瀉白散이 천식유발 백서에서 metrix metalloproteinase-9(MMP-9)에 미치는 영향

이해자*

원광대학교 한의과대학 소아과학교실

Effects of Sabaek-san on the Metrix Metalloproteinase-9 in the Bronchial Asthma Mouse Model

Hai Ja Lee*

Deprtarment of pediatrics Collage of Oriental Medicine, Wonkwang University Iksan, Korea

We hope to evaluate the effects of Sabaek-san for the bronchial asthma using assesment on the metrix metalloproteinase-9(MMP-9) after Sabaek-san was intravenously administered OVA-sensitized and -challenged mice. Seventy-two female mice, 8-10 weeks of age and free of murine specific pathogens, were used. Of the seventy-two mice, twenty-four mice were not sensitized and forty-eight mice were sensitized by intraperitoneal injection of OVA. Of the sensitized mice, twenty-four mice didn't administrate Sabaek-san and twenty-four administrated Sabaek-san. Mice were sensitized on days 1 and 14 by intraperitoneal injection of 20 ㎍ OVA. On days 21, 22 and 23 after the initial sensitization, the mice were challenged for 30 minutes with an aerosol of 1% OVA in saline. Sabaek-san administered 200mg/kg in the tail of the mouse, one time per day, for 7 days, beginning 14 days after first sensitization. Bronchoalveolar lavage was performed 72 hours after the last challenge, and total cell numbers in the BAL fluid were count. Also, level of MMP-9 in the BAL fluid were measured by Enzyme immunoassays and Western blot analysis. Enzyme immunoassay revealed that MMP-9 levels in the BAL fluids significantly increased 72 h after OVA inhalation compared with levels in the control group. After administration of the Sabaek-san, the levels of the MMP-9 in BAL fluids 72 h after OVA inhalation reduced dramatically. Western blot analysis revealed that MMP-9 levels increased in the all mice which were challenge with OVA without administered Sabaek-san compared the normal mouse. However, in the groups of the administered Sabaek-san, the MMP-9 level markedly decreased. Sabaek-san might be effect the treatment of the bronchial asthma as a inhibition of the MMP-9.

Key words : Sabaek-san(瀉白散), metrix metalloproteinase-9(MMP-9), bronchial asthma

서 론

喘息은 병리학적인 측면에서 기도에 호산구가 증가되고, 점액분비를 증가시키는 술잔세포가 비후되어 있으며, 특이적인 또는 비특이적인 알레르겐이 기관지를 자극하면 기관지에 점막부종, 점액분비증가 및 기관지 평활근의 수축이나 경련이 일어나며, 결국 가역적이면서 반복적으로 기도 협착이 발생하는 증후군이다[1-4].

기관지 천식의 유발 인자에 대해서 많은 보고가 있다[4-7]. 활성화된 비만세포(mast cell), 호산구(eosinophil), T cell과 같은 염증세포가 기관의 점막과 상피세포에 다양한 종류의 cytokines와 chemokines를 분비하여 천식이 유발된다. 최근에 이[5]등은 혈관내피성장요인(vascular endothelial growth factor, VEGF)이 혈관의 투과성을 증가시켜 혈장내 단백질이 혈관 외로 쉽게 이동하여 부종과 세포외 기질에 변화를 일으키는데, 이 단백질의 증가는 천식 환자의 기도 과민반응에 영향을 준다고 했다. 이런 다양한 원인에 의해 발생된 천식은 결국 만성 염증에 의해서 기관지 재구성이 일어나며, 이러한 구조적인 변화는 천식을 치료하는 데 매우 중요하다고 알려졌다[8].

최근에 MMP-9(matrix metalloproteinases-9)는 천식 환자에

* 교신저자 : 이해자, 전북 군산시 지곡동 29-1, 원광대학교 군산의료원
· E-mail : yibeads@kunmed.or.kr, · Tel : 063-472-5263
· 접수 : 2004/07/26 · 수정 : 2004/08/27 · 채택 : 2004/10/01

서 기관지 재구성에 관여하는 주요한 단백질 중 하나로 알려졌다. 천식 환자에 있어 기관지 재구성은 기도의 세포외간질(extracellular matrix, ECM)에 있는 다양한 구조적 또는 기능적인 분자들이 관여하는 것으로 알려져 있으며, 결국 기도의 벽에 과도한 ECM이 침착되어 기관지 재구성이 일어난다. 이 단백질은 호산구, 중성구, 림프구를 기저막(basement membrane)을 통해 ECM으로 유도함으로써 기도 염증을 일으키는 것으로 알려져 있다[8-11].

사백산(瀉白散)은 청사폐열(淸瀉肺熱), 평천지해(平喘止咳)의 효능으로, 폐열로 해수가 심하여 기급(氣急)하고 피부증열(皮膚蒸熱)하며 오후에 발열이 더욱 심하고 설홍태황(舌紅苔黃), 맥세삭(脈細數)한 증상을 치료하는데 사용되는 처방이다. 김[12] 등은 사백산이 항알러지에 효과가 있다고 보고 하였으며, 주[13] 등은 사백산이 천식의 기도 염증반응에 영향을 미치는 IL-8 mRNA를 억제시켜 천식의 치료에 도움이 된다고 했다.

이에 저자는 천식 유발 백서 모델에 사백산을 정맥 주입한 후 기도 내에서 MMP-9의 변화를 관찰함으로써 사백산이 천식 치료에 관여하는 기전을 밝히고자 한다.

대상 및 방법

1. 동물모델

총 72 마리를 대상으로 하였고, 이 중 24마리는 정상군 으로서 천식을 유발하지 않았으며, 48 마리에서는 OVA를 복강 내에 주입하여 천식을 유발하였다. 천식 유발은 20 ㎍의 OVA(Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA)를 알루미니움 하이드록사이드(aluminum hydroxide; Pierce Chemical Co. Rock-ford, illinois, USA) 1 mg과 혼합하여 총 200 ㎕을 복강내로 주입하였다. 처음 주입한 후 14일 후에 같은 방법으로 다시 복강내로 OVA를 주입하여 감작시켰다. 처음 감작시킨 날로부터 21일째, 22일째, 23일째 되는 날 초음파 분무기(NE-U 12; Omron Corp., Tokyo, Japan)를 이용하여 1%(wt/vol) OVA aerosol을 30분씩 분사시켜 세 번째 감작 시켰다. 세 번째 감작을 시킨 날로부터 72시간 후에 기관지폐 세척술(bronchoalveolar larvage, BLA)을 시행하였다(Fig. 1).

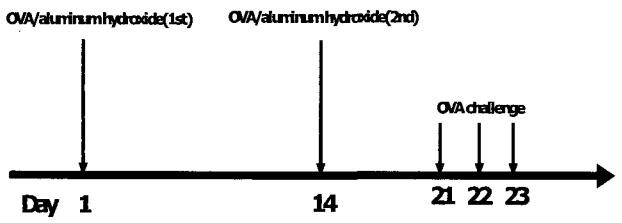


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental protocol. Mice were sensitized on days 1 and 14 by intraperitoneal injection of OVA emulsified in 1 mg aluminum hydroxide. On days 21, 22 and 23 after the initial sensitization, the mice were challenged for 30 minutes with an aerosol of 1%(wt/vol) OVA in saline using an ultrasonic nebulizer.

2. BAL 용액내의 MMP-9의 변화

MMP-9의 범위는 manufacturer's protocol(R&D system, Minneapolis, MN)에 따라 효소 면역분석(enzyme immunoassays)에 의해 정량화 하였다. MMP-9는 젤라틴 자이모그라피(gelatin zymography)로 측정하였으며, 단백질(10 ㎍)과 같은 양의 표본(sample)을 5배 정도의 표본완충액에 섞은 후 0.1%젤라틴이 들어 있는 10% SDS-PAGE를 이용하여 분리하였다. 그 후 젤을 2.5 % Triton X-100에 1시간동안 배양한 후 효소완충액(0.05M Tris-HCL, pH 7.5, 0.02M NACL, 5mM $CaCl_2$ and 0.02% Brij-35)에서 약 24시간동안 배양하였다. 이 젤을 0.5% Coomassie brilliant blue-250 용액으로 염색하였다.

3. 사백산에 대한 기도과민 반응 검사

사백산은 군산의료원 한방병원에서 구입하였으며, 200g에 3차 증류수 1.8L을 환저플라스크에 넣고, 냉각기를 부착하여 2시간 전열기로 중탕한 후 3,000rpm에서 20분간 분리하고 진공압축기로 감압 농축한 후 동결건조기에서 24시간동안 동결 건조하여 30g의 분말시료를 얻었다. 사백산 분말을 증류수에 녹여 200 mg/kg을 48 마리 중 24 마리 쥐의 꼬리에 하루에 한 번 정맥주사 하였다. 두 번째 OVA를 복강내에 주입한 날부터 사백산을 7일 동안 매일 정맥주사 하였으며, 세 번째 감작 후 72시간 후에 기관지 세척술을 시행하였다(Fig. 2).

Methacholine을 이용한 기도 과민반응의 측정(Determination of airway responsiveness to methacholine)은 세 번째 감작을 시킨 후 3일후에 메싸콜린을 분사하여 측정하였다. 쥐를 barometric plethysmographic chamber(All Medicus Co, Seoul, Korea)에 넣고 약 3분 동안 평균기초검사소견을 얻은 후 분사 메싸콜린의 농도를 2.5 mg/㎖에서 50 mg/㎖로 증가시키며 다시 3분 동안의 결과를 얻었다. 각각의 얻은 결과를 manufacturers' protocol[(expiratory time/relaxation time-1) X (peak expiratory flow/peak inspiratory flow)]에 따라 계산하였다. 이 수치는 최대흡기에 대한 최대호기의 비율을 나타내며, 호기시 시간당 폐 기능을 나타낸다. Penh을 메싸콜린에 대한 기도과민반응의 척도로 사용하였으며, 식염수를 투여한 후 검출된 Penh을 100%로 했을 때 메싸콜린 투여후 검출된 Penh의 증가에 대한 비율을 퍼센트(%)로 나타냈다.

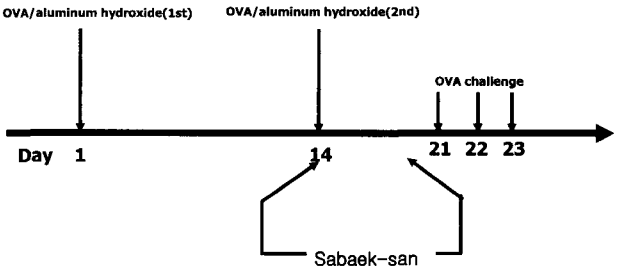


Fig. 2. Sabaek-san was administered intravenous one time per day to each treated animal from 14 days to 20 days.

4. 혈장 삼출을 통한 혈관 투과성의 측정:

9 마리의 쥐에서 혈관 투과성을 측정하였다. 3 마리는 정상군에서 시행하였고, 6 마리는 OVA로 천식을 유발한 대조군, 이 중 3 마리만 사백산을 투여한 실험군으로 하였다. 혈장 삼출(plasma exudation)의 측정은 에반스 블루 염색약(Evans blue

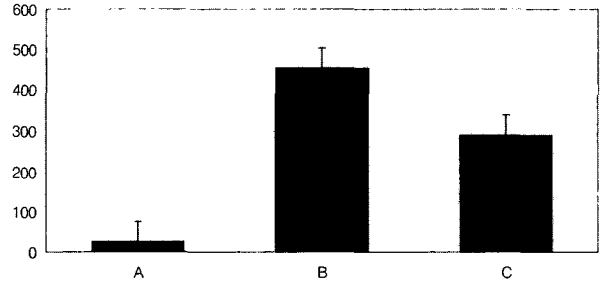
dye, 이하 EBD)을 이용하였다. 폐 투과성을 측정하기 위해 에반스 블루 염색약을 0.9% 생리식염수에 녹여서 5mg/㎖의 농도로 만들었다. 이렇게 만든 EBD를 쥐의 꼬리에 20mg/kg에 주입하였으며, 30분후에 쥐를 희생시키고 흉곽을 열었다. 그 후 5 ㎜의 에틸레네디아민테트라아세틱 에씨드(ethylenediaminetetraacetic acid)가 들어있는 생리식염수를 대동맥에 일정한 압력으로 주입하였으며, 우측 심방으로 되돌아오는 정맥용액의 색깔이 완전히 하얗게 되면 중단하였다. 이 때, 쥐에서 폐를 제거하여 무게를 측정하였다. EBD는 약 60℃로 유지되는 2ml 포마미드(formamide) 내에 3시간동안 쥐의 폐를 담가두어 추출하였으며, 스펙트로포토미터를 이용하여 620 ㎚에서 빛에 흡수되는 양을 측정하였다. 추출된 EBD는 0.01-10㎍/㎖내의 범위에서 표준화 곡선으로 보정하여 양을 측정한 후 쥐의 폐 밀리그람당 EBD의 나노그람(nanogram)으로 표기하였다.

통계학적인 비교는 one-way ANOVA를 이용하였으며, 대조군과 실험군 사이의 비교는 Student's t test를 이용하였다.

결 과

1. BAL 용액내의 MMP-9의 변화

효소 면역분석상 정상군에 비교하여 OVA에 의한 천식 대조군에서 MMP-9의 범위가 매우 증가하였다. 정상군의 경우 MMP-9의 범위가 3-50 pg/㎖(mean= 24 pg/㎖)이었는데, 천식 대조군의 경우 50-2725 pg/㎖(mean= 454.2 pg/㎖)으로 증가되었다. 그러나 사백산을 투여한 실험군에서는 10-1720 pg/㎖ (mean= 286.7 pg/㎖)으로 정상보다는 증가되었으나, 사백산을 투여하지 않은 대조군에 비해서 감소되었다(Fig. 3a). 효소 면역분석에서 얻어진 결과와 웨스턴 블롯 분석은 서로 일치하였다. 웨스턴 블롯 분석상 정상군(n=1)과 비교시 천식 유발 대조군에서(n=7) BAL 용액내에 있는 MMP-9의 범위는 매우 증가하였다. 하지만, 사백산을 주입한 실험군의 경우 MMP-9의 범위가 사백산을 주입하지 않은 대조군과 비교시 매우 감소하였다(Fig. 3b).



↑ Fig. 3a

↓ Fig. 3b

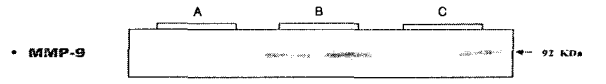


Fig. 3. Effect of Sabaek-san on MMP-9 in BAL fluids of OVA-sensitized and -challenged mice. A, Enzyme immunoassays of VEGF. B, Western blot analysis. Data represent the mean ± SD from two independent experiments.

2. 혈장 삼출을 통한 혈관 투과성의 측정

정상군에서 조직 그램당 에반스 블루의 양은 21-35.2 ㎍/g(mean= 27.8㎍/g)이였다. OVA로 천식이 유발된 대조군의 경우 35.8-66.3 ㎍/g(mean= 47.4 ㎍/g)로 증가되었으며, 사백산을 투여한 실험군에서는 17.57-31.35 ㎍/g(평균 22.85 ㎍/g)로 정상보다 감소되었다. EBD 분석을 통해서 OVA로 감작 후 72시간 후 대조군은 혈장의 혈액외 유출이 정상보다 증가하였다. 그러나 사백산을 투여한 실험군에서는 기관지내 혈장 유출정도가 매우 감소되었다(Fig. 4).

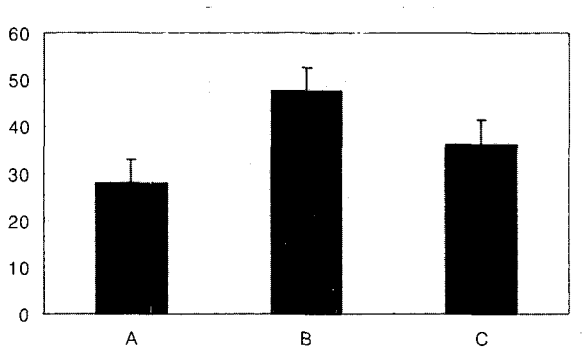


Fig. 4. Effect of Sabaek-san on plasma exudation in the OVA-sensitized and -challenged mice. A, Normal group. B, The EBD assay revealed that plasm extravasation was significantly increased at 72 h after OVA sensitization. C, The administration of the Sabaek-san significantly reduced the increase in plasma extravasation at 72h after OVA inhalation.

3. 사백산 대한 기도과민 반응 검사

OVA에 의해 천식이 유발된 대조군은 정상군에 비해서 메싸콜린 양에 반응하는 Penh 퍼센트 곡선이 좌측으로 전위되었다. 또한, 정상군에 비교시 메싸콜린의 투여량이 증가할수록 Penh의 퍼센트가 매우 증가되었다. 이에 비해서 OVA에 의해 천식을 유발 시킨 후 사백산이 투여된 실험군의 경우 사백산을 투여하지 않은 대조군과 비교시 메싸콜린 양에 반응하는 Penh 퍼센트 곡선이 우측으로 전위되었다. 이런 결과를 통해 사백산이 OVA에 유발된 기도과민성을 감소시킴을 알 수 있었다(Fig. 5).

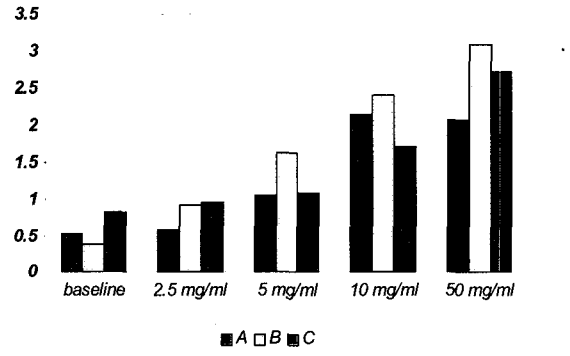


Fig. 5. Effect of OVA challenge and Sabaek-san on airway responsiveness in OVA-sensitized and - challenged mice. Mice were treated as described in Fig. 2. Airway responsiveness to aerosolized methacholine was measured in unrestrained, conscious mice. Mice were placed into the main chamber and were nebulized first with saline, then with increasing dose(2.5-50 mg/ml) of methacholine for 3 min for each nebulization. Readings of breathing parameters were taken for 3 min after each nebulization during which Penh values were detgermined.

고 찰

사백산(瀉白散)은 "소아약증직결(小兒藥證直訣)"에 처음으로 수록된 처방으로 지골피(地骨皮), 상백피(桑白皮)와 감초(甘草)로 구성되어 있다[14]. 사백산은 사폐산(瀉肺散)이라고도 하며, 폐의 열을 내려주는 처방으로 폐열해수(肺熱咳嗽)로 인하여 호흡이 빨라지고, 체온이 상승되며, 맥이 세삭(細數)한 병증을 치료하는 처방이다. 이 중 상백피는 미감한(味甘寒) 무독(無毒)으로 청폐평천(淸肺平喘), 행수소종(行水消腫)에 효능이 있어 폐열해수, 소변불리, 면목부종(面目浮腫)등의 수종실증(水腫實證)에 효과가 있고, 지골피는 미감담한(味甘淡寒) 무독(無毒)하며, 청열량혈(淸熱凉血), 청폐열(淸肺熱), 퇴골증노열(退骨蒸勞熱)의 치료에 효과가 있어 해수, 천식, 토혈, 번열구갈(煩熱口渴)이나 허열골증(虛熱骨蒸)으로 인한 결핵이나 당뇨의 치료에 사용된다. 감초는 미감평 (味甘平), 무독(無毒)하고 보비익기(補脾益氣), 청열해독(淸熱解毒), 윤폐지해(潤肺止咳), 조화제약(調和諸藥)의 효능이 있어 비허, 위약, 혈허등과 해수, 천식등의 치료에 사용되고 있다. 따라서 이 세 약제의 혼합약제인 사백산은 기관지염, 객담, 천명의 증상이 있는 천식의 실험적 연구에 효과가 있을 것으로 보고 본 실험에 응용하였다[15-18].

기도의 구조적인 변화와 ECM 구성성분의 재구성이 천식환자에서 기도 폐쇄의 중요한 원인으로 알려져 있다[19]. MMP-9은 정상인에 비해 천식환자의 기관지 조직검사에서 더 높게 검출되었으며, 천식 환자 중 치료를 하지 않은 그룹의 기관지세척액에서 MMP-9의 농도가 더 높다. 또한 이 단백질은 천식 환자에서 진행성 염증이 있는 경우 매우 높게 증가 된다[10,20,21]. 이[8]등은 TDI를 이용한 천식 쥐 모델에서 MMP-9이 증가되었으며, MMP-9 길항제를 투여시 천식이 매우 호전되었다고 보고 했다. 본 연구는 OVA를 이용하여 쥐에서 천식을 유발하였으며, 효소면역분석과 웨스턴 블롯 분석을 통해서 정상 쥐에 비해서 MMP-9의 양이 월등히 증가되어 천식 유발에 MMP-9가 중요한 요소임을 알 수 있었다. 또한, EBD 분석을 통해 喘息에서 MMP-9의 증가로 인한 혈관의 투과성과 혈장 유출의 증가가 기관지 재구성과 관계가 있음을 증명할 수 있었다.

기도에서 ECM으로 혈장의 유출은 기도 벽을 두껍게 하고, 부종을 초래하며, 결국에는 기도의 직경을 감소시켜 천식을 악화시키는 요인이 된다. 또한, 혈장의 유출은 기도상피의 유지에 악영향을 주며, 기도 내에 혈장이 있는 경우, 기도 섬모의 기능을 떨어뜨리고, 점액의 정화를 감소시킨다. 더불어 혈장 단백질은 염증세포, 상피세포와 혼합되어서 점액의 점도를 더욱 증가시킨다. 이 연구를 통해서 사백산의 천식 치료 효과는 MMP-9의 분비를 억제시켜서 기관지 재구성을 막는 것과 관련이 있음을 알게 되었다. 이런 결과는 천식의 기도 폐쇄 유발에 중요한 원인인 MMP-9에 사백산이 직접 관련되어 있음을 증명한 것이다. 효소면역분석과 웨스턴 블롯 분석을 통해서 천식 대조군과 비교시 MMP-9의 양이 정성적으로 정량적으로 감소함을 증명하였고, 또한 EBD 분석을 통해서 기도내로 혈장의 유출이 현저하게 감소됨을 알 수 있었다. 또한 기도과민 검사를 시행했을 때, 사백산을 투여하지 않은 대조군에 비해서 과민도가 감소하였는데, 이는 사백산이 천식의 치료제로써 기도의 재구성을 방지하여 직경을 증가시킴을 알 수 있었다. 기관지 喘息의 약물으로 기관지 확장제와 기관지 점막의 알레르기 염증 반응을 치료하는 항염증 약제가 사용된다. 스테로이드제는 부종과 기도의 수축과 혈관의 과투과성으로 인한 염증을 억제시키고, 알레르기성 염증세포에 작용하여 사이토카인이나 화학매체의 유리를 억제하고, 베타 2교감신경 수용체 수를 활성화시켜 베타 2 항진제에 대한 반응도를 높인다. 하지만 스테로이드제를 전신적으로 장기간 사용하면 당대사이상, 식욕증가, 혈압상승, 체중증가, 월상안(moon face), 기분변화, 위궤양, 대퇴골의 무혈성 괴사, 골다공증, 백내장, 근육염 등이 나타날 수 있으며, 소아에서는 성장장애가 나타나거나 심한 경우 면역기능이 감소될수 있다[22].

본 연구는 사백산을 구강으로 투여하지 않고 정맥투여를 하였다. 따라서 200mg/kg의 용량이 MMP-9의 분비를 효과적으로 억제하였지만 구강투여를 한다면 용량을 더욱 증가시켜야 할 것으로 생각되며, 기존 한약의 흡수방법이 구강투여인 점등을 미루어 효과적인 구강투여 용량에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한, 향후 사백산에 대한 독성검사가 추가로 필요할 것으로 생각된다.

결 론

결론적으로 사백산은 기관지의 재구성에 관여하는 MMP-9의 작용을 억제시킴으로써 천식 치료에 효과가 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 2003년도 원광대학교 교비지원에 의하여 연구됨

참고문헌

1. 대한 천식 및 알레르기 학회: 천식과 알레르기 질환, pp 244-254, 군자출판사, 서울, 2002.
2. 해리슨 내과학 편찬위원편: Harrison,s 내과학, pp1258-1264, 도서출판 정담, 1997.
3. 강세용, 심재정, 조재연 등 : 천식 환자에서 증상의 정도에 따른 IL-4 유전자 다형에 관한 연구, 결핵 및 호흡기 질환, 46(3):529-535, 1998.
4. 이숙영, 윤형규, 신 윤 등 : 기관지 천식에서 기관지세포세척액내 IL-10과 기도염증정도의 연관성, 결핵 및 호흡기 질환, 46(1):44-52, 1999.
5. Lee YC, Kwak YG, Song CH: Contribution of vascular endothelial growth factor to airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma. J Immunol. 1(168):3595-600, 2002.
6. Asai K, Kanazawa H, Kamoi H, Shiraishi S, Hirata K,

Yoshikawa J: Increased levels of vascular endothelial growth factor in induced sputum in asthmatic patients. Clin Exp Allergy. 33, pp595-599, 2003.

7. Boulay ME, Boulet LP. Airway response to low-dose allergen exposure in allergic nonasthmatic and asthmatic subjects: eosinophils, fibronectin, and vascular endothelial growth factor. Chest. 123, p430, 2003.
8. Lee KS, Jin SM, Lee H, Lee YC. Imbalance between matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in toluene diisocyanate-induced asthma. Clin Exp Allergy 34:1-9, 2004.
9. Okada S, Kita H, George TJ, Gleich GJ, Leiferman KM. Migration of esosinophils through basement membrane component in vitro: role of matrix metalloproteinase-9. Am J respir Cell MolBiol 17:519-28, 1997.
10. Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A et al. Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airway obstruction in asthma and chronic bronchitis. Am J Respir Crit Care Med 158:1945-50, 1998.
11. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY et al. Asthma: a disease remodeling the airway. Allergy 47:3-11, 1992.
12. 김민호, 한상환, 전병득, 사백산이 Compound 48/8-에 의하여 유도된 Anaphylatic shock와 피하반응에 미치는 영향. 내과학회지 11:22-42, 1990.
13. 주창엽, 황우석, 허태석, 정희재, 정승기, 이형구, 육미지황탕 합사백산과 상백피가 인간 기관지 상피세포의 IL-6, IL-8, GM-CSF mRNA level에 미치는 영향. 내과학회지 22:415-422, 2001.
14. 이순호, 한상환, 전병득, 폐실증에 응용된 사백산의 문헌적 고찰, 내과학회지, 16, 104-129, 1995.
15. 李時珍, 本草綱目, p.426-427, 456-457, 691-710, 人民衛生出版社, 北京, 1982.
16. 北京中醫學院編, 中醫學 臨床病理, p 572, 成輔社, 서울, 1983
17. 許浚, 東醫寶鑑, p470, 南山堂, 서울, 1994
18. 辛民敎, 臨床本草學, p. 302-303, 599-600, 175-177, 永林出版社, 서울, 1988.
19. Wilson JW, Li X, Pain MC. The lack of distensibility of asthmatic airway. Am Rev Respir Dis 148:806-9, 1993.
20. Ohno I, Ohtani H, Nitta Y, et al. Eosinophils as a source of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. Am J Respir Cell Mol Biol 16:212-219, 1997.
21. Mautino G, Olliver N, Chanez P, et al. Increased release of matrix metalloproteinase-9 in bronchoalveolar lavage fluid and by alveolar macrophages of asthmatics. Am J Respir Cell Mol Biol ;17:583-591, 1997.
22. 김남순: 청피의 실험적 연구, 원광대학교 대학원, 1998.