

네트워크 약리학을 이용한 윤폐환(潤肺丸)의 COPD 치료 효능 및 작용기전 연구

김민주^{1,2,a}, 양아람^{1,a}, 권빛나^{1,3*}, 김동욱^{1,3*}, 배기상^{1,3,4*}

1 : 원광대학교 한의과대학, 2 : 솔담한방병원
3 : 원광대학교 한방심신증후군연구센터, 4 : 원광대학교 한국전통의학연구소

Network Pharmacology-based Prediction of Efficacy and Mechanism of Yunpye-hwan Acting on COPD

Minju Kim^{1,2a}, Aram Yang^{1a}, Bitna Kweon^{1,3*}, Dong-Uk Kim^{1,3*}, Gi-Sang Bae^{1,3,4*}

1 : School of Korean Medicine, Wonkwang University, 2 : Soldam hospital of korean medicine
3 : Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Wonkwang University
4 : Research center of Traditional Korean medicine, Wonkwang University

ABSTRACT

Objectives : Because predicting the potential efficacy and mechanisms of Korean medicines is challenging due to their high complexity, employing an approach based on network pharmacology could be effective. In this study, network pharmacological analysis was utilized to anticipate the effects of YunPye-Hwan (YPH) in treating Chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

Methods : Compounds and their related target genes of YPH were gathered from the TCMSP and PubChem databases. These target genes of YPH were subsequently compared with gene sets associated with COPD to assess correlation. Next, core genes were identified through a two-step screening process, and finally, functional enrichment analysis of these core genes was conducted using both Gene Ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Pathways.

Results : A total of 15 compounds and 437 target genes were gathered, resulting in a network comprising 473 nodes and 14,137 edges. Among them, 276 genes overlapped with gene sets associated with COPD, indicating a significant correlation between YPH and COPD. Functional enrichment analysis of the 18 core genes revealed biological processes and pathways such as "miRNA Transcription," "Nucleic Acid-Templated Transcription," "DNA-binding Transcription Factor Activity," "MAPK signaling pathway," and "TNF signaling pathway" were implicated.

Conclusion : YPH exhibited significant relevance to COPD by modulating cell proliferation, differentiation, inflammation, and cell death pathways. This study could serve as a foundational framework for further research investigating the potential use of YPH in the treatment of COPD.

Key words : YunPye-Hwan (YPH), Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), Network Pharmacology

^aEqually contributed

*Correspondence to : Bitna Kweon, School of Korean Medicine, Wonkwang University

· Tel : +82-63-850-6842 · E-mail : kbn306@naver.com

Dong-Uk Kim, School of Korean Medicine, Wonkwang University

· Tel : +82-63-850-6842 · E-mail : ckck202@naver.com

Gi-Sang Bae, school of Korean Medicine, Wonkwang University

· Tel : +82-63-850-6842 · E-mail : baegs888@wku.ac.kr

· Received : 11 April 2024

· Revised : 23 April 2024

· Accepted : 25 May 2024

I. 서론

한약은 임상에서 오랜 시간을 거쳐 효능을 보이는 것으로 알려졌음에도 불구하고 메커니즘 연구의 한계, 구성 성분의 다양성 등의 여러 이유로 기존의 실험 방법을 통해서도 그 유효성을 입증하는데 한계가 있었다¹⁾. 시스템 생물학의 발전으로 복잡한 질병은 단일 단백질의 개입만으로는 충분히 설명될 수 없다는 사실이 밝혀지면서, 기존의 'one-drug, one-target, one-disease'의 방식을 보완하기 위해 최근 다중 성분이 다중 경로를 통해 다중 표적에 작용한다는 이론인 '네트워크 약리학'에 관한 연구가 현재 활발하게 이루어지고 있다²⁾. 네트워크 약리학은 한약 구성성분들의 시너지효과를 연구할 수 있는 효율적인 방법으로, 네트워크 약리학이 발전함에 따라 한약처방의 메커니즘을 설명하기에도 유리해졌다^{2,3)}.

만성 폐쇄성 폐 질환(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)은 호흡 장애를 유발하는 폐 질환의 총칭으로 만성 기관지염과 폐기종 등을 포함한다⁴⁾. 흡연, 실내외 대기 오염, 직업적 노출 등으로 인해 기도과 폐에 반복적으로 만성 염증반응이 발생하고, 이로 인해 기도가 좁아지고 폐 실질이 파괴되는 질환으로, 점차 진행하여 기침, 가래, 호흡곤란 등의 증상이 나타나는 만성적이고 비가역적인 기류 제한을 특징으로 한다⁵⁾. 현재 COPD의 약물치료는 기관지 확장제 및 스테로이드가 중심이 되며, 기도 평활근의 긴장도 변화를 통해 폐 기능을 개선시킨다⁶⁾. 기관지 확장제는 증상 완화, 운동능력과 삶의 질 향상 및 질병의 급성 악화 감소에는 도움을 주지만, 폐 기능 감소를 억제하거나 사망률을 개선시키다는 보고는 없다⁷⁾. 스테로이드의 사용은 COPD의 악화로부터의 회복이나 폐 기능 회복을 촉진하지만 장기간 지속 투여가 치료효과를 높이지 못하며, 부작용 발생의 위험이 높아진다는 점에서 권장되지 않는다⁸⁾. 이에 따라 COPD의 진행을 억제하며, 그 증상을 부작용 없이 장기적으로 조절 가능한 효과적이며 안전한 치료법 개발이 필요하다.

한의학에서 COPD는 해수(咳嗽), 담음(痰飲), 폐창(肺脹), 천증(喘症)의 범주에 속하는 것으로 보고 거사선폐(祛邪宣肺), 건비익신(健脾益腎), 납기정천(納氣定喘), 보신(補腎) 등의 치법(治法)을 응용하고 있다⁹⁾. COPD의 한약치료의 효과에 대한 기존 연구로는 소청룡탕(小青龍湯), 선폐정천탕(宣肺定喘湯), 생맥청폐음(生脈淸肺飲), 사간탕(瀉肝湯)에서 유래한 SGX01, 청상보하탕(淸上補下湯)에서 유래한 PM014, 감길탕(甘桔湯)에서 유래한 GGX 등이 있지만, 자세한 기전 연구 및 후속 연구가 진행되지 못하고 있다¹⁰⁻¹⁶⁾. 윤폐환(潤肺丸, YunPye-Hwan; YPH)은 동의보감(東醫寶鑑) 잡병편(雜病篇) 권오(卷五)에 수록된 처방이다¹⁷⁾. 천패모(川貝母), 과루인(瓜蒌仁), 청대(靑黛)로 구성되어 조담(燥痰), 건해(乾咳), 노수(勞嗽)를 치료하며 해질 무렵에 기침을 하는 황혼수다(黃昏嗽多)를 윤폐환을 써서 치료할 수 있다고 언급되어 있어, COPD에 유효할 것으로 예상되지만, 관련 연구는 진행되지 않았다. 이에 본 연구에서는 천패모, 과루인, 청대 3가지 약재의 조합에 대해 네트워크 약리학 분석 기법을 활용하여 구성 약재, 구성 성분 및 타겟유전자 간 네트워크를 구성하고 분석함으로써 COPD 치료에 있어 윤폐환의 응용 가능성에 대하여 조사하였다.

II. 방법

1. 윤폐환 구성약재의 기원 식물 설정

윤폐환의 구성약재 중 천패모는 백합과(Liliaceae)에 속한 천패모 *Fritillaria cirrhosa* D. don, 암자패모 *F. unibracteata* Hsiao et K.C. Hsia 또는 사사패모 *F. delavayi* Franch., 감숙패모 *F. przewalskii* Maxim.의 인정으로, Traditional Chinese Medicine Systems pharmacology(TCMSP) 데이터베이스에는 Fritillariae Cirrhosae Bulbus으로 표기되어 있어 해당 자료를 활용하였다. 과루인은 박과(Cucurbitaceae)에 속한 하늘타리 *Trichosanthes kirilowii* Maxim.와 동속 근연 식물의 성숙한 과실의 종자로, TCMSP 데이터베이스에는 *Trichosanthes kirilowii* Maxim.으로 표기되어 있어 해당 자료를 활용하였다. 청대는 쥐꼬리망초과(Acanthaceae)에 속한 마람 *Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek와 마디풀과(Polygonaceae)에 속한 쪽 *Polygonum tinctorium* Ait. 및 십자화과(Cruciferae)에 속한 송람 *Isatis indigotica* Fort.의 잎이나 경엽을 가공하여 얻은 분말이나 덩어리로, TCMSP 데이터베이스에는 Indigo Naturalis으로 표기되어 있어 해당 자료를 활용하였다.

2. 윤폐환 구성 약재의 활성 성분 예측

TCMSP 데이터베이스를 활용하여 윤폐환을 구성하는 약재들의 성분을 수집하였다. 윤폐환의 구성약재의 성분의 약물동태학을 반영하여 Oral Bioavailability (OB), Drug Likeness (DL)의 2가지 기준을 활용하여 잠재적으로 활성이 기대되는 성분을 선별하였다. OB는 경구투여 약물 중 전환되지 않고 전신 순환에 도달한 약물의 비율을 의미하며, DL은 잠재적 활성성분이 약물과 얼마나 유사한지에 대한 추정을 위한 정성적 개념으로 약동학 및 약학적 특성의 최적화에 활용된다. 본 연구에서는 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 의 기준을 적용하였으며 해당 기준을 모두 충족하는 성분을 잠재적 활성 성분으로 예측하였다.

3. 윤폐환의 활성 성분의 타겟유전자 수집 및 네트워크 구성

수집된 활성 성분을 이용하여 Pubchem 데이터베이스에서 타겟유전자를 수집하였다. Pubchem 데이터베이스에 "Chemical-Gene Co-Occurrences in Literature"가 존재하지 않은 성분은 제외하였으며, 중복성분과 오류 성분을 제거한 후 최종적으로 타겟유전자를 수집하였다. 이후 STRING 데이터베이스(<https://string-db.org/>)를 통해 combination score: 0.7 (high confidence)로 설정하여 네트워크를 생성하였다.

4. COPD 관련 유전자 수집 및 윤폐환 타겟유전자와의 비교 분석

COPD 치료에 있어 윤폐환의 응용 가능성을 확인하기 위하여 COPD 유전자와 윤폐환의 타겟유전자를 비교 분석하였다. COPD 관련 유전자는 GeneCards 데이터베이스(<https://www.geneCards.com/>)를 통해 수집하였다.

genecards.org/) 로부터 수집하였으며 “COPD”, “Chronic Obstructive Pulmonary Disease”, “Pulmonary Disease, Chronic Obstructive”로 검색을 시행한 후 최종적으로 수집된 COPD 관련 유전자는 총 5,511개였다. 이후 윤페환의 타겟유전자와 비교 후 중복유전자를 도출하고 그 일치율을 계산하였다.

5. 단백질 상호작용(Protein-Protein Interaction, PPI) 네트워크 구성 및 COPD 관련 핵심 유전자 분석

윤페환과 COPD의 중복유전자를 기반으로 STRING 데이터베이스에서 PPI 네트워크를 구성하였다. 이후 PPI 네트워크에서 핵심적으로 작용하는 유전자, 즉 핵심유전자를 선별하기 위해 Cytoscape 3.10.1 software (Cytoscape Consortium, CA, USA; <http://cytoscape.org/>)을 활용하여 PPI 네트워크에서 단백질들 간의 위상분석을 진행하였으며, 연결중심성(Degree Centrality; DC), 매개중심성(Betweenness centrality; BC), 근접중심성(Closeness centrality; CC)의 3가지 지를 활용하였다. 각 지표별로 평균값을 도출하고 평균값 이상에 해당하는 유전자를 선별하는 1차 스크리닝 과정을 진행하였고, 이후 해당 과정을 한번 더 반복하는 2차 스크리닝 과정을 진행한 후에 최종적으로 선별된 유전자를 핵심유전자로 선정하였다.

6. Functional enrichment 분석

COPD 치료에서 핵심유전자의 기능과 작용 기전을 예측하기 위하여 Enrichr 데이터베이스(<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>)를 활용하여 functional enrichment 분석을 수행하였다. The Gene Ontology (GO) enrichment 분석과 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 총 2가지의 데이터베이스를 사용하였으며, 이후 *p*-value를 기준으로 나열한 후 주된 작용을 할 것으로 추정되는 pathway를 선정하였다.

7. 윤페환의 COPD 관련 Herb-Compound-Target-Pathway (H-C-T-P) 네트워크 구성

위의 과정을 통하여 수집된 데이터를 Cytoscape software 3.10.1을 활용하여 3번의 단계를 거쳐 분석 후 H-C-T-P 네트워크를 구성하였다.

III. 결 과

1. 윤페환 구성 약재의 활성 성분 및 타겟유전자 분석

TCMSP database에서 윤페환을 구성하는 약재들의 성분의 흡수, 분배, 대사, 배설의 특성(absorption, distribution, metabolism, excretion; ADME)을 고려하여 OB≥30%, DL≥0.18의 2가지 기준을 적용하였고, Pubchem ID가 밝혀진 총 18종의 성분을 활성 성분으로 예측하였다. 천패모는 ZINC03860434, Beta-sitosterol, Sitosterol, Peimisine, Cyclopamine, 과루인은 Mandenol, Diosmetin, Spinasterol, Hydroxygenkwanin, Schottenol, Linolenic acid ethyl ester, Vitamin E, 청대는 Beta-sitosterol, Isovitexin, Isoindigo, 6-(3-oxoindolin-2-ylidene)indolo[2,1-b]quinazolin-12-one, Indirubin, Indigo의 성분이 포함되었다. 이후 타겟유전자가 밝혀지지 않은 천패모의 성분 ZINC03860434, Sitosterol 2개를 제외하고 총 16종의 성분을 수집하였다 (Table 1). 이후 중복 성분을 제거하고, 최종적으로 총 15종의 성분을 활용하여 네트워크를 구성하였다. 총 15종의 윤페환 성분과 연관된 타겟유전자는 437개로 나타났으며, 생성된 네트워크는 437 nodes와 14,137 edges를 포함하였다 (Fig. 1).

Table 1. Physico-chemical properties of the compounds from YPH for good oral bioavailability.

Mol ID	Molecule Name	MW	AlogP	Hdon	Hacc	OB(%)	DL
Fritillariae Cirrhosae Bulbus							
MOL000358	Beta-sitosterol	414.79	8.08	1	1	36.91	0.75
MOL004440	Peimisine	427.69	3.16	2	4	57.4	0.81
MOL009027	Cyclopamine	411.69	4.26	2	3	55.42	0.82
Trichosanthes Kirilowii Maxim							
MOL001494	Mandenol	308.56	6.99	0	2	42	0.19
MOL002881	Diosmetin	300.28	2.32	3	6	31.14	0.27
MOL004355	Spinasterol	412.77	7.64	1	1	42.98	0.76
MOL005530	Hydroxygenkwanin	300.28	2.32	3	6	36.47	0.27
MOL006756	Schottenol	414.79	8.08	1	1	37.42	0.75
MOL007179	Linolenic acid ethyl ester	306.54	6.55	0	2	46.1	0.2

Mol ID	Molecule Name	MW	AlogP	Hdon	Hacc	OB(%)	DL
MOL007180	Vitamin-e	490.69	3.78	3	9	32.29	0.7
Indigo Naturalis							
MOL000358	Beta-sitosterol	414.79	8.08	1	1	36.91	0.75
MOL002322	Isovitexin	432.41	-0.06	7	10	31.29	0.72
MOL011335	Isoindigo	262.28	1.65	2	4	94.3	0.26
MOL001810	6-(3-oxoindolin-2-ylidene)indolo[2,1-b]quinazolin-12-one	363.39	3.54	1	5	45.28	0.89
MOL002309	Indirubin	262.28	1.88	2	4	48.59	0.26
MOL001781	Indigo	262.28	2.11	2	4	38.2	0.26

*MW, molecular weight(g/mol); LogP, lipophilicity; Hdon, hydrogen-bond donor; Hacc, hydrogen-bond acceptor; OB, Oral bioavailability; DL, Drug-likeness

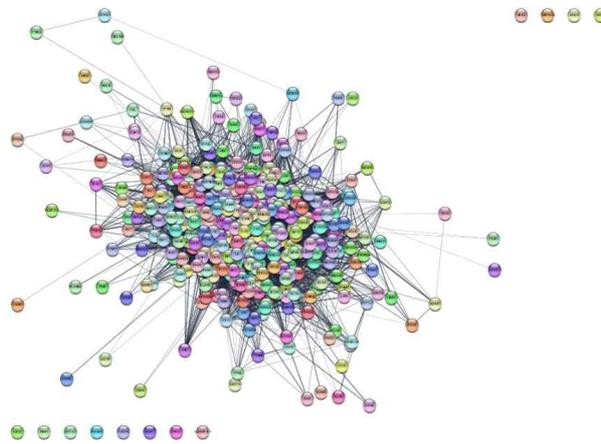


Fig. 1. Fig. 1. The network of YunPye-Hwan(YPH) with 437 node and 14,137 edges. It represents a network composed of target genes of 15 bioactive compounds.

2. 윤페환 네트워크와 COPD 유전자의 연관성

Genecards 데이터베이스를 통해 COPD와 관련된 총 5,511개의 유전자를 수집하였으며, 이후 윤페환 구성성분의 타겟유전자와의 비교 분석을 통해 COPD와의 연관성을 확인하였다. 분석 결과 윤페환의 구성성분의 타겟유전자 437개 중 COPD 유전자와 중복되는 유전자는 총 276개로 나타났으며, 윤페환 네트워크와 COPD 네트워크는 약 63.15%의 일치율을 나타냈다 (Fig. 2).

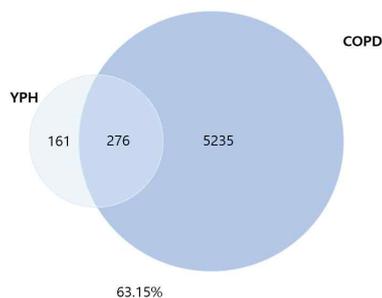


Fig. 2. Venn diagram of overlapping targets between YPH and COPD. There are 276 target genes in YPH bioactive compounds and COPD.

3. 윤페환과 COPD의 핵심유전자 및 네트워크 분석

중복되는 276개의 유전자를 바탕으로 PPI 네트워크를 재 구축하여 276 nodes와 9,617 edges를 도출했다. 도출된 결과를 토대로 Cytoscape software 3.10.1의 Analyzer network tool을 활용하여 DC, BC, CC를 기준으로 위상분석을 진행하였으며, 1차 스크리닝 후 평균값은 DC>69.6884058, BC>0.002907483, CC>0.564572822였으며, 생성된 네트워크는 64 nodes, 1,752 edges를 포함하였다. 이후 진행된 2차 스크리닝에서 평균값은 DC>137.609375, BC>0.009511525, CC>0.669843594였고, 이를 충족하는 유전자를 핵심 유전자로 선별하였으며 AKT1, ALB, BCL2, CASP3, CTNBN1, EGFR, ESR1, IL1B, IL6, INS, JUN, MYC, PPARG, PTGS2, PXDN, STAT3, TNF, TP53, 총 18개의 유전자를 포함하는 18 nodes, 152 edges의 네트워크를 구축하였다 (Fig. 3 and Table 2).

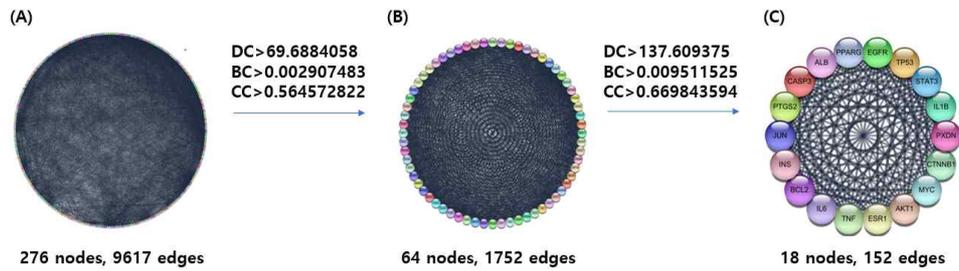


Fig. 3. Screening process of core genes of YPH bioactive compounds against COPD according to three measures of centrality. (A) Network of overlapping targets between YPH and COPD. (B) Network of primary screening process. (C) Network of final screening process. DC indicates degree centrality, BC indicates betweenness centrality, and CC indicates closeness centrality.

Table 2. Detailed information of the 18 core genes.

Target	Degree Centrality	Betweenness Centrality	Closeness Centrality
AKT1	216	0,033482636	0,825301205
ALB	207	0,038306896	0,803519062
BCL2	175	0,011715663	0,730666667
CASP3	177	0,013436876	0,73655914
CTNNB1	171	0,015701675	0,726790451
EGFR	177	0,019008147	0,73655914
ESR1	165	0,014793351	0,713541667
IL1B	194	0,028728049	0,771830986
IL6	208	0,028272297	0,805882353
INS	199	0,032861156	0,785100287
JUN	165	0,011300906	0,711688312
MYC	161	0,014037341	0,706185567
PPARG	163	0,017289264	0,70984456
PTGS2	150	0,010895948	0,685
PXDN	170	0,011669066	0,722955145
STAT3	184	0,016826731	0,750684932
TNF	205	0,025098077	0,798833819
TP53	194	0,022449835	0,771830986

4. GO enrichment 분석과 KEGG pathway 데이터베이스를 활용한 윤페환 작용 기전 분석

COPD 치료에 있어 윤페환의 기능 및 기전을 탐색하여 선별된 18개의 핵심 유전자를 Enrichr에 입력한 후 GO enrichment 분석과 KEGG pathway 데이터베이스를 확인하였다. GO enrichment 분석 결과 생물학적 과정(Biological Process; BP)에서 1,033개, 세포 구성요소(Cellular Component; CC)에서 52개, 분자 기능(Molecular Function; MF)에서 106개의 GO를 확인할 수 있었다. 그 중 *p*-value를 기준으로 각 카테고리의 상위 10개의 GO를 분석하였을 때 생물학적 과정에서는 'Regulation Of miRNA Transcription',

'Positive Regulation Of Nucleic Acid-Templated Transcription' 등이, 세포 구성요소에서는 'Euchromatin', 'Nucleus', 'Endoplasmic Reticulum Lumen' 등이, 분자 기능 측면에서는 'DNA Binding', 'DNA-binding Transcription Activator Activity' 등과 연관 있음을 확인하였다.

KEGG pathway 데이터베이스를 통해 총 177개의 기전을 확인할 수 있었다. 그 중 *p*-value를 기준으로 나열된 상위 30개의 pathway 중에서 COPD의 기전과 관련된 'MAPK signaling pathway', 'TNF signaling pathway', 'IL-17 signaling pathway', 'C-type lectin receptor signaling pathway', 'HIF-1 signaling pathway', 'Apoptosis', 'JAK-STAT signaling pathway' 총 7가지 pathway를 선정하였다.

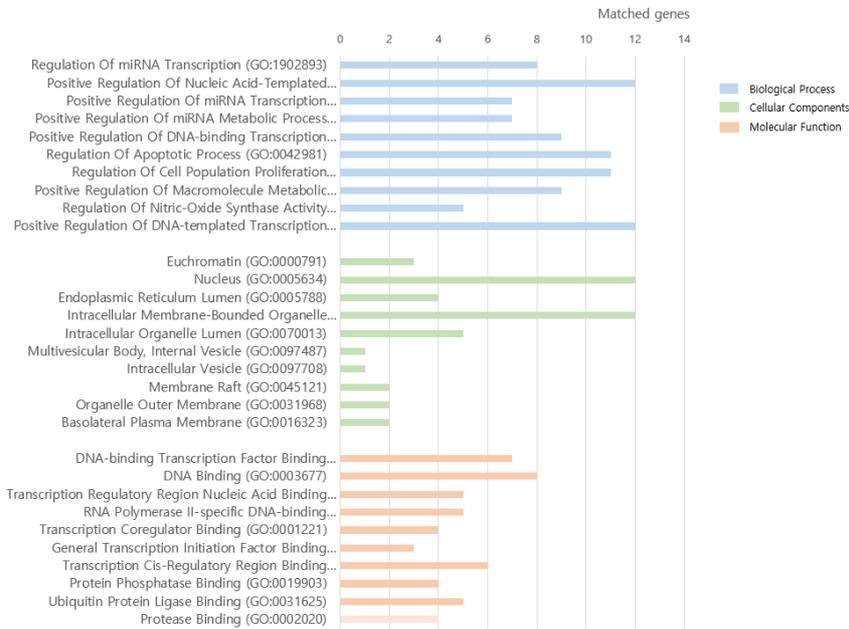


Fig. 4. GO enrichment analysis. The bar chart represents biological Process (blue), cellular component (green), and molecular function (pink), comprising the top 10 terms related to core genes of YPH against COPD in order of p -value.

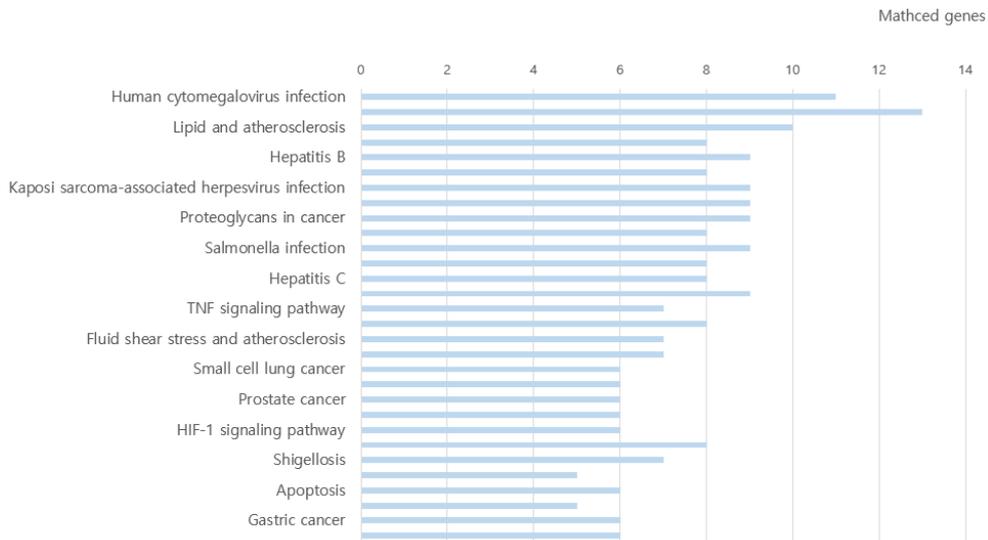


Fig. 5. KEGG pathway analysis. The bar chart visualizes the top 30 KEGG pathways of core genes of YPH against COPD in order of p -value.

5. H-C-T-P 네트워크를 통한 윤패환의 COPD 치료 기전 분석

타겟유전자가 밝혀진 총 16개의 구성 성분 중 핵심유전자와 관련된 성분은 14개로 나타났다. 그 중 천폐모와 청대의 성분인 Beta-Sitosterol이 14개로 가장 높은 연관성을 보였으며, 과루인의 성분인 Spinasterol이 12개 Disometin과 Mandenol이 11개, 천폐모의 성분인 Peimisine이 10개 순으로 연관됨을 확인하였다. COPD 치료와 관련된 Pathway와 밀접한 연관성을 보이는 유전자는 AKT1, IL6, JUN, TNF 등으로 나타났다. 7개의 Pathway 중 IL-17 signaling pathway를

제외한 나머지 6개의 pathway와 연관성을 보이는 AKT1은 Beta-Sitosterol, Peimisine, Diosmetin, Hydroxygenkwanin, Schottenol, Spinasterol의 6개의 성분에서 확인할 수 있었으며, IL6, JUN, TNF는 5개의 Pathway와 연관성을 보였다. JUN은 Indirubin 1개의 성분, IL6는 Beta-Sitosterol, Cyclopamine, Diosmetin, Spinasterol, Vitamin-E, Indigo, Isovitexin의 8개의 성분과 연관성을 보였으며, TNF는 Linolenic acid ethyl ester, Indigo, Isoindigo를 제외한 13개의 성분과 연관성을 보였다 (Fig. 6).

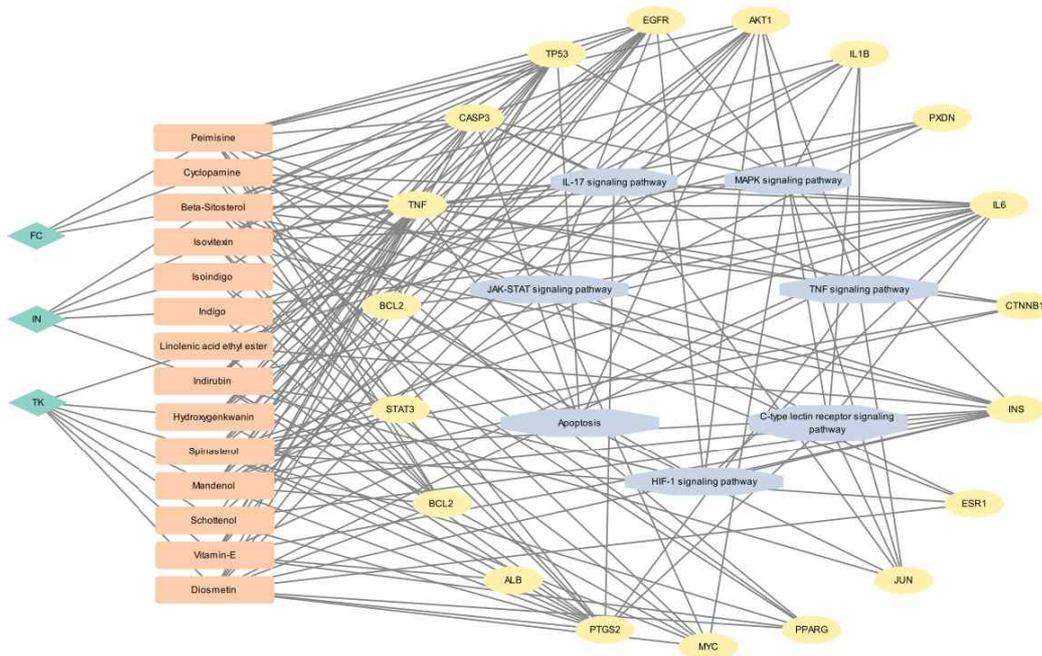


Fig. 6. The Herb-Compound-Target-Pathway network of YPH in the treatment of COPD. The green represents herbs, the pink represents bioactive compounds, the yellow represents core genes, and the blue represents core genes related pathways. *Abbreviations: FC, *Fritillariae Cirrhosae Bulbus*; TK, *Trichosanthes Kirilowii* Maxim; IN, Indigo Naturalis.

IV. 고 찰

COPD는 기도의 만성 염증반응과 폐 실질 파괴로 폐 기능이 점차 감소하는 질환으로, 만성적이고 비가역적으로 진행되는 특징을 가지며, 기침, 가래, 호흡곤란 등이 가장 흔한 증상이다⁴⁾. COPD는 장기간 흡연한 중년, 고령의 환자에서 발생하므로 여러 동반 질환을 가지는데 대표적으로 심혈관질환, 당뇨, 골다공증 등이 이에 해당하며 또한 증상이 심한COPD 환자는 삶의 질이 급속도로 악화되어 우울증이 동반되기 쉽다⁴⁾. COPD로 인한 사망률 및 장애 이환율 역시 시간이 흐를수록 증가할 것으로 보이며 이로 인한 사회적, 경제적 부담 역시 증가하고 있어, 관련 치료약 개발이 시급하다.

본 연구에서 사용한 윤폐환은 생진윤폐(生津潤肺) 작용으로, 건수(乾嗽), 노수(勞嗽)를 치료하는 처방으로서, 윤폐환이 폐 암세포의 생존과 성장을 억제하고, 세포 자멸사(apoptosis) 유발 및 세포주기 조절에 중요한 조절인자로 작용한다는 보고가 있다¹⁸⁾. 윤폐환의 구성 약재를 살펴보면, 우선 천패모는 성미한(性微寒)하고 미고감(味甘苦甘)하며, 폐(肺) 및 심경(心經)으로 귀경한다. 청열윤폐(淸熱潤肺), 화담지해(化痰止咳)의 효능으로 폐열조해(肺熱燥咳), 건해소담(乾咳少痰), 음허노수(陰虛勞嗽), 객혈대혈(咯血帶血)의 증상을 치료하며, 자윤(滋潤)하는 성질이 강해 허증(虛症)에 주로 사용된다¹⁹⁾. 또한 천패모는alkaloid, imperialine, saponin, organic acid, terpenoid, sterol 등을 포함하고 있으며, 독성 또한 낮아 항염증제, 거담제, 항암제 등 활용될 수 있는 분야가 넓다²⁰⁾. 과루인은 성한(性寒), 미감미고(味甘微苦)하며, 폐(肺), 위(胃), 대장(大腸)의 삼경(三經)으로 귀경한다¹⁹⁾. 윤폐화담(潤肺化

痰), 활장통변(滑腸通便)하며 질(質)이 윤(潤)하고 다지(多脂)하여 조해담점(燥咳痰粘), 장조변비(腸燥便秘)를 치료한다¹⁹⁾. 과루인은 triterpenoid계, saponin 등의 성분을 함유하고 있으며, 항산화 효과와 NO 생성 억제를 통한 항염증 효과를 보인다는 것이 입증되었다^{21, 22)}. 청대는 성한(性寒), 미함(味鹹)하며, 간(肝), 폐(肺), 위경(胃經)으로 귀경한다. 청열해독(淸熱解毒), 양혈(涼血), 정경(定驚)의 효능으로 온독발반(溫毒發斑), 혈열토늑(血熱吐衄), 흉통해혈(胸痛咳血), 구창(口瘡), 소아경간(小兒驚癇), 착시(窄腮), 후비(喉痺) 등을 치료하는데 활용되는데, 이를 토대로 혈열(血熱)로 인한 피부 출혈, 염증성 질환 등에 응용된다¹⁹⁾. 본 연구에서는 윤폐환의 한의학적 효능이 호흡기 질환에 유효할 것으로 생각되고, 천패모, 과루인, 청대의 항염증 및 항산화 효능이 호흡기 질환에 응용되었다는 점을 근거로 COPD 치료에 윤폐환을 응용할 수 있을 것으로 예측하였고, 네트워크 약리학을 활용하여 ‘multi-component, multi-target, multi-pathway’의 방법으로 윤폐환의 효능 및 작용 기전에 대하여 탐구하였다.

TCMSP와 Pubchem database를 활용하여 수집된 윤폐환의 유전자와 COPD 관련 유전자 5,511개의 일치성을 확인 및 연관성 검토 후, AKT1, ALB, BCL2, CASP3, CTNNB1, EGFR, ESR1, IL1B, IL6, INS, JUN, MYC, PPARG, PTGS2, PDXN, STAT3, TNF, TP53 총16개를 핵심유전자로 선별하였다 (Fig. 6). 16개의 핵심유전자 중 COPD 치료의 작용 기전과 밀접한 연관을 보이는 유전자는 AKT1, IL6, JUN, TNF 순으로 나타났고, 이를 토대로 COPD 치료에서 해당 유전자들의 역할을 살펴보았다. COPD의 발병 기전으로는 크게 만성염증, 폐 내의 단백질분해효소(proteinase)와 항-단

백분해효소(anti-proteinase)간의 불균형, 산화 스트레스(oxidative stress), 세포 자멸사 등으로 나눌 수 있다²³. 만성적인 염증은 폐 조직의 지속적인 손상과 복구를 야기하며 만성기관지염, 기도의 비후 및 폐쇄, 폐기종, 폐 섬유화 등으로 이어진다²⁴. 유펜환의 핵심유전자 중 전염증성 사이토카인인 IL1B, IL6, TNF는 전반적인 염증반응을 조절하는 인자로 폐 조직의 다양한 세포를 자극 및 손상시켜 COPD의 진행에 있어 중요한 역할을 하며 AKT1, JUN, PTGS2, STAT3은 면역세포에서 전염증성 사이토카인의 생성을 촉진할 수 있다고 알려져 있다²⁵⁻²⁸. 또한 지속적인 염증은 조직의 섬유화를 동반하는데 AKT1, CTNNB1, EGFR와 같은 유전자는 다양한 신호 경로를 통해 폐 조직의 섬유화를 야기한다^{23, 26, 29}. 이를 통해 유펜환은 만성 염증을 조절하여 COPD를 조절할 가능성을 확인하였다. 다양한 연구를 통해 폐 내의 단백분해효소와 항-단백분해효소의 불균형이 COPD를 발병시킬 수 있다고 밝혀졌다^{30, 31}. 폐 조직 내의 과도하거나 지속적인 염증 반응은 면역세포의 침윤을 야기한다. 활성화된 면역세포는 폐 조직의 탄성을 유지하는 물질인 elastin을 분해할 수 있는 단백분해효소를 분비하고 이를 억제하는 항-단백분해효소의 활성을 저해한다. 폐 조직의 elastin의 분해는 폐포의 기본 골격 붕괴로 이어지며, 이는 폐 조직의 실질적인 기능을 떨어뜨리게 된다. 유펜환의 핵심유전자 중 PPARC, PXDN, STAT3이 단백분해효소의 발현과 활성화에 관여한다고 알려져 있어, 이를 통해 유펜환이 단백분해효소와 항-단백분해효소의 불균형을 조절하여 COPD에 영향을 미칠 가능성을 확인하였다^{27, 32, 33}. 산화적 스트레스는 산화물질의 독성과 항산화물질의 보호작용의 균형이 산화물질 쪽으로 기울어짐으로, 조직을 손상시키거나 염증반응을 야기한다. 산화적 스트레스로 인해 주로 폐포 상피세포가 손상받으며 폐 실질 조직의 파괴, 폐 투과성 증가 등의 증상이 나타나게 된다³⁴. 유펜환의 핵심유전자 중 AKT1, PPARC, PXDN이 산화적 스트레스 조절 혹은 신호 경로에 관여한다고 알려져 있어, 이를 통해 유펜환이 산화적 스트레스를 조절하여 COPD에 영향을 미칠 가능성을 확인하였다^{26, 35, 36}. 마지막으로 세포 자멸사로 인해 폐포 세포가 소실되어 폐포벽이 붕괴된다는 개념이 떠오르고 있다³⁷. 세포 자멸사는 엄격하게 조절되는 프로그램된 세포 사멸 방법으로, 다양한 원인으로 인해 세포가 스스로 죽음에 이르는 과정이다. 세포 자멸사는 크게 화학물질, 감염, 산소결핍, 암 유발 유전자의 발현 등의 스트레스에 미토콘드리아를 거쳐 진행되는 intrinsic pathway와 사이토카인이 수용체에 결합하여 발생하는 extrinsic pathway로 구분되며, 공통적으로 caspase라는 세포 내 단백질 분해효소를 활성화시켜 세포사멸을 유도한다³⁸. 유펜환의 핵심유전자 중 BCL2, CASP3, TNF, TP53가 세포 자멸사에 관여하고 있으며, 이를 통해 유펜환이 세포 자멸사를 조절하여 COPD에 영향을 미칠 가능성을 확인하였다^{37, 39}.

유펜환의 구성 약재 및 성분과 COPD 치료의 연관성을 확인하기 위해 네트워크를 분석한 결과 천폐모와 청대의 구성성분인 Beta-Sitosterol이 가장 높은 연관성을 보였다. Beta-Sitosterol의 경우 직접적으로 COPD 치료에 대한 보고는 없으나, T세포 및 수지상세포조절을 통하여 감기 및 천식 조절 활성이 있는 것으로 보고되었다^{40, 41}. COPD 환자들의 폐 조직은 주로 대식세포, T세포 등과 같은 면역 세포들에 의해 지

속적인 염증 상태에 노출되어 있다²⁶. 염증 세포들이 호흡기 부분에서 발생하는 유해한 입자나 세포 손상에 반응하여 면역 반응을 촉발하고, 이것이 지속되면 감염에 취약해지기 때문에 COPD에서 면역세포 조절은 중요하다⁴².

다만, 본 연구에서 진행된 분석은 유펜환의 실제 작용기전을 설명하는데 있어 한계점이 있다. 첫째로, 네트워크 약리학을 활용한 분석은 활성 성분이 많은 약재의 영향을 받을 수밖에 없다는 점이다. 폐모는 유펜환에서 군약(君藥)임에도 불구하고 폐모의 활성 성분 관련 데이터가 부족하여 과루인, 청대에 비해 적은 개수의 활성 성분이 스크리닝 되었다. 네트워크 약리학에서는 기존의 연구에서 이미 밝혀진 성분들을 활용하여 분석을 시행하기 때문에, 해당 방법을 활용하기 이전에 각 약재들의 활성 성분 관련 선행 연구들이 필요하다. 둘째로, 본 연구는 *in silico*의 연구방법에 속한다고 볼 수 있는 만큼, '*in vivo*', '*in vitro*' 등의 연구방법 등을 통해 보완될 필요가 있는, 즉 실제 실험이나 연구를 통해 네트워크 약리학 분석으로 예측한 효능을 실제로 나타내지에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

이와 같은 한계점들이 존재하지만, 본 연구는 약재의 구성 성분과 유전자 정보를 바탕으로 최종적으로 구성된 H-C-T-P 네트워크를 통해 유펜환의 COPD 치료기전을 예측하였으며, 이에 따라 향후 진행될 연구의 방향을 제시하였다는 점에서 의미가 있다.

V. 결 론

네트워크 약리학적 분석을 통해 COPD에 유펜환을 효과적으로 적용해볼 수 있는가에 대하여 알아보고자 하였다. 그리하여 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 유펜환을 구성하는 과루, 청대, 천폐모로부터 15종의 활성 성분과 이와 연관된 437개의 타겟유전자를 확인하였으며, 이를 통해 437 nodes 와 14,137 edges를 포함하는 네트워크를 생성하였다.
2. Genecards 데이터베이스를 통해 수집된 COPD 연관 유전자 5,511개와 유펜환의 활성성분 타겟유전자 437개를 비교 분석한 결과 중복되는 유전자는 총 276개이며, 유전자간 일치율은 약 63.15%로 나타났다.
3. 중복유전자 276개 중 2차례의 스크리닝 과정을 통해 18개의 핵심유전자를 선별하였고, 이를 바탕으로 18 nodes, 152 edges를 포함하는 네트워크를 구축하였다.
4. 18개의 핵심유전자의 GO enrichment를 분석한 결과 생물학적 과정(BP)에서는 'Regulation Of miRNA Transcription', 'Positive Regulation Of Nucleic Acid-Templated Transcription' 등이, 세포 구성요소(CC)에서

는 'Euchromatin', 'Nucleus', Endoplasmic Reticulum Lumen' 등이, 분자 기능(MF) 측면에서는 'Binding', 'DNA-binding Transcription Activator Activity' 등이 연관이 있음을 확인하였다. KEGG pathway 데이터베이스를 통해 'MAPK signaling pathway', 'TNF signaling pathway' 등 7개의 주요기전을 도출하였으며, 핵심유전자 중 AKT1, IL6, JUN, TNF가 주요기전과 가장 밀접한 연관성을 보였다.

5. COPD 치료의 핵심유전자와 연관된 성분은 14개로 나타났으며, 그 중 천폐모와 청대의 구성성분인 Beta-Sitosterol 이 가장 높은 연관성을 보였고 또한, 과루의 구성성분인 Spinasterol, Disometin, Mandenol 또한 높은 연관성을 보였다.
6. 본 연구에서는 윤페환과 COPD 유전자 간 일치율 확인 및 GO enrichment/KEGG pathway 분석을 통해 COPD 치료에 있어 윤페환의 응용 가능성을 확인하였으며, 이는 세포의 증식, 분화, 염증반응, 사멸 등의 기전과 관련이 있을 것으로 예측된다. 또한 본 연구의 결과를 추후 COPD 치료에 있어 윤페환의 효능을 연구하기 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 보인다.

감사의 말씀

본 연구는 2024년도 원광대학교 교비지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Yuan H-j, Xue Y-t. To Explore the Key Active Compounds and Therapeutic Mechanism of Guizhi Gancao Decoction in Coronary Heart Disease by Network Pharmacology and Molecular Docking. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2022;2022. <https://doi.org/10.1155/2022/2566407>
2. Lazzara F, Conti F, Giuffrida E, Eandi CM, Drago F, Platania CBM, et al. Integrating network pharmacology: The next-generation approach in ocular drug discovery. *Curr Opin Pharmacol*. 2024;74:102425. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2023.102425>
3. Kim H-M, Ko D-G, Park SD. The initial for herbalomics; using "in silico" experiment. *Herbal Formula Science*. 2022;30(3):205-10. <https://doi.org/10.14374/HFS.2022.30.3.205>
4. Park Y-B, Rhee CK, Yoon HK, Oh Y-M, Lim SY, Lee JH, et al. Revised (2018) COPD clinical practice guideline of the Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Disease: a summary. *Tuberc Respir Dis*. 2018;81(4):261. <https://doi.org/10.4046/trd.2018.0029>
5. Ha R, Kim D, Choi J, Jung-Choi K. A national pilot program for chronic diseases and health inequalities in South Korea. *BMC public health*. 2021;21(1):1142. <https://doi.org/10.1186/s12889-021-11208-7>
6. Kim I-A, Park Y-B, Yoo K-H. Pharmacotherapy for chronic obstructive pulmonary disease. *J Korean Med Assoc*. 2018;61:545-51. <https://doi.org/>
7. Anthonisen NR, Connett JE, Kiley JP, Altose MD, Bailey WC, Buist AS, et al. Effects of smoking intervention and the use of an inhaled anticholinergic bronchodilator on the rate of decline of FEV1: the Lung Health Study. *JAMA*. 1994;272(19):1497-505. <https://dx.doi.org/10.5124/jkma.2018.61.9.545>
8. Nici L, Mammen MJ, Charbek E, Alexander PE, Au DH, Boyd CM, et al. Pharmacologic management of chronic obstructive pulmonary disease. An official American Thoracic Society clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;201(9):e56-e69. <https://doi.org/10.1164/rccm.202003-0625ST>
9. Department of Pulmonary Internal Medicine UoKM, Oriental Medicine Pulmonary Internal Medicine. Seoul: Gukjin.
10. Lee E-S, Han J-m, Kim M-H, Namgung U, Yeo Y, Park Y-C, et al. Effects of inhalable microparticles of on chronic obstructive pulmonary disease in a mouse model. *J Korean Med*. 2013;34(3):54-68. <https://doi.org/doi.org/10.13048/jkm.13012>
11. Lee J-G, Yang S-Y, Kim M-H, NamGung U, Park Y-C. Protective effects of Socheongryong-tang on elastase-induced lung injury. *J Korean Med*. 2011;32(4):83-99.
12. Kim Y, Yang S-Y, Kim M-H, NamGung U, Park Y-C. Effects of Saengmaekcheongpye-eum on LPS-induced COPD model. *J Int Korean Med*. 2011;32(2):217-31.
13. Han J-M, Yang W-K, Kim S-H, Park Y-C. Effects of Sagan-tang and individual herbs on COPD mice model. *Herbal Formula Science*. 2015;23(2):171-87. <https://doi.org/10.14374/HFS.2015.23.2.171>
14. Park J-j, Yang W-k, Lyu YR, Kim S-h, Park YC. Inhibitory effects of SGX01 on lung injury of COPD mice model. *J Int Korean Med*. 2019;40(4):567-81. <https://dx.doi.org/10.22246/jikm.2019.40.4.567>
15. Lee H, Kim Y, Kim HJ, Park S, Jang YP, Jung S, et al. Herbal formula, PM014, attenuates lung inflammation in a murine model of chronic

- obstructive pulmonary disease. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012;2012. <https://doi.org/>
16. Kim TH, Yang WK, Lee SW, Kim SH, Lyu YR, Park YC, et al. Inhibitory Effects of GGX on Lung Injury of Chronic Obstructive Lung Disease (COPD) Mice Model. *J Korean Med*. 2021;42(3):56–71. <https://doi.org/10.1155/2012/769830>
 17. Heo J. *Donguibogam - Various diseases: Hanbulhagyesa*; 2014.
 18. Lee JW, Baek KM, Chang WS. Single-Dose Oral Toxicity Test of Woohwangchungshim-won in Mice. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2014;28(2):186–94. <https://doi.org/10.15188/kjopp.2014.04.28.2.186>
 19. Kwon D-Y, Oh M-S, Bu Y-m, Seo B-I, Choi H-Y. *Herbology*. Seoul: Younglimsa; 2004.
 20. Quan Y, Li L, Yin Z, Chen S, Yi J, Lang J, et al. *Bulbus Fritillariae Cirrhosae as a respiratory medicine: is there a potential drug in the treatment of COVID-19?* *Front Pharmacol*. 2022;12:784335. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.784335>
 21. Park M, Kang Y. Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of various organ extracts from *Trichosanthes kirilowii* Maxim. *Korean J Pharmacogn*. 2016;47(4):327–32.
 22. Zhoh CK, Uhm TY, Kim JC. Antioxidantive effectiveness of *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz extracts. *Appl Chem Eng*. 2007;18(6):625–9.
 23. Hikichi M, Mizumura K, Maruoka S, Gon Y. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by cigarette smoke. *J Thorac Dis*. 2019;11(Suppl 17):S2129. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.10.43>
 24. Yoo C-G. Pathogenesis and pathophysiology of COPD. *Korean J Intern Med*. 2009;77(4):383–400. <https://doi.org/>
 25. Chung K. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2001;18(34 suppl):50s–9s.
 26. Bozinovski S, Vlahos R, Hansen M, Liu K, Anderson GP. Akt in the pathogenesis of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2006;1(1):31–8. <https://doi.org/10.2147/copd.2006.1.1.31>
 27. Geraghty P, Wyman AE, Garcia-Arcos I, Dabo AJ, Gadhvi S, Foronjy R. STAT3 modulates cigarette smoke-induced inflammation and protease expression. *Front Physiol*. 2013;4:267. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00267>
 28. Lebedeva ES, Kuzubova NN, Titova ON, Surkova EA. Effect of cyclooxygenase-2 inhibition on lung inflammation and hypoxia-inducible factor-1 signalling in COPD model. *Eur Respiratory Soc*. 2017. <https://doi.org/10.1183/1393003.congress-2017.PA3926>
 29. Vallath S, Hynds RE, Succony L, Janes SM, Giangreco A. Targeting EGFR signalling in chronic lung disease: therapeutic challenges and opportunities. *Eur Respir J*. 2014;44(2):513–22. <https://doi.org/10.1183/09031936.00146413>
 30. Pandey KC, De S, Mishra PK. Role of proteases in chronic obstructive pulmonary disease. *Front Pharmacol*. 2017;8:276068. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00512>
 31. Lomas DA. Does protease-antiprotease imbalance explain chronic obstructive pulmonary disease? *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13(Supplement 2):S130–S7. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201504-196KV>
 32. Zhou X-M, Hou G, Gu D-X, Wang Q-Y, Zhao L. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ in induced sputum is correlated with MMP-9/TIMP-1 imbalance and formation of emphysema in COPD patients. *J Thorac Dis*. 2017;9(10):3703. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.09.10>
 33. Liu J, Liu M, Feng J, Zhu H, Wu J, Zhang H, et al. Alpha-ketoglutarate ameliorates abdominal aortic aneurysm via inhibiting PXDN/HOCL/ERK signaling pathways. *J Transl Med*. 2022;20(1):461. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03659-2>
 34. Morrison D, Rahman I, Lannan S, MacNEE W. Epithelial permeability, inflammation, and oxidant stress in the air spaces of smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159(2):473–9. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.159.2.9804080>
 35. Reddy AT, Lakshmi SP, Banno A, Reddy RC. Role of GPx3 in PPAR γ -induced protection against COPD-associated oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2018;126:350–7. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.08.014>
 36. Li C, Liu Z, Xu Q, Peng H, Cao J, Zhou H, et al. PXDN reduces autophagic flux in insulin-resistant cardiomyocytes via modulating FoxO1. *Cell Death Dis*. 2021;12(5):418. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03699-4>
 37. Demedts IK, Demoor T, Bracke KR, Joos GF, Brusselle GG. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respir Res*. 2006;7:1–10. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-53>
 38. Jan R. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Adv Pharm Bull*. 2019;9(2):205. <https://doi.org/10.15171/apb.2019.024>
 39. Zeng H, Kong X, Peng H, Chen Y, Cai S, Luo H, et al. Apoptosis and Bcl-2 family proteins, taken to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012;16(6):711–27.

40. Zhou B-x, Li J, Liang X-l, Pan X-p, Hao Y-b, Xie P-f, et al. β -sitosterol ameliorates influenza A virus-induced proinflammatory response and acute lung injury in mice by disrupting the cross-talk between RIG-I and IFN/STAT signaling. *Acta Pharmacol Sin.* 2020;41(9):1178-96. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0403-9>
41. Wang R, Zeng M, Zhang B, Zhang Q, Jia J, Cao B, et al. β -Sitosterol inhibits ovalbumin-induced asthma-related inflammation by regulating dendritic cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2022;44(6):1013-21. <https://doi.org/10.1080/08923973.2022.2102990>
42. Liu Y, Kong H, Cai H, Chen G, Chen H, Ruan W. Progression of the PI3K/Akt signaling pathway in chronic obstructive pulmonary disease. *Front Pharmacol.* 2023;14:1238782. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1238782>