

황기의 알러지 비염 동물실험에 대한 면역조절 효과

강 희 · 김윤범¹ · 안규석*

경희대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 경희대학교 한의과대학 안이비인후과학교실

Immuno Modulatory Effect of Astragali Radix on OVA Induced Allergic Mouse Model

Hee Kang, Yoon Bum Kim¹, Kyoo Seok Ahn*

Department of Oriental Medicine, Kyunghee University.

¹: Department of Ophthalmotology & Dermatology, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

Astragali Radix(AR), is a popular tonic herb prescribed for "insufficient qi" in Korea, Japan and China. The present study examined the effect of AR ethanol extract on ovalbumin induced allergic mouse model. AR administration reduced levels of IFN-gamma, Interleukin(IL)-4, IL-5 and total IgE in the OVA induced allergic inflammation. It also protected the upper airway respiratory epithelium from being damaged by the OVA induced inflammation. Taken together, our results showed that the use of AR alone proved to down-regulate Th1 and Th2 cytokine production and play a protective role in tissue damage in allergic disease.

Key words : *Astragali Radix*, allergy, IL-4, IFN - γ

서 론

최근 알러지 질환 발생이 매우 급증하고 있는데 선진국의 경우 최고 30%의 소아들이 알러지비염, 알러지결막염, 알러지 천식, 또는 아토피 피부염과 같은 증상들을 겪는 것으로 보고되었다¹⁾. 1형 과민반응에 속하는 알러지는 음식이나 진드기, 약물, 화장품, 꽃가루 등과 같은 항원에 의해 유도된다. 이러한 항원은 항원에 특이적인 Immunoglobulin E(IgE)라는 항체를 만들게 하는데 이 항체는 mast cell이나 basophil의 표면에 있는 수용체와 결합하여 이들 세포의 탈과립을 일으킨다²⁾. IgE의 과잉 형성은 1형 T helper cell (Th1 cell)과 2형 T helper cell (Th2 cell)의 불균형으로 인한 것인데 Th2 cell이 많으면 이들 세포가 분비하는 사이토카인들이 IgE 형성을 촉진하기 때문이다³⁾.

《素問·咳論》에서는 “皮毛者, 肺之合也 皮毛先受邪氣 邪氣以從其合也”이라 하여 피부와 호흡기가 邪氣를 가장 먼저 접하는 장부임을 인식하였다⁴⁾. 따라서 항원에 의한 알러지반응도 피부나 호흡기에 매우 호발한다. 한의학에서 병이 발생하는 기본적인 배경은 正氣가 허손한 것이므로 알러지 질환의 발생도 허

증을 기본으로 함을 알 수 있다.

황기는 전통적으로 補氣하는 대표적인 약물이며 아울러 固表하면서 托毒生肌하는 효능을 가지고 있어서 氣虛로 인한 일반적인 허증과 특히 衛氣가 약하여 생긴 表虛證에 응용한다⁵⁾. 임상적으로 황기는 다른 약물들과 함께 알러지 질환을 치료하는데 많이 활용되고 있다. 예컨대 황기가 君藥인 보중익기탕은 알러지 질환에 탁월한 효과를 가지고 있음이 실험적으로도 증명되었다⁶⁻⁸⁾.

황기가 면역계에 미치는 효과는 여러 가지로 보고되었는데 황기 알콜 추출액을 T cell에 처리한 후 anti-CD3/anti-CD28로 자극했을 때 IL-4의 유전자 및 단백질 양이 증가하였고 반대로 IFN-gamma는 감소하였다고 보고되었으며 황기를 직접 경구투여한 마우스에게 in vivo로 직접 anti-CD3 antibody를 이용하여 T cell을 자극하였을 때 역시 혈청의 IL-4는 증가하고 IFN-g는 감소하였다고 보고되었다^{9,10)}. 또한 황기 물추출액을 경구투여한 후 ovalbumin(OVA)으로 감작한 마우스의 activated B cell 비율은 증가하였지만 혈청을 측정할 결과 IFN-g에 의해 유도되는 IgG2a는 감소하였으며 아울러 비장세포를 anti-CD3/CD28로 자극한 결과 IFN-g와 IL-4가 모두 감소하였다고 보고되었다¹¹⁾.

본 연구에서는 황기 알콜추출액을 경구투여하면서 동시에 OVA으로 마우스에게 알러지를 유발했을 때 혈청의 IgE와 Th1 cell 및 Th2 cell의 변화를 측정할 결과 유의성 있는 결과를 얻었

* 교신저자 : 안규석, 서울시 회기동 1 경희대학교 한의과대학 병리학교실

· E-mail : ahnks@khu.ac.kr, · Tel : 02-961-0335

· 접수 : 2005/03/30 · 수정 : 2005/05/02 · 채택 : 2005/06/03

기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 생후 8주된 BALB/c 수컷 마우스이며 오리엔트(주)에서 구입하였다. 고형사료와 물은 제한 없이 공급하면서 12시간 낮, 12시간 밤의 생활리듬을 주었으며 환온항습상태에서 1주간 적응시킨 후 사용하였다. 실험군은 각각 정상군(Normal), 대조군(Control), 황기투여군(AR)으로 분류하였다.

2) 약재 추출물 제조

본 실험에 사용된 황기는 한국생약협회로부터 구입한 6년근이며 분말한후 쏘니케이터를 이용하여 70%에탄올로 추출하고 상층액은 건어낸 후 침전물을 다시 80%, 90%, 100% 에탄올에 추출하였다. 전체 상층액을 60℃에서 감압농축한 후 동결건조하여 분말 시료를 얻었다(yield: 2.22%).

3) 배지 및 항체

Fetal Bovine Serum(FBS)와 OVA (grade V)는 Sigma에서 구입하였으며 antibiotic-antimycotic과 RPMI 1640은 Invitrogen Life Technology에서 구입하였다. IL-4, IL-5, IFN-g 및 total IgE의 ELISA 측정에 사용된 OPT EIA set는 BD Pharmingen에서 구입하였으며 Biotin NHS는 Vector Laboratories에서 구입하였다.

2. 방법

1) 검액 투여

한약재는 phosphate buffered saline (PBS)에 1.25g/kg의 농도로 마우스에게 28일간 매일 경구투여 하였다. 정상군과 대조군은 동량의 PBS를 투여하였다. Al(OH)₃와 PBS를 동량으로 섞은 용액에 0.1%의 OVA를 넣은 후 실험 시작 1일, 7일, 14일째 복강내에 투여하여 감작하였으며 정상군은 PBS를 복강내에 투여하였다. 항원 유발을 위해 마지막 복강투여 1주일 후 7일간 대조군과 실험군 마우스의 비강에 OVA 용액을 점적하였다.

2) 혈청의 분리

마우스를 마취시킨 후 심장채혈하여 혈액을 채혈한 후 응고시켰다. 원심분리하여 혈청은 분리한 후 -20℃에 보관하였다.

3) 염증세포 수 측정

적당량의 혈액을 슬라이드에 떨어뜨린 후 wedge가 형성되도록 도말한 후 건조하였다. 건조시킨 슬라이드를 methanol에 충분히 잠기게 하여 고정한 후 Wright-Giesma 용액에 15분간 염색하였다. 도말표본을 400배로 관찰하였는데 임의로 5개의 시야를 정한 후 각 시야에서 100개의 백혈구를 counting한 후 그 중에서 호중구 및 호산구의 숫자를 측정하였다.

4) 호흡상피조직의 H&E staining

마우스를 치사한 후 비강조직을 떼어 10% formalin에 24시간 고정하였다. 고정후 13% formic acid에 24시간 decalcification

하였다. 그후 paraffin embedding을 위해 부위별로 section한후 앞부분을 6 μ m씩 마이크로톰으로 자른 후 Hemacyclin & Eosin staining을 하였다.

5) 비장세포 부유액의 준비

비장을 생쥐로부터 적출하여 10% FBS, 1% antibiotic-antimycotic이 함유된 RPMI-1640으로 세척하였다. Micro slide glass로 비장을 잘게 으갠 뒤 0.40 μ m nylon cell strainer로 여과하였다. 1000 rpm, 10분간 원심분리한 후 RBC lysis buffer로 적혈구를 파괴하였다. 2회 원심분리한 후 비장세포를 trypan blue exclusion에 생존률을 확인한 후 seeding하였다.

6) 세포 배양

24 well plate에 비장세포를 5 \times 10⁶ cells/ml로 seeding한 후 OVA (1mg/ml)과 함께 72시간 37℃, 5% CO₂ incubator에 배양하였다. Cell harvest를 한후 상층액은 원심분리후 -20℃에 보관하였다.

7) ELISA 방법을 이용한 IgE, cytokine 측정

96 well plate의 각 well에 capture antibody를 4℃에서 overnight으로 coating하였다. OVA-specific IgE를 위해서는 capture IgE antibody(2 μ g/ml)를 well에 coating하였다. 10% FBS가 함유된 PBS를 200 μ l/well씩 넣고 1시간 상온에 둔 채 blocking하였다. 3회 washing하여 blocking buffer를 완전히 제거한 후 standard IgE, standard cytokine과 샘플을 적당량 희석하여 100 μ l씩 분주하여 2시간 상온에 두었다. 5회 washing후 IgE와 IL-4, IL-5, IFN-g에 대한 biotinylated detection antibody와 avidin을 100 μ l씩 분주한후 1시간 상온에 두었다. Biotinylated OVA는 Biotin N hydroxysuccinimide ester-Water Soluble과 OVA를 혼합한 후 투석하여 제조한후 사용하였다. 7회 washing후 TMB substrate reagent 100 μ l를 가한후 30분이 지나서 1M H₂SO₄ 50 μ l를 첨가하였다. Microplate reader (Molecular Devices, US)로 파장 450-570 nm에서 optical density를 측정하였다.

8) 통계분석

실험결과는 평균값으로 표시하였으며 SPSS 11.0을 이용하여 student T test로 처리하였다.

결 과

1. 황기 알콜 추출액 경구투여가 OVA으로 알러지를 유도한 마우스의 혈청의 total IgE와 OVA-specific IgE

Total IgE와 OVA-specific IgE는 28일간 한약을 경구투여후 마우스를 심장채혈하여 얻은 혈청을 가지고 ELISA에 의해 측정하였다. 한약을 경구투여한 마우스의 total IgE는 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다. Total IgE의 경우 혈청을 400배로 희석하여 측정했을 때 정상군은 검출되지 않았으나 대조군은 18765.96 \pm 2562.17 ng/ml이었고 황기를 투여한 군은 14218.09 \pm 4907.52 ng/ml로 25% 감소하였다(Fig. 1). OVA-specific IgE는 O.D.(Optical Density)값이 정상군은 0.068 \pm 0.024로 거의 검출되지 않았으나 대조군은 0.538 \pm 0.022였고 황기투여군 0.511 \pm 0.089으로 그다지 뚜렷한 감소는 관찰되지 않았다(Fig. 2).

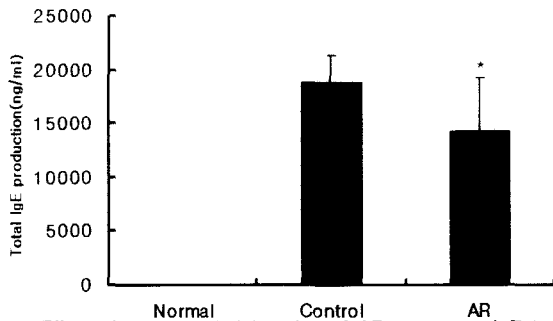


Fig. 1. Effect of in vivo administration of AR on serum IgE levels.

All mice were intraperitoneally immunized with OVA on days 0, 7, 14, and subsequently inoculated intranasally with OVA from days 21 to 28. The mice were orally administered with AR or PBS (Normal and Control) from days 0 to 27 and serum was obtained on day 28. The levels of total IgE are calculated by reference to standard curves of purified mouse IgE. Each value represents the mean \pm S.D. of 5 animals. *: P < 0.05.

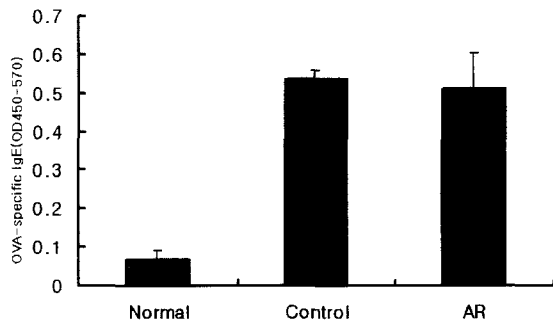


Fig. 2. The methods are described in Fig.1. The levels of OVA-specific IgE are expressed as the optical density at 450-570.

2. 황기 알콜 추출액 경구투여가 OVA으로 알러지를 유도한 마우스 비장세포의 cytokine 분비에 미치는 영향.

OVA으로 감염된 마우스를 처사시킨 후 얻은 비장세포를 72 시간 OVA으로 자극하여 그 상층액을 ELISA로 분석한 결과 황기를 경구투여한 마우스의 사이토카인이 모두 유의성있게 감소하였다. 정상군은 거의 검출이 되지 않았으나 대조군의 경우 IFN-g는 6275.99 ± 744.39 pg/ml, IL-4는 264.00 ± 70.77 pg/ml, IL-5는 1528.02 ± 509.19 pg/ml 이었으나 황기투여군의 경우 IFN-g는 3153.68 ± 312.70 pg/ml, IL-4는 139.61 ± 97.21 pg/ml, IL-5는 733.46 ± 313.18 pg/ml이었다(Fig. 3. A-C).

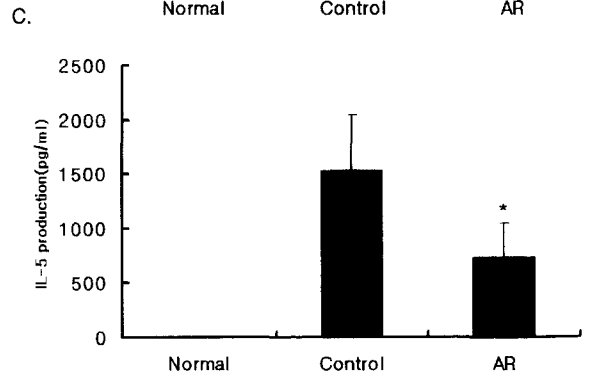
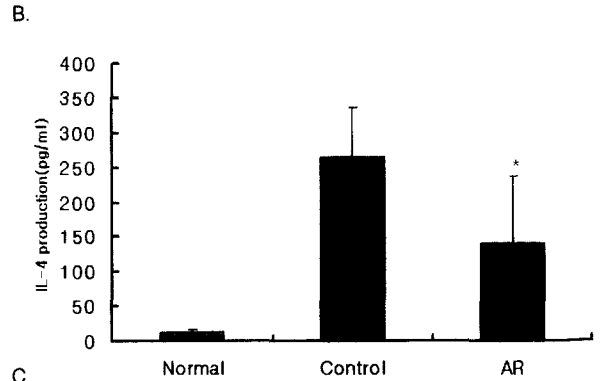
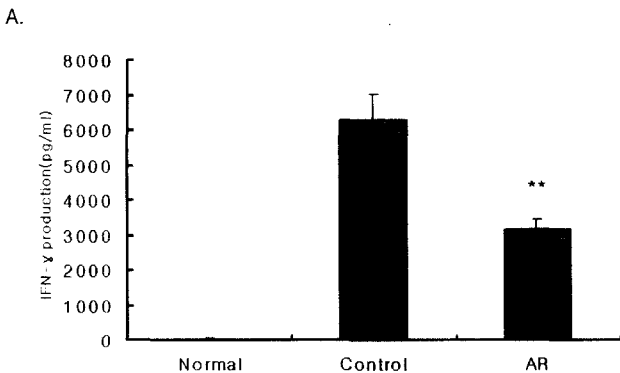


Fig. 3. Effect of in vivo AR administration on cytokine production in spleen cell culture.

All mice were intraperitoneally immunized with OVA on days 0, 7, 14, and subsequently inoculated intranasally with OVA from days 21 to 28. The mice were orally administered with AR or PBS (Normal and Control) from days 0 to 27. Spleen cells were obtained from day 28 and cultured in the presence of OVA. The levels of each cytokine are calculated by reference to standard curves of recombinant standard mouse cytokine. Each value represents the mean \pm S.D. of 5 animals. *: P < 0.05, **: P < 0.001.

3. 황기 알콜 추출액 경구투여가 OVA으로 알러지를 유도한 마우스 혈액의 염증세포수에 미치는 영향.

OVA로 알러지를 유발한 마우스의 혈액중 호중구와 호산구수를 측정하였다. 호산구는 본 실험에서 확인되지 못했다. 호중구의 경우 대조군보다 황기투여군이 감소하였으나 통계적으로 유의성은 없었다(Fig. 4).

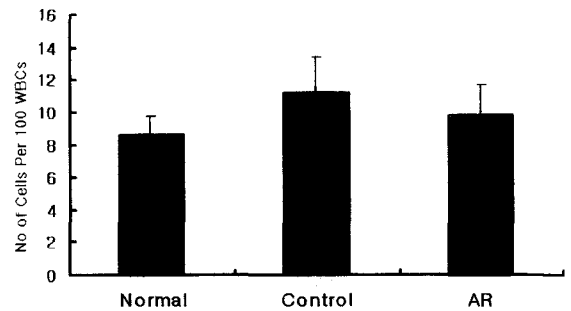


Fig. 4. The number of neutrophils in the OVA induced allergic mouse. The values are expressed as means \pm S.D.

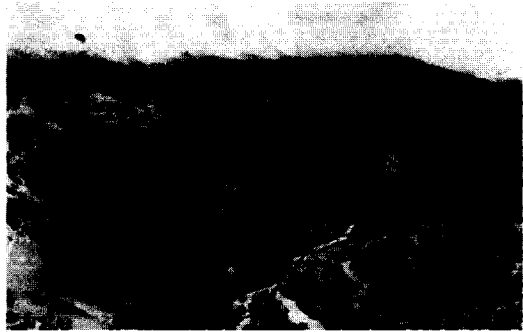
4. 황기 알콜 추출액 경구투여가 OVA으로 알러지를 유도한 마우스 상기도 호흡상피에 미치는 영향.

H&E staining을 한 비강 호흡상피를 보면 정상군의 경우 cilia가 잘 보존되었다. 그러나 대조군의 경우 cilia가 많이 손실되었고 혈관과 분비선이 확장되었음을 알 수 있었다. 황기를 투여한 마우스는 대조군에 비해 cilia가 잘 보존되었음을 알 수 있었다(Fig. 5. A-C).

A. Normal



B. Control



C. AR



Fig. 5. Comparison of the upper airway respiratory epithelium from OVA induced allergic mice by H&E staining. A: Section from normal mouse, showing well-kept cilia. B: Section from control mouse showing loss of cilia and enlarged glands and vessels. C: Section from AR treated mouse showing relatively well-kept cilia and glands. 400× magnification.

고찰

알러지 질환은 여러 가지 세포와 신호 전달 경로가 얽혀 있기 때문에 복잡한 양상을 띠지만 기본적으로는 naive한 T helper cell이 특정 항원에 감작된 후 IL-4, IL-5, IL-13 등의 사이토카인을 분비하는 Th2 반응에 기인한다¹²⁾. IL-4와 IL-13은 B cell이 isotype switching을 하여 IgE를 생산하게 하는데 항원에 특이적인 IgE가 mast cell에 결합하고 다시 반복적인 항원에 노출되어

감작이 되면 이들 세포에서 탈과립이 일어나 histamine 및 lipid derivative가 분비되어 vasodilation, edema, smooth muscle contraction 등이 일어난다¹³⁾. 또한 Th2 cell과 eosinophil, basophil, monocyte가 여러 가지 cytokine 및 chemokine을 분비하면서 국소 부위에 염증을 일으킨다. 특히 Th2 cell은 항원을 제시해주는 dendritic cell에 의해 활성화되어 알러지 염증이 만성화 되도록 한다^{14,15)}. 또한 다른 Th2 사이토카인인 IL-5에 의해 eosinophil 생산이 증가하고 수명이 지연되며 이러한 eosinophil은 MBP, toxic basic protein, leukotriene, platelet-activating factor 등을 만들어내어 염증을 진행시킨다.

그러나 Th1 cell과 Th2 cell의 불균형으로 인해 Th2 사이토카인의 과잉으로 형성된 점이 알러지의 기본 병리현상이라 할지라도 Th1 사이토카인 반응을 강화하는 것으로써 알러지 염증이 항상 진정되지 않는다¹⁶⁾. 예컨대 만성화된 알러지성 천식이나 아토피 피부염에서 모두 Th1 반응과 Th2 반응이 같이 증가하는 경향이 나타나는데 동물 실험이나 임상 케이스에서 Th1 cell 분화를 촉진하는 IL-12 투여로 인해 Th2 염증 반응이나 알러지 증상을 악화시킨 보고들이 있다¹⁷⁻²¹⁾. 그 밖에 알러지 치료를 위한 방법들로 allergen을 반복적으로 노출시키는 specific immunotherapy(SIT)나 아미노산 배열을 다르게 만든 short allergen peptide를 사용함으로써 알러지 감작 반응을 떨어뜨리는 효과를 기대하고 있으나 이들 역시 anaphylaxis나 새로운 IgE antibody 유도할 수 있다는 부작용을 안고 있으며 adjuvant으로 사용되는 aluminium salts 자체가 강력한 Th2 유도제이기도 하다²²⁻²⁴⁾. 또한 Th2 cytokine인 IL-4, IL-5, IL-13을 blocking하는 물질 등이 실험적으로 연구 중이나 이들 단백질에 대한 수용체가 한가지 이상 존재하기 때문에 만족스런 결과는 아직 미흡하며 IgE의 작용을 저해하는 anti-IgE 치료는 매우 고가이기 때문에 유사 물질을 계속 탐색중이다²⁵⁻²⁸⁾.

알러지 질환의 발병과정을 교정하는 치료법이 아직 초기 단계에 불과하기 때문에 현재 흔히 사용되는 치료법은 증상을 관리하는 것에 국한되어 항히스타민제, leukotriene receptor 길항제, 또는 스테로이드 제제에 의존하는 실정이다²⁹⁾. 이러한 약물은 염증세포들의 초기 단계보다는 진행단계를 차단하는 작용만을 가지기 때문에 항원에 감작되거나 2형 T cell로 분화하는 단계를 차단하는 약물의 개발이 더 근본적인 것이라 할 수 있다.

알러지 질환에 임상적으로 활용되는 補中益氣湯이나 小青龍湯은 실험적으로 항알러지 효과에 대한 연구가 많이 진행되었는데 이들은 모두 증상 완화뿐만 아니라 마우스 실험 결과 혈청의 IgE를 떨어뜨리고 IL-4 합성량도 스테로이드 제제만큼은 못하지만 대조군에 비해 유의성있게 감소시켰다^{30,31)}.

황기는 인삼과 더불어 매우 광범위하게 사용되는 면역자극제 한약으로 인정되고 있는데 특히 암치료에서 면역계를 자극하는 효과 때문에 서양에서도 많이 알려져 있다³²⁾. 현재까지 밝혀진 황기의 핵심 구성 물질은 Asparagine, calycosin, cycloastragenol, astragalosides, betaine, kumatakenin, glucuronic acid, β-sitosterol, soyasaponin, formononetin, astraisoflavan 등이며 심혈관계와 신경계, 내분비 그리고 세포성

면역반응을 자극하는 것으로 밝혀져있다. 황기는 마우스 대식세포의 염증성 사이토카인 분비를 증가시키며 면역기능을 저하시킨 마우스의 T cell 기능을 회복시켰고 말초혈구 배양을 황기와 함께 배양시 사이토카인과 IgM을 증가시켰다고 보고되었다³³⁻³⁵⁾. 또한 2주간 정상인에게 황기를 경구투여후 IFN-g 생산능이 증가하였으며 투여가 끝난지 2달 후에도 그 효과가 지연되었다고 보고되었다³⁶⁾.

본 실험에서 황기를 마우스에게 경구투여하면서 동시에 OVA으로 알러지를 유발한 결과 혈청의 total IgE와 IL-4, IL-5 및 IFN-g 모두 유의성있게 감소하였다. 그러나 OVA specific IgE는 대조군과 별 다른 차이는 없었다. 또한 비강의 호흡상피도 대조군에 비해 황기를 투여한 마우스의 섬모도 잘 보존되었고 혈관이나 분비선 팽창도 적었으며 혈액의 중성구 숫자도 황기투여군이 비교적 적었다. 황기에 의해 total IgE가 감소된 것은 IL-4 감소와 밀접한 관련이 있어 보인다. 그러나 OVA specific IgE 농도가 별다른 차이를 주지 못한 것은 아마도 한약이 OVA에 의한 마우스의 초기 반응에 바로 관여하지 못한 것으로 사료된다. 또한 황기에 의해 IL-5가 감소한 것으로 보아 비록 본 실험에서 호산구는 확인되지 않았으나 호산구로 인한 알러지염증도 감소하였을 것으로 추측할 수 있다. IFN-g는 Th1 type의 사이토카인지만 그 역할은 대식세포와 다른 염증세포를 활성화하여 세균을 효율적으로 제거하는 것인데 알러지가 만성화되는 경우엔 역시 다량으로 존재한다. 황기는 IFN-g 합성도 감소시켰는데 이것은 황기의 IL-4 합성 감소가 IFN-g의 길항적 효과에 의한 것이 아님을 알 수 있으며, 다만 알러지 염증 반응을 줄임으로써 숙주에게 미치는 손상을 감소하는 것에 의의가 있다고 볼 수 있다. 따라서 본 연구를 통해 황기가 알러지 염증의 조직 손상을 보호할 뿐만 아니라 Th1반응과 Th2 반응을 감소하여 만성화된 알러지 치료에 응용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

결 론

본 연구에서는 황기 알콜 추출물을 마우스에게 4주간 경구투여하면서 동시에 OVA으로 알러지를 유발한 결과 Th1 및 Th2 cytokine인 IFN-g, IL-4, IL-5가 모두 감소하였고 아울러 혈청의 IgE 수치도 감소시켰으므로 알러지 치료에 補氣약물이 활용될 수 있는 근거를 보여 주었다.

감사의 글

이 연구는 2003년도 경희대학교 개교 55주년 기념 학술진흥 특별연구비지원에 의해 수행됨.

참고문헌

1. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic dermatitis; ISAAC. The Internatational Study of Asthma and Allergies in

- Childhood(ISAAC) Steering committee. Lancet, 351(9111):1225-1232, 1998.
2. Matsuda, H., Tewtrakul, S., Morikawa, T., Nakamura, A., Yoshikawa, M. Anti-allergic principles from Thai zedoary : structural reuirements of curcuminoids for inhibition of degranulation and effect on the release of TNA-a and IL-4 in RBL-sH3 cells. Bioorganic & Medicinal chemistry, 12, 5891-5898, 2004.
3. Romagnani, S. Regulation of the development of type 2 T helper cels in allergy. Curr Opin Immunol 6(6):833-846, 1994.
4. 裴秉哲, 今釋 黃帝內經素問, 서울, 성보사, p 82, 1995.
5. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회, 본초학, 서울, 영림사, pp 579-581, 2004.
6. Kobayashi, H., Mizuno, N., Kutsuna, H., Teramae, H., Ueoku, S., Onoyama, J., Yamanaka, K., Fujita, N., Ishii, M. Hochu-ekki-to suppresses development of dermatitis and elevation of serum IgE level in NC/Nga mouse. Drug Exp Clin Res., 29(2):81-84, 2003.
7. Suzuki, T., Takano, I., Nagai, F., Ushiyama, K., Okubo, T., Seto, T., Ikeda, S., Kano, I. Suppressive effects of Hochu-ekki-to, a traditional Chinese medicine on IgE production and histamine release in mice immunized with ovalubumin. Biol. Pharm. Bull., 22, 1180-84, 1999.
8. Kaneko, M. et al. Suppression of IgE produciton in mice treated with a traditional Chinese medicine, bu-zhong-yi-qi-tang (Japanese name: hochu-ekki-to). Immunopharmacology, 36(1):79-85, 1997.
9. 강 희, 배현수, 안규석. 황기에 의한 Helper T cell의 생존 및 활성 증가. 대한동의생리병리학회지, 15(4):560-565, 2001.
10. Kang, H., Ahn, K.S., Cho, C.W., Bae, H.S. Immunomodulatory effect of Astragali Radix Extract on Murine Th1/Th2 Cell Lineage Development. Biol. Pharm. Bull. 27(12):1946-1950, 2004.
11. Song, H.Q., Kobayashi, T., Xiu, L.M., Hong, T., Cyong, J.C. Effects of Astragali root and Hedysari root on the murine B and T cell differentiation. J Ethnopharmacol, 73, 111-119, 2000.
12. Grewe, M., Bruijnzeel-Koomen, C.A.F.M., Schopf, E., Thepen, T. Langeveld-Wildschut, A.G. A role for Th1 and Th2 cells in the immune-pathogenesis of atopic dermatitis. Immunol Today, 19, 359-361, 1998.
13. Busse, W.W., Lemanske, R.F. Jr. Asthma. N Engl J Med., 344, 350-362, 2001.
14. Lambrecht, B.N., De Veerman M, Coyle A.J., Gutierrez-Ramos, J.C., Thielemans, K., Pauwels, R.A. Myeloid dendritic cells induce Th2 responses to inhaled antigen, leading to eosinophilic airway inflammation. J Clin Invest, 106, 551-559, 2000.
15. Julia, V., Hessel, E.M., Malherbe, L., Glaichenhaus, N., O'Garra, A., Coffman, R.L. A restricted subset of dendritic

- cells captures airborne antigens and remains able to activate specific T cells long after antigen exposure. *Immunity*, 16, 271-283, 2002.
16. Lewis, D.B. Allergy immunotherapy and inhibition of Th2 immune responses: a sufficient strategy? *Current Opinion in Immunology*. 14, 644-651, 2002.
 17. Spergel, J.M., Mizoguchi, E., Oettgen, H., Bhan, A.K., Geha, R.S. Roles of Th1 and Th2 cytokines in a murine model of allergic dermatitis. *J Clin Invest*, 103, 1103-1111, 1999.
 18. Hofstra, C.L., Van Ark I., Hofman, G.I., Nijkamp, F.P., Jardieu, P.M., Van Oosterhout, A.J. Differential effects of endogenous and exogenous interferon-gamma on immunoglobulin E, cellular infiltration, and airway responsiveness in a murine model of allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 19, 826-835, 1998.
 19. Tsitoura, D.C., Blumenthal, R.L., Berry, G., Dekruyff, R.H., Umetsu, D.T. Mechanisms preventing allergen-induced airways hyperreactivity: role of tolerance and immune deviation. *J Allergy Clin Immunol*, 106, 239-246, 2000.
 20. Salvi, S.S., Babu, K.S., Holgate, S.T. Is asthma really due to a polarized T cell responses toward a helper T cell type 2 phenotype? *Am J Respir Crit Care Med*, 164, 1343-1346, 2001.
 21. Castro, M., Chaplin, D.D., Walter, M.J., Holtzman, M.J. Could asthma be worsened by stimulating the T-helper type 1 immune response? *Am J Respir Cell Mol Biol*, 22, 143-146, 2000.
 22. Von Garnier, C., Astori, M., Kettner, A., Dufour, N., Heusser, C., Corradin, G., Spertini, F. Allergen-derived ion peptide immunotherapy downregulates specific IgE response and protects from anaphylaxis. *Eur J Immunol*, 30, 1638-1645, 2000.
 23. Jarnicki, A.G., Tsuji, T., Thomas, W.R. Inhibition of mucosal and systemic Th2-type immune responses by intranasal peptides containing a dominant T cell epitope of the allergen Der p 1. *Int Immunol* 13, 1223-1231, 2001.
 24. Pedotti, R., Mitchell, D., Wedemeyer, J., Karpuz, M., Chabas, D., Hattab, E.M., Tsai, M., Galli, S.J., Steinman, L. An unexpected version of anaphylaxis: anaphylactic shock to a self-peptide. *Nat Immunol*, 2, 216-222, 2001.
 25. Borish, L.C., Nelson, H.S., Corren, J., Bensch, G., Busse, W.W., Whitmore, J.B., Agosti, J.M. Efficacy of soluble IL-4 receptor for the treatment of adults with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 107, 963-970, 2001.
 26. Mattes, J., Yang, M., Siqueria, A., Clark, K., MacKenzie, J., McKenzie, A.N., Webb, D.C., Matthaei, K.I., Foster, P.S. IL-13 induces airways hyperreactivity independently of the IL-4R alpha chain in the allergic lung. *J Immunol*, 167, 1683-1692, 2001.
 27. Milgrom, H., Berger, W., Nayak, A., Gupta, N., Pollard, S., McAlary, M., Talyor, A.F., Rohane, P. Treatment of childhood asthma with anti-immunoglobulin E antibody. *Pediatrics*, 108, E36, 2001.
 28. Casale, T.B., Condemi, J., LaForce, C., Nayak, A., Rowe, M., Watrous, M., McAlary, M., Fowler-Taylor, A., Racine, A., Gupta, N. Effect of omalizumab on symptoms of seasonal allergic rhinitis: a randomized controlled trial. *J Am Med Assoc*, 286, 2956-2967, 2001.
 29. Inagaki, N., Nagai, H. Drugs for the treatment of allergic disease. *Jpn J Pharmacol* 86, 275-280, 2001.
 30. Ikeda, Y., Kaneko, A., Yamamoto, M., Ishige, A., Sasaki, H. Possible involvement of suppression of Th2 differentiation in the anti-allergic effect of Sho-seiryu-to in mice. *Jpn J Pharmacol*, 90, 328-336, 2002.
 31. Ishimitsu, R., Nishira, H., Kawauchi, H., Kawakita, T., Yoshika, Y., *Int. Immunopharmacol.*, Dichotomous effect of a traditional Japanese medicine, bu-zhong-yi-ti-tang on allergic asthma in mice. *Int. Immunopharmacol.*, 1, 857-865, 2001.
 32. Keith, I., Block, M.D., Mark, N., Mead, M.S. Immune system effects of Echinacea, Ginseng, and Astragalus: A Review. *Integrative Cancer Therapies* 2(3):247-267, 2003.
 33. Yoshida, Y., Wang, M.Q., Liu, J.N., Shan, B.E., Yamashita, U. Immunomodulating activity of Chinese medicinal herbs and *Oldelandia diffusa* in particular. *Int J Immunopharmacol.* 19(7):359-370.
 34. Zhao, K.S., Mancini, G., Doria, G. Enhancement of the immune response in mice by *Astragalus membranaceus* extracts. *Immunopharmacology*, 20(3):225-33, 1990.
 35. Wang, R.T., Shan, B.E., Li, Q.X. Extracorporeal experimental study on immuno-modulating activity of *Astragalus membranaceus* extract. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 22(6):453-56, 2002.
 36. Hou, Y.D., Ma, G.L., Wu, S.H., Li, Y.Y., Li, H.T., Effect of *Radix Astragali seu Hedysari* on the interferone system. *Chin Med J*. 94(1):35-40, 1981.