

맥문동탕이 호흡기 점액의 생성 및 분비에 미치는 영향

성현경 · 민상연 · 김장현

동국대학교 한의과대학 소아과학교실

Abstract

Effect of Macmundongtang on Production and Secretion of Respiratory Mucus

Sung Hyun Kyung · Min Sang Yeon · Kim Jang Hyun

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Objectives

In this study, effects of Macmundongtang (MMT) on ATP or TNF- α or PMA or EGF induced MUC5AC mucin production and gene expression from human airway epithelial cells and the increase in airway epithelial mucosubstances of rats were investigated.

Materials and Methods

Confluent NCI-H292 cells were pretreated for 30min in the presence of MMT and treated with ATP (200 μ M) or PMA (10 ng/ml) or EGF (25 ng/ml) or TNF- α (0.2 nM) for 24hrs, to assess the effect of MMT both on ATP- or PMA- or EGF- or TNF- α -induced MUC5AC mucin production using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and on gene expression by the same inducers using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). At the same time, hypersecretion of airway mucus was induced by exposure of rats to SO₂ during 3 weeks. Effect of orally-administered MMT during 2 weeks on increase in airway epithelial mucosubstances from tracheal goblet cells of rats was assessed using histopathological analysis after staining the epithelial tissue with PAS-alcian blue. Possible cytotoxicity of MMT was assessed by investigating the potential damage of kidney and liver functions by measuring serum GOT/GPT activities and serum BUN concentration of rats and the body weight gain during experiment, after administering MMT orally.

Results

- (1) MMT did not only inhibit but also increased MUC5AC mucin productions and expression levels of MUC5AC gene from NCI-H292 cells.
- (2) MMT did not decrease the amount of intraepithelial mucosubstances of trachea of rats.
- (3) MMT did not show renal and hepatic toxicities and did not affect body weight gain of rats during experiment.

Conclusions

The result from the present study suggests that MMT might normalize the production and gene expression of airway mucin observed in various respiratory diseases accompanied by yin-deficiency, without in vivo toxicity to liver and kidney functions after oral administration.

Key words : Macmundongtang (MMT), Mucus secretion, Mucin

I. Introduction

소아는 肺常不足하여 肺의 宣降기능이 장애를 받아 氣機가 不利하여 津液이 쌓여 기도를 막는 痰을 형성하는 경우가 많으며¹⁾, 기도가 좁아 폐쇄성 질환을 쉽게 자주 일으키고 면역기능이 미성숙하여 기도질환이 잘 발생 한다²⁾.

기도질환을 일으키는 주요 원인 중 하나인 객담 혹은 점액 (mucus)은 당단백질, 수분, 전해질, 지질로 구성되어 기도 내 배상세포 및 점막 하 분비선 등에서 생성된 후 점막에 도포되며³⁾, 뮤신 (mucin)은 점액성 당단백질 (mucous glycoprotein)로 점액에 점탄성(viscoelasticity)을 부여하는 중요한 구성 요소이며 기도 내강에서 상피세포층을 이루고 있는 섬모세포와의 작용을 통해 인체에 유해한 요소들의 제거에 있어서 중요한 역할을 한다⁴⁾. 그러나 정상상태에서는 뮤신이 기도의 방어 작용을 하지만, 양과 질에 이상이 생기면 호흡기 생리 및 방어 작용에 영향을 주어 병리적 요소로 작용하여 질환 악화의 주요한 원인이 된다⁵⁾. 현재 기도 점액의 분비를 조절하기 위한 다양한 신약이 개발되어 사용되고 있으나, 다양한 부작용이 있어 실제 임상에서 적용하기에는 부족한 실정이다⁴⁾.

麥門冬湯은 《金匱要略》⁶⁾에 처음 기재된 처방으로 《東醫寶鑑》⁷⁾, 《方藥合編》⁸⁾에도 수록되어 肺陰不足과 肺痿에 사용되며 肺胃陰虛로 虛火上炎하여 肺陰을 灼傷하여 肺의 肅降機能이 失調되어 氣機上逆한 병증을 치료하는 方劑로 肺胃滋養, 和胃降逆하여 痰涎을 化하는 작용을 한다⁹⁾. 麥門冬湯의 작용과 효과에 관한 연구로는 T림프구, IFN- γ 의 분비촉진을 통한 면역조절능력¹⁰⁾과 천식발병과 관계된 cytokine, 호산구, IgE 등의 분비에 미치는 효과 등이 보고되었으나¹¹⁻¹³⁾, 뮤신분비에 미치는 영향에 대한 연구는 찾아보기 어려웠으며, 현재까지 기도점액과 뮤신분비에 미치는 영향을 연구하기 위해 다양한 처방이 응용되었으나 주로 發散風寒, 祛痰, 補肺, 清熱作用이 있는 方劑 위주였으며 補陰작용이 있으며 臨床에 頻用되는 麥門冬湯에 대한 연구는 아직 이뤄지지 않았다.

이에 저자는 麥門冬湯이 기도 점액의 과다 분비 및 이와 연관된 기도 뮤신의 생성 및 유전자 발현에 어떠한 작용을 발현할 수 있는지 알아보기 위하여, in vitro의 수준에서 인체 기도 상피세포인 NCI-H292에서 기도 뮤신인 MUC5AC 뮤신의 생성에 대한 麥門冬湯의 영향과 기도 뮤신 유전자인 MUC5AC mRNA의 발현을

관찰하고 in vivo 수준에서 기도 점액 과다분비 흰쥐 모델에서 상피 배상세포 내의 점액 함유량에 대한 麥門冬湯의 영향을 관찰하고, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. Materials and methods

1. 재료

- 1) 배양세포- NCI-H292 세포는 American Type Culture Collection사 (Manassas, VA, U.S.A.)에서 구입하여 실험에 사용하였다.
- 2) 동물- 5주령의 체중 200g 내외의 Sprague-Dawley (SD)계 雄性 흰쥐 (대한바이오링크 (주), Kyung-gi, Korea)를 구입하고, 3~4일간 실험실 환경에서 순화시킨 후 실험에 사용하였다.
- 3) 약제- 麥門冬湯 (MMT)의 구성 약물은 《東醫寶鑑》⁷⁾에 준하여 동국대학교 부속 한방병원 약제실에서 공급받아 사용하였다. 한 첩당 처방의 내용과 용량은 다음과 같다.
- 4) 약물 제조- 麥門冬湯 한 첩 분량에 증량의 10배 용량의 탈이온 2차 증류수를 가하고 100 °C로 가열된 상태에서 3시간 동안 전탕하여, 최종 100 ml의 탱액을 수거하였다. 탱액을 실온 정도로 식게 한 후, 클린 벤치 안에서 0.22 μ m filter를 이용하여 가압 여과하고 멸균용기에 저장하여 4 °C 조건에서 보관하였다.
- 5) 시약- Mouse anti-MUC5AC clone 45M1은 NeoMarkers사 (Freemont, CA, U.S.A.)에서, adenosine triphosphate (ATP), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), epidermal growth factor (EGF), Phorbol 12-Myristate 13-Acetate (PMA), ethidium bromide, trypsin-EDTA, formaldehyde, alcian blue, periodic acid-schiff (PAS), Tween 20, bovine serum albumin (BSA), HEPES, dimethyl sulfoxide (DMSO), diethylpyrocarbonate (DEPC), 3,3',5,5'- tetramethyl- benzidine peroxide solution (TMB), Trizma base, NP-40, EDTA, EGTA 등은 Sigma사 (St. Louis, Mo., U.S.A.)에서, Easy-Blue RNA extraction kit는 INTRON biotechnology사 (Kyung-gi, Korea)에서, Accuprep RT premix kit와 Accuprep PCR premix kit는 Bioneer사 (Daejeon, Korea)에서, Protease in-

hibitor cocktail은 Roche사 (Indianapolis, IN, U.S.A.)에서, penicillin-G, streptomycin, fetal bovine serum (FBS), RPMI 1640은 GIBCO-BRL사 (Grand Island, New York, U.S.A.)에서, 기타 모든 시약은 일급시약 등급 이상의 제품을 구입하여 사용하였으며 물은 탈이온 2차 증류수를 사용하였다.

2. 방법

1) NCI-H292 세포 배양 및 MMT의 처리

24시간의 약물 처리 기간 동안, 약물이 인체 기도 상피세포인 NCI-H292 세포 내에 존재하는 MUC5AC 뮤신의 생성 및 유전자 (mRNA)의 발현에 미치는 영향을 검증하기 위하여 NCI-H292 세포를 다음과 같은 방법으로 배양하였다. 세포는 습도가 충분히 유지되며 95% 공기, 5% CO₂를 함유하는 37 °C 조건에서 HEPES (25 mM), penicillin G (100 U/ml), streptomycin (100 µg/ml), FBS (10%, V/V)등이 첨가된 RPMI 1640 배양액 (이하 배양액)에서 배양되며 1주에 2회의 빈도로 subculture 하였다. 뮤신 생성 및 그 유전자 발현에 대한 MMT의 작용을 검증하기 위하여 뮤신 생성량 검증을 위해서는 24 well culture plate를 기준으로 well 당 2.0 x 10⁴ cells/well의 밀도로, 뮤신 유전자 발현 정도의 검증을 위해서는 6 well culture plate를 기준으로 well 당 5.0 x 10⁴ cells/well의 밀도로 각각 세포를 도포하고 배양하였다. 세포가 다 자라면 FBS의 농도를 0.2%로 감소시킨 배양액을 주고 24시간 동안 배양하고, 이후 serum을 첨가하지 않은 배양액 (serum-free medium)으로 세포를 세척하였다. 이렇게 준비된 세포에 약물 추출물 각각 2, 5, 10 µl씩을 함유하는 배양액 200 µl를 well (24 well plate 기준)마다 가하고 30분이 지난 시점에 ATP 200 µM, 또는 TNF-α 0.2 nM, 또는 PMA 10 ng/ml, 또는 EGF 25 ng/ml을 각 well마다 투여한 후 37 °C에서 24시

간동안 배양하였다.

2) NCI-H292 세포에서의 MUC5AC 뮤신 생성량 측정

24시간의 배양이 종료된 시점에 세포 용해용 완충액 (20 mM Tris, 0.5% NP-40, 250 mM NaCl, 3 mM EDTA, 3 mM EGTA, protease inhibitor cocktail)을 가하여 세포 내에 존재하는 MUC5AC 뮤신을 추출한 후 이후의 실험에 사용하였다. 즉, 수거된 세포 용해 추출액 (cell lysate)을 PBS로 1/10배 희석하고 희석된 각 sample을 ELISA 전용의 96-well plate에 각각 100 µl씩 분포시킨 후 완전히 건조될 때까지 42 °C 조건에서 incubation 하였다. 그 후 PBS-Tween 20 (0.05%, PBS-T) 용액 200 µl/well을 이용하여 각 well 당 3회씩 세척하였다. 세척 후 PBS-T에 용해된 2% BSA 용액 200µl를 각 well당 가하고 다시 1시간 동안 incubation하였다. 1시간 후 PBS-T 200µl로 3회 세척하고 MUC5AC에 대한 monoclonal antibody인 mouse anti-MUC5AC clone 45M1을 2% BSA에 1: 200의 비율로 희석한 후에 각 well당 100 µl씩 첨가하고 1시간 동안 incubation하였다. 1시간 후 PBS-T로 3회 세척하고, 2차 항체인 Horse radish peroxidase (HRP)-Goat Anti-Mouse IgG Conjugate를 2% BSA에 1: 3,000의 비율로 희석한 후 각 well당 100 µl씩 첨가하고 1시간 동안 incubation하였다. PBS-T로 다시 3회 세척 후, 3,3',5,5'- tetramethyl-benzidine peroxide (TMB) 용액 100 µl를 각 well에 첨가하고, 5분 후 1N H₂SO₄ 50 µl를 첨가, 반응을 정지시켰다. 450 nm에서 각 well의 흡광도를 Shao¹⁴⁾, Song¹⁵⁾의 연구에서 사용된 방법에 준해서 측정함으로써 대조군과 약물 처리군 간의 MUC5AC 함량을 측정, 비교하였다.

3) NCI-H292 세포 내에 존재하는 total RNA의 분리

24시간 동안 약물 처리한 세포를 냉각된 PBS로 2회

Table 1. The Contents of Macmundongtang (MMT)

Herbs	Scientific Name	Dose (g)
麥門冬	OPHIOPOGONIS RADIX	15.0
半夏(薑半夏)	PINELLIAE PRAEPARATUM CUM ZINGIBERIS	10.0
粳米	ORYZAE SEMEN	10.0
人蔘	GINSENG RADIX	4.0
甘草	GLYCYRRHIZAE RADIX	4.0
大棗	ZIZYPHI INERMIS FRUCTUS	6.0
Total amount		49.0

세척하였다. 세포에 trypsin-EDTA 용액을 처리하여 배양 용기 바닥으로부터 분리하고, 세포들의 혼합물을 1.5 ml 용량의 microtube에 옮겨 원심 분리함으로써 세포들만 수거하였다. 이어서, total RNA를 분리하고자 Easy-Blue RNA extraction kit (total RNA isolation reagent)를 이용해 (0.5 ml/4x10⁵ cells) 세포를 lysis시키고, 상온에서 5분간 방치하였다. 5분 후 즉시, microtube에 chloroform을 첨가, 15초간 vortexing하고 상온에 2-3분간 방치한 후 4 °C, 13,000 rpm (Hanil centrifuge, MICRO 17 R)에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 400 µl를 새 microtube에 옮겼다. 상층액에 동량의 isopropyl alcohol을 첨가하여 잘 혼합한 후 상온에서 10분간 방치하고 다시 4 °C, 13,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었다. 이 침전물에 diethylpyrocarbonate (DEPC)가 함유된 75% ethanol을 가하고 4 °C, 10,000 rpm에서 10분간 원심 분리함으로써 세척하였다. 수거된 RNA 침전물을 5분간 대기 중에서 건조시킨 후, 20 µl의 RNase-free water로 부유시키고, UV-spectrophotometer를 사용하여 260 nm 파장에서 흡광도를 측정함으로써 RNA의 농도를 측정 후 실험에 사용하였다¹⁶⁾. (1.0A₂₆₀=single strand RNA 40 µg/ml)

4) PCR (Polymerase Chain Reaction)을 위한 primer 제조

PCR에 사용된 primer는 전문 제조회사인 Genotec(주) (Daejeon, Korea)에 주문, 합성하였다. NCI-H292 세포에서의 human MUC5AC 유전자 합성을 위해 사용한 sense primer의 염기서열은 5'-TGA TCA TCC AGC AGC AGG GCT-3', antisense primer의 염기서열은 5'-CCG AGC TCA GAG GAC ATA TGG G-3'이며, β -actin 유전자 합성을 위해 사용한 sense primer의 염기서열은 5'-TAC AAC GAG CTG CGT GTG GCC-3' 이고, antisense primer는 5'-CAA CGG AAC CGC CTC GTT GC-3' 였다. RNA의 역전사 반응 및 증합효소 연쇄반응 (RT-PCR)으로 얻은 total RNA를 이용하여 역전사 반응 (Reverse Transcription)으로 cDNA를 만들고 이를 증합효소 연쇄반응 (PCR)으로 증폭시켰다. 즉, 얻어진 total RNA 1 µg을 75 °C에서 5분간 가열함으로써 denaturation시키고, 이를 얼음에 담가 급냉시킨 후 RT premix kit의 사용자 설명서에 따라 역전사 반응을 진행시켰다. MUC5AC 유전자에 대한 PCR은, 각각의 역전사 반응에서 얻은 cDNA 산물 2 µl를 PCR premix kit의 사용자 설명서에 따라 진행시켰다. 증폭반응을 위하여, PCR을 40회 실시 (PCR thermal cy-

cler, Takara MP-300, Japan)하였으며, denaturation은 94 °C에서 30초, annealing은 60 °C에서 30초, extension은 72 °C에서 30초간 각각 시행하였다.

5) 전기영동에 의한 증합효소 연쇄반응 산물의 확인

RNA의 역전사 반응 및 증합효소 연쇄반응으로 증폭된 cDNA 산물들을 전기영동으로 분리함으로써 MUC5AC 유전자 발현 변동여부를 관찰하였다. 즉, 증폭된 PCR 산물 10 µl를 10×gel loading buffer (0.25% bromphenol blue, 0.25% xylene cyanol FF, 50% glycerol)와 잘 혼합한 다음, Tris-acetate-EDTA buffer (40 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA)용액 및 1 µg/ml의 ethidium bromide가 포함된 1.0% agarose gel에서 전기 영동하였다. Gel 상에서 이동된 각각의 DNA band는 자외선 투사기 (ultraviolet transilluminator)를 이용하여 관찰하고, 사진 촬영하였다.

6) 기도 점액 과다분비 동물모델의 작성 (in vivo SO₂ 유발 모델)

직육면체 상자 (200 cm × 60 cm × 30 cm, 아크릴 수지)의 가로면에 실험동물이 출입할 수 있도록 출입문을 만들고 좌우 양 세로면의 중심부에 구멍을 만든 후 폴리에틸렌 소재의 관 (管)을 부착시켰다. 한쪽 관은 이산화황 (sulfur dioxide, SO₂)이 발생하는 초음파 가습기의 분무구에 연결시키고 반대쪽 관은 배기 장치에 연결하였다. 이산화황 노출방법은 Pon 등¹⁷⁾이 보고한 방법을 개량하여 사용하였다. 15% (V/V) Sodium metabisulfite (MBS) 수용액을 초음파 가습기에 주입하고 가습기를 작동시켰다. 작동 후 3분 이내에 MBS의 증기가 충분했고 작동 종료 시까지 실험장치 내부의 이산화황 농도는 130 - 150 ppm으로 유지되었다. 동물을 대조군 (무처치군), 이산화황 3주 처리군, 이산화황 1주 처리 후 최종 2주간 이산화황 처리 및 麥門冬湯 동시 투여 군으로 무작위 배정하고, 각 군당 동물 수는 5마리 이상으로 하였다. 노출 기간은 1일 3시간, 1주일에 5일, 3주간이었다. 대조군은 실험장치가 설치된 동일한 실내에 전 실험기간 동안 1일 3시간의 이산화황 노출 및 麥門冬湯 처리 과정만 제외하고 노출군과 동일한 조건으로 사육하였다¹⁸⁾.

7) 점액 과다분비 모델 흰쥐에 MMT의 경구투여

이산화황 1주 처리 후 최종 2주간 이산화황 처리 및 麥門冬湯 동시투여 군에 배정된 실험동물을 대상으로,

체중 70 kg 성인이 복용하는 麥門冬湯의 용량을 기준으로 환산된 체중 350 g의 흰쥐에의 투여용량인 麥門冬湯 추출물 2 ml를 경구투여용 주사바늘을 이용하여 투여하였다. 즉, 총 3주간의 이산화황 노출 기간 중 마지막 2주간 (총10일) 매일 1회 麥門冬湯을 투여하였는데 麥門冬湯 투여는 오전 10시에서 11시 사이에, 이산화황 노출은 오후 1시에서 4시까지, 각각 실시하였다.

8) MMT가 흰쥐의 기도 배상세포 내 점액 함유량에 미치는 영향

MMT가 흰쥐의 기도 배상세포 내 점액 함유량에 미치는 영향을 측정하기 위하여 기관내강 상피세포층에 대한 병리조직학적 검사를 실시하였다. 3주간의 이산화황 노출 기간이 종료된 후 각 군에 소속된 해당 실험 동물을 이산화탄소로 질식사시킨 후 기관을 절개하고 분리한 후 냉각된 10% formalin in PBS (pH 7.2)에 넣어 24시간동안 고정하였다. 고정한 조직을 파라핀으로 포매(embedding)하였다. Microtome을 이용하여 5 μm 두께로 잘라 조직절편을 제작하였다. 탈파라핀 과정을 거치고 Hematoxylin-eosin 염색과 Periodic Acid Schiff (PAS) - Alcian Blue (pH 2.5) 염색을 실시한 후 광학 현미경 하에서 관찰하고 200배 배율에서 사진 촬영하였다. 대조군, 이산화황 처리군, MMT 처리군의 배상세포 내 점액 함유량을 비교함으로써 MMT가 배상세포 내 점액 함유 상태에 미치는 영향을 관찰하였다^{19,20)}.

9) MMT의 경구투여 후 흰쥐의 체중 변화에 미치는 영향

투여된 MMT의 생체 안전성을 검증하기 위한 하나의 지표로서 MMT 투여 기간을 포함하여 전 실험 기간 중 각 동물의 체중 증가 정도, 즉 실험 시작 시점의 각 동물의 체중과 실험 종료 시점의 체중의 차이를 측정하고, 대조군과 MMT 투여군 간에 비교함으로써 麥門冬湯 투여가 각 동물의 영양 및 대사 상태에 미치는 영향을 검증하고자 하였다.

10) MMT의 경구투여 후 흰쥐의 간기능에 미치는 영향

투여된 麥門冬湯에 의한 간독성 발생 여부를 검증하기 위하여, MMT 투여 후 간세포 파괴 시 혈청으로 유출되는 효소인 GOT (AST), GPT (ALT)의 혈청 중 활성을 생화학 자동분석기인 OLYMPUS AU400 (Olympus,

Japan)을 이용하여 측정하였다. 먼저, 혈청 중의 GOT (Glutamate Oxaloacetate Transaminase)는 L-Aspartate와 α-ketoglutarate를 Oxaloacetate와 L-Glutamate로 전환시키며 이때 생성된 oxaloacetate는 Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH)의 존재 하에 Malate Dehydrogenase (MDH)의 작용으로 L-Malate로 전환된다. GOT의 활성값은 340 nm에서 NADH의 감소 속도를 측정함으로써 계산하였다. 혈청 중 GPT (Glutamate Pyruvate Transaminase)는 L-alanine과 α-ketoglutarate를 pyruvate와 L-glutamate로 변환시키며, 이때 생성된 pyruvate는 NADH의 존재 하에 Lactate Dehydrogenase (LDH)의 작용으로 lactate로 전환된다. GPT의 활성값은 340 nm에서 NADH의 감소속도를 측정하여 계산되었다.

11) MMT의 경구투여 후 흰쥐의 신장기능에 미치는 영향

투여된 MMT에 의한 신장독성 발생 여부를 검증하기 위하여, MMT 투여 후 혈청 중의 BUN (Blood Urea Nitrogen) 값을 생화학 자동분석기인 OLYMPUS AU400 (Olympus, Japan)을 이용하여 측정하였다. 혈청 중의 요소 (urea)는 urease에 의해 특이적으로 분해되어 암모니아와 이산화탄소를 생성하며, 생성된 암모니아는 2-oxoglutarate와 먼저 반응하고 GLDH의 존재 하에 NADH와 반응하여 Glutamate와 NAD를 생성하고, 이 반응에서 감소하는 NADH의 감소 속도를 측정하여 혈청 중의 요소질소 (BUN)의 양 (농도)을 측정하였다.

3. 통계처리

모든 측정 결과는 Mean±S.E.M.으로 환산된 후, 麥門冬湯 처리군의 측정치는 대조군 측정치의 백분율로 나타냈다. 통계처리는 unpaired Student's *t*-test로 하였으며, p<0.05인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. Results

1. MMT가 NCI-H292세포에서 ATP로 자극된 MUC5AC 뮤신 생성에 미치는 영향

MMT는 최종 추출물 2, 5, 10 μl/200 μl 배양액의 투여 농도에서 ATP로 자극된 뮤신 생성을 감소시키지 않았다 (Fig. 1).

2. MMT가 NCI-H292세포에서 TNF- α 로 자극된 MUC5AC 뮤신생성에 미치는 영향

MMT는 최종 추출물 2, 5, 10 μ l/200 μ l 배양액의 투여 농도에서 TNF- α 로 자극된 뮤신 생성을 유의성 있게 증가시켰다 (Fig. 2).

3. MMT가 NCI-H292세포에서 PMA로 자극된 MUC5AC 뮤신 생성에 미치는 영향

MMT는 최종 추출물 2, 5, 10 μ l/200 μ l 배양액의 투여 농도에서 PMA로 자극된 뮤신 생성을 유의성 있게 증가시켰다 (Fig. 3).

4. MMT가 NCI-H292세포에서 EGF로 자극된 MUC5AC 뮤신 생성에 미치는 영향

MMT는 최종 추출물 2, 5, 10 μ l/200 μ l 배양액의 투여 농도에서 EGF로 자극된 뮤신 생성을 감소시키지 않았다 (Fig. 4).

5. NCI-H292 세포에서 ATP로 유도된 MUC5AC 유전자 발현에 미치는 MMT의 영향

MMT는 최종 추출물 저농도 투여 시에는 24시간의 처리기간 동안 ATP로 유도된 MUC5AC mRNA의 발현 수준을 감소시키는 듯한 경향을 보였으나, 농도가 증가할수록 특히 최고농도에서는 MUC5AC mRNA의 발현 수준을 증가시키는 경향을 보여주었다 (Fig.5).

6. NCI-H292 세포에서 TNF- α 로 유도된 MUC5AC 유전자 발현에 미치는 MMT의 영향

MMT는 24시간의 처리기간 동안 TNF- α 로 유도된 MUC5AC mRNA의 발현 수준을 증가시키는 경향을 보여주었으나 농도의존성을 나타내지는 않았다 (Fig. 6).

7. NCI-H292 세포에서 PMA로 유도된 MUC5AC 유전자 발현에 미치는 MMT의 영향

MMT는 24시간의 처리기간 동안 PMA로 유도된

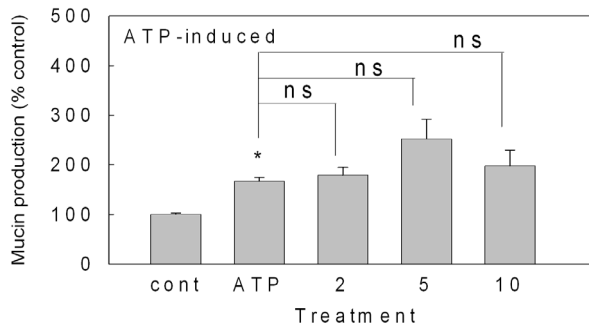


Fig. 1. Effect of MMT on ATP-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells

* ; significantly different from control (p<0.05).
ns ; not significantly different from ATP only.

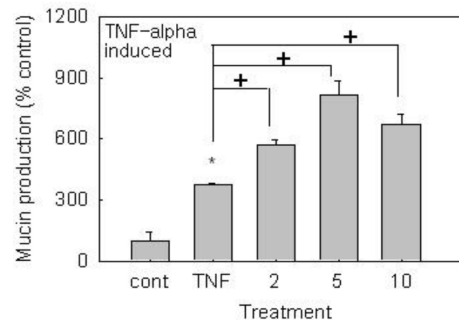


Fig. 2. Effect of MMT on TNF- α induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells

* ; significantly different from control (p<0.05).
+ ; significantly different from TNF only (p<0.05).

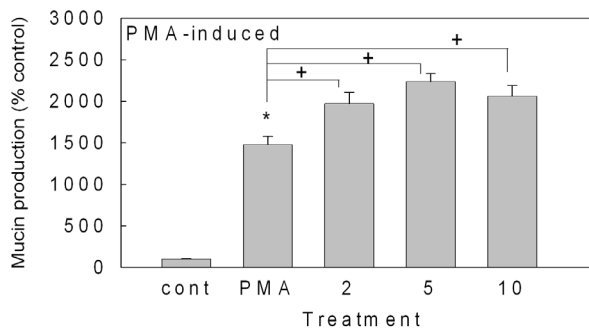


Fig. 3. Effect of MMT on PMA-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells

* ; significantly different from control (p<0.05).
+ ; significantly different from PMA only (p<0.05).

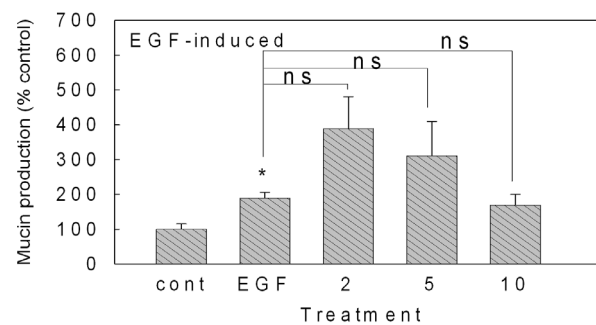


Fig. 4. Effect of MMT on EGF-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells

* ; significantly different from control (p<0.05)
ns ; not significantly different from EGF only.

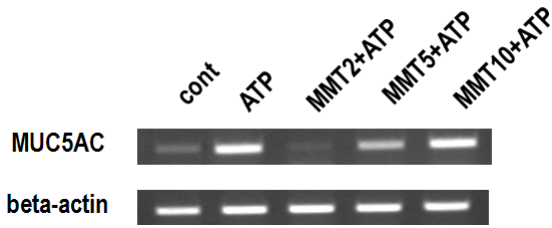


Fig. 5. Effect of MMT on ATP-induced MUC5AC gene expression in NCI-H292 cells

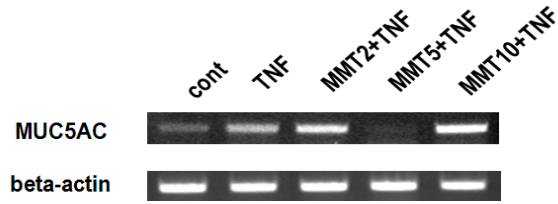


Fig. 6. Effect of MMT on TNF- α -induced MUC5AC gene expression in NCI-H292 cells

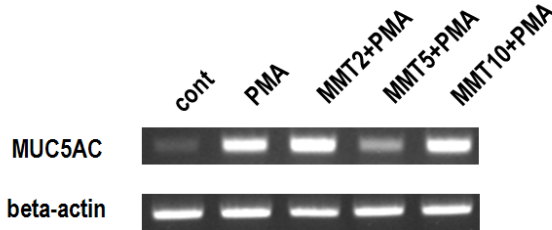


Fig. 7. Effect of MMT on PMA-induced MUC5AC gene expression in NCI-H292 cells

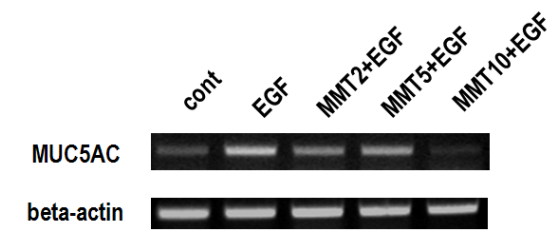


Fig. 8. Effect of MMT on EGF-induced MUC5AC gene expression in NCI-H292 cells

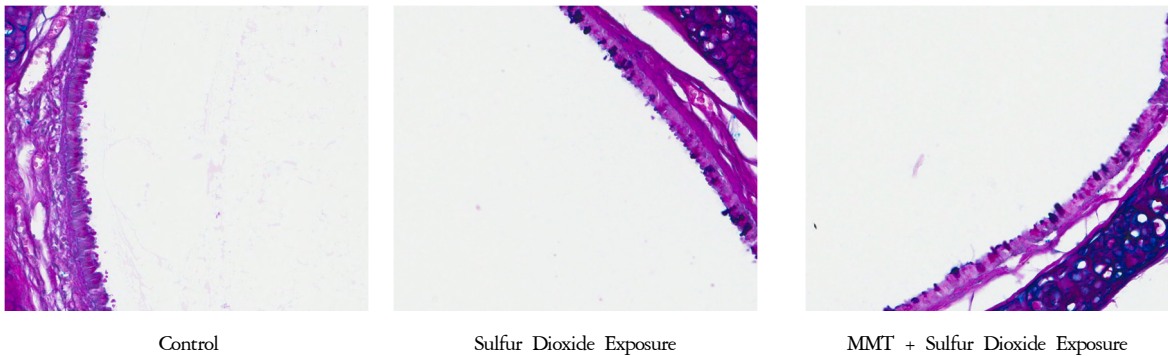


Fig. 9. Effect of MMT on intraepithelial mucosubstances in trachea of rats exposed to sulfur dioxide

MUC5AC mRNA의 발현 수준을 증가시키는 경향을 보여주었으나 농도의존성을 나타내지는 않았다 (Fig. 7).

8. NCI-H292 세포에서 EGF로 유도된 MUC5AC 유전자 발현에 미치는 MMT의 영향

MMT는 24시간의 처리기간 동안 EGF로 유도된 MUC5AC mRNA의 발현 수준을 최고농도에서 감소시키는 듯한 경향을 보였으나, 저농도와 중간농도에서는 유의한 감소 경향을 나타내지 않았다 (Fig. 8).

9. MMT가 이산화황으로 유발된 기도 배상세포 내의 점액 함유량 증가에 미치는 영향

기도 상피세포층에 Hematoxylin-eosin 염색과 Periodic Acid Schiff (PAS) - Alcian Blue 염색을 실시한 후 광학

현미경 하에서 관찰한 결과, 이산화황에 3주간 노출된 흰쥐의 배상세포 내에 검은 보라색으로 염색된 뮤신(점액)의 양이 증가되어 있으며, 이산화황 1주 노출 후 2주간 MMT 동시 투여군에서도 배상세포 내 검은 보라색으로 염색된 뮤신(점액)의 양이 이산화황 3주 단독 흡입군에서의 결과와 거의 유사한 경향을 보여주었다. 이는 MMT가 흰쥐에서 이산화황으로 유발된 기도 배상세포 내 점액 함유량 증가에 대해 뚜렷한 억제 경향을 나타내지 않음을 의미한다 (Fig. 9).

10. 흰쥐에게 MMT의 경구투여 후 체중 변화에 미치는 영향

2주간의 麥門冬湯 경구투여 기간을 포함한 전체 3주간의 실험 기간 동안 각 실험동물의 체중 변화를 측정된 결과, 대조군과 麥門冬湯 투여군 간에 유의한 차이를 보이지 않음으로써 MMT가 실험동물의 영양 섭

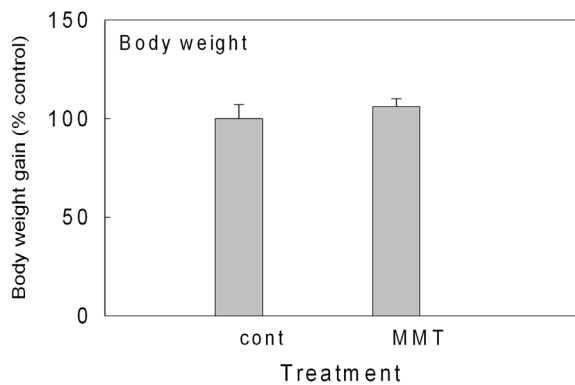


Fig. 10. Effect of MMT on body weight gain of rat after oral administration

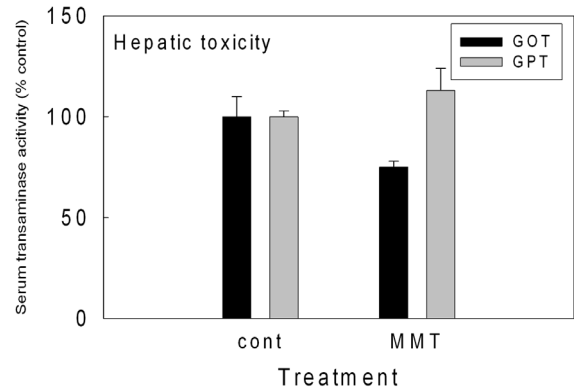


Fig. 11. Effect of MMT on serum GOT and GPT activities of rat

취 및 대사 상태에 유의한 독성을 유발하지 않음을 알게 되었다 (Fig. 10).

11. 흰쥐에게 MMT의 경구투여 후 간 기능에 미치는 영향

간독성의 지표로는 Transaminase인 GOT (AST), GPT (ALT)의 혈청 중 활성을 선정하였으며, 2주간의 麥門冬湯 경구투여 후 GOT, GPT의 혈청 중 활성을 측정된 결과, 대조군과 麥門冬湯 투여군 간에 유의한 차이를 보이지 않음으로써 MMT가 실험동물에서 간독성도 유발하지 않음을 알게 되었다 (Fig. 11).

12. 흰쥐에게 麥門冬湯의 경구투여 시 신장 기능에 미치는 영향

신장독성의 지표로는 Blood Urea Nitrogen (BUN)의 혈청 중 농도를 선정하였으며, 2주간의 麥門冬湯 경구투여 후 Blood Urea Nitrogen (BUN)의 혈청 중 농도를 측정된 결과, 대조군과 麥門冬湯 투여군 간에 유의한 차이를 보이지 않음으로써 MMT가 실험동물에서 신장독성을 유발하지 않음을 알게 되었다 (Fig. 12).

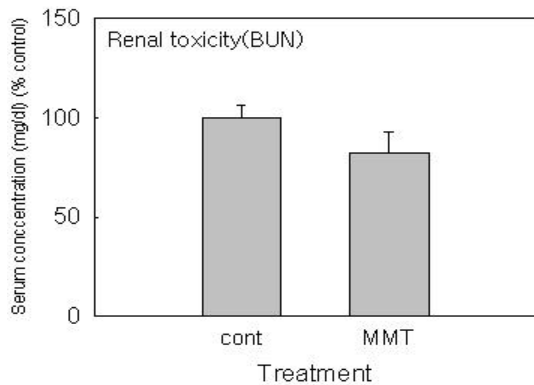


Fig. 12. Effect of MMT on serum BUN concentration of rat

IV. Discussion

소아는 각 기관의 발육이 미숙하고 형체와 기능이 완전하지 못하므로 臟腑嬌嫩, 形氣未充한 생리적 특징을 가지며 《幼科發揮》¹⁾에서는 “脾常不足, 肺常不足, 腎常虛”라 하여 특히 肺, 脾, 腎의 허약함을 설명하였고, 《小兒藥證直訣》²⁾에서는 “五臟六腑 成而未全… 全而未壯”, 《景岳全書》²⁾에서는 “小兒以柔嫩之體 氣血未堅 臟腑甚脆”라 하여 소아는 臟腑機能과 衛外機能이 취약하여 병리적으로 질병의 이환과 전변이 쉬우며 특히 肺常不足하여 感冒, 咳嗽, 哮喘 등의 호흡기 질환이 빈번하게 발생하게 됨을 설명하였다.

소아의 호흡기 질환은 주로 6개월~6세의 소아에게 好發하고 2~3세의 유아에서 가장 많이 볼 수 있으며 주로 겨울과 봄의 기후변화가 심한 때에 쉽게 반복적으로 감염되어 잘 낫지 않으며 사소한 병적 상태에도 심한 증상을 나타내게 된다²⁾. 이는 소아의 기도의 내경이 좁아 말초기도저항이 증가되어 있으며 면역력이 완전히 성숙되지 않은 상태이기 때문에 쉽게 감염이 되고, 기도 점액샘의 밀도가 높아 염증이 생겼을 때 쉽게 많은 분비물이 분비되어 가래만으로도 기도폐쇄가 쉽게 발생하여 다양한 호흡기 질환을 유발시키기 때문이다¹⁾. 이러한 이유로 호흡기 질환을 자주 앓고, 초기에 회복되지 못하거나 재차로 感受됨으로써 만성적으로 이환하는 소아의 숫자가 증가하고 있으며 실제로 한²³⁾, 최²⁴⁾, 이²⁵⁾ 등의 연구에서, 한방병원을 내원하는 소아 외래환자의 주소증 중 호흡기계 질환이 가장 많은 비율을 나타내며 한방치료에 대한 선호도 또한 호흡기계가 가장 높은 것으로 나타난 것으로 보아 소아의 호흡기계 질환의 한방치료에 관한 연구가 중요하다고 할 수 있다.

호흡기는 외부 환경과 우리 신체가 접촉하는 가장 중요한 기관으로 외부 환경으로부터 유해한 물질을 받아들이지 않는 방어기능을 가지고 있으며 호흡기를 감싸고 있는 점막과 호흡기의 상피를 따라 발달된 면역계로 구성된다. 방어체계의 1차 방어선은 점막, 2·3차 방어선은 식세포와 림프구가 담당하며 면역계의 발달이 미숙한 소아에게는 1차 방어선인 점막의 역할이 더욱 중요하다고 할 수 있다^{2,27)}.

점막에 도포되어 있는 점액 (mucus)은 객담의 주요 성분으로 당단백질, 수분, 전해질, 지질로 구성되며 섬모세포와의 협동적 작용을 통해 외부와의 직접적인 접촉을 막고 이물이나 병원체를 외부로 제거하는 역할을 수행하는데, 점액의 주성분인 뮤신은 술잔세포 (goblet cells)와 점막밑샘 (submucosal gland)의 점액세포에서 생산되며 점성 (viscosity)이 강하고 고도의 당화단백으로 구성되어 있어 탄수화물에 대한 강력한 수용체 역할을 하여 막 성분이 탄수화물로 구성되어 있는 세균들을 쉽게 점액소에 부착하여 배설시키는 기능이 있다²⁷⁾.

그러나 점액이 과량 분비되면 다양한 기도질환이 발생하게 되는데 아직까지 점액의 분비기전에 대해서 명확하게 밝혀진 바는 없으며 그동안의 연구를 통해서 알 수 있는 것은 특정 자극이 기도에 들어오면 점액의 분비를 증가시키며 EGFR (Epidermal growth factor receptor)시스템 등이 점액의 성분 중 중요한 당화 단백질인 뮤신을 생산하는 주요 기전이라는 것 정도이다^{27,28)}.

뮤신은 펩티드 골격과 탄수화물 가지로 이루어진 수백만 dalton의 분자량을 가진 당단백질로써 뮤신의 펩티드 골격을 coding하는 유전자를 MUC로 약칭하는데, 현재까지 약20종의 MUC유전자가 발견되었으며 이 중 MUC5AC와 MUC5B유전자의 산물인 MUC5AC와 MUC5B뮤신이 인간의 호흡기에서 발견되는 gel-forming mucin을 구성하고 있다⁴⁾.

뮤신의 생성과정에 관한 연구에는 인체 기도의 상피세포인 NCI-H292세포가 많이 이용되며, 이 안에서 EGF는 EGFR (epidermal growth factor receptor)-MEK-ERK pathway를 경유하고 TNF- α 는 TNFR (tumor necrosis factor receptor)를 매개로 NF- κ B (nuclear factor-kappa B)로 이어지는 신호전달 경로를 거쳐 기도뮤신인 MUC5AC의 뮤신의 생성을 증가시킬 수 있는 것으로 알려져 있다²⁹⁾.

기도의 방어기능이 정상적으로 작용하기 위해서는 점액의 구성요소인 뮤신의 점탄성 (viscoelasticity)이 적절하게 유지되는 것이 매우 중요한데, 뮤신의 조성 및

분비량에 이상이 발생하면 점액섬모 청소 (mucociliary clearance)가 정상적으로 작동하지 못하게 되고 이로 인해 기도점액이 오히려 세균의 성장 및 집락을 촉진시키는 역할을 하게 되며, 기도 생리의 이상 뿐 아니라 인체의 방어작용에 영향을 주어 병리현상을 유발하게 된다. 즉 객담 혹은 점액의 과다분비는 천식, 만성 기관지염, 폐기종, 기관지 확장증, 낭포성 섬유증 등의 호흡기 질환의 예후를 악화시키는 주된 요인으로 알려져 있다³⁰⁾.

점액을 과량 분비하는 기도질환에서 점액을 제거하기 위한 치료법에는 여러 가지가 있으며 첫째로는 경구수분섭취 또는 고장성의 식염수나 증류수 흡입 등으로 점액의 수분농도를 올리는 방법이 있다. 하지만 이는 오히려 점액생산을 증가시켜 기침을 유발하거나 일시적 기도수축을 일으켜 점액 배출에 오히려 방해할 수 있다. 둘째로는 Guaifenesin, Iodide와 같이 gastro-pulmonary vagal reflex를 이용하여 기도 점액을 제거하는 약제를 사용하는 방법으로 이는 위점막을 자극함으로써 뇌수질의 구토 중추 가까이 있는 기침 수용체를 자극하고 원심성 섬유를 통해 기도점막하선으로 하여금 점액분비를 증가하게 하여 점액의 배출을 용이하게 하는 방법이나 구토 증세를 유발할 수 있는 단점이 있다. 또 다른 방법으로는 free sulfhydryl group을 가지는 N-acetylcysteine (NAC)를 이용하는 것으로 여기에 점액 단백질의 disulfide bond가 결합하여 점액단백 분자를 서로 연결하고 있는 disulfide form을 파괴하여 점액의 점도를 감소시키는 방법으로, 이와 유사한 기전을 가지는 약제로는 Bromhexin, Erdosteine등이 있으며 반대로 점액용해작용을 하는 약제로는 Letostein, Dried ivy leaf extract제제 등이 있다. 이 중 최근 다용되고 있는 Dried ivy leaf extract제제는 부교감 신경을 억제하여 기관지 수축을 완화시키고, 점액용해작용을 하며 중추신경에 작용하여 진해작용을 나타내는 등 복합적인 기전을 통해 점액분비를 조절한다. 하지만 이러한 다양한 약물들은 과용 또는 장기간 사용 시 기도 내부의 자극을 유발하며 점액의 생성과 분비에 이상을 초래하여 질병의 회복을 더 지연시킬 수 있다³¹⁾.

뮤신에 직접적으로 작용하는 물질에 대해서는 밝혀진 바가 적으나, 뮤신의 분비를 증가시키는 것으로 알려진 물질로는 ATP, TNF- α , 인체의 염증 진행과정에서 확인되는 내인성 물질 및 염화암모늄, 요오드화 칼륨, bromhexidine, amboxole 등이 있으며 뮤신의 분비를 감소시키는 물질로는 다양한 염증성 질환에 응용되는

glucocorticoid가 대표적이며 steroid, indomethacin 그리고 poly-L-lysine (PLL)의 양이온성 폴리펩티드 등이 보고되었으나³²⁾, 이 중에서 뮤신 분비의 촉진과 억제에 부작용 없이 효율적으로 조절할 수 있는 성분에 대한 연구는 아직 부족한 실정이다. 그러므로 호흡기 점액의 주요 구성요소인 뮤신의 분비를 조절할 수 있는 치료법에 대한 접근은 기도질환의 치료에 기여함에 있어 중요하다고 할 수 있다.

한의학에서 咯痰은 痰飲의 범주로 痰飲은 체내의 과다한 수분이 어느 한 부분에 정취된 것으로 질병의 원인이 될 뿐만 아니라 질병의 결과로 발생하는 병적인 상태를 말하며³³⁾, 《東醫寶鑑》에서는 “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...” 라 하여 痰의 원인을 10가지로 분류하였다⁷⁾. 인체의 체내 인액대사과정에서 肺의 通調水液作用, 脾의 運輸水穀精微作用, 腎의 蒸化水液, 分清泌濁作用이 失調되면 水液의 정상적 분포와 배설에 이상이 생겨 水濕이 모여 痰이 생성된다고 하였으며, 肺氣가 動하여 咳가, 脾濕이 動하여 嗽가 나타나고 肺竅中에 痰氣가 있으면 哮喘證이 생긴다고 하여 肺, 脾, 腎을 咯痰생성의 주요 臟腑로 생각하였다^{7,34)}. 이렇게 생성된 痰飲의 치료에 대해서는 “實脾土, 燥脾濕, 是治其本.....治痰順氣爲先, 分導次之”와 같이 해야 한다고 하였으며 人蔘, 甘草, 半夏, 桔梗, 生薑, 茯苓 등의 본초를 활용 하였다⁷⁾.

현재 다양한 方劑들이 기도 질환의 치료에 좋은 효과를 가지고 多用되고 있으나 구체적으로 韓藥處方이 기도 점액분비와 뮤신생성에 미치는 영향에 대한 연구로는 小青龍湯과 加味治哮喘散³⁵⁾, 清金降火湯과 瓜蒌枳實湯³⁶⁾, 定喘化痰湯³⁷⁾, 加味腎氣湯과 加味清肺湯³⁸⁾, 健肺湯³⁹⁾ 등을 대상으로 이러한 처방들이 기도점액과 뮤신분비에 미치는 영향을 연구하였으나, 이들은 주로 發散風寒, 祛痰, 補肺, 清熱作用이 있는 方劑위주였으며 補陰, 潤肺止咳하는 효능이 있으며 臨床에 頻用되는 麥門冬湯에 대한 연구는 아직 이뤄지지 않은 상황이다.

麥門冬湯은 《金匱要略》⁶⁾에서 “大逆上氣, 咽喉不利, 止逆下氣者. 麥門冬湯主之”라 하여 기관지천식, 기관지염과 유사한 질환에 사용하였고, 《東醫寶鑑》⁷⁾에서는 麥門冬湯이 ‘火喘’, ‘治勞復, 氣慾絕, 能起死回生’, ‘癰亂後煩渴’ 등의 병증을 치료한다고 하여 胃陰虛로 虛火上炎하여 肺陰을 灼傷하여 肺의 肅降機能이 失調되어 嘔吐涎沫하고 咽喉乾燥 등의 氣機上逆한 병증을 치료하는 方劑로 사용되었음을 알 수 있다⁴⁰⁾.

麥門冬湯의 구성약물은 각 문헌에 따라 각 구성약물과 용량에 많은 차이를 보이고 있으나⁴⁰⁾ 본 연구에서는 《東醫寶鑑》⁷⁾에 기재된 麥門冬, 半夏, 人蔘, 甘草, 粳米, 大棗의 구성에 의거한 처방을 사용하였다. 麥門冬湯은 補陰藥과 補氣藥위주로 구성되어 있으며 麥門冬은 甘寒하여 肺胃의 虛熱을 清泄하고 陰液을 滋養하며, 半夏는 辛溫하여 胃의 逆氣를 降하고 人蔘은 益氣生津하며, 甘草, 粳米 등은 脾胃의 氣陰을 補益시킴으로써 津液이 스스로 上行하여 肺를 滋養하고, 특히 甘草는 清熱利咽하고 諸藥調和하는 效能이 있으며, 大棗는 甘潤하고 성질이 平和하여 補脾和胃, 益氣生津하므로 麥門冬湯은 肺胃滋養, 和胃降逆하여 津液을 회복시키고 虛火가 下降시켜 痰涎을 化하는 효능을 가지게 된다⁹⁾.

麥門冬湯은 병리학적으로 항염증, 항알레르기, 항암, 면역조절, 대사조절기능 등의 효과가 있으며 특히 건기침을 동반한 기관지염과 인두염 및 천식에 효과가 매우 뛰어난 것으로 알려져 있고⁴¹⁻⁴³⁾, 관련 연구로는 정¹¹⁾ 등이 천식유발 cytokine 분비와 호산구 chemotaxis에 미치는 영향, 류¹²⁾ 등이 알레르기 천식의 호흡양상 및 기관조직의 호산구 침윤에 미치는 영향, 김¹³⁾ 등이 알레르기 천식모델 흰쥐의 BALF내 면역세포와 혈청 IgE에 미치는 영향을, 김¹⁰⁾ 등에서는 T림프구의 활성을 유의성 있게 증가시키며 IFN- γ 의 생성을 현저하게 촉진시켜 면역조절능력을 가진다고 보고하였다.

이에 저자는 麥門冬湯이 기도 점액의 과다 분비와 뮤신생성 및 유전자 발현에 어떠한 영향을 미치는지 관찰함으로써, 麥門冬湯이 면역관련 효과뿐만 아니라 기도 점액 과다 분비상태의 조절약물로서의 활용가치에 관하여 연구하였다.

먼저 세포 및 분자수준에서 麥門冬湯의 효과에 대하여 알아보기 위해 인체 기도 상피세포인 NCI-H292 세포를 뮤신의 생성에 관여하는 ATP, PMA, EGF, TNF- α 로 각각 자극한 상태에서 24시간동안 약물처리를 한 후 MUC5AC 뮤신의 생성 정도를 측정하였고, 같은 방법으로 뮤신의 유전자 발현을 자극한 상태에서 24시간의 약물 처리 기간 동안 MUC5AC mRNA의 발현 정도를 관찰하였다.

ATP는 기도의 상피세포와 염증세포들을 자극하여 기도의 뮤신분비를 자극하는 물질로⁴⁴⁾, PMA는 calcium dependent protein kinase (PKC)를 활성화시켜 발암, 산화질소생성을 촉진하며 기도 상피세포에서 뮤신유전자의 발현 및 뮤신의 생성을 증가시키는 물질로 알려

져 있다^{45,46}. EGF와 TNF- α 는 천식, 만성 폐쇄성 폐질환 등의 다양한 기도점액 과다분비질환에서 증가되어 있는 물질로 EGF는 EGFR (epidermal growth factor receptor)-MEK-ERK pathway를 경유하여, TNF- α 는 TNFR (tumor necrosis factor receptor)을 매개로 NF- κ B (nuclear factor-kappa B)를 활성화시켜 MUC5AC mRNA의 발현을 촉진시켜 뮤신의 생성을 증가시키는 것으로 보고되어 있다^{14,15,47}.

인체 기도 상피세포인 NCI-H292 세포를 대상으로 한 실험에서 麥門冬湯은 최종 추출물 2, 5, 10 μ l/200 μ l 배양액의 투여 농도에서 ATP 및 EGF로 자극된 뮤신 생성을 감소시키지 않았으며, TNF- α 및 PMA로 자극된 뮤신 생성도 감소시키지 않고, 오히려 더 증가시키는 경향을 보였다 (Fig. 1, 2, 3, 4). 동시에, 麥門冬湯은 최종 추출물 2 μ l/200 μ l 투여 시에는 24시간의 처리기간 동안 ATP로 유도된 MUC5AC mRNA의 발현 수준을 감소시키는 듯한 경향을 보였으나, 농도가 증가할수록 특히 10 μ l/200 μ l 투여 시에는 MUC5AC mRNA의 발현 수준을 증가시키는 경향을 보여주었다 (Fig. 5). TNF- α 또는 PMA로 유도된 MUC5AC mRNA의 발현 수준에 대해서는 역시 증가시키는 경향은 보여주었으나 농도의존성을 나타내지는 않았다 (Fig. 6, 7). 또한, EGF로 유도된 MUC5AC mRNA 발현 수준은 10 μ l/200 μ l 투여 시 감소하는 듯한 경향을 보였으나, 2 μ l/200 μ l 와 5 μ l/200 μ l 투여 시에는 유의한 감소 경향을 나타내지 않았다 (Fig. 8). 이러한 결과들을 요약해 보면, 麥門冬湯은 전반적으로 MUC5AC 뮤신의 생성 및 mRNA의 발현을 감소시키기 보다는 오히려 증가시키는 경향을 보여주었다.

다음으로, 麥門冬湯이 기도점액의 주된 생화학적 구성요소인 뮤신의 생성 및 유전자 발현 등 세포 및 분자 수준에서 영향을 줄 가능성이 크다면, 임상에서 麥門冬湯이 인체에 경구로 투여된다는 점을 고려하여 실험동물을 대상으로 한 in vivo 실험에서는 麥門冬湯이 어떠한 약리작용을 나타낼 지를 검증하기 위하여 후속연구가 필요하였다. 이를 위해 이산화황 흡입으로 유발된 기도 점액 과다분비 동물모델에 麥門冬湯을 2주간 경구투여한 후 기도 배상세포 내의 점액 함유량에 대한 麥門冬湯의 영향을 조직병리화학적 방법으로 확인하였다. 그 결과 대조군과 이산화황 3주 흡입군에 비해 이산화황 1주 흡입 후 2주간 이산화황 흡입 및 麥門冬湯 동시 투여군에서, 2주간의 경구투여 후 기도 배상세포 내 점액의 함유량이 감소하지 않고 오히려

증가하는 경향을 보여주었다 (Fig. 9). 이러한 실험결과는 麥門冬湯이 호흡기 염증 상태에서 발생하는 기도 점액 과다분비 상태에서 清熱, 消炎作用 등을 경유하여 뮤신의 생성 감소 및 분비 억제작용을 발현하기 보다는, 오히려 補陰, 滋陰作用을 통하여 肺陰虛, 肺燥상태에서의 점액의 생성 및 분비를 적절히 증가시킴으로써 호흡기 질환의 병태를 정상화 시킨다는 것을 보여준다고 할 수 있다.

마지막으로 麥門冬湯이 기도 점액의 분비를 조절하는 효능을 가지고 있음에도 불구하고 임상적으로 활용되기 위해서는 경구 투여 시 독성을 유발하지 않아야 하기 때문에, 기도점액 과다분비 흰쥐모델에 麥門冬湯을 투여 시 흰쥐의 체중증가에 미치는 영향과 간독성과 신독성에 미치는 영향을 측정된 결과, 2주간 麥門冬湯을 투여 받은 흰쥐의 간기능 및 신기능에 유의한 수준의 독성이 나타나지 않음을 알게 되었으며 또한 실험 전체 기간 중 각 실험동물의 체중 증가 정도에도 麥門冬湯이 유의한 영향을 주지 않음으로써, 동물의 전반적인 영양 및 대사 상태에도 독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다 (Fig. 10, 11, 12).

이상의 연구결과를 종합하면, 麥門冬湯은 기도 뮤신의 생성을 정상화시키고 뮤신 유전자의 발현에 영향을 줌으로써 결과적으로 기도 점액의 분비를 조절하는 효과를 나타내었다. 이를 통해 麥門冬湯은 기도 점액 관련 병증을 나타내는 환자 중 특히 陰虛, 燥證에 의한 점액 과다분비상태의 환자에서 점액분비를 정상화시켜 기도 점액 분비 부족상태를 동반하는 다양한 호흡기 질환에 활용될 수 있는 가능성이 있음을 제시하였다. 앞으로 뮤신 분비 조절기전에 관한 자세한 연구와 함께 인체에 임상적으로 활용할 수 있는 효과적인 투여량과 각 성분의 역할에 관한 연구, 특정한 호흡기 질환 연구모델에서의 효과에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. Conclusion

麥門冬湯이 기도 점액 분비 및 이와 연관된 기도 뮤신의 생성 및 유전자 발현에 대한 작용을 알아보기 위하여, 이산화황 흡입 투여로 유발된 기도 점액 과다분비 흰쥐 모델에서 상피 배상세포 내의 점액 함유량에 대한 麥門冬湯의 영향을 관찰하고, 인체 기도 상피세포인 NCI-H292 세포에서 기도 뮤신인 MUC5AC 뮤신

의 생성에 대한 약물의 영향과 기도 뮤신 유전자인 MUC5AC mRNA의 발현을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 麥門冬湯은 배양된 인체 기도 상피 세포에서 뮤신 생성과 그 유전자 발현을 증가시키는 경향을 보여주었다.
2. 이산화황으로 유발된 기도 점액 과다 분비 흰쥐 모델에 麥門冬湯을 경구 투여한 결과, 기도 배상 세포 내 점액 함유량을 증가시키는 경향을 보여주었다.
3. 麥門冬湯을 실험동물에게 투여하였을 때 체중증가도, 간기능 및 신장 기능에 영향을 주지 않음으로써 생체 독성을 유발하지 않음을 보여 주었다.

References

1. Kim KB, Kim DG, Kim YH, Kim JH, Min SY, Park EJ, Baek JH, Yu SA, Lee SY, Lee JY, Lee HJ, Chang GT, Chai JW, Han YJ, Han JK. Hanbangsoacheongsonyeonuihak. Seoul: Ui SungDang. 2010;37-40,339-41,346-7.
2. Ahn HS. Pediatrics 9th edition. Seoul:Daehangyogwaseo. 2007;588-90,629-52.
3. Sim JJ. Signal Transduction of MUC5AC Expression in Airway Mucus Hypersecretory Disease. Tuberc Respir Dis. 2003;55(1):21-30.
4. Rogers DF, Barnes PJ. Treatment of airway mucus hypersecretion. Ann Med. 2006;38(2):116-125.
5. Voynow JA, Rubin BK. Mucins, mucus, and sputum. Chest. 2009;135(2):505-12.
6. Daechongkyungjeol. GeumGueoryak. Gangwon:Uibangchoolpan. 2004;154-5.
7. Huh-Joon. Donguibogam. Seoul:Donguibogamchulpansa. 2005:202-9, 624-5, 894-5, 1108, 1295, 1352-53.
8. Hwangdoyeon. Bangyakhappyeon. Seoul:Youngrimsa. 2003:200.
9. Hanuiguadaehak bangjehakgyosil. Bangjehak. Seoul:Youngrimsa. 2003:476-7.
10. Kim H, Jung HS, Kwon J, Lee KG. Effect of Maekmoondong-tang on the Immunomodulatory action. Korean J Orient Physiol Pathol. 2003;17(4):946-51.
11. Jung HJ, Jung GJ, Jeong SK, Rhee HK. Liripois Tuber contributes to the chemotaxis of eosinophils and secretion of cytokines in A549 human epithelial cells. J Korean Orient Chronic Dis. 2005;10(1):1-20.
12. Ryu OS, Jung HJ, Jung SK, Rhee HK. The effect of Macmondong-Tang on the respiratory pattern and tracheal tissue of the allergic asthma in rats. Dongui-university oriental medicine institute. 2004;4:19-31.
13. Kim JJ, Jung HJ, Jung SK, Rhee HK. The Effects of Maekmoondong-tang and Jeongcheonhwadamgangki-tang on Immune Cell and Serum OA-specific IgE in BALF in Rat Asthma Model. J Korean Orient Med. 2002;23(1):37-49.
14. Shao MXG, Ueki IF, Nadel JA. Tumor necrosis factor alpha-converting enzyme mediates MUC5AC mucin expression in cultured human airway epithelial cells. Proc Natl Acad Sci. USA. 2003;100(20):11618-23.
15. Song KS, Lee WJ, Chung KC, Koo JS, Yang EJ, Choi JY, Yoon JH. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha induce MUC5AC overexpression through a mechanism involving ERK/p38 mitogen-activated protein kinases-MSK1-CREB activation in human airway epithelial cells. J Biol Chem. 2003;278(26):23243-50.
16. Karlinsey J, Stamatoyannopoulos G, Enver T. Simultaneous purification of DNA and RNA from small numbers of eukaryotic cells. Anal Biochem. 1989;180(2): 303-6.
17. Pon DJ, Van Staden CJ, Boulet L, Rogerl W. Hyperplastic effects of aerosolized sodium metabisulfite on rat airway mucus-secreting epithelial cells. Can J Physiol Pharmacol. 1994;72(9):1025-30.
18. Lee CJ. Effects of poly-L-arginine on the mucin release from airway goblet cells of hamster and on the mucosubstances of airway goblet cells of rat. J Appl Pharmacol. 2001;9(4):31,263-9.
19. Harkema JR, Hotchkiss JA. In vivo effect of endotoxin on intraepithelial mucosubstances in rat pulmonary airways: quantitative histochemistry. Am J Pathol. 1992;141(2):307-17.
20. St. George JA, Cranz DL, Zicker S, Etchison JR, Dungworth DL, Plopper. An immunohistochemical characterization of rhesus monkey respiratory secretions using monoclonal antibodies. Am Rev Resp Dis. 1985;132(3):556-63.

21. Jeonuel. Soayakjeungjikygeol. Seoul:Yeogangchoolpansa. 2002;35-6.
22. Jangkyungak. Kyungakjeonseo. Seoul: Hanmauihak. 2005;1890-1.
23. Han JK, Kim YH. Health Care Utilization of Pediatrics Outpatients in the Oriental Hospital. 2001;15(2): 209-20.
24. Choi MH, Kim DG, Lee JY. A study of the chief complaint of pediatric outpatients in the kyunghee oriental medicine hospital. Korean J Orient Pediatr. 2010; 24(3):121-37.
25. Lee SY. An observation of the chief complaints of pediatric outpatients. Korean J Orient Pediatr. 2002;15(1): 203-16.
26. Kang MS, Jang GT, Kim JH. A study on chronic or recurrent respiratory symptoms. Korean J Orient Pediatr. 2002;16(2):83-99.
27. Kim YK. Sookjoobangergijeon. Korean Acad Tuberc Respir Dis. Seoul:Koonjachoolpansa. 2004;55-6.
28. Basbaum C, Welsh MJ. Mucus secretion and ion transport in airways. Textbook of respiratory medicine. Philadelphia: W.B.Saunders. 2000;327-48.
29. Takeyame, K. Dabbagh, K. Jeong, Shim, J. Dao-pick, T., Ueki, I.F., Nadel, J.A. Oxidative stress causes mucin synthesis via transactivation of epidermal growth factor receptor:role of neutrophils. J Immunol. 2000;164(3): 1546.
30. Rubin BK. Physiology of airway mucus clearance. Respir Care. 2002;47(7):761-8.
31. Korean academy of pediatric allergic & respiratory disease. Pediatric allergic & respiratory disease. Seoul:Koonjachoolpansa. 2005;350-4.
32. Lee CJ. Specificity in the inhibition of mucin release from airway goblet cells by polycationic peptides. Appl. Pharmacol. 2001;9(3):218-23.
33. Jeong HJ, Jung SK, Rhee HK. Review of literatures about sputum on west-oriental medicine. J Korean Orient Chronic Dis. 1996;1(1):51-61.
34. Ryu IS, Kim YS, Seol IC. Effects of Gamichihyo-san and Gamijung-tang on Airway Mucus Secretion. Korean J Orient Physiol Pathol. 2004;18(6):1746-51.
35. Na DG, Lee CJ, Park YC. Effects of Socheongryong-tang and Kamichihyo san on Mucin Secretion from Airway Goblet. Korean J Orient Physiol Pathol. 2004;18(3) :734-9.
36. Lee JE, Park YC. Effects of CheongGeumGangHwa-Tang(CGGH), GwaRuJiSil-Tang(GRJS) on mucin secretion from airway goblet cells. Korean J Orient Int Med. 2004;25(2):238-44.
37. Kim JM, Lee CJ, Park YC. Studies on the Effect of Selected Oriental Herbal Medicines on Inhibitory Activity of Airway Mucus Secretion. Korean J Orient Int Med. 2006;27(1):126-37.
38. Han DS, Kim YH, Kang TL. Effects of Gamisingi-tang and Gamicheongpye-tang on Airway Mucus Secretion. Korean J Orient Physiol Pathol. 2006;25(1):156-62.
39. Jung BJ, Kim H, Seo UK. Effect of Geonpye-tang(GPT) on Production and Gene Expression of Respiratory Mucin. Korean J Orient Int Med. 2009;30(4):685-95.
40. Kim HY, Jang GS, Han SH. A Literature Study on Maengmundongtang Applied in Dyspnea Due to Fire.Korean J Orient Int Med. 1994;14(2):112-6.
41. Kim H, Jeong HS, Kwon J, Lee KG. Effect of Maekmoondong-tang on the immunomodulatory action. Kor J Orient Physiol Pathol. 2003;17:946-51.
42. Hsu CH, Lu CM, Chang TT. Efficacy and safety of modified Mai-Men-Dong-Tang for treatment of allergic asthma. Pediatr Allergy Immunol. 2005;16:76-81.
43. Cheon MS, Chun JM, Yoon TS, Lee AY, Moon BC, Choo BK, Kim SH, Kim HK. Anti-carcinogenetic and Anti-metastatic Effects of Extract from Maekmoondong-tang in HepG2 Cells. Korean J Herbol. 2009;24(3): 161-7.
44. Kim KC, McCracken, K, Lee BC, Shin CY, Jo MJ, Lee CJ, Ko KH. Airway goblet cell mucin: Its structure and regulation of secretion. Eur Respir J. 1997;11:2644-9.
45. Kim YD, Kwon EJ, Park DW, Song SY, Yoon SK, Baek SH. Interleukin-1 β induces MUC2 and MUC5AC synthesis through cyclooxygenase-2 in NCI-H292 cells. Mol Pharmacol. 2002;62(5):1112-8.
46. Nam TH, Park YC. Effects of Seonbangpaedok-tang and Sigyeongcheongpye-tang on PMA-induced production of airway mucin and expression of MUC5AC. J Kor Orient Med. 2008;29(4):123-32.
47. Shim JJ. Signal transduction of MUC5AC expression in airway mucus hypersecretory disease. Tuberc Respir Dis. 2003;55(1):21-30.