

마우스 알레르기성 비염 모델을 이용한 *O-glucogenistein*의 항 알레르기 효능

충북대학교 의과대학 의학연구소 이비인후과¹, 임상병리과², 내과학교실³, 약학대학 약학과⁴,
충남대학교 약학대학 약학과⁵, 영남대학교 약학대학 약학과⁶, 한국과학기술원 독성연구실⁷
진홍률¹ · 손보라² · 원희철³ · 김영수⁴ · 정상현⁵ · 이성호⁶ · 류재천⁷ · 김미경³

O-glucogenistein inhibits eosinophil recruitment and nasal allergic symptoms in a murine model of nasal allergy

Hong-Ryul Jin¹, Bora Sohn², Yuan Xi Zhe³, Young-soo Kim⁴, Sang-Hun Jung⁵,
Seung-Ho Lee⁶, Jae-Chun Ryu⁷, and Mi-Kyeong Kim³

Department of Otorhinolaryngology¹, Department of Diagnostic Pathology², Department of Internal
Medicine, College of medicine and Medical Research Institute³, College of Pharmacy⁴,
Chungbuk National University Cheongju, College of Pharmacy Chungnam National University
Daejeon⁵, College of Pharmacy Yeungnam University Daegu⁶, Toxicology laboratory Korean
Institute of Science and Technology Seoul⁷, Korea

Background : Infiltration of eosinophils in the nasal mucosa is a consistent feature of nasal allergic inflammation. Various cytokines, especially interleukin-5(IL-5), were identified to play important roles in the infiltration and activation of eosinophils in nasal mucosa. Our previous study found that among 4 kinds of sophoricosides extracted from *Sophora japonica*, named sophi, orobol, genistin, and genistein, 3 compounds except genistein known as protein tyrosine kinase(PTK) inhibitor had anti-inflammatory and anti-IL-5 effects, and sophi was the most potent.

Objective : The goal of this study was to investigate the antagonism of sophi on the nasal eosinophilia in ovalbumin(OA)-sensitized murine nasal allergy model.

Methods : Male BALB/c mice sensitized intraperitoneally and then topically with OA were treated with sophi(10 or 30mg/kg) or anti-mouse IL-5 monoclonal antibody(anti-IL-5 mAb, 1mg/Kg) intravenously 1 hour before challenge. The effect of sophi on the infiltration of eosinophils into the nasal mucosa, peripheral blood eosinophilia, nasal symptom, and OA-specific IgE antibody production were evaluated.

Results : Administration of sophi(10, 30mg/kg) significantly inhibited the nasal eosinophil infiltration and nasal symptom compared to that of anti-IL-5 mAb. But eosinophil count in

본 연구는 보건복지부 천연물신약연구개발사업 HMP 00-CD-02-002에 의해 지원되었음.

통신저자 : 충북의대 내과 김미경

충북 청주시 흥덕구 개신동 산 62 (☎ 000-0000)

e-mail : mkkim@med.chungbuk.ac.kr

접수 : 2003년 2월 13일, 통과 : 2003년 5월 14일

the peripheral blood and the titer of OA-specific IgE were not affected by sophi.

Conclusion : Sophi inhibited not only the tissue eosinophilia but also the acute nasal allergic symptom. These findings suggest that sophi has anti-eosinophilic cytokine activity and also plays blockade of early allergic reaction. Taken together, sophi may be a candidate for new anti-allergic medicine. (**J Asthma Allergy Clin Immunol 23: 467-73, 2003**)

Key Word : Sophoricoside, eosinophil, IL-5, nasal allergic symptoms, murine allergy model

서 론

경한 알레르기 질환이라도 표적 장기에는 호산구, 비만세포, T 임파구 등 염증세포의 침윤이 특징적이다. 이들 중 호산구는 알레르기 반응에서 독성 단백을 유리시키는데, 유리된 독성 단백질이 상피세포를 파괴하여 알레르기 질환의 근본인 과민증을 유발시킬 뿐 아니라 중증도와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다.¹⁾

알레르기 반응 중 유리되는 Interleukin(IL)-3, IL-5, granulocyte-macrophage-colony stimulating factor(GM-CSF) 등은 호산구의 생성, 활성화를 촉진시키고, 자사를 억제시키며, 이동 등에 관여하는데 이들 중 IL-5는 IL-3나 GM-CSF와는 달리 줄기세포에서 호산구로 분화되는 최종 단계에 관여하는 유일한 사이토카인이므로 호산구 사이토카인이라 명명되기도 한다.²⁾

알레르기 질환의 치료로 다양한 억제들을 포함한 여러 가지 치료법이 시행되고 있지만 관해를 이루는 경우가 드물 뿐 아니라 중증 환자도 늘고 있다.³⁾ 그러므로 최근 알레르기 질환의 보다 근본적인 치료를 위해 알레르기 염증반응을 소실시키고자 여러 연구가 진행 중이며, 앞서의 염증세포들과 사이토카인 등이 새로운 표적이 되고 있다.

IL-5 knock-out 마우스에서는 호흡기 알레르기 질환이 발생하지 않지만, 유전자를 재이식한 경우 유도되었다는 연구 결과를 보면⁴⁾ IL-5가 호흡기 알레르기 질환 발생에 결정적인 역할을 하는 것을 알 수 있다. IL-5 단클론 항

체를 이용한 동물실험 결과에서는 표적 장기로의 호산구 침윤의 억제와 더불어 기관지과민증을 소실시킨 것으로 보고되고 있으나,⁵⁻⁸⁾ 천식 환자에게 투여한 결과는 상반된 결과가 보고되고 있고^{3,10)} 특히 항체는 이중의 단백질로 이에 대한 면역반응 등도 문제가 된다. 따라서 항체가 아닌 새로운 억제제의 개발이 필요하다.

최근 저자들은 우리나라에서 자생하는 회화나무(*Sophorica japonica*)에서 추출한 isoflavonoid계인 4종의 sophoricoside, 즉 sophi., orobol, genistin, genistein을 추출하였는데, 이들 중 genistein을 제외한 3종은 항 염증작용이 있었고, sophi는 dexamethasone과 동등한 약효가 있었다.¹¹⁾ 또한 IL-5 의존적인 Y-16 세포주의 성장을 억제하였으며,¹²⁾ IL-5에 의한 호산구 활성화¹³⁾ 및 생존을 억제하였고,¹⁴⁾ IL-3¹⁵⁾와 GM-CSF¹⁶⁾도 억제하였다. 이러한 연구 결과들을 토대로 본 연구에서는 난황을 이용해 제작한 마우스 알레르기성 비염 모델을 이용하여 이들 중 가장 강력한 억제제였던 sophi의 항알레르기 효능을 검증하여 항알레르기 제제로서의 가능성을 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 동물 감작 및 유발시험

6-8주령, 몸무게 25-30 gr의 수컷 BALB/c를 사용하였다. 감작은 난황(10 ug/100 ul)과 Imject Alum(Pierce, USA)100 ul를 혼합하여 4회(1, 5, 14, 21일째) 복강 내 주

사하였다. 마지막 복강 주사 1주일 후부터 매일 저자등이 고안한 Acryl 통에 생쥐를 넣고 10분간 2% 난황 용액을 neubilizer(Pari-Inhaler boy, Germany)를 이용하여 7일간 흡입시켰다. 유발시험은 마지막 국소 감작 1주일 후에 2% 난황으로 2분간 흡입시켜 증상을 유발시켰다.

2. 실험군의 분류

정상대조군(normal control, N.C.)은 전혀 감작하지 않은 naive와 생리식염수로 전신과 국소 감작한 마우스 각각 5마리로 하였다. 양성대조군(positive control, P.C.)은 난황으로 전신 및 국소 감작한 7마리, 약물 투여군은 난황으로 감작하고 IL-5 단 클론 항체를 사용한 군 7마리(IL-5 mAb, 1mg/kg), sophi(Fig. 1) 10mg/kg 투여군 7마리(sophi-10)와 30mg/kg 투여군 7마리(sophi-30), sophi의 용매인 4% DMSO(dimethylsulfoxide)를 투여한 군 7마리를 가장(sham)군으로 하여 총 7군으로 나누어 검색 비교하였다. 약물 투여는 1회, 유발검사 1시간 전 꼬리 정맥으로 주사하였다.

3. 알레르기성 비염의 증상 지수

마우스가 항원 유발검사 후 30분간 코를 긁는 횟수를 측정하여 증상 지수로 하였다. 코를 긁는 횟수는 1분간 연속적으로 긁은 것을 1회로 측정하였다. 측정은 5분 간격으로 시행하였으며, 증상 지수는 동일한 쥐를 2명의 의사가 관찰한 증상의 평균치로 하였다.

4. 조직검사

유발검사 24시간 후 복강내로 pentobarbital sodium(30 mg/kg)를 주입하여 마취시킨 후 흉부를 절개하였다. 심장 천자를 통해 혈액을 채취한 후 도말표본을 만들어 호산구를 측정하였으며, 나머지는 원심분리하여(1800

rpm, 4℃, 5 minutes) 혈청은 -80℃에 보관하였다. 머리를 절단한 후 비강의 배부(dorsum)를 분리하여 비중격을 취하고 10% formalin 용액에 보관하였다. 조직 절편을 만들어 광학 현미경으로 400배율에서 10개의 시야에서 비점막 박탈, 비강내로 침윤된 호산구를 계측한 후 평균을 구하여 비교 분석하였다.

5. 난황 특이 IgE 항체

효소면역법으로 측정하였다. 약술하면 96 well plate에 100 μ g(200 μ l in PBS)의 난황을 넣고 4℃에서 18시간 방치하였다. 3차례 PBS로 세척 후 비특이적 반응을 차단하기 위해 5% 탈지유를 넣고 상온에서 1시간 배양하였다. 세척 후 100 μ l의 마우스 혈청을 넣고 역시 1시간 상온에서 반응시킨 후 세척하였다. 발색반응을 위해 1:1000으로 희석한 HRP-conjugated rat anti-mouse 단클론 IgE 항체(Biosource, USA) 100 μ l와 상온에서 1시간 반응시킨 후 세척하였다. 0.04% OPD(*O*-phenyldiamine, in citrate phosphate buffer) 용액과 30% 과산화수소 용액으로 발색반응을 유도한 후 spectrophotometer(BEP II plus, Germany) 492 nm에서 OD(optic density)를 측정하였다.

6. 혈액 내 호산구 계측

도말표본을 Wright-Giemsa 염색하여 광학현미경으로 1000배에서 총 100개의 백혈구를 계측한 후 호산구의 백분율을 구하여 비교 분석하였다.

7. 통계처리

SAS를 이용하였으며, 증상지수와 호산구 수의 군간의 차이는 Wilcoxon's rank sum test를 사용하여 비교분석하였다. $p < 0.05$ 를 유의하다고 판정하였으며, 수치는 평균 $\pm$ 표준편차로 표기하였다.

결 과

1. 비강내 호산구 침윤

가장군과 양성대조군에서는 음성대조군에 비해 점막, 기저층(basal lamina)과 고유층(lamina propria)에 호산구의 침윤이 두드러졌으나(Table 1, Fig. 2, $p < 0.01$), 이 두 군간에는 차이가 없었다($p > 0.05$). Sophi-10과 30군(43.8 ± 20.6 , 19.0 ± 9.4)에서는 sham군(73.8 ± 16.7)에 비해 호산구의 침윤이 유의하게 감소되었으며($p < 0.05$ sophi-10 vs sham, $p < 0.01$, sophi-30 vs sham), sophi-30군은 sophi-10군에 비해 유의하게 적었으며($p < 0.05$), 음성대조군(18.5 ± 12.4)과 비슷하였다. IL-5 항체 투여군(44.2 ± 17.8)에서도 호산구의 침윤이 유의하게 감소하였으나(Table 1, $p < 0.05$), 억제능은 sophi-10과 유사하였다($p > 0.05$). 음성대조군과 naïve(21.5 ± 12.4) 사이에는 차이가 없었다($p > 0.05$).

2. 혈액 내 호산구 수

Sophi-10, 30군에서의 혈액내 호산구 백분율은 양성대조군과 차이가 없었으며, 양성대조군과 sham군도 차이가 없었다(Table 1,

$p > 0.05$). IL-5 항체군도 양성대조군에 비해 차이가 없었다(Table 1, $p > 0.05$).

3. 증상

양성대조군(16.6 ± 4.0)과 가장군(17.2 ± 3.2) 사이에는 증상 지수의 차이가 없었지만($p > 0.05$), 음성대조군(3.1 ± 2.0)에 비해서는 증상지수가 5배 이상 증가하여 유발점사에 양성임을 증명하였다(Fig. 3, $P < 0.001$). Sophi-10군의 증상지수는 8.5 ± 4.1 로 가장군보다 유의하게 감소하였으며(Fig. 3, $P < 0.05$), sophi-30군도 증상지수가 3.4 ± 1.9 로 유의하게 감소하였는데(Fig. 3, $p < 0.01$), 이는 음성대조군과 차이가 없었다(Fig. 3, $p > 0.05$). IL-5 항체군도 증상지수가 9.5 ± 4.2 로 감소하였으나(Fig. 3, $p < 0.05$), sophi-30군보다는 유의하게 높았다($p < 0.05$). 음성대조군과 naïve(4.4 ± 2.5)는 차이가 없었다($p > 0.05$).

4. 난황 특이 IgE 항체

효소면역법으로 측정한 난황 특이 IgE 항체의 역치는 양성대조군은 0.37 ± 0.09 , sophi-10과 30군 과 IL-5 항체군 및 가장군은 각각

Table 1. Eosinophil numbers in peripheral blood and nasal mucosa 24 hours after allergen challenge

Group	Peripheral blood Smear (%)	Nasal septum (No/X 400 HPF)
Naïve	3.5 ± 1.9	10.5 ± 7.8
N.C.	3.4 ± 2.9	9.2 ± 8.6
P.C.	3.1 ± 2.1	81.0 ± 21.8
Sham	2.0 ± 1.8	73.8 ± 16.7
Sophi-10	2.7 ± 1.9	$43.8 \pm 20.6^*$
Sophi-30	2.1 ± 0.9	$19.0 \pm 9.4^{*,**}$
IL-5 mAb	2.3 ± 1.8	$39.5 \pm 19.1^*$

Negative control group(N.C.) was sensitized, challenged, and pre-treated with saline, Naïve as neither sensitization, nor treatment. P.C. were sensitized and challenged with OA and no treatment at all. The sham group was sensitized and challenged with OA and pre-treated with 4% DMSO in saline. Group Sophi-10, 30, and anti-IL-5 were sensitized and challenged with OA and pre-treated with 10 mg/kg, and 30 mg/kg Sophi, and anti-IL-5 mAb(1 mg/kg) in 4% DMSO each. Values represent mean $\pm$ S.D.* $p < .05$, ** $P < 0.01$ compared with sham. No = Number; N.C., P.C.= negative, positive control; HPF = high power field

0.36 ± 0.11 , 0.41 ± 0.08 , 0.35 ± 0.1 , 0.38 ± 0.12 로 군간에 차이가 없었다 ($p > 0.05$). 그러나 음성대조군과 naive 각각의 OD인 0.05 ± 0.07 과 0.04 ± 0.04 보다는 10배 정도 높았다(Fig. 4, $p < 0.001$).

고 찰

민간요법이나 한의학에서 사용하고 있는 진해제, 거담제 혹은 호흡곤란 치료제들 중 효능이 있다고 알려진 것조차도 임상연구나 동물실험을 통해 그 효능이 검증된 것은 극히 드물다. 최근 Li 등이¹⁷⁾ 동물실험을 통해 중의에서 사용해오던 Ting Li Zi, Xing Ren, Jei Jin과 Da Zao의 복합 추출물인 MSSM-002가 T 임파구 억제제를 통해 천식을 억제한다고 보고한 바 있다. 본 연구는 이와는 달리 복합제제가 아닌 단일 열매에서 추출한 단일제제가 호산구 사이토카인 억제작용을 통해 호흡기 알레르기 질환인 알레르기성 비염 증상과 호산구의 조직 내 침윤을 억제한다는 것을 최초로 규명하는데 의의가 있다.

IL-5는 호산구의 생성, 분화, 활성화, 이동, 생존 등에 관여하는 사이토카인으로, 이를 knock-out시킨 마우스에서는 기도내 호산구 유입과 기관지과민증이 소실되었으나, 유전자 치료를 통해 복원하면 기도내 호산구 유입과 더불어 비염과 천식이 유도되는 것으로 보아⁴⁾ IL-5가 호흡기 알레르기 질환 발생에 주요한 역할을 하는 것을 알 수 있다. 그러므로 IL-5를 억제하여 호흡기 알레르기 질환을 치료하고자 여러 가지 시도가 이루어지고 있다. 알레르기 동물 모델을 이용한 실험에서는 IL-5 단클론 항체로 전 처치한 결과 말초혈액이나 표적 장기인 비강이나 기도 내로의 호산구 유입뿐 아니라 증상과 기도과민성이 소실되어 효능이 입증되었지만,⁵⁻⁹⁾ 천식 환자에게 투여한 결과를 보면, 중증의 천식 환자에게는 효능이 없었고,³⁾ 경증이나 중등증 천식 환자의 경우는 기도내로의 호산구 유입은 억제

되었으나 기관지과민증은 소실되지 않았다.¹⁰⁾ 이로 미루어 볼 때 IL-5가 호산구의 생성이나 활성화에 관여하는 유일한 사이토카인도 아니며, 호산구에 의해서만 호흡기 알레르기 질환이 발생하는 것은 아니므로 IL-5 단클론 항체와의 새로운 약제의 개발이 필요함을 알 수 있다. 본 연구의 대상이었던 sophi의 경우 30mg/Kg로 투여한 경우 IL-5 단클론 항체(예비 연구결과 IL-5 단클론 항체는 1 mg/kg에서 가장 억제능이 강했다.)보다는 억제능이 높았으며 본 연구자들의 다른 연구 결과를 종합해 보면 IL-315)와 GM-CSF¹⁶⁾에 대한 억제능도 있어 IL-5 단 클론 항체보다는 항알레르기 작용이 우수할 것으로 사료된다.

본 연구 결과 sophi가 유발검사 후 조기 반응을 억제시켰는데, 이는 IL-5 억제 작용만을 통해 이루어진 것은 아닌 것으로 생각된다. 왜냐하면 유발검사 후 표적장기로의 호산구 유입과 IL-5의 증가는 적어도 1시간 후부터 이루어지기 때문이다.⁵⁾ Sophi는 IL-3 억제능이 있으며,¹⁵⁾ IL-3는 조기반응의 주 세포인 비만세포를 활성화시키므로, 이의 억제를 통해 이루어졌을 가능성이 있다. Garbor 등은¹⁸⁾ sophoricoside가 류코트리엔이나 프로스타글란딘 등을 억제하는 것으로 보고하였으며, 기니아피크 기도 평활근을 이용한 본 연구자의 실험 결과도 sophi가 leukotriene C4에 의한 수축을 억제시켜(미발표), 이를 통해 억제되었을 가능성도 있을 것으로 사료된다. 그러나 정확한 기전에 관하여는 향후 연구가 이루어져야 할 것이다.

본 연구에서는 비강 내로의 호산구 침윤은 억제되었으나, 말초혈액 호산구 분획 뿐 아니라 결과를 명시하지는 않았으나 자동계측기로 측정된 호산구 수도 변화가 없었는데, 호산구의 이동 역학(kinesis) 즉 골수, 말초혈액, 표적장기의 호산구 수의 변화를 동시에 시간 별로 계측하지 못해 이러한 차이의 원인을 정확히 설명

할 수는 없으나, 혈액을 채취한 시간 때문인 것으로 생각된다. 알레르겐 유발검사 후 말초 혈액 호산구는 5-7시간 후에 최고치에 도달하며, 24시간 후에는 유발검사 전의 기저치로 환원된다.¹⁹⁻²¹⁾ 본 연구에서 혈액내 호산구 수를 측정 한 것은 유발검사 24시간 후였다.

대조군에 비해 양성 군과 치료군에서는 비점막 박탈이 관찰되었으나, 치료군과 양성군 사이에는 차이가 없었는데, 이는 약물 투여가 알레르기 염증 반응이 이미 진행된 후에 투여되었을 뿐 아니라 1회 투여이기 때문일 것으로 사료되어 향후 이에 대한 효능을 검색하기 위해서는 투여횟수 및 투여 시기의 조정이 필요할 것으로 사료된다.

결 론

한국에서 자생하는 회화나무(*Sophorica japonica*) 열매에서 추출한 sophoricoside 인 sophi(*O-glucogenistein*)의 IL-5 억제능을 난황으로 감작한 알레르기 마우스 모델에서 연구하였다. 30mg/kg를 유발검사 1시간 전에 정맥주사 결과 비강 내 호산구 침윤이 억제되었을 뿐 아니라 조기반응도 억제되었으며, 이는 IL-5 단클론 항체보다 강하였다. 이러한 연구 결과, sophi가 항알레르기제제임을 시사하는 것이므로, 향후 알레르기 약제로서 개발 가능성이 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Bradding P, Feather IH, Wilson S, Bardin PG, Heusser CH, Holgate ST et al. Immunolocalization of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitic subjects. J Immunol 1993; 151:3853-65
- 2) Egan RW, Umland SP, Cuss FM, Chapman RW. Biology of interleukin-5 and its relevance to allergic disease. Allergy 1996;51:71-81
- 3) Kips JC, OConner BJ, Langley SJ. Results of a phase I trial with SCH55700, A humanized anti-IL-5 antibody, in severe persistent asthma. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:A505
- 4) Foster P, Hogan S, Ramsay A, Matthaei KI, Young IG. Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. J Exp Med 1996;183:195-201
- 5) Asakura K, Saito H, Watanabe M, Ogasawara H, Matsui T, Kataura A. Effects of anti-IL-5 monoclonal antibody on the murine model of nasal allergy. Int Arch Allergy Immunol 1998; 116:49-52
- 6) Danzig M, Cuss F. Inhibition of interleukin-5 with a monoclonal antibody attenuates allergic inflammation. Allergy 1993;52:787-94
- 7) Kung TT, Stelts DM, Zurcher JA, Adams GK, Egan RW, Kreutner W et al. Involvement of IL-5 in a murine model of allergic pulmonary inflammation: prophylactic and therapeutic effect of an anti-IL-5 antibody. Am J Respir Cell Mol Biol 1995;13:360-5
- 8) Van Oosterhout AJM, Ladenius ARC, Savelkoul HFJ, Van Ark I, Delsman KC, Nijkamp FP. Effect of anti-IL-5 and IL-5 on airway hyperreactivity and eosinophils in guinea pigs. Am Rev Respir Dis 1993;147:548-52
- 9) Zia-Amirhosseini P, Minthorn E, Benincosa LJ, Hart TK, Hottenstein CS Tobia LA et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of SB-240563, a humanized monoclonal antibody directed to human interleukin-5 in monkeys. J Pharmacol Exp Ther 1999;291:1060-7
- 10) Leckie MJ, Brinke A, Jamey K, Zuzana D, Brian C, Christine M et al. Effects of interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. Lancet. 2000;356:2144-8
- 11) Kang BS. Inhibitory effects of anti-asthmatic material on the proinflammatory cytokine. A thesis for the degree of master of science. Chungbuk National University, 1999
- 12) Min BK, Oh SR, Lee HK, Takatsu K, Chang

- IM, Min KR et al. Sophoricoside analogs as the IL-5 inhibitors from *Sophora japonica*. *Planta Med* 1999;65:408-12
- 13) 김미경, 이정아, 김영수. 회화나무 추출액인 Genistaine 유도체가 IL-5에 의한 호산구 활성화에 미치는 억제능. *대한내과학회지* 1998;58(supple 68): 235
- 14) 김미경, 이정아, 김영수, 정상현, 이성호, 류재천. Sophoricosides가 IL-5에 의한 호산구 생존에 미치는 영향. *알레르기* 1998;18:135
- 15) 김미경, 김영수. 새로운 flavonoid 제제가 IL-3에 의한 호산구 활성화에 미치는 길항능. *천식 및 알레르기*. 2000;20:725-30
- 16) 이정아, 김미경, 김영수. 회화나무 추출액인 Flavonoid가 GM-CSF에 의한 호산구 활성화에 미치는 억제능. *대한내과학회지* 1999;59(suppl):179
- 17) Li XM, Huang CK, Zhang TF, Teper AA, Srivastava K, Shofield BH et al. The Chinese herbal medicine formula MSSM-002 suppresses allergic airway hyperreactivity and modulates Th1/ Th2 response in a murine model of allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:660-8
- 18) Garbor M, Razga Z. Effect of benzopyrone derivatives on simultaneously induced croton oil ear and carrageenin paw edema in rats. *Acta Physiol Hung* 1991;77:197-207
- 19) 김미경, 김유영. 천식환자에서 감작된 알레르겐 흡입이 비특이적 기관지과민성에 미치는 영향. *알레르기* 1992;12:34-46
- 20) Barton HJ, Boot BJR, Brandon DR, O'Brien A. The relationship between development of lung inflammation and changes in bone marrow populations in guinea pigs following inhaled antigen challenge. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991;96:1-11
- 21) Nabe T, Shinoda N, Yamashita K, Yamamura H, Kohno S. Leukocyte kinesis in blood, bronchoalveoli and nasal cavities during late asthmatic responses in guinea-pigs. *Eur Respir J* 1998; 11:636-42.