

RBL-2H3 세포에서 1,2,3,4,6-Penta-O-Galloyl-β-D-Glucose의 항알레르기 효과 - 연구노트 -

김윤희 · 최예랑 · 김지영 · 곽상희

대구대학교 식품영양학과

Anti-Allergic Effect of 1,2,3,4,6-Penta-O-Galloyl-β-D-Glucose on RBL-2H3 Cells

Yoon Hee Kim, Ye Rang Choi, Ji Young Kim, and Sang Hee Kwak
Department of Food and Nutrition, College of Engineering, Daegu University

ABSTRACT 1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl-β-D-glucose (PGG) is a gallotannin isolated from various plants such as *Galla Rhois*. In a previous study, it was reported that PGG has anti-allergic effects by inhibiting interleukin (IL)-4 signaling in B cells. However, the effect of PGG on basophilic cells remains unclear. Therefore, the aim of this study was to investigate the inhibitory effect of PGG on mitogen and calcium ionophore-induced allergic responses. PGG had no effect on proliferation and cytotoxicity of RBL-2H3 cells. PGG significantly suppressed cell degranulation (histamine and β-hexosaminidase) as well as inflammatory cytokine production such as IL-4 and tumor necrosis factor-α. The underlying mechanism of PGG on these anti-allergic actions was correlated with inhibition on translocation of nuclear factor-κB from the cytosol to nucleus. These data suggest that PGG is a potentially effective functional compound for prevention of allergic diseases.

Key words: PGG, gallotannin, anti-allergy, RBL-2H3 cell

서 론

알레르기는 여러 가지 환경 인자에 대한 면역계의 비정상적인 과민반응으로, 아토피 피부염과 천식 및 알레르기 비염 등과 같은 알레르기 질환의 유병률은 전 세계적으로 꾸준히 증가하고 있어 사회 문제가 되고 있다(1,2). 현재까지 알려진 알레르기 치료 방법으로 스테로이드제, 항히스타민제 그리고 면역반응억제제 등이 사용되고 있다. 이러한 약물치료는 빠른 시간 내에 증상을 완화할 수 있는 장점이 있으나, 장기간 사용 시 면역 억제라는 부작용이 있고 약 복용을 중단하면 알레르기 재발 우려가 높아 안전하고 효과적인 대체 치료법이 요구된다.

한편 비만세포는 외부자극에 의해 염증 유발과 면역조절을 할 수 있는 많은 매개물질을 생산할 수 있으므로 선천성 면역반응과 적응성 면역반응에서도 중요한 역할을 하는 것으로 인식되고 있다. 또한 상처치유, 조직 복원, 항상성과 같은 생리학적, 병리학적 과정에 광범위하게 영향을 미친다(3). 알레르기 반응에서 비만세포의 역할은 즉시형 알레르기 반응에 관여한다. 즉시형 알레르기 반응은 비만세포 표면의

고친화성 immunoglobulin(Ig) E 수용체에 항원과 IgE의 결합 반응에 의해 일어나는 IgE-의존성 신호전달 경로(4,5)와 직접적으로 Ca²⁺ ionophore와 mitogen 등의 자극을 받아 Ca²⁺의 유입을 일으켜 알레르기 반응을 일으키는 경로가 있다(6,7). 이들 자극에 의해 세포 내 과립 속에 존재하는 β-hexosaminidase와 histamine 등이 탈과립에 의해 방출되고, interleukin(IL)-4와 tumor necrosis factor(TNF)-α와 같은 염증성 사이토카인이 분비되어 알레르기 반응을 유발한다. 따라서 이러한 알레르기 매개인자의 방출을 억제하는 물질에는 항알레르기 효과가 기대된다.

오배자(五倍子, *Galla Rhois*)는 울나무과에 속한 낙엽소 교목으로 일명 붉나무(*Rhus javanica* Linne)라고도 불리고 주로 수렴제나 해독제로 사용되어 왔으며, 오배자의 생리활성으로는 항산화능 및 간 기능 향상(8)과 항균 효과(9,10) 등이 알려졌다. 오배자의 주요 성분은 tannin으로 높은 tannin 함량 덕분에 오배자는 tannic acid나 pyrogallol의 제조 원료 등에 이용돼 왔다. 오배자에서 분리한 gallotannin의 하나인 galloyl-glucose가 암세포의 전이를 억제하고(11), 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose(PGG)가 혈관 내피세포의 혈관 형성을 저해하며(12), 지방세포의 분화를 억제하는 것으로 보고되었다(13). 또한 PGG는 B 세포에서 IL-4 자극에 의한 신호전달을 억제하여 알레르기 반응에서 중심적인 역할을 하는 IgE의 생산을 억제하며(14), 달걀 단백질에 의한 알레르기 마우스 모델에서 면역억제 세포인 T

Received 30 November 2015; Accepted 20 January 2016

Corresponding author: Yoon Hee Kim, Department of Food and Nutrition, College of Engineering, Daegu University, Gyeongsan, Gyeongbuk 38453, Korea

E-mail: kimyh0128@daegu.ac.kr, Phone: +82-53-850-6834

regulatory 세포의 수를 증가시킴으로써(15) 항알레르기 효과를 나타내는 것으로 알려졌다. 하지만 알레르기 반응과 같은 면역반응은 한 가지 세포에 의해서 일어나는 것이 아니므로 PGG의 항알레르기 효과를 규명하기 위해서는 다양한 실험 모델에서의 PGG 효능이 평가되어야 하며, 그 일환으로 비만세포에서의 효과에 대해서도 평가할 필요가 있다고 생각한다.

따라서 본 연구에서는 PGG의 항알레르기 효과를 살펴보기 위한 실험 모델로서 비만세포인 RBL-2H3(rat basophilic leukemia cell line) 세포에 Ca^{2+} ionophore인 A23187과 mitogen인 phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)로 자극하여 알레르기 반응을 유도하고 이에 대한 PGG의 영향에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료

PMA, A23187(Calcium Ionophore) 및 4-*p*-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터, fetal bovine serum(FBS), penicillin, streptomycin, DMEM 및 trypsin-EDTA solution은 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)로부터, IL-4 kit과 TNF- α kit은 eBioscience(San Diego, CA, USA)로부터, NE-PER Nuclear and Cytoplasmic Extraction Reagents는 Thermo Scientific(Tewksbury, MA, USA)으로부터, anti-NF- κ B, anti-Lamin, horseradish peroxidase(HRP)-conjugated anti-rabbit IgG, anti-mouse IgG는 Cell Signaling Technology(Beverly, MA, USA)로부터, anti- β -actin은 Novus Biologicals(Littleton, CO, USA)에서 구입하였다.

실험 재료

본 실험에 사용된 PGG(Fig. 1)는 오배자로부터 Kwon 등(13)에 의해 서술된 방법으로 추출, 분리한 sample을 실험에 사용하였다.

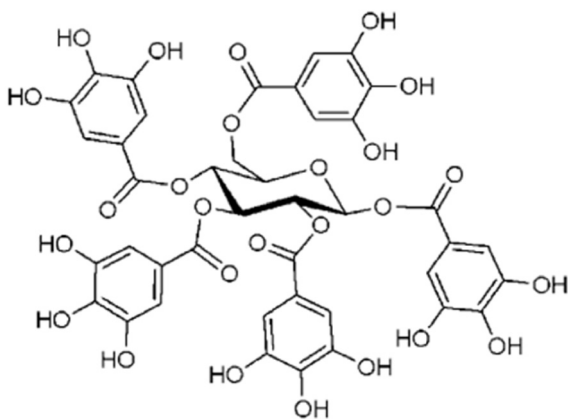


Fig. 1. Chemical structure of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose (PGG).

세포배양

RBL-2H3 세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양받아 실험에 사용하였다. 세포는 10% FBS, 100 U/mL penicillin과 100 μ g/mL streptomycin을 함유하는 DMEM 배지에서 배양하였다. 세포는 37°C, 5% CO_2 조건으로 배양하였다.

세포 증식 및 세포 독성 측정

PGG가 RBL-2H3 세포의 세포 증식 및 세포 독성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 RBL-2H3 세포를 96 well plate에 1×10^4 cells/200 μ L/well의 세포수가 되도록 분주하여 37°C, 5% CO_2 배양기에서 18시간 배양하였다. PGG를 농도별(0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M)로 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 CellTiter96[®] Aqueous One Solution Assay of Cell Proliferation(Promega, Madison, WI, USA)을 이용해 세포 증식능을 microplate reader(Sunrise; Tecan Austria, Salzburg, Austria)를 사용하여 측정하였다. 또한 CytoTox96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay(Promega)를 이용해 PGG가 세포에 독성을 나타내는지를 microplate reader(Sunrise; Tecan Austria)를 사용하여 측정하였다.

Histamine 분비량 측정

즉시형 알레르기 반응의 지표인 탈과립에 대한 PGG의 억제 효과를 분석하기 위한 지표로서 histamine 분비량을 Histamine ELISA kit(MYBioSource, San Diego, CA, USA)을 사용하여 측정하였다. RBL-2H3 세포를 96 well plate에 2×10^4 cells/200 μ L/well의 세포수가 되도록 분주하여 37°C, 5% CO_2 배양기에서 18시간 배양하였다. PGG를 농도별(최종 농도 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M)로 20 μ L 처리하여 1시간 동안 배양한 후 PMA(50 nM)와 A23187(1 μ M)의 자극 하에서 1시간 추가 배양하였다. 얼음 위에서 반응을 종결시키고 상층액 50 μ L를 ELISA kit을 사용하여 반응시킨 후 microplate reader(Sunrise; Tecan Austria)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

β -Hexosaminidase 분비율 측정

탈과립에 대한 PGG의 억제 효과를 분석하기 위한 지표로 β -hexosaminidase를 분석하기 위해서 RBL-2H3 세포를 96 well plate에 2×10^4 cells/200 μ L/well의 세포수가 되도록 분주하여 37°C, 5% CO_2 배양기에서 18시간 배양하였다. 각 well의 세포들을 Siraganian buffer(119 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM $CaCl_2$, 0.4 mM $MgCl_2$, 5.6 mM glucose, 25 mM PIPES, pH 7.2)로 2회 세척한 다음 각 well에 160 μ L의 Siraganian buffer를 첨가하여 10분간 배양하였다. PGG를 농도별(최종 농도 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M)로 20 μ L 처리하여 1시간 동안 배양한 후 PMA(50 nM)와 A23187(1 μ M)의 자극 하에서 1시간 추가 배양하였다. 얼음 위에서

반응을 종결시킨 후 상층액 50 μ L를 새로운 96 well plate에 옮기고 동량의 substrate buffer(1 mM 4-*p*-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide, 0.05 M sodium citrate, pH 4.5)와 혼합한 다음 37°C에서 1시간 반응시켰다. 그 후 각 well 당 100 μ L의 stop solution(0.1 M NaHCO₃/0.1 M Na₂CO₃, pH 10)을 넣고 반응을 종결시켰다. Microplate reader(Sunrise; Tecan Austria)를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

사이토카인 분비 측정

PGG가 염증성 사이토카인 분비에 미치는 영향을 측정하기 위해서 RBL-2H3 세포를 24 well plate에 1×10^5 cells/mL/well의 세포수가 되도록 분주하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 18시간 배양하였다. PMA(50 nM)와 A23187(1 μ M)의 자극 하에 PGG를 농도별(최종 농도 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M)로 처리한 후 24시간 동안 배양시켰다. 얼음 위에서 반응을 종결시킨 후 배양 상층액 중에서의 IL-4와 TNF- α 양을 ELISA kit(eBioscience)을 사용하여 반응시킨 다음 microplate reader(Sunrise; Tecan Austria)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Western blot 분석

PGG가 NF- κ B의 세포질에서 핵으로의 이동에 미치는 영향을 측정하기 위해서 RBL-2H3 세포를 35 \times 10 mm cell culture dish에 3×10^5 cells/2 mL/dish의 세포수가 되도록 분주하고, 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 18시간 배양하였다. PMA(50 nM)와 A23187(1 μ M)의 자극 하에 PGG를 농도별(0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M)로 처리한 후 30분간 추가 배양하였다. 세포를 PBS로 세척한 후 NE-PER Nuclear and Cytoplasmic Extraction Reagents(Thermo Scientific)로 세포질과 핵단백질을 분리하였다. 단백질 농도는 bovine serum albumin(BSA)을 표준화한 Bio-Rad Protein Assay kit(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하여 정량하였다. 세포질 단백질(2 μ g)과 핵 단백질(1 μ g) 농도가 같도록 조정 후 2 \times sodium dodecyl sulfate(SDS) sample buffer를 가하고 100°C에서 5분간 끓였다. Mini-PROTEAN system(Bio-Rad)을 이용하여 10% SDS polyacrylamide gel을 만들어 각 well에 단백질 양이 같도록 각 시료를 loading 하고

전기영동을 시행하였으며, 이어서 Immobilon[®] transfer membranes 0.45 μ m(Millipore, Billerica, MA, USA)에 transfer 시켰다. Membrane을 1 \times blocking buffer(BIOFACT BIOFACTORY, Daejeon, Korea)로 실온에서 1시간 동안 blocking 한 후 일차 항체 anti-NF- κ B(1:3,000, Cell Signaling Technology), anti- β -actin(1: 10,000, Novus Biologicals), anti-Lamin(1:5000, Cell Signaling Technology)을 처리하여 4°C에서 하룻밤 배양하였다. Tris-buffered saline containing 0.1% Tween-20(TBST, pH 7.6)로 세척한 다음 이차 항체(HRP-conjugated anti-rabbit IgG, anti-mouse IgG, 1:5,000, Cell Signaling Technology)에 1시간 동안 실온에서 배양하였다. TBST로 세척하고 ECL solution(Thermo Scientific) 기질로 반응시킨 후 LAS-3000 Lumino Image Analyzer System(Fujifilm, Tokyo, Japan)을 이용하여 밴드를 확인하였다.

통계 분석

실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 GraphPad Prism Version 5.0 software(GraphPad, San Diego, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 실험 결과는 mean \pm standard error of mean(SEM)으로 나타냈으며, 각 그룹 간의 통계적 유의성을 one-way ANOVA를 통한 Dunnett's test를 통해서 검정하였다. *P*값은 *P*<0.05를 통계적 유의차가 있다고 판단했다.

결과 및 고찰

세포 성장 및 세포 독성에 미치는 PGG의 영향

PGG가 RBL-2H3 세포 성장에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. PGG를 24시간 동안 RBL-2H3 세포에 처리한 결과 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않아 1 μ M의 PGG 농도까지 세포 성장에 영향을 미치지 않았다(Fig. 2A). 또한 PGG의 세포 내 독성을 측정한 결과 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M PGG의 농도에서 세포 독성이 나타나지 않았다(Fig. 2B). 이상의 결과로부터 PGG가 RBL-2H3 세포의 성장 및 독성에 미치는 영향은 없는 것을 확인하였으며, 따라서 이후의 모든 실험에서 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M의 농도로 PGG를 처리하였다.

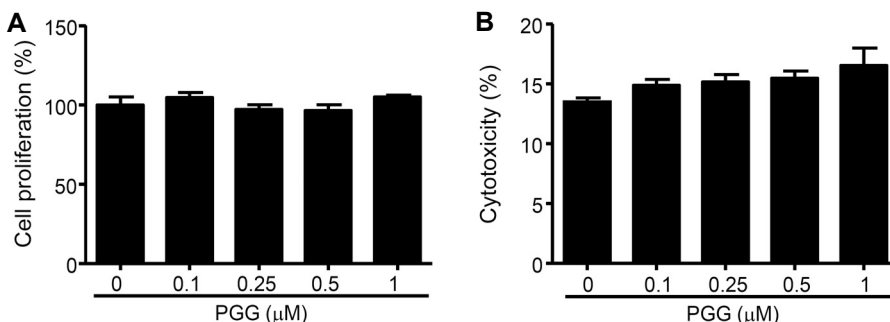


Fig. 2. Effect of PGG on cell proliferation (A) and cell cytotoxicity (B) of RBL-2H3 cells. RBL-2H3 cells were treated with the indicated concentrations (0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M) of PGG for 24 h. The data are the mean \pm SEM (n=4).

Histamine과 β -hexosaminidase 방출에 미치는 PGG의 영향

Histamine은 호염구나 비만세포의 과립 안에 존재하며, 자극에 의한 탈과립에 의해 분비되는 즉시형 과민반응과 관련된 중요한 인자 중의 하나로 기관지 수축, 점액 분비 증가, 혈관 확장, 혈관 투과성 증가 등을 일으킨다(4).

그리고 β -hexosaminidase는 histamine과 함께 과립 안에 존재하여 천식, 비염과 같은 알레르기 반응에 의해 세포 밖으로 분비되므로 탈과립의 지표로 이용되며 알레르기 억제 물질의 생리활성 측정에 유용하게 사용되고 있다(16).

따라서 histamine과 β -hexosaminidase를 자극물질에 의한 탈과립의 지표로 선정하고, PGG가 RBL-2H3 세포에서 PMA와 A23187 자극에 의한 histamine 및 β -hexosaminidase 방출에 미치는 영향을 Fig. 3에 나타내었다. PGG는 PMA와 A23187 자극에 의한 histamine의 방출을 유의적으로 억제했다(Fig. 3A). 또한 PMA와 A23187 처리에 의해 β -hexosaminidase 방출이 현저히 증가하였고, 이러한 β -hexosaminidase 증가는 PGG 처리에 의해 0.5 μ M의 PGG까지 최대 61.7% 감소하였다(Fig. 3B).

이와 같은 결과로부터 PGG는 PMA와 A23187에 의한 탈과립을 억제함으로써 항알레르기 효과를 나타낼 가능성이 있는 것으로 판단되며, 저농도에서부터 억제 효과가 큰 것으로 나타났다.

염증성 사이토카인 분비에 미치는 PGG의 영향

비만세포의 활성화와 염증반응은 염증성 사이토카인의 생산과 분비에 의해 조절된다. 비만세포의 활성화에 의해 분비되는 IL-4는 B세포에서 IgE 생성을 유도하고 즉시형 과민반응을 유발할 수 있으며, 내피세포의 vascular cell adhesion molecule(VCAM)-1 발현 및 T helper 2 type 세포와 호산구 분화에 필수적인 IL-5의 분화를 유도한다(17, 18). TNF- α 는 전구염증인자로서 비만세포와 대식세포 등

에서 생성되고 내피세포와 상피세포의 부착 분자를 증가시키고 기도 과민성을 증가시키며(19), 천식 유발 모델 마우스의 폐조직, 기관지 폐포 세척액에서 증가하는 것으로 알려졌다(20). 따라서 알레르기성 질환을 예방, 개선 및 치료 효과가 있는 천연물 탐색에 IL-4와 TNF- α 가 중요한 지표로 사용되고 있다.

이와 같은 이유로 PGG가 RBL-2H3 세포에서 PMA와 A23187 자극에 의한 IL-4 및 TNF- α 분비에 미치는 영향을 측정하고 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

PGG를 처리함에 따라 PMA와 A23187 자극에 의한 IL-4 및 TNF- α 의 분비량이 0.1 μ M의 저농도에서부터 현저하게 감소하였다(Fig. 4A와 4B). 이러한 결과로부터 PGG 처리에 의한 IL-4와 TNF- α 의 분비 억제는 염증성 알레르기 질환을 개선 및 예방할 수 있음을 시사한다.

NF- κ B의 이동에 미치는 PGG의 영향

알레르기성 질환의 병태생리는 복잡하지만 염증을 매개하는 물질을 합성하도록 유도하는 전사인자의 활성이 필수적이다. 비만세포에서 염증성 사이토카인은 nuclear factor- κ B(NF- κ B) 신호에 의존적으로 발현된다(21). 자극이 없는 상태에서 NF- κ B는 I κ -B와 결합하여 세포질에 존재하지만, 염증성 자극에 의하여 I κ -B kinase가 활성화되고 I κ -B의 인산화에 의한 분해가 촉진된다. I κ -B가 분해되면 자유로워진 NF- κ B는 핵 내로의 이동이 촉진되어 전사조절인자로 작용하면서 TNF- α 와 IL-4의 분비를 증가시켜 알레르기성 염증 반응을 촉진한다(22). 따라서 PGG가 RBL-2H3 세포에서 PMA와 A23187 자극에 의해 NF- κ B의 세포질과 핵에서의 발현에 미치는 영향을 측정하고 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

PMA와 A23187의 자극에 의해 세포질의 NF- κ B가 핵으로 이동하였으며(첫 번째 lane), PGG를 농도별로 처리하였을 때, 특히 1 μ M의 PGG 처리군에서 핵의 NF- κ B가 거의

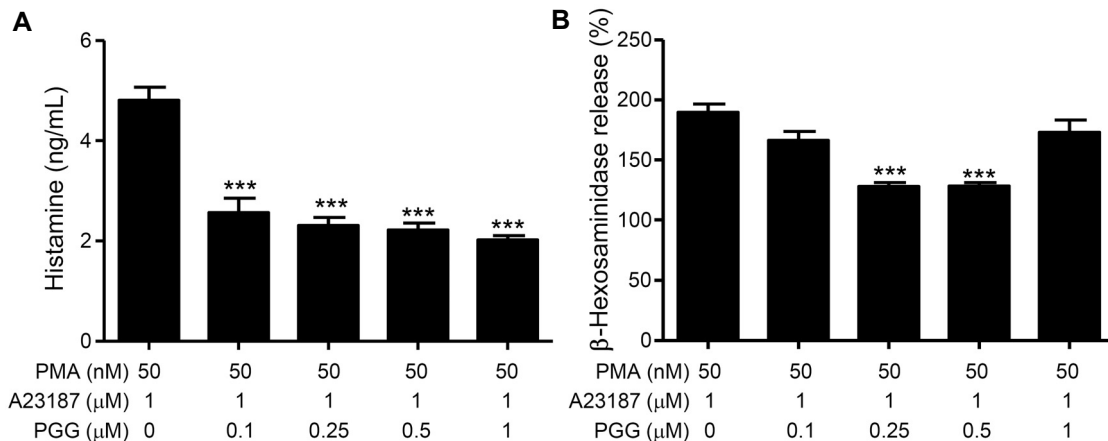


Fig. 3. Effect of PGG on release of histamine (A) and β -hexosaminidase (B) in PMA and A23187-stimulated RBL-2H3 cells. The cells were treated with the indicated concentrations (0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M) of PGG for 1 h and additionally sensitized with PMA (50 nM) and A23187 (1 μ M) for 1 h. The data are the mean \pm SEM (n=4). *** P <0.001 vs 0 μ M PGG.

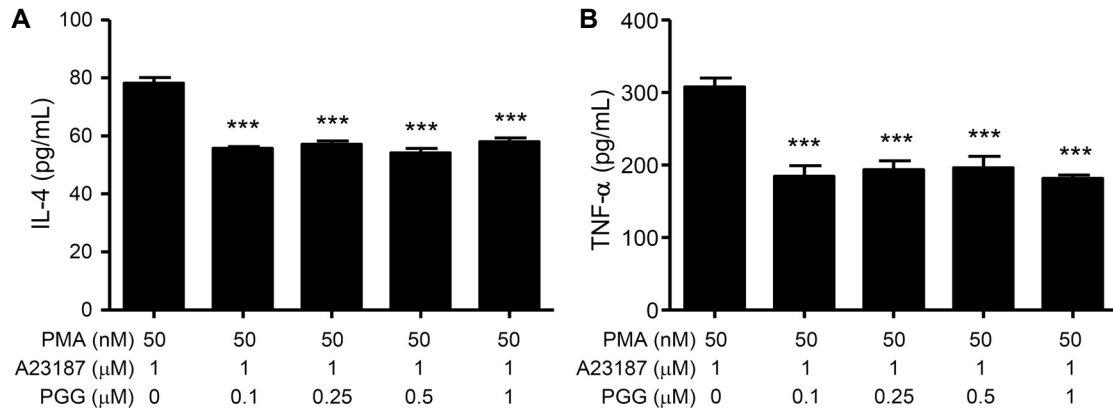


Fig. 4. Effect of PGG on cytokine production [(A) IL-4 and (B) TNF- α] in PMA and A23187-stimulated RBL-2H3 cells. The cells were sensitized with PMA (50 nM) and A23187 (1 μ M) in the presence of PGG (0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M) for 24 h. The data are the mean \pm SEM (n=4). *** P <0.001 vs 0 μ M PGG.

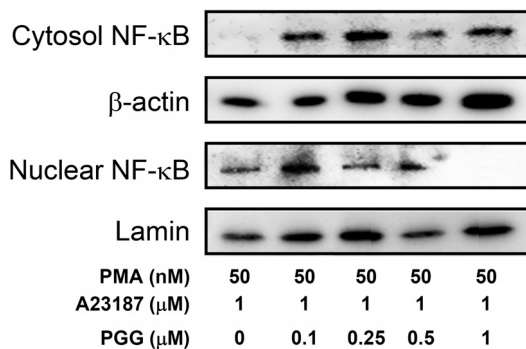


Fig. 5. Effect of PGG on NF- κ B expression in PMA and A23187-stimulated RBL-2H3 cells. The cells were sensitized with PMA (50 nM) and A23187 (1 μ M) in the presence of PGG (0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ M) for 30 min.

검출되지 않아 PGG의 처리가 PMA와 A23197 자극에 의한 세포질에서 핵으로 NF- κ B의 이행을 억제하는 것으로 나타났다. 이러한 결과로부터 PGG가 RBL-2H3 세포에서 PMA와 A23187에 의해 활성화되는 NF- κ B signaling을 억제할 수 있음을 시사한다.

요 약

1,2,3,4,6-Penta-*O*-galloyl- β -D-glucose(PGG)는 오배자(*Galla Rhois*)의 gallotannin으로 항산화 효과, 항균 효과, 항알레르기 효과 등을 가지는 것으로 알려졌다. 알레르기성 질환은 비만세포를 포함한 다양한 면역세포와 관련된 질환이다. 비만세포는 탈과립화에 의한 알레르기 매개성 물질(histamine 및 β -hexosaminidase)의 분비, T helper 2 type 사이토카인(IL-4) 분비 및 염증을 일으키는 매개체(TNF- α)의 증가를 통해 알레르기 반응에서 중요한 역할을 한다. 따라서 본 연구에서는 PGG가 phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)와 A23187로 비만세포인 RBL-2H3 세포에서 탈과립 그리고 Th2 type 및 염증성 사이토카인 생산

에 미치는 영향을 조사하고, 관련 메커니즘에 대해 평가하였다. PGG는 PMA와 A23187 자극에 의한 탈과립 마커(histamine 및 β -hexosaminidase)의 분비를 억제하고, IL-4 및 TNF- α 와 같은 사이토카인의 분비를 억제하였다. 이러한 효과는 전사인자인 NF- κ B의 세포질에서 핵으로의 이동을 억제함으로써 나타나는 것으로 판단된다. 이러한 결과로부터 gallotannin의 하나인 PGG가 알레르기 반응을 현저히 저해하는 효과가 있는 것으로 나타나, 향후 알레르기성 질환을 예방, 개선 및 치료하는 데 유용한 물질로 사용될 가능성이 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 한국과학창의재단(Project No. 20150059)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Patel BY, Volcheck GW. 2015. Food allergy: common causes, diagnosis, and treatment. *Mayo Clin Proc* 90: 1411-1419.
- Thomsen SF. 2015. Epidemiology and natural history of atopic diseases. *Eur Clin Respir J* 2: 1-6.
- He S, Zhang H, Zeng X, Chen D, Yang P. 2013. Mast cells and basophils are essential for allergies: mechanisms of allergic inflammation and a proposed procedure for diagnosis. *Acta Pharmacol Sin* 34: 1270-1283.
- Harvima IT, Levi-Schaffer F, Draber P, Friedman S, Polakovcova I, Gibbs BF, Blank U, Nilsson G, Maurer M. 2014. Molecular targets on mast cells and basophils for novel therapies. *J Allergy Clin Immunol* 134: 530-544.
- Pevec B, Pevec MR, Marković AS, Batista I. 2011. The high-affinity IgE-receptor signaling pathway in the treatment of allergies. *Acta Med Croat* 65: 425-434.
- Lyu JH, Lyu SA, Yoon HJ, Ko WS. 2008. Anti-allergic effect of Seungmagalgeun-tang through suppression of NF- κ B and p38 mitogen-activated protein kinase activation in the RBL-2H3 cells. *Korean J Orient Physiol Pathol* 22: 1572-1578.
- Kim E, Ahn S, Lee DC. 2015. Inhibitory effect of *Alpiniae*

- officinarum* Rhizoma extract on degranulation in RBL-2H3 cells. *Korean J Plant Resour* 28: 321-328.
8. Choi MY, Choi EJ, Lee E. 1999. Effect of *Rhus chinensis* gall extract on liver function, plasma lipid composition and antioxidant system in rats with high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 632-637.
 9. Lee YS, Han OK, Bae MJ, Kim KJ, Shin SW, Lee SK, Park JH. 2003. Antimicrobial and anticancer effects of *Galla Rhois* on pathogens isolated from oral and KB human oral epidermoid carcinoma cells. *Korean J Orient Physiol Pathol* 17: 1427-1432.
 10. Cho HS, Kang S, Kim JH, Choi MJ, Yu HW, Park E, Chun HS. 2014. Antioxidant and antimicrobial activities of combined extracts of *Galla rhois*, *Achyranthes japonica* Nakai, *Terminalia chebula* Retz and *Glycyrrhiza uralensis*. *Korean Soc Biotechnol Bioeng J* 29: 29-35.
 11. Ata N, Oku T, Hattori M, Fujii H, Nakajima M, Saiki I. 1996. Inhibition by galloylglucose (GG6-10) of tumor invasion through extracellular matrix and gelatinase-mediated degradation of type IV collagens by metastatic tumor cells. *Oncol Res* 8: 503-511.
 12. Huh JE, Lee HJ, Song GY, Cha BC, Kim HS, Yoo DY, Ryu SY, Kim SH. 2002. Effect of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose isolated from *Galla Rhois* on gap junctional intercellular communication and antiangiogenic activity. *Korean J Orient Physiol Pathol* 16: 452-457.
 13. Kwon OJ, Bae JS, Lee HY, Hwang JY, Lee EW, Ito H, Kim TH. 2013. Pancreatic lipase inhibitory gallotannins from *Galla Rhois* with inhibitory effects on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Molecules* 18: 10629-10638.
 14. Kim YH, Yoshimoto M, Nakayama K, Tanino S, Fujimura Y, Yamada K, Tachibana H. 2013. Tannic acid, a higher galloylated pentagalloylglucose, suppresses antigen-specific IgE production by inhibiting ϵ germline transcription induced by STAT6 activation. *FEBS Open Bio* 3: 341-345.
 15. Kim YH, Yang X, Yamashita S, Kumazoe M, Huang Y, Nakahara K, Won YS, Murata M, Lin IC, Tachibana H. 2015. 1,2,3,4,6-Penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranose increases a population of T regulatory cells and inhibits IgE production in ovalbumin-sensitized mice. *Int Immunopharmacol* 26: 30-36.
 16. Galli SJ, Nakae S, Tsai M. 2005. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 6: 135-142.
 17. 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.
 18. van Beek AA, Knol EF, de Vos P, Smelt MJ, Savelkoul HFJ, van Neerven RJJ. 2013. Recent developments in basophil research: do basophils initiate and perpetuate type 2 T-helper cell responses?. *Int Arch Allergy Immunol* 160: 7-17.
 19. 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.
 20. Lee MY, Seo CS, Lee JA, Lee NH, Kim JH, Ha H, Zheng MS, Son JK, Shin HK. 2011. Anti-asthmatic effects of *Angelica dahurica* against ovalbumin-induced airway inflammation via upregulation of heme oxygenase-1. *Food Chem Toxicol* 49: 829-837.
 21. Coward WR, Okayama Y, Sagara H, Wilson SJ, Holgate ST, Church MK. 2002. NF- κ B and TNF- α : a positive autocrine loop in human lung mast cells?. *J Immunol* 169: 5287-5293.
 22. Kim W. 2010. Experimental study about pathway of Aconiti Ciliare Tuber on allergic reaction of inflammation. *Korean J Orient Med* 16: 155-166.