

## 발효처리한 당귀의 항알레르기 효능에 대한 연구

서민준<sup>1#</sup>, 박진한<sup>2</sup>, 이제현<sup>3\*</sup>

1 : 경주대학교 간호학과, 2 : 경주대학교 한약자원학과, 3 : 동국대학교 한방신약개발센터

### Anti-allergic Effect of the Fermented *Angelicae Gigantis Radix* in Human Mast Cell Line HMC-1

Min-Jun Seo<sup>1#</sup>, Jin-Han Park<sup>2</sup>, Je-Hyun Lee<sup>3\*</sup>

1 : Department of Nursing, Gyeongju University  
2 : Department of Oriental Medicine Resource, Gyeongju University  
3 : Korean Medicine R&D Center, Dongguk University

#### ABSTRACT

**Objectives** : Allergy is an immune dysfunction caused by degranulation from mast cells in the early phase of allergic disease. The purpose of this study was to investigate the anti-allergic effect of fermented *Angelicae gigantis Radix* in human mast cell line, HMC-1.

**Method** : The *Angelicae gigantis Radix* was fermented by *Lactobacillus acidophilus*. The cell toxicity of fermented *Angelicae gigantis Radix*(FAGR) was determined by MTT assay. The release of  $\beta$ -hexosaminidase from HMC-1 stimulated by phorbol-12-myristate 13-acetate (PMA) plus A23187 was determined by  $\beta$ -hexosaminidase assay. Also, the concentrations of cytokines (interleukin-1 $\beta$ , -6, -8 and tumor necrosis factor-alpha) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The gene expression of COX-2 from HMC-1 stimulated by phorbol-12-myristate 13-acetate (PMA) plus A23187 was determined by reverse transcription polymerase chain reaction. The release of histamine on substance P-stimulated HMC-1 was measured by histamine assay.

**Result** : The FAGR suppressed the release of  $\beta$ -hexosaminidase, a marker of degranulation, from HMC-1 stimulated by PMA plus A23187. The FAGR inhibited the production of interleukin-1 $\beta$ , -6, -8 and tumor necrosis factor-alpha. The FAGR inhibited the expression of COX-2 mRNA. The FAGR suppressed the release of histamine on substance P-stimulated HMC-1.

**Conclusion** : These results provide that FAGR may be beneficial in the treatment of allergic inflammatory disease.

Key words : ferment, *Angelicae gigantis radix*, cytokines, allergy

#### 서론

산업화의 심화에 따라 환경의 오염과 변화로 인해 아토피, 알레르기 비염, 천식 등 알레르기 관련 질환의 발생이 증가하고 있다<sup>1)</sup>. 알레르기는 인체 면역반응의 일종으로 알려져 있으며 인체 외부에서 내부로 들어온 어떤 물질에 대해 면역체

가 지나치게 반응을 보이는 것으로 두드러기, 비염, 천식 등의 과민반응 현상이 나타난다<sup>2)</sup>.

비만세포는 다양한 알레르기성 질환을 유발하는 체내 세포로 알려져 있다<sup>3)</sup>. 비만세포는 세포질 내 과립을 풍부하게 가지고 있는 면역세포로서 주로 결합조직과 점막에 존재하며, 세포 표면에 존재하는 Fc epsilon Receptor I (Fc $\epsilon$ RI)와

\*교신저자 : 이제현, 경북 경주시 동대로 123 동국대학교 한의과대학 본초학교실  
· Tel : 054-770-2835 · E-mail : leejh@dongguk.ac.kr  
#제1저자 : 서민준, 경북 경주시 태종로 188 경주대학교 간호학과  
· Tel : 054-770-5362 · E-mail : miseo@gu.ac.kr  
· 접수 : 2013년 8월 15일 · 수정 : 2013년 9월 3일 · 채택 : 2013년 9월 6일

immunoglobulin E (IgE)의 결합을 통해 과립 내 화학매개체와 사이토카인 등을 분비하면서 알레르기 반응을 일으키고 만성적으로 염증을 지속시키는데 중요한 역할을 한다<sup>4,5)</sup>.

당귀는 『神農本草經』에 최초로 수재되었으며, 性溫 無毒하고 味甘辛하여 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸 등 효능을 가지고 있고<sup>6)</sup>, 처방구성에 사용되는 본초 중 감초에 이어 다용되는 것으로 보고된 바 있다<sup>7)</sup>.

*Lactobacillus* 및 *Bifidobacterium*과 같은 유산균은 당류를 발효하여 유산을 생성하며, 체내 유익균의 성장을 촉진하는 생균 활성제(probiotics)로서 체내 콜레스테롤 흡수저해, 면역조절, 영양소의 흡수 및 이용률을 높이는 등 다양한 질병 예방효과와 생리조절작용을 하는 것으로 알려져 있다<sup>8)</sup>.

당귀의 발효와 관련하여 *Lactobacillus acidophilus*를 발효균주로 사용한 발효물에 함유된 nodakenin과 decursin이 분해되어 감소함을 보고하였다<sup>8)</sup>.

발효한약은 일반적으로 약리활성이 높아지는 것과 더불어 제형개선과 포제 효율성을 향상시키며, 이를 바탕으로 하여 한의약시장의 새로운 수요창출과 고부가가치의 한약제제를 개발할 수 있어 많은 관심을 끌고 있다<sup>10)</sup>.

본 연구는 식품의 발효균주로 흔히 사용되는 유산균인 *Lactobacillus acidophilus*로 발효시킨 당귀추출물<sup>9)</sup>이 human mast cell line, HMC-1에서 항알레르기 효과를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 발효당귀 추출물

실험에서 사용한 시료는 동우당제약(한국)에서 제조하였다. 강원도 정선에서 재배한 당귀를 10~15 mesh로 분쇄하여 발효하였다. 발효균주는 *Lactobacillus acidophilus*를 사용하였다. 발효는 발효균주를 당귀에 접종하여 incubator에서 37 °C로 48시간 배양 후 roasting기 (태환자동화기기, THDRE-20, Korea)를 사용하여 250 °C로 10~15분 roasting하였다. 48시간 배양한 시료에서 총균수를 측정하여 발효를 확인한 후 분석에 사용하였다<sup>9)</sup>.

당귀 발효물을 증류수로 2회 세척한 뒤 70 % 에탄올을 당귀 발효물의 10배 부피만큼 가한 후 2회 초음파 추출하였다. 이를 rotary evaporator로 감압 농축하여 얻은 점조상의 추출물을 동결 건조기 (Eyela, model FDU-2000, Japan)에서 건조한 뒤 얻어진 분말을 실험에 사용하였다. 당귀 발효물의 수득율은 34.0 % 였다.

#### 2) 시약

실험에 사용되어진 시약은 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma), fetal bovine serum(FBS, Thermo HyClone, Seoulin Biosciences Co.), Iscove's Modified Dulbecco's Medium(IMDM, Seoulin Biosciences Co.), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, Sigma), substance P (Sigma), phorbol 12-myristate (PMA, Sigma), calcium ionophore A23187

(Sigma), TNF ELISA kit (BD Biosciences), IL-1 $\beta$  ELISA kit (BD Biosciences), IL-6 ELISA kit (BD Biosciences), IL-8 ELISA kit (BD Biosciences) histamine release assay kit(Cayman Chemical), one-step RT-PCR PreMix kit(iNtRON Biotechnology) 등이다.

## 2. 방법

### 1) 세포배양

HMC-1 세포는 10 % FBS와 1 % penicillin-streptomycin이 첨가된 IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium) 배지에서 공기 중 이산화탄소 5 % 이하 37 °C 상태에서 배양하였다.

### 2) 세포생존율

세포생존율은 MTT [3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide] 환원 방법을 이용하여 측정하였다. HMC-1 세포를 96-well plates에  $5 \times 10^4$  cells/well 농도로 100  $\mu$ L 씩 분주한 뒤 24시간 동안 배양한 후 FBS와 1 % penicillin-streptomycin이 첨가되지 않은 배지에 시료를 세포에 처리하여 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 이후 IMDM의 1/10에 해당하는 MTT용액을 가하고 37 °C에서 4시간 더 배양하여 MTT를 환원시켜 생성된 formazan이 배지에 따라 나가지 않도록 배지를 조심스럽게 제거하였다. 그런 다음 암조건에서 30분간 건조한 후 dimethyl sulfoxide를 100  $\mu$ L 분주하여 1시간 동안 혼합한 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 3) $\beta$ -hexosaminidase 측정

24-well plate에  $2 \times 10^5$  cells/well의 세포와 DNP-IgE (0.5  $\mu$ g/mL)를 분주한 뒤 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 12시간 배양하였다. 각 세포들은 Siraganian buffer (119 mM NaCl, 5 mM KCl, 5.6 mM glucose, 0.4 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM PIPES, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1 % BSA, PH 7.2)로 2회 세척 후 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 10분간 배양하였다. 그 후 FBS와 1 % penicillin-streptomycin이 첨가되지 않은 배지에 시료를 농도별로 희석시켜 세포에 처리하여 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 30분 간 반응시켰다. 이후 DNP-HSA (10  $\mu$ g/mL)를 가하여 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 2시간 반응시키고 ice bath 에서 10분간 incubation 하여 반응을 종결시켰다. 상층액을 96 well ELISA plate에 옮기고 substrate buffer (4-p-nitrophenyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide 2 mM, sodium citrate 0.05 mM, pH 4.5) 첨가하여 37 °C에서 1 시간 동안 배양시킨 후 각 well 당 stop solution을 첨가하여 반응을 종결시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4) 사이토카인 측정

24-well plate에  $2 \times 10^5$  cells/well의 세포와 DNP-IgE (0.5  $\mu$ g/mL)를 분주한 뒤 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 12시간 배양한 다음 새로운 IMDM 배지에 시료를 농도별로 세포에 처리하였다. 30분 동안 배양한 후 DNP-HSA (10

μg/mL)를 가하여 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 2시간 반응시키고 ice bath 에서 10분간 incubation 하여 반응을 종결시켰다. 상층액을 96 well ELISA plate에 옮기고, IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α 농도를 측정하였다.

5) RNA extraction and RT-PCR

HMC-1 cells를 10% FBS를 포함한 IMDM에 현탁시킨 후 6 well plate(Corning, USA)에 1 × 10<sup>6</sup> cells/well의 세포수가 되도록 분주하였다. 그 후 anti DNP-IgE(30 ng/ml)로 감작하고 37 °C 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 새로운 IMDM배지로 교환한 후 시료를 농도별로 세포에 처리하여 1시간 동안 배양한 후 PBS로 2회 세척한 다음 DNP-HSA(10 μg/ml)을 4시간 동안 처리하여 면역반응을 유도하였다. 상층액을 제거한 후 1 mL의 Trizol을 넣고 2분간 방치한 후 chloroform을 넣고 10초간 vortexing하고 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 취하여 동량의 isopropanol을 혼합하여 흔들어 주었다. 13,000 rpm에서 25분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 pellet은 DEPC(diethyl pyrocarbonate)-DW 20 μL에 녹여 -20 °C에 보관하였다가 실험에 사용하였다. RT-PCR은 one-step RT-PCR PreMix kit(iNtRON Biotechnology, Korea)를 사용하여 45 °C에서 30분, 94 °C에서 5분간 반응시킨 후 94 °C에서 30초간 denaturation시키고, 55 °C에서 30초간 annealing시킨 다음, 72 °C에서 1분간 extension시키는 cycle을 32회 반복한 뒤, 마지막 extension은 72 °C에서 5분간 PCR machine(GeneAmp, PCR system 9,700, USA)에서 수행하였다. PCR products는 2 % agarose gel에 loading하여 100 V 조건에서 30분간 전기영동을 통하여 분석하였다.

6) 히스타민 측정

비만세포로부터 분비되는 히스타민의 농도를 측정하기 위해 HMC-1 세포(1 × 10<sup>5</sup> cells/well)를 24-well plate에 하룻밤 배양한 후 시료를 농도별로 처리하여 1시간 동안 배양하였다. 여기에 compound 48/80(10 μg/mL)을 처리하여 20분 동안 배양한 다음 세포배양액을 수거하였다. 세포배양액 내 히스타민의 농도를 효소반응법(histamine enzyme assay kit)으로 측정하였으며, 히스타민의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

7) 통계처리

모든 실험결과는 one way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여 통계처리하였고, 사후검정은 t-test를 이용하여 p<0.05 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

결 과

1. 세포독성

HMC-1 세포에 대한 발효당귀 추출물의 정상세포 보호 및 세포독성을 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. 세포만 배양한 대조군 및 발효당귀 1 μg/mL, 10 μg/mL, 100

μg/mL 농도에서 세포 생존율을 측정한 결과 독성을 나타내지 않았다(Fig. 1).

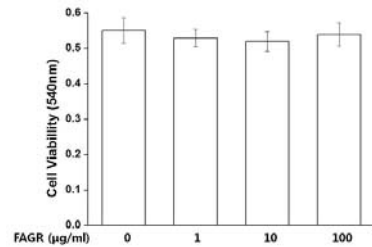


Fig. 1. Effect of Fermented *Angelicae Gigantis Radix*(FAGR) on the cell viability in HMC-1 cells. After cells (5×10<sup>4</sup> cells/well) were cultured with the indicated concentrations of FAGR, cell viability was measured by MTT assay. The result show mean value of three independent experiments.

2. 발효당귀가 β-hexosaminidase 분비에 미치는 영향

발효당귀 추출물의 비만세포에서의 탈과립 억제에 대한 효과를 확인하기 위해서 활성화된 HMC-1 세포에 처리했을 때 β-hexosaminidase 분비가 농도의존적으로 감소하였으며 100 μg/mL의 농도에서 유의성을 나타내었다(Fig. 2).

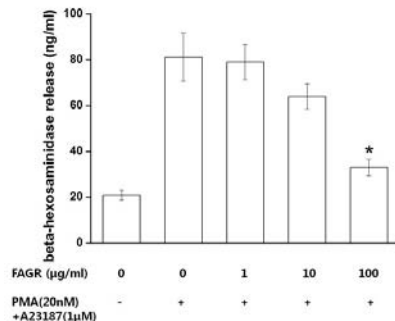


Fig. 2. Effect of Fermented *Angelicae Gigantis Radix*(FAGR) on β-hexosaminidase release from HMC-1 cells. Cells were treated with the indicated concentration of FAGR. Each value represents the mean±SD. \* p<0.05, significantly different from control value.

3. 발효당귀가 염증성 사이토카인 생성에 미치는 영향

활성화된 HMC-1 세포에 처리했을 때 염증성 사이토카인인 IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α 생성에 대한 발효당귀 추출물의 효과를 확인하기 위해 세포배양액으로부터 IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α의 농도를 ELISA의 방법으로 측정하였다. 그 결과 IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α의 생성이 발효당귀 추출물의 농도의존적으로 감소하였으며 IL-1β는 전 농도에서, IL-6와 IL-8은 100 μg/mL, TNF-α는 10 μg/mL 및 100 μg/mL의 농도에서 각각 유의성을 나타내었다(Table. 1).

(단위 : ng/ml)

	blank	control (PMA+ A23187)	FAGR 1 μg/mL	FAGR 10 μg/mL	FAGR 100 μg/mL
IL-1β	0,043 ±0,005	0,118 ±0,010	0,062 ±0,008*	0,048 ±0,009*	0,046 ±0,010*
IL-6	0,09 ±0,01	0,48 ±0,14	0,38 ±0,18	0,25 ±0,09	0,09 ±0,06*
IL-8	0,2 ±0,01	4,4 ±0,95	3,6 ±0,96	2,7 ±0,48	0,3 ±0,02*
TNF-α	0,26 ±0,08	0,80 ±0,18	0,53 ±0,19	0,41 ±0,14*	0,29 ±0,09*

Table. 1. Effect of Fermented *Angelicae Gigantis Radix*(FAGR) on cytokines production from HMC-1 cells. Cells were treated with the indicated concentration of FAGR. Cytokines(IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α) concentration were measured from cell supernatants using ELISA method. Each value represents the mean±SD. \* $p$ <0.05, significantly different from control value.

#### 4. 발효당귀가 COX-2 mRNA 발현에 미치는 영향

활성화된 HMC-1 세포에 처리했을 때 COX-2 mRNA 발현에 대한 발효당귀 추출물의 효과를 확인하기 위해 RT-PCR의 방법으로 측정하였다. 그 결과 발효당귀 추출물의 처리가 COX-2 mRNA 발현을 억제하였다(Fig. 3)

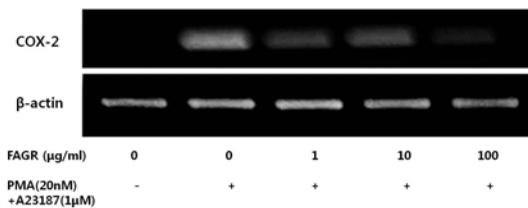


Fig. 3. Effect of Fermented *Angelicae Gigantis Radix*(FAGR) on COX-2 mRNA expression in HMC-1 cells. Cells were treated with the indicated concentration of FAGR. Levels of COX-2 mRNA was assayed by RT-PCR. β-actin was used as internal control gene.

#### 5. 발효당귀가 히스타민 분비에 미치는 영향

활성화된 HMC-1 세포에서 유리되는 히스타민에 대한 발효당귀의 억제효과를 확인하기 위해서 세포배양액으로부터 히스타민의 농도를 측정하였다. 그 결과 농도의존적으로 억제되었으며 100 μg/mL의 농도에서 유의성을 나타내었다(Fig. 4).

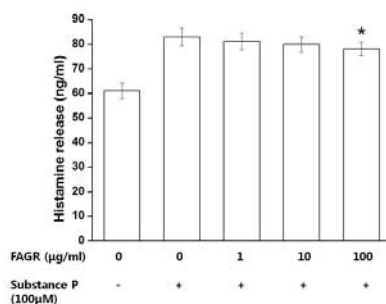


Fig. 4. Effect of Fermented *Angelicae Gigantis Radix*(FAGR) on histamine release in HMC-1 cells. Cells were treated with the indicated concentration of FAGR. Histamine release was measured by histamine assay. Each value represents the mean±SD. \* $p$ <0.05, significantly different from control value.

## 고찰

본 연구는 *Lactobacillus acidophilus*로 발효시킨 당귀추출물의 알레르기성 염증 반응에 대한 억제효과를 탐색하기 위해 활성화된 HMC-1 세포에서 β-hexosaminidase와 histamine의 방출, IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α의 생성, COX-2 mRNA 발현에 미치는 영향을 확인하였다.

비만세포는 1879년 Paul Ehrlich에 의해 처음 발견되었으며, 과립 속에 많은 생물학적 유효물질을 가지고 있는 중요 면역세포로 알려져 있다. 인체 내에서 비만세포는 고르게 분포되어 있으며 특히 외부환경과 맞닿아 있는 부위에서 다량 발견된다. 폐의 폐포 주위, 비강점막, 결막, 장관점막 등의 상피층과 결합하고 있어 최초 방어선 역할을 하는 동시에 진드기와 같은 항원과 상호작용하여 알레르기의 원인이 되기도 한다<sup>11</sup>.

β-hexosaminidase는 비만세포의 과립에 저장되어 있다가, 비만세포가 외부자극 등에 의해 면역학적으로 활성화될 때 histamine과 같이 분비된다. 이를 이용해 β-hexosaminidase의 활성화는 비만세포 탈과립의 표지인자로 사용된다<sup>12</sup>.

본 연구에서 발효당귀 추출물의 비만세포에서의 탈과립 억제에 대한 효과를 확인하기 위해서 활성화된 HMC-1 세포에 처리했을 때 β-hexosaminidase 분비가 농도의존적으로 감소하였으며 100 μg/mL의 농도에서 유의성을 나타내는 것으로 보아 탈과립 억제를 통한 알레르기성 염증반응에 효과가 있음을 알 수 있다.

알레르기 반응에는 비만세포를 포함하는 다양한 면역세포가 관여하는데, 이들 세포는 IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, GM-CSF 등과 같은 염증성 사이토카인을 분비한다<sup>13</sup>. TNF-α는 비만세포가 활성화되면 분비하는 다기능성 사이토카인으로 면역반응과 염증반응에 관여하며, IL-1β, IL-6, IL-8, GM-CSF와 같은 다른 염증성 사이토카인의 분비를 촉진한다<sup>14,15</sup>.

본 연구에서 활성화된 HMC-1 세포에 처리했을 때 염증성 사이토카인인 IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α의 생성에 대한 발효당귀 추출물의 효과를 확인하기 위해 세포배양액으로부터 IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α의 농도를 ELISA의 방법으로 측정된 결과 IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α의 생성이 발효당귀 추출물의 농도의존적으로 감소하였으며 IL-1β는 전 농도에서, IL-6와 IL-8은 100 μg/mL, TNF-α는 10 μg/mL 및 100 μg/mL의 농도에서 각각 유의성을 나타내었다.

비만세포는 prostaglandin같은 염증매개물을 분비하는데 이는 arachidonic acid가 cyclooxygenase (COX)의 작용을 받아 합성한다. COX-1은 위장관 보호, 신장의 혈류조절, 혈소판 응집 등 인체의 정상적인 기능을 유지하는데 중요한 작용을 하며, COX-2는 염증과 암 등의 질환에 중요한 역할을 한다<sup>16,17</sup>.

본 연구에서 발효당귀 추출물이 활성화된 HMC-1 세포에서 COX-2 mRNA의 발현을 억제함을 RT-PCR을 이용하여 확인하였다.

히스타민은 체내에서 히스티딘 탈탄산효소가 아미노산인 히스티딘에 작용하여 생성되고 주로 비만세포 내에 과립형태로 저장되며, 비만세포의 탈과립 시 유리되어 알레르기 면역반응을 나타내는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>18,19</sup>.

본 연구에서 활성화된 HMC-1 세포에서 유리되는 히스타민에 대한 발효당귀 추출물의 효과를 확인하기 위해서 세포배양액으로부터 히스타민의 농도를 측정된 결과 농도의존적으로 억제되었으며 100 µg/mL의 농도에서 유의성을 나타내었다.

결론적으로 *Lactobacillus acidophilus*로 발효시킨 당귀추출물은 활성화된 HMC-1 세포에 작용하여 탈과립에 의한  $\beta$ -hexosaminidase 분비를 감소시키고, 염증성 사이토카인인 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 및 TNF- $\alpha$ 의 생성을 억제하며, COX-2 mRNA의 발현을 억제하고, 히스타민의 유리를 억제하였다. 이는 발효당귀추출물이 아토피, 천식, 알레르기 비염 등의 다양한 알레르기성 질환의 개선에 효과가 있고 그 치료 및 증상경감에 사용될 수 있음을 의미하며, 앞으로 그 기전에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구에서는 *Lactobacillus acidophilus*로 발효시킨 당귀추출물의 항알레르기 효과를 HMC-1 세포에서 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 발효당귀 추출물은 탈과립에 의한  $\beta$ -hexosaminidase 분비를 감소시켰다.
2. 발효당귀 추출물은 염증성 사이토카인인 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 및 TNF- $\alpha$ 의 생성을 억제하였다.
3. 발효당귀 추출물은 COX-2 mRNA의 발현을 억제하였다.
4. 발효당귀 추출물은 히스타민의 유리를 억제하였다.

이로 볼 때 *Lactobacillus acidophilus*로 발효한 당귀추출물이 아토피, 천식, 알레르기 비염 등의 다양한 알레르기성 질환의 개선 가능성을 시사하는 것으로 사료되며, 이에 대한 지속적인 연구가 필요하다.

## References

1. Jung JK, Jung HM, Seo WG, Park YK. Anti-allergic effect of *Osterici Radix* water extract in human mast cells. *Kor J Herbology*. 2010 ; 25(3) : 35-41.
2. Seoul National University College of Medicine. *Immunology*. Seoul : Seoul National University publisher, 1987 : 188-97.
3. Kim YJ, Park SJ, Kim TJ. Anti-Allergic Effects of Nodakenin in IgE/Ag-Induced Type I Hypersensitivity. *J Life Sci*. 2011 ; 21(12) : 1721-5.
4. Ahn K. Role of mast cells in allergic inflammation and innate immunity. *Kor J Pediatrics*. 2004 ; 47(11) : 1137-41.
5. Church MK, Bradding P, Walls AF, Okayama Y. Human mast cells and basophils. In *Allergy and allergic diseases*. 1st ed. MA : Blackwell Science, 1997 : 149-70.
6. Herbology association of Korean medicine college. *Textbook of Herbology*. Seoul : Younglimsa, 2000 : 579.
7. Hong MH. *Statistical Studies on the Formularies of Oriental Medicine ( I ) -Prescription Frequency and their Origin Distribution of Herb Drugs- For the purpose of scientific evaluation of oriental medicine*. *Kor J Pharmacogn*. 1972 ; 3(2) : 57-64.
8. Jung HK. Selection Criteria for Probiotics and Their Industrial Applications. *Bioindustry news*. 2001 ; 14 : 39-48.
9. Park JH, Jung JW, Kweon KT, Seo MJ, Seo EK, Park YK, Lee JH. Nodakenin and Decursin Contents of Fermented *Angelicae Gigantis Radix* by 4 Species Strain. *Kor J Herbology*. 2010 ; 25(4) : 7-10.
10. Kang DH, Kin HS. Functionality Analysis of Korean Medicine Fermented by *Lactobacillus* Strains. *Korean J Microbiol Biotechnol*. 2011 ; 39(3) : 259-65.
11. Shin TY. *Allergy & herbal medicine*. Seoul : Shinilsangsa, 2001 : 15-6, 61.
12. Mastuda H, Morikawa T, Ueda K, Managi H, Yoshikawa M. Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen-induced degranulation, TNF- $\alpha$  and IL-4 production from RBL-2H3 cells. *Bioorg Med Chem*. 2002 ; 10(10) : 3123-8.
13. Barnes PJ, Adcock I. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. *Trends Pharmacol Sci*. 1993 ; 14(12) : 436-41.
14. Arend WP, Dayer JM. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1995 ; 38(2) : 151-60.
15. Butler DM, Maini RN, Feldmann M, Brennan FM. Modulation of proinflammatory cytokine release in rheumatoid synovial membrane cell cultures. Comparison of monoclonal anti TNF- $\alpha$  antibody with the interleukin-1 receptor antagonist. *Eur Cytokine Netw*. 1995 ; 6(4) : 225-30.
16. Noh MS, Ha JY, Lee CH, Lee WY, Lee SH, Lee JJ. Inhibitory Activities of Natural Products on Lipopolysaccharide Induced Prostaglandin Production in Mouse Macrophages. *Yakhak Hoeji*. 1998 ; 42 : 558-66.
17. Kim SN, Son SC, Lee SM, Kim CS, Yoo DG, Lee SK, Hur GM, Park JB, Jeon BH. Midazolam inhibits proinflammatory mediators in the lipopolysaccharide-activated macrophage. *Anesthesiology*. 2006 ; 105(1) : 105-10.
18. Ahn K. Role of mast cells in allergic inflammation and innate immunity. *Kor J Pediatrics*. 2004 ; 47(11) : 1137-41.

19. Brown JM, Wilson TM, Metcalfe DD. The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. *Clin Exp Allergy*. 2008 ; 38(1) : 4-18.