

## 알레르기반응에 대한 枳實과 枳殼의 효과 비교 연구

엄용대, 김대한, 정종길<sup>1)</sup>, 신민교, 송호준

원광대학교 한의과대학 본초학교실, 동신대학교 한의과대학 방제학교실<sup>2)</sup>

### The Comparative Study of *Fructus Immaturus Ponciri* and *Fructus Ponciri* Effect on Allergic Reaction

Yong-Dea Aeom, Dae-Han Kim, Jong-Gil Jeong<sup>1)</sup>, Min-kyo Shin, Ho-Joon Song

Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University  
Department of Prescription, College of Oriental Medicine, Dongshin University<sup>2)</sup>

**Objective :** To investigate the effect between *Fructus Immaturus Ponciri* (FIP, the immature fruit of *Poncirus trifoliata*) and *Fructus Ponciri* (FP, the ripe fruit of *Poncirus trifoliata*) on mast cell-mediated immediate-type allergic reactions.

**Methods :** We performed anaphylactic reaction, histamine release, cAMP, TNF- $\alpha$ , IgE.

**Results :** The aqueous extract of FIP dose-dependently inhibited systemic and local allergic reaction was induced by compound 48/80 or anti-dinitrophenyl (DNP) IgE in a murine model. FIP also significantly inhibited mast cell-dependent ear swelling response induced by topical application of compound 48/80. When mice were orally pretreated with FIP, the plasma histamine levels were reduced in a dose-dependent manner. FIP dose-dependently inhibited histamine release from the rat peritoneal mast cells (RPMCs) was activated by compound 48/80 or anti-DNP IgE. The level of cAMP in RPMCs, when FIP was added, increased compared with that of a normal or control. In addition, FIP had a significant inhibitory effect on anti-DNP IgE-induced tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production from the RPMCs and IgE produced by lipopolysaccharide-stimulated murine whole spleen cells or U266B1 as human IgE-bearing B cells. However, FP showed the lower inhibition rate than those of FIP in above all allergic reactions.

**Conclusion :** These data have important implications for our understanding of the clinical effects of FIP and FP on allergic diseases, and FIP is more effective than FP on the allergic reaction. (*J Korean Oriental Med* 2001;22(4):10-21)

**Key Words:** compound 48/80, mast cell, histamine, IgE, TNF- $\alpha$ , cAMP

## 서 론

알레르기란 개체가 어떤 항원에 의해 면역된 다음 그 항원이 재차 도입되면 정상적인 개체보다 과민한 반응을 보여서 조직손상을 일으키는 현상으로 過敏免疫反應을 말한다<sup>1,2)</sup>. 알레르기에는 수분 내지 수시간 내에 일어나는 즉각형과 1-2일 후에 나타나는 지연형으로 나눌수 있으며, 발생기전에 따라 즉각형은 체액성면역이 관여하는 것으로 제 I-III형으로 분류

· 접수 : 2001년 7월 5일 · 채택 : 8월 10일  
· 교신저자 : 송호준, 전북 익산시 원광대학교 한의과대학 본초학교실  
(Tel. 063-850-6844, Fax. 063-856-2283, E-mail: songhj@wonkwang.ac.kr)  
· 이 논문은 1999년도 원광대학교 주산학술연구재단자원에 의해서 수행되었음.

되며 지연형은 세포성면역이 관여하는 것으로 제 IV형으로 나눈다<sup>2)</sup>. 그중 제 I형 알레르기는 비반세포 등의 탈과립현상 유발에 의한 아나필락시스를 일으키거나, 두드러기, 기관지천식, 알레르기성 비염등의 질환을 일으킨다<sup>3)</sup>. 특히 제 I형 알레르기의 하나인 아나필락시는 무방어란 뜻으로 항원자극에 의하여 감각된 생체가 일정기간 후에 동일한 항원과 접촉했을 때 수십분내에 급격한 증상을 나타내는 반응이다<sup>4)</sup>. 근년, 전세계적으로 알레르기 질환의 증가가 보고되고 있는 가운데 미국의 경우 1993년 통계에 의하면 전국민의 20%이상, 2000년경에는 30%에 달할 것으로 추정하고 있으며 또한 우리 나라 에서도 건강한 서울시민을 대상으로 조사 한 알레르기 소인율이 41%나 된다고 보고하고<sup>5)</sup> 있어 알레르기 질환이 급증하고 있는 추세로 이러한 알레르기 질환은 산업사회의 발달과 함께 가공식품의 선호와 환경오염, 생활습관 및 기후변화 등 여러 요인에 따른 것으로 알려져 있다.

알레르기 환자는 서양의학의 경우 주로 항히스타민제 투여로 그 증상을 일시적으로 완화시키는 치료에만 의존하고 있으며 더욱 장기투여의 경우 증상의 호전보다 부작용이 적지 않아 난치병의 하나로 분류되기도 한다.

그러나 한약은 여러 가지 형태의 알레르기 질환에 대하여 치료할 수 있는 성분을 가지고 있다고 보며 단일약재의 약리작용이 있음은 물론 배합하는 약물에 따라 상승효과와 함께 서로 다른 형태의 효과를 가질 수가 있다고 본다. 이러한 점에서 한약에 의한 새로운 항 알레르기 약물의 개발이나 치료에 대한 연구가 절실하게 요구되고 있는 실정이다.

枳實은 운향과(산초과 : Rutaceae)에 속한 落葉 혹은 常綠喬木인 탕자나무(*Poncirus trifoliata* (L.) RAF. (= *Citrus trifoliata* L.) 및 광귤나무(*Citrus aurantium* L.)와 동속 근연식물의 未成熟한 幼果를 말하며 枳殼은 枳實과 그 起源은 같은데, 다만 成熟한 果實을 말한다<sup>6)</sup>. 枳實은 『神農本草經』<sup>7)</sup>에 “主大風在皮膚中, 如麻豆苦痒…”이라 하여 처음으로 기록되었고, 枳殼은

『雷公炮炙論』<sup>8)</sup>에 “凡使, 勿使枳實, 緣性效不同…”이라고 기록된 후부터 枳實과 枳殼이 구분되었다. 枳實의 性味는 苦辛·寒하며<sup>6,9)</sup> 破氣行痰, 散積消痞, 下氣通便등의 효능으로 胸腹脹滿, 胸痞, 食積停滯, 腹痛便秘, 裏急後重, 水腫, 胃下垂, 子宮下垂, 脫肛, 胃腸病으로 야기된 皮膚疾患, 皮膚瘙癢症, anaphylatic shock 등을 치료하는데<sup>6,9-11)</sup> 사용되어 왔다. 또한 枳殼의 性味는 苦酸辛·微寒하고<sup>6,9-11)</sup> 破氣行痰, 消積등의 효능으로 胸膈痰滯, 胸痞, 食積, 噯氣, 嘔逆, 下裏後重, 脫肛, 子宮脫垂, 遍身風疹, 皮膚瘙癢 等症에<sup>6,9-11,15)</sup> 응용되어 왔다. 이상과 같이 枳實과 枳殼은 性味, 效能, 主治症 등이 비슷하지만 그 열매의 성숙 상태에 따라 채취 시기가 다르며, 또한 寇<sup>16)</sup>는 枳實과 枳殼이 그 열매의 크기에 따라 작은 것은 그 약 성질이 혹독하면서 빠르고 큰 것은 일반적으로 완만하다고 구분한바 있다.

그러나 일반적으로 민간요법<sup>17)</sup>에서 두드러기, 피부소양 等症에 열매의 성숙상태에 따라 특별한 구분 없이 탕자나무 열매를 달여 마셔서 효과를 보는 정도이므로 알레르기질환의 효과적인 치료를 위하여 명확하게 구분하여 사용할 필요가 있다고 본다.

이에 저자는 그 동안 枳實에 대해서는 실험적 연구가<sup>18-20)</sup> 활발하게 진행되었지만 枳殼을 이용한 알레르기의 실험적 연구는 보고된바 없어 비면역학적 및 면역학적 방법으로 유도되는 다양한 알레르기반응에 대하여 枳實과 枳殼의 효과를 실험적으로 비교한 결과, 본 연구에 사용한 모든 실험모델에서 枳殼보다 枳實에서 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고 하고자 한다.

## 실 험

### 1. 재료

#### 1) 시약

Compound 48/80, 항 dinitrophenyl (DNP) IgE, DNP-human serum albumin (HSA), metrizamide 와 lipopolysaccharide (LPS)는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서, RPMI 1640은 Flow Laboratories (Irvine, UK)에서, Fetal calf serum (FCS)

은 Life Technologies (Grand Island, NY, USA)에서, Recombinant tumor necrosis factor- (rTNF- ) ( $1 \times 10^5$  U/ml)와 항 TNF- 항체는 Genzyme (Munchen, Germany)에서, 재조합 IL-4는 R & D systems, Inc. (Minneapolis, MN)에서, 재조합 IgE, 항 IgE 항체 및 biotinylated 항 IgE는 PharMingen (SanDiego, CA)에서, Phosphatase 표식 항 IgG는 Serotec (Oxford, England)에서 각각 구입하였다.

2) 동물

실험동물로는 Balb/c( $20 \pm 2g$ /BodyWeight)계 생쥐와 Wistar( $180 \pm 10g$ / BodyWeight)계 흰쥐를 대한 실험동물센터 (음성, 충북)에서 구입하여 실험에 사용하였다.

3) 약물

枳實은 1999년 5월 지름이 2cm 크기의 미숙한 것을 枳殼은 1999년 10월 지름이 4cm 크기의 완숙한 것을 전북 익산에서 채취하여 원광대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선한 후 각각 300g을 취하여 증류수 3000ml에 넣고 수욕상에서 3시간 동안 추출한 다음 0.45 m여과기로 여과한 후 여액을 동결 건조하여 분말상태의 추출물을 얻었다(수율; 각각 약 11%). 추출물은 생리식염수 와 Tyrode buffer A (10 mM HEPES, 130 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.4 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 5.6 mM glucose, 0.1% bovine serum albumin)에 용해시킨 다음 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) Compound 48/80에 의한 전신성 즉각형 알레르기 반응

각 추출물을 compound 48/80 (8 mg/Kg) 투여하기 60 분전, 5 분후 및 10 분후에 복강내에 주사하였다.

치사율은 즉각형 알레르기 반응을 유발시킨 후 60 분동안 관찰하여 결정하였다. 동일 방법으로 실험하여 심장에서 혈액을 채취해 혈장으로부터 히스타민을 정량<sup>21)</sup>하였다.

2) 수동 피부 즉각형 알레르기 실험

(PCA: Passive Cutaneous Anaphylaxis)

IgE 의존적 피부반응인 수동 피부 즉각형 알레르기 실험은 피부에 anti-DNP IgE (100 g)를 피내 주사한 48 시간 후에 흰쥐의 꼬리 정맥에 DNP-HSA (1 mg)와 4% evans blue (1:4)를 주사하여 유도하였다. 약 30 분 후에 흰쥐를 마취시킨 후 피내 주사한 피부를 절개하여 염색된 부위의 evans blue 양을 측정<sup>22)</sup>하였다.

3) Compound 48/80에 의한 Ear swelling 반응

Ear swelling 반응은 compound 48/80과 대조군인 생리식염수 도포 전·후에 약물을 도포하여 Ear swelling 정도를 Digimatic micrometer를 이용하여 귀의 두께를 측정하여 결정하였다.

4) 히스타민 정량

세포배양 상층액 혹은 혈장 중에 있는 히스타민의 정량은 Shore 등<sup>23)</sup>의 방법으로 하였다. 즉 에펜돌프 튜브에 시료 500 μl를 넣고 0.1 N-HCl, 60% 과염소산 용액 50 μl를 넣고 혼합 후 원심분리 (1,500 rpm, 20 min)하여 그 상층액 800μl를 5 N-NaOH 용액 500μl, 0.4N-perchloric acid 3 ml, n-Butanol 10 ml 및 NaCl 1.2 g을 혼합한 시험관에 넣고 진탕 후 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하였다. Butanol층 8 ml를 50 ml 시험관에 넣고 0.1 N-HCl 용액 3 ml, n-Heptane 10 ml를 가하여 진탕 후 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하였다. 여기에서 얻어진 수층 2ml에 1 N-NaOH 용액 400μl와 1% o-Phthaldialdehyde 용액 100 μl를 넣고 수욕상 (37℃)에서 3 분동안 반응시킨다음, 3 N-HCl 용액 200 μl를 넣고 혼합 후 2분동안 방치하여 spectrofluorometer (Kontron, Germany, ex=360 nm, em=440 nm)로 형광도를 측정하였다.

히스타민 유리 억제율(%)은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{억제율}(\%) = (\text{약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민양} - \text{약물을 부가하였을 때의 히스타민양}) \times 100 / \text{약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민 양}$$

5) 복강 비반세포 분리

Kim 등<sup>23)</sup>의 방법에 따라 흰쥐 복강 비반세포를 분리하였다. 즉 흰쥐를 에테르로 마취시킨 후 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B (NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, glucose) 약 20 ml를 복강내에 주입하고 1 분간 복벽을 조심스럽게 맞사지한 후 복벽 중앙선을 절개하여 복강세포를 함유한 세척액을 파스퇴르 피펫으로 조심스럽게 채취하였다. 복강세포를 150×g로 10 분간씩 3회 반복하여 원침시킨 후 상층 부유액을 버리고 동일 Tyrode buffer B로 재부유시켰다. 이 세포부유액중 비반세포는 22.5% w/v metrizamide를 이용하여 Yurt 등<sup>24)</sup>의 방법으로 분리 정제하였다.

6) cAMP 측정

cAMP 수준은 Peachell 등<sup>25)</sup>의 방법에 따라 아래와 같이 측정하였다. 즉 순수 분리한 복강비반세포를 미리 37℃에서 가온시킨 Tyrode 완충액 A에 부유한 다음 에펜돌프튜브에 5×10<sup>5</sup> cell씩 일정하게 나누어 약물을 처리하였다. 반응은 지정한 시간 간격으로 진행시키고, 짧고 강하게 vortex한 다음 산성화 에탄올 (86% ethanol/1 M HCl의 0.9 ml, 99:1)을 가하여 반응을 종료시킨 후 액체질소로 순간 냉동시켰다. 시료를 vortex한 다음 speed vaccum evaporator에서 건조시켰다. 건조한 시료에 측정용 완충액 (150 - 200 μl)을 넣고 냉동 보관하였다. cAMP 수준은 Amersham International Plc.의 kit를 이용하여 효소면역측정법으로 결정하였다.

7) TNF-α 생성 정량

복강비반세포의 배양액내 분비된 TNF-α의 측정은 Scuderi 등<sup>26)</sup>이 기술한 방법을 다소 수정하여 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)로 실시하였다. 즉, anti-murine TNF-α capture mAb는 flat-bottomed 96-well plate (Corning, Rochester, NY)에 coating buffer (0.02% sodium azide를 함유한 PBS, pH = 7.2)를 이용하여 각 well당 최종농도 6.25 ng으로 처리한후 4℃에서 12시간동안 코팅하였다. 코팅후,

비특이적 결합부위를 막기 위하여 2% BSA를 함유한 PBS로 구성된 blocking buffer를 첨가하여 37℃에서 2시간동안 blocking하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 조성된 washing buffer로 4회 세척 후 recombinant mouse TNF-α 표준액과 각 sample의 배양상등액을 각 well에 100 l씩 가하여 37℃에서 2시간동안 배양하였다. 다시 0.05% Tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척후 rabbit anti-murine TNF-α를 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 7.8 ng/ml 농도로 희석한후 well에 처리하여 37℃에서 2시간동안 배양하였다. 다시 washing buffer로 7회 세척후 phosphatase 가 결합된 goat anti-rabbit IgG (Sigma Co.)를 100 ng/ml 농도로 각 well에 처리한 다음 37℃에서 2시간 배양한후 7회 세척하였다. 마지막 세척 후 0.05 M NaHCO<sub>3</sub>와 0.05 mM MgCl<sub>2</sub>로 조성된 buffer에 용해시킨 p-nitro phenyl phosphate (PNPP) 발색제를 100 μl씩 각 well에 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader(Molecular Device, USA)를 이용하여 405 nm 파장에서 TNF-α의 양을 측정하였다.

8) IgE의 정량

비장세포 및 U266B1 세포를 RPMI 1640과 10% FCS로 배양하여 각 실험 조건에서 생성되는 IgE를 Ohmori 등<sup>27)</sup>의 방법을 변형한 ELISA를 실시하였다.

9) 통계학적 분석

모든 결과는 means ± S.E.로 나타내었으며, 통계학적 분석은 Tukey's test에 의한 ANOVA 방법으로 행하였다. 유의성 검증은 P < 0.01로 하였다.

성 적

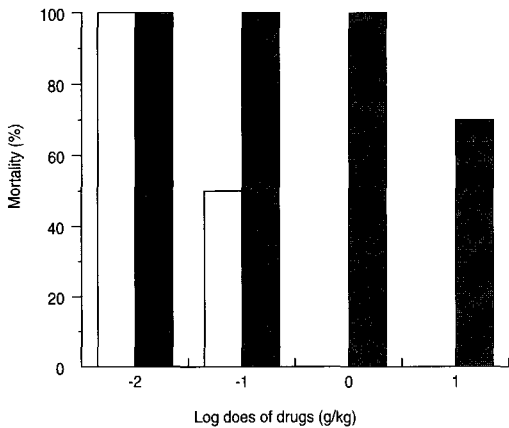
1. 전신성 즉각형 알레르기반응에 있어서 枳實과 枳殼의 효과 비교

전신성 즉각형 알레르기 반응에 대한 치사율은 compound 48/80 (8 mg/kg)을 생쥐의 복강내 주사한 다음 1시간동안 관찰하여 결정하였다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 대조군으로 200 μl의 생리식염수를 주

**Table 1.** Time-dependent Effect of FIP or FP on Compound 48/80- Induced Anaphylactic Reaction

Treatment	Dose Compound 48/80		Mortality(%)		
	(1g/Kg)	(8mg/Kg)	1 hr before	5 min after	10 min after
None(Saline)	-	+	100	100	100
FIP	+	+	0	0	30
	+	-	0	0	0
FP	+	+	70	90	100
	+	-		0	0

Groups of mice (n=10/group) were intraperitoneally(i.p.) pretreated with 200 $\mu$ l saline. FIP or FP was given 1 g/kg 1 h before, 5 min after or 10 min after compound 48/80 injection. The compound 48/80 solution was i.p. given to the group of mice. Mortality (%) within 1 h following compound 48/80 injection was represented as no. of the dead mice  $\times$  100 /total no. of experimental mice. Each datum represents the mean  $\pm$  SE of three independent experiments.

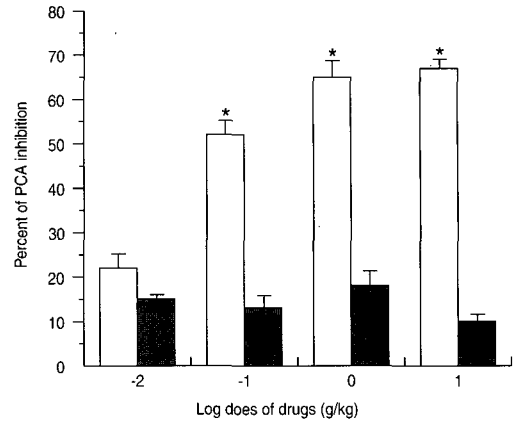


**Fig. 1.** Effect of FIP or FP on compound 48/80-induced systemic anaphylactic reaction.

Groups of mice (n=10/group) were p.o. pretreated with 200 $\mu$ l saline or FIP (□) or FP (■) at various doses 1 hr before (n = 10/group) the i.p. injection of compound 48/80. The compound 48/80 solution was i.p. given to the group of mice. Mortality (%) within 1 hr following compound 48/80 injection was represented as No. of the dead mice 100/total No. of experimental mice. Each datum represents the mean  $\pm$  SE of three independent experiments.

\*P < 0.01; significantly different from control value.

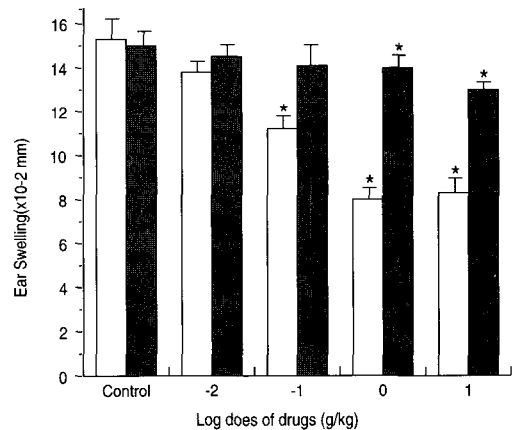
사한 다음 compound 48/80의 주사에 의해 치명적인 속 반응이 일어나 100% 치사율을 나타냈다. 그러나 枳實과 枳殼 (0.01 - 10 g/kg)을 compound 48/80 투여 1시간 전에 체중별 농도 환산에 의해 경구투여 했을



**Fig. 2.** Effect of FIP or FP after the 48-hr PCA in rats(n= 10/group). FIP (□) or FP (■) was administered p.o. 1 hr prior to the challenge with antigen. All values are expressed as a percentage of the control.

Each datum represents the mean  $\pm$  SE of five independent experiments.

\*P < 0.01; significantly different from control value.



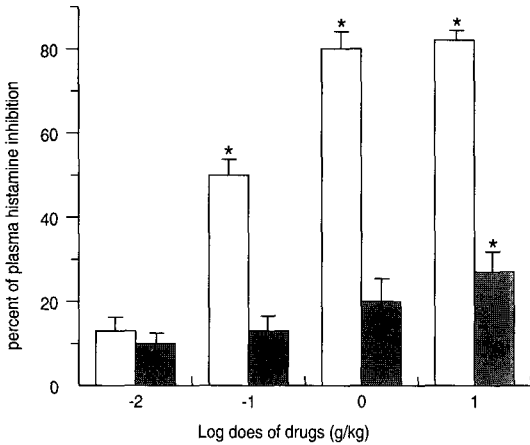
**Fig. 3.** Effect of FIP or FP on compound 48/80-induced ear swelling response in mice.

Ten microliters of compound 48/80(200  $\mu$ g/site) were applied topically mice ears. The ear skins were treated with the indicated concentrations of FIP (□) or FP (■) for 30 min and then stimulated with compound 48/80.

Each datum represents the mean  $\pm$  SE of nine independent experiments.

\*P < 0.01; significantly different from control value.

때 枳實의 경우 compound 48/80에 의한 치사율이 용량 의존적으로 감소하였다. 특히 枳實은 1, 10g/kg의



**Fig. 4.** Effect of FIP or FP on compound 48/80-induced plasma histamine release. Groups of mice (n = 10/group) were p.o. pretreated with 200 l saline or FIP (□) or FP (■) (at various doses) 1 hr before the compound 48/80 injection. All values are expressed as a percentage of the control. Each datum represents the mean ± SE of five independent experiments. \*P < 0.01; significantly different from control value.

용량에서 compound 48/80에 의한 치사율이 0%이었다. 枳實과 枳殼 (1g/kg)을 compound 48/80 투여 5분, 10분 후에 투여했을 때 생쥐의 치사율은 枳殼의 경우 시간 의존적으로 증가하였다 (Table 1). 즉, 枳殼보다 枳實을 투여했을 때의 치사율이 현저히 낮았다.

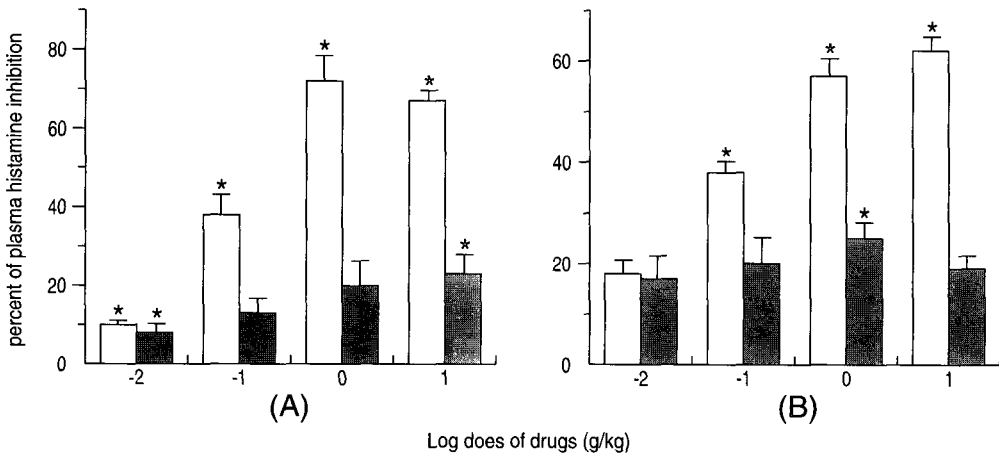
2. 국소적 즉각형 알레르기반응에 있어서 枳實과 枳殼의 효과 비교

생체내 국소 알레르기반응에 미치는 枳實과 枳殼의 효과를 실험하기 위하여 전형적인 수동 피부 즉

**Table 2.** Effect of FIP or FP on Compound 48/80-Induced cAMP Content in RPMCs

Treatment	Dose (1 g/L)	Compound 48/80 (5 g/L)	cAMP (pmol/2 × 10 <sup>6</sup> cells)
None (Normal)	-	-	21 ± 6
None (Control)	-	+	8 ± 7
FIP	+	-	62 ± 13*
	+	+	39 ± 11*
FP	+	-	29 ± 10
	+	+	26 ± 11

Each datum represents the mean ± SE of three independent experiments. \*P < 0.01; significantly different from the saline value.



**Fig. 5.** Effect of FIP or FP on compound 48/80-induced (A) or IgE-mediated (B) histamine release from RPMCs. RPMCs (2 × 10<sup>6</sup> cells/ml) were preincubated with FIP (□) or FP (■) at 37°C for 10 min prior to incubation with compound 48/80 or DNP-HSA. All values are expressed as a percentage of the control. Each datum represents the mean ± SE of five independent experiments. \*P < 0.01; significantly different from control value.

각형 알레르기반응 실험동물 모델을 이용하였다. 수동 피부 즉각형 알레르기반응은 비반세포 표면에 존재하는 IgE 수용체(FcεRI)에 결합하는 특이 IgE 항체를 생체 국소에 수동적으로 투여한 다음 항원을 주사하여 일으키는 피부반응이다. 따라서 동일한 실험 조건에서 枳實과 枳殼의 억제효과를 비교 분석하기 위하여 동일한 조건의 실험동물인 흰쥐에 생리식염수를 주사하여 대조군으로 하였다. 항체 주사 48시간 후에 항원인 DNP-HSA 및 evans blue 색소를 꼬리 정

맥에 주사하여 색소의 국소 누출을 정량하여 비교하였다. 枳實과 枳殼은 항원으로 유도하기 1시간 전에 경구투여하여 누출된 색소를 정량한바 Fig. 2에 나타난 바와 같다. 枳實의 경우 0.1-10g/kg에서 현저한 억제율( $P < 0.01$ )을 나타냈으나, 枳殼의 경우에는 유의성있게 억제시키지 못했다.

**Table 3.** Effect of FIP or FP on IgE-Mediated TNF- $\alpha$  Production

Treatment	Dose (1 g/L)	Anti-DNP IgE+ DNP-HSA	TNF- $\alpha$ production (ng/ml)
None(Normal)	-	-	0.25 $\pm$ 0.03
None(Control)	-	+	1.12 $\pm$ 0.12
FIP	+	-	0.31 $\pm$ 0.04
	+	+	0.78 $\pm$ 0.09*
FP	+	-	0.26 $\pm$ 0.03
	+	+	0.95 $\pm$ 0.14

RPMCs (106 cells/ml) was sensitized with anti-DNP IgE (1 g/ml) and incubated for 6 h in the absence or presence of FIP or FP before the challenge with DNP-HSA (0.1 g/ml). The content of TNF- $\alpha$  release into the medium is presented as the mean  $\pm$  SE of three independent experiments from RPMCs.

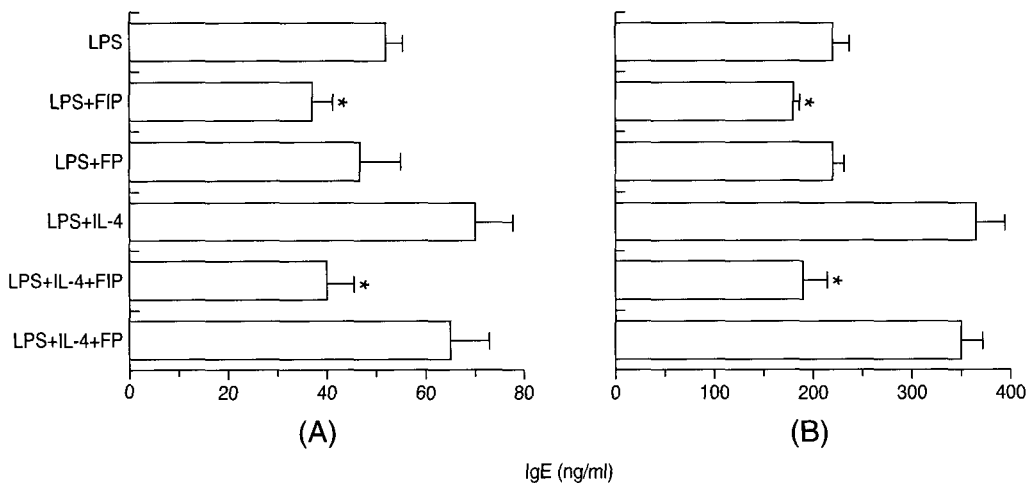
\* $P < 0.01$ ; significantly different from both saline values.

3. Compound 48/80에 의해 유도되는 ear swelling 반응에 있어서 枳實과 枳殼의 효과 비교

다음은 compound 48/80을 생쥐의 귀에 도포했을 때 국소에 존재하는 비반세포의 활성화에 의해 일어나는 ear swelling 반응을 통하여 枳實과 枳殼의 효과를 비교 분석하였다. Compound 48/80을 피부에 도포하기 30분 전에 이들 약물을 농도별로 각각 1회 도포하여 실험한 결과 Fig. 3과 같은 결과를 얻었다. Ear swelling 반응모델에서도 枳實이 枳殼보다 억제 효과가 더 좋았다.

4. 혈장중 히스타민의 유리에 있어서 枳實과 枳殼의 효과 비교

compound 48/80 투여에 의한 혈장중 히스타민의 유리에 대하여 枳實과 枳殼의 효능을 비교 실험하였다.



**Fig. 6.** Effect of FIP or FP on IgE production from whole spleen cells (A) or U266B1 cells (B). Whole spleen cells ( $2 \times 10^6$  cells/ml) or U266B1 cells ( $2 \times 10^6$  cells/ml) were incubated with FIP(1g/L) or FP(1g/L) under the various conditions for 7 days. The culture supernatants were assayed for IgE concentrations by ELISA. Each datum represents the mean  $\pm$  SE of three independent experiments. \* $P < 0.01$ ; significantly different from control value.

Compound 48/80을 투여하기 1시간 전에 枳實과 枳殼 (0.01-10g/kg)을 복강내에 주사하였다.

Compound 48/80을 주사한 15분 후에 생쥐의 심장에서부터 혈액을 채취하여 혈장을 분리하였다.

枳實과 枳殼은 농도 의존적으로 혈장 내 히스타민의 방출을 억제시켰다 (Fig. 4). 특히 枳實 0.1-10 g/kg에서 그 효과가 현저하였다 ( $P < 0.01$ ).

#### 5. 흰쥐 복강 비만세포로부터 히스타민 유리에 있어서 枳實과 枳殼의 효과 비교

이번에는 더욱 상세하게 枳實과 枳殼의 효과를 알아보기 위해 복강에 있는 비만세포를 분리하여 생체내 실험에 사용한 비만세포 탈과립 물질인 compound 48/80과 IgE 수용체 응집에 의한 히스타민의 유리 조건에서 생체외 실험으로 확인하고자 하였다. 분리한 복강 비만세포에 枳實과 枳殼추출물을 첨가한 10분 후에 compound 48/80 또는 IgE 항체를 처리한 다음 DNP-HSA로 야기하여 히스타민의 유리량을 측정하였다.

전반적으로 枳殼보다 枳實 (0.01 - 10g/L)이 compound 48/80 유도성 및 IgE 매개성 히스타민 방출을 현저하게 억제하였다 (Fig. 5). 특히 枳實은 0.1-10g/L 농도에서 현저한 억제율을 나타냈다. 枳殼의 경우 compound 48/80으로 자극했을 때는 10 g/L, IgE로 자극했을 때는 1 g/L에서 유의성있는 억제율을 나타냈다

#### 6. 흰쥐 복강 비만세포내 cAMP 수준에 있어서 枳實과 枳殼의 효과 비교

다음은 枳實과 枳殼이 흰쥐 복강 비만세포로부터 히스타민의 방출을 억제하는 기작을 규명하기 위하여 세포내 cAMP 수준을 분석하였다.

枳實의 추출물을 첨가하여 흰쥐 복강 비만세포를 배양했을 때, 세포내 cAMP 함량이 현저하게 증가하였다 (Table 2). 그러나 枳殼 처리에 의해서는 거의 변화가 없었다.

#### 7. 활성화된 비만세포로부터 TNF- $\alpha$ 분비에 있어서

#### 枳實과 枳殼의 효과 비교

염증성 세포활성물질로 알려진 TNF- $\alpha$ 의 분비에 미치는 영향을 알아 보고자 복강 비만세포를 이용하여 실험하였다. 흰쥐 복강 비만세포를 항 DNP IgE로 감작시켜 활성화시켰으며 DNP-HSA로 비만세포를 자극하기 6시간 전에 枳實과 枳殼을 첨가하였다. 그 결과 枳實 (1 g/L)은 복강 비만세포로부터 IgE 매개성 TNF- $\alpha$  생성을 현저히 억제시켰다 (Table 3).

#### 8. IgE 생성에 있어서 枳實과 枳殼의 효과 비교

생쥐 비장세포 또는 사람 B세포주인 U266B1 세포에 LPS 또는 LPS 및 IL-4를 처리하여 7일 동안 자극하면 많은 양의 IgE가 생성된다. 여기에서 枳實 (1g/L)은 B세포로부터 LPS 의존적 또는 LPS 및 IL-4 의존적 IgE 생성을 현저히 억제했으나 枳殼은 별다른 영향을 미치지 못했다 (Fig. 6).

### 고 찰

枳實은 神農本草經<sup>7)</sup>에 “治大風在皮膚中 如麻豆苦痒…”이라하여 최초로 언급되었고 枳殼은 雷公炮炙論<sup>8)</sup>에 “凡使, 勿使枳實, 緣性效不同…”이라고 기록되어 枳實과 枳殼은 魏晉이후부터 구분하여 사용되었음을 알 수 있으며 그 起源을 보면 枳實은 芸香科(산초과 : Rutaceae)에 속하는 落葉 또는 常綠喬木인 광귤나무(酸橙, *Citrus aurantium* L.) 혹은 탕자나무(枸橘, *Poncirus trifoliata* (L.) RAF.)의 미성숙한 幼果이며<sup>9)</sup> 枳殼은 成熟한 果實<sup>9)</sup>을 사용한다고 하여 같은 식물에서 열매의 성숙상태에 따라 나누어서 사용함을 알 수 있다.

性味에 있어서 枳實은 苦<sup>6,9)</sup> 辛<sup>6)</sup> 酸<sup>12)</sup> 微寒<sup>12)</sup> 寒<sup>9)</sup> 등으로 枳殼은 苦<sup>6,9)</sup> 酸<sup>12)</sup> 辛<sup>6)</sup> 微寒<sup>11,12)</sup> 寒<sup>11)</sup> 涼<sup>9)</sup> 平<sup>13)</sup> 溫<sup>14)</sup> 등으로 나타나 맛에 있어서는 枳實과 枳殼 모두 苦·辛·酸으로 나타났고 藥性에 있어서 枳實은 대부분 寒 또는 微寒으로 나타났지만 枳殼에 있어서는 平性이나 溫性으로 나타나 열매가 익으면서 寒涼한 藥性이 平 또는 溫性으로 변화된 것 같다.

效能과 主治症을 살펴보면 枳實은 破氣散積, 行痰



消痞, 下氣通便, 利胸膈, 逐水, 除寒熱結 等の 效能으로 胸腹脹滿, 食積停滯, 裏急後重, 心下痞堅, 水腫, 便秘, 子宮下垂, 脫肛, 胃擴張, 胃酸過多, 氣管支喘息, 胃腸病으로 야기된 皮膚疾患 等の 治療에 사용되고 있다<sup>6,10,13-15</sup>. 枳殼은 行痰消痞, 破氣消積, 理氣寬中, 發汗利尿 等の 效能으로 咳嗽, 食積不化, 腸風, 痢疾, 脫肛, 子宮下垂, 胃下垂, 便秘, 胸脇脹痛, 風痺麻痺, 風疹 等の 治療에 사용하는 것으로<sup>6,9,12-15,25</sup> 나타나 두 약물의 效能과 主治症이 비슷하나 枳實은 小而力速하고 功堅蕩滌之能이 있고 治上하여 利胸膈하며 枳殼은 大而力緩하고 導滯利氣之能이 있고 治下하여 寬腸胃함을 알 수 있다.

枳實과 枳殼의 成分중 正유는 약 0.3-0.5% 정도 함유되어 있으며 주로 d-limonene, d-linalool 등으로 구성되어 있다. 그리고 poncirin, hespetidin, neohespetidin, rhoifolin, naringin, aurantiamarin, aurantin, 5-hydroxyaurantin, 5-O-Desmethylnobiletin 등의 flavonoid와 synephrine, N-methylamine 등이 함유되어 있는 것으로 보고되고<sup>9,26</sup> 있다.

枳實의 약리학적 연구로 Chun 등<sup>27</sup>은 광굴나무 미성숙과의 물추출액을 정맥주사 하였을 때 랫트의 수동성 피부 아나필락시스 반응과 시험관내 histamine 유리가 유의성 있게 억제되었음을 보하였으며, Huang<sup>28</sup>은 枳實의 성분인 tangeratin과 nobiletin이 비반세포로부터의 histamine 유리를 억제한다고 보고하였고 또한 실제 임상<sup>6,9,10</sup>에서는 물론 민간 약으로서도 담마진 등의 알레르기와 관련된 질환의 치료에 枳實을 많이 응용하고 있고, 황<sup>29</sup>은 枳實의 물 추출액이 비반세포막에 신속히 작용하여 복잡한 과정의 매개물질 생성이 방해되어 세포내의 cAMP 함량이 증가되고, calcium 증가가 억제됨으로써 결과적으로 histamine 유리가 억제될 가능성이 있다고 보고하였으나 枳殼에 대한 실험적 연구 특히 알레르기 및 피부 질환에 대한 연구 보고가 없기에 비교실험을 하였다.

알레르기란 특이적인 알레르겐에 접촉함으로써 일어나는 과민증 상태로서 변화된 반응능이 재접촉에 의해 과민증 현상이 더욱 뚜렷하게 나타나는 것을 말한다. 이 용어는 본래 모든 변화된 반응성을 의미

하는 것이나 현재는 보통 과민증상태를 표현하는 데 사용되고 있다.

알레르기 반응은 체액성 반응인 즉시형과 세포성 반응인 지연형의 두가지로 크게 나누었으나 1970년 대초에 Gell 및 Coombs에 의해 그 발생기전에 따라 I-IV형으로 분류되었으며 다시 Roitt에 의해 V형이 추가되어 다섯가지로 분류되기도 한다<sup>30</sup>.

그중 제I형은 비반세포에 결합된 IgE에 항원이 교차 연계되어 매개인자 분비를 유도하는 IgE 매개 과민면역반응이다. 즉 알레르겐에 의해 면역된 생체는 IgE를 생산하고 생산된 IgE는 호염기구나 비반세포에 결합한다. 알레르겐이 체내에 재차 들어와 IgE와의 결합이 비반세포 표면에서 일어나면 비반세포 탈과립 현상을 유발시켜 histamine이나 serotonin, SRS-A 및 ECF-A, PAF, NCF와 같은 화학전달물질이 유리되어 여러 증상을 유발시킨다<sup>2,31</sup>. 이들 화학 전달물질의 기본적인 작용은 평활근의 수축과 혈관 투과성의 향진 및 외분비선의 자극으로 나타나며 평활근 수축은 기관지 천식을 유발하고, 혈관 투과성 향진은 국소의 담마진으로 이어진다. 그리고 외분비선 자극은 알레르기성 비염 등의 원인이 된다<sup>2</sup>.

생체내 결합조직에 널리 분포되어 있는 비반세포는 Ehrlich에 의하여 처음 관찰, 명명된 이래 그 형태 유래 및 기능에 대하여 많은 연구 보고가 있으며 아울러 즉시형 알레르기를 일으키는 필수 세포이다<sup>30,31</sup>.

비반세포의 탈과립을 억제하는 물질에는 c-AMP를 변형시키는 약물, 인지질 대사를 변화시키는 약물, calcium과 calmodulin길항제, cromoglycate와 flavonoids, protease억제제, 비반세포의 세포골격에 작용하는 약물, 스테로이드, 호르몬, 항히스타민제 등이 있다<sup>32,33</sup>. 반면에 비반세포 탈과립을 유도하는 즉, 비반세포 활성화는 여러 가지 자극에 의하여 일어나는데, Fc수용체에 항원, IgE에 대한 항체, 렉틴 등의 결합에 의하거나, 아나필락톡신 등에 의한 자극, calcium ionophore, compound 48/80, mellitin, codeine, morphine 및 합성부신피질 자극 호르몬과 같은 약리적 복합물에 의하여 야기된다고 보고되고 있다<sup>34,35</sup>.

본 실험에서는 전 등<sup>36)</sup>이 개발한 compound 48/80 투여에 의한 아나필락시스 속 모델을 이용하였는바, 이는 경제적인 혹은 시간적인 절약을 할 수 있어, 여러 가지 알레르기 질환에 사용하는 약제들을 실험하는데 현재까지 보고된 방법중 가장 좋은 모델로 생각된다.

본 연구에서 枳實과 枳殼이 면역학적 및 비면역학적 자극제에 의한 전신 및 국소 즉각형 알레르기반응 억제 효과를 검토한 결과 전반적으로 枳實이 枳殼보다 그 효과가 우수함을 발견했다. 또한 枳實은 혈장중 히스타민 수준을 현저히 감소시켰을 뿐 아니라 compound 48/80 혹은 anti-DNP IgE로 자극한 복강 비만세포로부터 분비되는 히스타민의 수준도 枳殼보다 현저하게 감소시켰다(Fig. 4,5).

이러한 결과는 생체내·외에서 枳實이 枳殼보다 비만세포의 자극에 의한 급성 탈과립 반응을 더욱더 효과적으로 억제하는 것을 의미한다. 또한 Compound 48/80에 의해 비만세포로부터 히스타민의 방출을 유도하는 신호전달과정의 활성화는 의심의 여지가 없다. 최근에 보고된 compound 48/80 및 이와 유사한 다른 화합물들이 거의 직접적으로 G-proteins를 활성화시키는 것이 밝혀졌기 때문이다<sup>37)</sup>. 알레르기반응성 질환의 진행에는 여러 가지 다른 매개물질의 중요성이 인정되고는 있으나 히스타민은 항원 유도성 피부 반응의 가장 근본적인 매개물질인 것으로 인식되고 있다. 화학적 매개물질의 피내 혹은 비강내 적용 및 화학적 매개물질 유도제의 투여에 의해서도 알레르기반응 모델과 유사한 양상으로 혈관 투과성이 증가한다<sup>38)</sup>. 枳實을 투여한 흰쥐에서 IgE 매개성 국소 즉각형 알레르기반응이 현저히 억제되었다. 이러한 결과는 枳實이 각종 항원에 의한 국소 피부 알레르기반응을 치료할 수 있다는 것을 의미한다. 반면에 枳殼은 직접적으로 알레르기 반응 억제 효과가 거의 없음을 알 수 있다(Fig. 2).

비만세포로부터 탈과립 반응의 억제 기작에 세포내 adenylyate cyclase의 활성화에 관련한 cAMP양의 증가가 알려져 있다<sup>39)</sup>. 이로써 비만세포를 枳實과 함께 배양했을 때 세포내 cAMP 함량은 대조군과 비교

했을 때 약 3배가 증가하였는바 (Table 2) 이러한 결과는 枳實에 의한 비만세포의 탈과립반응 억제 효과는 cAMP 수준의 증가를 통하여 매개되고 있는 것을 암시한다.

또한 본 연구에서 저자는 枳實과 枳殼의 투여에 의해 복강 비만세포의 면역학적 자극에 의한 염증을 유발하는 중요한 세포활성물질로 알려진 TNF- $\alpha$ 의 분비 억제 효과를 비교 분석한 결과 枳實의 경우에만 유의성있게 억제하는 것을 발견하였다(Table 3). 생체내에서 염증 및 면역반응중에 비만세포로부터 枳實에 의한 TNF- $\alpha$ 분비 억제 효과는 알레르기 질환의 병리학적 진행 과정을 차단하는 것을 의미하기 때문에 중요성이 매우 크며 지속적인 연구가 필요한 부분이다.

또한 I형 알레르기 작용에 있어 가장 중요한 역할을 담당하는 IgE 생성 억제에 미치는 영향에 대해 알아보고자 실험한 바, 枳實은 비장세포 및 U266B1 세포로부터 IgE 생성 억제 효과에 있어서도 枳殼보다 우수한 효과를 나타냈기 때문에 특정 항원에 감각된 상태에 있는 알레르기 반응도 억제할 수 있음을 의미한다고 본다(Fig. 6). 그리고 IgE 의존성 즉각형 알레르기 반응은 비만세포 및 호염기구 표면에 존재하는 IgE 수용체에 IgE 항체 및 다가항원의 자극으로 수용체가 응집된 다음 고유의 신호전달 과정을 경유하여 일어난다. 따라서 생체내에서 이들 약물에 의한 알레르기 반응을 일으키는 표적세포에 결합할수 있는 IgE 항체 생성 자체의 억제는 이상적인 알레르기 질환 치료 및 예방제로 임상활용 가치가 높다고 하겠다. 또한 인간 B세포주에서도 효과적이었기 때문에 생체내 mucosal immune system 에서도 유사한 생리적 역할을 할 것으로 예상된다.

이상의 결과로 枳殼보다 枳實에서 아나필락시스 반응의 예방에 효과가 있어, 제 I형 알레르기 반응에 의한 기관지천식, 알레르기성 비염, 癩疹 등의 질환에 예방 및 치료에 응용될 수 있으리라 사료된다. 계속해서 이들 약물의 히스타민의 방출 억제에 의한 즉각형 알레르기반응 억제 기작 규명을 위해 비만세포내 히스타민을 합성하는 효소인 L-histidine

decarboxylase의 활성도, TNF- $\alpha$  등 관련 유전자의 발현 및 조절 기작 등을 연구 검토할 필요가 있다고 사료된다.

### 결론

비면역학적 및 면역학적 방법으로 유도되는 알레르기 반응에 대하여, 枳實과 枳殼의 효능을 비교 실험한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Compound 48/80으로 유도되는 전신성 즉각형 알레르기반응에서 枳實은 枳殼보다 억제 효과가 뚜렷하였으며 枳殼은 고농도 (10 g/kg)에서만 30%의 억제율을 나타내었다.

2. 국소성 피부 즉각형 알레르기반응에서는 枳實만이 그 효과가 현저했다.

3. Compound 48/80으로 유도되는 ear swelling 반응에서 枳實은 枳殼보다 억제 효과가 뚜렷하게 나타났으며 枳殼도 1, 10 g/Kg 농도에서 유의성있는 억제율을 보였다.

4. Compound 48/80으로 유도한 혈장 중 히스타민의 방출 억제효과는 枳實이 枳殼보다 현저하게 나타났으며, 이러한 결과는 전신성 즉각형 알레르기 반응 억제율과 상관성이 있었다.

5. Compound 48/80 또는 anti-DNP IgE 로 활성화된 복강비반세포로부터 히스타민의 방출 억제 효과에 있어서도 枳實이 더욱 현저하였다.

6. 枳實에 의한 비반세포로부터 히스타민 방출의 억제 효과는 비반세포내 cAMP 수준의 상승에 기인함을 알 수 있었다. 枳殼은 cAMP 수준을 변화시키지 않았다.

7. 枳實은 면역학적 자극에 의해 활성화된 비반세포로부터 중요한 염증성 세포활성물질인 TNF- $\alpha$ 의 분비를 유의성 있게 억제하였으나 枳殼에서는 유의성 있는 억제 효과가 없었다.

8. 枳實은 枳殼보다 비장세포 및 U266B1 세포로부터 IgE 생성을 현저하게 억제했다.

이상의 결과에서 枳實이 枳殼보다 비반세포에 의해 매개되는 즉각형 알레르기 반응 및 만성 알레르

기성 염증반응을 현저하게 억제함을 알 수 있었다.

### 참고문헌

1. 鄭昇杞. 알레르기疾患의 韓方療法. 大韓 韓醫學會誌. 1990;11:1,54-91.
2. 文希柱. 基本면역학. 서울: 大學書林. 1992: 133-137.
3. 김세종. 면역학. 서울: 고려의학. 1994:260-265.
4. 李淵台. 最新免疫學. 서울: 集文堂. 1982: 367-368.
5. 김우경. 최근 서울지역에서의 아토피의 증가 현상. 알레르기. 1995;15,304-310.
6. 辛民教. 臨床本草學. 서울: 永林社. 1997: 481-484.
7. 孫星衍. 神農本草經. 臺北: 聞名學社出版社. 1985: 22.
8. 雷敷撰. 雷公炮炙論. 上海: 上海中醫學院出版社. 1986:76.
9. 江蘇新醫學院. 中藥大辭典. 下冊. 上海科學技術出版社. 1977:1507-1511.
10. 李時珍. 本草綱目. 서울: 高文社. 1973: 1188-1199.
11. 許浚. 東醫寶鑑. 北京: 人民衛生出版社. 1982:742-743.
12. 蘇敬. 新修本草. 安徽: 安徽科學技術出版社. 1981:206.
13. 張璐玉. 張氏醫通. 臺北: 金藏書局. 1976: 1242-1243.
14. 國家藥典委員會編. 中華人民共和國藥典. 北京: 化學工業出版社. 2000: 199-201.
15. 小泉榮次郎. 和漢藥考. 東京: 大耀社. 1977: 362-369.
16. 寇宗奭. 本草衍義. 北京: 人民衛生出版社. 1990: 87.
17. 문화방송편집국. 民間療法大全. 서울: 藥業新聞社. 1989: 74-75.
18. Kim HM, Kim HJ, Park ST. Inhibition of immunoglobulin E production by Poncirus trifolita fruit extract. J. Ethnopharmacol. 1999;66(3): 283-288.
19. Lee YM, Kim CY, Kim YC, Kim HM. Effects of Poncirus trifolita on type I hypersensitivity reaction. Am. J. Chin Med. 1997;25(1): 51-56.
20. Lee YM, Kim DK, KimSH, Shin TY, Kim HM. Antianaphylactic activity of Poncirus trifoliata fruit extract. J. Ethnopharmacol. 1996;54(2-3): 77-84.
21. Shore P. A., Burkhalter A. and Cohn V. H. A method for fluorometric assay f histamine in tissues. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1959;127: 182-186.
22. Katayama S., Shionoya H. and Ohtake S. A new method for extraction of extravasated dye in the skin

- and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. *Microbiol. Immunol.* 1978;22: 89-101.
23. Kim H. M. and Lee Y. M. Role of TGF- $\beta$ 1 on the Igdependent anaphylaxis reaction. *J. Immunol.* 1999;162: 4960-4965.
  24. Yurt R. W., Leid R. W. and Austen K. F. Native heparin from rat peritoneal mast cells. *J. Biol. Chem.* 1997;252: 518-521.
  25. Peachell P. T., Macglashan D. W., Lichtenstein L. M. and Schleimer R. P. Regulation of human basophil and lung mast cell function by cyclic adenosine monophosphate. *J. Immunol.* 1988;140: 571-579.
  26. Scuderi P., Sterling R. E., Lam K. S., Finley P. R., Ryan, K. J., Ray C. G., Petersen E., Slymen D. J. and Salmon S. E. Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infections. *Lancet* 1986; 2: 1364 - 1365.
  27. Ohmori H., Hikida M and Takai T. Prostaglandin E2 as a selective stimulator of antigen-specific IgE response in murine lymphocytes. *Eur. J. Immunol.* 1990;20: 2499-2503.
  25. 赤松金芳. 和漢藥. 東京: 醫齒藥出版株式會社. 1980:303-304.
  26. 高木敬次郎編. 和漢藥物學. 東京: 南山堂. 1982:236-237.
  27. Chun YT, and Sankawa U. Screening of Antiallergic Effect in Traditional Medicinal Drugs and Active Constituents of Aurantii Fructus Immaturus. *Shoyakugaku Zasshi*, 1989;43 : 314-323.
  28. Huang KC. *The Pharmacology of Chinese Herbs.* London. CRC Press. 1994:107.
  29. 黃光鏞. 극시형 알레르기 반응에 있어서 枳實 물추출액의 抑制作用기전. 원광대학교학원. 1995.
  30. Gomes, J.C., DiStasi, L.C., Sgarbosa, F., and Barata, L.E.S. Pharmacological evaluation of the inhibitory effect of extracts from anchietia salutaris on the histamine release induced in the rat and the guinea pig. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1994;103: 188-193.
  - 31) Dombrowicz, D., Flamand, V., Brigman, K.K., Koller, B.H., and Kinet, J. P. Abolition of anaphylaxis by targeted disruption of the high affinity immunoglobulin E receptor a chain gene. *Cell* 1993;75: 969-976.
  32. Graziani, Y., and Chayoth, R. Elevation of cyclic AMP level in ehroich ascites tumor cells by quercetin. *Biochem. Pharmacol.* 1977; 26: 1259-1261.
  33. Makino H. Saijo T. Ashida Y. Kuriki H. H. and Maki Y. Mechanism of action of an antiallergic agent, Amlexanox (AA-673), in inhibiting histamine release from mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1987;82: 66-71.
  34. Tasaka, K., Mitsunobu, M.I.O., and Masahiro, O. Intracellular calcium relase induced by histamine releasers and its inhibition by some antiallergic drugs. *Ann. Allergy*, 1986; 56: 464-469.
  35. Chand, N., Pillar, J., Diamantis, J., Perhach, J.R., and Duane Sofia, R. Inhibition of calcium ionophore (A23187)- stimulated histamine release form rat peritoneal mast cells by azelastine : implications its mode. *Eur. J. Pharmacol.* 1983;96: 227-233.
  36. 전병득. compound 48/80에 의하여 유도된 anaphylatic shock와 cutaneous reaction의 모델에 관한 연구. 대한면역학회지. 1990; 12;20:302.
  37. Mousli M. C., Bronner C., Bockaert J., Rouot B. and Landry Y. Interaction of substance P, compound 48/80 and mastoparan with -subunit C-terminal of G protein. *Immunol. Lett.* 1990;25: 355-358.
  38. Inagaki N., Miura T., Ohira K., Nagai H., Xu, Q. and Koda A. Effect of CV-3988, a specific antagonist against platelet activation factor, on homologous-passivecutaneous anaphylaxis in the mouse ear. *J. Pharmacobiodyn* 1990;13: 272-277.