

加味腎氣湯 및 加味淸肺湯이 기도점액 분비 및 기관평활근 긴장도에 미치는 영향

한달수* · 김윤희 · 강탁림¹

대전대학교 한의과대학 소아과학교실, 1: 대전대학교 한의과대학 약리학교실

Effects of Gamisingi-tang and Gamicheongpye-tang on Airway Mucus Secretion

Dal Soo Han*, Yun Hee Kim, Tak Lim Kang¹

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Daejeon University,
1: Department of Pharmacology, Collage of Oriental Medicine, Daejeon University

In the present study, the author intended to investigate whether two oriental medical prescriptions named GSGT and GCPT significantly affect mucin release from cultured hamster tracheal surface epithelial (HTSE) cells. Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of GSGT or GCPT to assess the effect of each agent on 3H-mucin release. Possible cytotoxicities of each agent were assessed by measuring lactate dehydrogenase(LDH) release. Also, the effects of GSGT and GCPT on contractility of isolated tracheal smooth muscle were investigated. (1) GSGT did not affect mucin release without cytotoxicity ; (2) GCPT significantly stimulated mucin release from cultured HTSE cells, with significant cytotoxicity ; (3) GSGT and GCPT did not affect contractility of isolated tracheal smooth muscle. We suggest that the effects of GCPT and its components should be further investigated and it is of great value to find, from oriental medical prescriptions, novel agents which have potent expectorant effects on mucin secretion from airway goblet cells.

Key words : airway, goblet cell, mucin, gami-singi-tang (GSGT) and gami-cheongpye-tang (GCPT)

서 론

호흡기 질환은 소아에서 가장 빈번하게 발생하는데¹⁾, 나이가 어릴수록 미숙한 정도가 현저하여 사소한 병적 상태에도 심한 증상을 나타내고 초기에 회복되지 못하거나 재차로 감수되면 만성적으로 이환하여 만성 호흡기 증상을 초래하게 되어²⁾ 결국 성장발달에까지 영향을 미치게 되므로 조기 치료가 매우 중요하다 할 수 있다.

호흡기 질환에서 나타나는 대표적인 증상 중의 하나인 **咯痰**은 타액, 혈청, 단백질 삼출물, 박리된 상피세포들과 호흡기 점액의 혼합물로 구성되어 있는 병리적 물질이며, 기도 병리 상태의 한 지표가 될 수 있는데³⁾, 점액은 객담의 주요 성분으로 점모세

포와의 협동적 작용을 통해, 인체에 불필요하거나 혹은 유해한 물질의 제거에 있어서 중요한 역할을 한다⁴⁾. 호흡기 점액의 인체 방어 기능은 주로 점액의 구성요소인 뮤신(mucin, 粘液素)의 점성 및 탄성에 기인하며, 이러한 뮤신의 양과 질의 이상은, 기도 생리의 이상 뿐 아니라 인체의 방어작용에 영향을 주어 더 심한 병리 현상을 유발할 수 있다^{5,6)}. 현재, 서양의학 체계에서는 이러한 과다 분비된 점액의 점도 및 분비를 조절하기 위해 bromhexine, ambroxole, S-carboxymethylcysteine 등의 약물이 사용되고 있으나, 그 효능 및 응용 범주에 제한이 있어 적절한 약물치료를 시행하기가 용이하지 않은 실정이다⁷⁾.

加味腎氣湯과 加味淸肺湯은 小兒의 慢性 氣管支炎, 喘息 및 咯痰 過多分泌를 조절할 목적으로 사용되는 處方인데, 加味腎氣湯은 《漢方臨床40年》⁸⁾에記載된 것으로 補陰潤肺, 化痰止咳 하는 效能으로 久嗽, 陰虛嗽 등에 應用하고, 加味淸肺湯은 《晴崗醫鑑》⁹⁾에記載된 것으로 淸肺胃火, 行氣消痰 하는 效能으로 熱嗽

* 교신저자 : 한달수, 충남 천안시 병천면 병천리 병천한의원

· E-mail : hds0295@hanmail.net, · Tel : 041-564-0295

· 접수 : 2006/01/10 · 수정 : 2006/01/31 · 채택 : 2006/02/07

에 주로 應用한다. 비록 두 處方의 韓醫學的 辨證施治는 다르지만 西洋醫學的 側面으로는 모두 호흡기 각담조절을 위한 處方으로 思料되어 실험에 응용하게 되었다.

이에 著者は 加味腎氣湯과 加味淸肺湯의 새로운 호흡기 점액 조절약물로서의 응용 가능성을 검증해 보고자 일차배양된 햄스터 기관표면 상피세포(primary cultured h-amster tracheal surface epithelial cell; HTSE cell)¹⁰⁾에서의 뮤신 생성, 젯산 탈수소효소 활성(LDH activity)에 미치는 효과, 기관 평활근 이완 효과 등을 관찰한 바, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 실험동물

일차배양 기관표면 상피세포를 얻기 위해, 8-10 주령의 음성 Golden Syrian 햄스터를 실험동물 전문 사육업체에서 공급받은 후 사용하였다.

2) 약재

실험에 사용한 약재는 加味腎氣湯(GSGT)⁸⁾과 加味淸肺湯(GCPT)⁹⁾으로 대전대학교 부속 한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며 처방내용과 1첩의 용량은 각각 다음과 같다 (Table 1, 2).

Table 1. Prescription of Gamisingi-tang(GSGT)

構成藥物	生藥名	用量(g)
熟地黃	<i>Rehmanniae Radix Preparat</i>	8.0
山藥	<i>Dioscoreae Rhizoma</i>	6.0
山茱萸	<i>Corni Fructus</i>	6.0
白茯苓	<i>Poria</i>	4.0
牡丹皮	<i>Moutan Cortex</i>	4.0
麥門冬	<i>Liriope Tuber</i>	4.0
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	2.0
貝母	<i>Fritillariae Cirrhosae Bulbus</i>	2.0
杏仁	<i>Armeniaca Arrarum</i>	2.0
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	2.0
澤瀉	<i>Alismatis Rhizoma</i>	2.0
胡桃肉	<i>Juglandis Semen</i>	2.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	12.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	8.0
總量		64.0

3) 시료제조

加味腎氣湯과 加味淸肺湯의 각 방제 한 첩 분량에 600 ~ 800ml의 탈이온 2차 증류수를 가하고 100℃로 가온된 상태에서 3시간 동안 전탕하여, 80ml의 탕액을 수거하였다. 각 탕액을 실온 정도로 방냉한 후, 멸균 청정 후드 내에서 0.22 μ m filter를 이용, 가압 여과하여 멸균용기에 저장한 후, 4℃ 냉장고에 보관하였다.

Table 2. Prescription of Gamicheongpye-tang(GCPT)

構成藥物	生藥名	用量(g)
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	6.0
半夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	2.8
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	2.8
天花粉	<i>Trichosanthis Radix</i>	2.8
靑皮	<i>Citri Reticulatae Viride Pericarpium</i>	2.8
赤茯苓	<i>Poria</i>	2.8
杏仁	<i>Armeniaca Arrarum</i>	2.8
桑白皮	<i>Mori Cortex</i>	2.8
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	2.8
枳殼	<i>Aurantii Fructus</i>	2.0
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	2.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	12.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	8.0
總量		54.4

4) 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(DME), fetal bovine serum(FBS), Medium 199(M199)등은 GIBCO사(U.S.A.)에서, [6-3H] glucosamine(39.2 Ci/mmol)은 New England nuclear사(U.S.A.)에서, type I collagen은 Regenmed사(Seoul, Korea)에서, sodium acetate 등과 기타 일반시약들은 reagent grade 이상의 것들을 구입하여 사용하였으며, 실험에 사용된 물은 탈이온 2차 증류수를 한번 더 탈이온하여 사용하였다.

2. 방법

1) 기관표면 상피세포의 분리 및 배양

햄스터의 기관표면 상피세포 분리와 배양에 적용된 실험방법은 Kim 등¹¹⁻¹³⁾과 Wu 등^{14,15)}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.

2) 뮤신의 대사적 방사능 표지(radiolabeling)

Kim 등¹²⁾의 방법을 이용하였는데, 배양세포 중의 뮤신은, 성숙한 배양세포(24 well plate, 5×10⁵cells/well)에, 10 μ Ci/ml의 [6-3H] glucosamine(39.2 Ci/mmol, New England nuclear)을 함유하는 완전배양액(insulin(5 μ g/ml), transferrin(5 μ g/ml), epidermal growth factor(12.5 μ g/ml), hydrocortisone(0.1 μ M), sodium selenite(0.01 μ M), fetal bovine serum(5%, V/V)(이하 FBS), retinoic acid(0.1 μ M), penicillin G(100 U/ml), streptomycin(100 μ g/ml), gentamicin(50 μ g/ml)이 첨가된

Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DME)과 Medium 199(M199)의 1:1 혼합 배양액을 well당 200 μ l씩 가하고 32 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 배양함으로써 방사선 표지(metabolic radiolabeling)되었다.

3) 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 PBS(Phosphate-Buffered Saline)를 가하고 세척하는 조작을 2회 반복함으로써 배양세포의 잔사 등을 제거한 뒤, 각 약물의 최종 추출물 중 20 μ l, 70 μ l, 150 μ l의 약물을 함유하는 PBS 200 μ l를 well마다 가하고 32 $^{\circ}$ C에서 30분간 배양하였다. 30분의 배양이 끝난 뒤 반응액을 수거하여, treatment sample(이하 T sample)로 정의하였다. 수거된 모든 sample들은 원심분리하여 부유세포 기타 잔사를 제거하고, 50 μ l의 상등액은 젓산탈수소효소 활성측정(LDH activity assay)을 위해 따로 덜어두고 나머지는 방사성 뮤신함량을 측정할 때까지 -70 $^{\circ}$ C에서 냉동저장했다¹²⁾.

4) 뮤신 함량 측정법

Hyaluronidase에 의해 분해되지 않으며, Sepharose CL-4B column으로부터 exclude되는 고분자량의 glycoconjugate를 뮤신으로 정의하였고, Kim 등¹²⁾의 방법에 따라 방사성 뮤신의 함량을 측정하였다.

5) 젓산 탈수소효소 활성 측정(LDH activity assay)

배양세포 중의 뮤신은, 다 자란 배양세포(24 well plate, 5 \times 10⁵ cells/well)에, 10 μ Ci/ml의 [6-3H] glucosamine(39.2 Ci/mmol, New England nuclear)을 함유하는 완전배양액을 well당 200 μ l씩 가하고 32 $^{\circ}$ C에서 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 10~150 μ l의 약물을 함유하는 PBS 200 μ l를 well마다 가하고 32 $^{\circ}$ C에서 30분간 배양하였다. 30분의 배양이 끝난 뒤 반응액(T sample)을 수거하였다. 수거된 모든 sample들은 원심분리하여 부유세포 기타 잔사를 제거하고, 50 μ l의 상등액을 젓산 탈수소효소 활성측정(LDH activity assay)에 사용했다. LDH 활성 측정은 commercial kit(Sigma, LD-L10)을 이용하였다.

6) 적출 기관 평활근에 대한 약물의 영향

체중 250g 정도의 건강한 웅성 흰쥐(SD rat)를 이산화탄소를 이용하여 질식사시킨 후, 즉시 기관 전체를 적출하여 Tyrode 용액으로 세척하고, 주위 조직을 조심스럽게 제거하였다. 기관을 가로 방향으로 절취하여 기관 연골 6개를 포함하는 기관관 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 10-4M을 투

여하여 최고 수축고를 측정한 다음, 세척하고, 15분간 안정화시켰다. 약물에 의한 기관 수축 억제효과(기관 평활근 이완 효과) 측정은, Magnus 장치에 담긴 Tyrode solution 50ml당 각 약물(방제) 추출액(최종 여액) 50~500 μ l를 투여하고, 5분간 방치한 다음 acetylcholine 용액 10-4M를 투여하여, 각 약물을 투여하기 전 acetylcholine 단독투여에 의한 수축고와 비교함으로써 시행하였다. 이완 효과에 대한 positive control로는 atropine sulfate 용액 5 \times 10⁻³M을 사용하였다.

7) 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. 加味腎氣湯(GSGT)이 일차배양 HTSE 세포로부터의 뮤신분비에 미치는 영향

加味腎氣湯은 최종 추출물 20 μ l, 70 μ l, 150 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도에서 뮤신분비에 유의성있는 영향을 발현하지 못하였다(Fig. 1).

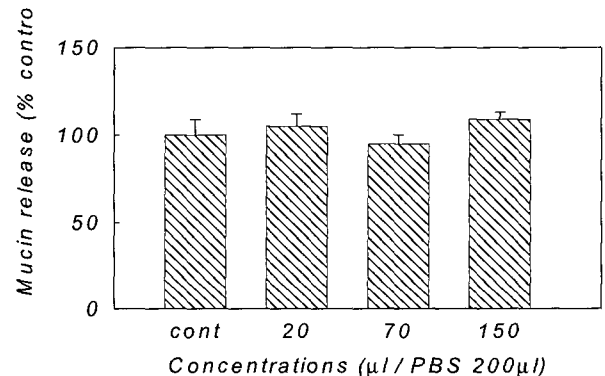


Fig. 1. Effect of GSGT on mucin release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of GSGT extract and the amount of 3H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents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

2. 加味腎氣湯(GSGT)이 일차배양 HTSE 세포로부터의 LDH 분비에 미치는 영향

加味腎氣湯은 20 μ l, 70 μ l, 150 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도 범위에서, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비에 유의성 있는 영향을 미치지 못하였다(Fig. 2).

3. 加味清肺湯(GCPT)이 일차배양 HTSE 세포로부터의 뮤신분비에 미치는 영향

加味清肺湯은 용량 의존적으로 뮤신분비를 증가시키는 것으로 나타났는데, 최종 추출물 10 μ l, 20 μ l, 40 μ l/PBS 200 μ l의 투여 농도에서 대조군에 비하여 뮤신분비를 750~950%가량 유의성있게 증가시켰다(Fig. 3).

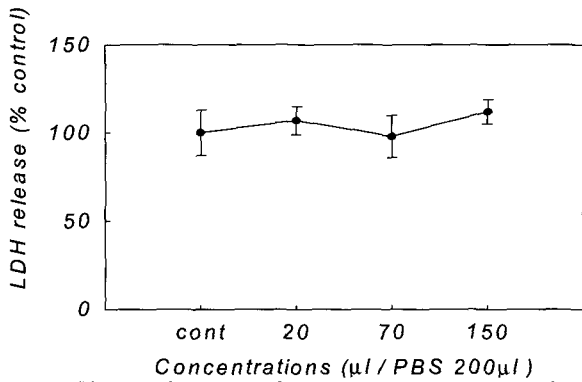


Fig. 2. Effect of GSGT on LDH release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of GSGT extract for 30 min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean±S.E.M. from 4 culture wells.

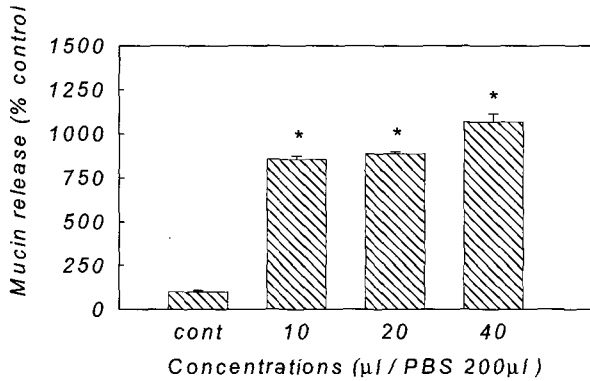


Fig. 3. Effect of GCPT on mucin release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of GCPT extract and the amount of 3H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents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

4. 加味淸肺湯(GCPT)이 일차배양 HTSE 세포로부터의 LDH 분비에 미치는 영향

加味淸肺湯은 최종 추출물 10µl, 20µl, 40µl/PBS 200µl의 투여 농도에서 세포독성의 한 지표인 LDH 분비를 80% 가량 유의성있게 증가시켰다(Fig. 4).

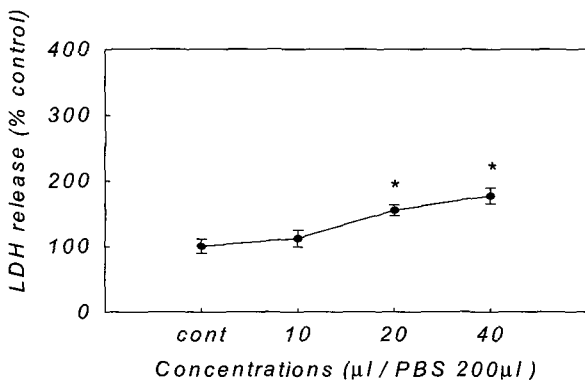


Fig. 4. Effect of GCPT on LDH release from cultured HTSE cells. Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of GCPT extract for 30 min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean±S.E.M. from 4 culture wells. *: significantly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

5. 加味腎氣湯(GSGT) 및 加味淸肺湯(GCPT)이 적출된 흰쥐 기관평활근의 긴장도에 미치는 영향

加味腎氣湯 및 加味淸肺湯 모두 최종 추출물 50µl, 500µl /50ml Tyrode solution의 투여 농도에서, 흰쥐 적출 기관에서 1×10⁻⁴M 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성있는 영향을 주지 못하였다(Fig. 5, Fig. 6).

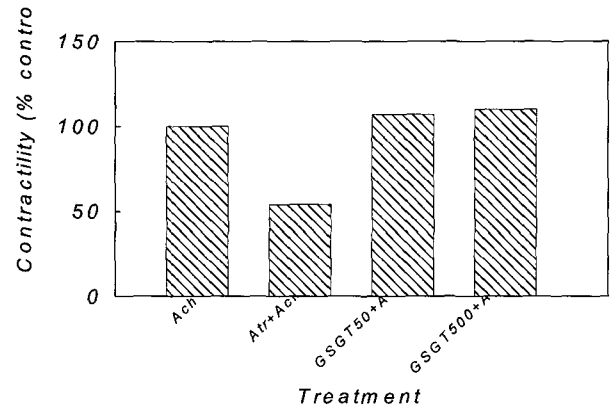


Fig. 5. Effect of GSGT on contractility of isolated tracheal smooth muscle. Isolated tracheal smooth muscle of rat was prepared and effect of GSGT extract on acetylcholine-induced contraction was measured as described in Materials and Methods. (Ach ; acetylcholine, Atr ; atropine sulfate)

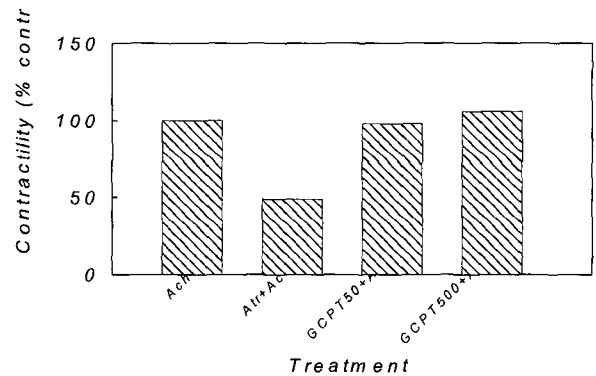


Fig. 6. Effect of GCPT on contractility of isolated tracheal smooth muscle. Isolated tracheal smooth muscle of rat was prepared and effect of GCPT extract on acetylcholine-induced contraction was measured as described in Materials and Methods. (Ach ; acetylcholine, Atr ; atropine sulfate)

고찰

小兒는 生理的으로 臟腑가 橋嫩하고 形氣가 充實하지 못하여 病理的으로 疾病의 罹患과 傳變이 쉬운 특성이 있다¹⁶⁾. 그 중 호흡기 질환이 소아에게 가장 빈번하게 발생하는데 6개월~6세의 소아에게 호발하고 2~3세의 유아에서 많이 볼 수 있으며 주로 겨울과 봄의 기후변화가 심할 때 반복적으로 감염되어 잘 낫지 않는 특징이 있다¹⁾.

호흡기 질환에서 나타나는 대표적인 증상 중의 하나인 咳嗽은 타액, 혈청, 단백질 삼출물, 박리된 상피세포들과 호흡기 점액의 혼합물로 구성되어 있는 병리적 물질이며, 기도 병리 상태의 한 지표가 될 수 있는데³⁾, 객담의 주요 성분인 점액은 섬모세포와의 협동적 작용을 통해, 인체에 불필요하거나 혹은 유해한 물

질의 제거에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 호흡기 점액의 인체 방어 기능은 주로 점액의 구성요소인 뮤신의 점성 및 탄성에 기인하며 이러한 뮤신의 양과 질의 이상은, 기도 생리의 이상 뿐 아니라 인체의 방어작용에 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 주요인임이 알려져 있다^{5,6)}. 따라서 뮤신의 분비조절은 호흡기 질환으로 인한 고통의 경감과 질환의 치료에 있어 대단히 중요하다고 할 수 있다¹⁷⁾.

韓醫學의 咯痰은 痰飲의 範疇에 屬하는데 痰飲이란 體內的 과다한 水分이 어느 한 부분에 停滯된 것으로 疾病의 原因이 될 뿐만 아니라 疾病의 結果로 발생되는 病的 狀態를 말한다. 人體의 體內 津液代謝 過程에서 肺의 通調水道作用, 脾의 運輸水穀精微作用, 腎의 蒸化水液, 分清泌濁作用이 消失되면 津液의 정상적 分布와 排泄에 이상이 생겨 水濕이 모여 痰이 生成된다¹⁸⁾. 《東醫寶鑑》¹⁹⁾에서는 痰病有十이라 하여 “有風痰 寒痰 濕痰 熱痰 燥痰 鬱痰 氣痰 食痰 酒痰 驚痰 痰之原不一, 有因熱而生者, 有因氣而生者 ...” 痰의 原因을 10가지로 분류하고 있는데, 그 中에 咯痰과 비교적 밀접하게 관련된 痰의 종류는 風痰, 寒痰, 濕痰, 熱痰, 燥痰, 鬱痰, 氣痰 등 이다²⁰⁾.

加味腎氣湯은 《漢方臨床40年》⁸⁾에 記載된 것으로 補陰潤肺, 化痰止咳하는 效能으로 久嗽, 陰虛嗽 등에 應用하는데 構成藥物의 效能을 살펴보면 다음과 같다. 熟地黃은 滋陰補血, 益精生髓, 山藥은 補肺固腎, 補陰收澀, 山茱萸는 補益肝腎, 補陰補陽, 白茯苓은 利水滲濕, 健脾, 牡丹皮는 清熱生陰, 麥門冬은 養陰潤肺, 化痰止咳, 陳皮는 定嘔止咳, 除寒發表, 貝母는 潤肺清火, 瀉心火散肺鬱, 杏仁은 瀉肺降氣, 除風散寒, 五味子는 斂肺滋腎, 止咳平喘, 澤瀉는 瀉火腎熱, 胡桃肉은 補腎固精, 溫肺定喘, 生薑은 祛寒發表, 宣肺氣而解鬱, 大棗는 補脾和胃, 益氣生津한다²¹⁾.

加味清肺湯은 《晴崗醫鑑》⁹⁾에 記載된 것으로 清肺胃火, 行氣消痰 하는 效能으로 熱嗽에 應用하는데 構成藥物의 效能을 살펴보면 다음과 같다. 柴胡는 和解退熱, 半夏는 除濕化痰, 發表開鬱, 黃芩은 除濕清火, 瀉肺火, 利胸中氣, 天花粉은 清肺降火, 生津潤燥, 靑皮는 散結消痰, 消積散滯, 赤茯苓은 清利濕熱, 利竅行水, 杏仁은 瀉肺降氣, 除風散寒, 桑白皮는 瀉肺平喘, 利水消腫, 川芎은 活血行氣祛風, 枳殼은 破氣行痰, 行痰喘止, 桔梗은 開宣肺氣, 去痰涎, 甘草는 和中解毒, 散表寒, 生薑은 祛寒發表, 宣肺氣而解鬱, 大棗는 補脾和胃, 益氣生津한다²¹⁾.

이에 저자는 加味腎氣湯과 加味清肺湯이 뮤신의 분비 조절에 미치는 效能을 살펴보고, LDH 활성을 측정하였으며, 기관평활근 이완 효과 등을 측정하였다.

본 연구의 최종 목표는 한의학적으로 호흡기 질환의 치료에 사용해 왔던 처방들의 호흡기 점액 분비에 대한 객관적 영향을 규명하고자 하는 것인데, 서양 의학적으로 호흡기 뮤신의 분비를 증가시키는 것으로 알려진 물질로는 ATP, TNF-alpha 등의 인체의 염증 진행과정에서 확인되는 내인성 물질²²⁾ 및 염화 암모늄, 요오드화 칼륨, bromhexine, ambroxole 등의 약물이 있으나, 뚜

렷한 거담효과를 나타내면서도 임상에서 적절히 활용하기에는 다양한 제한점이 있는 것으로 알려져 있다⁷⁾.

본 연구에서, 加味腎氣湯은 최종 추출물 20 μ l, 70 μ l, 150 μ l /PBS 200 μ l의 투여 농도 범위에서, 뮤신분비에 유의성있는 영향을 발현하지 못하였다(Fig. 1). 또한, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비^{23,24)}에도 유의성있는 영향을 미치지 못하였다(Fig. 2). 이러한 결과는, 加味腎氣湯이 in vitro에서는 호흡기 상피세포에 대해 직접적인 작용을 나타내지 않으며, 뚜렷한 세포독성 역시 발현하지 않음을 시사하는 결과인 것이다. 그러므로 加味腎氣湯의 약물 구성으로 보아, 이 方劑가 호흡기 상피세포 중 뮤신 분비세포인 배상세포에 대한 직접적인 작용을 나타낼 가능성보다는, 인체 혹은 실험동물의 타 기관계에 대한 작용을 통한 간접적인 호흡기계 작용 발현 기전을 경유함으로써 호흡기 질환 치료 작용을 나타낼 가능성을 제기할 수 있을 것이며, 나아가 in vivo 실험을 통한 구체적 연구결과를 바탕으로 결론을 도출할 수 있을 것이라 사료된다.

두 번째 처방인 加味清肺湯은 용량 의존적으로 뮤신분비를 다량 증가시키는 것으로 나타났는데, 최종 추출물 10 μ l, 20 μ l, 40 μ l /PBS 200 μ l의 투여 농도에서, 뮤신분비를 750-950% 가량 증가시켰다(Fig. 3). 이러한 실험결과는, 천식, 만성 기관지염 등의 호흡기 질환 시 관찰되는 객담 과다생성 및 분비 시 과다 객담의 배출을 돕는 수단으로서의 加味清肺湯의 약물학적 역할, 다시 말해, 加味清肺湯의 한의학적 응용 범주 및 임상적 증거들을 현대 과학적으로 해석해 주는 결과라 할 수 있다. 이 처방은 鎮咳, 祛痰, 消腫, 排膿 效能을 발현할 가능성이 있는 다수의 약물들을 함유하고 있어서, 대량의 뮤신분비 증가현상이 발현된 것으로 추정할 수 있다. 그러나, 자세한 기전의 규명을 위해서는 處方 자체 혹은 處方構成 單味 藥物을 대상으로 한 부가적 연구가 이루어져야 할 것으로 판단되며, 서양의학적인 시각에서 볼 때는 加味清肺湯이 효과적인 祛痰劑(expectorant)로 응용될 수 있을 것으로 판단된다.

한편, 이 方劑에 의한 뮤신분비 증가는 세포막 손상에 의한 세포 내용물의 외부 유출 결과일 가능성이 있다. 따라서, 본 연구에서는 세포막 손상의 한 지표인 LDH 활성 측정을 통하여 연구에 사용된 물질들의 독성발현 가능성을 검증하고자 하였다. 세포막이 손상되면 세포는 그 완전성과 정상기능을 상실한다. 그러므로, 세포막 손상 시 분비되는 LDH의 활성 측정을 세포독성 유발 여부 측정의 한 방법으로 채택할 수 있다. 加味清肺湯은 최종 추출물 20-40 μ l /PBS 200 μ l의 투여 농도에서, LDH 분비를 50-80% 가량 증가시켰다(Fig. 4). 이러한 결과는, 加味清肺湯이 배양된 기도 상피세포에 대해 세포막 손상을 일으킬 가능성을 시사하는 결과로 볼 수 있을 것이다. 그러나, 같은 농도에서 뮤신분비의 증가 정도는 750% 이상에 해당하는 것으로 보아, 뮤신분비의 증가가 단순히 약물에 의한 비특이적인 세포막 손상의 결과로 인한 누출(leakage)에 기인한 것으로 단정하는 것은 적절치 않을 것이라 사료된다. 따라서, 세포독성 측정을 위해 사용되는 다양한 방법론을 적용, 추가적인 독성 연구를 시행함으로써, 호흡기 질환 치료 효능을 극대화하면서도 방제의 안전성을 입증하는 과정이

가능해질 것이라 사료된다.

또한, 본 연구에서는 加味腎氣湯 및 加味清肺湯이 적출된 흰 쥐 기관 평활근의 수축도에 미치는 영향을 검증함으로써, 천식 등의 기관 평활근 수축 상태에서의 두 방제에 의한 기관 평활근 이완 효능을 검증하고자 하였다. 실험결과에서 볼 수 있듯이, 加味腎氣湯 및 加味清肺湯 모두, 최종 추출물 50~500 μ l/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 흰쥐 적출 기관에서 1 \times 10⁻⁴M 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성있는 영향을 주지 못하였다(Fig. 5, Fig. 6). 이러한 연구결과는 두 방제가 기관 평활근의 긴장도에는 영향을 주지 못하고, 직접적인 기관 혹은 기관지 확장효과를 발현하지 못함으로써 항 천식 효능은 나타내지 않음을 의미할 수도 있는데, 확정적인 항 천식 효과의 검증을 위해서는, 두 방제가 ovalbumin 또는 Ascaris 유래 항원으로 유발된 천식 모델 흰쥐의 기도저항 및 점액의 생성에 미치는 영향 등을 규명하는 과정, 즉 in vivo에서의 각 방제의 항 천식 활성의 검증 과정이 반드시 수반되어야 할 것으로 사료된다.

종합하여 보면, 상기의 연구결과들은 in vivo 상태에서의 약리작용에 대한 후속연구 및 각 처방의 구성 단위 약물들과 유신분비 간의 상관성에 관한 추가적 연구의 필요성을 제시하고 있으며, 비록 제한적이기는 하나, 加味清肺湯의 유신분비 증가현상을 이용하여, 새로운 효과적인 거담약물의 개발 가능성을 제시하고 있다.

결 론

加味腎氣湯과 加味清肺湯의 효능을 규명하기 위하여 일차배양된 햄스터 기관표면 상피세포에서 유신 함량 및 젓산 탈수소 효소 활성 측정 그리고, 기관 평활근 이완 효과 등을 측정하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

加味腎氣湯은 호흡기 배상세포에서의 유신분비에 영향을 주지 않았으며 세포독성을 발현하지 않았다. 加味清肺湯은 호흡기 배상세포에서 유신분비를 유의성 있게 증가시켰으며, 세포독성을 나타냈다. 加味腎氣湯 및 加味清肺湯 흰쥐 적출 기관 평활근의 수축도에 유의성있는 영향을 나타내지 않았다.

上記의 연구결과들은 處方藥物 자체의 in vivo 상태에서의 약리작용에 대한 후속연구 및 각 處方の 構成 單味藥物들과 유신분비 간의 상관성에 관한 추가적 연구의 필요성을 제시하고 있으며, 제한적이기는 하나, 加味清肺湯의 유신분비 증가현상은 새롭고 효과적인 거담약물의 개발 가능성을 제시하고 있다.

참고문헌

- 江育仁, 張奇文. 實用中醫兒科學. 上海: 上海科學技術出版社. 455461, 1995.
- 강미선, 김장현. 소아만성 재발성 호흡기 증상에 대한 고찰. 대한한방 소아과학회지. 16(2):84, 2002.
- 이충재. 설치류 기관 유신유리 억제에서의 폴리양이온성 작용기전. 서울: 서울대학교대학원. 1997
- Newhouse, M.T. and Biennenstock, J. Respiratory tract defense mechanism. In, textbook of pulmonary disease (Baum, G.L. and Wolinsky, E.(eds)), 3rd ed., Boston/Toronto, Little Brown and Company. 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(6):345-353, 1981.
- Gleich, G.J. The eosinophil and bronchial asthma: Current understanding. J. Allergy Clin. Immunol. 85(2):422-436, 1990.
- Mutschler, E. and Derendorf, H. Drug actions. CRC press, Inc. Boca Raton. Florida. 410-411, 1995.
- 朴炳昆. 漢方臨床 40年. 서울: 大光文化社. 586, 1993.
- 金永勳. 晴崗醫鑑. 서울: 成輔社. 448, 1995.
- Kim, K.C., Opaskar-Hincman, H. and Bhaskar, K.R. Secretions from primary hamster tracheal surface epithelial cells in culture. Mucin-like glycoproteins. proteoglycans and lipids. Exp. Lung Res. 15:299-314, 1989.
- 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(11):617-621, 1985.
- Kim, K.C., Rearick, J.I., Nettesheim, P., and Jetten, A.M. Biochemical characterization of mucous glycoproteins synthesized and secreted by hamster tracheal epithelial cells in primary culture. J. Biol. Chem. 260(7):4021-4027, 1985.
- Kim, K.C., 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(9):800-881, 1982.
- Wu, R., Nolan, E. and Turner, C. Expression of tracheal differentiated function in serum-free hormone-supplemented medium. J. Cell Physiol. 125(2):167-181, 1985.
- 김덕곤 외. 東醫小兒科學. 서울: 정담출판사. 28-30, 2002.
- Cross, C.E., Vandervliet, A., O'Neill, C.A., Louie, S., Halliwell, B. Oxidants, antio-xidants, and respiratory tract lining fluids. Environ. Health Perspect. 102(10):185-191, 1994.
- 上海中醫學院. 中醫內科學. 香港: 商務印書館. 24-25, 1982.
- 許 浚. 東醫實鑑. 서울: 法人文化社. pp 277, 280-281, 1235-1236, 1999.
- 전국한의과대학폐계내과학교실. 동의폐계내과학. 서울: 한문회사. pp 52-55, 102-114, 144-199, 2002.
- 全國韓醫科大學本草學教授 共編著. 本草學. 서울: 永林社. pp 136, 149, 165, 178, 193, 302, 305, 347, 349, 351, 409, 448, 460, 463, 478, 484, 537, 540, 542, 580-581, 588-589, 622, 626, 1995.
- Kim, K.C., Zheng, Q.X. and 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.
23. Freshny. Measurement of viability and cytotoxicity. In, *Culture of animal cells* (3rd edn), Willey-Liss, Inc. 288, 1994.
24. Yu, X.-Y., Schofield, B.H., Croxton, T., Takahashi, N., Gabrielson, E.W. and Spannhake, E.W. Physiologic modulation of bronchial epithelial cell barrier function by polycationic exposure. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 11:188-198, 1994.