

괴화(槐花) 에탄올 추출물이 RBL-2H3 비만세포에서 Ca⁺⁺ Ionophore에 의한 알레르기 반응 조절에 미치는 효과

손 효^{1,2} · 강 군¹ · 심도완^{1,2} · 김태권⁴ · 강태봉¹ · 이광호^{1,2,3*}

¹건국대학교 생명공학과, ²건국대학교 대학원 응용생명과학과
³건국대학교 염증성 질환 연구소, ⁴약초생활건강

Anti-allergic Effect of Ethanolic Extract of Flos *Sophora japonica* L. on Ca⁺⁺ Ionophore Stimulated Murine RBL-2H3 Cells

Sun Xiao^{1,2}, Jun Jiang¹, Do-Wan Shim^{1,2}, Tae-Kweon Kim⁴, Tae-Bong Kang¹, and Kwang-Ho Lee^{1,2,3*}

¹Dept. of Biotechnology, College of biomedical and Health Science and ³Research Institute
of Inflammatory Diseases (RID), Konkuk University, Chungbuk 380-701, Korea

²Dept. of Applied Life Science, Graduate School of Konkuk University, Chungbuk 380-701, Korea

⁴Yakcho Life Co., Chungbuk 390-842, Korea

ABSTRACT Elevation of intracellular calcium (Ca⁺⁺) triggers degranulation of mast cells by bypassing receptor activation. Flos *Sophora japonica* L. has been used as a natural dye source and has been reported to have biological activities such as anti-inflammatory and anti-allergic effects through FcεRI and IgE crosslinking. In the present investigation, we report the regulatory effect of ethanolic extract of Flos *Sophora japonica* L. (S.F) on allergic mediators produced by Ca⁺⁺ ionophore activation in mast cells. S.F significantly inhibited calcium ionophore (A23187)-induced interleukin (IL)-4 and tumor necrosis factor (TNF)-α production as well as mast cell degranulation. Furthermore, administration of S.F suppressed allergic reactions in a 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic dermatitis mouse model. Both oral administration and ear painting using 50 mg/kg of S.F significantly reduced levels of cytokines such as IL-4, TNF, and interferon-γ in ear tissues compared to the DNFB alone-treated group. Serum IgE level in the S.F-treated group also decreased compared to the DNFB alone-treated group. Weights of spleens and lymph nodes in the S.F-treated groups also decreased compared to the control group. Considering the data, we conclude that S.F mediates its anti-allergic effects not only through FcεRI stimulation but also Ca⁺⁺ influx in mast cells.

Key words: Flos *Sophora japonica*, Ca⁺⁺ ionophore (A23187), anti-allergy, degranulation

서 론

알레르기는 무해한 환경 인자에 대한 면역계의 비정상적인 과민반응으로, 아토피 피부염, 천식과 알레르기 비염 등 알레르기 질환은 지난 수 세기 동안 꾸준히 증가하고 있다 (1). 비만세포는 피부, 호흡기계 및 소화기계를 포함한 인체의 광범위한 부위에 분포하고 다양한 외부자극에 의해 염증 유발과 면역조절을 할 수 있는 많은 매개물질을 생산할 수 있으므로 선천성 면역반응과 적응성 면역반응에서도 중요한 역할을 하는 것으로 인식되고 있으며, 또한 상처치유, 조직 복원, 항상성과 같은 많은 생리학적 또는 병리학적 과정에 광범위하게 영향을 미친다(2,3).

즉시형 알레르기 반응은 비만세포 표면의 고친화성 IgE 수용체(FcεRI)에 항원과 IgE의 결합 반응에 의해 일어나는

IgE-의존성 신호 전달 경로와 직접적으로 Ca⁺⁺ ionophore 등의 자극을 받아 Ca⁺⁺의 유입을 일으키며 만성 알레르기 반응을 일으키는 경로가 있다(4,5). 이들 자극에 의해 β-hexosaminidase와 히스타민 등의 과립들과 여러 가지 사이토카인들이 세포 밖으로 분비되어 염증과 알레르기 반응을 일으킨다.

현재까지 알려진 알레르기 피부염의 치료 방법은 건조한 피부의 보습을 비롯하여 염증 억제제인 스테로이드제 등의 외용제나 연고, 항히스타민제의 도포나 복용 그리고 면역반응 억제제가 사용되고 있다(6). 이러한 치료제는 매우 효과적인 증상 완화 결과를 나타내고 있으나, 장기간 사용 시 부작용이 있으며 약 복용을 중단하면 병변의 재발 가능성이 높으므로 안전하고 효과적인 대체 치료법이 요구된다(7,8). 최근에는 알레르기 피부염에 대한 개선 효능이 기대되는 천연물질로 다래 추출물(9), 비파엽 및 삼백초 추출 발효물(10) 등이 보고된 바 있다.

괴화(槐花, Flos *Sophora japonica* L.)는 두과 Legumi-

Received 1 November 2013; Accepted 26 December 2013

*Corresponding author.

E-mail: kwangho@kku.ac.kr, Phone: +82-43-840-3613

nosae에 속하는 회화나무(*Sophora japonica* L.)의 꽃송이 혹은 꽃봉우리로서 괴각(槐角)과 함께 신농본초경에는 상품으로 기록되어 있다(11). 괴화는 한방 약리학적으로 맛은 쓰고 성질은 서늘하고 간과 대장에 작용하여 열을 내리고 피를 차게 하며 출혈을 멎게 하고 눈의 충열에 의한 떨림, 혈압 강하작용 및 중풍을 치료한다고 알려져 있다(12,13). 또한 비만세포에서는 anti-DNP IgE와 DNP-HSA로 유도된 탈과립과 사이토카인의 생산을 억제하며 즉시형 알레르기 반응 저해 효과를 가진다고 알려져 있다(14).

본 연구에서는 비만세포에 Ca^{++} ionophore인 A23187의 자극을 통하여 Ca^{++} 유입에 의해 활성화된 비만세포에서 괴화 에탄올 추출물(S.F)에 의한 비만세포 활성화 억제를 확인하고 *in vivo* 알레르기 모델에서 괴화의 70% 에탄올 추출물의 알레르기 저해 효과를 확인하였다.

재료 및 방법

괴화 추출물

건조된 괴화를 분쇄한 후 중량 10배의 70% 에탄올로 48시간 동안 3회에 걸쳐 추출하였다. 추출물을 지름 110 mm 종이 여과지(Whatman, Maidstone, UK)를 이용하여 감압 여과 하였다. 여과액을 감압농축기(Eyela, Tokyo, Japan)를 사용하여 농축한 다음, 동결건조기(Matsushita, Tokyo, Japan)로 동결건조 하여 분말을 얻어 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다.

실험 재료

세포배양에 사용되는 minimum essential media(MEM), penicillin 및 streptomycin, 0.5% trypsin-EDTA solution, phosphate buffered saline(PBS), fetal bovine serum(FBS)은 Gibco(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide), dexamethasone, A23187은 모두 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Rat IL-4, TNF- α ELISA kit는 BD OptEIA™(Franklin Lakes, NJ, USA)에서 구입하였다.

실험동물

실험에 사용된 mouse는 BALB/c계를 오리엔트 바이오(Gapyung, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 사육은 표준 환경(온도 $22\pm 2^{\circ}C$, 습도 $55\pm 5\%$, $37^{\circ}C$)에서 자유 급식과 음수를 제공하였으며, 모든 동물 실험은 건국대학교 실험동물 윤리위원회의 기준에 의거하여 실시하였다.

세포배양

RBL-2H3(rat basophilic leukemia cell line)은 ATCC(Rockville, MD, USA)에서 분양받아 실험하였다. 세포의 배양은 15% heat-inactivated FBS와 1% penicillin 및

streptomycin을 포함한 MEM 배지에서 배양하였다. 세포는 $37^{\circ}C$, 5% CO_2 조건하에서 배양하였고, 세포의 증식에 따른 과밀도 현상을 해소하기 위하여 0.05% trypsin-EDTA 용액을 처리하여 세포를 부유시킨 다음 계대 배양하였다.

MTT assay를 이용한 S.F의 세포 독성검사

S.F가 RBL-2H3 세포의 생존 및 증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 MTT법을 사용하였다. RBL-2H3 세포를 15% FBS를 포함한 MEM에 현탁시킨 후 96 well plate(SPL, Anyang, Korea)에 1×10^4 cells/mL의 세포수가 되도록 분주하여 $37^{\circ}C$, 5% CO_2 배양기(Sanyo, Osaka, Japan)에서 12시간 배양하였다. S.F를 농도별로 처리한 후 24시간 동안 반응시킨 다음 배양액을 제거한 뒤 0.5 mg/mL의 MTT를 각 well에 넣고 $37^{\circ}C$ 배양기에서 2시간 배양한 후 상등액을 제거하고, DMSO를 100 μ L씩 분주하여 충분히 섞은 후 micro plate reader(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 평균값과 표준편차를 구하였다.

β -Hexosaminidase release assay를 이용한 S.F의 탈과립 억제능 측정

즉시형 알레르기 반응의 지표인 탈과립에 대한 억제 효과를 분석하기 위하여 β -hexosaminidase의 분비를 측정하였다. RBL-2H3 세포를 15% FBS를 포함한 MEM에 현탁시킨 후 48 well plate에 1×10^5 cells/mL의 세포수가 되도록 분주하고 $37^{\circ}C$, 5% CO_2 배양기에서 12시간 배양하였다. 각 well의 세포들을 Siraganian buffer(119 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.4 mM $MgCl_2$, 25 mM PIPES, 40 mM NaOH, pH 7.2)로 2번 세척한 다음 각 well당 5.6 mM glucose, 1 mM $CaCl_2$ 와 0.1% BSA가 포함된 Siraganian buffer를 첨가하고 S.F를 농도별(12.5, 25, 50 및 100 μ g/mL)로 1시간 동안 배양한 후 A23187(750 ng/mL)로 처리하여 1시간 동안 반응시킨 다음, ice bath에서 5분 동안 방치한 후 반응을 종결시켰다. 상등액 30 μ L를 96 well plate에 옮기고 lysate는 0.1% Triton X-100으로 추출하였다. 상등액과 lysate는 원심분리 후 substrate buffer(4-*p*-nitrophenyl-*N*-acetyl- β -D-glucosaminide 1 mM, sodium citrate 0.05 M, pH 4.5) 30 μ L를 넣고 $37^{\circ}C$ 에서 1시간 반응시킨 후 각 well당 0.1 M $NaHCO_3/Na_2CO_3$ stop solution 200 μ L를 첨가하여 반응을 종결시켰다. Micro plate reader를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. S.F 처리군과 대조군의 흡광도 값으로 다음 식에 의해 저해도(%)를 산출하였다(15).

$$\text{Inhibition (\%)} = \{S/(S+L)\} \times 100$$

S: supernatant OD

L: lysate OD

염증성 사이토카인 측정

RBL-2H3 세포를 24 well plate에 1.5×10^5 cells/mL의 세포수가 되도록 분주하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 12시간 배양하였다. 배지 교환 후 S.F를 처리하여 1시간 동안 배양한 후 A23187(750 ng/mL)을 처리하여 3시간 동안 자극시키고 ice bath에서 10분 동안 방치하여 반응을 종결시켰다. 상등액을 IL-4와 TNF- α ELISA kit를 사용하여 반응시킨 후 micro plate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DNFB 유발 접촉성 피부염 동물 모델을 이용한 괴화 추출물의 알레르기 저해 효과

Mouse는 6주령 암컷 BALB/c mouse를 이용하였다. Acetone-olive oil(3:1)을 처리한 군(normal)과 DNFB를 처리한 군, DNFB를 처리하고 S.F(50 mg/kg)를 구강 투여한 군, DNFB를 처리하고 S.F(50 mg/kg)를 귀에 바른 (painting) 군 및 DNFB를 처리하고 항염제인 dexamethasone(2.5 mg/kg)을 복강 주사한 군 등 5개 군으로 나누어 실시하였으며, 한 군당 mouse를 5마리씩 실험에 사용하였다. Acetone-olive oil(3:1) 용액 내 25 μ L의 0.15% DNFB를 4주 동안 1주에 한 번씩 mouse의 귀에 발라 주었고 S.F는 3일에 한 번씩 mouse의 귀에 발라 주었다. 귀 두께는 DNFB로 자극한 24시간 뒤에 digital caliper(Control Company, Friendsweed, TX, USA)를 이용하여 측정하였다. 4주 후에 mouse를 희생시켜 림프 노드와 비장(spleen)의 무게를 측정하고 귀 조직을 갈아서 원심분리 한 다음 상층액을 이용하여 사이토카인의 생산량을 측정하였으며, 혈청 속의 IgE 농도는 심장 채혈하여 원심분리 한 다음 측정하였다(16).

통계분석

실험은 mean \pm standard error of mean(SEM)을 통해 나타났다. 각 그룹간의 통계적 차이는 one-way ANOVA를 통한 Dunnett test를 통해서 나타났다. P 값은 <0.05를 통계적 유의차가 있다고 나타났다.

결과 및 고찰

β -Hexosaminidase release에 미치는 S.F의 영향

S.F가 RBL-2H3 세포에 대한 독성을 측정한 결과 100 μ g/mL 및 그 이하의 농도에서 독성을 나타내지 않았다(Fig. 1). 따라서 독성이 없는 농도에서 본 실험을 실시하였다. β -Hexosaminidase는 호염구나 비만세포의 histamine이 저장된 과립 안에 존재하여 친식, 비염과 같은 알레르기 반응에 의해 세포 밖으로 분비되므로 탈과립의 지표로 이용되며 알레르기 억제 물질의 생리활성 측정에 유용하게 사용되고 있다(17). 항원-항체 반응에 의한 β -hexosaminidase 분비에 미치는 S.F의 효과를 측정한 결과, S.F의 농도가 높아질

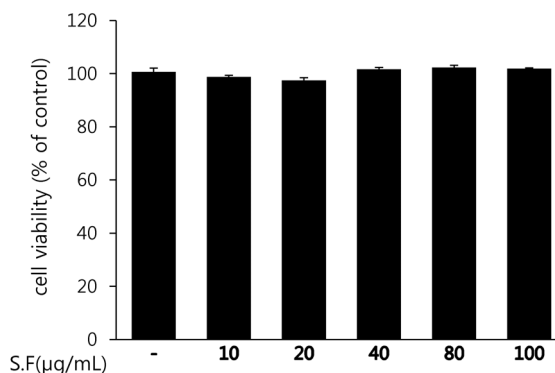


Fig. 1. Ethanolic extract of Flos *Sophora japonica* L. (S.F) on cell viability in RBL-2H3 cells. Cytotoxicity of indicated concentration of S.F was measured by MTT assay. RBL-2H3 cells (1×10^4 cells/mL) were treated with the indicated concentrations of S.F for 24 hr. Cell viability was examined by MTT assay and results were expressed as percentage of surviving cells compared to control cells. Results represent as the mean \pm SEM.

에 따라 A23187에 의한 β -hexosaminidase 분비의 저해 효과도 높아지는 것으로 나타났다(Fig. 2).

S.F가 염증성 사이토카인의 발현에 미치는 영향

비만세포의 활성화와 염증반응은 염증성 사이토카인의 생산과 분비에 의해 조절된다. 비만세포에서 사이토카인의 생산과 분비는 비만세포의 활성화에 의해 일어나며 비만세포의 염증반응을 조절한다(18). 비만세포의 활성화로 분비되는 TNF- α 는 내피세포와 상피세포의 부착 분자를 증가시키고 기도 과민성을 증가시킨다(19). IL-4는 IgE 합성과 즉시형 과민반응을 유발할 수 있으며 B세포의 IgE 생산을 유도하고 내피세포의 vascular cell adhesion molecule(VCAM)-1 발현과 T_H2 세포와 호산구 분화에 필수적인 IL-5의 분화를 유도한다(20).

RBL-2H3 세포가 Ca⁺⁺ ionophore인 A23187에 의해 유도된 IL-4와 TNF- α 의 양을 측정한 결과, S.F가 IL-4와

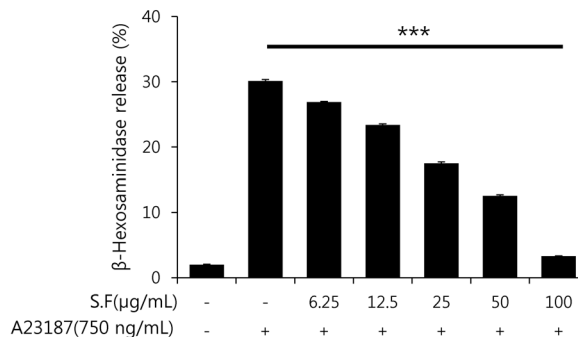


Fig. 2. Inhibition effect of S.F on the release of β -hexosaminidase from A23187 sensitized RBL-2H3 cells. RBL-2H3 cells (1×10^5 cells/mL) were incubated for overnight and treated with S.F for 1 hr prior to their A23187 stimulation. Results represent as the mean \pm SEM. *** P <0.001 compared with A23187 treated cells.

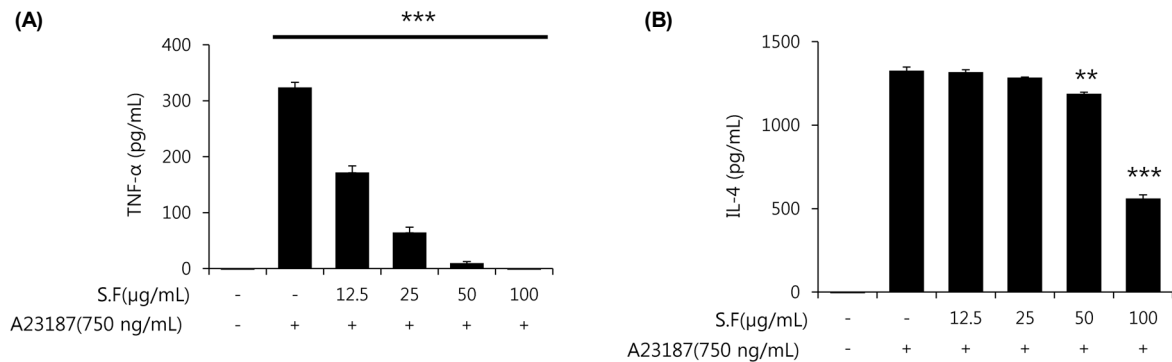


Fig. 3. Inhibition effects of S.F on the IL-4 and TNF- α production from the A23187 sensitized RBL-2H3 cells. RBL-2H3 cells (1.5×10^5 cells/mL) were incubated overnight and treated with S.F for 1 hr and subsequently with A23187 for 3 hr. TNF- α (A) and IL-4 (B) productions were determined by ELISA. Results represent as the mean \pm SEM. ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ compared with A23187 treated cells.

TNF- α 의 분비를 억제하였다. TNF- α 는 농도 의존적으로 저해하는 효과가 있는 것으로 나타났고, IL-4는 TNF- α 와 달리 100 μ g/mL와 50 μ g/mL에서 농도 의존적으로 저해 효과를 보여 TNF- α 보다는 약한 억제 활성을 보였다(Fig. 3). 비만세포에서 염증성 사이토카인은 nuclear factor- κ B(NF- κ B) 신호에 의존적으로 발현되며(21), T_H2 세포로 유도된 사이토카인은 NF- κ B 신호에 비의존적으로 발현된다(22). 따라서 이들 두 사이토카인의 발현 억제 양상의 차이는 신호전달 체계의 차이에 기인한 것으로 보인다.

DNFB 동물 모델에서의 S.F의 생리학적 영향

접촉성 피부염에 의한 귀두께 변화에 대한 S.F의 영향: DNFB 유발 접촉성 피부염 동물 모델은 가장 널리 이용되고 있는 아토피 동물 모델 중 하나로 접촉성 피부염을 일으키는 물질인 DNFB에 반복 노출 시에 T세포 매개성 염증세포의 침윤으로 피부 부종과 피부 조직 비후를 일으키게 된다(23). DNFB를 이용하여 BALB/c mouse의 귀에 알레르기를 유발시킨 다음 24시간 뒤 mouse의 귀 두께를 측정된 결과, 1주부터 mouse의 귀 두께 변화를 확인할 수 있었다. 또한 2주부터 S.F를 구강 투여한 mouse 군의 귀 두께가 DNFB 군보다 얇은 것으로 나타났다. 따라서 S.F가 접촉성 과민반응에 의한 염증이 억제 효과가 있는 것으로 사료된다(Fig. 4).

귀 조직과 serum에서 사이토카인의 생산량에 미치는 S.F의 영향: 알레르기 반응은 T_H1 세포와 T_H2 세포에서 발현되는 사이토카인 등 여러 종류의 세포들과 세포 인자들이 관여하게 된다(23). T_H1 세포는 IL-2, IFN- γ 등을 분비하여 대식세포를 활성화시킴으로써 지연형 면역반응을 유도하며, T_H2 세포는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 등을 분비하여 IgE 생성을 증가시키고 비만세포와 호산구 분화를 유도시킴으로써 과민반응을 유발한다(24). 정상적인 상태에서는 T_H1 세포와 T_H2 세포 간의 상호작용으로 균형을 이루면서 면역반응을 유지하지만 알레르기 피부염에서는 T_H2 세포에 의한 면역반응이 강화되어 비만세포 활성화에 의한 알레르기

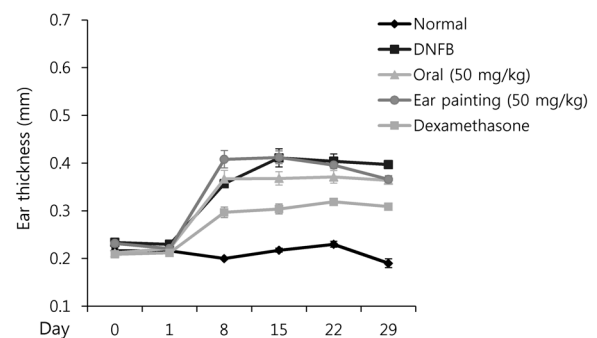


Fig. 4. The effect of S.F on DNFB-induced allergic dermatitis. BALB/c mice ($n=5$) were sensitized with 25 μ L of 0.15% DNFB in acetone-olive oil (3:1) or vehicle alone, and applied to the ear lobes once every week for total of 4 weeks. S.F was administered by oral delivery every three days. Ear thickness was checked as indicated times.

반응이 일어나게 된다(25).

분쇄한 귀 조직 상층액의 사이토카인 양을 조사한 결과, S.F 포말군은 IL-4와 TNF- α 의 양을 감소시키는 것으로 나타났고(Fig. 5A, B), S.F를 구강 투여한 군은 TNF- α 사이토카인의 양을 감소시키는 것으로 나타났다(Fig. 5B). T_H2 세포의 활성을 저해하는 IFN- γ 의 양은 S.F로 처리한 군이 DNFB 대조군보다 많은 것으로 나타났다(Fig. 5C). IgE가 알레르기 피부염의 유발에 중요한 역할을 한다는 보고는 적지만 IgE의 양이 비정상적으로 많을 때에는 알레르기 피부염을 유발할 수 있다는 보고가 있다(26,27). 심장 채혈 후 분리해낸 혈청 속의 IgE 양을 측정된 결과, S.F 포말군이 DNFB 대조군보다 적은 것으로 나타났다(Fig. 5D).

따라서 귀 조직의 사이토카인 양과 혈청 속의 IgE 양의 변화를 보았을 때, S.F가 만성 알레르기 반응 시 염증성 사이토카인과 IgE의 생산에 저해 효과를 가지고 있는 것으로 사료된다. 본 실험에서 알레르기 반응에 관련하는 사이토카인의 양은 감소하나 귀 두께에서는 큰 변화를 보이지 않는 것으로 나타났으며, 이들 결과를 볼 때 DNFB에 의한 알레르기 반응에서 염증성 귀 부종과 알레르기 반응에 관련하는

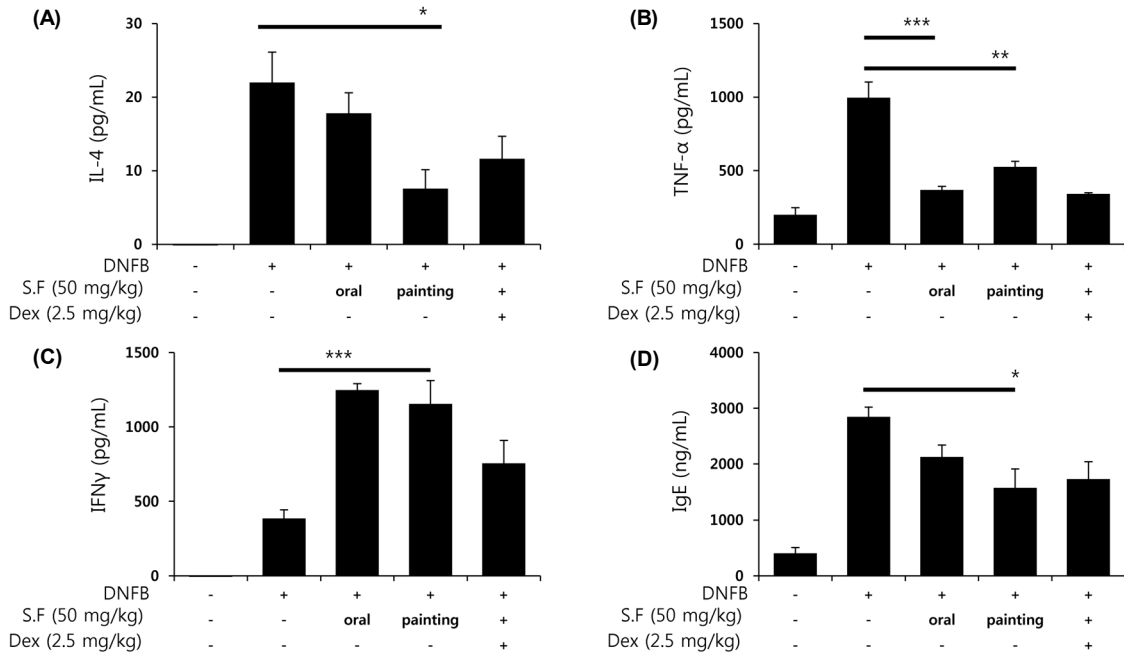


Fig. 5. The effects of S.F on the DNFb-induced ear homogenates cytokines level and serum IgE level in BALB/c mouse. Ear homogenate cytokines IL-4 (A), TNF- α (B), IFN- γ (C) levels and serum IgE level (D) in the indicated groups were measured using ELISA method. Results represent as the mean \pm SEM. * P <0.05, ** P <0.01, and *** P <0.001 compared with DNFb treated group. The absorbance was measured at 450 nm using ELISA reader.

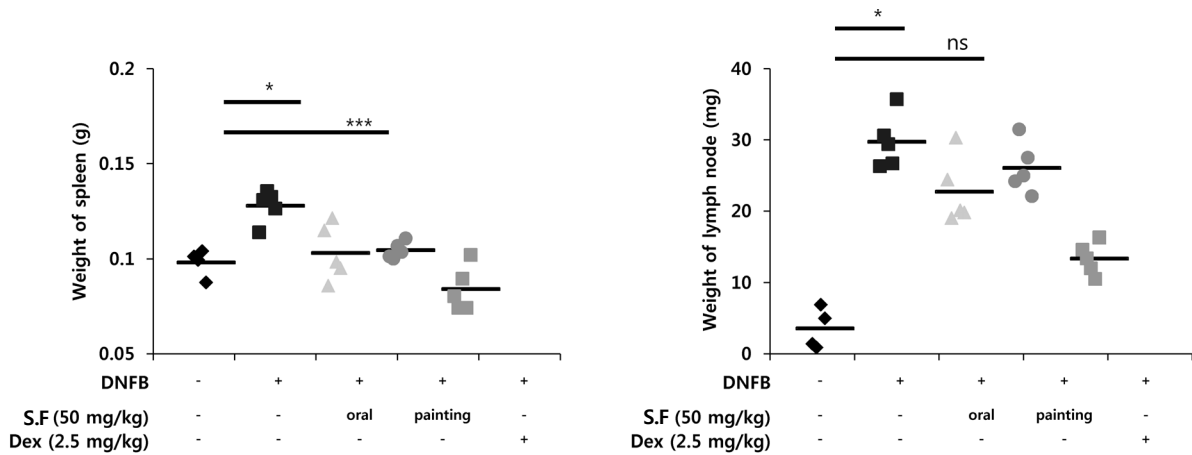


Fig. 6. Effects of S.F on the DNFb-induced changes of spleen weight (A) and lymph node weight (B). Dexamethasone (Dex) is used as positive control. Results represent as the mean \pm SEM. * P <0.05 and *** P <0.001 compared with DNFb treated group. ns: no significant difference when compared with DNFb treated group.

사이토카인의 발현에 S.F의 영향이 일부 다른 기전에 의해 작용될 수 있다는 것을 시사하고 있다.

비장과 림프절의 무게에 미치는 S.F의 영향: Mouse 비장과 림프절의 무게를 측정한 결과 S.F를 처리한 군의 비장의 무게는 모두 DNFb 대조군보다 가볍게 나타났다(Fig. 6A). S.F를 구강 투여한 군의 림프절의 무게도 DNFb 대조군보다 가볍게 나타났다(Fig. 6B). 따라서 S.F가 A23187에 의한 만성 알레르기 반응에 저해 효과를 나타낼 때 2차 림프조직에서의 면역반응에 영향을 미치고 있는 것으로 사료된다.

요 약

세포내 Ca^{++} 의 증가는 비만세포에서 수용체 활성을 거치지 않고 탈과립을 유도한다. 괴화는 천연 염색 재료로 사용되고 있으며, 또한 항염증 작용과 $Fc\epsilon RI$ 와 IgE 가교에 의한 항알레르기 효능도 보고되었다. 이번 연구에서 비만세포에서 Ca^{++} 유입에 의해 생산되는 알레르기 매개물에 대한 괴화 추출물의 조절 기능을 보고한다. 괴화 추출물은 A23187에 의해 유도되는 IL-4와 TNF- α 의 생산과 탈과립을 저해하였다. 또한 괴화 추출물은 DNFb로 유도한 알레르기 피부염의

동물 모델에서 알레르기 반응을 억제하였다. 괴화추출물 50 mg/kg을 경구투여 또는 도말을 한 경우, DNFB를 단독으로 처리한 군보다 IL-4, TNF 그리고 IFN- γ 와 같은 염증성 사이토카인의 생산량이 감소하였다. 또한 괴화 추출물을 처리한 경우 혈청 내 IgE의 함량이 DNFB를 단독으로 처리한 군보다 감소하였다. 괴화 추출물을 처리한 군에서의 비장과 림프절의 무게도 DNFB를 단독으로 처리한 군보다 감소하였다. 이러한 결과를 토대로 괴화는 비만세포에서 Fc ϵ RI 자극뿐만 아니라 Ca⁺⁺의 유입에 의한 항알레르기 효능이 있다는 것을 보고한다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2012년도 산학연공동 기술개발사업(No.2012-A424-0021)의 연구 수행으로 인한 결과물임을 밝히며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Jenerowicz D, Silny W, Dańczak-Pazdrowska A, Polańska A, Osmola-Mańkowska A, Olek-Hrab K. 2012. Environmental factors and allergic diseases. *Ann Agric Environ Med* 19: 475-481.
- Brown JM, Wilson TM, Metcalfe DD. 2008. The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. *Clin Exp Allergy* 38: 4-18.
- Rao KN, Brown MA. 2008. Mast cells: multifaceted immune cells with diverse roles in health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 1143: 83-104.
- Lin S, Cicala C, Scharenberg AM, Kinet JP. 1996. The Fc ϵ RI β subunit functions as an amplifier of Fc ϵ RI α -mediated cell activation signals. *Cell* 85: 985-995.
- Bochner BS, Thomas LL, Godnik L, Samter M. 1984. Effect of the calcium ionophore A23187 and aspirin on histamine release in vitro from leukocytes of aspirin-intolerant donors. *Int Arch Allergy Imm* 74: 104-107.
- Kim BJ, Son WR, Choi MO, Jo SK, Jung HK, Kwoen DJ. 2013. Anti-atopic effects of *Castanea crenata* inner shell extracts fermented by *Lactobacillus bifermantans*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1378-1386.
- Sidbury R, Hanifin JM. 2000. Old, new, and emerging therapies for atopic dermatitis. *Dermatol Clin* 18: 1-11.
- Schreiber SL, Crabtree GR. 1992. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today* 13: 136-142.
- Joo YH, Won CH, Kim JY, Cho KH, Min KU, Kim KH. 2009. Developing an atopic dermatitis model and the effects of actinidia extract on dermatitis in NC/Nga mice. *Korean J Dermatol* 47: 1105-1112.
- Choi MJ, Jung HK, Jeong YS, Park SC, Hong JH. 2010. Anti-allergic activities of fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* extracts in 2,4-dinitrochlorobenzene-induced BALB/c mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1611-1618.
- Dictionary of Chinese Medicine*. 1997. Jeong Dam Publishing, Seoul, Korea. p 338-392.
- Kim HC. 2001. *Oriental Medicine Pharmacology*. Jipmundang, Seoul, Korea. p 283.
- Lee JE, Lee JY, Choi JL, Kim JG, Kim SJ. 2005. Suppression of nitric oxide and interleukin-6 production by methanol extract of *Sophorae Flos* in macrophage cells. *J Periodontal Implant Sci* 35: 9-19.
- Lee JH, Kim JW, Ko NY, Mun SH, Kim DK, Kim JD, Choi WS. 2008. Mast cell-mediated allergic response is suppressed by *Sophorae Flos*: inhibition of Src-family kinase. *Exp Biol Med* 233: 1271-1279.
- Naoki I, Hiroichi N. 2009. Analysis of the mechanism for the development of allergic skin inflammation and the application for its treatment: mouse models for the development of remedies for human allergic dermatitis. *J Pharmacol Sci* 110: 251-259.
- MacDonald AJ, Haig DM, Bazin H, McGuigan AC, Moqbel R, Miller HR. 1989. IgE-mediated release of rat mast cell protease II, beta-hexosaminidase and leukotriene C4 from cultured bone marrow-derived rat mast cells. *Immunol* 67: 414-418.
- Galli SJ, Nakae S, Tsai M. 2005. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 6: 135-142.
- Metcalfe DD. 2008. Mast cells and mastocytosis. *Blood* 112: 946-956.
- Song Z, Casolaro V, Chen R, Georas SN, Monos D, Ono SJ. 1996. Polymorphic nucleotides within the human IL-4 promoter that mediate overexpression of the gene. *J Immunol* 156: 424-429.
- Kim MA, Son HU, Nam DY, Cha YS, Shin YK, Choi YH, Lee SH. 2012. Inhibitory effect of *Angelica keiskei* extract in an atopic dermatitis animal model. *Korean J Food Preserv* 19: 792-798.
- Coward WR, Okayama Y, Sagara H, Wilson SJ, Holgate ST, Church MK. 2002. NF-kappa B and TNF-alpha: a positive autocrine loop in human lung mast cells? *J Immunol* 169: 5287-5293.
- Marquardt DL, Walker LL. 2000. Dependence of mast cell IgE-mediated cytokine production on nuclear factor-kappaB activity. *J Allergy Clin Immunol* 105: 500-505.
- Kim HA, Yun MY, Song HH, Cheong KJ, Yoo HS. 2010. Effects of lavender, lemon and eucalyptus essential oil on Th2 related factors of DNCB-induced atopy dermatitis in NC/Nga mice model. *J Pharmacopuncture* 13: 53-56.
- Leung DY, Soter NA. 2001. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 44: S1-S12.
- Yawalkar N, Schmid S, Braathen LR, Pichler WJ. 2001. Perforin and granzyme B may contribute to skin inflammation in atopic dermatitis and psoriasis. *Br J Dermatol* 144: 1133-1139.
- Laske N, Niggemann B. 2004. Does the severity of atopic dermatitis correlate with serum IgE levels? *Pediatr Allergy Immunol* 15: 86-88.
- Ahmed I, Nasreen S. 2007. Frequency of raised serum IgE level in childhood atopic dermatitis. *J Pak Med Assoc* 57: 431-434.