

# 白蒺藜가 알레르기 비염 유발 동물 모델에 미치는 영향

주경옥 · 김윤범

경희대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

## The Effects of *Tribulus terrestris* on Model of Allergic Rhinitis

Ching-Yu Chou · Yoon-Bum Kim

**Background & Objectives** : Allergic rhinitis is an inflammation or irritation of the mucous membranes that line the nose. Common symptoms include sneezing, a stuffy or runny nose, itchy eyes, nose and throat, and watery eyes. We aimed to determine therapeutic effects of *Tribulus terrestris* by observing changes of total IgE level and the scratching or rubbing around the nose behavior.

**Materials and Methods** : Fifteen BALB/c mice were divided into three groups : AR group(allergic rhinitis elicited), TT group(which ate herbal medicine) and AH group(which ate antihistamine). Allergic rhinitis was induced in the three groups by intraperitoneal and intranasal sensitization with 0.1% ovalbumin solution. Then *Tribulus terrestris* was orally administered only to the TT group of 28days, while the AH group was given antihistamine. We observed changes of total IgE level and the scratching or rubbing around the nose behavior. We used Kruskal-Wallis test statistically( $p < 0.05$ ).

- Results** : 1. *Tribulus terrestris* showed significantly decreased IgE level on the serum of the rat model.  
2. *Tribulus terrestris* showed significantly decreased scratching or rubbing around the nose behaviors of the rat model.

**Conclusion** : According to the above results, it is considered that *Tribulus terrestris* has an inhibitory effect on the process of allergic rhinitis and it can be used in relieving symptoms of allergic rhinitis.

**Key words** : Allergic Rhinitis, *Tribulus terrestris*, Ovalbumin, Total IgE, nose-scratching

### 1. 서 론

알레르기 비염의 치료 효능에 대해 여러 처방과 한약재 단미의 약리적 작용이 연구 진행되었으나 蔓荊子, 柴胡<sup>1)</sup>, 石菖蒲<sup>2)</sup>는 알레르기 비염에 효과가 미약한 것으로 나타났으며, 溫衛湯<sup>3)</sup>, 麗澤通氣湯<sup>4)</sup>, 辛夷散<sup>5)</sup>, 辛夷清肺湯<sup>6)</sup>, 細辛散<sup>7)</sup>, 溫肺湯<sup>8)</sup>등은 항알레르

교신저자 : 김윤범, 서울시 동대문구 회기동 1번지  
경희대학교 부속한방병원 안이비인후피부과  
(Tel. 02-958-9181, E-mail : kyb0517@khu.ac.kr)  
• 접수 2011/07/07 • 수정 2011/08/11 • 채택 2011/08/18

기 효과가 있고, 葛根湯<sup>9)</sup>, 川椒散<sup>10)</sup> 등은 消炎, 解熱, 鎮痛 효과가 있다고 보고되었다. 이 밖에 小青龍湯<sup>11)</sup>, 補中益氣湯<sup>12)</sup>, 祛痰補肺湯<sup>13)</sup> 등은 비점막의 조직학적 변화에 대해서 실험 결과를 보고 한 바 있고, 按葉油<sup>14)</sup>는 알레르기 비염에 대하여 향기 요법으로 사용이 가능한 것으로 보고되었다. 그러나 아직까지 알레르기 비염 증상 경감에 탁월한 효과를 보이고 있는 약재 개발이 미비하여 한약재를 검색하게 되었다.

白蒺藜(*Tribulus terrestris*)는 남가새 혹은 질러자로 불리며, 平肝解鬱, 活血祛風, 明目, 止痒, 殺菌 등의 작용이 있다. 한방에서 혈압강하, 심혈관계 작용, 항노화 및 강장작용 등의 효과를 나타내었고, 최근 들어 白蒺藜의 고유한 생리활성을 이용하여 여러 질환에 응용하고자 하는 연구가 진행되어 왔다. 그러나 현재까지 국내에서는 白蒺藜가 혈압<sup>15,16)</sup> 및 국소 뇌혈류량<sup>17)</sup>, 항치아우식에 미치는 영향<sup>18)</sup>에 관련되어 연구되었으며, Jun-Dong ZHANG, Yong-Bing CAO 외 등의 논문<sup>19)</sup>에서 白蒺藜가 피부 소양감, 부종, 기관염 및 염증에 치료효과가 있다는 내용이 보고되었고, 倪尉, 周剛 외 등<sup>20)</sup>의 抗炎실험연구에서는 白蒺藜가 급성 염증에 대한 억제 작용이 있다고 보고되었다. 급성 염증에 효과적인 白蒺藜를 임상적으로 알레르기 비염에 대한 효과를 기대해 볼 수 있을 것으로 생각해서 항히스타민제와 비교를 통한 연구는 없었기에 본 연구에서는 알레르기 비염을 유발한 병태모델에 단일 약재인 白蒺藜를 경구투여 하여 항히스타민제와 비교를 통하여 그 치료효과와 기전을 연구해 보고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 동물

주령 5주, 체중 20g 정도의 BALB/c 수컷 마우스 ((주)셀타코 BIO KOREA)를 알레르기 비염 유발군

(AR군), 알레르기 비염 유발 후 白蒺藜 투여군(TT군), 알레르기 비염 유발 후 항히스타민제 복용군(AH군)으로 나누어 사용하였다. 고형사료와 물은 제한 없이 공급하면서 12시간 낮, 12시간 밤의 생활리듬을 주었으며 항온항습상태에서 1주간 적응시킨 후 사용하였다.

### 2. 약재

白蒺藜(*Tribulus terrestris*)를 경희의료원에서 구입하여 사용하였다.

### 3. 검액의 조제 및 투여

#### 1) 검액의 조제

한약재 白蒺藜 600g을 유리로 된 추출병에 넣고 증류수 1000cc를 시료가 잠기도록 충분히 넣어 2시간 동안 수침한 다음 환류냉각장치를 이용하여 10 0°C에서 2시간씩 전탕하여 1차 전탕액을 얻고, 재차 증류수 500cc를 넣어 1차 전탕할 때와 같은 방법으로 반복 시행하여 2차 전탕액을 얻은 후 1,2차 전탕액을 혼합하고 이 용액을 filter paper로 여과한 다음 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에서 감압농축한 뒤 용액을 60g으로 농축하였다(yield 10%).

#### 2) 검액의 투여

白蒺藜 powder는 생리식염수에 1g/10cc의 농도로 용해하고, 10mg의 항히스타민제(세티리진) powder는 10cc물에 용해하여 알레르기 비염 유발 후 白蒺藜 투여군(TT군)의 mouse에게 1g/kg의 농도로, 알레르기 비염 유발 후 항히스타민제 투여군(AH군)의 mouse에게 2g/kg의 농도로 28일간 매일 1회씩 경구 투여하였다.

### 4. 알레르기 반응 유발을 위한 복강내 감작

알레르기 비염 유발을 위해 ovalbumin(OVA :

chicken egg albumin, grade V, Sigma, USA)을 항원으로 사용하였다. 인산완충용액(PBS : phosphate buffered saline)과 수산화알루미늄겔(Al(OH)<sub>3</sub> gel, Sigma, USA)을 1:1로 하여 OVA 10 $\mu$ g을 PBS와 수산화알루미늄겔 용액에 혼합하여 1ml를 만들어 0.1% OVA용액이 되도록 하였다. AR군과 TT군, AH군의 모든 그룹에게 실험 시작 0일, 7일째 OVA 용액을 0.2cc/10g, 14일째는 OVA용액을 0.1cc/10g을 복강 내에 투여하여 감각하였다. 항원 유발을 위해 마지막 복강투여 후 7일간 격일로 3회씩 AR군, TT군과 AH군 마우스의 비강에 0.1% OVA용액을 점적하여 알레르기 비염을 유발시켰다.

### 5. Total IgE 측정

흰쥐의 심장을 천자하여 혈액 3cc정도를 채혈한 후 원심분리기를 이용하여(R.P.M 3000, 15분간) 혈청을 얻은 후 immunoradiometric assay 방법을 이용한 1470 wizard r - coumter(Wallac, Finland)기기를 사용하여 측정하였다.

### 6. 비증상의 평가

비증상의 평가는 마우스의 비강내 0.1% OVA용액을 점적한 직후부터 코 굽기(문지름 : 동물의 앞발로 코 바깥 면을 긁는 행동) 행동으로 확인하였다. 각각에 대한 행동은 60분 동안의 횟수로 측정하였다.

### 7. 통계처리

통계분석은 SPSS를 이용하였다. 모든 측정값은 평균값±표준편차(Mean±S.D.)로 나타내었으며 data 분석은 Kruskal-Wallis test를 시행하였다. 유의수준 P<0.05 이하인 것을 유의하다고 판단하였다.

## III. 결 과

### 1. Total IgE

Total IgE는 AR군 19.32±2.61IU/ml, TT군 13.31±5.28IU/ml, AH군 37.20±15.64IU/ml로 나타났다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. Result of Total IgE after 28days

Mean±S.D.				p-value
Group				
IgE	AR(n=5)	TT(n=5)	AH(n=5)	0.012
		19.32±2.61	13.31±5.28	

Using Kruskal-Wallis test, p<0.05

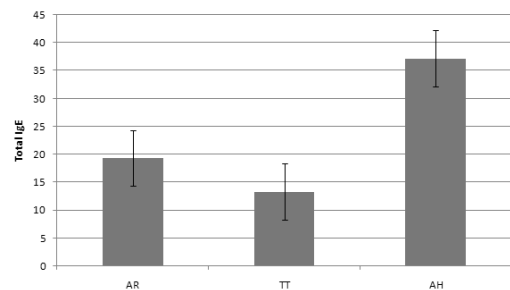


Fig. 1. Result of Total IgE level. Values represent the mean±S.D.

AR group : The group induced OVA allergic rhinitis and which did not take medication

TT group : *Tribulus terrestris* group

AH group : Antihistamine(cetirizine) group

### 2. 비증상의 평가

마우스의 비강내 0.1% OVA용액을 점적한 직후부터 60분간 코를 긁는 동작의 횟수 등의 임상 증상을 측정된 결과 AR군 54.00±21.01, TT군 20.06±5.73, AH군 38.60±23.79로 나타났다(Table 2, Fig. 2).

Table 2. Behavior Count

Behavior count	Mean±S.D.			p-value
	Group			
	AR(n=5)	TT(n=5)	AH(n=5)	
	54.00±21.01	20.06±5.73	38.60±23.79	0.039

Using Kruskal-Wallis test,  $p < 0.05$

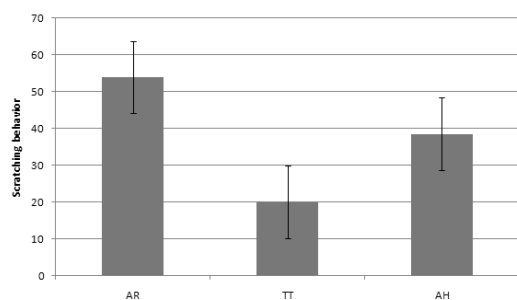


Fig. 2. Scratching or rubbing around the nose behaviors was counted for 60min in mouse. Values represent the mean±S.D.

AR group : The group induced OVA allergic rhinitis and which did not take medication

TT group : *Tribulus terrestris* group

AH group : Antihistamine(cetirizine) group

#### IV. 고 찰

분자생물학적 기법의 발전과 함께 알레르기비염의 기전에 대해 많은 연구가 이루어졌다. 감각과정에 관여하는 세포유형과 사이토카인에 대한 연구, priming과 long-term inflammation에 대한 연구, 후기반응과 호산구에 대한 연구, T helper 세포에 대한 연구, inducible Treg cell에 대한 연구, IgE와 사이토카인에 대한 연구 등 많은 연구가 행해졌다<sup>21)</sup>.

한의학에서는 鼻鼽, 鼻嚏, 噴嚏 등이 과민성 비염이나 알레르기비염과 가장 유사한 형태로 보이며, 噴嚏는 발작할 때 鼻內가 가려우면서 鼻塞이나 鼻涕 淋漓의 증상을 동반하게 되어, 알레르기비염의 3대

주요증상을 갖추고 있으므로 가장 유사성이 인정 된다<sup>22)</sup>.

알레르기 질환에 있어서, histamine으로부터 mast cell, IgE, IL4의 역할에 대한 연구들이 이어져 왔으며, 최근에는 유전자 조절에 대한 연구도 시작되고 있다<sup>23)</sup>. 알레르기 질환의 원인은 아직 명확하게 입증된 바 없으나, 현재까지도 과도한 IgE의 생성이 유력한 원인기전으로 여겨지고 있고, 그 진단 기준에도 절대적으로 반영되고 있다<sup>24)</sup>. IgE는 항원이 노출되기 쉬운 호흡기 점막에서 가장 많이 발견되고, 그밖에 위장관 점막, 국소 임파절, 비장 및 피하 임파절에서도 나타난다<sup>25)</sup>. 알레르기 비염도 Gell과 Combs<sup>26)</sup>가 구분한 과민반응 중 IgE 매개형인 즉시 과민반응으로 알려져 있다. 항원에 노출 시 생성된 IgE는 비만세포나 호염기구 세포에 특이한 친화력을 가지므로 이들에 부착하고 있다가, 다시 특이항원과 결합하게 되면 탈과립 현상을 일으킨다. 이전에 생성되었던 매개 물질들과 Cytokine들이 분비되면서, 혈관 투과도가 증가하고 국소적 부종이 발생하는 등 초기와 후기 알레르기 반응이 발생하게 된다. 초기 반응은 항원에 노출된 후 수분 내에 시작하여 1-2시간이 지나면 사라지고, 알레르기 질환을 갖는 환자의 50%는 4-6시간이 지난다음 후기 반응을 경험하게 된다<sup>27)</sup>. 본 실험에서는 白痰藜의 항알레르기 효과를 측정하는 지표로 IgE를 주의 깊게 관찰하였으며, ovalbumin을 사용하여 효과적으로 IgE 매개성 알레르기 반응을 유발한 기존의 연구<sup>28,29)</sup>들을 토대로 난알부민 감작법을 사용하였다.

이 밖에도 비염은 재채기가 계속 되고 맑은 콧물

이 흐르거나 코가 막히거나 심한 가려움증으로 눈과 코를 문지르기도 하는데, 이런 비증상의 평가를 위해 마우스의 비강내 0.1% OVA용액을 점적한 직후부터 60분간 코 긁는(문지름 : 동물의 앞발로 코 바깥 면을 긁는 행동) 행동의 횟수를 관찰하였다.

白蒺藜(*Tribulus terrestris* L.)는 蒺藜科蒺藜屬植物로 性味가 辛苦平하고 임상적으로 광범위하게 사용하는 약재이며 平肝解鬱, 祛風活血, 明目, 止痒 등의 효능이 있다<sup>30)</sup>. 현재까지 白蒺藜에 대한 약리작용이 활발하게 이루어져 왔으며, steroidal saponin은 白蒺藜 중의 主要藥效成分으로 心血管循環의 개선, 脂肪代謝의 調節 및 抗茵, 抗衰老, 壯陽 등의 작용이 있다<sup>31)</sup>.

白蒺藜는 알레르기 비염에 이용한 기존의 연구는 없으나 Jun-Dong ZHANG, Yong-Bing CAO 외 등의 논문<sup>19)</sup>에서 白蒺藜가 피부 소양감, 부종, 기관염 및 염증에 치료효과가 있다는 내용 등으로 보아 단일약물로 사용 시 알레르기비염에 영향을 끼칠 것으로 예상하고 어떤 영향을 가져오는지 실험적 연구를 통해 알아보고자 하였다.

현재 현대의학에서 알레르기 비염의 치료는 회피요법, 약물요법, 면역요법, 수술치료 등이 있으며, 약물요법 중 경구용 항히스타민제와 白蒺藜의 효과를 함께 비교 해보고자 하였다. 히스타민은 알레르기비염의 증상형성에 가장 중요한 역할을 하는 염증매개체이다. 인체에는 3개의 히스타민 수용체가 있으나 코에 나타나는 히스타민의 효과는 주로 H-1 수용체를 통해 이루어진다. 모든 H-1 항히스타민제는 경쟁적 히스타민 길항제이며, 1세대와 2세대로 분류한다. 1세대 항히스타민제는 졸음, 인지기능 저하, 집중력 저하와 같은 진정작용과 두통, 배뇨곤란, 입마름, 녹내장, 빈맥 등의 항콜린작용 등의 부작용이 있다<sup>32)</sup>. 현재 1세대 항히스타민제는 부작용으로 인해 더 이상 권장되지 않고 2세대 항히스타민제가 주로 사용된다. 2세대 항히스타민제는 지방불용성으로 blood brain barrier를 쉽게 통과하지 않으며 중

추신경계 H-1 수용체에 대한 결합력이 약해 1세대 항히스타민제보다 진정작용이 적다. 또한 쉽게 흡수되고 항콜린작용이 없기 때문에 녹내장, 당뇨, 전립선비대, 심장질환 환자에서도 안전하게 사용될 수 있다. 효과면에서는 1세대와 많은 차이를 보이지 않으며 코와 눈 증상에 대해서는 1시간 이내로 즉시 효과를 보인다<sup>32)</sup>. 약제 중 cetirizine, fexofenadine, azelastine 등을 제외한 모든 약물은 간의 cytochrome p450 system으로 대사되므로 간질환이 있는 경우 상기 약물의 사용이 권장된다<sup>33)</sup>. 현재 terfenadine과 astemizole은 심장 부작용으로 인해 많은 나라에서 시판이 금지되고 있다<sup>34)</sup>.

본 실험은 白蒺藜와 항히스타민제(세티리진)을 이용하여 in vivo 실험으로 알레르기 유발 모델 흰쥐에 대해 항알레르기 효과를 알아보기 위해 시행되었다. 항알레르기 효과를 살펴보기 위해 Total IgE, 코 긁기 행동 등을 관찰 측정된 결과 AR군, TT군, AH군에서 그룹간 유의한 차이를 보였다. Kruskal-Wallis test를 통해 IgE 0.012, 코 긁기 행동 관찰 결과 0.039로 유의성이 있었으며( $p < 0.05$ ), 白蒺藜 투여군은 다른 그룹들에 비하여 유의성 있는 감소를 보였다. 또한 白蒺藜 투여군은 항히스타민제(세티리진) 투여군과 살펴보아도 염증반응의 효과가 있음을 알 수 있다.

이상의 실험결과로 볼 때 白蒺藜 투여 후 알레르기 비염의 염증상황을 개선하는데 효과가 있음을 알 수 있었다.

## V. 결 론

본 연구에서는 실험적으로 유발한 알레르기 비염 마우스모델에서 白蒺藜의 알레르기 비염에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 BALB/c mouse에 白蒺藜를 전처리한 후 IgE를 측정하였고, 비증상의 평가를 위하여 코 긁기(문지름 : 동물의 앞발로 코 바깥 면

을 굽는 행동) 행동의 횟수를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 白痰藜를 경구 투여한 흰쥐 알레르기 비염모델에서 혈청 IgE 변화는 TT군에서 AR군과 AH군에 비해 유의성 있게 감소하였다.
2. 白痰藜를 경구 투여한 흰쥐 알레르기 비염모델에서 코 굽는 행동 횟수는 TT군에서 AR군과 AH군에 비해 유의성 있게 감소하였다.

이상의 실험결과 白痰藜는 항알레르기 효과에 유효하고, 향후 알레르기 비염 치료에 도움이 되리라 생각된다.

### 참고문헌

1. 김운범, 남혜정, 박외숙, 김희정, 김규석, 차재훈. 蔓荊子, 柴胡의 알레르기성 비염에 대한 효과. 한방안이비인후피부과학회지 2006;19(2):40-9.
2. 정의령, 김운범. 석창포가 알레르기성 비염 유발 동물 모델이 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 2008;21(1):16-25.
3. 조용주, 채병윤. 溫衛湯이 항알레르기 및 해열 소염 진통효과에 미치는 영향. 동의학회지. 1997;1(1):16-30, 97.
4. 박진구, 채병윤. 麗澤通氣湯과 麗澤通氣湯 가미방의 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 동의학회지. 2001;5(1):76-97.
5. 최은성, 채병윤. 辛夷散과 辛夷散 가미방의 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 동의학회지. 1999;3(1):31-47.
6. 이영규, 채병윤. 辛夷清肺湯의 항알레르기 효과에 관한 실험적 연구. 대한안이비인후피부과학회지. 2000;13(2):165-81.
7. 이태현, 채병윤. 細辛散의 항알레르기 효과에 관

- 한 실험적 연구. 동의학회지. 2000;4(1):70-85.
8. 안찬근, 조준기, 홍석훈, 황충연. 溫肺湯이 알레르기 비염 유발 흰쥐 모델에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지. 2007;20(3):29-42.
9. 양태규, 김운범, 채병윤. 葛根湯과 加味葛根湯의 항알레르기 및 소염 해열 진통 작용에 대한 실험적 연구. 대한안이비인후피부과학회지. 2002;15(1):76-95.
10. 한희철, 채병윤. 川椒散과 加味川椒散의 항알레르기 효과 및 진통 해열작용에 대한 실험적 연구. 동의학회지. 2001;5(1):116-38.
11. 송생엽, 심성용, 김경준. 小青龍湯이 알레르기 비염 유발 백서의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 효과. 대한안이비인후피부과학회지. 2004;17(1):75-81.
12. 김종성, 심성용, 엄유식. 補中益氣湯이 알레르기 비염 유발 백서의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 효과. 대한안이비인후피부과학회지. 2004;17(1):66-74.
13. 정세연. 祛痰補肺湯이 알레르기 비염 모델 흰쥐에 미치는 영향. 대한안이비인후피부과학회지. 2005;6(3):55-65.
14. 구영희. 알레르기 비염 동물모델에서 按葉油가 비염치료에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2004;25(1):40-8.
15. 유운조, 이호섭. 白痰藜 煎湯液의 自然發證高血壓 白鼠 血壓에 미치는 影響. 한국전통의학지. 1999;9(1):192-9.
16. 홍석. 白痰藜가 白鼠의 血壓에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 1991;18(2):151-9.
17. 강성용, 한종현, 김경요, 백승화. 白痰藜가 局所 腦血流量 및 腦軟膜動脈에 미치는 影響. 한국전통의학지. 1998;8(1):82-8.
18. 이다홍, 유현희, 정수영외. 백질러 추출물이 Streptococcus mutans에 대한 항치아우식에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2007;21(5):

- 1148-53.
19. Jun-Dong ZHANG, Yong-Bing CAO, Zheng XU외. In Vitro and in Vivo Antifungal Activities of the Eight Steroid Saponins from Tribulus terrestris L. with Potent Activity against Fluconazole-Resistant Fungal. *Biol. Pharm. Bull.* 2005;28(12):2211-5.
  20. 倪尉, 周刚, 胡丽玲, 田丹丽, 姜晓茜, 欧阳昌汉. 刺蒺藜提取物抗炎, 耐缺氧及抗疲劳作用的实验研究. *时珍国医国药*. 2007;18(11):2778-9.
  21. Salib RJ, Lau LC, Howarth PH. The novel use of the human nasal epithelial cell line RPMI 2650 as an in vitro model to study the influence of allergens and cytokines on transforming growth factor-beta gene expression and protein release. *Clin Exp Allergy* 2005;35:811-9.
  22. Chae BY. The Korean Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology. *Jipmoondang*. 1997:321-6.
  23. 김영기. 알레르기성 비염의 역학조사. 천식 및 알레르기 학회지. 1999;19(3):440-1.
  24. Skone DP. Definiton, epidemiology, pathophysiology, detection and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108:52-8.
  25. 이상철. 알레르기성 비염환자에서 비유발시험의 임상적 고찰. *인제의학*. 1990;11(1):63-72.
  26. Gell P, Combs R. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In *clinical aspects of immunology*. FA Davis Co. 1968:317.
  27. 전남대학교 의과대학 면역 및 알레르기학 편찬 위원회. 면역 및 알레르기학. 전남대학교 출판국. 1999:19-29, 178-83.
  28. Saldanha JC, Gargiulo DL, Silva SS et al. A model of chronic IgE-mediated food allergy in ovalbumin-sensitized mice. *Braz. J Med Biol Res*. 2004;37(6):809-16.
  29. 나기상, 전우진, 김용민. 백서에서 실험적으로 유발된 알레르기성 비염. *충남의대잡지*. 1999; 26(2):137-43.
  30. 肖培根. 新編中藥志. 北京: 科學出版社. 2001.
  31. 李瑞海, 李君玲, 楊松松. 蒺藜總皂苷提取工艺研究. *中國實驗方劑學雜誌*. 2006;12(8):1-2.
  32. Sur DK, Scandale S. Treatment of allergic rhinitis. *Am Fam Physician*. 2010;81:1440-6.
  33. Min YG. The pathophysiology, diagnosis and treatment of allergic rhinitis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2010;2:65-76.
  34. Simons FER. H1-receptor antagonist: safety issues. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999; 83:481-8.