

沈香의 항알레르기 효과에 대한 研究

金永學·李彦政·宋峰根·金炯均*

ABSTRACT

Studies on the Antiallergic Effect of *Aquillariae Lignum*

Kim Young Hak, Lee Eon Jeong, Song Bong Keun, Kim Hyeong Kyun*

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

The inhibitory activity of *Aquillariae Lignum* (Thymelaeaceae) on type I immediate hypersensitivity of the anaphylactic type in the wistar rat model of passive cutaneous anaphylaxis, an IgE-mediated, mast cell-dependent reaction. Administered orally at 250, 500 mg/kg body weight 1 h before the challenge, *Aquillariae Lignum* potently inhibited PCA in rats which disodium cromoglycate showed poor inhibitory activity. *Aquillariae Lignum* inhibited compound 48/80-induced anaphylaxis 100% with a dose of 0.5 g/kg body weight at 1 h before or 5 and 10 min after injection of compound 48/80. *Aquillariae Lignum* (0.05-1.6 mg/ml) also exhibited the dose-related inhibitory effect on compound 48/80-induced histamine release from rat peritoneal mast cells. Moreover, it was clearly demonstrated that *Aquillariae Lignum* and disodium cromoglycate potently inhibited such type I allergic reactions as anaphylactic shocks, suggesting that these drugs, at least in part, share the same mechanism of action. It is suggested that *Aquillariae Lignum* may exert a stronger inhibition on the mast cell degranulation process.

* 圓光大學校 韓醫科大學 腎系內科學教室

Since *Aquillariae Lignum* (1.0 mg/ml) inhibited about 90% of histidine decarboxylase activity, the inhibitory activity of *Aquillariae Lignum* for histamine release was considered to be derived from the inhibition of histidine decarboxylase activity. It results from increased expression of the mRNA coding for histidine decarboxylase, as assessed by Northern blot analysis after a 12 h incubation to P-815 cells with dexamethasone plus 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. The addition of *Aquillariae Lignum* to P-815 cells with dexamethasone plus 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, significantly inhibited the histidine decarboxylase gene expression. Tumor necrosis factor- α was not constitutively expressed in P-815 cells. Substance P selectively activates the tumor necrosis factor- α gene expression in P-815 cells. *Aquillariae Lignum* inhibited substance P-induced tumor necrosis factor- α gene expression. Furthermore, The effect of *Aquillariae Lignum* on the mRNA expression of novel protein kinase C δ , a major isoform of mast cells, was examined by Northern blot analysis. The expression of novel protein kinase C δ mRNA in the presence of *Aquillariae Lignum* was significantly lower than in the absence of *Aquillariae Lignum*.

These results suggest the possibility that the inhibition of allergic reaction by *Aquillariae Lignum* should be regulated by tumor necrosis factor- α and novel protein kinase C δ .

KeyWords : *Aquillariae Lignum*, anaphylaxis, PCA, histamine release, mast cell, histidine, tumor necrosis factor

I. 서론

알레르기란 생체의 변화된 반응이라는 뜻으로, 항원과과의 접촉에 의한 조직의過敏反應을 일으키는 것으로서, 發生機轉에 따라 몇가지 形態로 分類된다.¹⁻³⁾

그 중 I 형 알레르기는 肥胖細胞와 好鹽基球의 脫顆粒現象의 誘發에 의한 아나필락시(anaphylaxis)를 일으키거나, 두드러기, 氣管支 喘息, 알레르기성 鼻炎 등의 疾患을 일으킨다. 특히 I 형 알레르기의 하나인 아나필락시는 無防禦란 뜻으로 抗原刺戟에 의하여 感作된 生體가 一定期間 後에 同一한 抗原과 接觸했을 때 數十分內에 急激히 症狀를 나타내는 現狀이다.⁴⁻⁹⁾

近年, 全世界的으로 알레르기 疾患의 增加가 報告되고 있으며 미국의 경우 1993年 統計에 의

하면 全國民이 20%以上으로 2000年頃에는 30%에 달할 것으로 推定하고 있다. 우리나라의 경우도 例外가 아닐 것으로 豫想되며 最近의 報告에 의하면 健康한 서울市民을 對象으로 調査한 알레르기 素因率は 41%나 되었다.¹⁰⁾

한편, 알레르기 疾患은 주로 生體의 肥胖細胞에서 放出되는 化學的 媒介物質인 히스타민 등에 의해 일어나는데 그 放出에는 細胞內 情報傳達에 있어 重要한 役割을 하는 것으로 알려진 PKC (protein kinase C)가 주로 關與한다. 따라서 最近 國內外 研究者들은 PKC의 機能과 關聯한 研究를 競爭的으로 遂行하고 있다.³⁷⁻⁵⁷⁾

일찍이 東洋醫學에서도 巢¹¹⁾의 <巢氏諸病源候論>에 알레르기와 類似한 內容이 나타나 있는데 “漆有毒 人有稟性畏漆 但見漆便中其毒 ……亦有幸自耐者 終日燒煮 竟不爲害也”라고 하여 옷에

대한過敏反應과體質差異를言及하였다.

沈香은瑞香(팔꽃나무)科(Thymelaeaceae)에屬한常綠喬木인沈香(Aguilaria agallocha Roxb.),或은白木香(Aguilaria sinensis (Lour.) Gilg.)의木材이다.¹²⁻²¹⁾

沈香은<名醫別錄>²²⁾에最初로收錄되어“治風水毒腫,去惡氣,去伏尸,治霍亂心痛,治風癰疹癢毒”한다고하였고歷代 많은文獻에서心腹痛,霍亂,吐瀉,轉筋,呃逆,腰膝虛冷,大腸虛秘,小便氣淋,男子精冷等에活用되어왔을뿐만아니라²³⁻²⁶⁾風濕皮膚瘙癢氣逆喘急을治療하는데使用되어왔다.²⁷⁻³⁰⁾最近에는氣管支喘息에應用하여效果가있음이報告되어있다.³¹⁻³⁶⁾

이처럼沈香이“癰疹,皮膚痒,喘急”等에使用되고있다²¹⁻²⁹⁾는文獻的事實과氣管支喘息에有效하다³⁰⁻³⁶⁾는報告等으로미루어볼때沈香은항알레르기效果가있을것으로思料된다.

그러나이에關한實驗的研究報告는없었다.뿐만아니라,最近우리나라에서도알레르기疾患이增加하고있어韓藥에 의한 새로운항알레르기藥物의開發이時急한實情이다.

이에著者는沈香의알레르기反應에대한效果를生體內·外實驗으로分析하기위하여Saito等에 의한항IgE抗體에 의해誘導되는I형알레르기反應의典型的인모델인受動皮膚아나필락시(passive cutaneous anaphylaxis, PCA)反應⁵⁸⁾과肥胖細胞에 대한非免疫學的인刺戟物質中에서 가장 잘 알려진 compound 48/80⁵⁹⁻⁶¹⁾ 및神經傳達物質로 잘 알려진 substance P를利用하여항알레르기效果를檢證하고자하였다. 또한沈香의항알레르기活性機作糾明을 위해 HDC(histidine dicarboxylase), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 PKC 遺傳子發現을分析하여有意한結果를얻었기에報告하는바이다.

II. 재료 및 방법

1. 試藥

本研究에使用한 compound 48/80, metrizamide, α -minimum essential medium, antidinitrophenyl IgE (anti-DNP IgE), dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA) 및 disodium cromoglycate (DSCG) 등은 Sigma 회사 (St. Louis, Mo)로부터直接購入하여使用하였다.

2. 實驗動物

全身아나필락시속實驗을 위한生後6주된ICR계수컷생쥐및受動皮膚아나필락시實驗을 위한 Wistar 랫드는화학연구소(대전)에서購入하여使用하였다.

3. 藥物

沈香은市中에서購入하여圓光大韓醫科大學本草學教室에서檢證을거쳐使用하였으며,生體內實驗을 위해서는 생리식염수에,生體外實驗을 위해서는 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實驗直前에一定濃度로調製하였다.

4. PCA의誘發

IgE依存性皮膚反應은 anti-DNP IgE를皮內注射한 다음 48시간 후에, DNP-HSA를 꼬리정맥에注射하여 일으켰다. DNP-HSA는 PBS에溶解시킨 1 mg DNP-HSA/ml에 4% Evans blue가 되게稀釋하여使用하였다. 깨끗이 털을除去한 랫드皮膚에 48시간 전에 각 100 μ g씩의 anti-DNP IgE를皮內注射했다.注射部位는수불용성 검은색 잉크로表示했다.沈香 (50, 250, 500 mg/kg, 體重)은惹起1시간 전에 경구投與하였다. Evans blue 量을定量하기 위해惹起30분 후에實驗動物을 희생시켜染色된皮膚部

位를 取했다. Evans blue의 量은 Katayama 等의 方法에 의한 1.0 N KOH 및 아세톤과 인산 혼합물로 抽出하여 비색법으로 決定했다.⁶²⁾

5. compound 48/80에 의한 아나필락시 實驗

생쥐의 腹腔內에 compound 48/80(8mg/kg 體重)을 注射한 1시간 후에 死亡率을 測定하였다. 沈香 (0.03-2g/kg 體重)은 생리식염수에 溶解하여 compound 48/80 注射하기 1시간 전에 腹腔內 注射하였다. 沈香 (0.5 g/kg 體重)의 時間 依存的 實驗은 compound 48/80 注射 1시간 전, 5분과 10분 후에 腹腔內에 注射하였다. 死亡率은 速 誘發 1시간 후에 測定하였다. 死亡率 測定 後에 각 實驗動物의 心臟으로부터 폴리에칠렌튜브에 血液을 取하여 4℃에서 放置한 다음 400 x g에서 20분 동안 遠心分離하였다. 히스타민의 量은 Shore 等에 의한 O-phthalaldehyde spectrofluorometric 方法으로 決定하였다.⁶³⁾ 형광강도는 spectrofluorometer (650-10, Hitachi, Tokyo, Japan)을 利用하여 450nm에서 測定했다.

6. 생쥐腹腔肥胖細胞의 分離

Kanemoto等이 確立한 方法으로 分離했다.⁶⁴⁾ 간단히 說明하면, 생쥐를 에테르로 痲醉시킨 후 실온에서 0.1% gelatin을 含有한 Tyrode buffer B (NaCl, NaHCO₃, KCl, NaH₂PO₄, glucose) 약 5 ml를 腹腔內에 注入하고 30초간 腹壁을 가볍게 마사지한 후 腹壁 中央線을 약간 切開하여 腹腔洗滌液을 스포이드로 採取하여 150×g로 10분간씩 3회 反復, 遠心分離 시킨 다음 上層 浮遊液을 버리고 同一 Tyrode brffer B로 再浮遊 시키고 22.5% (w/v) metrizamide를 利用한 Yurt 等⁶⁵⁾의 方法으로 肥胖細胞를 分離 精製하였다. Alcian blue 染色 陽性 肥胖細胞의 數는 98% 이상이었다.

7. compound 48/80 및 substance

P에 의한 히스타민 遊離

CO₂ 배양기에서 미리 37℃, 10분간 培養시킨 생쥐 腹腔肥胖細胞 浮遊液(2 × 10⁵ cells/ml)에 Tyrode buffer A로 調製한 沈香(1.0 mg/ml)을 添加하여 37℃에서 10분간 培養시킨 후 compound 48/80(5μg/ml) 및 substance P (10 μg/μl)을 加하여 다시 10분 동안 培養시킨 다음 400 ×g로 4℃에서 5분간 遠心分離하여 上層液을 分離하였다. 肥胖細胞 浮遊液에 沈香과 compound 48/80과 substance P 대신 Tyrode buffer A를 添加한 군을 blank로 하고, 유제놀 대신 Tyrode buffer A를 添加하고 compound 48/80 및 substance P를 附加한 군을 대조군으로 하였다. 그리고 臨床적으로 알레르기 疾患에 使用하고 있는 DSCG를 비교군으로 實驗하였다.

8. 히스타민의 分析

細胞培養 上層液 및 血清 中에 있는 히스타민은 Shore 等⁶³⁾의 方法을 약간 修正하여 定量하였다. 간략히 敘述하면 에펜돌프 튜브에 시료 500 μl을 넣고 0.1 N-HCl 450 μl과 60% 과염 소산 溶液 50 μl을 넣고 混合 後 遠心分離 (1,500 rpm, 20 min)하고 그 上層液 800 μl을 5 N-NaOH 溶液 500 μl, 증류수 3 ml, n-Butanol 10 ml 및 NaCl 1.2 g를 混合한 試驗管에 넣고 震盪 후 遠心分離하였다. Butanol층 8 ml를 50 ml 시험관에 넣고 0.1 N-HCl 溶液 3 ml, n-Heptane 10 ml를 加하여 震盪 후 遠心分離 (2,000 rpm, 10 min)하였다. 여기에서 얻어진 水層 2 ml에 1 N-NaOH 溶液 400 μl과 1% o-Phthaldialdehyde 溶液 100 μl을 넣고 수욕상에서 37℃, 3분 동안 反應시킨 다음 3 N-HCl 溶液 200 μl을 넣고 混合 後 2분 동안 放置하여 spectrofluorometer (Kontron)을 利用하여 λ_{ex}=360 nm와 λ_{em}=440 nm에서 螢光度를 測定하였다.

히스타민 遊離 抑制率(%) = (沈香을 附加하지 않았을 때의 히스타민 量 - 沈香을 附加하였을 때의 히스타민 量) × 100 / 沈香을 附加하지 않았을 때의 히스타민 量

9. HDC 活性度 測定

肥胖細胞에 차가운 溶液 A [0.1 M potassium phosphate buffer (ph 6.8), 0.2 mM dithiothreitol, 0.01 mM pyridoxal 5-phosphate, 1% polyethylene glycol (평균 분자량 300, W/W), 0.5 µg/ml의 leupeptin과 chymostatin]를 넣고 균질화한 다음 10,000 × g에서 20분 동안 遠心 分離했다. 상등액은 溶液 A의 100배 用量으로 투석했다. HDC 活性度は Watanabe 등의 方法⁶⁶⁾으로 遂行했다. 간단히 說明하면 투석액은 0.25 mM L-histidine으로 15시간 동안 培養하고 Amberlite CG-50 컬럼으로 histidine으로부터 histamine을 分離하여 o-phthaldehyde 方法으로 測定했다.

10. HDC, TNF-α, PKC 傳寫量 分析

沈香에 의한 關聯 遺傳子들의 發現 樣相을 알 아보기 위하여 肥胖細胞株인 P-815 細胞로 부터 LiCl-Urea法으로 total RNA 分離하여 1.2% formaldehyde agarose gel에 전기영동하여 nylon membrane에 轉移시켰다. UV-transilluminator에 5분간 結合시킨 후 50% formamid, 5X SSPE, 5X Denhardt's solution, 0.1% SDS, 100µg/ml salmon sperm DNA가 含有된 緩衝溶液에서 prehybridization한다. 이 溶液에 [α -32P] deoxycytidine triphosphate (dCTP)로 label한 probe 1×10^6 cpm/ml과 dextrane-sulfate를 10% 되게 넣고 hybridization 한다. Nylon membrane은 順次的으로 2X SSC/0.1% SDS, 1X SSC/0.1% SDS, 0.2X SSC/0.1% SDS 溶液으로 洗滌하여 自動 放射線 寫眞術에 의해 分析하였다.

11. Alcian blue 染色 및 in situ hybridization에 의한 c-kit 陽性肥 胖細胞의 동정

PBS로 washing후 即時 600 rpm으로 5분 동안 cytocentrifuge하여 alcian blue로 染色한다. in situ hybridization은 모든 溶液을 0.2% DEPC(diethylpyrocarbonate)로 處理하고 滅菌하여 使用하고 유리그릇은 RNase를 不活性化 시키기 위해 180°C에서 3시간 以上 굽는다. Prehybridization 전에 조직절편을 0.1M phosphate 緩衝 溶液으로 만든 4% paraformaldehyde로 20분 동안 固定한다. 다음 內在性的 alkaline phosphatase를 不活性化 시키기 위하여 0.2M HCl을 處理하고 0.1M triethanolamin (ph 8.0)에 0.25% acetic acid로 acetylation 한다. 5분 동안 씩 0.1M PB로 2번 헹구고 70, 80, 90, 95, 99.5% 알코올로 脫水한 다음 공기중에서 乾燥한다. Hybridization 溶液은 50% 탈이온화한 formamide, 10% dextrane-sulfate, 1X Denhardt's 溶液 600mM NaCl, 10mM DTT(dithiothreitol), 0.25% SDS, E. coli tRNA 250µg/ml, digoxigenin labelled RNA probe 약 0.5µg/ml을 含有한다. Hybridization 溶液의 50µl를 각 절편 위에 놓은 다음 parafilm으로 덮고 水分을 維持할 수 있는 容器에서 50°C로 16시간 동안 放置한다. Hybridization 후의 parafilm을 5X SSC에 넣어 除去하고 50% formamide, 2X SSC 溶液에 50°C로 30분간 放置한다. RNase A(10µg/ml)로 37°C에서 30분간 소화한 후 2X SSC 溶液, 0.2X SSC 溶液으로 50°C에서 15분간씩 2번 씻는다. Nucleic Acid Detection Kit(Boehringer Mannheim)를 使用하여 hybridize된 digoxigenin으로 檢出한다. 發色反應後 10mM Tris HCl(pH 8.0)으로 反應을 終了한다.

12. 統計學的 分析

結果는 實驗動物의 數에 대한 mean ± S.E로

나타냈다. Student's t-test로 實驗群間을 統計學的으로 比較했다.

III. 실험결과

1. 受動皮膚아나필락시 反應에 있어서 沈香의 效果

맨 먼저 肥胖細胞 表面의 IgE 受容體에 受動的으로 IgE 抗體를 結合시킴으로써 誘發되는 皮膚 아나필락시 反應에 있어서 沈香의 效果를 檢證하였다. 沈香 (50, 250, 500 mg/kg 體重)의 口腔內 投與에 의해 受動皮膚아나필락시 反應은 用量 의존적으로 抑制되었다. 특히 250, 500 mg/kg 體重에서 가장 현저한 效果를 나타내었다 (Table 1).

Table 1. Effect of AL on the 48 h PCA reaction

Dose (mg/kg BW)	Amount of dye (μg/site)	Inhibition(%)
ControlNone	50.78±1.42	-
50.0	39.76±4.25	21.7
250.0	4.24±0.44**	91.7
500.0	1.74±0.37**	96.6

Drug was administered orally 1 h prior to challenge with antigen. Each amount of dye represents the mean±S.E. of 7 experiments.

** p<0.01 : significantly different from the control

AL : *Aquillariae Lignum*

2. 沈香이 compound 48/80에 의하여 誘導된 아나필락시 속에 미치는 影響

compound 48/80 (8 mg/kg 體重)의 腹腔內 注射에 의해 全身性 아나필락시 속을 誘發시킨 다음 沈香의 效果를 觀察하였다. compound 48/80 注射 1시간 전 및 5분 후에 沈香 (0.5 g/kg 體重)을 腹腔內 注射했을 때 致死率은 0%이었다. 그러나 compound 48/80 注射한 10분 후 沈香

投與에 의해 致死率은 14.2%로 增加하였다 (Table 2). compound 48/80 投與 1시간 전에 沈香의 用量에 따른 致死率을 實驗한 結果 二相性의 樣相으로 減少하였으며, 0.5 g/kg (體重)의 濃度에서 0%로 나타나 가장 效果의이었다 (Table 3).

Table 2. Inhibitory effect after an injection of AL on compound 48/80-induced anaphylaxis

Trdatment	Compound 48/80	Mortality(%)		
		1h before	5 min after	10 min after
None	+	100	100	100
AL	+	0	0	14.2
AL	-	0	0	0

Compound 48/80 solution (8mg/kg BW) was intraperitoneally given in to the group of rats.

Two hundred μl saline or AL was given with 0.5g/kg BW at 1h before or 5 min, 10 min after (n=7/group) compound 48/80 injection. Mortality(%) Within 1h following compound 48/80 injection was represented as No. of dead rat×100/No. of total experimental rats.

AL : *Aquillariae Lignum*

Table 3. Effect of AL on compound 48/80-induced anaphylaxis

Trdatment	Dose in g/kg BW	Compound 48/80	Mortality(%)
None	-	+	100
AL	0.03	+	100
AL	0.06	+	57.1
AL	0.12	+	42.8
AL	0.25	+	28.6
AL	0.50	+	0
AL	1.00	+	14.2
AL	2.00	+	57.1

Groups of rats were intraperitoneally pretreated with 200 μ l saline or AL, which were given with various doses at 1h before (n=7/group) compound 48/80 injection. Compound 48/80 solution (8mg/kg BW) was intraperitoneally given in to the group of rats. Mortality (%) Within 1h following compound 48/80 injection was represented as No. of dead rat \times 100/No. of total experimental rats.

AL : *Aquillariae Lignum*

3. compound 48/80에 의해誘導된血清內 히스타민의遊離量에 있어서沈香의效果

沈香이 compound 48/80에 의한全身 및局所性 알레르기反應을抑制하기 때문에 그抑制機作을 알아보기 위해實驗動物의心臟으로부터血液을取하여血清을分離하여 히스타민의量을測定했다.豫想했던 대로血清內 히스타민量의變化는沈香 0.5 g/kg BW을投與했을 때血清內 히스타민量이 가장 낮아서致死率實驗結果와一致하는樣相을 보였다(Table 4).

Table 4. Effect of AL on serum histamine release 15 min after compound 48/80 injection

Treatment	Dose in g/kg	Compound 48/80	Inhibition (%)
None	-	+	0
AL	0.03	+	12.69 \pm 1.16
AL	0.06	+	29.69 \pm 4.12
AL	0.12	+	49.42 \pm 5.96
AL	0.25	+	55.38 \pm 3.08
AL	0.50	+	78.08 \pm 2.70*
AL	1.00	+	75.00 \pm 2.31*
AL	2.00	+	31.15 \pm 3.24

Groups of rats were intraperitoneally pretreated with 200 μ l saline or AL was given with various at 1 h before (n=5/group) compound 48/80 injection. Compound 48/80 solution (8mg/kg BW) was int-

raperitoneally given in to the group of rats.

* p < 0.05 : significantly different from the control

AL : *Aquillariae Lignum*

4. 沈香에 의한腹腔內 肥胖細胞로부터 히스타민 放出 抑制效果

即時型 알레르기를 일으키는原因細胞로 알려진 肥胖細胞에 대한沈香의效果를實驗하기 위해 랫드 腹腔으로부터 肥胖細胞를分離 (沈香 cian blue 染色 및 in situ hybridization에 의해 98% 이상의純度を確認)하였다.沈香은腹腔肥胖細胞로부터 compound 48/80에 의해誘導된 히스타민 遊離를 濃度 의존적으로抑制하였으며 (Figure 1), 또한沈香은 substance P에 의해刺戟된腹腔肥胖細胞로부터 히스타민의遊離를 현저하게抑制시켰다 (Table 5).

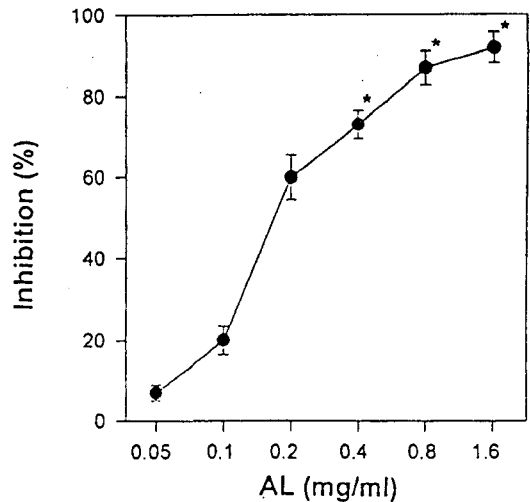


Figure 1. Inhibitory effect of AL on compound 48/80-induced histamine release from rat peritoneal mast cells. Rat peritoneal mast cell (2×10^5 cells/ml) were pretreated with 10 μ l of saline or AL for 10 min. Each point represents the mean of seven experiments, and vertical bars indicate S.E.

* p < 0.05 : significantly different from the control

AL : *Aquillariae Lignum*

Table 5. Effect of AL on the histamine release by substance P

Treatment	Dose (µg/ml)	substance P (10 µg/ml)	Inhibition(%)
None	-	+	0
AL	800	+	96.0*
AL	400	+	92.1*
AL	200	+	83.7*
AL	100	+	66.8
AL	50	+	31.9

Rat peritoneal mast cells (2×10^5 cells/ml) were pretreated with 10 µl of saline or AL for 10 min.
 * $p < 0.05$: significantly different from the control
 AL : *Aquillariae Lignum*

5. 沈香에 의한腹腔肥胖細胞의膜安定化效果

腹腔肥胖細胞에 compound 48/80 (5 µg/ml) 溶液을處理하면 5분 이내에脫顆粒을意味하는肥胖細胞의膜의 팽대 및細胞質內 공포상構造가觀察된다 (Figure 2B). 그러나 compound 48/80 處理전에沈香을投與했을 때는正常腹腔肥胖細胞 (Figure 2A)와類似한形態를 그대로維持하고 있었다 (Figure 2C).



Figure 2. Visualization of morphological in isolated rat peritoneal mast cells. Fresh isolated rat peritoneal mast cells(A), in the presence of compound 48/80(B), in the presence of AL plus compound 48/80(C), Magnification × 700

* $p < 0.05$: significantly different from the control
 AL : *Aquillariae Lignum*

6. 沈香에 의한 P-815 細胞의 HDC 活性抑制效果

생쥐 mastocytoma P-815 細胞는 多様な刺戟에反應하여 HDC를合成하기 때문에肥胖細胞에서히스타민을形成하는機作을 밝히는데適切한細胞型이다. 예를 들면 글루코코티코이드는 P-815 細胞에서 HDC를誘導함으로써히스타민의合成을刺戟한다.⁶⁷⁾ 한편 12-O-Tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA)는 P-815 細胞에서 dexamethasone에 의해誘導된 HDC 活性을 현저하게增加시켰다.⁶⁸⁾ 따라서本研究에서는대조군으로서 P-815 細胞에 dexamethasone과 TPA를處理한 다음沈香의效果를分析하였다. Table 6에서 보는 바와 같이沈香은 HDC 活性을 현저하게抑制시켰다.

Table 6. Effect of AL on the HDC activity induced by dexamethasone plus TPA

Treatment	HDC activity (p mol/min per 10^7 cells)
None	0.51 ± 0.09
Dexamethasone plus TAP	23.86 ± 0.43
AL plus Dexamethasone plus TAP	7.08 ± 0.16

P-815 cells were incubated with 100nM dexamethasone plus 10nM TPA. Each value is the mean ± S.E. (n=4).

AL : *Aquillariae Lignum*

7. 沈香에 의한 P-815 細胞의 HDC 遺傳子發現의抑制效果

沈香에 의한 HDC 活性抑制를 HDC mRNA 水準에서證明하기 위한 Northern blotting을遂行했다. 이미報告된 바와 같이⁶⁸⁾ P-815 細胞에

서 HDC 遺傳子의 크기는 2.7 kb이다. Figure 3의 結果처럼 dexamethasone과 TPA에 의해 增加된 HDC 轉寫物이 沈香 處理한 P815 細胞에서는 현저하게 減少되었다.

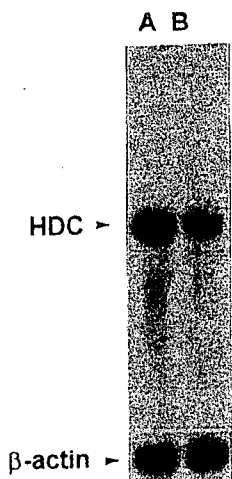


Figure 3. Expression of histamine decarboxylase mRNA transcripts in P-815 cells. A : dexamethasone plus TPA treated cells. B : AL(0.5mg/ml) plus dexamethasone plus TPA treated cells. The β -actin probe was used to verify that an equal amount of total RNA(20 μ g) was load in each lane AL : *Aquillariae Lignum*

8. 沈香에 의한 P-815 細胞의 TNF- α 遺傳子 發現의 抑制 效果

Figure 4에서 보는 것처럼 P-815 細胞에 substance P (100 μ M) 處理한 다음 6시간 후에 細胞를 모아 total RNA를 分離하여 TNF- α cDNA를 탐침자로 하여 Northern hybridization을 遂行한 結果 沈香은 substance P에 의한 TNF- α 遺傳子의 mRNA量を 현저하게 減少시켰다.

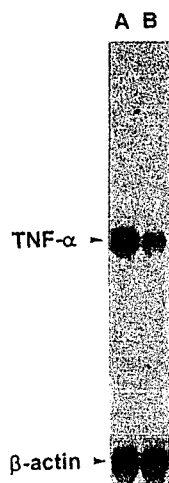


Figure 4. Expression of tumor necrosis factor- α mRNA transcripts in P-815 cells. A : dexamethasone plus TPA treated cells. B : AL(0.5mg/ml) plus dexamethasone plus TPA treated cells. The β -actin probe was used to verify that an equal amount of total RNA(20 μ g) was load in each lane AL : *Aquillariae Lignum*

9. 沈香에 의한 PKC δ 遺傳子 發現의 抑制 效果

肥胖細胞의 주된 PKC 아형인 PKC δ 의 傳寫量を 分析하여 沈香이 肥胖細胞內의 信號傳達에 미치는 效果를 分析했다. P-815 細胞에 dexamethasone과 TPA를 處理하여 PKC δ 遺傳子의 發現量を 增加시킨 다음 沈香을 處理한 경우 PKC δ 의 傳寫量이 현저하게 減少하였다 (Figure 5).

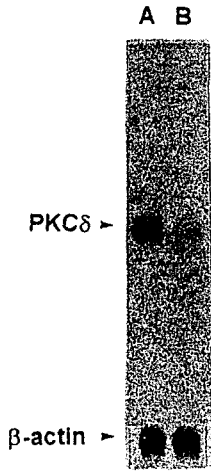


Figure 5. Expression of novel protein kinase C δ mRNA transcripts in P-815 cells. A : dexametasone plus TPA treated cells. B : AL(0.5mg/ml) plus dexametasone plus TPA treated cells. The β -actin probe was used to verify that an equal amount of total RNA(20 μ g) was load in each lane
AL : *Aquillariae Lignum*

IV. 고 찰

알레르기란 어떤 抗原에 의해 減作된 個體가 同一한 抗原이 再導入되었을 때 抗原-抗體結合으로 因한 過敏免疫反應을 말한다.¹⁻⁴⁾ 알레르기는 Coombs와 Gell에 의해 發生機轉에 따라 I~IV型으로 分類되었으며, 그 중 I型은 肥胖細胞表面에 附着되어 있는 IgE과 抗原이 反應하여 肥胖細胞 脫顆粒現象을 誘發시켜 histamine이나 serotonin, slow reactive substance-anaphylaxis (SRS-A), platelet activating factor(PAF), tryptase, 키노젠분해효소(kininogenase), PGD2 와 같은 化學 傳達物質이 遊離된다.⁷⁾ 이러한 化學 傳達物質은 平滑筋收縮, 粘膜炎腫, 粘液分泌, 血管透過性亢進, 血管擴張을 일으켜 氣管支 喘息, 알레르기성 鼻炎, 두드러기 등의 疾患을 일으키는 原因이 된다.⁶⁻⁸⁾

沈香은 <名醫別錄>²²⁾에 最初로 收錄되었으며 異名으로는 沈水香, 水沈香, 沈香木, 沈香片, 沈香屑, 牙香, 蜜香, 惡揭露, 阿迦噓, 阿迦噓華, 女麻樹, 芽香樹, 伽南香, 伽羅, 奇南香, 落水沈香, 海南沒, 女兒香, 莞香⁶⁹⁻⁷⁶⁾ 등이 있다.

效能과 主治를 <名醫別錄>²²⁾ 以來로 歷代 文獻^{21,69,85-98)}을 綜合한 結果, 行氣止痛 溫中散寒 暖腎納氣 下氣平喘 益陰養血 등의 效能으로 腫毒, 霍亂心痛, 癰疹癩毒, 癩癬, 嘔吐, 呃逆, 腰膝虛冷, 男子精冷, 轉筋, 瘡腫, 喘急, 大腸虛閉, 小便氣淋, 皮膚瘙癢, 胸腹脹痛, 噤口毒痢, 肌膚水腫 등의 症狀을 治療하는데 使用되었다.

沈香은 樹脂와 精油로 構成되어 있으며, 精油(13%)에는 主成分으로 benzylacetone, P-methoxybenzyl acetone이 있고, 殘査物 중에는 hydrocinnamic acid, P-methoxycinnamic acid 등이 含有되어 있다. 菌感染된 沈香은 agarospirol, agarol, agarofuran, dihydroagarofuran, 4-hydroxydihydroagarofuran, 3,4-dihydroxydihydroagarofuran, nor-ketoagarofuran 등이 含有되어 있고 未感染된 沈香에는 selinane, agarol 등이 含有되어 있으며⁷⁷⁻⁸³⁾ 最近 isobaimuxinol이라는 새로운 sesquiterpenoid가 精油에서 처음으로 分離되었다.⁸⁴⁾

藥理作用에 대하여 周⁹⁹⁾는 沈香이 histamine 이나 acetylcholine에 의한 腸平滑筋의 興奮作用을 拮抗하여 痙攣性 收縮을 抑制시키고 腸管의 緊張度와 蠕動運動을 下降시키며 neostigmine으로 일어나는 腸管 蠕動運動 亢進을 減少하고 腸肌肉의 反應性を 떨어 뜨려서 痙攣性 疝痛(colic pain)을 緩和시키는데 腸의 平滑筋에 直接 作用하여 생긴다고 하였다.

그 밖에 沈香樹의 莖皮中에서 抽出한 2가지 細胞毒性成分은 淋巴細胞性 白血病-388 細胞株의 體外實驗에서 煎湯 抽出物은 JTC-26 抑制率 이 70-90% 이었다고 하였으며³²⁾ 결핵균, 티푸스균, 赤痢菌에 抑制 作用이 있다고 하였다.¹⁰⁰⁾

以上에서 보는 바와 같이 沈香은 多樣한 藥理

作用을 나타내고 있으나, 著者は 癩疹, 皮膚痒, 喘息 등 I 型 알레르기와 聯關性이 있는 疾患에 沈香이 使用되고 있다는데 關心을 갖게 되었다.

이에 著者は 沈香이 항 알레르기 反應에 미치는 影響을 檢討하고자 免疫學的, 非免疫學的 刺戟에 의해 肥胖細胞를 活性化시켜 주된 化學的 媒介物質 및 關聯 遺傳子들의 動態를 分析하였다.

I 型 알레르기의 代表的 反應인 受動 皮膚 아나필락시 및 全身性 아나필락시 反應에 대한 實驗結果, 沈香은 全身性 아나필락시 反應을 100%, 局所性 아나필락시 反應을 현저하게 抑制하였다. 또한 대조군으로 使用한 DSCG와 同等한 效果로 即時型 알레르기 反應을 強力하게 抑制하였다. 即時型 알레르기 反應에 있어서 DSCG의 抑制效果는 肥胖細胞로부터 媒介物質의 抑制에 의한 것으로 보고 되어 있다.¹⁰¹⁻¹⁰³⁾

本 研究에서 沈香과 DSCG는 腹腔肥胖細胞로부터 히스타민의 遊離를 현저하게 抑制하였던 바 이로써 Anaphylaxis 反應이 抑制된 것으로 보여진다. 더욱이 沈香의 항 알레르기 活性機作 糾明을 위한 HDC 活性度, HDC 遺傳子 發現, TNF- α 遺傳子 發現, PKC δ , 遺傳子 發現에도 매우 效果의인 것으로 나타났다. 이러한 結果는 현미경 考察에 의한 沈香의 肥胖細胞膜 安定化 效果에 起因하는 것으로 豫測된다. 그러나 以上과 같은 接近 以外에 Fc ϵ RI 회합으로부터 脫顆粒 및 多樣한 細胞活性物質의 生成에 必要한 情報를 包含한 深度있는 研究가 必要하다. 더욱이 信號傳達에 中心的인 役割을 하는 것으로 생각되는 효소 (예를 들면 PLC)와 그것을 調節하는 既知 및 未知의 因子와의 相互關係를 分析하는 것도 有力한 手段이라고 생각한다. 타이로신인산화에 의한 信號傳達은 물론 G 단백질을 媒介하는 信號傳達에도 이와 같은 天然物質의 關與를 考慮할 수 있다. 또한 MAP 카이네이스 ERK2의 活性化에 대한 關與도 생각할 수 있다. MAP 카이네이스는 타이로신 카이네이스의 活性化를

隨伴하는 經路만이 아닌 타이로신 카이네이스의 活性化를 隨伴하지 않는 經路에서도 活性化되는 것이 알려져 있기 때문에 지금까지 밝혀진 肥胖細胞의 모든 情報傳達 機構에 沈香이 關與하는지를 糾明할 必要가 있다고 思料된다.

肥胖細胞에 TPA를 投與하면 生理的 效果의 增大에 의해 히스타민 放出이 增加한다.¹⁰⁴⁻¹⁰⁷⁾ TPA는 항상적효소의 인산화를 誘導하는 PKC를 直接的으로 活性化하는 것으로 알려져 있다. 특히 TPA는 dexamethasone에 의해 誘導된 HDC의 活性를 현저하게 增加시킨다.⁶⁸⁾ 더욱이 dexamethasone, 혹은 dexamethasone과 함께 處理했을 때 TPA의 效果는 PKC 抑制劑인 staurosporin, H-7 등의 同時 處理에 의해 대부분 無能化되었다. 대부분의 細胞株에서 細胞外刺戟의 情報誘導體인 PKC는 細胞質로부터 Plasma membrane으로 빠르게 재분포함으로써 活性化하는 것으로 알려져 있다. HDC 活性度 增加에 PKC가 關與하는 機作은 glucocorticoid 受容體의 活性化, HDC의 posttranscriptional modification 및 transcriptional 혹은 posttranscriptional 水準에서 HDC 發現의 modification이 關與하는 것으로 說明할 수 있다. 그러나 HDC의 인산화형성과 PKC의 關係에 대해서는 아직까지 밝혀지지 않고 있다.

本 研究에서는 沈香의 效果를 觀察하면서 PKC의 直接的인 活性化劑인 TPA를 利用하여 HDC의 蓄積과 PKC의 關聯性을 分析하였는 바 Kawai 等の 報告⁶⁸⁾와 마찬가지로 TPA는 dexamethasone으로 12시간 동안 전 處理한 P-815 細胞에서 미리 形成된 HDC 蓄積을 活性化시키지 못했다. 또한 Imanishi 等の 方法¹⁰⁸⁾으로 精製한 mastocytoma HDC는 生體外實驗에서 PKC에 의해 인산화되지 않았다.⁶⁸⁾

以上の 結果들을 綜合해 볼 때 TPA에 의한 HDC 活性度 및 HDC 遺傳子 發現의 增加는 HDC의 인산화와는 關聯이 없는 것으로 思料된다. 따라서 沈香의 HDC 活性度 및 HDC 遺傳子

發現 抑制作用 機作은 HDC의 인산화와 別個의 經路로 研究를 계속할 必要가 있다 하겠다. 또한 TPA가 actinomycin D 等の 處理에 의한 dexamethasone 誘導性 HDC mRNA의 安定性을 增加시킬 可能性이 있기 때문에 dexamethasone 處理한 細胞에서 HDC mRNA의 반감기를 實驗하였으나 현저한 差異는 觀察할 수 없었다. Glucocorticoids 역시 特異的 스테로이드 受容體의 ligand-induced 活性化를 통한 多様な 효소들의 合成을 誘導하는 것으로 알려졌다. glucocorticoid 受容體는 hormone-responsive promoter에 隣接한 glucocorticoid response elements (GREs)라고 부르는 特異的 DNA 配列에 直接 結合하는 傳寫因子 (transcription factor)로써 作用한다.^{109,110)} 이러한 結合은 遺傳子 發現의 增加에 必須의이다. GREs는 P-815 細胞에서 HDC 活性의 增加의 경우와 마찬가지로 增加要素의 誘導劑로서 作用하는 것이다.^{111, 112)} TPA는 랫드의 간세포 一次培養細胞에서도 glucocorticoids에 의해 tyrosine aminotransferase의 誘導를 增加한다고 報告했다¹¹³⁻¹¹⁵⁾. 따라서 TPA는 TRE에 作用하여 GREs의 發現을 調節하는 HDC 혹은 여러 다른 효소들에 대한 遺傳子를 誘導하는 것이다. 한편 glucocorticoid는 TPA에 의해 c-fos, c-jun 및 collagenase의 誘導에 있어서 抑制의 效果를 갖는다는 報告가 있다¹¹⁶⁻¹¹⁸⁾. 즉 glucocorticoid 受容體와 c-fos/c-jun 사이의 直接的인 相互作用에 拮抗的으로 作用하는 것 같다. Diamond 등은 glucocorticoid 受容體와 c-fos/c-jun 사이의 選擇的인 相互作用은 생쥐 proliferin 遺傳子의 단일 DNA element upstream을 통한 陽性的 혹은 陰性的 傳寫調節때문인 것을 證明했다.¹¹⁹⁾ P-815 細胞에서 glucocorticoid의 效果 역시 glucocorticoid 受容體와 TPA에 의해 誘導된 단백질 사이의 直接的인 相互作用에 의해 HDC 遺傳子를 刺戟한 效果일 可能性이 있다. 따라서 沈香의 效果는 glucocorticoid 受容體, TPA에 의해 誘導된 단백질, 혹은 이들의 直接

的인 相互作用을 抑制하여 나타났을 것으로 思料된다.

肥胖細胞에서 發現하는 免疫學的으로 重要한 細胞活性物質중에서 TNF- α 는 多様な 組織에서 염증, 조혈, 패혈증 및 기생충 등에 대한 宿主抵抗 等を 媒介하는 重要한 役割을 하는 것으로 잘 알려져 있다.¹²⁰⁻¹²⁴⁾ 대부분의 免疫擔當細胞들은 細胞活性物質의 放出에 의해 신경펩타이드 刺戟에 反應하고 신경펩타이드에 대한 特異的 受容體를 發現한다.¹²⁵⁻¹²⁹⁾ substance P는 人體 및 생쥐 肥胖細胞에 特異的으로 結合하여 히스타민 放出을 誘發한다.^{130,131)}

本 研究에서는 肥胖細胞에서 substance P에 의한 TNF- α 遺傳子 發現量의 變化를 實驗하였는 바 用量 의존적으로 substance P에 의해 肥胖細胞의 TNF- α mRNA 水準이 增加하였고 이러한 增加는 沈香의 전처리에 의해 抑制되었다. 이러한 結果는 알레르기성 炎症反應에서 肥胖細胞에 의한 TNF- α 의 役割을 理解하는데 重要할 뿐만 아니라 이러한 炎症反應에도 沈香이 有效함을 暗示하고 있다. TNF- α 는 強力한 血管收縮化合物인 endothelin-1의 發現을 誘導한다.¹³²⁾ 肥胖細胞에서 誘導된 TNF- α 는 皮膚의 纖維牙細胞, synovial 細胞와 같은 肥胖細胞와 隣接한 細胞를 包含하여 腦血管系細胞에도 影響을 미친다.^{132, 133)}

이러한 觀點에서 볼 때 沈香의 TNF- α 遺傳子 發現 抑制效果는 그 應用이 더욱 廣範圍할 것으로 豫想된다. 그러나 沈香은 PKC, mRNA 增加의 抑制에도 效果的이기 때문에 肥胖細胞에서 細胞活性物質의 生成과 히스타민 放出과의 關係를 더욱 明確히 糾明하기 위해서는 肥胖細胞內의 信號傳達 經路의 糾明이 隨伴되어야 할 것으로 思料된다.

以上の 結果는 癩疹癢毒 皮膚瘙癢 等に 使用되어 온 沈香이 I 型 알레르기 疾患에 活用될 수 있는 實驗的 根據가 되며, 앞으로 알레르기 疾患의 治療를 위한 活用法이 계속 研究되어야

할 것으로 思料된다.

의 mRNA 量을 현저하게 減少시켰다.

V. 結 論

沈香의 항 알레르기 效果를 알아보기 위해 I 형 알레르기 反應의 典型的인 모델인 PCA反應과 肥胖細胞에 대한 脫顆粒刺戟物質인 compound 48/80 및 substance P를 利用한 항 알레르기 效果와 活性機作 糾明을 위해 HDC, TNF- α 및 PKC 遺傳子 發現을 分析하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 沈香은 受動 皮膚 아나필락시 反應을 현저하게 抑制하였다.

2. 沈香은 compound 48/80의 腹腔內 注射에 의해 誘發되는 全身性 아나필락시 속을 100% 抑制하였다.

3. 沈香의 全身性 아나필락시 속 抑制效果는 血清內 히스타민 遊離量의 抑制때문이 었다.

4. 沈香은 腹腔 肥胖細胞를 compound 48/80 및 substance P로 刺戟한 히스타민의 放出을 抑制하였다.

5. 沈香의 腹腔 肥胖細胞에서 히스타민의 放出 抑制效果는 肥胖細胞細胞膜의 安定化 效果때문이 었다.

6. 沈香은 肥胖細胞로부터의 히스타민 遊離抑制 機作을 糾明하기 위해 P-815 肥胖細胞株를 利用한 結果 HDC 活性度를 현저하게 抑制하였다.

7. 沈香의 肥胖細胞로부터의 히스타민 遊離抑制 機作을 遺傳子 水準에서 糾明하기 위해 P-815 肥胖細胞株를 利用한 結果 HDC mRNA 量을 현저하게 減少시켰다.

8. 沈香은 substance P에 의한 TNF- α 遺傳子

9. 沈香은 dexamethasone 및 TPA에 의한 PKC δ 遺傳子の mRNA를 현저하게 減少시켰다.

以上の 結果는 癩疹癢毒 皮膚癢痒 等に 使用되어 온 沈香이 I 형 알레르기 疾患에 活用될 수 있는 實驗的 根據가 되며, 앞으로 알레르기 疾患의 治療를 위한 活用法이 계속 研究되어야 할 것으로 思料된다.

참고문헌

1. 김세중: 免疫學, 서울, 고려의학, pp.260-265, 1994.
2. 丁奎萬: 알레르기와 韓方, 서울, 제일로, pp. 15-19, 1990.
3. 鄭昇杞: 알레르기疾患의 韓方療法, 서울, 大韓韓醫學會誌, 11(1): 54-91, 1990.
4. 서울대학교의과대학: 免疫學, 서울대학교출판부, pp.135-137, 193, 1989.
5. 文希柱: 基本免疫學, 서울, 大學書林, pp.133-137, 1992.
6. 吳贊鎬譯: 新免疫學入門, 서울, 지구문화사, pp. 250-253, 1995.
7. 하대유 外 번역: 그림으로 본 免疫學, 서울, 고문사, pp.279-281, 1994.
8. 鄭憲鐸 外: 免疫學入門, 서울, 고문사, pp.315-319, 337-342, 1982.
9. 金淵台譯: 最新免疫學, 서울, 集文堂, pp.367-388, 1982.
10. 김우경 外: 최근 서울지역에서의 아토피의 증가 현상: 알레르기 15: 304-310, 1995.
11. 巢元方: 諸病源候論, 臺中, 昭人出版社, pp.18-20, 1974.
12. 馮興民: 新編中藥炮制法, 陝西省, 陝西科學技術出版社, p.306, 1980.

13. 保健社會部：한약생약규격집, 서울, 일지문화사, p.138, 1984.
14. 馮洪錢：民間獸醫本草, 北京, 科學技術文獻出版社, pp.412-413, 1984.
15. 中國藥物大全編委會：中國藥物大全, 北京, 人民衛生出版社, pp.182-183, 1993.
16. 王孝濤：歷代中藥炮制法匯典, 江西, 江西科學技術出版社, pp.150-151, 1989.
17. 范崔生：中藥采集收購鑒別手冊, 江西, 江西科學技術出版社, pp.921-923, 1984.
18. 東藥醫學研究所：本草學 (韓藥調劑資格取得基本叢書 2), 서울, 여강출판사, pp. 293-294, 1994.
19. 孫安嘉, 繆細泉編著：中藥易混飲片鑒別, 黑龍江, 黑龍江科學技術出版社, p.93, 1988.
20. 張賢哲, 蔡貴花：中藥炮製學, 台中, 中國醫藥學院出版組, pp.387-389, 1984.
21. 李泰浩：鮮漢藥物學, 京城, 杏林書院, p.72-73, 1931.
22. 陶弘景：名醫別錄, 北京, 人民衛生出版社, p.64, 1986.
23. 李時珍：本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, p. 1936-1939, 1978.
24. 中等衛生學校試驗用教材中草藥學編寫組：中草藥學, 廣東, 廣東人民出版社, p.222- 223, 1984.
25. 申佶求：申氏本草學, 서울, 尙永社, p.492-494, 1973.
26. 不著僕人：增廣和劑局方藥性總論, 北京, 中醫古籍出版社, 1988.
27. 劉接寶：中藥材形態鑒別, 臺北, 立得出版社, p.149-150, 1986.
28. 江蘇新醫學院編：中藥大辭典(上), 香港, 上海科學技術出版社, pp.1170-1172, 1979.
29. 周志林：本草用法, 香港, 醫林書局, pp.530-533.
30. 上海中藥學院：中草藥學(新編中醫學教材), 香港, 商務印書館, pp.872-873, 1975.
31. 崔樹德：中藥大全, 河北, 黑龍江科學技術出版社, pp.403-404, 1989.
32. 中山醫學院：中藥臨床應用, 廣東, 廣東人民出版社, pp.233-234, 1975.
33. 陸昌洙 外：漢藥의 藥理. 成分. 臨床應用, 서울, 癸丑文化社, pp.574-576, 1982.
34. 周風梧：中草藥, 山東, 山東科學技術出版社, pp.479-480, 1981.
35. 莊兆祥, 李寧漢：香港中草藥(第一輯), 香港, 商務印書館, p.90, 1979.
36. 劉壽山：中藥研究文獻摘要, 北京, 科學出版社, pp.294-295, 1975.
37. Kim HM, Hirota S, Onoue H, Hirata T, Suzuki K, Ohno S, Kuroki T, Kitamura Y, Nomura S : Localization and developmental expression of a novel protein kinase C δ gene. Develop. Brain Res. 70 : 239-244, 1992
38. Kim HM, Hirota S, Chung HT, Onoue H, Ito A, Morii E, Hirata T, Ohno S, Osada S.I, Kitamura Y, Nomura S : PKC ν gene expression is delayed in postnatal central nervous system of mi/mi mice. J. Mol. Neuro. 4 : 245-253, 1993.
39. Jun CD, Ryu H, Um JY, Kim TY, Kim JM, Kang SS, Kim HM, Chung HT : Involvement of protein kinase C in the inhibition of nitric oxide production from murine microglial cells by glucocorticoid. Biochem. Biophys. Res. Commun. 199 : 633-638, 1994.
40. Jun CD, Choi BM, Ryu H, Um JY, Kwak HJ, Lee BS, Paik SG, Kim HM, Chung HT : Synergistic cooperation between phorbol ester and IFN- ν for incuction of nitric oxide synthesis in murine peritoneal macrophages. The J. Immunol. 153 : 3684-3690, 1994.

41. Kim HM, Hirota S, Chung HT, Ohno S, Osada S.I, Shin TK, KO KI, Kim JB, Kitamura Y, Nomura S : Differential expression of protein kinase C genes in cultured mast cells derived from normal and mast cell-deficient mice and mast cell lines. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 105 : 258-263, 1994.
42. Jun CD, Choi BM, Lee SY, Kang SS, Kim HM, Chung HT : Nitric oxide inhibits the expression of protein kinase C δ gene in the murine peritoneal macrophages. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 204 : 105-111, 1994.
43. Yun HJ, Jun CD, Kim JM, Rim GN, Kim HM, Chung HT : Phorbol ester synergistically increases IFN- γ induced nitric oxide synthesis in murine microglial cells. *Neuroimmunomodulation* 1 : 377-382, 1994.
44. Um JY, Choi BM, Kim JS, Kim HM, Chung HT : Expression of protein kinase C δ gene in germ cells. *The J. Urol.* 154 : 1237-1240, 1995.
45. Jun CD, Choi BM, Kim HM, Chung HT : Involvement of protein kinase C during taxol-induced activation of murine peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 154 : 6541-6547, 1995.
46. Patrone M, Pessino A, Passalacqua M, Sparatore B, Melloni E, Pontremoli S : Correlation between levels of delta protein kinase C and resistance to differentiation in murine erythroleukemia cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 220 : 26-30, 1996.
47. Acevedo-Duncan M, Collins J, Zhang R, Haller E, Chalfant CE, Cooper DR : In situ effects of interferon on human glioma protein kinase C-alpha and beta ultrastructural localization. *Cell Grow. Differen.* 6 : 1353-1365, 1995.
48. Kikuchi H, Imajoh-Ohmi S : Antibodies specific for proteolyzed forms of protein kinase C alpha. *Biochi. et Biophys. acta* 1269 : 253-259, 1995.
49. Gott AL, Mallon BS, Paton A, Groome N, Rumsby MG : Rat brain glial cells in primary culture and subculture contain the delta, epsilon and zeta subspecies of protein kinase C as well as the conventional subspecies. *Neuroscience Letters* 171 : 117-120, 1994.
50. Akimoto K, Mizuno K, Osada S, Hirai S, Tanuma S, Suzuki K, Ohno S : A new member of the third class in the protein kinase C family, PKC lambda, expressed dominantly in an undifferentiated mouse embryonal carcinoma cell line and also in many tissues and cells. *J. Biol. Chem.* 269 : 12677-83, 1994.
51. Turner NA, Rumsby MG, Walker JH, McMorris FA, Ball SG, Vaughan PF : A role for protein kinase C subtypes alpha and epsilon in phorbol-ester-enhanced K(+)- and carbachol-evoked noradrenaline release from the human neuro blastoma SH-SY5Y. *Biochem. J.* 297 : 407-413, 1994.
52. Takai Y, Ogawara M, Tomono Y, Moritoh C, Imajoh-Ohmi S, Tsutsumi O, Taketani Y, Inagaki M : Mitosis-specific phosphorylation of vimentin by protein kinase C coupled with reorganization of intracellular membranes. *J. Cell Biol.* 133 : 141-149, 1996.
53. Kiss Z, Crilly KS, Anderson WB : Protein kinase C inhibitors enhance the synergistic mitogenic effects of ethanolamine analogues

- and insulin in NIH 3T3 fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 220 : 125-130, 1996.
54. Tachado SD, Gerold P, McConville MJ, Baldwin T, Quilici D, Schwarz RT, Schofield L : Glycosylphosphatidylinositol toxin of Plasmodium induces nitric oxide synthase expression in macrophages and vascular endothelial cells by a protein tyrosine kinase-dependent and protein kinase C-dependent signaling pathway. *J. Immunol.* 156 : 1897-1907, 1996.
55. Carballo E, Colomer D, Vives-Corrons JL, Blackshear PJ, Gil J : Characterization and purification of a protein kinase C substrate in human B cells. Identification as lymphocyte-specific protein 1 (LSP1). *J. Immunol.* 156 : 1709-1713, 1996.
56. Schroeder GE, Kotsonis P, Musgrave IF, Majewski H : Protein kinase C involvement in maintenance and modulation of noradrenaline release in the mouse brain cortex. *Brit. J. Pharmacol.* 116 : 2757-2763, 1995.
57. Prekeris R, Mayhew MW, Cooper JB, Terrian DM : Identification and localization of an actin-binding motif that is unique to the epsilon isoform of protein kinase C and participates in the regulation of synaptic function. *J. Cell Biol.* 132:77-90, 1996.
58. Saito H, Nomura Y : Screening methods for drug evaluation 3. In : Suzuki I, Tanaka H, Yajima H, Fukuda H, Sezaki H, Koga K, Hirobe M, Nakajima T, eds. *Pharmaceutical Research and Development.* Tokyo : Hirokawa. 1989 : 22.
59. Fasset DW, Hjort AM : Some tetrahydroisoquinolones. II. Their action on blood pressure, respiration and smooth muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 63 : 253-271, 1938.
60. Hjort AM, De Beer EJ, Buck JS, Randall IC : Relative pharmacological effects of 2-alkyl-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinolone hydrochlorides. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 76 : 64-70, 1942.
61. Baltzly R, Buck Js, De Beer EJ, Webb FS : A family of long acting depressors. *J. Am. Chem. Soc.* 71 : 1301-1305, 1949.
62. Katayama S, Shionoya H, 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.
63. Shore PA, Burkhalter A, Cohn VH : A method for fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 127 : 182-186, 1959.
64. Kanemoto TJ, Kasugai T, Yamatodani A, Ushio H, Mochizuki T, Tohya K., Kimura M, Nishimura M, 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.
65. Yurt RW, Leid RW, Austin KF : Native heparin from rat peritoneal mast cells. *J. Biol. Chem.* 252 : 518-521, 1977.
66. Watanabe T, Nakamura H, Liang LY, Yamatodani a, Wada H : Partial purification and characterization of L-histidine decarboxylase from fetal rats. *Biochem. Pharmacol.* 28 : 1149-1155, 1979.
67. Yamamoto J, Yatsunami K, Ohmori E, Sugimoto Y, Fukui T, Katayama T,

- Ichikawa A : cDNA-derived amino acid sequence of L-histidine decarboxylase from mouse mastocytoma P-815 cells. FEBS 276 : 214-218, 1990.
68. Kawai H, Ohgoh M, Emoto S, Ohmori E, Imanishi N, Yatsunami K, Ichikawa A : Synergistic effects of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate and dexamethasone on de novo synthesis of histidine decarboxylase in mouse mastocytoma P-815 cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1133 : 172-178, 1992.
69. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 南山堂, pp.390-391, 1986.
70. 葉橋泉 : 現代實用中藥, 香港, 上海衛生出版社, p.163, 1957.
71. 全國中草藥滙編寫組 : 全國中草藥滙編(上冊), 北京, 人民衛生出版社, pp. 40-41, 1983.
72. 李尙仁 : 本草學, 서울, 醫藥社, pp.367-369, 1975.
73. 黃進主 : 安徽常用中藥材易混品種鑑別, 安徽, 安徽科學技術出版社, pp.123-127, 1993.
74. 李相漸 : 現代漢方藥物學, 서울, 행림서원, p.276, 1974.
75. 陳存仁 : 圖說漢方醫藥大辭典(第2卷), 東京, 講談社, p.216, 1982.
76. 小泉榮次郎 : 和漢藥考, 東京, 生生舍出版部, pp.228-233, 1977.
77. 高木敬次郎 外 : 和漢藥物學, 東京, 南山堂, p.176, 1982.
78. 中醫醫學科學院藥用植物資源開發研究所 : 中藥志(第五冊), 北京, 人民衛生出版社, pp.597-602, 1994.
79. 陸昌洙 : 韓國本草學, 서울, 癸丑文化社, p.345, 1981.
80. 鄭普燮, 辛民教 : 圖解鄉藥(生藥)大辭典(植物篇), 서울, 永林社, pp.739-740, 1990.
81. 康秉秀 外 : 本草學, 서울, 永林社, pp.356-357, 1991.
82. 康秉秀 外 : 臨床配合本草學, 서울, 永林社, pp.329-331, 1994.
83. 劉壽山 : 中藥研究文獻摘要, 北京, 科學出版社, p.345, 1979.
84. Yang JS, Wang YL, Su YL, He CH, Zheng QT, Yang J : Studies on the chemical constituents of *Aquillaria sinensis* (Lour) Gilg. III. Elucidation of the structure of isobaimuxionol and isolation and identification of the constituents of lower boiling fraction of the volatile oil. *Yao Hsueh Hsu pao*. 24(4), pp.264-268, 1989.
85. 沈保安 : 中國常用中草藥, 合肥, 安徽科學技術出版社, pp.155-156, 1992.
86. 中華民國共和國衛生部藥典委員會 : 中華民國共和國藥典一九八五年版一部, 北京, 人民衛生出版社, 化學工業出版社, p.152, 1985.
87. 中華民國共和國衛生部藥典委員會 : 中華民國共和國藥典一九九〇年版一部, 北京, 人民衛生出版社, 化學工業出版社, pp.155-156, 1990.
88. 鄭懷賢, 冉德主 : 實用傷科中藥與方劑, 四川, 四川科學技術出版社, pp.61-62, 1985.
89. 安正華 : 臨床實用中藥學, 北京, 人民衛生出版社, pp.586-587, 1984.
90. 山東省人民醫院 : 實用藥物手冊, 山東科學技術出版社, p.583, 1981.
91. 張顯臣, 張靖華 : 中藥精華, 合肥, 安徽科學技術出版社, p.185, 1990.
92. 唐慎微 : 經史證類大觀本草, 서울, 崇文社, pp.351-352, 1976.
93. 吳儀洛 : 增註本草從新, 臺北, 文化圖書公社, pp.111-112, 1968.
94. 王岳宝 外 : 福建省中藥炮制規範, 福建, 福建科學技術出版社, p.255, 1988.
95. 姚瀾撰 : 本草分經, 上海, 上海科學技術出版社, pp. 152-153, 1989.

96. 安正華：中藥學，貴州，貴州人民出版社，pp.289-290, 1990.
97. 醫學研究會：增補本草備要，서울，고문사，pp. 130-131, 1974.
98. 時逸人：中國藥物學，臺北，裕昌德書店，pp. 103-104, 1960.
99. 周永標：沈香對腸平滑肌的藥理作用，廣州，中藥通報30(6)：40-42, 1988.
100. 常敏毅：抗癌本草，長沙，湖南科學技術出版社，pp.150-151, 1987.
101. Cox JSG：Disodium cromoglycate (FPL 670) ('Intal')：a specific inhibitor of reaginic antibody-antigen mechanisms. *Nature* 216：1328-1329, 1967.
102. Thomson DS, Evans DP：Inhibition of immediate hypersensitivity reactions by disodium cromoglycate. Requirements for activity in two laboratory models. *Clin. Exp. Immunol.* 13：537-544, 1973.
103. Assem ESK, Mongar JL：Inhibition of allergic reactions in man and other species by cromoglycate. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 38：68-77, 1970.
104. Segi-Eisenberg R, Foreman JC, Shelly R：Histamine release induced by histone and phorbol ester from rat peritoneal mast cell. *Eur. J. Pharmacol.* 113：11-17, 1985.
105. White KN, Metzger H：Translocation of protein kinase C in rat basophilic leukemia cells induced by phorbol ester or by aggregation of Ige receptors. *J. Immunol.* 141：942, 947, 1988.
106. Young S, Parker PJ, Ullrich A, Stabel S：down regulation of protein kinase C is due to and increased rate of degradation. *Biochem. J.* 244：775-779, 1987.
107. Segi-Eisenberg R, Lieman H, Pecht I：Protein kinase C regulation of the receptor-coupled calcium signal in histamine-secreting rat basophilic leukaemia cells. *Nature*：59-60, 1985.
108. Imanishi N, Kawai H, Hayashi Y, Yatsunami K, Ichikawa A：Effects of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on dexamethasone-induced changes in histamine synthesis of mouse mast rocytoma P-815 cells and in histamine release from rat peritoneal mast cells. *Biochem. Pharmacol.* 122：152-159, 1979.
109. Angel P, Imagawa M, Chiu R, Stein B, Imbra RJ, Rahmodorf HJ, Jonat C, Herrlich P, Karin M：Phorbol ester-inducible genes contain a common cis element recognized by a TPA-modulated trans-acting factor. *Cell* 49：729-739, 1987.
110. Beato M：Gene regulation by steroid hormones. *Cell* 56：335-344, 1989.
111. Karin M, Haslinger A, Holterve. H, Richards RI, Krautet P, Westphal HM, Beato M：Characterization of DNA sequences through which cadmium and glucocorticoid hormones induce humon metallothionein-IIA gene. *Nature* 308：513-519, 1984.
112. Miesfeld R, Godowski PJ, Malter BA, Yamamoto KR：Glucocorticoid receptor mutants that define a small region sufficient for enhancer activation. *Science* 236：423-427, 1987.
113. Kido H., Fukusen N, Ishidoh K, Katsunuma N：Diacylglycerol amplifies the induction in vivo of tyrosine aminotransferase and ornithine decarboxylase by glucocorticoid. *Biochem. Biophys. Res.*

- Commun. 138 : 275-282, 1986.
114. Kido H, Jukusen N, Katsunuma N : Tumor-promoting phorbol ester amplifies the inductions of tyrosine aminotransferase and ornithine decarboxylase by glucocorticoid. *Biochemistry* 26 : 2349-2353, 1987.
 115. Katsunuma N, Kido H : Studies on biomodulators of glucocorticoid actions; the nature and the modes of actions of glucocorticoid potency amplifiers. *Adv. Enzyme Regul.* 26 : 191-208, 1987.
 116. Jonat C, Rahmsdorf HJ, Park KK, Cato ACB, Gebel S, Ponta H, Herrlich P : Antitumor promotion and antiinflammation : down-modulation of AP-1 (Fos/Jun) activity by glucocorticoid hormone. *Cell* 62 : 1189-1204, 1990.
 117. Yang · Yen HF, Chambard JC, Sun YL, Smeal T, Schmidt TJ, Drouin J, Karin M : Transcriptional interference between c-Jun and the glucocorticoid receptor : mutual inhibition of DNA binding due to direct protein-protein interaction. *Cell* 62 : 1205-1215, 1990.
 118. Schule R, Rangarajan P, Kliewer S, Ransone LJ, Bolado J, Yang N, Verma IM, Evans RM : Functional antagonism between oncoprotein c-Jun and the glucocorticoid receptor. *Cell* 62 : 1217-1226, 1990.
 119. Diamond MI, Miner JN, Yoshinaga SK, Yamamoto KR : Transcription factor interactions : selectors of positive or negative regulation from a single DNA element. *Science* 249 : 1266-1272, 1990.
 120. Plaut M, Pierce JH, Watson CJ, Hanley-Hyde J, Nordon RP, Paul WE : Mast cell lines produce lymphokines in response to cross linkage of FcεRI or calcium ionophores. *Nature* 339 : 64-67, 1989.
 121. Burd PR, Rogers HW, Gordon JR, Martin CA, Jayaraman S, Wilson SD, Dvorak AM, Galli SJ, Dorf ME : Interleukin 3-dependent and independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J. Exp. Med.* 170 : 245-257, 1989.
 122. Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, Whitaker d, Murphy GF : Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor α which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 : 4220-4228, 1991.
 123. Beutler B, Cerami A : The common mediator of shock, cachexia and tumor necrosis. *Adv. Immunol.* 42 : 213-231, 1988.
 124. Beutler B, Cerami A : Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biologic coin. *Nature* 320 : 584-588, 1986.
 125. Goeddel DV, Aggarwal BB, Gray PW, Leung DW, Nedwin GE, Palladino MA, Patton JS, Pennica D, Shepard HSm, Sugarman BJ, Wong G : Tumor necrosis factors : gene structure and biological activities. *Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51 : 597-609, 1986.
 126. Brown J, Perry P, Hefeneider SH, Ansel JC : Neuropeptide modulation of keratinocyte cytokine production. In : Oppenheim J, Powanda M, Kruger MJ, Dinarello C, eds, *Molecular and Cellular Biology of Cytokines*. New York :

Wiley-Liss, 1990 : p. 451.

127. Kimball ES, Persico FJ, Vaught JL : substance P, neurokinin A, and neurokinin B induce generation of IL-1 like activity in P388D1 cells. *J. Immunol.* 141 : 3564-3569, 1988.
128. Lotz M, Vaughan JH, Carson DA : Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. *Science* 241 : 1218-1221, 1988.
129. Payan DG, Brewster DR, Goetz EJ : Specific stimulation of human T lymphocytes by substance P. *J. Immunol.* 131 : 1613-1615, 1983.
130. Payan DG, Levine JD, Goetzl EJ : Modulation of immunity and hypersensitivity by sensory neuropeptides. *J. Immunol.* 132 : 1601-1604, 1984.
131. Ebertz JM, Hirschman CA, Kettlekamp NS, Uno H, Hanifin JM : substance P induced histamine release in human cutaneous mast cells. *J. Invest. Dermatol.* 88 : 682-685, 1987.
132. Marsden PA, Brenner BM : Transcriptional regulation of the endothelin-1 gene by TNF- α . *Am. J. Physiol.* 262 : C854-C861, 1992.
133. Dayer JM, Beutler B, Cerami A : Cachectin /tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J. Exp. Med.* 162 : 2163-2168, 1985.