

柴梗清肺湯 및 通竅湯加味方이 기도점액분비 및 기관평활근 긴장도에 미치는 영향

윤재은, 한재경, 김윤희

대전대학교 한의과대학 소아과학 교실

Effects of *Sigyongcheongpyetang* and *Tonggyutanggamibang* on airway mucus secretion and tracheal smooth muscle contractility

Yun Jae Eun, Han Jae Kyung, Kim Yun Hee

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Objective : To investigate the effectiveness of two oriental medical prescriptions named *Sigyongcheongpyetang*(SCPT) and *Tonggyutanggamibang*(TGT) for mucin release from cultured hamster tracheal surface epithelial (HTSE) cells.

Method : Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with ^3H -glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of SCPT or TGT 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 SCPT and TGT on contractility of isolated tracheal smooth muscle were investigated.

Results : (1) SCPT and TGT significantly increased mucin release from cultured HTSE cells, with significant cytotoxicity ; SCPT did not affect contractility of isolated tracheal smooth muscle and TGT inhibited Ach-induced contraction of isolated tracheal smooth muscle.

Conclusion : We suggest that the effects of SCPT and TGT with their components should be further investigated and it is of great value to find, from oriental medical prescriptions, novel agents which might regulate mucin secretion from airway goblet cells.

Key words: airway, mucus, mucin, *sigyongcheongpyetang* and *tonggyu tanggamibang*

접 수 : 2006년 3월 31일, 채택일자: 2006년 4월 22일
교신저자 : 윤재은, 경남 진주시 평안동 134 대추나무한의원
(Tel. 055-743-1075, E-mail: rhrql@hanmail.net)

I. 서론

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 되며²⁾, 급성비인두염, 급성인두염, 중이염, 부비동염, 기관지염, 폐렴, 기관지천식, 급성세기관지염, 경부임파선염 등을 임상에서 흔히 접할수 있다^{3,4)}. 호흡기 질환의 증상은 기침, 객담, 호흡곤란, 흉통, 천명, 목원소리 등으로 나타나게 된다^{5,6)}. 체내에서는 병변 유발 인자를 제거하기 위해 점액(mucus)과 섬모세포와의 협동적 작용이 일어나게 되는데⁷⁾, 호흡기 점액의 인체 방어 기능은 주로 점액의 구성요소인 뮤신의 점성 및 탄성에 기인하고, 이러한 뮤신의 양과 질의 이상은 기도생리의 이상 뿐 아니라 인체의 방어작용에 영향을 주어 더 심한 병리 현상을 유발할 수 있다. 즉 천식, 만성 기관지염, 폐기종, 기관지확장증, 낭포성 섬유증 등의 호흡기 질환에서 관찰되는 객담 혹은 점액의 과다분비는 이러한 질환군의 예후를 악화시키는 주된 요인으로 알려져 있다. 또한 기도의 협소는 호흡기 질환에 나타나는 병태생리적인 이상으로 이를 완화하기 위해서는 평활근 이완, 반응조절 및 기관지 확장이 필요하다⁸⁻¹³⁾.

韓醫學的으로 咳痰은 痰飲의 範疇에 屬하는데 痰飲이란 體內의 過다한 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 發生되는 病的 狀態를 말한다¹⁴⁾. 《東醫寶鑑》¹⁵⁾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 咳痰과 비교적 밀접하게 관련된 痰의 종류는 風痰, 寒痰, 濕痰, 熱痰, 燥痰, 鬱痰, 氣痰 등이라 할 수 있다¹⁶⁾.

최근 임상에서 객담의 제거 효능이 있는 여러 한약물의 기도점액분비 및 평활근 긴장도에 미치는 영향에 대하여 淸金降火湯, 瓜蒌枳實湯, 小靑龍湯, 杏蘇湯, 加味八味丸 등¹⁷⁻²⁰⁾의 연구와 通竅湯^{21,22)}의 실험적 연구가 있었으나 뮤신분비에 미치는 효과에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이에 저자는 천식, 기관지염, 폐렴 등의 질환에 이용되는 《晴崗醫鑑》²³⁾의 柴梗淸肺湯과 알레르기성비염 및 축농증의 치료에 사용되는 《대전대학교 한방병원 처방집》²⁴⁾의 通竅湯加味方에 대하여 객담의 생성 및 과다분비 조절 효능과 기관평활근 이완 효과를 연구한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물

일차배양 기관표면 상피세포를 얻기 위해 8-10 주령의 수컷 Golden Syrian 햄스터를 실험동물 전문 사육업체에서 공급받은 후 사용하였으며, 적출기관 평활근에 대한 약물의 영향을 측정할 목적으로는 백색가토(Albino Rabbit)를 실험동물 전문 사육업체에서 공급받은 후 사용하였다.

2) 약제
 柴梗清肺湯의 구성 약물은 《晴崗醫鑑》²³⁾의 기재에 따라, 通竅湯加味方の 구성 약물은 《대전대학교 한방병원 처방집》²⁴⁾의 기재에 따랐으며 대전대학교 둔산 한방병원 약제실에서 공급받아 조제·정선 하였다. 각 처방의 내용은 아래와 같다(Table 1, 2)

Table 1. Prescription of Siqyoungcheongpyetang(이하 SCPT으로 약칭)

構成藥物	生藥名	用量(g)
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	8.0
前胡	<i>Peucedani Radix</i>	4.0
半夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	4.0
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	4.0
天花粉	<i>Trichosanthis Radix</i>	4.0
青皮	<i>Citri Reticulatae Viride Pericarpium</i>	4.0
赤茯苓	<i>Poria</i>	4.0
杏仁	<i>Armeniacae Arrarum</i>	4.0
桑白皮	<i>Mori Cortex</i>	4.0
葛根	<i>Radix Puerariae</i>	6.0
枳殼	<i>Aurantii Fructus</i>	4.0
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4.0
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		76.0

Table 2. Prescription of Tonggyutanggamibang(이하 TGT으로 약칭)

構成藥物	生藥名	用量(g)
防風	<i>Radix Ledebouriellae</i>	4.0
羌活	<i>Radix Osteric Koreani</i>	4.0
本藥	<i>Radix Ligustici Tenuissimae</i>	4.0
升麻	<i>Rhizoma Cimicifugae</i>	4.0
葛根	<i>Radix Puerariae</i>	4.0
蒼朮	<i>Rhizoma Atractylodis</i>	6.0
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	3.0
白芷	<i>Radix Angelicae Dahuricae</i>	8.0
麻黃	<i>Herba Ephedrae</i>	2.0
川椒	<i>Pericarpium Zanthoxyli</i>	2.0
細辛	<i>Radix Asari</i>	2.0
蓮翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	4.0
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	4.0
荊芥	<i>Schizonepetae Herba</i>	4.0
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	8.0
薄荷	<i>Menthae Herba</i>	2.0
蒼耳子	<i>Xanthii Fructus</i>	4.0
辛夷	<i>Magnoliae Flos</i>	6.0
貝母	<i>Fritillariae Cirrhosae Bulbus</i>	6.0
天花粉	<i>Trichosanthis Radix</i>	6.0
梔子	<i>Gardeniae Fructus</i>	2.0
貢砂仁	<i>Amomi Fructus</i>	4.0
山楂肉	<i>Crataegii Fructus</i>	4.0
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	6.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	8.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	6.0
柳根皮	<i>Granati Pericarpium</i>	16.0
總量		137.0

3) 검액의 제조

각 방제 한 침 분량에 600~800ml의 탈이온 2차 증류수를 가하고 100℃로 가온된 상태에서 3시간 동안 전탕하여, 80ml의 탱액을 수거하였다. 각 탱액을 실온 정도로 방냉한 후, 멸균 청정 후드 내에서 0.22 μ m filter를 이용, 가압 여과하여 멸균용기에 저장하였다. 최종적으로 수거된 여액의 용량은 12ml이었으며, 4℃ 냉장고에 보관하였다.

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(New York, 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) 햄스터 기관표면 상피세포(HTSE cell)의 분리 및 배양

햄스터의 기관표면 상피세포 분리와 배양에

적용된 실험방법은 Kim 등^{25,26)}과 Wu 등^{27,28)}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)

Kim²⁵⁾ 등의 방법을 이용하였는데 배양세포 중의 뮤신은 성숙한 배양세포(24 well plate, 5×10⁵ cells/well)에, 10 μ Ci/ml의 [6-3H] glucosamine(39.2Ci/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 (100U/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 배양액)을 well당 200 μ l씩 가하고 32℃에서 24시간 동안 배양함으로써 방사능 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 잔사등을 제거한 뒤, 각 약물 당 총 12ml의 최종 추출물 중 5~120 μ l의 약물을 함유하는 PBS 200 μ l를 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, 50 μ l의 상등액은 젖산탈수소효소 활성측정(LDH activity assay)을 위해 따로 덜어두고 나머지는 방사성 뮤신함량을 측정할 때까지 -70 $^{\circ}$ C에서 냉동저장하였다²⁵⁾.

4) 뮤신 함량 측정법

Hyaluronidase에 의해 분해되지 않으며, Sepharose CL-4B column으로부터 exclude되는 고분자량의 glycoconjugate를 뮤신으로 정의하였고, Kim 등의 방법²⁵⁾에 따라 방사성 뮤신의 함량을 측정하였다.

5) 배양세포의 세포질로부터 유리된 젖산 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 약물당 총 12ml의 최종 추출물 중 5~120 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 젖산 탈수소효소 활성측정(LDH activity assay)에 사용했다. LDH 활성 측정은 commercial kit(Sigma, LD-L 10)을 이용하였다.

6) 적출 기관 평활근에 대한 약물의 영향

체중 1.5kg 정도의 건강한 백색 가토(Albino rabbit)를 이산화탄소를 이용하여 질식사시킨 후 즉시 기관 전체를 적출하여 Tyrode 용액으로 세척하고 주위 조직을 조심스럽게 제거하였다. 기관을 가로 방향으로 절취하여 기관 연골 3~5개를 포함하는 기관근 절편 표본을 제작하였다. 이렇게 얻어진 표본을 Tyrode 영양액이 들어있는 chamber(Magnus 장치)의 하단에 고정하고 상단은 isometric transducer에 연결하고 physiograph를 이용하여 수축 정도를 측정하였다. 기관 표본에 5g의 resting tension을 가한 뒤 37 $^{\circ}$ C의 산소 공급 하에서 약 1시간 동안 15분 간격으로 세척하면서 안정화시켰다. 이 표본에 방금 조제된 acetylcholine 용액 2 \times 10⁻⁴g/ml를 투여하여 최고 수축고를 측정한 다음, 세척하고, 15분간 안정화시켰다. 약물에 의한 기관 수축 억제 효과(기관 평활근 이완 효과) 측정은 Magnus 장치에 담긴 Tyrode solution 50ml 당 각 방제 추출액 50~500 μ l를 투여하고, 5분간 방치한 다음 acetylcholine 용액 2 \times 10⁻⁴g/ml를 투여하여, 각 약물을 투여하기 전 acetylcholine 단독투여에 의한 수축고와 비교함으로써 시행하였다. 이 표본에 방금 조제된 acetylcholine 용액 2 \times 10⁻⁴M을 투여하여 최고 수축고를 측정한 다음 세척하고 15분간 안정화시켰다. 약물에 의한 기관 수축 억제효과(기관평활근 이완효과) 측정은, Magnus 장치에 담긴 Tyrode solution 50ml 당 각 약물(방제) 추출액(최종 여액) 50~500 μ l를 투여하고, 5분간 방치한 다음 acetylcholine 용액 2 \times 10⁻⁴M을 투여하여, 각 약물을 투여하기 전 acetylcholine 단독투여에 의한 수축고와 비교함으로써 시행하였다.

7) 통계처리

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

(over the control) 증가시켰다(Fig.1).

III. 성 적

1. 柴梗清肺湯이 일차배양 HTSE 세포로부터 뮤신분비에 미치는 영향

柴梗清肺湯은 최종 추출물 40μl/200μl PBS의 투여 농도에서 뮤신 분비를 3배 이상

2. 柴梗清肺湯이 일차배양 HTSE 세포로부터 LDH 분비에 미치는 영향

柴梗清肺湯은 10~40μl/200μl PBS의 투여 농도 범위에서, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비를 대조군의 2배 가량 증가시켰으므로, 유의성있는 세포독성을 발현할 가능성을 보였다(Fig.2).

3. 通竅湯加味方이 일차배양 HTSE 세포로부터 뮤신분비에 미치는 영향

通竅湯加味方은 최종 추출물 40μl/200μl PBS의 투여 농도에서 뮤신 분비를 60% 가량 증가시켰다.

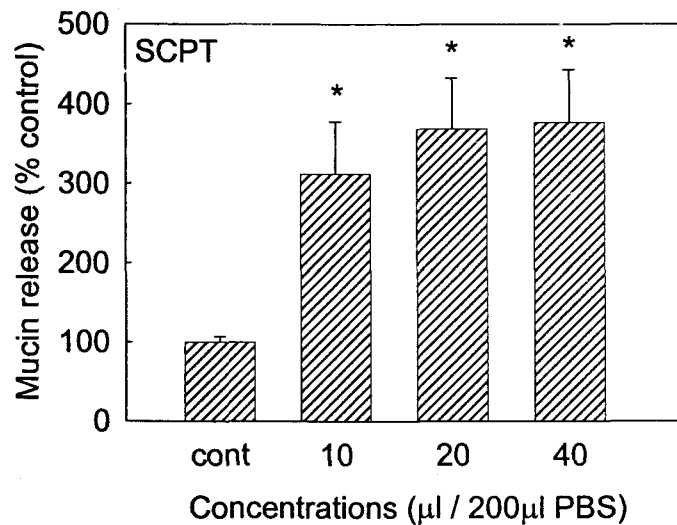


Fig. 1. Effect of SCPT on mucin release from cultured HTSE cells
 Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24hrs and chased for 30min in the presence of varying concentrations of SCPT extract and the amount of 3H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents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

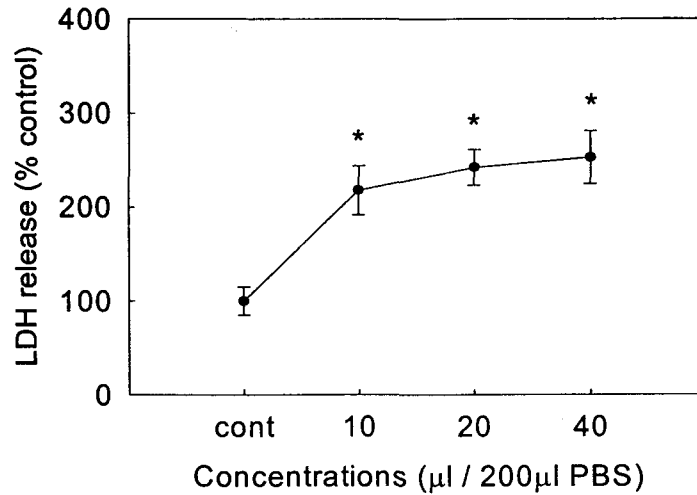


Fig. 2. Effect of SCPT on LDH release from cultured HTSE cells
 Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of SCPT extract for 30min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean±S.E.M. from 4 culture wells.
 * : significantly different from control(p<0.05).

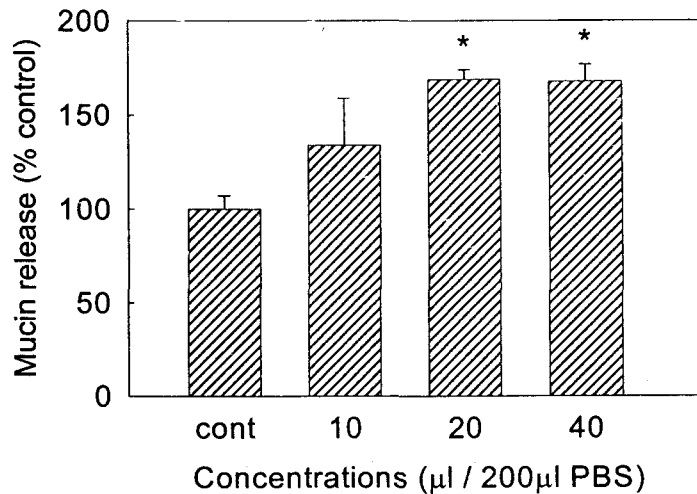


Fig. 3. Effect of TGT on mucin release from cultured HTSE cells
 Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with ³H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of TGT extract and the amount of ³H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents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

4. 通竅湯加味方이 일차배양 HTSE 세포로부터 LDH 분비에 미치는 영향

通竅湯加味方은 최종 추출물 40 μ l/200 μ l PBS의 투여 농도에서, 세포독성의 한 지표인 LDH 분비를 대조군의 5배 가량 증가시켰다 (Fig.4).

5. 柴梗清肺湯이 적출된 토끼 기관 평활근의 긴장도에 미치는 영향

柴梗清肺湯은 최종 추출물 500 μ l/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 2 $\times 10^{-4}$ g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성있는 영향을 주지 못하였다 (Fig.5).

6. 通竅湯加味方이 적출된 토끼 기관 평활근의 긴장도에 미치는 영향

通竅湯加味方은 최종 추출물 50 ~ 500 μ l/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 2 $\times 10^{-4}$ g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상을 유의성있게 억제하였다(Fig.6).

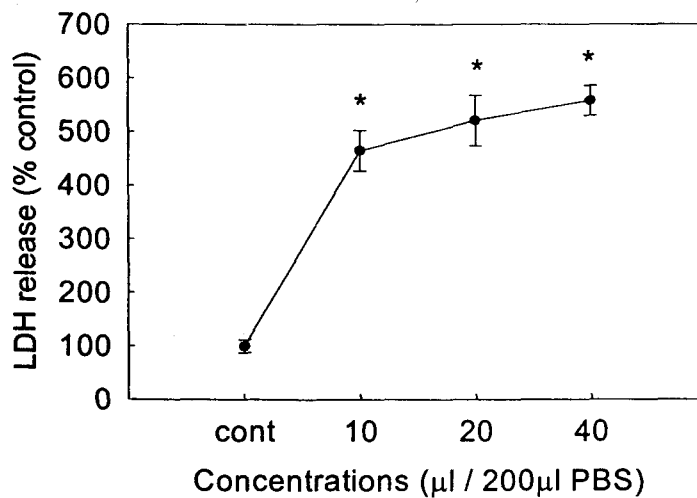


Fig. 4. Effect of TGT on LDH release from cultured HTSE cells
 Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of TGT extract for 30min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean \pm S.E.M. from 4 culture wells.
 * : significantly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

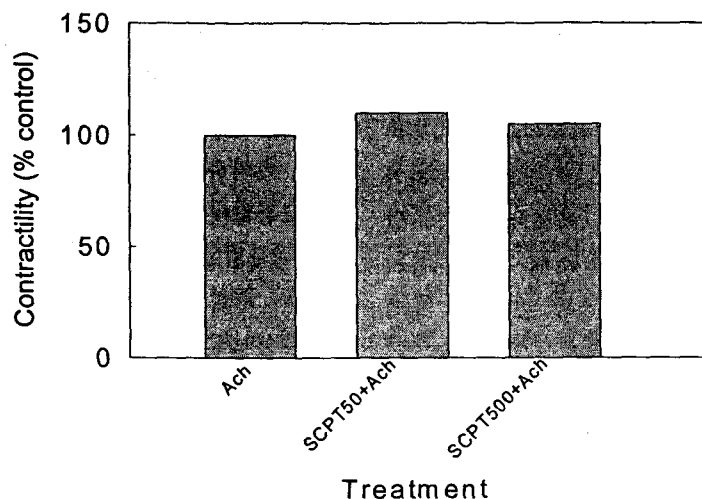


Fig. 5. Effect of SCPT on contractility of isolated tracheal smooth muscle

Isolated tracheal smooth muscle of rabbit was prepared and effect of SCPT extract on acetylcholine-induced contraction was measured as described in Materials and Methods. (Ach ; acetylcholine)

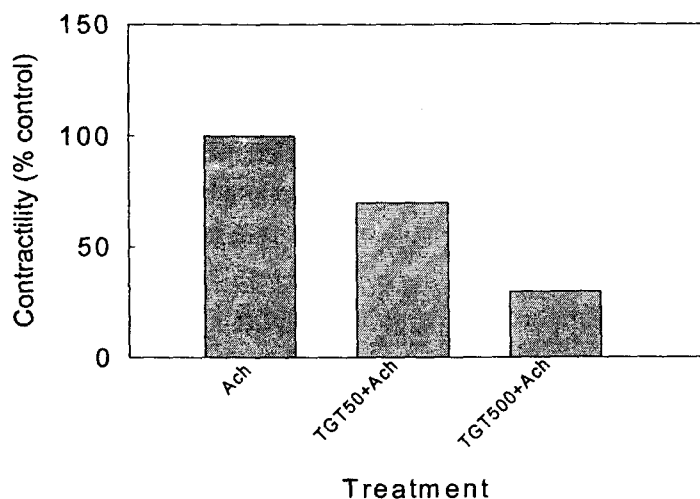


Fig. 6. Effect of TGT on contractility of isolated tracheal smooth muscle

Isolated tracheal smooth muscle of rat was prepared and effect of TGT extract on acetylcholine-induced contraction was measured as described in Materials and Methods. (Ach ; acetylcholine)

IV. 고찰

호흡 또는 흡인에 의해 각종 유해물질들이 기도를 통해 폐내로 유입되는 것을 방지하기 위해 여러 가지 방어기전이 이용되나 이의 결합이나 상호작용의 불균형에 의해 각종 호흡기 질환이 발생하게 되는데, 특히 소아는 “稚陽體, 邪易干”이라 하여 질병에 대한 저항력이 약하여 外邪에 감염되기 쉬우며 臟腑機能과 衛外機能이 취약한 생리적 특징으로 인하여 질병의 이환과 전변이 쉬워 호흡기 질환이 호발하게 된다²⁹⁾.

기도 방어기전은 면역학적 방어기전과 비면역학적 방어기전으로 구분할 수 있다. 면역학적 방어 기전은 림프계, 보체계, 면역 글로불린 계로 분류할 수 있다. 비면역학적 방어 기전에는 식균청소, 여과청소, 점액성 섬모청소, 기침 반사, 점막단백 등이 관여하는데 점액성 섬모청소는 어떤 입자나 병원균이 들어왔을 때 이를 점액전의 형태로 싸서 위로 올려 보내는 것이다³⁰⁾. 점액(mucus)의 작용은 섬모세포와의 협동적 작용을 통해 인체에 불필요하거나 유해한 물질의 제거에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 병원균이 호흡점막에 부착되는 것을 방지하고, 여러 독성물질을 불활성화시켜 해로운 물질로부터 기도를 보호하는 역할을 하고 흡입공기의 습도를 유지하며, 흡입된 화학물질이나 가스 등을 점액의 단백질과 결합, 섬모 작용으로 제거하는 역할을 하기도 하지만 때로는 과분비로 인해 병리현상을 초래하기도 한다. 건강인에서는 하루 10~20ml의 점액분비가 정상 분비량인데, 100ml 이상의 점액분비가 일어날 때 병리현상이 나타난다³¹⁾. 과다한 점액분비와 혈청, 단백질 삼출물, 박리된 상피세포들이 혼합되면 객담이 발생하는데

이는 기도병리 상태의 한 지표가 될 수 있다³²⁾. 비염, 부비동염, 중이염, 알레르기비염, 만성 기관지염, 폐렴 등의 호흡기 질환에서 점액의 과분비가 흔히 나타나며, 코막힘과 호흡곤란을 야기하고, 호흡한 공기중의 해로운 물질을 코점막에 부착시킴으로써 기침을 일으킨다. 점액과분비를 조절하는 고식적인 방법은 점액 자체의 생성량을 줄이는 방법과 점액수송능력을 향상시키는 방법, 점액의 성상을 변화시켜 기침에 의해 분비되는 점액을 잘 배출시키는 방법들인데 점액 자체의 분비량을 줄이는 방법이 가장 효과적이고 임상에서 널리 쓰이는 방법이다⁷⁾.

韓醫學의으로 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 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된다¹⁴⁾. 《東醫寶鑑》¹⁵⁾에는 “伏於包絡, 隨氣上浮, 客肺壅嗽, 而發動者, 痰也 …… 惟飲於胃府, 爲嘔爲吐, 此爲胃家之病不可不知”라 하여 痰飲을 설명하였으며 “實脾吐, 燥脾濕, 是治基本 …… 治痰順氣爲先, 分導次之”의 治法을 사용하도록 하였으며 人蔘, 甘草, 白朮, 半夏, 陳皮, 青皮, 茯苓, 澤瀉 등이 痰飲 치료의 요약이 된다고 하였다.

柴梗清肺湯은 《晴崗醫鑑》²³⁾에 수록되어 있는 처방으로 처방의 方劑學的 구성 특징을 보면 利氣祛痰開膈의 효능이 있는 半夏, 桔梗, 白芥子, 杏仁, 桑白皮, 清肺火하는 黃芩, 前胡, 柴胡, 潤肺清熱하는 赤茯苓, 天花粉으로 구성되어있다. 이상의 약효를 종합하여 보면 柴梗清肺湯은 肺氣定喘, 利氣開膈, 祛痰潤肺, 祛痰鎮咳하는 약물들이 배합되어 胸

滿脇痛 및 胸壓感과 呼吸困難 등이 일어나는 咳嗽, 喘息, 肺炎, 氣管支炎 등의 폐질환에 응용할 수 있음을 알 수 있다.

通竅湯加味方은 《東醫寶鑑》¹⁵⁾에 風寒에 感觸되어 鼻塞聲重하고 流涕하며 不聞香臭 증상에 사용한다고 수록되어 있으며 龔 등^{35,36)}이 風寒 및 肺氣虛寒으로 의한 鼻塞聲重, 流涕를 치료하는 처방으로 널리 사용한 通竅湯에 連翹, 金銀花, 荊芥, 黃芪, 薄荷, 蒼耳子, 辛荊, 貝母, 天花粉, 梔子, 柳根皮, 質砂仁, 山查肉, 桔梗을 加味하여 알려지성비염, 비후성·만성비염 및 부비동염 등에 사용하는 처방이다. 通竅湯加味方の 方劑學的 구성 특징을 보면 祛風, 散表寒, 發表의 효능이 있는 羌活, 防風, 川芎, 白芷, 蒼朮, 細辛, 麻黃, 生薑, 川椒, 藁本과 升陽解肌시키는 升麻, 葛根이 배합되어 顔面部에 風寒邪가 침입하여 생기는 여러 가지 증상을 치료하는 通竅湯에 清熱散風散結시키는 連翹, 金銀花, 荊芥, 薄荷, 貝母와 散風通鼻竅 시키는 辛荊, 蒼耳子 등을 가하여 通鼻竅, 消炎의 효과를 강화시켰다. 약효를 종합하여 보면 通竅湯加味方은 辛溫 약물이 바탕이 되어 發散解表, 祛風止痛하는 작용이 있으며 항소염작용, 항알레르기 및 면역작용이 있다고 알려진 防風, 羌活, 蒼朮, 細辛, 麻黃, 甘草^{37,38)}가 배합되어 風寒聲重, 鼻涕 및 風寒邪가 침입하여 발생하는 알레르기성·염증성 질환 및 기타 비병질환에 응용할 수 있음을 알 수 있다.

이에 저자는 柴梗清肺湯 및 通竅湯加味方이 호흡기 질환에 미치는 영향을 실험적으로 규명하기 위해 처방약물이 뮤신분비 정도와 흰쥐 적출 기관평활근의 수축 및 이완에 미치는 영향도를 측정하였다.

柴梗清肺湯은 최종 추출물 40 μ l/200 μ l PBS의 투여농도에서 뮤신분비를 대조군보다

3배 가량 증가시켰다(Fig.1). 柴梗清肺湯은 길경 등 진해, 거담, 소종, 배농 효능을 발현하는 다수의 본초가 配劑되어 있어서 유의성있는 뮤신 분비 증가현상을 유발한 것으로 추정할 수 있으나 자세한 작용기전의 규명을 위해서는 처방 자체 혹은 처방구성 단미약물을 대상으로 한 부가적 연구가 이루어져야 할 것으로 판단되어지며 제한적이지만 임상적으로 천식, 만성 기관지염 등의 호흡기 질환에서 관찰되는 객담 과다생성 및 분비시 과다 객담의 배출에 이용 가능하여 효과적인 거담약물로 응용될 수 있을 것으로 판단된다.

柴梗清肺湯이 직접적으로 호흡기 배상세포 등에 적용될 때 그 생물학적 활성과 무관하게 세포독성을 유발할 가능성을 검증해 보기 위하여 세포막 손상의 한 지표인 LDH 활성 측정을 시행하였다. 세포막이 손상되면 세포는 그 완전성과 정상기능을 상실한다. 그러므로 세포막 손상시 분비되는 LDH의 활성 측정을 세포독성 유발여부 측정의 한 방법으로 채택할 수 있다.^{39,40)}

실험 결과 柴梗清肺湯은 최종 추출물 10 ~ 40 μ l/200 μ l PBS의 투여 농도에서 LDH 분비를 대조군에 비해 2배 가량 증가시켰으므로 세포독성을 발현하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 그러나 뮤신 분비의 증가현상이 단순히 약물에 의한 비특이적인 세포막 손상의 결과로 인한 누출(leakage)에 기인한 것으로 단정하기는 어려울 것으로 사료된다.

通竅湯加味方은 최종 추출물 40 μ l/200 μ l PBS의 투여 농도에서 뮤신분비를 60% 가량 증가시켰다(Fig.3). 通竅湯加味方은 白芷, 桔梗, 貝母 등 排膿消腫 및 鎮咳去痰 효능을 발현할 가능성이 있는 약물을 함유하고 있어서 유의성있는 뮤신분비 증가현상이 발현된 것으로 추측할 수 있으며 향후 거담제로써의 이용

가능성이 높다고 사료된다.

한편 세포독성의 한 지표인 LDH 분비의 경우에는 대조군보다 5배 이상 분비를 증가시키는 결과를 보임으로써 이 방제가 배양된 기도 상피세포에 대해 유의성있는 세포막 손상을 일으킬 가능성이 있음을 보여주고 있다(Fig.4). 향후 柴梗淸肺湯과 通竅湯加味方에 대해 살아있는 실험동물을 이용한 in vivo 실험에서도 유의성있는 독성이 발현되는가를 검증하는 추가적 독성 연구와 뮤신분비 증가 기전의 규명을 위해서는 처방자체 및 처방구성 단미약물을 대상으로 한 후속 연구가 반드시 이루어져야 할 것으로 사료된다.

기관은 동적인 구조물로 주위의 환경자극에 따라 크기를 조절하는데 기도의 평활근층이 수축되면 기도의 협소가 증폭될 수 있으며, 기도 내 분비물 양의 증가도 기저 기도내강의 면적을 감소시키고 평활근의 수축효과를 증폭한다⁹⁾. 호흡기 질환의 병태생리적 이상인 기도의 협소는 기도저항을 높이게 되는데 이를 완화하고 평활근 이완, 반응조절 및 기관지 확장을 유도하기 위해 Bronchodilators가 사용되나 임상에서는 다양한 제한점이 있는 것으로 알려져 있다⁴¹⁾.

본 연구에서는 柴梗淸肺湯 및 通竅湯加味方이 적출된 토끼 기관 평활근의 수축도에 미치는 영향을 검증함으로써, 천식 등의 기관 평활근 수축 상태에서의 두 방제에 의한 기관 평활근 이완 효능을 검증하고자 하였다.

실험결과 柴梗淸肺湯은 최종 추출물 50 ~ 500 μ l/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 2×10^{-4} g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성있는 영향을 주지 못하였다 (Fig.5). 그러나, 通竅湯加味方은 최종 추출물 50 ~ 500 μ l/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기

관에서 2×10^{-4} g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상을 유의성있게 억제하였다 (Fig.6). 이러한 연구결과로 볼 때, 柴梗淸肺湯의 경우 기관 평활근의 긴장도에 영향을 주지 못하여 기관지 확장효과를 발현하지 못함으로써 항천식 효능은 나타내지 않을 가능성이 있으며, 通竅湯加味方의 경우 방제에 함유된 마황 등에 의해 기관지 평활근 이완이 유발된 것으로 잠정적인 결론을 내릴 수 있을 것이다. 그러나 확정적인 항천식 효과의 검증을 위해서는 두 방제가 ovalbumin 또는 Ascaris 유래 항원으로 유발된 천식 모델 흰쥐의 기도저항 및 점액의 생성에 미치는 영향 등을 규명하는 과정에서 각 방제의 항천식 활성의 검증 과정이 수반되어야 할 것으로 사료된다.

상기의 연구결과를 종합하여 보면 비록 제한적이긴 하나 柴梗淸肺湯 및 通竅湯加味方은 뮤신분비 증가의 효능이 있어 기도의 병원균 방어능력 및 점액섬모 수송 능력을 증진시킬 수 있어 호흡기 질환의 치료제로 응용될 수 있다고 생각된다. 또한 후속 연구를 통하여 기도 객담분비 조절약물의 개발 가능성을 제시할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

柴梗淸肺湯과 通竅湯加味方의 객담생성, 뮤신분비 조절 효능 및 기관 평활근 이완 효과를 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 柴梗淸肺湯은 호흡기 배상세포에서의 뮤신분비를 증가시켰으며, 세포독성을 발현할 가능성을 보였다.

2. 通竅湯加味方은 호흡기 배상세포에서의 뮤신분비를 증가시켰으며, 역시 세포독성을 발현할 가능성을 보였다.
3. 柴梗清肺湯은 토끼 적출 기관 평활근의 수축도에는 유의성있는 영향을 주지 못하였다.
4. 通竅湯加味方은 토끼 적출 기관 평활근의 수축을 억제하였다.

상기의 연구 결과들은 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 柴梗清肺湯과 通竅湯加味方의 뮤신분비 증가 효능은 호흡기 질환의 치료에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 江育仁, 張奇文. 實用中醫兒科學. 上海: 上海科學技術出版社. 1995:455-461.
2. 강미선, 김장현. 소아만성 재발성 호흡기 증상에 대한 고찰. 대한한방 소아과학회지. 2002;16(2):84.
3. 丁奎萬. 東醫兒科學. 서울: 행림출판. 1990:363.
4. 홍창의. 소아과학. 서울: 대한교과서주식회사. 1997:480-517.
5. 新谷太. Step to internal medicine. 서울: 정담. 2002:19-24.
6. 의학교육연수원저. 임상진단학. 서울: 서울대학교출판부. 1990:129-32.
7. 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. 1983.
8. 대한천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울:군자출판사. 2002:237-65.
9. 한용철. 임상호흡기학. 서울: 일조각. 1998: 208,215.
10. 박성학. 기관지천식-진단, 결핵 및 호흡기 질환. 1995;42(5):635-45.
11. 김유영. 기관지 천식의 최신 치료전략, 결핵 및 호흡기질환. 1996;43(1):1-7.
12. 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, 1981;56: 345-53.
13. Gleich, G.J. The eosinophil and bronchial asthma. Current understanding. J. Allergy Clin. Immunol. 1990;85:422-36.
14. 上海中醫學院. 中醫內科學. 香港: 商務印書館. 1982:24-5.
15. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:法人文化社. 1999:277,280-281,1235-6.
16. 전국한의학대학폐계내과학교실. 동의폐계내과학. 서울: 한문화사. 2002:52-5, 102-14,144-99.
17. 이정은, 박양춘. 淸金降火湯 및 瓜蒌枳實湯이 呼吸器 杯狀細胞로부터의 뮤신 분비에 미치는 영향. 한방내과학회지.

- 2004;5(2):238-44.
18. 나도균, 이충재, 박양춘. 小青龍湯 및 加味治哮喘散이 호흡기 배상세포로부터의 뮤신 분비에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2004;18(3):734-9.
 19. 임도희, 이정은, 한영주, 황지호, 조철준, 배한호, 박양춘. 杏蘇湯 및 加味八味丸이 호흡기 배상세포로부터의 뮤신분비에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2005;26(1):221-8.
 20. 金潤希, 金允姬. 取淵湯 및 治哮喘散加味方이 기도점액분비 및 기관평활근 긴장도에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 2005;19(1):11-23.
 21. 김영복, 윤용갑. 通竅湯의 즉각형 알레르기 반응 억제 효과에 관한 실험적 연구. 동의생리병리학회지. 2002;16(1):111-6.
 22. 권현, 정승기, 이연구. 柴梗淸肺湯과 柴梗半夏湯이 Xylene으로 인한 흰쥐의 폐수종에 미치는 영향. 경희의학. 1989;5(3):337-45.
 23. 金永勳. 晴崗醫鑑, 서울:성보사. 1992:130-1.
 24. 대전대학교 한방병원. 대전대학교 한방병원 처방집. 대전:한국출판사. 2001:414.
 25. Kim, K.C. Possible requirement of collagen gel substratum for production of mucinlike glycoproteins by primary rabbit tracheal epithelial cells in culture. In Vitro. 1985;21:617-21.
 26. 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. 1987;105, 158a.
 27. Wu, R. and Smith, D. Continuous multiplication of rabbit tracheal epithelial cells in a defined, hormone-supplemented medium. In Vitro 1982; 18:800-812.
 28. Wu, R., Nolan, E. and Turner, C. Expression of tracheal differentiated function in serum-free hormone-supplemented medium. J. Cell Physiol. 1985;125, 167-81.
 29. 김덕곤, 김윤희, 김장현, 박은정, 백정한, 이승연, 이진용, 장규태. 동의소아과학. 서울:정담. 2002:29.
 30. 이동근. 호흡기질환 질환의 이론과 실제 -기도면역학, 대한소아알레르기 및 호흡기학회. 1994;4(2):189-94.
 31. 박영주. 진해 및 거담제. 생약학회지. 1975;6(3):179-84.
 32. 趙美貞. 햄스터 기관표면 상피 일차배양 세포로부터의 뮤신결합 단백질의 특성 규명. 서울:서울대학교. 2000:4.
 33. 전국 한의과대학 본초학교수 공편. 본초학. 서울:영림사. 1991:121-6,133-7,192, 302-4,334-5,347-9,351-2,448-9,458,460-1,463-4,478-85,540-1,581-2,622-3.
 34. 申佶求. 신씨본초학. 서울:수문사. 1988: 1,16,61,80,121,148,211,221,228,253,242-5, 357,390,407,456,462,463,465,479,627,649,6 63,722,772,725,728,729.
 35. 龔信. 古今醫鑑. 江西:江西科學技術出版社. 1990:239.
 36. 龔廷賢. 增補萬病回春. 서울:一中社. 1990:4.
 37. 이상인. 韓藥臨床應用. 서울:成輔社. 1982:44-6,50-8,73-4,76-7,235-6,245-6,2 99-301,361-4.

38. 苗明三. 중약 약리와 임상. 서안 : 세계 도서출판공사. 1998:138-43,337-9,491-3, 629-31,799-801,1106-112.
39. Freshny Measurement of viability and cytotoxicity. In, Culture of animal cells. Willey-Liss. Inc. 1994:288.
40. 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. 1994;11:188-98.
41. mosby international. ltd. crash course. 서울:한우리. 2002:103-4.