

고장초의 항알레르기 효과

이은정 · 황은영 · 황 기 · 이인선 · 양선아^{1*}

계명대학교 식품가공학과, ¹계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터

Anti-allergic Effect of *Zizania latifolia* Turcz Extracts

Eun-Jung Lee, Eun-Yeong Whang, Key Whang, In-Seon Lee, and Seun-Ah Yang^{1*}

Department of Food and Technology, Keimyung University

¹The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

Abstract The anti-allergic effect of the methanol extract of *Zizania latifolia* Turcz was investigated. Methanol extract of *Z. latifolia* Turcz did not display any cytotoxicity activities in the IgE-sensitized RBL-2H3 cells. The extract was found to inhibit compound 48/80-induced degranulation and antigen-induced β -hexosaminidase release as well as PMA plus A23187-induced TNF- α production in RBL-2H3 mast cells in a dose-dependent manner. Release of β -hexosaminidase, a marker for the release of histamine in mast cells, was inhibited with an IC₅₀ value of 73.8 μ g/mL. These results suggest that *Z. latifolia* extracts may be useful for the prevention of type I allergic reaction.

Key words: *Zizania latifolia* Turcz, β -hexosaminidase, degranulation, TNF- α , RBL-2H3 cells

서 론

알레르기 질환은 현대의 환경오염, 식생활의 변화와 유전적 영향 등의 복합적인 영향으로 급증하고 있으며, 우리나라의 경우 알레르기 질환 환자의 수가 예전에 비해 꾸준히 증가하고 있는 실정이다. 알레르기 반응은 시간적 경과와 초기의 주요한 양상에 따라 즉시형, 면역 복합체형 및 지연형 반응 등 크게 4가지 유형(I-IV)으로 나뉘어지는데 통상 알레르기라 함은 일정한 항원에 대하여 이미 감작된 개체에 부착되어 있는 항체에 항원이 결합한 후 수분 내에 일어나는 즉시형 반응인 제 1형 알레르기 반응을 뜻하며, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염 및 기관지 천식 등의 알레르기 질환들이 제 1형 알레르기 반응(type I allergic reaction)에 속한다(1-3).

비만세포는 급만성 염증 및 즉시형 알레르기 과민반응에 관여하는 필수적인 세포로 알려져 있다(4). 비만세포 표면에 발현하고 있는 고친화성 IgE 수용체인 FcεRI이 IgE 및 특이적 알레르겐과 결합함으로써, 세포질 내 칼슘 농도가 상승하고 탈과립이 일어나 히스타민이나 헤파린, 가수분해효소 그리고 interleukin-4(IL-4), IL-6, IL-13, TNF- α 와 같은 여러 가지 사이토카인을 분비하게 되며, 분비된 염증 매개인자들은 혈관을 이완시키고, 혈관투과도를 증가시키며, 기관지를 수축시키게 된다(5-8). 비만세포의 활성화는 이러한 알레르겐과 IgE를 통한 면역학적 자극 이외에 비면역학적 자극 물질인 compound 48/80, protein kinase

C(PKC) activator인 phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA), calcium ionophore(A23187) 등에 의해서도 야기되는 것으로 보고되어 있다(9-11). Rat 유래의 RBL-2H3 세포는 막의 표면에 수십만 개의 IgE 수용체를 포함하며, IgE로 감작된 후에 항체에 반응하여 히스타민을 유리하므로(12), 항알레르기 효능검색에 RBL-2H3 세포가 모델세포주로 많이 이용되고 있다.

면역학적 또는 비면역학적 과민반응은 항히스타민 약물에 의해 증상이 일시적으로 경감되지만 완전히 치료되지는 않는다(13-15). 따라서 알레르기 매개물질인 히스타민이 방출되는 것을 예방하는 소재의 개발이 요구되며, 천연물 유래의 소재는 장기간 복용이 가능하고 부작용의 위험이 적으므로 다양한 천연식물을 이용한 효능 검색이 활발하게 이루어지고 있는 실정이다. 현재 잘 알려진 천연물 유래의 항알레르기 시료로는 단삼, 구절초, 자근, 도라지, 등골나무 등이 있다(16-20).

고장초(*Zizania latifolia*)는 못이나 도랑, 강가의 얇은 물 속에서 무리지어 자라는 벼과에 속하는 여러해살이 풀로, 줄 또는 줄풀이라고도 불린다.

고장초는 당뇨병, 고혈압, 중풍, 심장병, 변비, 비만, 동맥경화 등 여러 가지 질병에 뛰어난 효과가 있으며, 인체의 면역력을 키우는 데에 효력이 크다고 보고되고 있다. 또한, 농약중독이나 식중독, 화학약품 중독 같은 여러 가지 중독에 줄풀 뿌리를 달이거나 생즙으로 마셔 효과를 보았다고 한다(21,22). 그러나 이러한 고장초의 효능은 단지 민간에서만 인식되어 왔으며 과학적인 근거는 거의 없는 실정이나, 최근 들어 그 효능과 식품에의 응용에 관심이 증가되고 있다. 신경세포에 산화적 손상을 유발시켜 줄풀 뿌리 추출물을 처리하여 세포생존율, DNA fragmentation 및 세포고사와 관련된 유전인자들의 활성을 분석한 결과 유의한 결과를 얻었다는 보고가 있으며, 고장초와 발효고장초가 각각 신체적 지구력의 향상과 항피로효과를 가진다는 연구결과가 보고되었다(23,24).

따라서 본 연구에서는 고장초 추출물의 다양한 자극에 의해 유도되는 알레르기 반응에 대한 억제능을 알아보기 위하여, RBL-

*Corresponding author: Seun-Ah Yang, The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Tel: 82-53-580-6449

Fax: 82-53-580-6449

E-mail: seunahy@kmu.ac.kr

Received August 3, 2009; revised August 21, 2009;

accepted September 8, 2009

2H3 세포를 이용하여 비만세포의 활성화에 대한 저해효과를 검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료

고장초(*Zizania latifolia*)는 경상북도 경산시 하양읍에서 건조 상태인 것을 구입하였다. 건조된 시료 100 g에 30배의 메탄올을 첨가하여 24시간 동안 정치 추출 하고, 이를 3회 반복하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 3, Maidstone, England)로 여과한 다음 rotary vacuum evaporator(UT-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축한 후 동결건조하여 15.4 g의 추출물을 얻었으며, -20°C 에 보관하면서 사용하였다.

세포주 배양

본 연구에 사용한 RBL-2H3(KCLB No. 22256) 세포는 Rat 유래의 호염기성 세포주로 Korea Cell Line Bank(Seoul, Korea)로부터 분양받았으며, 10% fetal bovine serum과 1% streptomycin/penicillin이 함유된 MEM 배지를 배양액으로 하여 37°C , 5% CO_2 조건 하에서 배양하였다.

세포독성 측정

IgE 감작된 세포에 대한 고장초 추출물의 독성은 MTT assay 방법으로 측정하였다. 먼저 RBL-2H3 세포(3×10^4 cells/well)에 450 ng/mL의 DNP-specific IgE(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 처리하여 37°C , 5% CO_2 조건에서 하룻밤 배양한 후 여러 농도(10-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)의 고장초 추출물을 세포에 처리하였다. 12시간 후 각 well에 5 mg/mL 농도의 MTT 용액을 10 μL 씩 첨가하고 다시 4시간 동안 37°C incubator에서 배양하였다. 배지를 제거하고 100 μL 의 DMSO로 well에 생성된 formazan 결정을 완전히 용해시켜 ELISA reader(Spectra MAX 340 pc, Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포독성은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.

RBL-2H3 세포의 탈과립 관찰

RBL-2H3 세포를 24-well plate(2×10^5 cells/well)에 4시간 배양한 후, 200 μL 의 incubation buffer(119 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.4 mM MgCl_2 , 25 mM PIPES, 40 mM NaOH, 5.6 mM glucose, 1 mM CaCl_2 , 0.1% bovine serum albumin, pH 7.2)를 넣고 10분간 배양하였다. 0.1% DMSO 용액이나 농도별 시료 25 μL 를 각각 넣어 37°C 에서 10분간 반응시켰다. 반응 후, compound 48/80(Sigma) 용액 25 μL 를 첨가하여 20, 40분간 반응시켰다. 반응 후, 비만세포주의 형태를 도립현미경(DM IRE2, Leica, Wetzlar, Germany)으로 600배의 배율하에서 관찰하였다. 200배의 배율하에서 전체적인 탈과립 정도를 확인하였으며, 3회 실험으로 재현성을 확인하였다.

β -Hexosaminidase 측정

RBL-2H3 세포(2×10^5 cells/well)를 450 ng/mL의 IgE와 함께 CO_2 incubator에서 12시간 배양하여 세포를 감작시켰다. 감작시킨 세포를 siraganian buffer(119 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.4 mM MgCl_2 , 25 mM PIPES, 40 mM NaOH, pH 7.2)로 세척한 후, 각 well당 160 μL 의 siraganian buffer(119 mM NaCl, 5 mM KCl,

0.4 mM MgCl_2 , 25 mM PIPES, 40 mM NaOH, 5.6 mM glucose, 1 mM CaCl_2 , 0.1% bovine serum albumin, pH 7.2)를 넣고 20분간 배양하였다. 각 농도별 시료와 5 μM 의 wortmannin(Wako Pure Chemical Industries, Tokyo, Japan)을 넣어 10분간 반응시키고, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 DNP-BSA(Alpha Diagnostic International, San Antonio, TX, USA)를 첨가한 후 다시 10분간 배양하여 세포를 활성화시켰으며 ice bath에서 반응을 정지시켰다. 상층액 25 μL 를 96-well plate에 옮기고, substrate buffer(*p*-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide 1 mM in citrate buffer 0.1 M, pH 4.5) 25 μL 를 넣은 후 37°C 에서 1시간 반응시켰다. 반응 후, 각 well에 stop solution (0.1 M $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$, pH 10) 200 μL 를 첨가하여 반응을 정지시키고, ELISA reader를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

TNF- α 측정

RBL-2H3 세포를 24-well plate(2×10^5 cells/well)에 분주한 후 12시간 배양하였다. 새로운 MEM 배지에 시료를 농도별로 처리하고, A23187(1 μM)과 PMA(50 ng/mL)를 처리하여 4시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액을 분리하여 -70°C 에 보관하였다가 TNF- α ELISA kit(Invitrogen Corporation, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. ELISA reader를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 TNF- α 의 양을 계산하였다.

통계학적 분석

대조군과 고장초 추출물 처리군의 실험결과에 대한 통계처리는 Student's t-test로 비교하였다. 통계처리 후 *p*값이 0.05 미만일 경우(*p*<0.05) 통계적인 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

고장초 추출물의 세포독성

IgE로 감작된 RBL-2H3 세포에 대한 고장초 추출물의 독성 정도를 조사하기 위해 MTT assay를 수행하였으며, 그 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 세포생존율은 대조군에 대한 실험군의 세포 생존율을 백분율로 나타내었다. 고장초 추출물은 실험에 사용된 0-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 12시간 동안 어떠한 세포독성도 나타내지 않았다.

비만세포주 탈과립에 대한 고장초 추출물의 억제 효과

Compound 48/80은 formaldehyde에 의하여 cross-linked된 phenethylamine의 mixed polymer로 비만세포의 막수용체에 작용하여 세포 외의 칼슘을 세포 내로 유입시켜 세포 내 자유칼슘의 양을 증가시켜 비만세포의 탈과립을 유도한다(25,26). Compound 48/80을 처리하지 않은 정상 비만세포주의 형태는 원형 또는 난원형으로 세포 윤곽이 뚜렷하고, 매끄러운 표면을 갖는 반면, compound 48/80 처리로 활성화되어 탈과립이 일어난 세포의 형태는 세포 윤곽이 불분명하고 크기가 작으며, 세포질 내 과립들이 돌출되거나 세포주위에 흩어져 있는 것을 볼 수 있다(Fig. 2). Compound 48/80으로 처리하지 않고 시료만 처리한 경우, 탈과립은 일어나지 않아 세포의 형태에 변화가 없었으며, compound 48/80만 처리한 경우 수분 이내에 세포의 가장자리가 불규칙하게 되면서 일부 과립들이 세포표면으로 돌출되는 모습을 관찰할 수 있었다. 또한, 50 또는 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 고장초 추출물을 미리 처리한 경우에는 compound 48/80에 의한 세포의 탈과립이 농도 의존적으로 현저하게 억제되는 것을 관찰할 수 있었다.

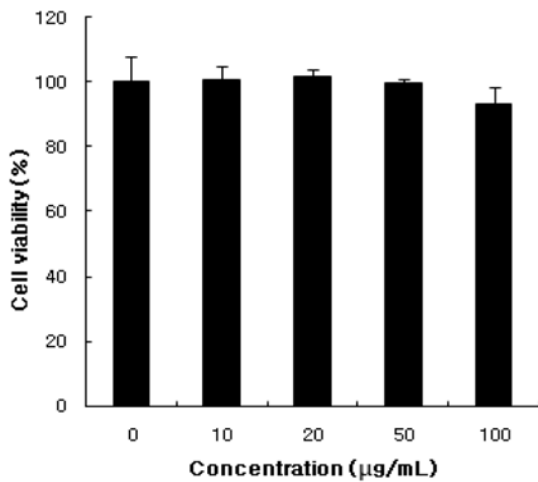


Fig. 1. Cytotoxic effects of *Zizania latifolia* extract on RBL-2H3 cells. RBL-2H3 cells (3×10^4 cells) were cultured with 450 ng/mL of DNP-specific IgE overnight. After treatment with varying doses of *Z. latifolia* extract, cells were cultured for 12h. The cytotoxicity of *Z. latifolia* extract on RBL-2H3 cells was determined by MTT assay. The value represents mean \pm SD of three different experiments.

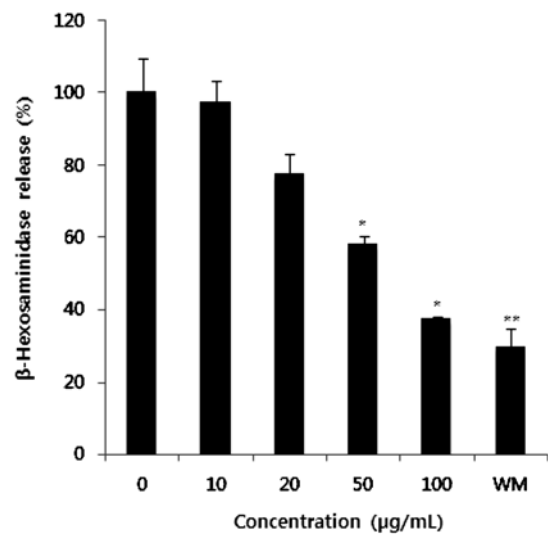


Fig. 3. Inhibitory effects of *Zizania latifolia* extract on β-hexosaminidase release from RBL-2H3 cells induced by IgE with DNP-BSA. RBL-2H3 cells (2×10^5 cells) were sensitized with 450 ng/mL of DNP-specific IgE overnight and pretreated with varying doses of *Z. latifolia* extract for 10 min. Cells were stimulated with 10 µg/mL of DNP-BSA for 10 min. The degranulation was determined by measurement of the activity of β-hexosaminidase in culture media. The value represents mean \pm SD of three different experiments. Wortmannin (WM, 2.14 µg/mL) was used as a positive control. *Values are significantly different from control (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

β-Hexosaminidase 방출에 대한 고장초 추출물의 억제 효과

비만세포가 함유하고 있는 과립에는 히스타민 및 tryptase 등 다양한 알레르기 증상을 유발하는 매개체들이 함유되어 있어 항원에 의한 이러한 매개체들의 분비를 확인하는 것은 매우 중요하다(27). β-Hexosaminidase는 비만세포가 면역학적으로 활성화될 때 히스타민과 함께 부수적으로 분비되므로 비만세포 탈과립의 표지인자로 널리 사용되고 있다(28,29). 따라서 RBL-2H3 세포에서 분비되는 β-hexosaminidase의 활성을 측정하였으며, 고장초 추출물에 의한 β-hexosaminidase 방출 억제 효과를 검색하였다. 10, 20, 50, 100 µg/mL 농도의 고장초 추출물이 처리된 세포에서 유리되는 β-hexosaminidase의 활성은 대조군에 비해 각각 97, 77, 58, 37%를 나타내어, 농도 의존적으로 감소함을 확인할 수 있었으며(Fig. 3), IC₅₀ 값은 73.8 µg/mL로 나타났다. 또한, 양성 대조군으로 사용된 2.14 µg/mL의 wortmannin은 29%를 나타내어 β-hexosaminidase의 방출을 강하게 억제시켜주는 것을 확인할 수 있었다.

고장초 추출물의 TNF-α 분비 억제 효과

TNF-α는 비만세포와 대식세포 등에서 생성되어 많은 염증반응을 유발하는 인자로, 국소적인 알레르기 염증반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(30). 따라서 고장초 추출물이 활성화된 비만세포로부터 분비되는 염증사이토카인인 TNF-α의 생성을 억제시켜줄 수 있는지 ELISA 방법으로 조사하였다. RBL-2H3 세포에서 분비된 TNF-α의 양은 아무런 처리를 하지 않은 경우 5.06 pg/mL로 매우 낮았으며, A23187와 PMA를 처리한 경우 87.14 pg/mL로 현저히 증가되는 것을 확인하였다. 반면 10, 50,

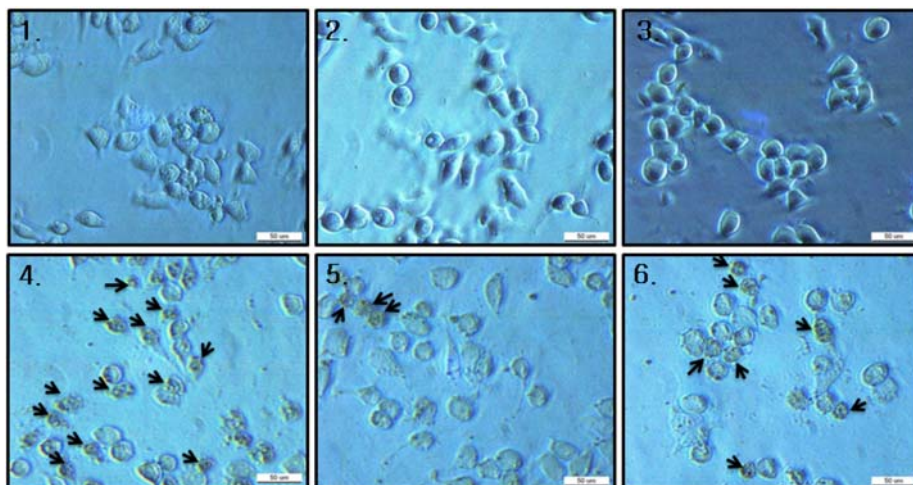


Fig. 2. Light microphotographs using inverted microscopy (magnification; $\times 600$) of RBL-2H3 cells without (1, 2, 3) or with (4, 5, 6) treatment of 50 µg/mL compound 48/80 for 40 min. The *Z. latifolia* extract were pretreated for 10 min (2, 5: 100 µg/mL, 3, 6: 50 µg/mL) prior to the stimulation with compound 48/80. Arrow shows degranulated cells.

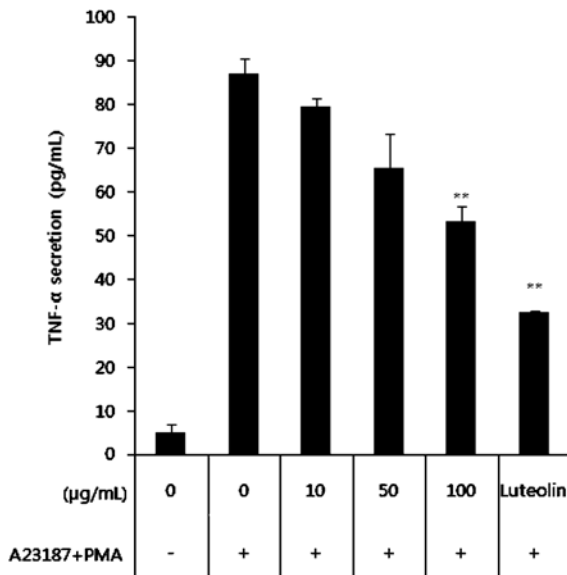


Fig. 4. Effects of *Zizania latifolia* extract on PMA plus A23187-induced cytokine production in RBL-2H3 cells. The RBL-2H3 cells (2×10^5 cells) were incubated overnight in 24-well plate. The cells were pretreated with various concentrations of *Z. latifolia* extract and then stimulated with PMA (50 ng/mL) plus A23187 (1 μ M) for 4 h. The level of cytokine in the supernatant was measured by using ELISA. The value represents the mean \pm SD of three independent experiments. Luteolin (1.43 μ g/mL) was used positive control. *Values are significantly different from control (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

100 μ g/mL의 고장초 추출물을 처리한 경우 각각 79.76, 65.38, 53.4 pg/mL로 측정되어, A23187와 PMA만 처리한 대조군에 비해 91.5, 75, 61.3% 억제시켜주는 것으로 나타나 농도 의존적으로 TNF- α 의 분비를 억제시켜주는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 양성 대조군으로 사용된 1.43 μ g/mL의 luteolin 처리군의 경우 TNF- α 의 양이 32.5 pg/mL로 나타나 대조군에 비해 37.3% 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

비만세포의 고친화성 IgE 수용체에 알레르겐이 결합하여 교차결합을 형성하면 세포막의 adenylate cyclase가 활성화되어 cAMP를 증가시키며, cAMP는 비활성 protein kinase를 활성화시키고, 활성화된 protein kinase는 과립의 물과 칼슘의 삼투압을 변화시켜 과립을 팽대시키고 세포막 융합을 일으켜 탈과립을 유도한다(31). 또한, 자극을 받은 비만세포는 MAPK 분자인 ERK를 인산화시키며 이는 NF- κ B를 활성화시켜 TNF- α , IL-6, IL-8과 같은 염증 사이토카인의 유전자 발현을 증가시킨다(32).

현재 항알레르기 효과가 보고된 성분으로는 울금에서 분리된 polyphenol인 curcumin(33), 감귤류에서 분리된 flavonoid류인 natsudaidain(34), 망고스틴에서 분리된 xanthone류 성분인 mangostin(35), 등골나무에서 분리된 sesquiterpene lactone류(18)와 도라지에서 분리된 saponin 성분들이 있다(19). 그러나 현재의 결과만으로는 고장초의 어떠한 성분이 항알레르기 효과를 나타내는지 추측하기 어렵다. 따라서 고장초의 탈과립억제 효과에 대한 작용 기전을 구체적으로 연구하기 위해서는 고장초로부터 항알레르기 활성을 가지는 성분을 분리하고, 이를 이용하여 세포 내 신호전달 기전에 미치는 영향에 대해 연구할 필요가 있는 것으로 생각된다.

요 약

고장초 메탄올 추출물의 항알레르기 활성을 조사하기 위해, 비만세포주인 RBL-2H3 세포를 이용하였으며, 고장초 추출물을 처리한 후 IgE-항체, A23187 및 PMA를 이용하여 세포를 활성화시켜 분비되는 β -hexosaminidase, TNF- α 의 양을 측정하였다. 그 결과 고장초 추출물이 활성화된 비만세포에서 분비되는 β -hexosaminidase, TNF- α 를 농도 의존적으로 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 비만세포에 탈과립이 발생할 경우 나타나는 형태학적 변화에 대한 시료의 영향을 검색하기 위해 고장초 추출물을 처리한 세포에 compound 48/80을 처리하였으며, 그 결과 고장초 추출물을 처리한 경우 대조군에 비해 탈과립이 현저히 억제되는 것을 관찰하였다. 따라서 고장초 추출물은 다양한 자극으로 인한 비만세포의 탈과립 저해를 통해 알레르기 반응을 억제시키는 것으로 판단되며, 본 연구결과는 고장초의 항알레르기 기능성 소재로의 이용 가능성을 시사해준다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원과 산업자원부 지정 계명대학교 전통 미생물 자원개발 및 산업화 연구센터의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

문 헌

- Patterson R, Dykewicz MS, Grammer LC, Greenberger PA, Lawrence ID, Walker CL, Wong S, Zeiss CR. Classification of immediate-type, life-threatening allergic or pseudoallergic reactions. *Chest* 98: 257-259 (1990)
- Coombs RRA, Gell PGH. Classification of Allergic Reactions Responsible for Clinical Hypersensitivity and Disease. *Clinical Aspects of Immunology*, 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, London, UK. pp. 761-779 (1975)
- Siraganian RP, Hook WA, Levine BB. Specific *in vitro* histamine release from basophils by bivalent hapten: The evidence for activation by simple bridging of membrane bound antibody. *Immunology* 12: 149-157 (1975)
- Ahn KM. Role of mast cells in allergic inflammation and innate immunity. *Korean J. Pediatr.* 47: 1137-1141 (2004)
- Schroeder JT, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. The role of the basophil in allergic inflammation. *Allergy* 50: 463-472 (1995)
- Beaven MA, Rogers J, Moore JP, Hesketh TR, Smith GA, Metcalfe JC. The mechanism of the calcium signal and correlation with histamine release in 2H3 cells. *J. Biol. Chem.* 259: 7129-7136 (1984)
- Shakoory B, Fitzgerald SM, Lee SA, Chi DS, Krishnaswamy G. The role of human mast cell-derived cytokines in eosinophil biology. *J. Interf. Cytok. Res.* 245: 271-281 (2004)
- Salamon P, Shoham NG, Gavrieli R, Wolach B, Mekori YA. Human mast cells release interleukin-8 and induce neutrophil chemotaxis on contact with activated T cells. *Allergy* 60: 1316-1319 (2005)
- Metcalfe DD, Kaliner M, Donlon MA. The mast cell. *Crit. Rev. Immunol.* 3: 23-74 (1981)
- Chand N, Pillar J, Diamantis W, Perhach JL, Sophia RD. Inhibition of calcium ionophore (A23187) stimulated histamine release from rat peritoneal mast cells by azelastine: Implications for its mode of action. *Eur. J. Pharmacol.* 96: 227-233 (1983)
- Takei M, Umeyama A, Shoji N, Arihara S, Endo K. Mechanism of inhibition of IgE-dependent histamine release from rat mast

- cells by penasterol and penasterone. *J. Pharm. Sci.* 84: 228-230 (1995)
12. Passante E, Ehrhardt C, Sheridan H, Frankish N. RBL-2H3 cells are an imprecise model for mast cell mediator release. *Inflamm. Res.* 58: 611-618 (2009)
 13. Hirayama K, Sudo N, Sueyasu M, Sonoda J, Chida Y, Oishi R, Kubo C. Endogenous glucocorticoids inhibit scratching behavior induced by the administration of compound 48/80 in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 481: 59-65 (2003)
 14. Singh R, Nath A, Gupta PP, Shulka M, Khare SK, Kundu B. Antiallergic/antiasthmatic activity of oligopeptide related to IgE. *Pharmacol. Res.* 37: 353-356 (1998)
 15. Speyer CL, Steffes CP, Ram JL. Effects of vasoactive mediators on the rat lung pericyte: Quantitative analysis of contraction on collagen lattice matrices. *Microvasc. Res.* 57: 134-43 (1999)
 16. Kim YM. *Salviae radix* suppresses mast cell-mediated allergic response: Inhibition of Src-family kinase. *Yakhak Hoeji* 52: 370-375 (2008)
 17. Lee JH, Seo JY, Ko NY, Chang SH, Her E, Park TK, Lee HY, Han JW, Kim YM, Choi WS. Inhibitory activity of *Chrysanthemi sibirici herba* extract on RBL-2H3 mast cells and compound 48/80-induced anaphylaxis. *J. Ethnopharmacol.* 95: 425-430 (2004)
 18. Kim EK, Kim EY, Moon PD, Um JY, Kim HM, Lee HS, Sohn YJ, Park SK, Jung HS, Sohn NW. *Lithospermi radix* extract inhibits histamine release and production of inflammatory cytokine in mast cells. *Biosci. Biotech. Biochem.* 71: 2886-2892 (2007)
 19. Han EH, Park JH, Kim JY, Chung YC, Jeong HG. Inhibitory mechanism of saponins derived from roots of *Platycodon grandiflorum* on anaphylactic reaction and IgE-mediated allergic response in mast cells. *Food Chem. Toxicol.* 47: 2067-2075 (2009)
 20. Itoh T, Oyama M, Takimoto N, Kato C, Nozawa Y, Akao Y, Iinuma M. Inhibitory effects of sesquiterpene lactones isolated from *Eupatorium chinense* L. on IgE-mediated degranulation in rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice. *Bioorg. Med. Chem.* 17: 3189-3197 (2009)
 21. Ko KS. *Ga-eul e kot pinun yaseng sikmul* (Autumn-blooming wild plant). Iljinsa, Seoul, Korea. p. 56 (2004)
 22. Choi JK. 2th ed. *Yak i doinun uri pul, kot, namu* (Medicinal herb, flower, tree in Korea). Hanmunhwa, Seoul, Korea. pp. 141-147 (2003)
 23. Park WH, Cha YY. Inhibitory effect of *Zizania latifolia* on apoptosis induced by H₂O₂ in Neuro2A cell. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* 19: 1062-1067 (2005)
 24. Song YH. Anti-fatigue effect of *Zizania caudiflora* (Turczaninow) Nakai the forced swimming test in ICR mice. Master Thesis Graduate School of Kyung-Hee University, Seoul, Korea (2009)
 25. Kang KJ, Chai OH, Choi MH, Shin IH, Lee MS, Jun BD. Inhibitory effect of *Cortex mori* on compound 48/80-induced histamine release and cAMP level of rat peritoneal mast cells. *Korean J. BRM* 4: 111-122 (1994)
 26. George WD, Steven MH, Edgar FK. Competitive inhibition of 48/80-induced histamine release by benzalkonium chloride and its analogs and the polyamine receptor in mast cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 222: 652-661 (1982)
 27. Gilfillan AM, Tkaczyk C. Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nat. Rev. Immunol.* 6: 218-230 (2006)
 28. Marquardt DL, Wasserman SI. Modulation of rat serosal mast cell biochemistry by *in vivo* dexamethasone administration. *J. Immunol.* 131: 934-939 (1983)
 29. Mastuda H, Morikawa T, Ueda K, Managi H, Yoshikawa M. Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen-induced degranulation, TNF- α and IL-4 production from RBL-2H3 cells. *Bioorg. Med. Chem.* 10: 3123-3128 (2002)
 30. Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. Mast cells as a source multifunctional cytokines. *Immunol. Today* 11: 458-464 (1990)
 31. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. *Kuby Immunology*. 4th ed. Macmillan, New York, NY, USA. pp. 401-404 (1999)
 32. Azzolina A, Guarneri P, Lampiasi N. Involvement of p38 and JNK MAPKs pathways in substance P-induced production of TNF- α by peritoneal mast cells. *Cytokine* 18: 72-80 (2002)
 33. Kim NW. Inhibitory mechanism of curcumin on activation of mast cells for anti-allergic activity. Master Thesis Graduate School of Kon-Kuk University, Seoul, Korea. (2007)
 34. Matsui T, Ito C, Itoigawa M, Okada T, Furukawa H. Effect of natsudaidin isolated from *Citrus* plants on TNF- α and cyclooxygenase-2 expression in RBL-2H3 cells. *J. Pharm. Pharmacol.* 61: 109-114 (2009)
 35. Itoh T, Ohguchi K, Iinuma M, Nozawa Y, Akao Y. Inhibitory effect of xanthones isolated from the pericarp of *Garcinia mangostana* L. on rat basophilic leukemia RBL-2H3 cell degranulation. *Bioorg. Med. Chem.* 16: 4500-4508 (2008)