

加味治哮散 및 加味理中湯이 氣道 喀痰 분비에 미치는 영향

류인선 · 김윤식 · 설인찬*

대전대학교부속한방병원 내과학교실

Effects of Gamichihyo-san and Gamijung-tang on Airway Mucus Secretion

In Sun Ryu, Yoon Sik Kim, In Chan Seol*

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University, Taejeon, Korea.

This study was done to investigate the effects of Gamichihyo-san and Gamijung-tang on airway mucus secretion. After administer Gamichihyo-san(GCHS) and Gamijung-tang(GIJT) extract to Golden Syrian Hamster for 8-10 weeks, we examined mucin release from cultured hamster tracheal surface epithelial(HTSE) cells. Following results were obtained; GCHG significantly stimulated mucin release from cultured HTSE cells, with minute cytotoxicity GIJT did not affect mucin release and have no cytotoxicity; GCHG and GIJT did not affect contractility of isolated tracheal smooth muscle. These results suggest that Gamichihyo-san might be usefully applied for airway mucus secretion.

Key words : goblet cell, mucos, Gamichihyo-san(GCHS), Gamijung-tang(GIJT)

서 론

사람의 호흡기에 존재하는 점액(mucus)은 섬모세포와의 협동적 작용을 통해, 인체에 불필요하거나 혹은 유해한 물질의 제거에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 호흡기 점액의 인체 방어 기능은 주로 점액의 구성요소인 뮤신(mucin, 粘液素)의 점성 및 탄성(viscoelasticity)에 기인하는데, 이러한 뮤신의 양과 질의 이상은 기도 생리의 이상 뿐 아니라 인체의 방어 작용에 영향을 주어 더 심한 병리 현상을 유발할 수 있다. 즉, 천식, 만성 기관지염, 폐기종, 기관지 확장증, 낭포성 섬유증 등의 호흡기 질환에서 관찰되는 객담 혹은 점액의 과다분비는 이러한 질환군의 예후를 악화시키는 주 요인임이 알려져 있다.^{2,3)} 이러한 과다분비된 점액의 점도 및 분비를 조절하기 위해 다양한 약물이 사용되고 있으나, 그 효능 및 응용 범주에 제한이 있어 적절한 약물치료를 시행하기가 용이하지 않은 실정이다.⁴⁾

喀痰은 한의학에서 痰飲의 범주로, 痰은 水濕에 의해서 이루어지고,⁵⁾ 脾, 肺, 腎, 膀胱에 의해 생성되며 특히 肺는 “肺爲貯痰之器”라 여 外邪를 받아 肅降機能이 실조되면 氣의 上下升降에 장애가 초래되어 痰飲이 발생된다 하였다.^{6,7)}

加味治哮散은 金의 《晴崗醫鑑》⁸⁾에 기재된 治哮散에 百部

根, 附子, 桂枝, 五味子를 가한 처방으로 惡寒噴嚏, 鼻流涕, 胸壓感, 呼吸困難 등의 증상에 緩解劑로 널리 응용되고 있다.

加味理中湯은 《傷寒論》⁹⁾에 기재된 理中湯에 白朮을 빼고, 金銀花, 玄蔘, 白茯苓, 蛇床子, 附子, 肉桂를 가한 처방으로 虛冷性 癍疹, 癢痒感, 喘息 등에 쓸 수 있는 처방이다.¹⁰⁾

이에 호흡기 질환 발병시의 胸部 壓迫感, 呼吸困難 등의 緩解劑로 응용되는 加味治哮散 및 加味理中湯이 호흡기 질환에서 호발되는 객담의 생성 및 과다분비 조절 효능에 대하여 일차배양 햄스터 기관표면 상피세포(HTSE)에서의 뮤신생성, 젖산 탈수소효소 활성에 미치는 효과, 적출된 가토 기관 평활근에 미치는 영향을 관찰하여 연구 검토한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 동물

일차배양 기관표면 상피세포를 얻기 위해, 8-10 주령의 음성 Golden Syrian 햄스터를, 기관지 평활근에 대한 영향을 측정하기 위하여 1.5kg 정도의 실험용 가토(Albino rabbit)를 실험동물 전문 사육업체에서 공급받은 후 사용하였다.

2) 약물

본 실험에 사용한 加味治哮散(GCHS) 및 加味理中湯(GIJT)은 대전대학교 부속 한방병원에서 공급받았고, 1점의 내용과 용

* 교신저자 : 설인찬, 대전시 중구 대흥동 22-5, 대전대학교 부속한방병원

· E-mail : seolinch@dju.ac.kr, · Tel : 042-229-6805

· 접수 : 2004/09/16 · 수정 : 2004/10/27 · 채택 : 2004/12/01

량은 다음과 같다. (Table1, Table 2)

Table 1. Prescription of Gamichihyo-san (GCHS)

構成藥物	生藥名	用量(g)
半夏	<i>Pinelliac Tuber</i>	6.0
陳皮	<i>Fraxini Cortex</i>	4.0
赤茯苓	<i>Hoelen</i>	4.0
旋黃	<i>Ephedrae Herba</i>	4.0
蘇葉	<i>Perillae Folium</i>	4.0
紫菀	<i>Asteris Radix</i>	4.0
百部根	<i>Stemona Radix</i>	4.0
貝母	<i>Fritillariae Rhizoma</i>	4.0
杏仁	<i>Ansu Semen</i>	4.0
桑白皮	<i>Mori Cortex Tablet, Prescr</i>	4.0
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4.0
枳殼	<i>Aurantii Fructus</i>	4.0
附子	<i>Aconiti lateralis Preparata Radix</i>	4.0
桂枝	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	4.0
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	2.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.0
Total Amount		62.0

Table 2. Prescription of Gamijung-tang(GIJT)

構成藥物	生藥名	容積(g)
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	8.0
玄麥	<i>Scrophulariae Radix</i>	8.0
白茯苓	<i>Pona</i>	6.0
蛇床子	<i>Cnidii Fructus</i>	6.0
人參	<i>Ginseng Radix</i>	4.0
附子	<i>Aconiti lateralis Preparata Radix</i>	4.0
乾薑	<i>Zingiberis Rhizoma</i>	4.0
肉桂	<i>Cinnamomi Cortex</i>	2.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.0
Total Amount		44.0

3) 시약

Pronase(Type XIV), insulin, transferrin, epidermal growth factor, hydrocortisone, sodium selenite, testicular hyaluronidase (Type VI-S), LDH assay kit(LD-L 10), retinoic acid, gentamicin, sodium dodecyl sulfate, sepharose CL-4B, acetylchoilne 등은 Sigma사(St. Louis, Mo.,U.S.A.)에서, penicillin-G, streptomycin, Joklik-modified minimal essential medium(S-MEM), Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum(FBS), Medium 199(M199)등은 GIBCO사(Grand Island, New York, U.S.A.)에서, [6-3H] glucosamine(39.2 Ci/mmol)은 New England nuclear사(U.S.A.)에서, type I collagen은 regenmed (Seoul, Korea)에서, sodium acetate 등과 기타 일반시약들은 reagent grade 이상의 것들을 구입하여 사용하였으며, 실험에 사용된 물은 탈이온 이차증류수를 한번 더 탈이온하여 사용하였다.

2. 방법

1) 시료제조

加味治哮喘(GCHS)과 加味理中湯(GIJT)의 각 방제 한 접 분량에 600ml의 일차 증류수를 가하고 100℃로 가온된 상태에서 3 시간 동안 전탕하여, 80ml의 탕액을 수거하였다. 각 탕액을 실온 정도로 방냉한 후, 멸균 청정 후드 내에서 0.22µm filter를 이용,

가압 여과하여 멸균용기에 저장하였다. 최종적으로 수거된 여액의 용량은 12ml이었으며, 4℃ 냉장고에 보관하였다.

2) 기관표면 상피세포의 분리 및 배양

햄스터의 기관표면 상피세포 분리와 배양에 적용된 실험방법은 Kim 등^{11,12)}과 Wu 등^{13,14)}의 방법을 사용하였다. 세포들이 1-3일간 배양된 후에는 37℃ incubator에서 32℃ incubator로 옮겨서 배양했다. 배양액 교체는, 배양 개시 후 제 1, 3, 5, 7일에 각각 시행하였다.

3) 뮤신의 대사적 방사선 표지(radiolabeling)

Kim 등¹¹⁾의 방법을 이용하였는데, 배양세포 중의 뮤신은, 성숙한 배양세포(24 wells plate, 5x10⁵ cells/well)에, 10µCi/ml의 [6-3H] glucosamine(39.2Ci/mmol, New England nuclear)을 함유하는 완전배양액(insulin(5µg/ml), transferrin(5µg/ml), epidermal growth factor(12.5ng/ml), hydrocortisone(0.1µM), sodium selenite(0.01µM), fetal bovine serum(5%, V/V)(이하 FBS), retinoic acid(0.1µM), penicillin G(100U/ml), streptomycin (100µg/ml), gentamicin(50µg/ml)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DME)과 Medium 199(M199)의 1:1 혼합 배양액)을 well당 200µl씩 가하고 32℃에서 24시간 동안 배양함으로써 방사선 표지(metabolic radiolabeling)를 하였다.

4) 약물 처리

24시간 동안의 대사적 방사능 표지가 완결된 후 배양액 (pretreatment sample, 이하 PT로 약칭)을 수거해 두었다. 배양세포에 well당 0.5ml의 Dulbecco's Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, free PBS를 가하고 세척하는 조작을 2회 반복함으로써 배양세포의 잔사 등을 제거한 뒤, 각 약물 당총 12ml의 최종 추출물 중 20µl의 약물을 함유하는 PBS 200µl를 well마다 가하고 32℃에서 30분간 배양하였다. 30분의 배양이 끝난 뒤 반응액을 수거하여, treatment sample (이하 T sample)로 정의하였다. 수거된 모든 sample들은 원심분리하여 부유세포 기타 잔사를 제거하고, 50µl의 상등액은 젯산탈수소 효소 활성측정(LDH activity assay)을 위해 따로 덜어두고 나머지는 방사성 뮤신함량을 측정할 때까지 -70℃에서 냉동저장했다¹¹⁾.

5) 일차배양 기관표면 상피세포로부터 뮤신 함량 측정법

Hyaluronidase에 의해 분해되지 않으며, sepharose CL-4B column으로부터 exclude되는 고분자량의 glycoconjugate를 뮤신으로 정의하였고, Kim 등의 방법에 따라 방사성 뮤신의 함량을 측정하였다¹¹⁾.

6) 일차배양 기관표면 상피세포로부터 유리된 젯산 탈수소효소 활성 측정(LDH activity assay)

배양세포 중의 뮤신은, 다 자란 배양세포(24 well plate, 5x10⁵ cells/well)에, 10µCi/ml의 [6-3H] glucosamine (39.2Ci/mmol, New England nuclear)을 함유하는 완전배양액을 well당 200µl씩 가하고 32℃에서 24시간 동안 배양함으로써 방사능 표지하였고, 방사능 표지가 완결된 후 spent medium은 수거해 두었다. 배양세포에 well당 0.5ml의 PBS를 가하고 세척하는 조작을 2회 반복함으로써 배양세포의 잔사 등을 제거한 뒤, 각 약물 당 총 12ml의 최종 추출물 중 20µl의 약물을 함유하는 PBS 200µl를 well마다 가하고 32℃에서 30분간 배양하였다. 30분의 배양이 끝난 뒤 반응액(T sample)을 수거하였다. 수거된 모든 sample들

은 원심분리하여 부유세포 기타 잔사를 제거하고, 50 μ l의 상등액을 젖산 탈수소효소 활성측정(LDH activity assay)에 사용했다. LDH 활성 측정은 commercial kit (Sigma, LD-L 10)을 이용하였다.

7) 적출된 가토 기관 평활근에 미치는 영향

체중 1.5kg 정도의 건강한 응성 가토(albino rabbit)를 이산화탄소를 이용하여 질식사시킨 후, 즉시 기관 전체를 적출하여 tyrode 용액으로 세척하고, 주위 조직을 조심스럽게 제거하였다. 기관을 가로 방향으로 절취하여 기관 연결 3개를 포함하는 기관근 절편 표본을 제작하였다. 이렇게 얻어진 표본을 Tyrode 영양액이 들어있는 chamber(Magnus 장치)의 하단에 고정하고 상단은 isometric transducer에 연결, physiograph를 이용, 수축 정도를 측정하였다. 기관 표본에 5g의 resting tension을 가하고, 37 $^{\circ}$ C, 산소 공급 하에서 약 1시간 동안 15분 간격으로 세척하면서 안정화시켰다. 이 표본에 방금 조제된 acetylcholine 용액 5 \times 10 $^{-6}$ g/ml를 투여하여 최고 수축고를 측정한 다음, 세척하고, 15분간 안정화시켰다. 약물에 의한 기관 수축 억제효과(기관 평활근 이완 효과) 측정은, magnus 장치에 담긴 tyrode 용액 50ml 당 각 약물(방제) 추출액(최종 여액) 50 - 500 μ l를 투여하고, 5분간 방치한 다음 acetylcholine 용액 5 \times 10 $^{-6}$ g/ml를 투여하여, 각 약물을 투여하기 전 acetylcholine 단독투여에 의한 수축고와 비교함으로써 시행하였다. 이완 효과에 대한 positive control로는 atropine sulfate 용액 1 \times 10 $^{-5}$ g/ml를 사용하였다.

8) 통계처리

모든 측정 결과는 mean \pm S.E.M.으로 환산된 후, 약물 처리군의 측정치는 대조군 측정치의 백분율로 나타냈다. 통계처리는 unpaired Student's t-test로 하였으며, p<0.05인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

성 적

1. 일차배양 기관표면 상피세포(HTSE)로부터의 뮤신분비에 미치는 영향

1) 加味治哮喘散(GCHS)은 용량의존적으로 뮤신분비를 증가시키는 것으로 나타났는데, 최종 추출물 20 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도에서, 뮤신분비를 250% 가량 증가시켰다(Fig. 1).

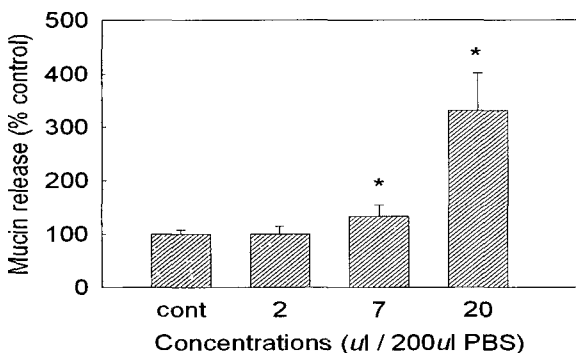


Fig. 1. Effect of GCHG on mucin release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of GCHG extract and the amount of 3H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 4 culture wells. *: significantly different from control(p<0.05).

2) 加味理中湯은 최종 추출물 20 μ l/PBS 200 μ l에서 150 μ l/PBS 200 μ l 사이의 투여 농도에서 뮤신분비에 유의성있는 영향을 발현하지 못하였다(Fig. 2).

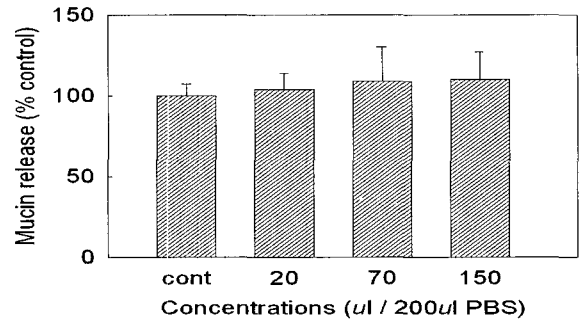


Fig. 2. Effect of GIJT on mucin release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of GIJT extract and the amount of 3H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 4 culture wells. *: significantly different from control(p<0.05).

2. 일차배양 기관표면 상피세포(HTSE)로부터의 LDH분비에 미치는 영향

1) 加味治哮喘散(GCHS)은 최종 추출물 20 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도에서, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비를 경미하게 증가시켰다(Fig. 3).

2) 加味理中湯은 전 투여 농도 범위에서, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비에도 유의성있는 영향을 미치지 못하였다(Fig. 4).

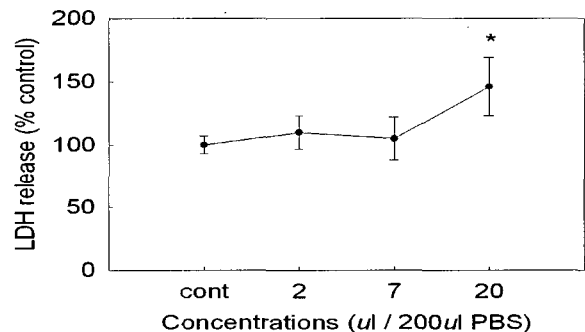


Fig. 3. Effect of GCHG on LDH release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of GCHG extract for 30 min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 4 culture wells. *: significantly different from control(p<0.05).

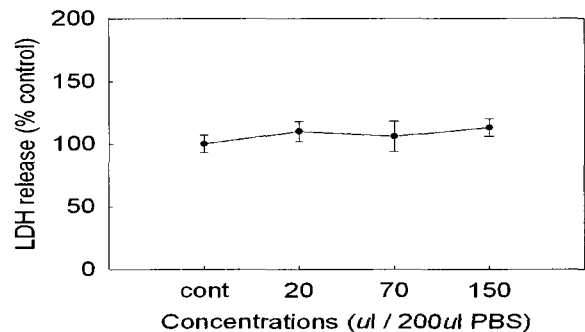


Fig. 4. Effect of GIJT on LDH release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of GIJT extract for 30 min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 4 culture wells.

3. 적출된 가토 기관 평활근의 긴장도에 미치는 영향

1) 加味治哮喘은 최종 추출물 500 μ l/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 가토 적출 기관에서 5 $\times 10^{-6}$ g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성있는 영향을 주지 못하였다(Fig. 5).

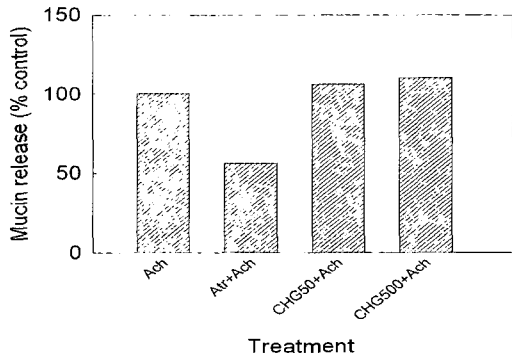


Fig. 5. Effect of GCHG on contractility of isolated tracheal smooth muscle Isolated tracheal smooth muscle of rabbit was prepared and effect of GCHG extract on acetylcholine-induced contraction was measured as described in Materials and Methods. (Ach : acetylcholine, Atr : atropine sulfate)

2) 加味理中湯은 최종 추출물 500 μ l/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 가토 적출 기관에서 5 $\times 10^{-6}$ g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성있는 영향을 주지 못하였다(Fig. 6).

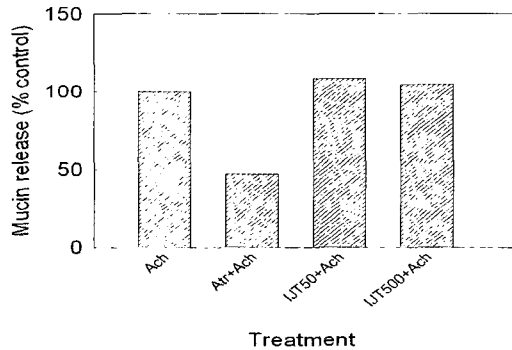


Fig. 6. Effect of GIJT on contractility of isolated tracheal smooth muscle Isolated tracheal smooth muscle of rabbit was prepared and effect of GIJT extract on acetylcholine-induced contraction was measured as described in materials and methods. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 4 independent measurements. (Ach : acetylcholine, Atr : atropine sulfate)

고찰

객담은 타액, 혈청 단백질 삼출물, 박리된 상피세포들과 기도 점액의 혼합물로 구성되어 있는 병리적 물질이며, 기도 병리상태의 한 지표가 될 수 있다.¹⁶⁾ 이와 같이 정상 생리상태 혹은 호흡기 임상에서 경질환 발생시에는 기도 점액의 생체방어적 역할이 요긴하지만, 기도 뮤신의 양 혹은 질의 이상, 예를 들어 천식이나 만성폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease)과 같은 질환발생시 수반되는 극심한 점액 점도 증가 및 점액의 물리화학적 특성 변화에 기인한 점액전(mucus plug)의 형성은, 기도 분비물의 배출을 오히려 방해하며, 침착된 분비물에 의한

기관지 폐쇄, 감염발생시 배농장애 등을 유발한다. 따라서, 기도 점액의 과다분비 혹은 점도의 변화로 큰 고통을 겪게되는 만성 기관지염, 기관지 천식, 낭포성 섬유증과 같은 기도질환 환자에 있어서는 기도점액 분비의 조절이, 질환으로 인한 고통의 경감과, 질환의 치료에 있어 대단히 중요하다.¹⁷⁾ 점액의 보호기능은 주로 점액성 당단백질(mucous glycoprotein)인 뮤신의 물리화학적 성질 때문인데, 뮤신은 분자량 수백만 dalton의 당단백질로 그 탄수화물의 구조에 있어 상당한 다양성을 보인다. 뮤신은 정상 생리상태에서는 적절한 점도(viscosity)가 유지되어 섬모세포의 운반작용에 의해 배출이 용이하게 되어 있어, 기도 및 폐내 이물질 제거, 폐의 순환작용 등의 중요한 기능을 담당하고 있다.¹⁵⁾ 지금까지 기도질환의 임상에서 점액분비 및 조절 이상의 치료에는, 점액성 분비물의 점도를 낮추어 분비물의 배출을 용이하게 하는 방법, 분비물의 배출을 더욱 자극하여 분비물을 용이하게 다량 배출시키려는 방법 등이 시도되어 왔다.^{4,7)}

본 연구의 최종 목표는 한의학적으로 호흡기 질환의 치료에 사용해 왔던 처방들의 호흡기 점액 분비에 대한 객관적 영향을 규명하고자 하는 것이었다. 서양의학적으로 호흡기 뮤신의 분비를 증가시키는 것으로 알려진 물질로는 ATP, TNF-alpha 등의 인체의 염증 진행과정에서 확인되는 내인성 물질¹⁸⁾ 및 염화 암모늄, 요오드화 칼륨, bromhexine, ambroxole 등의 약물이 있으나, 뚜렷한 거담효과를 나타내면서도 임상에서 적절히 활용하기에는 다양한 제한점이 있는 것으로 알려져 있다.⁷⁾

加味治哮喘은 金의 《晴崗醫鑑》⁸⁾에 소개된 처방으로 半夏는 性溫味辛하여 燥濕化痰, 降逆止嘔하는 효능이 있고, 陳皮는 性溫味辛苦하여 理氣, 調中, 燥濕化痰하고, 赤茯苓은 性平味甘淡하여 利水 利濕熱하고, 麻黃은 性溫 味辛微苦하여 發汗散寒, 宣肺平喘, 利水消腫하는 효능이 있다. 蘇葉은 性溫味辛하여 解表散寒, 行氣寬中하는 효능이 있고, 紫菀은 性溫味甘苦하여 潤肺下氣, 化痰止咳 하고 百部根은 性은 微溫 味甘苦하여 潤肺下氣止咳하는 효능이 있다. 貝母는 性寒味苦하여 清熱化痰, 開鬱散結하는 효능이 있다. 杏仁은 性은 微溫 味苦微辛하여 降氣止咳平喘, 潤腸通便하는 효능이 있고, 桑白皮는 性寒味甘하여 瀉肺平喘, 利水消腫하고 桔梗은 性平味苦辛하여 宣肺利咽, 祛痰排膿하는 효능이 있다. 枳殼은 性涼味苦辛하여 破氣行痰消積한다. 附子是 性熱味辛甘하여 回陽補火, 散寒除濕하며, 桂枝는 性溫 味辛甘하여 發汗祛肌, 溫經通脈, 助陽化氣한다. 五味子는 性溫味酸甘하여 斂肺, 滋腎, 生津, 收汗, 澀精의 효능이 있고, 甘草는 性平味甘하여 化中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥의 효능이 있다. 따라서, 半夏, 陳皮는 燥濕化痰하고, 枳殼은 破氣行痰, 蘇葉, 紫菀, 百部根, 貝母, 杏仁은 주로 潤肺止咳, 降氣平喘, 解表하고, 桑白皮, 赤茯苓은 利水消腫, 附子, 桂枝는 散寒除濕, 助陽化氣하고, 五味子는 斂肺生津¹⁹⁾하므로 加味治哮喘은 肺寒한 咳嗽, 喘息 등 증상의 만성폐쇄성폐질환에 응용할 수 있는 처방이다.⁸⁾

加味理中湯은 《創製增方》¹⁰⁾의 처방으로 金銀花는 性寒 味甘하여 清熱解毒, 涼散風熱하고 玄蔘은 性寒 味苦鹹하여 滋陰清熱, 解毒消腸하는 효능이 있고, 白茯苓은 性平味甘淡하여 利水滲濕, 健脾寧心하는 효능이 있으며, 蛇床子는 性溫 味辛苦하여 溫

腎助陽, 祛風燥濕, 殺蟲한다. 人蔘은 性熱 味甘微苦하여 大補元氣, 固脫生津, 安神의 효능이 있고, 附子는 性熱 味辛甘하여 回陽補火, 散寒除濕하며, 乾薑은 性熱 味辛하여 溫中逐寒, 回陽通脈의 효능이 있고 肉桂는 性熱 味辛甘하여 補元陽, 暖脾胃, 除積冷, 通穴脈하고, 甘草는 性平味甘하여 化中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥의 효능이 있다. 加味理中湯은 人蔘, 乾薑, 茯苓, 甘草가 원방으로 이에 白朮을 去하고 金銀花, 玄蔘, 蛇床子, 附子, 肉桂를 가한 처방으로 본래 人蔘, 乾薑은 溫中, 大補元氣하여 中焦를 溫하게 하고, 肉桂, 附子, 蛇床子는 溫腎助陽하여 下焦를 溫하게 하며, 金銀花는 清熱解毒, 玄蔘은 滋陰清熱하여 허냉성 은진, 虛證의 만성 기관지 천식 등에도 응용이 가능하다.¹⁹⁾

본 연구에서, 加味治哮喘散(GCHS)은 용량의존적으로 뮤신분비를 증가시키는 것으로 나타났는데, 최종 추출물 20 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도에서, 뮤신분비를 250% 가량 증가시켰다(Fig.1). 이러한 실험결과, 천식, 만성 기관지염 등의 호흡기 질환시 관찰되는 객담 과다생성 및 분비시 과다 객담의 배출을 돕는 수단으로서의 加味治哮喘散의 약물학적 역할, 다시 말해, 加味治哮喘散이 흉부 압박감 및 호흡곤란 등의 병리적 상황에서 사용되는 처방이라는 한의학적 지견 및 임상적 증거들을 현대과학적으로 뒷받침해 주는 결과라 할 수 있다. 그러나 자세한 기전의 규명을 위해서는 처방 자체 혹은 처방구성 단미약물을 대상으로 한 부가적 연구가 반드시 이루어져야 할 것으로 판단되며, 서양의학적인 시각에서 보면 加味治哮喘散은 완화된 거담제(mild expectorant)로 응용될 수 있을 것으로 판단된다.

한편, 이 방제에 의한 뮤신분비 증가는 세포막 손상에 의한 세포 내용물의 외부 유출 결과일 가능성도 있다. 따라서, 본 연구에서는 세포막 손상의 한 지표인 LDH 활성 측정을 통하여 연구에 사용된 물질들의 잠재적 독성발현 가능성을 검색하고자 하였다. 세포막이 손상되면 세포는 그 완전성과 정상기능을 상실한다. 세포독성 측정시 흔히 이용되는 trypan blue exclusion viability assay는 종종 분리 배양 세포의 생존력을 과대평가하는 경향이 있다^{20,21)}. 그러므로, 세포막 손상 시 분비되는 LDH의 활성 측정을 세포독성 유발여부 측정의 한 방법으로 채택할 수 있을 것이다. 실험결과에서 서술하였듯이, 加味治哮喘散은 최종 추출물 20 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도에서, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비를 경미하게 증가시켰다(Fig.3). 이러한 결과는, 加味治哮喘散이 배양된 기도 상피세포에 대해 미약하나마 세포막 손상을 일으킬 가능성을 시사하는 결과라 해석할 수 있을 것이다. 그러나, 같은 농도에서 뮤신분비의 증가정도는 250% 이상에 해당하는 것으로 보아, 뮤신분비의 증가가 약물에 의한 비특이적인 세포막 손상의 결과로 인한 누출(leakage)이라 판단하는 것은 적절치 않을 것이라 사료된다. 따라서, 세포독성 측정을 위해 사용되는 다양한 방법론을 적용, 추가적인 독성 연구가 필요할 것으로 판단된다. 이러한 연구과정들을 통하여, 그 호흡기 관련 효능을 극대화하면서도 의약품으로서의 이 방제의 안전성을 입증하는 과정이 가능해질 것이라 사료된다.

또 다른 처방인 加味理中湯은 최종 추출물 20 - 150 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도 범위에서, 뮤신분비에 유의성있는 영향을 발

현하지 못하였다(Fig.2). 또한, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비에도 유의성있는 영향을 미치지 못하였다(Fig.4). 이러한 결과는, 加味理中湯이 *in vitro*에서는 호흡기 상피세포에 대해 직접적인 작용을 나타내지 않으며, 뚜렷한 세포독성 역시 발현하지 않음을 시사하는 결과인 것이다. 加味理中湯의 약물 구성으로 보아, 이 방제가 호흡기 상피세포 중 뮤신 분비세포인 배상세포에 대한 직접적인 작용을 나타낼 가능성보다는 인체 혹은 실험동물의 타 기관계에 대한 작용을 통해 간접적으로 호흡기계로 작용을 발현하거나, 혹은 항염증 작용을 통해 호흡기계 염증을 호전시킬 가능성을 추정해 볼 수 있을 것이나 *in vivo* 실험을 통한 구체적인 연구결과를 바탕으로 잠정적 결론을 도출할 수 있을 것으로 판단된다. 또한, 본 연구에서는 加味治哮喘散 및 加味理中湯이 적출된 기도 기관 평활근의 수축도에 미치는 영향을 관찰함으로써, 천식 등의 기관 평활근 수축 상태에서의 두 방제에 의한 기관 평활근 이완 효능을 검증하고자 하였다. 실험결과에서 볼 수 있듯이, 加味治哮喘散 및 加味理中湯 공히, 최종 추출물 50 - 500 μ l/Tyrod solution 50ml의 투여 농도에서, 기도 적출 기관에서 5 $\times 10^6$ g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성있는 영향을 주지 못하였다(Fig.5, Fig.6). 이러한 연구결과는 두 방제가 기관 평활근의 긴장도에 영향을 주지 못함, 즉 직접적인 기관 혹은 기관지 확장효과를 발현하지 못함으로써 항천식 효능은 나타내지 않는 것으로 잠정적인 결론을 내릴 수도 있으나, 확정적인 항천식 효과의 검증을 위해서는 향후 연구시 두 방제가 ovalbumin 또는 *Ascaris* 유래 항원으로 유발된 천식 모델 흰쥐의 기도저항 및 점액의 생성에 미치는 영향 등을 규명하는 과정, 즉 *in vivo*에서의 각 방제의 항천식 활성의 검증 과정이 반드시 수반되어야 할 것으로 사료된다.

羅²²⁾는 小青龍湯은 뮤신 분비를 억제하여 객담량의 증가를 주요증상으로 하는 호흡기 질환에 응용할 수 있고, 加味治哮喘散은 뮤신 분비를 증가시켜 객출곤란을 호소하는 객담을 동반한 호흡기 질환에 응용할 수 있다는 실험적 근거를 제시하였고, 李²³⁾는 清金降火湯과 瓜蒌枳實湯이 뮤신 분비를 증가시켜 점액의 점도가 높아 객담의 배출이 어려운 경우의 호흡기 질환에 응용할 수 있을 것이라고 하였다.

종합하여 보면, 상기의 연구결과들은 加味治哮喘散 의 처방약물, 즉 방제 자체의 *in vivo* 상태에서의 약리작용에 대한 후속연구 및 각 처방의 구성 단미약물들과 뮤신분비 간의 상관성에 관한 추가적 연구의 필요성을 제시하고 있으며, 비록 제한적이기는 하나, 加味治哮喘散의 뮤신분비 증가(촉진)현상 등을 이용하여 새로운 거담약물의 개발 가능성을 제시하고 있다. 후속연구를 통하여 加味治哮喘散 자체 혹은 처방을 구성하는 각 단미약물을 대상으로 한 뮤신분비 증가효능의 재검증을 통하여 궁극적으로는 신약물의 개발에 한 단서를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

결론

加味治哮喘散과 加味理中湯이 일차배양 햄스터 기관표면 상피 세포로부터의 뮤신분비에 미치는 영향, 젖산 탈수소효소(LDH)

활성에 미치는 영향 및 적출된 가토 기관 평활근의 수축도에 미치는 영향을 관찰하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

加味治哮喘은 일차배양 기관표면 상피세포(HTSE)에서의 뮤신분비를 유의성 있게 증가시켰다. 加味理中湯은 일차배양 기관표면 상피세포(HTSE)에서의 뮤신분비에 유의성있는 영향 및 뚜렷한 세포독성을 발현하지 않았다. 加味治哮喘 및 加味理中湯은 가토 적출 기관 평활근의 수축도에는 유의성있는 영향을 주지 못하였다.

상기의 연구결과들은 처방약물 자체의 in vivo 상태에서의 약리작용에 대한 후속연구 및 각 처방의 구성 단미약물들과 뮤신분비 간의 상관성에 관한 추가적 연구의 필요성을 제시하고 있으며, 비록 제한적이기는 하나, 加味治哮喘 등의 뮤신분비 증가현상 등을 이용하여, 새로운 거담약물의 개발 가능성을 제시하고 있다.

참고문헌

- Newhouse, M.T. and Biennenstock, J. : Respiratory tract defense mechanism, In, textbook of pulmonary disease (Baum, G.L. and Wolinsky, E.(eds)), 3rd ed., Little Brown and Company, p.3, 1983.
- Frigas, E., Loegering, D.A., Solley, G.O., Farrow, G.M. and Gleich, G.J. : Elevated levels of the eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with bronchial asthma. Mayo Clin. Proc. 56:345-353. 1981.
- Gleich, G.J. : The eosinophil and bronchial asthma: Current understanding. J. Allergy Clin. Immunol. 85:422-436. 1990.
- Mutschler, E., Derendorf, H. : Drug actions. CRC press, Inc., Boca Raton, Florida:410-411. 1995.
- 金聖勳, 金東熙, 全基石, 宋昊哲 편저: 東醫病理學, 대전, 周民出版社, p.311,411, 1999.
- 강정수: 한의학개론, 대전, 대전대학교 한의과대학, p.85, 174, 1995.
- 上海中醫學院 : 中醫內科學, 香港, 商務印書館, pp.24-25, 1982.
- 金永勳 : 晴崗醫鑑, 서울, 성보사, p.130, 2001.
- 文滌典, 安圭錫, 金聖勳, 嚴賢燮, 池圭鎔, 金楨汜, 朴鍾鉉 공편: 傷寒論精解, 서울, 경희대학교 출판국, pp. 722-723, 2000.
- 申卿熙: 創製增方, 서울, 삼장원, p.542, 1990.
- Kim, K.C. : Possible requirement of collagen gel substratum for production of mucinlike glycoproteins by primary rabbit tracheal epithelial cells in culture. In Vitro. 21:617-621, 1985.
- Kim, K.C. and Brody, J.S. : Gel contraction causes mucin release in primary hamster tracheal epithelial cells growing on a collagen gel. J. Cell. Biol. 105, 158a, 1987.
- Wu, R. and Smith, D. : Continuous multiplication of rabbit tracheal epithelial cells in a defined, hormone-supplemented medium. In Vitro 18:800-812, 1982.
- Wu, R., Nolan, E. and Turner, C. : Expression of tracheal differentiated function in serum-free hormone-supplemented medium. J. Cell Physiol. 125:167-181, 1985.
- 이충재 : 설치류 기관 뮤신 유리 억제에서의 폴리양이온성 작용기전, 서울대학교 대학원, 1997.
- 조미정 : 햄스터 기관표면 상피 일차배양 세포로부터의 뮤신 결합 단백질의 특성 규명, 서울, 서울대학교대학원, p.4, 2000.
- Cross. CEm Vandervliet A, O'Neill CA, Louie S, Halliwell B : Oxidants, antio-xidants, and respiratory tract lining fluids. Environ. Health Perspect. 102:185-191, 1994.
- Kim, K.C., Zheng, Q.X., Van-Seuningen, I. : Involvement of a signal transduction mechanism in ATP-induced mucin release from cultured airway goblet cells. Am. J. Cell Mol. Biol. 8:121-125. 1993.
- 康秉秀 외 : 本草學, 서울, 영림사, pp.121-122, 124-125, 125-126, 198-199, 192-193, 302-303, 331-332, 334-337, 351-352, 347-348, 448-449, 460-461, 463-464, 478-480, 481-482, 484-485, 531-532, 540-541, 576-577, 622-623, 1995.
- Freshny : Measurement of viability and cytotoxicity. In, Culture of animal cells(3rd edn), Willey-Liss, Inc. p.288, 1994.
- Yu, X. Y., Schofield, B. H., Croxton, T., Takahashi, N., Gabrielson, E.W. and Spannake, E.W. : Physiologic modulation of bronchial epithelial cell barrier function by polycationic exposure. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 11:188-198. 1994.
- 羅燾均 : 소청룡탕 및 加味治哮喘이 호흡기 배상세포로부터의 뮤신 분비에 미치는 영향, 대전대학교, 2003.
- 李定垠 : 청금강화탕 및 과루지실탕이 호흡기 배상세포로부터의 뮤신 분비에 미치는 영향, 대전대학교, 2003.