

만병초와 구상나무 추출물의 RBL-2H3 세포 탈과립, 사이토카인 유전자 발현에 미치는 영향*1

정의만*2 · 김재우*3 · 박미진*3 · 이성숙*3 · 최돈하*3 · 이정복*4 · 정의배*2†

Inhibitory Effect of Extracts from *Rhododendron Brachycarpum* and *Abies Koreana* E.H. Wilson on Degranulation and Cytokine Expression in RBL-2H3 Cells*1

Eui-Man Jung*2 · Jae-Woo Kim*3 · Mi-Jin Park*3 · Sung-Suk Lee*3 ·
Don-Ha Choi*3 · Jungbok Lee*4 · Eui-Bae Jeung*2†

요 약

본 연구는 만병초와 구상나무 추출물의 항알러지 효과에 대해 조사하였다. 비만세포 RBL-2H3에 concanavalin A (Con A)를 처리하여 면역반응을 유도한 후 만병초와 구상나무 추출물을 농도별로 처리하여 real-time PCR을 이용하여 IL-4, IL-13의 mRNA 발현량을 확인하였다. 또한 β -hexosaminidase 분비를 측정하여 탈과립 유도효과를 평가하였다. IL-4의 발현은 만병초 10^{-7} , 10^{-5} , $10^{-3}\%$ 농도와 구상나무의 모든 농도에서 유의성 있게 감소하였으며, IL-13의 발현은 만병초와 구상나무 모든 농도에서 유의성 있게 감소되었다. 만병초 추출물과 구상나무 추출물의 10^{-5} , $10^{-3}\%$ 농도에서는 β -hexosaminidase 분비가 유의성 있게 감소하였다.

이러한 결과를 통해 만병초와 구상나무 추출물이 면역반응 표적유전자의 발현을 감소시키고 면역반응에 의해 유도되는 탈과립유도 효과도 감소시킴을 확인할 수 있었다. 이는 만병초와 구상나무 추출물이 항알러지 효과가 있음을 제시하는 결과이다.

*1 접수 2013년 9월 13일, 채택 2013년 11월 13일

*2 충북대학교 수의과대학 수의학과, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk, 361-763, Republic of Korea

*3 국립산림과학원 임산공학부, Department of Forest Products, Korea Forest Research Institute, Seoul, Republic of Korea

*4 소니메디, Sonimedi co., Ltd., Sangji university road 83, Woosan-dong, Wonju-city, Kangwon-do, Republic of Korea

† 교신저자(corresponding author) : 정의배(E-mail : ebjeung@cbnu.ac.kr)

ABSTRACT

Ethanol extracts from *Rhododendrom brachycarpum* and *Abies koreana* were investigated for their anti-allergic activities using RBL-2H3 cell line. After treatment with ethanol extracts of various concentrations on the immune response induced mast cell by concanavalin A (Con A), the expressions of cytokine interleukin-4 (IL-4), interleukin-13 (IL-13) were determined by using RT-PCR and the degranulation of mast cells was determined by measuring β -hexosaminidase release. Expression level of IL-4 was decreased by the extract from *Rhododendrom brachycarpum* in 10⁷, 10⁵ and 10³% concentrations. Expression level of IL-13 was also decreased by both extracts. β -Hexosaminidase release by RBL-2H3 cells was inhibited at the 10⁵ and 10³% concentration of extracts from *Rhododendrom brachycarpum* and *Abies koreana*, respectively.

These results demonstrate that ethanol extracts of *Rhododendrom brachycarpum* and *Abies koreana* exert anti-allergic effects by regulating the reduction of IL-4 and IL-13 genes expression and also the secretion of β -hexosaminidase.

Keywords: *Rhododendrom brachycarpum*, *Abies koreana* E.H. Wilson, IL-4, IL-13, β -hexosaminidase, extractives, anti-allergic activity

1. 서 론

비만세포는 결합조직과 점막에 주로 존재하며 인체의 광범위한 부위에 분포하는 세포로서, 세포질 내에 과립을 풍부하게 가지고 있다. 이들 세포는 다양한 외부자극에 의해 염증을 유발하고 면역을 조절하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[1]. 이들 세포는 표면의 high-affinity IgE receptor (Fc ϵ RI) 수용체에 안티젠과 IgE가 반응하여 과립 내 화학매개체와 사이토카인 등을 분비하여 알레르기 염증의 초기 및 후기 반응을 일으키고 지속적으로 염증을 일으키는데 중요한 역할을 한다[2]. 비만세포 과립 내 화학매개체에는 히스타민, proteoglycan, serine proteases, carboxypeptidase A, sulfatases, exoglycosidases 등이 존재하며 비만세포가 활성화되면 이들 화학매개체들은 세포 밖으로 유리된다. 또한 비만세포는 interleukin (IL)-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-16, tumor necrosis factor- α (TNF- α), vascular permeability factor/vascular endothelial cell growth factor (VPF/VEFG), granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), stem cell factor (SCF), basic fibroblast

growth factor (bFGF), monocyte inhibitory protein-1 α (MIP-1 α) 등의 다양한 사이토카인을 생산, 분비한다[3].

비만세포는 천식, 비염, 아토피피부염 등의 알레르기 질환 발생에 중요한 역할을 한다. 이들 환자에게서는 복합적인 원인으로 인해 지속적으로 비만세포에 안티젠과 IgE가 반응을 하여 비만세포가 활성화 되어있으며[4], 이들 세포의 활성화를 통해 분비되는 IL-4, IL-13, IL-6 등은 Th2 세포의 반응을 증가시키고, 결국 IgE의 생산을 증가시킴으로써 만성 알레르기 반응을 일으킨다[5]. 이들 질환 처방에는 주로 스테로이드, 항히스타민 계열의 약물이 이용되고 있으나 이들 약물에 의해 여러 부작용이 유발되고 있다. 스테로이드계 약물의 경우에는 장기간 복용 시에 피부위축과 모세혈관의 확장 등의 부작용이 일어나며, 항히스타민계 약물의 경우에는 진정작용이 있어 졸음을 유발하거나 집중력이 떨어지는 부작용을 유발하고 있다. 따라서 최근에는 알레르기 질환에 대한 신약 개발에 부작용이 적을 것으로 예상되는 천연추출물을 이용하여 신약을 개발하려는 많은 연구가 이루어지고 있다.

진달래속(Rhododendron)에 속하는 만병초(*Rhodo-*

dendron brachycarpum)와 소나무과 전나무속에 속하는 구상나무(*Abies koreana* E.H. Wilson)는 고산수종으로 만병초의 경우 해발 1,000 m 이상, 구상나무의 경우 약 500~1500 m의 고지대에 자생한다. 만병초와 구상나무 모두 희귀종이어서 주로 수목의 생육환경, 분포, 형태적 형질과 관련된 분류학적 연구, 재배 육종에 관한 연구가 주로 이루어졌으며[6,7,8,9,10,11], 함유성분이나 추출물의 생리활성에 대한 연구는 많이 이루어져 있지 않다.

구상나무(*A. koreana* Wilson)에 대한 화학적 성분이나 생리활성에 대한 연구 자료는 많지 않다. 구상나무 잎에 리그난뿐만 아니라[12], α -pinene, camphene, limonene, bornyl acetate, borneol과 같은 여러 monoterpene류의 물질과 페놀성화합물이 함유되어 있으며[13,14,15], monoterpene으로 구성된 구상나무 잎 정유가 피부병원균이나 *E. coli*, MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 등의 다양한 미생물에 활성을 가지고 있다고 알려져 있다[16,17,18,19,20]. 또한 구상나무 잎 추출물은 nitric oxide의 생성이나 암세포에 대한 억제효과가 있다고 보고되어 있다[21,22].

만병초는 민간에서 관절통, 신경통, 고혈압, 강장제, 이뇨제로 효과가 있다고 알려져 있으므로[23,24], 다양한 생약적 기능이나 생리활성을 갖고 있을 것으로 보이나 과학적으로 증명된 연구 결과들이 거의 없다. 만병초 잎에 quercetin, avicularin, quercitrin, hyperin 등의 플라보노이드 화합물이나 terpenes류의 물질이 함유되어 있으며[25,26], 만병초 추출물의 경우, *B. cereus*, *E. coli* O157:H7 등과 같은 미생물에 대한 항균활성[27], 활성산소의 생성이나 radical 생성을 억제시키는 항산화 효과, 암세포에 대한 항암 효과가 있다는 연구만 보고되고 있는 실정이다[26,28,29].

본 연구에서는 비만세포주인 RBL-2H3 세포에 알러젠을 이용하여 면역 반응을 유발하고 비만세포 탈과립과 IL-4, IL-13의 싸이토카인 발현에 만병초(*Rhododendron brachycarpum*)와 구상나무(*Abies koreana* E.H. Wilson)의 천연추출물이 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다. 이를 통해 만병초와 구상나무 추출물의 항알러지 효과를 구명하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료 추출

구상나무 잎과 만병초 잎을 강원도 인제에서 채취하였다. 구상나무 잎은 1~2 cm 크기로 세절하였고, 만병초 잎은 분쇄기(한일)로 조분쇄하여 사용하였다. 구상나무 잎과 만병초 잎 각 1 kg에 70% 에탄올 8 l를 넣고 60°C에서 4시간 초음파열병합추출기(SM35EP, sonimedi, Korea)로 초음파 추출한 후 여과지(whatman, No. 2)로 여과하였다. 여과액을 저온농축(rotary evaporator, Asai co. Japan)하여 50 brix/%의 구상나무 잎 농축엑스와 35 brix/%의 만병초 잎 엑스를 제조하여 실험에 사용하였다.

2.2. RBL-2H3 세포 배양

RBL-2H3 (rat mast cell line)세포는 한국세포주은행(Korea Cell Line Bank, KCLB)에서 구입하여 배양하였다. 세포의 배양을 위하여 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin 및 100 μ g/ml streptomycin이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)에 5% CO₂ 조건과 37°C에서 배양하였다. 세포의 증식에 따른 과밀도 현상을 해소하기 위하여 0.05% trypsin-EDTA solution을 처리하여 세포를 부유시킨 후 계대 배양하였다.

2.3. 세포증식력 측정

RBL-2H3 세포를 10% FBS를 포함한 DMEM에 현탁시킨 후 96 well plate (Corning, NY, USA)에 1×10^4 cells/well 세포 수가 되도록 분주하여 5% CO₂ 조건과 37°C에서 24 시간 배양하였다. 만병초와 구상나무 추출물을 농도별로 처리한 후 24시간 동안 반응시켰다. 반응 후 Cell Counting Kit-8 (Dojindo Laboratories, Tokyo, Japan)을 1시간 동안 처리한 후 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 평균값과 표준 편차를 구하였다.

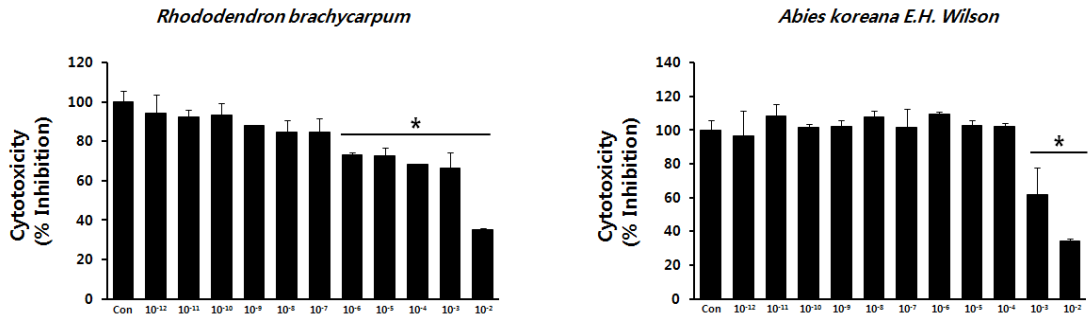


Fig. 1. Effects of *Rhododendron brachycarpum* and *Abies koreana* E.H. Wilson on cell viability. RBL-2H3 cells (1×10^4 cells/well) were treated with the indicated concentrations (10^{-6} to $10^{-2}\%$) of *Rhododendron brachycarpum* and *Abies koreana* E.H. Wilson for 24 hrs. Cell viability was evaluated using a Cell Counting Kit-8. Results represent as the mean \pm SD. * $p < 0.05$ vs control group. The absorbance was measured using microplate reader at 450 nm.

2.4. RNA 추출 및 Real-time PCR

RBL-2H3 세포를 10% FBS를 포함한 DMEM에 현탁시킨 후 6 well plate (Corning, NY, USA)에 1×10^6 cells/well의 세포수가 되도록 분주하였다. 24 시간 후 concanavalin A ($25 \mu\text{g}/\text{m}\ell$)를 1시간 동안 처리하여 면역반응을 유도하였다. 그 후 PBS로 2회 세척한 다음 농도별 만병초와 구상나무 추출물, 면역억제제 CsA (cyclosporin A, $1 \mu\text{g}/\text{m}\ell$)를 1시간 동안 처리하였다. 상층액을 제거한 후 PBS로 2회 세척한 다음 total RNA를 분리하였다. Total RNA는 TriZol (Invitrogen Life Technologies, USA)을 이용하여 분리하였으며, 260 nm 흡광도에서 total RNA 농도값을 얻었다. Total RNA $1 \mu\text{g}$ 에 300 ng의 oligo (dT)와 reverse transcriptase를 넣어 37°C 에서 1시간 동안 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 합성한 cDNA $1 \mu\ell$, 각각의 primer $0.4 \mu\ell$ (forward (F)와 reverse (R), 10 pmol), SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa Bio Inc., Otsu, Shiga, Japan) $10.4 \mu\ell$ 에 더한 후 RNase-free water $7.8 \mu\ell$ 를 넣어 최종부피 $20 \mu\ell$ 로 맞춘 후 Real-time PCR를 수행하였다. 본 실험에서 사용한 primer는 아래와 같다. cytochrome c oxidase subunit 1 (1A),
 F, 5' -ccagggttgggaattatttc-3' 그리고
 R, 5' -gaagataaacctaaggctc-3' ; IL-4,

F, 5' -tgatgtacctccgtgctga-3' 그리고
 R, 5' -aggacatggaagtgcaggac-3' ; IL-13,
 F, 5' -ctggaatccctgaccaacat-3' 그리고
 R, 5' -ccatagcggaaaagttgctt-3' . Real-time PCR 조건은 보면, 94°C 에서 10분, 94°C 에서 15초, 58°C 에서 15초, 72°C 에서 30초이다.

2.5. β -Hexosaminidase 분비 측정

RBL-2H3 세포에서 β -hexosaminidase 분비를 측정하기 위하여 48 well plates에 2×10^5 cells/well 세포수로 24시간 동안 배양하였다. 그 후 DNP-specific IgE($1 \mu\text{g}/\text{m}\ell$, Sigma, USA)로 24시간 동안 자극하고 Tyrodes' assay buffer (119 mM NaCl, 4.74 mM KCl, 2.5 mM CaCl_2 , 1.19 mM MgSO_4 , 10 mM HEPES, 5 mM glucose, 0.1% (w/v) BSA, pH 7.3)로 2회 세척하였다. 그 후 농도별 만병초, 구상나무 추출물과 DNP-BSA ($10 \mu\text{g}/\text{m}\ell$, Sigma)를 1시간 동안 처리하였다. 상층액을 96 well plates에 $20 \mu\ell$ 씩 분주한 뒤 기질인(1 mM p-nitrophenyl N-acetyl-beta-D-glucosamine in 0.05 M citrate buffer, pH 4.5)을 $80 \mu\ell$ 넣고 37°C 에서 1시간 동안 방치하였다. 그 후 0.05 M sodium bicarbonate buffer (pH 10.0)를 $200 \mu\ell$ 넣어 반응을 멈춘 후 흡광도 405 nm에서 측정하였다.

만병초와 구상나무 추출물의 RBL-2H3 세포 탈과립, 사이토카인 유전자 발현에 미치는 영향

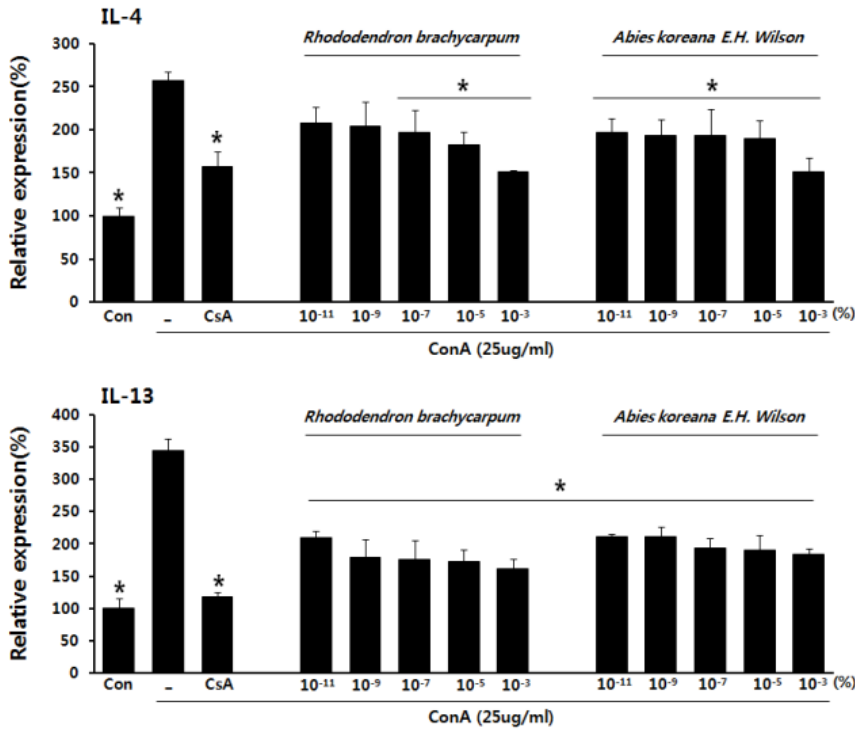


Fig. 2. Effects of *Rhododendron brachycarpum* and *Abies koreana* E.H. Wilson on the expression of IL-4 and IL-13. Isolated mRNA was analyzed by real-time PCR for IL-4, IL-13, and 1A. Results were internally confirmed by comparative cycle count (Ct, cycle number threshold) against 1A as the internal control gene. 25 $\mu\text{g}/\text{m l}$ ConA (concanavalin A-activated group) was used as a calibrator for a relative comparison of each group. CsA was used as a positive control. Results are mean \pm S.D. *p < 0.05 vs ConA group.

2.6. 통계처리

자료의 분석은 Tukey's test를 이용하였으며, 대조군과 실험군과의 비교 유의성 확인은 $p < 0.05$ 이하 값으로 표기하여 유의성을 결정하였다. 분석은 모두 Prism GraphPad (v5.0)를 이용하였다.

추출물을 10^{-12} 에서 10^{-2} %까지 농도별로 처리하였다. 그 결과, 만병초는 10^{-6} ~ 10^{-2} %에서 구상나무는 10^{-3} 과 10^{-2} %에서 유의성 있게 세포생존이 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 1). 본 실험 결과를 바탕으로 다음 실험에는 만병초와 구상나무 모두 10^{-11} , 10^{-9} , 10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-3} %의 농도를 사용하여 진행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 세포생존에 미치는 영향

만병초와 구상나무 추출물이 RBL-2H3 세포 생존에 미치는 영향을 알아보기 위해 만병초와 구상나무

3.2. IL-4와 IL-13 유전자 발현에 미치는 영향

RBL-2H3 세포를 항원(Con A)으로 자극하고 만병초와 구상나무 추출물을 처리하여 IL-4와 IL-13의 유전자 발현양을 확인한 결과, 항원으로 인해 증

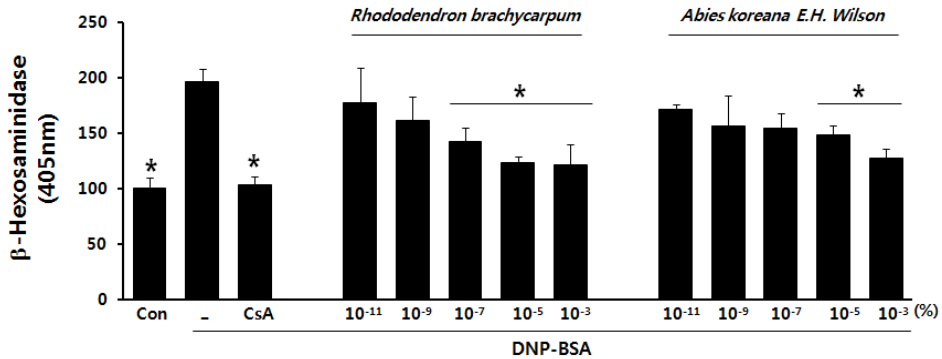


Fig. 3. Inhibition effects of *Rhododendron brachycarpum* and *Abies koreana* E.H. Wilson on the release of β -hexosaminidase. RBL-2H3 cells (2×10^5 cells/well) were sensitized with $1 \mu\text{g}/\text{m} \ell$ of DNP-specific IgE overnight and treated with varying doses of extract (10^{-11} , 10^{-9} , 10^{-7} , 10^{-5} , $10^{-3}\%$) for 1 hr. Cells were stimulated with $10 \mu\text{g}/\text{m} \ell$ of DNP-HSA for 1 hr. The absorbance was measured using a microplate reader at 405 nm. CsA was used as a positive control. Results are mean \pm S.D. (n = 3). *p < 0.05 vs DNP-HSA group.

가한 IL-4 유전자의 발현은 면역억제제인 CsA와 만병초 추출물 10^{-7} , 10^{-5} , $10^{-3}\%$ 의 농도에서 유의성 있게 발현이 감소하였으며, 구상나무 추출물 경우에는 모든 농도에서 유의성 있게 발현이 감소하였다. 또한, 항원으로 인해 증가한 IL-13 유전자의 발현은 CsA, 만병초와 구상나무 추출물 모든 농도에서 유의성 있게 발현이 감소하였다(Fig. 2). 면역반응에서 IL-4 유전자의 발현 증가는 IgE 생산을 위한 B세포를 활성화시키고, IL-13 유전자의 발현 증가는 IL-4 receptor와 결합하여 IgE 활성을 유도하는데 중요한 인자이다[30,31]. 이처럼 IL-4와 IL-13 유전자의 발현은 IgE의 활성화에 영향을 미친다.

본 연구결과에서 만병초와 구상나무 추출물은 IL-4와 IL-13 유전자 발현을 유의성 있게 감소시켰다. 이들 유전자의 감소는 IgE의 활성 감소로 이어질 것으로 사료된다. 따라서 IgE의 활성이 증가되어 있는 알레르기 질환에 만병초와 구상나무 추출물은 면역억제 효과를 가지고 있다고 볼 수 있다.

3.3. β -Hexosaminidase 분비에 미치는 영향

항원-항체 반응에 의한 β -hexosaminidase 분비

에 미치는 만병초와 구상나무 추출물의 효과를 관찰한 결과, 만병초 추출물 10^{-7} , 10^{-5} , $10^{-3}\%$ 의 농도에서 유의성 있게 β -hexosaminidase 분비가 감소하였다. 또한 구상나무 추출물 10^{-5} 와 $10^{-3}\%$ 의 농도에서 유의성 있게 β -hexosaminidase 분비가 감소하였다(Fig. 3). 비교구로 사용된 면역억제제 CsA (cyclosporin A) 처리구는 면역반응을 야기하지 않은 무처리구(control)의 β -hexosaminidase 분비량과 유사하였다. 만병초와 구상나무 추출물은 CsA의 효과에는 미치지 못하였다. 그러나 $10^{-3}\%$ 농도로 만병초와 구상나무 추출물을 처리하였을 때 면역반응을 통해 증가된 β -hexosaminidase 분비량을 각각 77%, 72% 감소시켰다. β -Hexosaminidase는 비만세포의 히스타민이 저장된 과립 안에 존재하며 면역반응에 의해 세포 밖으로 분비되므로 탈과립의 지표로 이용되어 지고 있다[32]. 본 연구결과에서 β -hexosaminidase 분비는 만병초와 구상나무 추출물에 의해 유의성 있게 감소하였다. 따라서 만병초와 구상나무 추출물은 면역반응을 억제할 수 있는 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 만병초와 구상나무 추출물이 RBL-2H3 세포 탈과립 및 싸이토카인 유전자 발현에 어떠한 영향을 미치는지 알아보았다. 평가 지표로는 싸이토카인 IL-4, IL-13 유전자의 발현과 β -hexosaminidase 분비를 가지고 평가를 실시하였다. 그 결과 만병초와 구상나무 추출물에 의해 IL-4와 IL-13 표적 유전자의 발현이 감소되었으며, 면역 반응에 의해 유도되는 탈과립 유도 효과도 만병초와 구상나무 추출물에 의해 감소되었다. 이상의 결과 만병초와 구상나무 추출물이 알러지에 의해 유도된 염증 반응을 억제하는 효과를 가지고 있다고 판단된다.

참 고 문 헌

- Prussin C, and D. D. Metcalfe. 2003. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111(2 Suppl): S486~494.
- Pulendran B, and S. J. Ono. 2008. A shot in the arm for mast cells. *Nature Medicine* 14(5): 489~490.
- Schwartz L. B, and T. F. Huff. 1998. Biology of mast cells. In : Middleton E, editor. *Allergy : Principles and practice*. 5th ed. Mosby : St. Louis, 261~276.
- Bardana Jr. E.J. 2004. Immunoglobulin E(IgE) and non-IgE-mediated reactions in the pathogenesis of atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS). *Allergy* 59: 25~29.
- Toru H, R. Pawankar. C. Ra, J. Yata, and T. Nakahata. 1998. Human mast cells produce IL-13 by high-affinity IgE receptor cross-linking : enhanced IL-13 production by IL-4-primed human mast cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 102: 491~502.
- 이병철, 심이성. 2011. 만병초 자생지의 환경생태학적 특성. *한국환경과학회지* 20(10): 1319~1328.
- 김인식, 현정오. 2000. RAPD 분석에 의한 구상나무 천연집단의 유전적 다양성. *한국육종학회지* 32(1): 12~18.
- 김갑태, 추갑철. 2000. 지역별 구상나무 생육현황 비교. *한국환경생태학회지* 14(1): 80~87.
- 송정호, 장경환, 허성두. 2010. 한국특산 구상나무 천연집단의 종자·발아특성 변이. *한국임학회지* 99(6): 849~854.
- 이윤원, 홍성천. 1995. 구상나무림의 군락생태학적 연구. *한국임학회지* 84(2): 247~257.
- 박종희, 김진수, 정애영, 難破 桓雄. 1995. 만병초의 생약학적 연구. *생약학회지* 26(2): 168~174.
- 김윤근. 1997. 구상나무의 추출성분에 대한 연구: 리그난에 관하여. *목재공학* 25(4): 1~9.
- 김윤근, 문창국. 1994. 智異山産 구상나무의 정유특성에 관한 연구. *한국펄프종이공학회* 26(3): 15~24.
- 이상국, 최돈하, 배영수. 2006. 국내산 주요 침엽수 잎의 추출성분(I): 구상나무(*Abies koreana* Maximowicz)와 전나무(*Abies holophylla* Wilson) 잎 추출성분의 향산화 활성. *목재공학* 34(3): 73~83.
- Szymon B, H. Stephan. 2007. von Reuss, Wilfried A. König and Danuta Kalembe. Composition of the essential oil of *Abies koreana* Wils. *Flavour and Fragrance Journal* 22: 78~83.
- Jeong, S.-I., J.-P. Lim, and H. Jeon. 2007. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oil from *Abies koreana*. *Phytotherapy Research* 21: 1246~1250.
- Lee, J.-H. and S.-K. Hong. 2009. Comparative analysis of chemical composition and antimicrobial activities of essential oils from *Abies holophylla* and *Abies koreana*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 19(4): 372~377.
- Oh H. J., H. M. Ahn, K. H. So, S. S. Kim, P. Y. Yun, G. L. Jeon, and K. Z. Riu. 2007. Chemical and antimicrobial properties of essential oils from three coniferous trees *Abies koreana*, *Cryptomeria japonica*, and *Torreya nucifera*. *Journal of Applied Biological Chemistry* 50(3): 164~169.
- Yoon, W.-J., S.-S. Kim. T.-H. Oh, N. H. Lee, and C.-G. Hyun. 2009. *Abies koreana* essential oil inhibits drug-resistant skin pathogen growth and LPS-induced inflammatory effects of murine macrophage. *Lipids* 44: 471~476.
- 김윤근, 조종수, 문창국. 1998. 구상나무(*Abies koreana* Wilson) 정유의 항균활성과 성분분석. *농업연구소보* 32: 7~14.
- Kim, H. J., Q. K. Le, M. H. Lee, T.-S. Kim, H.-K. Lee, Y. H. Kim, K. H. Bae, and I.-S. Lee. 2001. A cytotoxic secocycloartenoid from *Abies koreana*. *Archives of Pharmacal Research* 24(6): 527~531.

22. Baek, S. W., E. R. Kim, J. W. Kim, and Y. C. Kim. 2011. Chemical Constituents of *Abies koreana* Leaves with Inhibitory Activity against Nitric Oxide Production in BV2 Microglia Cells. *Natural Product Sciences* 17(3): 175~180.
23. 박종희. 1993. 한국 민간약의 기원에 관한 조사보고. *생약학회지* 24(4): 322~327.
24. 이영노. 1998. 새로운 한국식물도감, pp. 383, 교학사.
25. Choi, J. S., H. S. Young, J. C. Park, J. H. Choi, and W. S. Woo. 1986. Flavonoids from the leaves of *Rhododendron brachycarpum*. *Archives of Pharmacal Research* 9(4): 233~236.
26. 장기욱, 최상운, 이강노. 2005. 만병초의 세포독성 성분. *약학회지* 49(3): 244~248.
27. 최무영, 임태진. 2011. 만병초 추출물의 식중독 유발균에 대한 항균효과 및 항산화 활성. *한국식품영양과학회지* 40(10): 1353~1360.
28. 임태진, 최무영. 2011. 만병초(*Rhododendron brachycarpum*)추출물의 항산화 효과. *한국자원식물학회지* 24(4): 456~460.
29. 변경섭, 이영우, 진효주, 이미경, 이현용, 이근재, 허문영, 유창연, 이진하. 2005. 만병초 잎 추출물의 유전독성과 사람의 암세포주 등에 대한 세포독성. *한국약용작물학회지* 13(4): 199~205.
30. Wills-Karp, M., J. Luyimbazi, X. Xu, B. Schofield, T. Y. Neben, C. L. Karp, and D. D. Donaldson. 1998. Interleukin-13: Central Mediator of Allergic Asthma. *Science* 282(5397): 2258~2261.
31. Fish, S. C., D. D. Donaldson, S. J. Goldman, C. M. M. Williams, and M. T. Kasaian. 2005. IgE Generation and Mast Cell Effector Function in Mice Deficient in IL-4 and IL-13. *Journal of Immunology* 174(12): 7716~7724.
32. MacDonald, A. J., D. M. Haig, H. Bazin, A. C. McGuigan, R. Moqbel, and H. R. Miller. IgE-mediated release of rat mast cell protease II, beta-hexosaminidase and leukotriene C4 from cultured bone marrow-derived rat mast cells. *Immunology* 67(3): 414~418.