여 세포내 cAMP 유리를 감소시키는 것과 관련이 있음을 시사한다고 하겠다(Hieda et al 1990, Baskin et al 1996).

요약 및 결론

본 실험은 *In vivo* 및 *in vitro*내 실험에서 전통적으로 민간 요법으로 사용되어온 상엽, 황금 및 감초, 박하 및 지실등을 주성분으로 제조된 알러큐가 흰쥐의 알레르기 반응에 미치는 영향을 분석한 것으로 결과는 다음과 같다.

1. Compound 48/80 유도 아나필락시스에 대한 알러큐의 효과는 고용량인 500 mg/kg을 투여한 군에서 compound 48/80에 의하여 유도된 아나필락시스에 의한 폐사를 100 % 억제시켰다.
2. 복강 비만세포의 히스타민 분비에 대한 알러큐의 효과는 compound 48/80, IgE 매개 히스타민 분비억제를 투여 시 용량 의존적으로 억제되었다.
3. 혈청에서 히스타민 분비에 대한 알러큐의 효과는 ovalbumin과 aluminium hydroxide 및 백일해 백신으로 감작에 의해 유리된 히스타민량이 감소되었다.
4. Compound 48/80에 의하여 유도된 탈과립에서의 알러큐의 효과는 compound 48/80 유도-알러큐 무처리군의 비만세포에서는 다량의 탈과립 현상을 볼 수 있었으나, 정상 비만세포군이나 알러큐 전처리군 및 단독처리군에서는 이러한 탈과립 현상을 관찰할 수 없었다.
5. Compound 48/80 처리에 의한 비만세포의 O_2^- , H_2O_2 유리에 대한 알러큐의 효과는 compound 48/80 처리군에서 알러큐의 투여는 비만세포의 oxygen radical의 발생을 억제하였다.
6. *in vitro* 및 *in vivo*내의 비만세포의 사이토카인 분비에 대한 알러큐의 효과는 비만세포에 DNP-IgE 나 compound 48/80 감작 후 알러큐 처리 시 TNF- α , IL-4, IL-6 수준 알러큐 용량 의존적으로 현저하게 감소하였다.
7. *in vitro* 및 *in vivo*상에서 비만세포의 cAMP 또는 cGMP 유리에 대한 알러큐의 효과를 관찰한 결과 복강 비만세포는 알러큐를 처리한 군의 경우 전반적으로 cAMP량이 감소하였고 이에 반하여 cGMP량은 증가됨을 알 수 있었다.

본 실험의 결과 알러큐는 항아나필락시스, 항알레르기에 효과적이라는 것을 관찰할 수 있었으며 알러큐의 장기적인 복용은 아나필락시스 쇼크의 예방차원에서도 큰 의미가 있음을 시사하였다.

문헌

- 김재환, 김중명 (1971) 황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 항균작용에 대하여. 경북의대잡지 13(2): 413-424.
- 김창민, 신민교, 이경순, 안덕균 (1998) 중의약 대사전. 상해 과학 출판사. 도서출판 정담.
- 김형민, 송호준, 신민교, 신태용 (1997) 스피루리나 플라텐시스에 의한 즉시형 과민반응의 억제 효과. *Yakhak Hoeji*. 41(5): 647-651.
- 도의학사편찬위원회 (2001) 신동의학사전. 동방의학사.
- 민경업 (1998) 알레르기 염증반응에서 비만세포 역할에 대한 새로운 조명. 천식 및 알레르기. 18(2): 214-218.
- 생약학연구회 (1992) 현대 생약학. 학창사.
- 소순남, 김정수, 전병득, 이무삼 (1990) 상백피가 백색 복강 비만세포에 미치는 영향에 관한 세포형태학적연구. 전북 의대 논문집 10(3): 221-230.
- 임병우, 박동기, 신흥목, 김성훈 (2000) 황금, 정향, 화피 및 마가목으로부터 분리한 BuOH분획이 항체생산능 저질대사 및 지질 과산화에 미치는 영향. 대한동의병리학회지 14(1): 171-182.
- 전병득, 이무삼 (1984) 항히스타민제가 cromolyn sodium으로 처리된 흰쥐 복강 비만세포에 미치는 세포형태학적 연구. 전북의대논문집 4(1): 135-142.
- 허준 (1596) 동의보감.
- Baram D, Rashkovsky M, Hershkoviz R, Drucker I, Reshef T, Ben-shitrit S, Mekori YA. (1997) Inhibitory effect of low molecular weight heparin on mediator release by mast cell: Preferential inhibition of cytokine production and mast cell dependent cutaneous inflammation. *Clin Exp Immuno* 110(3): 485-491.
- Baruah CC, Gupta PP, Nath A, Late Pantaik GK, Dhawan BN (1998) Anti-allergic and anti-anaphylactic activity of picroliv_a standardised iridoid glycoside fraction of *Picrorhiza kurroa*. *Pharm Res* 38(6): 487-492.
- Baskin SI, Mealley EW, Lempka JC (1996) The effects of EDRF/NO releaser or calcium ionophore A23187 on cyanide toxicity in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 139: 349-355.
- Campos BGA, Ferreira RR, Gomes JC (2000) The potentiation of the histamine release induced by adenine in mast cells from Guinea pig lung and heart Sharp dependece on the time of preincubation. *Pharmacol Res* 41(3): 291-297.
- Choi BW (1999) Animal models of asthma. 천식 및 알레르기. 19(1): 16-18.

- Choi OB, Kim KM, Yoo GS, Park KH (1998) Anti-allergic effects of *Castanea crenata* Leaf Tea. *Korean J Food Sci Technol* 30(2): 468-471.
- Chung CP, Park HJB, Bae KH (1995) Pharmacological effects of methanolic extract from the root of *Scutellaria bacalensis* and its flavonoids on human gingival fibroblast. *Planta Med* 61: 150-153.
- Chung SH, Choi JJ, Yoo KS, Yun-Choi HS (1991) Bradykinin antagonistic activities of *Scutellariae radix*. *Kor J Pharmacogn* 22(3): 192-196.
- Chung YH (1995) Current status and perspectives of researches on programmed cell death in immune system. *Journal of Allergy* 15(4): 569-585.
- Foetisch K, Westphal S, Lauer I, Retzek M, Altmann F, Kolarich D, Scheurer M, Vieths S (2003) Biological activity of IgE specific for cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol* April: 889-896.
- Fujika H, Horiuchi T, Yamashita K, Hakii H, Suganma H, Nishino H, Iwashima A, Hirata Y and Sugimura T (1986) Inhibition fo tumor promotion by falconoids. In *plant flavonoids in biology and medicine-biochemical pharmacological and strcture-activity relationships*. V. Middleton. JR., E. Harborne J.B(Eds.) Alan R. Diss. Inc. New York P. 429.
- Fukuishi N, Sakaguchi M, Matsuura S, Nakagawa C, Akagi R, Akagi M (1997). The mechanism of compound 48/80-induced superoxide generation mediated by A-kinase in rat peritoneal mast cell. *Biochem Mol Med* 61:107-119.
- Ha TY (1992) Inhibitory effects of ethanol feeding on active systemic Anaphylaxis in mice. *Journal of Allergy* 12(3): 314-319.
- Hieda Y, Kageura M, Hara K, Takamoto M, Fukuma Y, Kashimura S (1990) An experimental model of death from anaphylactic shock with compound 48/80 and post mortem changes in levels of histamine in blood. *Forensic Sci Int* 45: 159-169.
- Hirayama K, Sudo N, Sueyasu M, Sonoda J, Chida Y, Oishi R, Kubo C (1999) Endogenous glyocorticoids inhibit scratching begavior induxed by the adminstration of compound 48/80 in mice. *European Journal of Pharmacology* 19(2): 351-358.
- Hong SJ (2000) Mast cells and Allergic Diseases. *소아알레르기 및 호흡기* 10(3): 207-217.
- Hsiang CY, Lai IL, Chao DC, Ho TY (2002) Differential regulation of activator protein 1 activity by glycyrrhizin. *Life Science* 70: 1643-1656.
- Hultner L, Kolsch S, Stassen M, Kaspers U, Kremer JP, Mailhammer R, Moeller J, Broszeit H, Schmitt E (2000) In activated mast cell, IL-1 Up-regulates the production of several Th2-related cytokines including IL-9. *J Immunol* 164: 5556-5563.
- Karadag CH, Dolmeci D, Dost T, Ulugol A, Dokmeci I (2000) Compound 48/80, a histamine-depleting agent, blocks the protective effect of morphine against electroconvulsive shock in mice. *Braz J Med Biol Res* 33: 327-330.
- Kato Y, Manabe T, Tanaka Y, Mochizuki H (1999) Effect of orally actice Th1/Th2 balance modulator, M50367, on IgE production, eosinophilia, and airway hyperresponsiveness in mice. *J Immunol* 162: 7470-7479.
- Kim CY, Shin TY, Kim HM (1997) Suppression of immediate hypersensitivity by Methyleugenol. *Yakhak hoeji* 41(2): 268-272.
- Kim HM, Kang CS, Lee EH, Shin TY (1999) The evaluation of the antianaphylactic effect of *Oryza sativa* L. subp. Hsienting in rats. *Pharm Res* 40(1): 31-36.
- Kimura Y, Okyda H, Nomura T, Fukai T, Arichi S (1986) Effects of flavonoid and related compound from mulberry tree on arachidonate metabolism in rat pletelet homogenates. *Chem Pharm Bull(Japan)* 34: 1223.
- Kishi F, Nakaya Y, Takahashi A, Miyoshi H, Momura M, Saito K (1996) Intracelylar and extracelular Ca⁺⁺ regulate histamine-induced release of nitric oxide in vascular endothelial cells show with sensitive and selective and nitric oxide electrodes. *Pharm Res* 33(2): 123-126.
- Knippels LMJ, Penninks AH, Smith JJ, Houben GF (1999) Immune-mediated effects upon oral challenge of ovalbumin-sensitized brown norway rat: further characterization of a rat food allergy model. *Toxicol Appl Pharmacol* 156: 161-169.
- Koh YI, Choi IS, Jang AS, Na HJ, Lee JU, Lee HC (1997) Development of allergic asthma model using rat airway smooth muscle. *Journal of Allergy* 17(3): 227-249.
- Koh YY, Yoon KA, Kim HJ, Choi JH (1994) Comparative study on the activation sttus of neutrophils in exercise-and allergen-induced asthma. *Journal of Allergy* 14(4): 658-673.
- Kwon MH, Kim HK, Lee EJ (1994) Effect of *Radix glycyrrhizae* and *Radix tripterygi Wilfordii* water extract on the

- functions of suppresser immunocytes of the mouse. *The Journal of Wonkwang Oriental Medicine* 4(1): 337-359.
- Kwon MS (1992) Comparison of highly purified isolation of polymorphonuclear granular neutrophil by use of chemiluminescence. *Kor J of Immunol* 14(2): 181-185.
- Lee BS, Yun DW, Chung HT (1992) Effects of various cytokines on the production of reactive oxygen intermediates murine macrophage. *Kor J Immunol* 14(2): 213-219.
- Lee EJ, Chae OH, Lee MS, Lee HK, Hug H. (1998) Purification of anti-allergic compound from *Mori cortex radiceis* extract. *Yakhak Hoeji* 42(4): 395-402.
- Lee JH, Shine SJ, Shine YM, Song WJ, Lee KK (1996) Inhibitory effect of *Euonymus alatus* on the chicken gamma-globulin- and platelet activating factor-induced anaphylaxis in mice. *Korea J Immunol* 18: 105-113.
- Lee MS, Ryu YG, Chai OH, Kang KJ, Lee JY (1999) Inhibitory effect of polysaccharide fraction from cortex mori on compound 48/80-induced mast cell activation. *Korean J Immunol* 21(1): 35-45.
- Lie XM, Schofield BH, Huang CK, Kleiner GI, Sampson HA (1999) A murine model of IgE-mediated cow's milk hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 103: 206-214.
- Liu F, Ng TB (2000) Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Life Science* 66(8): 725-735.
- Mates JM, Segura JM, Gomez CP, Rosado R, Olalla L, Francisca M, Jimenez S (1999) Antioxidant enzymatic activities in human blood cells after an allergic reaction to pollen or house dust mite. *Blood Cells Mol Dis* 15: 103-109.
- Nikaido T, Ohmoto T, Nomura T, Fukai T, Sankawa S (1984) Inhibition of adenosine 3'-cyclic monophosphate phosphodiesterase by phenolic constituents of mulberry tree. *Chem Pharm Bull(Japan)* 32: 4929.
- Peden DB, Dailey L (1995) Modulation of mast cell functions by *in vitro* ozone exposure. *Am Physiol Soci* : L902-L910.
- Playfair JHL, Chain BM. (2001) Immunology at Glaxo Blackwell Science. p.72
- Schilz D, Schmidt H, Preschl EE, Csonga R, Scheirer W, Weber V, Lembachner A, Seidl GI, Werner G, Mayer P, Baumrucker T (1997) Inhibition of FCεRI-Mediated activation of mast cell by 2,3,4-Trihydropyridino[2,1-a] isoquinolines. *J Med Chem* 41: 1050-1059.
- Sendecor GW, Cochrane WG (1967) *Statistical Methods*. 6th ed., Iowa State University Press, Iowa, p.1.
- Shigh R, Nath A, Gupta PP, Shulka M, Khare SK, Kundu B (1997) Antiallergic/antiasthmatic activity of oligopeptide related to IgE. *Pharm Res* 37(5): 353-356.
- Shin TY, Kim DK, Kim TY (1998) Antiallergic activity of *Menthae herba*. *Kor J Pharmacology* 29(3): 248-253.
- Shin TY, Kim SH, Lee ES, Eom DO, Kim HM (2002) Action of *Rubus coreanus* extract on systemic and local anaphylaxis. *Phytother Res* 16: 508-513.
- Siraganian RP (2003) Mast cell signal transduction from the high-affinity IgE receptor. *Current Opinion in Immunology* 15: 1-8.
- Takami M, Tsukada W (1998) *In vitro* effect of DP-1904, A novel anti-agent, against antigen-induced constriction and TXB2 release from the isolated guinea-pig lung parenchymal tissue. *Pharm Res* 38(2): 141-147.
- Wang M, Saxon A, Diaz-Sanchez D (1999) Early IL-4 production driving Th2 differentiation in a human *in vivo* allergy model is mast cell derived. *Clin Immunol* 90(1): 47-54.
- Weston M.C and Peachell PT (1998) Regulation human mast cell and basophil function by cAMP. *Gen Pharmac* 31(5): 715-719.

(2004년 8월 20일 접수, 2004년 10월 24일 채택)