

케토티펜과 올로파타딘로 농도에 따른 인간 제대혈 유래 비만세포의 안정화 평가

천지웅 · 고재웅

조선대학교 의학전문대학원 안과학교실

목적: 인간 제대혈 유래 비만세포(human umbilical cord blood-derived cultured mast cells; hCBMCs)를 이용하여 케토티펜과 올로파타딘이 비만세포 안정화에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상과 방법: 배양된 인간 제대혈 유래 비만세포(hCBMCs)를 사용하여 Ketotifen fumarate 첨가군과 Olopatadine hydrochloride 첨가군, 양성 대조군, 음성 대조군으로 나누어 히스타민 유리 억제율을 관찰하였다.

결과: 케토티펜과 올로파타딘은 $10^{-3.5}$ M 농도에서 히스타민 유리 억제율이 가장 높게 나타났는데, 케토티펜은 48%, 올로파타딘은 62%를 나타냈다. 케토티펜과 올로파타딘의 농도 $10^{-5.5}$ M에서 올로파타딘의 히스타민 유리 억제율은 28%를 나타냈으나 케토티펜의 히스타민 유리 억제율은 거의 없었다. 케토티펜과 올로파타딘 농도 $10^{-2} \sim 10^{-2.5}$ M군과 10^{-6} M군에서 히스타민 유리 억제율이 없었다.

결론: 케토티펜과 올로파타딘은 농도 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ M 군에서 히스타민 유리 억제율을 나타냈고, 히스타민 유리 억제율은 올로파타딘이 케토티펜보다 약간 더 강했다.

〈대한안과학회지 2014;55(2):278-282〉

인간의 한쪽 안구 및 안구부속기에는 Histamine과 tryptase가 풍부한 비만세포가 $6000\text{개}/\text{mm}^3$ 있는 것으로 알려졌다.¹ 전체 인구의 15-20%는 안구의 알레르기 질환을 가지고 있는 것으로 알려졌으며 그 중 알레르기결막염은 가장 흔한 질환이다.² 알레르기결막염의 증상으로는 충혈, 눈꺼풀 부종, 눈물흘림, 결막부종 등이 있으며 가장 특징적인 증상은 가려움으로 이러한 증상이 심각한 시력저하를 야기하지는 않지만 심하면 환자의 삶의 질을 저하시킬 수 있다. 알레르기결막염은 여러 가지 항원이 비만세포의 세포막 IgE Fc receptor에 결합된 IgE에 결합함으로써 일어나는 비만세포의 degranulation에 의한 histamine과 tryptase 분비로 일어나는 염증반응이 중요기전으로 알려졌다.^{2,3} Ketotifen fumarate과 olopatadine hydrochloride은 히스타민 receptor에 작용하여 히스타민의 작용을 억제하고,⁴⁻⁶ 동시에 비만세포의 degranulation을 억제(conjunctival mast cell 안정화)하여 히스타민의 분비를 억제함으로써 알레르기결

막염의 증상을 완화시키는 것으로 알려졌다.⁷⁻¹⁵ 비만세포가 알레르기 반응에서 중요한 역할을 하나 종마다 특성이 다르고 같은 종이라도 분포하는 조직에 따라 특성이 다르게 나타나기 때문에 비만세포에 관한 동물실험의 결과가 인간의 비만세포에서도 똑같이 적용될 수 없다. 그러므로 인간에서 알레르기 반응에 대한 비만세포의 히스타민 분비 억제력을 알아보기 위해서는 인간 비만세포를 이용한 실험이 필수적이다. 이에 본 논문은 아직 국내에서 시행되지 않은 인간 제대혈 유래 비만세포(hCBMCs)를 이용하여 ketotifen과 olopatadine이 비만세포 안정화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 히스타민량을 측정하여 유리 억제율을 비교 관찰하였다.

대상과 방법

세포의 배양

본 실험은 배양된 인간 제대혈 유래 비만세포(human umbilical cord blood-derived cultured mast cells; hCBMCs)를 사용하여 세포 배양을 실시하였다. 인간 제대혈 유래 비만세포(hCBMCs)는 Kempuraj et al⁸의 방법으로 유도하였다. 인간 제대혈 줄기세포(Cord Blood CD34+ cell: All cells: CB007F, American Type Culture Collection, Bethesda, USA)를 구입하여 SCF 100 ng/mL, IL6 50 ng/mL, 10%

■ Received: 2013. 7. 19. ■ Revised: 2013. 10. 1.

■ Accepted: 2013. 12. 20.

■ Address reprint requests to Jae Woong Koh, MD, PhD
Department of Ophthalmology, Chosun University Hospital,
#365 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwangju 501-717, Korea
Tel: 82-62-220-3190, Fax: 82-62-225-9839
E-mail: ophkoh@hanmail.net

* This study was supported by grants from Alumni association, college of medicine chosun university, 2013.

FBS, 50 uM 2-mercaptoethanol, 1% penicilline-streptomycin 을 함유한 Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM, American Type Culture Collection, Bethesda, USA)을 첨가하여 37°C로 유지되는 CO2 배양기에서 세포를 배양하였다. 3일마다 배지를 교환하여 6주간 배양한 후 histamine 분비 여부를 Histamine ELISA kit을 이용하여 확인한 후 인간 제대혈 유래 비만세포(hCBMCs)로 사용하였다.

히스타민 분비 억제 실험

실험군은 Ketotifen fumarate 0.025% (0 , 10^{-2} , $10^{-2.5}$, 10^{-3} , $10^{-3.5}$, 10^{-4} , $10^{-4.5}$, 10^{-5} , $10^{-5.5}$, 10^{-6} M) 첨가군과 Olopatadine hydrochloride 0.1% (0 , 10^{-2} , $10^{-2.5}$, 10^{-3} , $10^{-3.5}$, 10^{-4} , $10^{-4.5}$, 10^{-5} , $10^{-5.5}$, 10^{-6} M) 첨가군, 양성 대조군, 음성 대조군으로 나누었다. 실험은 히스타민 분비가 유도된 배양된 인간 제대혈 유래 비만세포(hCBMCs) 2×10^3 에 350 U/ml human IgE (abcam :ab65866)를 첨가하여 37°C에서 1시간동안 배양한 다음 ketotifen fumarate 0.025% (10^{-2} ~ 10^{-6} M, batch No: 4100/01/08)과 olopatadine hydrochloride 0.1% (10^{-2} ~ 10^{-6} M, batch No: 0020094260)를 첨가하여 37°C에서 20분 유지한 후 10 ug/mL anti-human IgE (sigma :16510)를 첨가하고 20분간 유지한 후 $280 \times g$ 로 4°C에서 15분 동안 원심분리하여 상층액을 취해 히스타민 ELISA kit을 이용하여 히스타민을 측정하였다.

Ketotifen fumarate과 olopatadine hydrochloride은 PBS에 용해시켜 0.5M 용액을 만들어 희석시켜 사용하였다. 양성 대조군은 실험군과 같은 조건에서 ketotifen fumarate나 olopatadine hydrochloride를 첨가하지 않은 군이며, 음성 대조군은 실험군과 같은 조건에서 ketotifen fumarate나 olopatadine hydrochloride 및 anti-IgE를 첨가하지 않은 군이다.

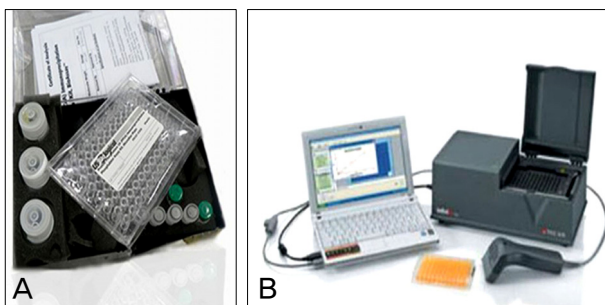


Figure 1. (A) Histamine ELISA kit (H5085, US Biological, Swampscott, Massachusetts, USA) (B) ELISA reader (TECAN, Männedorf, Switzerland).

히스타민 측정

히스타민 ELISA kit (H5085, US Biological, Swampscott, Massachusetts, USA) (Fig. 1A)을 이용하여 제조회사의 지침서(manual)에 따라 측정하였다. 먼저 시료와 histamin standard 50 ul를 ELISA plate에 분주한 후 Histamin Enzyme (H5085-04) 50 ul 첨가하였다. 그리고 밀봉하여 상온에서 45분간 유지한 후 내용물제거 후 Washing buffer 300 ul씩 첨가하여 4회 반복하여 세척하였다. 그리고 TMB substrate (H5085-02) 150 ul 첨가하고 30분간 유지하였고 Blank에도 TMB substrate (H5085-02) 150 ul 첨가 30분간 유지하였다. 그 후 ELISA reader (TECAN, Männedorf, Switzerland) (Fig. 1B)로 650 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군은 IgE와 anti-IgE의 합, 음성 대조군은 IgE, 측정수치는 IgE와 샘플과 anti-IgE의 합으로 나타났다. 분비억제(%) = $\{1 - (\text{양성대조군} - \text{측정수치} / \text{양성대조군} - \text{음성대조군})\} \times 100$ 으로 나타났다.

결 과

케토티펜이 비만세포 히스타민 유리에 미치는 영향

히스타민 분비가 유도된 인간 제대혈 줄기세포 유래 비만세포(hCBMCs)를 배양하여 배양액에 케토티펜(ketotifen fumarate : 10^{-2} ~ 10^{-6} M)을 첨가한 후 배양액에서 히스타민량을 측정하여 케토티펜을 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 분비 억제력을 계산한 결과 케토티펜 농도 10^{-2} M, $10^{-2.5}$ M 군에서 히스타민 분비 억제력이 없었고, 케토티펜 농도 10^{-3} M, $10^{-3.5}$ M, 10^{-4} M, $10^{-4.5}$ M, 10^{-5} M 군에서 히

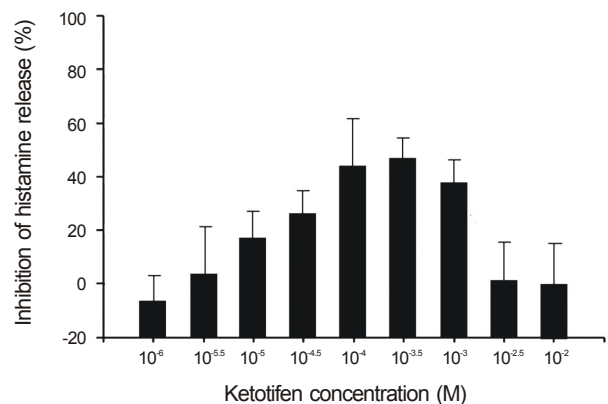


Figure 2. Inhibition of histamine release from human umbilical cord blood-derived cultured mast cells (hCBMCs) (% reduction from positive control) as a function of ketotifen fumarate concentration.

스타민 분비 억제력은 38%, 48%, 45%, 27%, 18%를 나타냈고, 케토티펜 농도 $10^{-5.5}$ M, 10^{-6} M 군에서 히스타민 분비 억제력은 없었다(Fig. 2).

올로파타딘이 비만세포 히스타민 유리에 미치는 영향

히스타민 분비가 유도된 인간 제대혈 줄기세포 유래 비만세포(hCBMCs)를 배양하여 배양액에 올로파타딘(olopatadine hydrochloride : 10^{-2} ~ 10^{-6} M)을 첨가한 후 배양액에서 히스타민량을 측정하여 올로파타딘을 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 분비 억제력을 계산한 결과 올로파타딘 농도 10^{-2} M, $10^{-2.5}$ M, 10^{-3} M 군에서 히스타민 분비 억제력이 없었고, 올로파타딘 농도 $10^{-3.5}$ M, 10^{-4} M, $10^{-4.5}$ M, 10^{-5} M, $10^{-5.5}$ M, 10^{-6} M 군에서 히스타민 분비 억제력은 62%, 57%,

39%, 35%, 28%, 14%를 나타냈다(Fig. 3).

비만세포 히스타민 유리에 미치는 케토티펜과 올로파타딘의 영향을 비교

히스타민 분비가 유도된 인간 제대혈 줄기세포 유래 비만세포(hCBMCs)를 배양하여 배양액에 케토티펜(ketotifen fumarate : 10^{-2} ~ 10^{-6} M)이나 올로파타딘(olopatadine hydrochloride : 10^{-2} ~ 10^{-6} M)을 첨가한 후 배양액에서 히스타민량을 측정하여 케토티펜이나 올로파타딘을 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 히스타민분비 억제력을 계산한 결과 올로파타딘 농도 10^{-3} M 군에서 히스타민 분비 억제력이 없었으나, 케토티펜 농도 10^{-3} M 군에서 히스타민 분비 억제력이 38%를 나타내서 케토티펜과 올로파타딘의 농도 10^{-3} M에서는 케토티펜의 히스타민 분비 억제력이 더 높게 나타났다. 또한 케토티펜과 올로파타딘의 농도 $10^{-3.5}$ M에서는 히스타민 분비 억제력이 가장 높게 나타났는데, 케토티펜은 48%, 올로파타딘은 62%를 나타내서 올로파타딘의 히스타민 분비 억제력이 더 높게 나타났다. 케토티펜과 올로파타딘의 농도 $10^{-3.5}$ M에서 10^{-6} M 사이에서 히스타민 분비 억제력은 올로파타딘이 더 높게 나타났다. 케토티펜과 올로파타딘의 농도 $10^{-5.5}$ M에서 올로파타딘의 히스타민 분비 억제력은 28%를 나타냈으나 케토티펜의 히스타민 분비 억제력은 거의 없었다(Fig. 4).

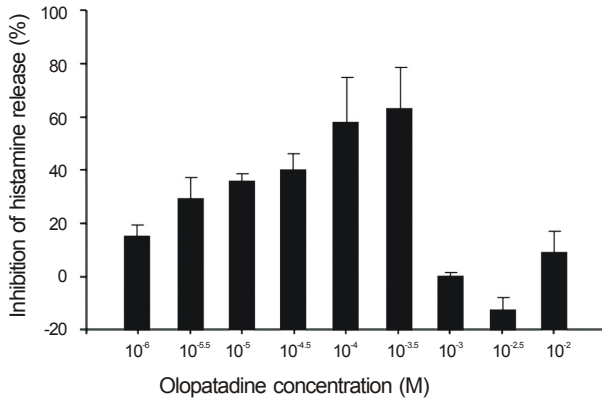


Figure 3. Inhibition of histamine release from human umbilical cord blood-derived cultured mast cells (hCBMCs) (% reduction from positive control) as a function of olopatadine hydrochloride concentration.

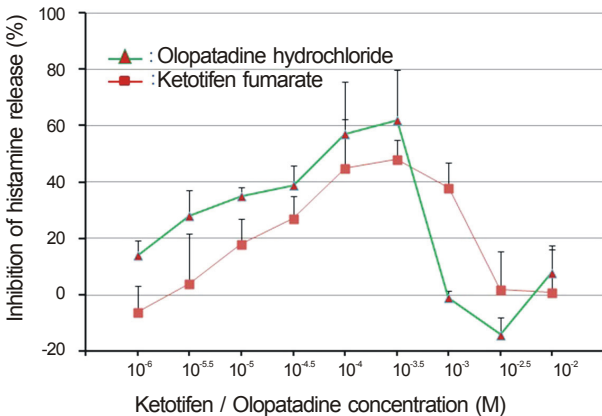


Figure 4. Inhibition of histamine release from human umbilical cord blood-derived cultured mast cells (hCBMCs) (% reduction from positive control) as a function of olopatadine hydrochloride or ketotifen fumarate concentration.

고 찰

알레르기결막염 치료제로는 혈관수축제, 경구용 및 점안용 항히스타민제, 비만세포 안정제, 항히스타민/비만세포안정제 복합제제, 비스테로이드성 항염증제, 스테로이드제제, 면역억제제 등 다양한 치료제들이 사용되고 있다. 그 중 알레르기 점안약으로 Ketotifen fumarate과 olopatadine hydrochloride이 널리 사용되고 있고 두 가지 약제 모두 항히스타민과 비만세포 안정화 작용을 가지고 있다. 올로파타딘은 알레르기결막염 치료를 위해 2000년 3월 미국에서 승인을 받았고 비만세포를 안정화시키는 선택적인 H_1 -receptor antagonist로 약효가 빠르고 12시간의 작용시간을 나타낸다.⁴ 케토티펜도 H_1 -receptor에 선택적으로 결합하여 차단시키며 비만세포를 안정화시키고 호산구의 축적을 방지하는 작용을 한다.⁵ 케토티펜은 1999년 미국에서 승인을 받았으며 작용시간은 15분 이내로 빠르며 8시간 이상 지속되며 8세 이상의 소아에서도 사용할 수 있는 것으로 알려졌다.⁶ 그러나 이 두 가지 약제에 인간 제대혈 유래 비만세포를 사용하여 비만세포 안정화에 미치는 영향에 대한 보고

및 실험은 국내에 아직 보고되지 않아 본 연구에서 알아보 고자 하였다.

비만세포는 골수에서 줄기세포가 만들어져서 여러 가지 cytokines의 작용을 받아 분화가 일어나는데, stem cell factor (SCF)는 비만세포의 분화, 이동, 성장, 면역작용에 모두 관여한다. 골수에서 부분 분화된 mast cell progenitors (MCP)는 혈액을 통해 조직이나 장기로 이동하여 성숙된 비만세포로 분화된다. 성숙된 비만세포는 점막 비만세포와 결체조직 비만세포의 2가지로 나눌 수 있으며, 이들의 특성은 각 조직에 따라서 과립 내용물이 약간씩 차이가 있다. 조직에서 분화된 비만세포는 비교적 오랜 기간 동안 생존(수주-수개월)하며 면역반응(알러지반응)을 나타낸다.⁷ 조직의 비만세포는 실험에 필요한 세포를 분리하기가 어렵기 때문에 혈액 암 세포에서 유래한 LAD2 mast cells나 줄기세포에서 분화시켜 만들어진 비만세포를 이용한 실험을 실시하고 있다. Kempuraj et al^{8,9}은 인간 제대혈에서 분리한 CD34+ cell을 SCF와 IL6를 첨가하여 배양하면 3-4주 후에 히스타민이 유리되는 비만세포로 분화되며, CD34+ cell을 SCF와 IL6를 첨가하여 분화된 비만세포를 이용한 실험이 혈액 암 세포에서 유래한 LAD2 mast cells을 이용한 실험의 결과와 차이가 없으며, 이렇게 분화된 비만세포는 12주까지 안정하다고 하였다.⁸⁻¹¹ 본 실험에 사용한 비만세포는 인간 제대혈에서 분리한 CD34+ cell을 구매하여 SCF와 IL6를 첨가하여 4주간 배양한 후 이를 분화된 비만세포로 이용하였다. 인간 제대혈 CD34+ cell로부터 SCF와 IL-6로 유도된 비만세포 배양액에 IgE를 첨가하여 세포막 IgE Fc receptor에 결합되게 하고 Ig E-antibody를 첨가하여 히스타민이 유리되도록 하였다. 또한 배양액에 유리된 히스타민은 histamine ELISA kit을 이용하여 측정하여 정량하였다. Ketotifen과 olopatadine은 비만세포에서 일어나는 degranulation을 억제(mast cell 안정화 작용)하는 작용이 있는 것으로 알려졌다.¹²⁻¹⁵ 본 실험에서 케토티펜(ketotifen fumarate : 10^{-2} ~ 10^{-6} M)이나 올로파타딘(olopatadine hydrochloride : 10^{-2} ~ 10^{-6} M)을 세포배양액에 첨가한 후 배양액에 유리된 히스타민량을 측정하여 케토티펜이나 올로파타딘을 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 히스타민분비 억제력을 계산하였다. 케토티펜 농도 10^{-2} M과 $10^{-2.5}$ M 군에서 히스타민 분비 억제력이 없었고, 케토티펜 농도 10^{-3} , $10^{-3.5}$, 10^{-4} , $10^{-4.5}$, 10^{-5} M 군에서 히스타민 분비 억제력은 38%, 48%, 45%, 27%, 18%를 나타냈고, 케토티펜 농도 $10^{-5.5}$, 10^{-6} M 군에서 히스타민 분비 억제력은 없었다. Schoch¹⁶에 의하면 인체의 결막 조직에서 분리한 비만세포에서는 케토티펜 농도 10^{-3} ~ 10^{-11} M에서 히스타민 분비 억제력이 있었고, 케토티펜 농도 10^{-4} ~ 10^{-10} M에서 히스타민

분비 억제력이 90% 이상이라고 하였는데, 본 실험은 인간 제대혈 유래 비만세포를 사용하여 한 실험으로 실험결과에는 차이가 있으나 케토티펜이 히스타민 분비 억제력이 있다는 사실을 확인하였다.

케토티펜과 올로파타딘의 농도 10^{-3} ~ 10^{-4} M은 임상적으로 적용 가능한 적절한 농도로 시중에서 시판되는 0.025% ketotifen fumarate (Zaditen®, Novartis, USA)의 경우 8×10^{-4} M 농도를 가지고 있으며 점안 즉시 30-50%가 환자의 눈물에 의해 희석되게 된다.¹⁶ 본 연구에서도 케토티펜과 올로파타딘 모두 농도 10^{-3} ~ 10^{-5} M 군에서 히스타민 분비 억제력을 나타냈고, 히스타민 분비 억제력은 올로파타딘이 케토티펜보다 약간 더 강한 결과를 나타내어 임상에서 점안약으로 사용시 인간의 결막에 분포하는 비만세포에서도 히스타민 유리를 억제하여 항알레르기 작용을 할 것으로 생각한다. 이 논문의 제한점으로는 케토티펜과 올로파타딘을 첨가하여 측정된 히스타민 분비 억제율은 비만세포 안정화 효과만을 평가한 것으로 항히스타민 작용은 평가되지 않아 두 약제가 실제 점안약으로 사용시 나타나는 증상 완화 효과를 직접적으로 반영하지 못하여 추후 추가적인 임상 연구가 필요할 것으로 생각하며, 또한 tryptase 분비 억제력에 대한 연구가 시행되지 않아 알레르기결막염의 증상 개선에 대한 임상적 연구나 약제 사용시 결막세포의 생존력 및 약제의 독성 등에 대한 연구조사도 더 필요할 것으로 생각한다. 본 연구에서 살펴본 것과 같이 ketotifen과 olopatadine은 적정농도에서 히스타민 분비 억제력이 있어 알레르기결막염 치료에 유용한 치료약으로 사용할 수 있을 것으로 생각되며 국내에서 아직 보고되지 않은 인간 제대혈 유래 비만세포를 사용하여 그 결과를 평가하는 실험으로 중요한 의의가 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Bielory L. Allergic and immunologic disorders of the eye. Part I: immunology of the eye. J Allergy Clin Immunol 2000;106:805-16.
- 2) Weeke ER. Epidemiology of hay fever and perennial allergic rhinitis. Monogr Allergy 1987;21:1-20.
- 3) Foster CS. Immunologic Disorders of the Conjunctiva, Cornea and Sclera. Principles and Practices of Ophthalmology: Section 8, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Publishers, 1999;65:803-28.
- 4) Spangler DL, Bensch G, Berdy GJ. Evaluation of the efficacy of olopatadine hydrochloride 0.1% ophthalmic solution and azelastine hydrochloride 0.05% ophthalmic solution in the conjunctival allergen challenge model. Clin Ther 2001;23:1272-80.
- 5) Kidd M, McKenzie SH, Steven I, et al; Australian Ketotifen Study Group. Efficacy and safety of ketotifen eye drops in the treatment of seasonal allergic conjunctivitis. Br J Ophthalmol 2003;87:1206-11.
- 6) Abelson MB, Ferzola NJ, McWhirter CL, Crampton HJ. Efficacy

- and safety of single- and multiple-dose ketotifen fumarate 0.025% ophthalmic solution in a pediatric population. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:551-7.
- 7) Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Physiol Rev* 1997;77:1033-79.
- 8) Kempuraj D, Saito H, Kaneko A, et al. Characterization of mast cell-committed progenitors present in human umbilical cord blood. *Blood* 1999;93:3338-46.
- 9) Kempuraj D, Asadi S, Zhang B, et al. Mercury induces inflammatory mediator release from human mast cells. *J Neuroinflammation* 2010;7:20.
- 10) Nakahata T, Toru H. Cytokines regulate development of human mast cells from hematopoietic progenitors. *Int J Hematol* 2002; 75:350-6.
- 11) Yamaguchi M, Azuma H, Fujihara M, et al. Generation of a considerable number of functional mast cells with a high basal level of FcεRI expression from cord blood CD34+ cells by co-culturing them with bone marrow stromal cell line under serum-free conditions. *Scand J Immunol* 2007;65:581-8.
- 12) Yanni JM, Miller ST, Gamache DA, et al. Comparative effects of topical ocular anti-allergy drugs on human conjunctival mast cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;79:541-5.
- 13) Abelson MB. Evaluation of olopatadine, a new ophthalmic anti-allergic agent with dual activity, using the conjunctival allergen challenge model. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:211-8.
- 14) Fernández M, Wong E, Oehling A. Retrospective study of ketotifen protective action in different allergopathies. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1987;15:369-73.
- 15) Yanni JM, Stephens DJ, Miller ST, et al. The in vitro and in vivo ocular pharmacology of olopatadine (AL-4943A), an effective anti-allergic/antihistaminic agent. *J Ocul Pharmacol Ther* 1996;12: 389-400.
- 16) Schoch C. In vitro inhibition of human conjunctival mast-cell degranulation by ketotifen. *J Ocul Pharmacol Ther* 2003;19:75-81.

=ABSTRACT=

Evaluation of the Stabilization of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mast Cells in Accordance with Ketotifen and Olopatadine Concentration

Ji Woong Chun, MD, Jae Woong Koh, MD, PhD

Department of Ophthalmology, Chosun University School of Medicine, Gwangju, Korea

Purpose: To evaluate the effect of olopatadine and ketotifen to stabilize mast cells using human umbilical cord blood-derived mast cells (hCBMCs).

Methods: Using cultured hCBMCs, we divided the cells into the Ketotifen fumarate treatment group, the Olopatadine hydrochloride treatment group, the positive control group, and the negative control group. The histamine release inhibition rate was then observed.

Results: Ketotifen and olopatadine both showed the highest inhibition rate of histamine release at a concentration of $10^{-3.5}$ M (Ketotifen, 48% and Olopatadine, 62%). The histamine release inhibition rate of olopatadine was 28% at a concentration of $10^{-5.5}$ M, but ketotifen demonstrated a low histamine release inhibition rate at the same concentration. Ketotifen and olopatadine showed no histamine release inhibition at concentrations of 10^{-2} ~ $10^{-2.5}$ M, and 10^{-6} M.

Conclusions: Ketotifen and olopatadine demonstrated histamine inhibition in the concentration range of 10^{-3} to 10^{-5} M. Olopatadine showed a slightly stronger response than ketotifen in the inhibition of histamine release.

J Korean Ophthalmol Soc 2014;55(2):278-282

Key Words: Histamine, Ketotifen, Mast cell, Olopatadine

Address reprint requests to **Jae Woong Koh, MD, PhD**
Department of Ophthalmology, Chosun University Hospital
#365 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwangju 501-717, Korea
Tel: 82-62-220-3190, Fax: 82-62-225-9839, E-mail: ophkoh@hanmail.net