

금은화 화장수가 DNCB로 유발된 접촉성피부염에 미치는 영향

김상찬^{1#}, 이재령¹, 최경임², 박숙자¹, 권영규¹, 변성희^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 한의학과, 2 : 대구보건대학 뷰티코디네이션과

Effect of Lonicerae Flos-Skin on Contact Hypersensitivity induced by Repeat Elicitation of DNCB

Sang Chan Kim^{1#}, Jae Ryoung Lee¹, Kyung Im Choi², Sook Jahr Park¹,
Young Kyu Kwon¹, Sung Hui Byun^{1*}

1 : College of Oriental Medicine, Daegu Haany University,
2 : Dept. of Beauty Coordination, Daegu Health College

ABSTRACT

Objectives : Lonicerae Flos has been known as a useful plant with anti-inflammatory, antioxidative and immunosuppressive activity. To evaluate anti-inflammatory effect of Lonicerae Flos, we treated Lonicerae Flos-skin in animal model system induced contact hypersensitivity.

Methods : Contact hypersensitivity, a local inflammatory response of the skin, was induced by spreading the right ear of BALB/c mouse with 1% DNCB. Lonicerae Flos-skin was prepared by dissolving 1% water extract of Lonicerae Flos in skin vehicle and treated everyday for 2 weeks on the right ear.

Results : Lonicerae Flos-skin significantly reduced a mouse ear thickness swelled by 1% of DNCB treatment compared with skin vehicle-treated control group. Lonicerae Flos-skin also reduced IgG and IgE in serum obtained from blood of 1% DNCB-treated mouse.

Conclusion : These results showed that Lonicerae Flos-skin could be used as a pharmaceutical material with antiinflammatory effects by reducing IgG and IgE in contact hypersensitivity mouse model by DNCB.

Key words : Lonicerae Flos, Contact hypersensitivity, DNCB, Immunoglobulin G

*교신저자 ; 변성희, shbyun@dhu.ac.kr
대구시 수성구 상동 165번지 대구한의대학교 한의과대학
Phone) 053-770-2244, Fax) 053-768-6340
#저자 ; 김상찬, sckim@dhu.ac.kr
대구시 수성구 상동 165번지 대구한의대학교 한의과대학
Phone) 053-770-2247, Fax) 053-768-6340
· 접수 : 2006년 1월 20일 · 수정 : 2006년 3월 15일 · 채택 : 2006년 3월 21일

서 론

금은화(金銀花, *Lonicera japonica*, *L. hypoglauca*, *L. confusa*, 혹은 *L. dasystyla*의 화뢰(花蕾)이며¹⁾, 우리나라에는 주로 *Lonicera japonica*가 많이 분포되어 있다²⁾. 금은화는 성미가 한감하고, 폐위심경(肺胃心經)에 入하여 청열해독(淸熱解毒), 양산풍열(涼散風熱)하는 효능이 있으며¹⁾, 주로 편도선염, 후두염과 같은 상기도감염의 치료에 사용되고, 또한 용(癰), 정(疔)과 같은 피부화농증³⁾ 그리고 바이러스성 결막염, 인플루엔자, 폐렴 등에 사용된다⁴⁾. 또한, 금은화는 CCl₄로 유발된 간손상에 대하여 세포보호효과⁵⁾를 나타내고, 또한 장(腸)으로부터 지방의 흡수에 관여하여 antilipemic action을 나타낸다⁴⁾.

금은화에 대한 연구로, 강 등⁶⁾은 금은화의 메탄올 추출액이 항균작용을 가짐을 보고하였고, 황⁷⁾은 금은화의 phenol성 성분을 단리하여 5종의 인체암세포에 적용하여 quercetin에서 항암활성이 있는 것을 보고하였으며, 또한 Chang 등⁸⁾은 금은화의 tannin성분이 human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase activity (HIV-1 RT)를 저해한다고 보고하였으며, Lee 등⁹⁾은 *Lonicera japonica* flower의 물추출물이 LPS로 유도된 rat liver sepsis에서 NF κ B p65의 활성억제와 I κ B α 의 degradation억제를 통하여 항염증효과를 나타냄을 밝혔다. 또한 Tae 등¹⁰⁾은 *Lonicera japonica*의 추출물이 proteinase-activated receptor-2를 매개하여 paw edema와 vascular permeability를 감소시킴을 보고하였고, Lee 등¹¹⁾은 금은화의 BuOH분획이 mouse ear edema 및 CGN-paw edema 실험에서 prednisolone보다는 약하지만, 용량의존적으로 부종을 개선시킴을 보고하였다.

본 연구실에서는 금은화에 대한 선행연구로, 금은화 및 인동 경(莖)·엽(葉)·화(花)의 혼합물이 LPS로 활성화된 Raw 264.7 cell에 대하여 nitric oxide의 생성, COX-2 및 iNOS의 발현, pro-inflammatory cytokine의 생성을 억제함을 밝힌 바가 있다.

금번 연구에서는 이러한 항염증작용을 갖는 금은화를 외용제로서 응용가능성을 검토하기 위하여 금은화화장수를 제조하고, 이를 DNCB로 유발된 접촉성 피부염의 동물모델에 처치하여 귀부종 및 Immunoglobulin에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

실험동물은 male BALB/c mouse(오리엔트, 한국)를 사용하였으며, 기제(olive oil + acetone)만을 처치하여 접촉성 피부염(귀부종)을 유도하지 않고, saline을 2주간 처치한 normal군, DNCB로 귀부종을 유도하고 skin vehicle을 2주간 처치한 control군, DNCB로 귀부종을 유도하고 금은화화장수를 2주간 처리한 실험군으로 나누어 각 군당 5마리씩 총 15마리를 사용하였다. 실험동물은 5마리씩 분리하여 polycarbonate cage에 수용하고, 온도 20~25°C 및 습도 30~35%로 조절된 항온항습 및 공기청정 시스템(동물사육시스템, 한국)에서 사육하였으며, 명암주기는 12/12시간으로 조절하였다. 사료(한란, 한국)및 음용수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다.

2. 시료의 제조 및 처치

금은화(Youngnam, Daegu, Korea) 300g을 물 3L에 넣고 3시간 전탕한 후 추출물을 거여드로 1차 여과하고 3000 \times g에서 3분간 원심분리하고, 상층액만을 취하여 0.2 μ m filter (Nalgene, New York, USA)로 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)로 동결건조하고 사용 때까지 -20°C에서 보관하였다. 최종 금은화추출물의 무게는 60.0 g으로 수율은 20.0%였다. 금은화화장수는 Table 1에 따라 제조하였으며, 금은화를 skin vehicle에 1%의 농도로 제조하여 귀부종이 유발된 마우스의 귀 안쪽에 매일 20 μ 씩 2주 동안 도포하였다.

Table 1. The experimental formulation of the skin containing *lonicera* extract

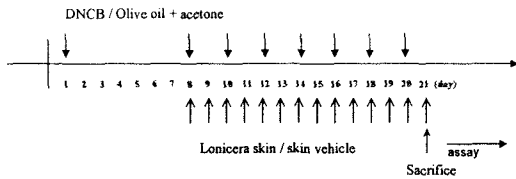
Phase	Chemical name	Content% (W/W)
A	DI - Water	to 100
	1,3-Butylene Glycol	3
	Glycerin	2
	Betaine	2
	Ethanol	5
B	Polyoxyethylene Hydrogenated Castor Oil	1
	Methylparaben	Q.S.
C	Citric acid	Q.S.
	Sodium Citrate	Q.S.
D	<i>Lonicera</i> extract	1

* Q.S. (Quantum sufficient : Proper quantity)

3. 접촉성 피부염의 유도

접촉성 피부염을 유발하기 위해 acetone과 olive oil을 4:1로 섞어 만든 기제에 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(DNCB)를 녹여서 만든 1% DNCB 용액을 사용하였다. 실험시

작 1주일 전에 20 μ l의 1% DNCB 용액을 마우스의 오른쪽 귀안에 도포하여 sensitization한 후에 1주일에 3번씩 20 μ l의 1% DNCB 용액을 2주 동안 반복적으로 도포하여 접촉성 피부염을 유발하였다. 귀 두께는 Micrometer(Mitutoyo, Kawasaki, Japan)를 이용하여 측정하였다. (Scheme. 1)



Scheme. 1. Experimental Design.

4. 혈액의 채취

Heparinized capillary tube(Superior, Germany)를 이용하여 mouse의 눈외자를 찢러 채혈한 다음, 1.5 ml tube에 넣어 8,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상등액은 실험 전까지 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

5. Immunoglobulin 측정

Microtiter plate(96-well)에 미리 준비한 혈액의 상등액 sample을 dilution buffer(0.1% BSA in PBSN)로 희석한 후 37 $^{\circ}$ C에서 3시간 이상 반응시킨 후, 3차례 세척하였다. IgG, IgE의 antibody를 처리하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 배양한 후, 기질인 pNPP(p-nitrophenyl-phosphate)를 첨가하여 배양하여 spectrophotometer(GENious plus, Tecan, Austria)로 405 nm에서 측정하고, 492 nm의 background를 감하였다.

6. 통계처리

결과 통계처리는 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 평균치간의 유의성은 Student's T-test를 이용한 후 p값이 0.05미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 금은화 화장수가 귀부종에 미치는 영향

DNCB를 반복적으로 도포한 후 14일째에 귀부종의 정도를 Micrometer를 이용하여 측정하였다. 귀부종의 정도는 normal군의 귀부종의 정도를 기준으로 fold increase로 나타내었다. Normal군은 1.000 \pm 0.045의 귀부종을 나타내었으나, control군은 1.076 \pm 0.042로

서 유의한 귀부종을 유발하였다. 금은화화장수를 처치한 실험군에서는 1.031 \pm 0.019로 귀부종의 유의한 감소를 유도하였다. 이러한 결과는 금은화화장수가 염증성 부종을 억제할 수 있음을 시사한다.

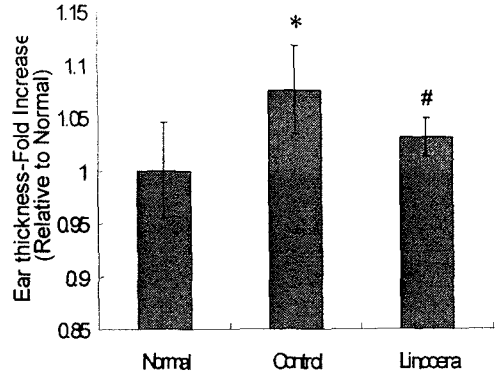


Fig. 1. The Effect of Lonicera on Ear Swelling Induced by Repeat Elicitation of DNCB. Mice were sensitised on the inside of right ear by epicutaneous application of 20 μ l of 1% DNCB solution 7 days before first elicitation, and then the mice were repeatedly treated with DNCB from day 0 at 2 days interval (3 times/week). The ear thickness was measured at 14 days after first elicitation. Data were presented as the mean \pm S.D. (n = 5 for each group) *: P < 0.05 compared with normal, #: P < 0.05 compared with control.

2. 금은화 화장수가 혈청 IgE의 농도에 미치는 영향

혈청중의 IgE의 함량은 ELISA로 측정하였으며, normal군의 IgE의 함량을 기준으로 fold increase로 나타내었다. Normal군은 1.000 \pm 0.189의 IgE의 함량을 나타내었으나, control군은 2.192 \pm 0.536으로 DNCB에 의해 IgE의 농도가 2배 이상 유의성있게 증가하였다. 그러나 금은화 화장수를 처치한 실험군에서는 1.261 \pm 0.150으로 유의성있게 농도가 감소하였다.

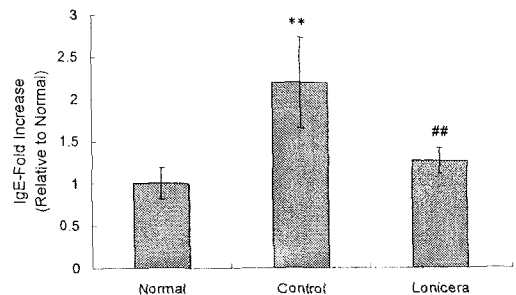


Fig. 2. The Effects of Lonicera on Immunoglobulin E Levels in

Serum. Mice were sensitised on the inside of right ear by epicutaneous application of 20 μ l of 1% DNCB solution 7 days before first elicitation, and then the mice were repeatedly treated with DNCB from day 0 at 2 days interval (3 times/week). The IgE level was measured at 14 days after first elicitation. Data were presented as the mean \pm S.D. (n = 5 for each group) **: P < 0.01 compared with normal, #: P < 0.01 compared with control.

3. 금은화 화장수가 혈청 IgG의 농도에 미치는 영향

혈청 중 IgG의 함량을 ELISA로 측정하였으며, normal군의 IgG의 함량을 기준으로 fold increase로 나타내었다. Normal군은 1.000 \pm 0.051의 IgG의 함량을 나타내었으나, DNCB를 처리한 control군에서는 1.711 \pm 0.197로 normal군에 비교하여 유의성있는 증가를 나타내었으며, 금은화 화장수를 처리한 실험군에서는 0.997 \pm 0.052로 유의성있게 농도가 감소하였다.

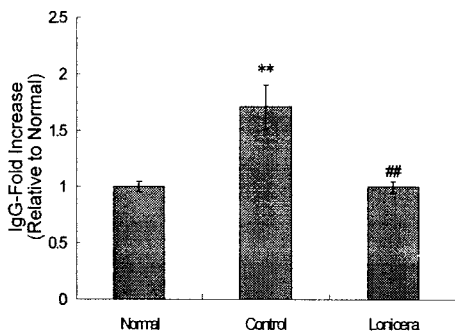


Fig. 3. The Effects of Lonicera on Immunoglobulin G Levels in Serum.

Mice were sensitised on the inside right ear by epicutaneous application of 20 μ l of 1% DNCB solution 7 days before first elicitation, and then the mice were repeatedly treated with DNCB from day 0 at 2 days interval (3 times/week). The IgG level was measured at 14 days after first elicitation. Data were presented as the mean \pm S.D. (n = 5 for each group) **: P < 0.01 compared with normal, #: P < 0.01 compared with control.

고찰

1-chloro-2,4-dinitrobenzene (DNCB)는 에어콘이나, 냉장고의 살조제(殺藻劑)로 사용되기도 하며, 의학적으로 용도로는 인간의 피부지연형과민반응(cutaneous delayed type hypersensitivity immune function)의 테스트에 사용되었다¹²⁾.

Acetone이나 alcohol과 같은 기제(carrier solution)에 녹여 피부에 바르면, DNCB는 국소적 면역반응을 유발하고, Langerhans cell의 수와 기능에 대하여 강력한 조절작용을 가진다¹²⁻¹⁴⁾.

피부에 접촉한 후 수분 뒤 DNCB는 피부에 스며들어 hapten을 형성하고, epidermal Langerhans cells은 DNCB hapten을 CD4-positive T cells에 제시하여 면역반응이 활성화된다¹⁵⁻¹⁶⁾. 이런 까닭에 DNCB는 dendritic cell의 면역조절제로 치료가능성이 제기되기도 하였으며¹²⁾, 또한 피부의 viral infection에 대한 치료, 원형탈모증(alopecia areata)과 같은 자가면역질환의 치료, 사마귀의 치료 등에 응용되기도 하였다¹²⁻¹⁴⁾.

금은화(金銀花)는 *Lonicera japonica*, *L. hypoglauca*, *L. confusa*, 혹은 *L. dasystyla*의 화뢰(花蕾)로서, 한감무독(寒甘無毒)하며, 폐위심경(肺胃心經)에 작용하여, 청열해독(淸熱解毒), 양산풍열(涼散風熱)하는 효능으로 주로 상기도감염의 치료에 사용되고¹⁾, 또한 웅(癰), 정(疔)과 같은 피부화농증³⁾ 그리고 바이러스성 결막염, 인플루엔자, 폐렴 등에 사용된다⁴⁾.

금은화(金銀花)의 효능에 대한 연구로는, 항균작용^{6,17)}, 세포성장 촉진작용¹⁸⁾, human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase activity 저해작용⁸⁾, 항염증작용^{9-11,19)}, 항산화작용²⁰⁾, phospholipase A2저해작용²¹⁾, 항암작용^{7,22-24)}, 과산화지질생성 억제작용²⁰⁾, 치면세균막의 형성 감소작용²⁵⁾이 보고되어 있다.

본 연구실에는, 선행연구로 금은화의 화뢰 및 인동의 경(莖)·엽(葉)·화(花) 혼합물이 LPS로 활성화된 Raw 264.7 cell의 nitric oxide, iNOS, COX-2, cytokine등의 발현을 억제함을 보고하였다. 금번 연구에서는 이러한 결과를 바탕으로 염증성질환에 대한 금은화의 외용제제로서의 가능성을 평가하기 위하여 금은화화장수를 제조하여 DNCB로 유발된 BALB/c mouse의 접촉성피부염에 도포하여 귀부종의 두께 및 immunoglobulin의 함량을 평가하였다.

일반적으로 알리지성 접촉성피부염은 원인물질에 따라 특정부위에서 피부발적, 발진, 홍반, 종창, 구진(丘疹), 소수포(小水疱), 미란, 작열감, 통증, 소양감, 습진상변화 등의 병증을 나타내는 것으로 알려져 있다²⁶⁾.

본 연구에서도 DNCB로 접촉성 피부염을 유발한 control군은, 기제만을 도포한 normal군에 비교하여 유의성 있는 귀의 부종을 유발하였고, 금은화 화장수를 처리한 실험군에서는 control군에 비하여 유의성있는 부종의 감소를 유도하였다. 이러한 결과는 보중익기탕(補中益氣湯)을 이용한 Nakata의 연구²⁷⁾와도 일

치하는 결과이며, 이는 금은화화장수가 염증성 부종의 개선에 관여함을 시사하고 있다.

DNCB와 같은 contact allergen은 type 1 T lymphocyte (Th1 and Tc1)의 반응을 우선적으로 발달시키고, TMA(trimellitic anhydride)와 같은 chemical respiratory allergen은 type 2 T lymphocyte (Th2 and Tc2)의 반응을 우선적으로 발달시킨다. DNCB와 TMA의 이러한 차이는 lymph node에서 Langerhans cell의 migration과 dendritic cell의 accumulation 속도에서 기인하는 것으로 보고 있다²⁸⁾.

또한, Farraj등²⁹⁾의 연구에서는 0.5% DNCB로 비강을 자극한 mice의 serum중 IgE의 농도가 8배정도 증가하였으며, Albers등³⁰⁾의 연구에서는 BALB/c mice의 귀에 DNCB를 처치한 경우 IgG, IgE가 증가함을 보고한 바 있다.

Plasma cell에서 분비되는 IgE는, FcεR I이라는 고친화성 표면수용체를 매개로 mast cell(비만세포)에 강하게 결합한다. 항원이 IgE에 결합하면 이들 수용체들이 교차결합(cross-links)을 하게 되고, 이는 mast cell의 granule로부터 화학적 매개 물질들의 분비를 유발하게 되어 제1형 과민반응(type I hypersensitivity reaction)의 발생에 이르게 된다. 또 basophils(호염구) 및 활성화된 eosinophil(호산구)에서도 FcεR I이 발현되는데, IgE는 여기에도 결합하여 제1형 과민반응을 일으키는데 관여할 수 있다³¹⁾.

화학적 매개물질들은 주로, histamine과 chymase, tryptase, serine esterase등의 효소로 이러한 물질들은 조직의 기질단백질을 파괴하고, 조직의 파괴를 유도한다³¹⁾. 또한 IgE는 hay fever, asthma, hives, anaphylactic shock등의 증후와 관계되는 즉각적인 과민반응을 매개한다고 알려져 있다^{32,33)}.

본 실험에서의 혈청중 IgE의 함량은 control군이 normal군에 비교하여 2배 이상 유의성있게 IgE의 수준을 증가시켰으며, 실험군은 normal군에 비교하여 유의성있게 감소하였다.

병원체들이 상피장벽을 통과하여 국소감염을 일으키면 숙주는 자신의 방어체계를 병원체가 성장하는 부위로 이동시킨다. 이들 중의 한 기전은 mast cell에 의해 이루어진다. mast cell은 국소혈관들의 투과성을 급속히 높이는 작용을 하는 histamine을 포함하는 혼합된 화학매개물질들이 있는 독특한 세포질과립들을 갖는 큰 세포이다. Mast cell의 FcεR I, FcγR III receptor는 IgE와 IgG에 각각 결합하여 지질 염증매개 물질(lipid inflammatory mediator) 및 granule을 분비하게 된다³¹⁾.

IgG는 serum에서 가장 풍부한 Immunoglobulin으

로 잘 알려져 있으며, IgG는 eosinophil의 FcγR II에 부착하여 eosinophil의 degranulation을 유발하기도 한다^{34, 36)}.

본 실험에서의 혈청 중 IgG의 함량은 control군이 normal군에 비교하여 유의성있게 IgG의 수준을 증가시켰으며, 실험군은 normal군에 비교하여 IgG의 수준을 유의성있게 감소시켰다. 이러한 결과는 금은화화장수가 DNCB로 유발된 접촉성피부염에 유용하게 활용될 수 있음을 시사한다.

결론

금은화를 이용하여 제조한 금은화화장수가 DNCB로 유도된 접촉성 피부염의 귀부종, immonoglobulin에 미치는 영향을 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 금은화화장수를 처치한 실험군에서는 DNCB를 처치한 control군에 비교하여 유의한 귀부종의 감소를 유도하였다.
2. 금은화 화장수를 처치한 실험군에서는 DNCB를 처치한 control군에 비교하여 유의한 IgE의 감소를 유도하였다.
3. 금은화 화장수를 처치한 실험군에서는 DNCB를 처치한 control군에 비교하여 유의한 IgG의 감소를 유도하였다.

이러한 결과는 금은화화장수가 DNCB로 유발된 접촉성피부염에 활용될 수 있는 가능성을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원(02-PJ9-PG1-CO04-0009)에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 전국한외과대학 본초학교수. 본초학. 서울:영림사. 1992:198-9.
2. 나민균, 하티탄형, 안인파, 이상명, 김영호, 이종필, 성락선, 이경순, 배기환. 금은화의 품질평가. 생약학회지. 2000;31(3):340-4.

3. 이금택, 최병태, 이용태, 고우신. 금은화가 흰쥐의 창상에 미치는 효과. 진단학회지. 1999;20(1):132-41.
4. Huang KC. The Pharmacology of Chinese herbs. 2nd ed., Boca Ranton: CRC. 1999:388-9.
5. 박선관, 최병기, 이은방. 사염화탄소 유발 간독성에 대한 금은화의 작용. 응용약물학회지. 2002;10:23-36.
6. 강옥희. 금은화의 약리작용에 관한 연구. 우석대학교 석사학위논문. 1983.
7. 황윤정. 주엽나무잎 및 금은화의 phenol성 성분. 충북대학교 석사학위논문. 1994.
8. Chang CW, Lin MT, Lee SS, Liu KC, Hsu FL, Lin JY. Differential inhibition of reverse transcriptase and cellular DNA polymerase- α activities by lignans isolated from Chinese herbs, *Phyllanthus myrtifolius* Moon, and tannins from *Lonicera japonica* Thunb and *Castanopsis hystrix*. *Antiviral Res.* 1995;27(4):367-74.
9. Lee JH, Ko WS, Kim YH, Kang HS, Kim HD, Choi BT. Anti-inflammatory effect of the aqueous extract from *Lonicera japonica* flower is related to inhibition of NF- κ B activation through reducing I- κ B degradation in rat liver. *Int J Mol Med.* 2001;7(1):79-83.
10. Tae J, Han SW, Yoo JY, Kim JA, Kang OH, Baek OS, Lim JP, Kim DK, Kim YH, Bae KH, Lee YM. Anti-inflammatory effect of *Lonicera japonica* in proteinase-activated receptor 2-mediated paw edema. *Clin Chim Acta.* 2003;330(1-2):165-71.
11. Lee SJ, Son KH, Chang HW, Kang SS, Kim HP. Antiinflammatory activity of *Lonicera japonica*. *Phytotherapy research.* 1998;12:445-7.
12. Stricker RB, Elswood BF, Abrams DI. Dendritic cells and dinitrochlorobenzene (DNCB): a new treatment approach to AIDS. *Immunol Lett.* 1991;29(3):191-6.
13. Hanau D, Fabre M, Schmitt DA, Lepoittevin JP, Stampf JL, Grosshans E, Benezra C, Cazenave JP. ATPase and morphologic changes in Langerhans cells induced by epicutaneous application of a sensitizing dose of DNFB. *J Invest Dermatol.* 1989;92(5):689-94.
14. Hill S, Edwards AJ, Kimber I, Knight SC. Systemic migration of dendritic cells during contact sensitization. *Immunology.* 1990;71(2): 277-81.
15. Gawkrödger DJ, Haftek M, Botham PA, Carr MM, Spencer MJ, Ross JA, Hunter JA, Thivolet J. The hapten in contact hypersensitivity to dinitrochlorobenzene: immunoelectron microscopic and immunofluorescent studies. *Dermatologica.* 1989;178(3):126-30.
16. Bang D, Nakagawa S, Oka D, Takei Y, Jinno Y, Ueki H. The distribution of 2,4-dinitrophenyl groups on Thy-1 positive cells in the epidermis of mouse following skin painting with 2,4-dinitrochlorobenzene. *J Dermatol.* 1988;15(1):27-31.
17. 배지현, 김미순, 강은혜. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 금은화 추출물의 항균효과. *한국식품과학회.* 2005;37(4):642-7
18. 정규찬, 권동린, 백석환, 김성한, 장현욱. 金銀花 (*Lonicerae flos*)의 ethyl acetate분획이 들연변이 원성에 미치는 영향. *대한약학회지.* 1988;32: 328-33.
19. Kwak WJ, Han CK, Chang HW, Kim HP, Kang SS, Son KH. Loniceroside C, an antiinflammatory saponin from *Lonicera japonica*. *Chem Pharm Bull.* 2003;51(3):333-5.
20. Park JO. Studies on the flavonoid components of *Lonicera japonica* and their biological activities. Department of Pharmacy Graduate School, Yeungnam University, Ph. D. Thesis. 1997.
21. Chang HW, Baek SH, Chung KW, Son KH, Kim HP, Kang SS. Inactivation of phospholipase A2 by naturally occurring biflavonoid, ochnaflavone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994;205:843-9.
22. Rim BM, Rim CW, Choi JY, Chung YS, Jeong HG. Effects of *Lonicera Japonica* extract as a biological response modifier. *Environ. Mut. Car.* 1992;12:45-54.
23. 김경진, 한두석. 金銀花 가용성 ethyl acetate 소분획의 인체 구강유상피암종세포에 대한 항암효과. *원광치의학.* 1998;8(2):31-41.
24. 한두석, 백경현, 김영옥, 최규은, 곽정숙, 백승화. 한국산 생약으로부터 항암물질의 개발(제6보). 金銀花 ethyl acetate 가용성 분획의 인체 구강유상피암종세포에 미치는 세포독성작용. *생약학회지.* 1998;29(1):22-7.
25. 홍석진, 최유진, 임희순, 손재범, 정성숙. 金銀花와

- 포공영추출물이 첨가된 치약의 치면세균막 및 치은염에 미치는 영향. *대한구강보건학회지*. 2001;25(4): 347-55.
26. 강석영. 알레르기질환의 진단과 치료. 서울:일조각. 1993:253-4.
27. Nakada T, Watanabe K, Matsumoto T, Santa K, Triizuka K, Hanawa T. Effect of orally administered Hochu-ekki-to, a Japanese herbal medicine, on contact hypersensitivity caused by repeated application of antigen. *Int Immunopharmacol*. 2002;2(7):901-11.
28. Cumberbatch M, Dearman RJ, Griffiths CE, Kimber I. Epidermal Langerhans cell migration and sensitisation to chemical allergens. *APMIS*. 2003;111(7-8):797-804.
29. Farraj AK, Harkema JR, Kaminski NE. Allergic rhinitis induced by intranasal sensitization and challenge with trimellitic anhydride but not with dinitrochlorobenzene or oxazolone in A/J mice. *Toxicol Sci*. 2004;79(2):315-25.
30. Albers R, Bol M, Bleumink R, Willems AA, Pieters RH. Effects of supplementation with vitamins A, C, and E, selenium, and zinc on immune function in a murine sensitization model. *Nutrition*. 2003;19(11-12):940-6.
31. Charles A Janeway, Paul Travers, Mark Walport, Mark Shlomchik. *Immunobiology*. New York:Gerald. 2001:473-81.
32. Mayr SI, Zuberi RI, Liu FT. Role of immunoglobulin E and mast cells in murine models of asthma. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2003;36:821-7.
33. Douglas S. Robinson. T-cell cytokines: what we have learned from human studies. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2004;5:S53-8.
34. Gleich GJ, Kita H. Bronchial asthma: Lessons from murine models. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1997;94:2101-2.
35. Aalberse RC. Specific IgE and IgG Responses in Atopic versus Nonatopic Subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:S124-7.
36. Miyajima I, Dombrowicz D, Martin TR, Ravetch JV, Kinet JP, Galli SJ. Systemic anaphylaxis in the mouse can be mediated largely through IgG1 and Fc gammaRIII. Assessment of the cardiopulmonary changes, mast cell degranulation, and death associated with active or IgE- or IgG1-dependent passive anaphylaxis. *J Clin Invest*. 1997;99(5):901-14.