

即時型 알레르기 反應에 있어서 물抽出液의 抑制作用機轉

黃光鎬 · 李彦政 · 宋峰根 · 金炯均*

ABSTRACT

Mechanism of Inhibitory Action of Anaphylaxis by Aqueous Extract of *Poncirus trifoliata*

Gwang-Ho Hwang, Eon-Jeong Lee, Bong-Keun Song, Hyeong-Kyun Kim
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,
Wonkwang University, Isksan, Korea

The dried unripe fruit of *Poncirus trifoliata* L. is widely used to treat urticaria, itch and indigestion in folk medicine. And recently it was reported the component of the fruit was found to exhibit an inhibitory effect on histamine release from mast cells. So to evaluate the effect of aqueous extract of *Poncirus trifoliata* L. (PTFE) on compound 48/80-induced histamine release, the study was carried out in rat peritoneal mast cell.

PTFE (10^{-3} ~1mg/ml) inhibits the histamine release induced by compound 48/80 ($5\mu\text{g/ml}$) in rat peritoneal mast cells. To clarify the mechanism of these inhibition, we investigated the effect of PTFE on cAMP and intracellular calcium content. The increase in cAMP content, when PTFE was added, was transient. At concentration of 1mg/ml, the cAMP content of mast cells was significantly increased at a rate of 53 times of basal cells at 10sec. PTFE inhibits histamine release by augmenting the cAMP content in mast cells. Moreover, PTFE inhibits intracellular calcium release induced by compound 48/80.

* 圓光大學校 韓醫科大學 內科學 教室

This result suggests that PTFE may be useful for the prevention and treatment of allergy-related disease.

Key word : Poncirus trifoliata, Compound 48/80, histamine, mast cell, cAMP

I. 緒 論

枳實 *poncirus trifoliata* (L.) Raf (Rutaceae) 은 우리나라에서 광범위하게 자라고 있는 탕자의 未熟果로 그 性味는 苦寒하여 破氣散積, 行痰消痞, 下氣通便 등의 작용이 있으며, 임상적으로 便秘, 痢疾, 食滯, 消化不良, 胃擴張, 肝炎, 膽囊炎, 胃酸過多, 子宮下垂, 脫肛, 急性氣管支炎, 氣管支喘息, 胃腸病으로 야기된 피부질환 등의 치료에 사용되고 있는 천연물이다.¹⁻⁶⁾

알레르기(allergy)란 特異的인 알레르겐(allergen)에 접촉함으로써 일어나는 과민증상태로서, 변화된 반응능이 재접촉에 의해 명확하게 된다. 이 용어는 본래 모든 변화된 반응성(증가 또는 감소)을 의미하는 것이나, 현재는 보통 過敏症狀態를 표현하는 데 사용되고 있다. 알레르기는 卽時型과 遲延型으로 구분된다. 즉시형 알레르기의 하나인 아나필락시(anaphylaxis)는 無防禦란 뜻으로 抗原에 感作된 후 동일한 항원에 접촉했을 때 단시간내에 일어나는 면역반응으로 이종단백질 및 기타물질에 대한 생체의 비정상적 또는 과대한 알레르기성 반응이다.⁷⁾

즉시형 알레르기를 일으키는 필수적 세포는 肥胖細胞이다.^{8,9)} 肥胖細胞의 脫顆粒을 유도하는 肥胖細胞 활성화는 Fc수용체에 항원, anti-IgE, lectin 등의 결합에 의하거나, anaphylatoxin 등에 의한 자극, calcium ionophore, compound 48/80, codeine 및 합성부신피질 자극호르몬과 같은 약리적 복합물에 의하여 야기된다고 보고되어 있다.¹⁰⁻¹³⁾ 반면에 비반세포의 탈과립을 억제하는 물질에는 cAMP를 변형하는 약물, 인지질대사를 변화시키는 약물, calcium과 calmodulin 길항제, cromoglycate와 플라보노이드, 스테로이드 등이

있다.¹⁴⁻¹⁷⁾

Chun 등¹⁸⁾은 廣橋나무 未成熟果(aurantii Fructus Immaturus)의 물추출액을 정맥주사하였을 때 랫트의 수동성 피부아나필락시스(passive cutaneous anaphylaxis:PCA)반응과 시험관내 histamine 유리가 유의성 있게 억제되었음을 보고하였으며, Huang¹⁹⁾은 枳實(citrus aurantium)의 성분인 tangeratin과 nobiletin이 비반세포로부터의 histamine 유리를 억제한다고 보고하였다.

실제 임상¹⁻⁶⁾에서는 물론, 민간약²⁰⁾으로서도 알레르기와 관련된 질환의 치료에 枳實을 많이 應用하고 있고, 특히 康²¹⁾은 경구투여시 PCA반응 억제효과가 있는 약물 중 枳實이 가장 큰 효과가 있다고 보고하고 있다.

상술한 내용과 같이, 枳實에 관한 최근 연구를 살펴보면, histamine의 유리 억제에 관한 내용과 알레르기의 결과적인 억제효과를 보고하고 있지만, 그 이전에 관한 연구는 미흡하다고 사료되어 본 연구에 착수하게 되었다.

본 연구에서는 枳實 물추출액이 비반세포의 탈과립을 유도하는 물질인 compound 48/80에 의해 유도된 histamine의 변화를 관찰하였고, histamine의 분비에 주요한 작용을 하는 cAMP와 Ca^{2+} 의 유리 억제에 미치는 枳實 물추출액의 효과와 그 작용기전을 규명하고자 실험을 실시하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 動物

체중 200~300gm의 Sprague-Dawley계 수컷 랫트를 사용하였다.

2) 藥劑

본 실험에 사용한 枳實은 원광대학교 전주한방병원에서 구입한 건조생약이다. 본초학적으로 枳實은 芸香(산초)科 Rutaceae에 屬하는 常綠小喬木인 廣橘나무(酸橙) *Cirus aurantium* L. 或은 당귤나무(甜橙) *C. sinensis* Osbeck, 탕자나무(枸橘) *Poncirus trifoliata* (L.) RAF의 미성숙한 유과를 말하나, 본 실험에서는 탕자나무(枸橘) *Poncirus trifoliata* (L.) RAF를 사용하였다.

3) 實驗用 試藥 및 機器

Compound 48/80, metrizamide와 poly-L-lysine은 Sigma company 제품을 사용하였고, Fluo-3 AM 은 Molecular Probe, Inc.에서 구입하였으며, cAMP kit는 Amersham International plc.에서 구입하여 사용하였다. 기타 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

기기로는 Spectrofluorimetry (Kontron, Germany), ACAS 570 Interactive Laser Cytometer (Meridian Inc., Okemos, MI), ELISA reader (Molecular Device, USA) 등을 사용하였다.

2. 實驗方法

1) 枳實의 抽出

枳實의 추출은 건조 생약 100g을 취하여 세절한 다음 증류수 500ml를 가하여 수욕 상에서 5시간씩 2회 추출하여 식힌 후, 0.45 μ m 여과기로 여과한 후, 동결건조하여 -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 이 추출물은 사용하기전에 신선한 생리식염수나 Tyrode buffer A (10mM HEPES, 130mM NaCl, 5mM KCl, 1.4mM CaCl₂, 1mM MgCl₂, 5.6mM glucose, 0.1% BSA)를 사용하여 일정농도로 조제하였다.

2) 試驗管内 實驗

(1) 랫트 腹腔肥脾細胞의 分離

Kanemoto 등²²⁾의 방법에 준하여 랫트 복강비반세포를 분리하였다. 즉, 랫트를 에테르로 마취시킨 후 실온에서 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B(NaCl, NaHCO₃, KCl, NaH₂PO₄, glucose)약 20ml을 복강내에 주입하고 90초간 복벽을 가볍게 마사지한 후 복벽 중앙선을 약간 절개하여 복강세척액을 스포이드로 채취하여 150g로 10분간씩 3회 반복, 원침시킨 후, 상층 부유액을 버리고 동일 Tyrode buffer B로 재부유시켰다. 이 세포부유액중 비반세포는 Yurt 등²³⁾의 방법으로 분리 정제하여 순도 90~95%를 얻었다.

(2) Compound 48/80에 의한 histamine 遊離

랫트 복강비반세포 부유액에 枳實 물추출액 (10⁻³~1mg/ml)을 첨가하여 10분간 반응시킨 후 compound 48/80 용액(5 μ g/ml)을 부가하여 10분 후에 400g로 4 $^{\circ}$ C에서 5분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 비반세포 부유액에 枳實 물추출액과 compound 48/80용액 대신 Tyrode buffer A를 첨가한 군을 blank로 하고, 枳實 물추출액 대신 Tyrode buffer A를 첨가하고 compound 48/80용액을 부가한 군을 대조군으로 하였다. 비반세포 부유액 1ml에 들어있는 histamine의 총량은 비반세포가 들어 있는 부유액에 perchloric acid를 넣어 100 $^{\circ}$ C로 5분간 가열하여 비반세포를 파괴시킨 후 측정하였다. 세포, 배양상층액 및 혈청중에 있는 histamine은 Shore 등²⁴⁾의 방법을 약간 수정하여 정량하였다. histamine의 유리율(%)은 다음과 같은 식으로 구하였다.

histamine 유리 억제율(%)=(약물을 부가하지 않았을 때의 histamine 유리율 - 약물을 부가하였을 때의 histamine 유리율) \times 100/약물을 부가하지 않았을 때의 histamine 유리율

(3) 細胞內 cAMP 測定

Tyrode buffer A에 부유시킨 랫트 복강비

반세포(5×10^5 세포)에 枳實 물추출액(1mg/ml)을 넣어 37°C에서 배양하였다. 배양시간은 0, 10, 30, 60, 180, 300초로하고 산성화에탄올(86% ethanol 0.9ml : 1M HCl = 99:1)을 넣어 세차게 혼합하여 반응을 정지시킨 후 액체질소에서 동결시켰다. 이 시료를 녹여서 혼합한 후 400g로 4°C에서 5분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후 상층액 0.9ml을 취해 감압 건조시켰다. 이 건조시료중의 cAMP함량은 assay buffer 200ml에 용해시킨 후 cAMP정량 kit (Amersham International plc.)를 사용하여 측정하였다.

(4) 細胞內 calcium濃度 測定

Ca²⁺, Mg²⁺이 없는 PBS(CMF-PBS)에 부유시킨 랫트 복강비반세포(1×10^5 세포)를 poly-L-lysine을 코팅한 35mm dish에 부착시켰다. Fluo-3 AM(최종농도, 3mM)으로 37°C에서 30분간 염색한 다음 신선한 CMF-PBS로 조심스럽게 2회 세척 후 이 CMF-PBS 1ml을 넣어주었다. 枳實 물추출액을 부가한 후 10분간 37°C에서 배양한 후 compound 48/80을 넣어 증가하는 세포내 calcium은 200mW 아르곤-이온 레이저 방출광원이 장착된 ACAS 570 Interactive Laser Cytometer(Meridian Inc., Okemos, MI)를 사용하여 형광강도로서 scanning하여 측정하였다.

III. 實驗 成績

1. 枳實 물抽出液이 試驗管內에서 compound 48/80에 의한 랫트 腹腔肥胖細胞의 histamine 遊離抑制效果 <Fig. 1>

비반세포에 枳實 물추출액을 1mg/ml 농도까지 첨가하여도 세포독성이 관찰되지 않았다 (data not shown). 비반세포에 compound 48/80을 처리하면 수 초 후에 세포막이 흐트러지면서 과립들이 세포밖으로 돌출되어 나온다. 그러나 비반세포를 枳實 물추출액으로 전처리하고, compound 48/80을 처리하면 histamine 유리가 일어

나지 않는다. 枳實 물추출액(0.001~1mg/ml)은 용량의존적으로 랫트 복강비반세포의 histamine 유리를 현저하게 억제시켰다.

枳實 물추출액의 농도가 각각 10^{-3} mg/ml일 때는 $23.5 \pm 2.5\%$, 10^{-2} mg/ml일 때는 $64.9 \pm 3.1\%$, 10^{-1} mg/ml일 때는 $82.6 \pm 3.7\%$, 1mg/ml일 때는 $98.7 \pm 5.7\%$ 로 현저하게 용량의존적으로 histamine 유리를 억제시켰다.

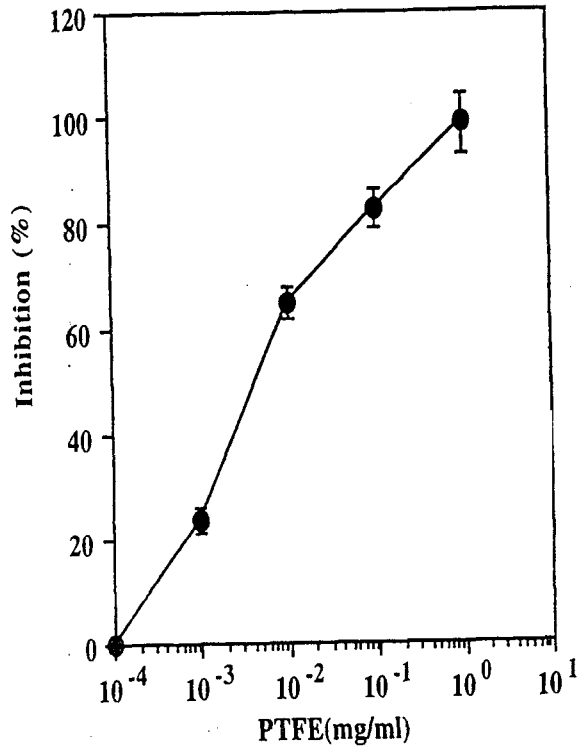


Fig 1. Inhibitory effect of PTFE on compound 48/80 induced histamine release from rat peritoneal mast cells. Rat peritoneal mast cells(2×10^5 cells/ml) were pretreated with saline or PTFE(10^{-3} ~1mg/ml) for 10min. Compound 48/80 solution ($5 \mu\text{g/ml}$) were added to the peritoneal mast cell suspension pretreatment with the above agent. Each point shows the mean \pm S.E.(n=3).

2. 랫트 腹腔 肥胖細胞의 cAMP含量에 미치는 枳實 物抽出液의 效果 <Fig. 2>

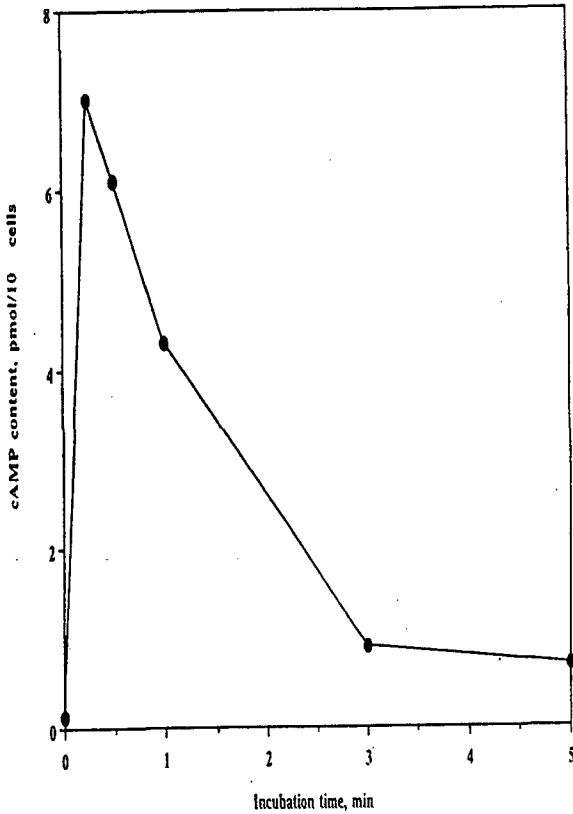


Fig 2. Time course of increase in the cyclic AMP level of rat peritoneal mast cells caused by PTFE. Rat peritoneal mast cells(5×10^5 cells/ml) were pre-treated with saline or PTFE (1mg/ml) AT 37°C. Each point represents the of duplicate values.

본 실험의 목적은 枳實 물추출액에 의한 비만 세포내의 cAMP함량의 증가가 세포내 calcium 저장고에서 calcium방출을 억제하는지를 밝히는데 있다. 만약 그렇다면, 枳實 물추출액에 의한 랫트 복강비만세포에서 histamine억제 기전중의 하나가 cAMP증가에 의한 것이라는 것을 설명할 수 있을 것이다. 따라서 枳實 물추출액에 의한 histamine 유리 억제 기전을 규명하기 위해 cAMP함량과 세포내 calcium농도를 분석하였다. 랫트 복강 비만세포에 枳實 물추출액 (1mg/ml)

을 넣어 배양하였을 때 cAMP의 증가는 순간적이었으며, 枳實 물추출액을 넣었을 때가 枳實 물추출액을 넣지 않았을 때보다 53배 증가하였다. 또한 枳實 물추출액을 첨가한 후 10초에 정점에 이르다가 3분후에는 12.9%로 급격히 감소했다.

3. 랫트 腹腔肥胖細胞의 細胞內 calcium 濃도에 미치는 枳實 物抽出液의 效果 <Fig. 3,4>

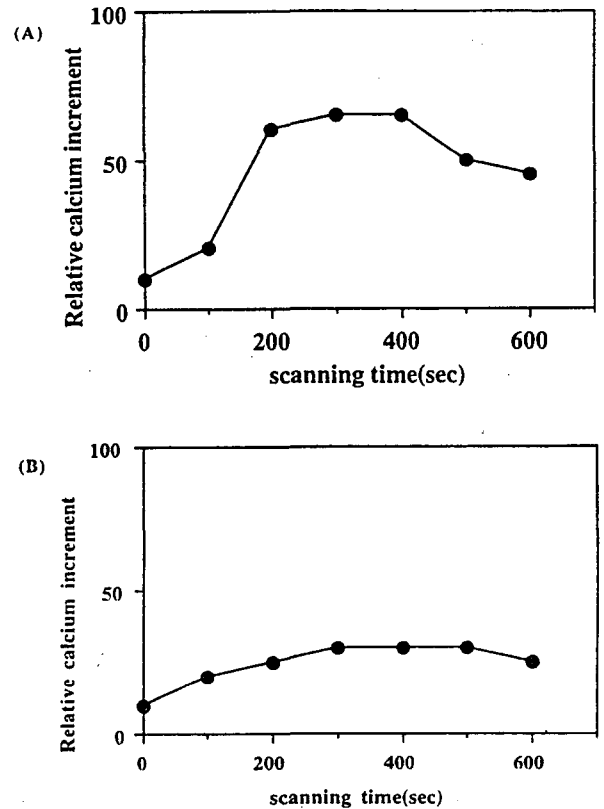


Fig 3. Time course of the compound 48/80($5 \mu\text{g/ml}$)-induced relative Ca^{2+} increment in rat peritoneal mast cell(1×10^5 cells/ml). (A) after treatment with distilled water only, (B) after treatment with PTFE (1mg/ml) for 10min at 37°C. The calcium increment were measured at time intervals by using an ACAS Interacitive Laser Cytometer. Each point represents the mean of duplicate values.

비반세포와 결합된 Fluo-3/AM은 유리 calcium 이온과 친화도가 매우 높은 Fluo-3로 분해된다. calcium이온과 킬레이트를 형성한 Fluo-3는 488nm의 광선에 의하여 처리되었을 때 형광을 발산한다. Compound 48/80에 의한 랫트 복강비반세포내의 calcium저장고로부터 calcium방출에 미치는 枳實 물추출액의 효과를 분석하였다. 枳實 물추출액을 1mg/ml의 농도로 랫트 복강비반세포를 전처리하였을 때 compound 48/80에 의한 랫트 복강비반세포내의 calcium증가는 현저히 억제되었다.

after treatment with PTFE (1mg/ml). (B) after treatment with distilled water only for 10min at 37°C. The calcium increment were measured at time intervals by using an ACAS Interacitive Laser Cytometer.

IV. 考 察

알레르기(allergy)란 특이적인 알레르겐(allergen)에 접촉함으로써 일어나는 과민증상태로서, 변화된 반응능이 재접촉에 의해 명확하게 된다. 이 용어는 본래 모든 변화된 반응성(증가 또는 감소)을 의미하는 것이나, 현재는 보통 과민증 상태를 표현하는 데 사용되고 있다. 알레르기는 즉시형과 지연형으로 구분된다.⁷⁾

본 논문에서 보고의 대상이 되는 즉시형 알레르기는 알레르겐의 투여 또는 흡입후 단시간 내에, 즉 수분에서 1시간 내에 출현되는 알레르기성 반응으로서, 아나필락시(anaphylaxis)와 아토피(atopy)도 포함된다.^{7,21)}

아나필락시는 1910연대에 Richet에 의해 사용된 용어이며, 어떤 항원이 이 항원에 이미 감각되어 있는 개체에서 비반세포 또는 호흡기구에 부착되어있는 항체와 결합하게 되면 단시간내에 쾌속히 일어나는 면역반응을 말하는 것으로 전신성 반응 또는 국소성 반응으로 일어날 수 있다.²⁵⁾ 전신성반응은 통상 이미 감각되어 있는 개체에게 해당 항원을 혈관내에 주사함으로써 발생하는데 수분내에 shock상태에 빠지며 간혹 치사적이고, 국소성 반응은 항원의 체내 진입구에 따라 다른데, 국소적 피부종창, 鼻 또는 結膜의 삼출, 고초열, 기관지성 천식, 두드러기 등의 형을 취한다.²⁵⁾

肥胖細胞는 Ehrlich에 의해 처음 관찰, 명명된 이래 그 형태와 유래 및 기능에 대하여 많은 학자들의 연구보고가 있다. 비반세포는 즉시형 알레르기를 일으키는 필수세포이다.^{8,9)} 비반세포의 脫顆粒을 유도하는 肥胖細胞 活性化는 여러 가지 자극에 의하여 일어나는데, Fc수용체에

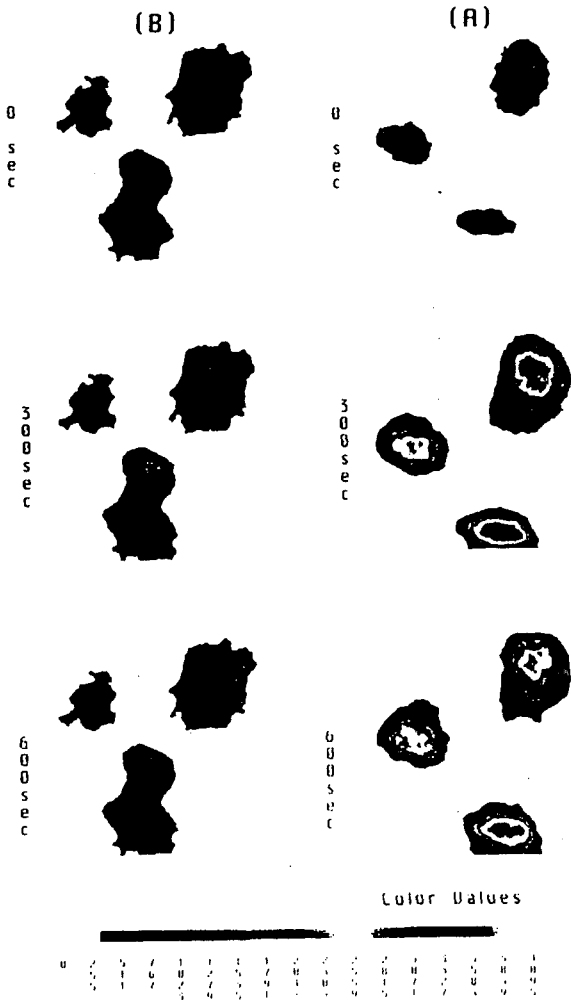


Fig 4. Time course of the compound 48/80(5µg/ml)-induced relative Ca²⁺ increment in rat peritoneal mast cell(1×10⁵ cells/ml). (A)

항원, anti-IgE, lectin 등의 결합에 의하거나, anaphylatoxin 등에 의한 자극, calcium ionophore, compound 48/80, codeine, morphine 및 합성 부신피질 자극 호르몬과 같은 약리적 복합물에 의하여 야기된다고 보고되어 있다.¹²⁻¹⁵⁾ 반면 비반세포의 탈과립을 억제하는 물질에는 cAMP를 변형시키는 약물, 인지질 대사를 변화시키는 약물, calcium과 calmodulin길항제, cromoglycate와 flavonoids, protease억제제, 비반세포의 세포의 세포 및 골격에 작용하는 약물, 스테로이드 등이 있다.¹⁴⁻¹⁶⁾

이러한 자극 가운데 IgE에 의하여 증개되는 능동성 아나필락시(active systemic anaphylaxis:ASA)와 수동성 피부아나필락시(passive cutaneous anaphylaxis:PCA)는 생체 내의 즉발성 과민반응의 연구모델로 이용되어 왔다. 또한 비반세포의 세포질내 calcium을 증가시켜 비반세포내의 탈과립을 유도하는 약물로 알려진 compound 48/80에 의한 생체내 아나필락시¹⁷⁾ 및 기타 아나필락시¹⁸⁾에 대한 보고도 많다.

Compound 48/80은 P-methoxy-N-methylphenethyl anine의 저분자량의 polymers로서 비반세포의 탈과립을 유도하는 인자들 가운데 가장 많이 사용되는 약제로서 비반세포의 세포질내로 Ca²⁺ 유입을 증가시켜 vasoactive amine을 유리하는 물질이다. 본 실험에서는 Chun 등¹⁸⁾의 개념대로 compound 48/80 투여에 의한 아나필락시스 shock model을 이용하였다. 이 실험 model은 항원으로 감작하거나 야기주사하여 IgE항체에 의하여 증개되는 전통적인 아나필락시와 유사한 매개물질 유리가 야기되기 때문에, 생쥐에서 IgE 항보강제를 사용해야 하며, 생쥐의 strain에 따른 반응성 정도를 고려해야하는 전통적인 아나필락시 model보다 여러 가지 경제적인 혹은 시간적인 절약을 할 수 있어 여러 가지 알레르기 질환에 사용하는 약제들을 시험하는데 있어 좋은 model로 생각된다. 치사율은 compound 48/80농도에 따라 용량의존성으로 증가하는 것이

관찰되었다.

枳實은芸香(산초)科 Rutaceae에 속하는 常綠小喬木인 廣橘나무(酸橙) *Citrus aurantium* L. 또는 당귤나무(喆橙) *C. sinensis* Osbeck, 탕자나무(枸橘) *Poncirus trifoliata* (L.) Raf의 未成熟한 幼果이다.¹⁻⁶⁾ 性味에 있어서는 苦寒, 苦辛微寒, 苦酸微寒, 苦酸寒, 苦微寒 등으로 대부분 苦寒으로 나타났다.¹⁻⁶⁾ 效能과 主治를 살펴보면 破氣散積, 行痰消痞, 下氣通便 등의 효능으로 便秘, 痢疾, 食滯, 消化不良, 胃擴張, 肝炎, 膽囊炎, 胃酸過多, 子宮下垂, 脫肛, 急性氣管支炎, 氣管支喘息, 胃腸病으로 야기된 皮膚疾患 등을 치료한다.¹⁻⁶⁾ 성분으로 枳實은 limonene 등으로 된 精油와 hesperidin, aurantiamarin 등의 flavon 配糖體 등을 함유한다.^{2,30)}

또한 枳實의 효능에 관하여 <神農本草經>에 “治大風在皮膚中 如麻豆苦痒”이라 하였다. Chun 등¹⁸⁾은 廣橘나무 未熟果(aurantii Fructus Immaturus)의 물추출액을 정맥주사하였을 때, PCA반응과 시험관내 histamine 유리를 유의성 있게 억제하였다고 하였으며, Huang³¹⁾은 枳實의 성분인 tangeratin과 nobiletin이 비반세포에서의 histamine 유리를 억제한다고 보고하였다. 민간약²⁰⁾은 물론 임상¹⁻⁶⁾에서도 枳實은 蕁麻疹 등의 알레르기 질환에 사용되고 있고, 康²¹⁾은 경구투여시 PCA를 억제하는 유효한 약물로 枳實, 柴胡, 五味子, 黃芩, 大棗, 防己, 縮砂仁, 麻黃, 當歸, 辛荊, 人蔘, 山茱萸, 厚朴, 貝母, 甘草 등을 제시하였는데, 이 중 枳實이 가장 큰 효과가 있다고 하였다.

그러나 상술한 내용과 같이 枳實에는 histamine의 유리 억제의 효과가 있으며, 임상적으로 알레르기 질환에 사용되고 있지만, 아직 규명되지 않은 그 기전을 밝히고자 본 연구에 착수하였다.

공인된 실험방법에 따라, 렛트의 복강에서 비반세포를 분리해 내고, 이 비반세포에서 compound 48/80에 의한 histamine의 유리를 조사하고, 여기에 枳實 물추출액을 개입시켜 histamine의 유리 및 억제율을 비교하여 枳實 물추출액(0.001

~1mg/ml)이 용량의존적으로 랫트 복강비반세포의 histamine 유리를 현저하게 억제시킨 유의성 있는 결과를 얻었다.

나아가 그 작용기전의 규명을 위한 실험으로, 枳實 물추출액이 비반세포내의 cAMP와 calcium의 유리 억제에 미치는 영향을 조사하였다.

cAMP함량의 변화를 관찰하는 목적은 枳實 물추출액에 의한 비반세포내의 cAMP함량의 증가가 세포내 calcium저장고에서 calcium방출을 억제하는지를 밝히는데 있다. 만약 그렇다면, 枳實 물추출액에 의한 랫트 복강비반세포에서 histamine 억제 기전중의 하나가 cAMP 증가에 의한 것으로 설명할 수 있을 것이다.

실제로 랫트 복강비반세포에 枳實 물추출액(1mg/ml)을 넣어 배양하였을 때 cAMP의 증가는 순간적이었으며, 枳實 물추출액을 넣었을 때는 枳實 물추출액을 넣지 않았을 때보다 53배 증가하였다. 이 결과는 비반세포의 cAMP함량을 증가시키는 枳實 물추출액의 농도(1mg/ml)는 이들 세포로부터 histamine 유리를 억제하는 농도와 같음을 보여준다. 이 사실은 cAMP가 histamine 유리 조절인자로서 작용함을 시사해준다. 이러한 枳實 물추출액에 의한 cAMP함량의 증가는 주로 cAMP의 생성의 증가와 phosphodiesterase의 억제(cAMP phosphodiesterase가 억제됨으로써 결과적으로 비반세포내의 cAMP함량이 증가되어 histamine유리가 억제된다)에 의한 것으로 사료된다.¹⁴⁾

역시 histamine의 억제기전에 유력하게 작용할 것으로 예상되는 calcium방출을 관찰한 결과, 枳實 물추출액을 1mg/ml의 농도로 랫트 복강비반세포를 전처리하였을 때 compound 48/80에 의한 랫트 복강비반세포내의 calcium증가는 현저히 억제되었다.

이러한 결과들은 枳實 물추출액이 비반세포막에 신속히 작용하여 복잡한 과정의 매개물질 생성이 방해되어 세포내의 cAMP 함량이 증가되고,

calcium증가가 억제됨으로써 결과적으로 histamine 유리가 억제될 가능성을 나타내 주고 있다.

V. 結 論

卽時型 알레르기 반응에 있어서 枳實 물추출액의 抑制作用機轉을 규명하기 위하여 前述한 방법에 의하여 실험을 실시한 바, 枳實 물추출액은 세포질의 대표적인 매개물질인 histamine, Ca^{2+} 의 방출을 현저하게 억제하였고, cAMP의 방출을 현저하게 증가시키는 등의 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 枳實 물추출액은 用量 依存的으로 랫트 腹腔 肥胖細胞의 histamine 유리를 현저(98.7±5.7%)하게 억제시켰다.

2. 랫트 腹腔 肥胖細胞에 枳實 물추출액(1mg/ml)을 넣어 培養하였을 때 cAMP의 증가는 瞬間的이었으며, 枳實 물추출액을 넣었을 때는 枳實 물추출액을 넣지 않았을 때보다 53배 증가하였다.

3. 枳實 물추출액을 랫트 腹腔 肥胖細胞를 前處理하였을 때, compound 48/80에 의한 랫트 복강비반세포내의 calcium증가는 현저히 억제되었다.

이러한 결과들은 枳實 물추출액이 肥胖細胞膜에 신속히 작용하여 복잡한 과정의 매개물질 생성이 방해되어 세포내의 cAMP 함량이 증가되고, calcium증가가 억제됨으로써 결과적으로 histamine 유리가 억제될 가능성을 나타내 주고 있다.

결론적으로 枳實 물추출액은 아나필락시 및 알레르기 관련질환의 예방 및 치료에 유용할 것으로 기대된다.

參考文獻

1. 高本釗 : 中藥大辭典(中卷), 臺北, 新文豐出版社, p.1236, 1985.
2. 李尙仁外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp. 229~230, 1994.
3. 申佶求 : 申氏本草學(各論), 서울, 壽文社, pp. 724~725, 1988.
4. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 三光印刷社, p.383, 1986.
5. 王浴生 : 中藥藥理와 應用, 北京, 人民衛生出版社, pp.736~739, 1983.
6. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, pp.1188~1189, 1973.
7. 朴承成 : 醫學免疫學, 서울, 大學書林, pp.65~78, 1982.
8. Gomes JC, Distasi LC, Sgabosa F, and Barata LES : Pharmacological Evaluation of the Inhibitory Effect of Extracts from *Anchietia salutaris* on the histamine Release Induced in the Rat and the Guinea Pig. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 103: 188-193, 1994.
9. Ando A, Martin TR, and Galli SJ : Effects of Chronic Treatment with the c-kit Ligand, Stem Cell Factor, on Immuno-globulin E-Dependent Anaphylaxis in Mice, *J. Clin. Invest.* 92: 1639-1649, 1993.
10. Tasaka K, Mitsunobu MIO, and Masahiro O : Intracellular Calcium Release Induced by Histamine Releasers and Its Inhibition by Some Antiallergic Drugs. *Ann. Allergy.* 56: 464-469, 1986.
11. Chand N, Pillar J, Diamantis J, Perhach JR, and Duane Sofia R : Inhibition of Calcium Ionophore (A23187)-Stimulated Histamine Release from Rat Peritoneal Mast Cells by Azelastine: Implications Its Mode. *Eur. J. Pharmacol.* 96 : 227-233, 1983.
12. Takei M, Umeyama A, Shoji N, Arihara S, and Endo K : Mechanism of Inhibition of IgE-Dependent Histamine Release from Rat Mast Cells by Penasterol and Penasterone. *J. Pharm. Sci.* 84 : 223-230, 1995.
13. Ohmori Y, Ito M, Kishi M, Mizutani H, Katada T, and Konishi H : Antiallergic Constituents from Oolong Tea Stem. *Biol. Pharm. Bull.*, 18 : 683-686, 1995.
14. Makino H, Saijo T, Ashida Y, Kuriki H, and Maki Y : Mechanism of Action of an Antiallergic Agent, Amlexanox(AA-673), in Inhibiting Histamine Release from Mast Cells. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 82: 66-71, 1987.
15. Reanmongkol W, Tohda M, Matsumoto K, Subhadhirasakul S, Takayama H, Sakai SI, and Watanabe H : Inhibitory Effect of Alkaloids Extracted From the Stem Bark of *Hunteria Zeylanica* on 5-Lipoxygenase Activity in vitro, *Biol. Pharm. Bull.* 18: 910-912, 1995.
16. Ashida Y, Saijo T, Kuriki H, and Maki Y : Interaction of the Antiallergic Agent AA-344 with Biogenic Amines and Prostaglandins in Production of cyclic AMP in rat mast cells. *Int. Arch allergy appl. Immun.* 62: 415-422, 1980.
17. Graziani Y, and Chayoth R : Elevation of Cyclic AMP Level in Ehrlich Ascites Tumor Cells by Quercetin. *Biochem. Pharmacol.* 26 : 1259-1261, 1977.
18. Chun YT, and Sankawa U : Screening of Antiallergic Effect in Traditional Medicinal Drugs and Active Constituents of *Aurantii Fructus Immaturus*. *Shoyakugaku Zasshi* 43 : 314-323, 1989.

19. Huang KC : The Pharmacology of Chinese Herbs, London, CRC Press, p.107, 1994.
20. MBC편집국 : 民間療法大典, 서울, 약업신문사, pp.74~75, 1989.
21. 康秉秀 : 韓方臨床알레르기, 서울, 정보사, p.71, 1988.
22. Kanemoto TJ, Kasugai T, Yamatodani A, Ushio H, Mochizuki, Tohya K, Kimura M, Nishimura M, and Kitamura Y : Supernormal Histamine Release and Normal Cytotoxic Activity of Beige Rat Mast cells with Giant Granules. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 100 : 99-106, 1993.
23. Yurt RW, Leid RW, and Austen KF : Native Heparin From Rat Peritoneal Mast Cells. *J. Biol. Chem.* 252 : 518-521, 1977
24. Shore PA, Burkhalter A, and Cohm VH : A Method for Fluorometric Assay of Histamine in Tissues. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 127 : 182-186, 1959.
25. 서울대학교醫科大學 : 免疫學, 서울대학교出版部, p.167, 229, pp.234~241, 1994.
26. 載新民 : 中醫免疫學, 啓業書局有限公司, pp.1~10, 30, 1985.
27. 金鎮一 : 아토피성 皮膚炎에 대한 東西醫學的考察, 경희대학교석사학위논문, 1987.
28. 朴恩貞 : 小兒癩疹에 대한 文獻的 考察, 대한한의학회지 10(2):194-210, 1989.
29. 徐克強 : 劫敏湯治療過敏性鼻炎五十八例, 浙江中醫雜誌 11 : 497, 1988.
30. 康秉秀外 : 臨床配合本草學, 서울, 永林社, pp.322~323, 1994.