

仙方敗毒湯이 호흡기 뮤신 분비 및 기관 평활근 긴장도에 미치는 영향

宋賢知, 韓在敬, 金允姬

大田大學校 韓醫科大學 小兒科學教室

Effects of *Seonbangpaedoktang* on secretion of airway mucin and contractility of tracheal smooth muscle

Song Hyun Jee, Han Jae Kyung, Kim Yun Hee

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Objectives : The author intended to investigate *Seonbangpaedoktang* (SBPT) significantly affect in vivo and in vitro mucin secretion from airway epithelial cells.

Methods : In vivo experiment, the author induced hypersecretion of airway mucin, hyperplasia of tracheal goblet cells and the increase in intraepithelial mucosubstances. Effects of orally-administered SBPT during 1 week on in vivo mucin secretion and hyperplasia of tracheal goblet cells were assessed. For in vitro experiment, confluent hamster tracheal surface epithelial (HTSE) cells were metabolically radiolabeled and chased in the presence of SBPT to assess the effect of the agent on 3H-mucin secretion. Total elution profiles of control spent media and treatment sample through Sepharose CL-4B column were analysed. Possible cytotoxicity of the agent was assessed by measuring LDH release. Also, the effect of SBPT on contractility of isolated tracheal smooth muscle was investigated.

Results : SBPT inhibited hypersecretion of in vivo mucin and inhibited the increase of number of goblet cells ; SBPT did not affect in vitro mucin secretion and the secretion of the other releasable glycoproteins with less molecular weight than mucin from cultured HTSE cells, without significant effect on LDH release; SBPT did not affect Ach-induced contraction of isolated tracheal smooth muscle.

Conclusions : SBPT can inhibit hypersecretion of in vivo mucin and the author suggest that the effect SBPT with their components should investigate further.

Key words : airway, mucin, tracheal smooth muscle, *Seonbangpaedoktang*

I. 서론

호흡기 질환은 갓 태어난 신생아부터 성인까지 가장 흔한 건강상의 문제로 나이가 어릴수록 더욱 두드러져 영·유아기에는 연간 12회 정도의 호흡기 바이러스 감염을 앓게 된다. 특히 1세 전후에 호흡기 질환이 가장 많이 발생하게 되는데 이는 면역 능력과 호흡기능 발달이 미숙하여 쉽게 감염되고 증상도 더욱 두드러지게 나타나기 때문이다¹⁾.

호흡기 질환의 증상은 기침, 객담, 호흡곤란, 흉통, 천명, 쉼 목소리 등으로 나타나게 되며 그 중 객담이란 기도 분비물이나 염증으로 인한 삼출물이 입 밖으로 나오는 것이다²⁾. 객담의 주요 구성성분인 점액(mucus)은 섬모세포와의 협동적 작용을 통해 인체에 불필요하거나 혹은 유해한 물질의 제거에 있어서 중요한 역할을 하는데³⁾ 오존, endotoxin, 이산화황과 같은 자극성 가스나 바이러스 혹은 염증 매체들에 노출되면 점액의 생성율과 재흡수, 증발 및 점액제거율의 균형이 깨어지게 되어 기도에서 공기의 흐름을 방해하고 코막힘이나 호흡곤란을 유발하며 외부에서 유입되는 유해물질의 흡착을 촉진하여 기침을 유발시키게 된다⁴⁾.

현재 서양의학 체계에서는 이러한 과다분비된 점액의 점도 및 분비를 조절하기 위해 bromhexine, ambroxole, S-carboxymethyl-cysteine 등의 약물이 사용되고 있으나, 그 효능 및 응용 범주에 제한이 있어 적절한 약물치료를 시행하기가 용이하지 않은 실정이다⁵⁾.

본 연구에 사용된 仙方敗毒湯⁶⁾은 外感 時氣發熱, 肢節痛, 瘡瘍을 치료하는 荊防敗毒散⁷⁾에 消腫, 止痛, 解熱, 散瘀, 排膿, 活血의 효

과가 있는 仙方活命飲⁸⁾을 가미한 처방으로, 임상에서 편도선염, 인후염 등의 상기도 염증성 질환에 널리 응용되고 있으며⁹⁾ 그 효과에 대해서는 이미 다수의 실험과 연구가 보고된 바 있으나^{7,9-11)} 최근 활발히 연구되고 있는 호흡기 점액 분비에 대한 보고는 접하지 못하였다¹²⁻¹⁹⁾.

이에 저자는 선방패독탕이 *in vivo*에서 이산화황의 흡입으로 유발된 호흡기 점액 과다분비 동물모델을 이용하여 기도점액 분비에 대한 영향을 측정하고 기도 배상세포 내 점액함유정도 증가 및 배상세포 수에 미치는 영향을 검증하였다. 또한 *in vitro*에서 일차배양된 햄스터 기관 표면 상피세포 (HTSE cell)로부터의 뮤신 생성, 젖산 탈수소효소 활성 (LDH activity)에 미치는 효과 및 적출된 토끼 기관 평활근의 수축도에 미치는 영향을 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 동물 및 재료

1) 동물

실험동물인 웅성 Golden Syrian 햄스터(8~10 주령), 흰쥐(Sprague-Dawley rat, 이하 SD rat), 백색가토(Albino rabbit) 등은 대한바이오링크(주)에서 공급받은 후 사용하였다.

2) 약재

실험에 사용한 仙方敗毒湯(Seonbangpae-doktang, 이하 SBPT)⁶⁾은 대전대학교 둔산한

Table 1. Prescription of *Seonbangpaedoktang* (SBPT)

Herb name	Scientific Name	Amount (g)
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	10
連翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	10
貝母	<i>Fritillariae Cirrhosae Bulbus</i>	4
皂角刺	<i>Gleditsiae Spina</i>	4
白芷	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	4
天花粉	<i>Trichosanthis Radix</i>	4
玄參	<i>Scrophulariae Radix</i>	4
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	4
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	4
前胡	<i>Peucedani Radix</i>	4
桑白皮	<i>Mori Cortex</i>	4
羌活	<i>Notopterygii Rhizoma</i>	4
枳殼	<i>Ponciri Fructus</i>	4
獨活	<i>Angelicae Pubescentis Radix</i>	4
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4
赤茯苓	<i>Poria</i>	4
薄荷	<i>Menthae Herba</i>	2
荊芥	<i>Schizonepetae Herba</i>	4
防風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	4
射干	<i>Belamcandae Rhizoma</i>	4
山豆根	<i>Sophorae Tonkinensis Radix</i>	4
牛蒡子	<i>Arctii Fructus</i>	4
Total amount		102

방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며, 1첩의 처방내용과 용량은 다음과 같다 (Table 1).

3) 시료제조

仙方敗毒湯 한 첩 분량에 800~1,000 ml의 탈이온 2차 증류수를 가하고 100℃로 가온된 상태에서 3시간 동안 전탕하여, 80 ml의 탕액을 수거하였다. 탕액을 실온 정도로 방냉한 후, 멸균 청정 후드 내에서 0.22 μm filter를

이용, 가압 여과하고 멸균용기에 저장하여, 4℃ 냉장고에 보관하였다.

4) 시약

Pronase (Type XIV), insulin, transferrin, epidermal growth factor, hydrocortisone, sodium selenite, bovine serum albumin (BSA), testicular hyaluronidase (Type VI-S), retinoic acid, gentamicin, sodium dodecyl sulfate, Sepharose CL-4B, acetylcholine, 3',3',5',5'-tetramethyl- bezidine (TMB), alcian blue 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 GIBCO-BRL사(Grand Island, New York, U.S.A.)에서, [6-³H] glucosamine (39.2 Ci/mmol)은 Amersham사(U.S.A.)에서, mouse anti-MUC5AC clone 45M1 및 HRP-Goat Anti-Mouse IgG(H+L) Conjugate는 NeoMarkers사(Fremont, CA, U.S.A.)에서, type I collagen은 Regenmed (Seoul, Korea)에서, LDH assay kit (LDH-LQ)는 아산제약(Kyung-ki-do, Korea)에서, sodium acetate 등과 기타 일반시약들은 reagent grade 이상의 것들을 구입하여 사용하였으며, 실험에 사용된 물은 탈이온 2차 증류수이었다.

2. 방법

1) *In vivo*

(1) 이산화황으로 유발된 기도점액 과다분비 동물모델
가로 200 cm, 세로 60 cm, 높이 30 cm의 직

육면체 상자를, 두께 2 cm의 아크릴 수지판을 재료로 하여 제작하였으며 가로면의 일부에 실험동물인 SD rat이 출입할 수 있도록 출입문을 만들고, 가로면과 수직으로 접하고 있는 좌우 양면의 중앙부에 구멍을 만든 후 그에 맞는 nipple과 polyethylene duct를 장착하였다. 한쪽 duct는 이산화황이 발생하는 초음파 가습기의 분무구에 연결시키고, 반대쪽 duct는 모터로 구동되는 환풍기의 흡기구에 연결시켜 실험 종료 후 잔류하는 이산화황 기체를 완전히 제거할 수 있도록 조치하였다. 이산화황 노출방법은 Pon 등²⁰⁾이 보고한 방법을 변형하여 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 150 ppm으로 유지되었다. 이산화황 농도 측정은 20~3,600 ppm 범위의 대기 중 이산화황을 감지할 수 있는 Gastec detector kit를 이용하였다. 동물을 대조군, 이산화황 3주 처리군, 이산화황 2주 처리 후 최종 1주간 이산화황 및 약물 동시 처리군으로 무작위 배정하고, 각 군당 동물수는 5마리 이상으로 하였다. 노출 기간은 1일 3시간, 1주일에 5일, 3주간이었다. 대조군은 실험장치가 설치된 동일한 실내에 전 실험기간 동안, 1일 3시간의 이산화황 노출 및 약물투여 조작만 제외하고 노출군과 동일한 조건 하에 사육되었다.

(2) 약물의 경구 투여

이산화황 2주 처리 후 최종 1주간 약물 투여군에 배당된 SD rat을 대상으로, 체중 70 kg 성인에게 투여되는 약물의 투여용량을 기준으로 환산된, 체중 350 g 정도의 흰쥐에의 투여용량인 2 ml를 경구 투여하였다. 즉, 총

3주간의 이산화황 노출 기간 중 마지막 1주간 매일 반복적으로 약물을 투여하였는데, 약물 투여는 오전 10시에서 11시 사이에, 이산화황 노출은 오후 1시에서 4시까지 실시하였다.

(3) 약물이 뮤신분비에 미치는 영향

이산화황 노출 및 약물 투여가 종료된 각 실험동물을 이산화탄소로 질식사시킨 후, 청정한 환경에서 기도를 노출시키고 기관지 폐포액 세척술(bronchoalveolar lavage)을 통하여 *in vivo* 뮤신을 함유한 세척액을 각 동물당 5 ml씩 수거하였다. 각 세척액 sample을 PBS로 1/10배 희석하고, 희석된 각 sample을 ELISA 전용의 96-well plate에 각각 100 μ l씩 나누어 넣고, 2시간 동안 상온에서 incubation하였다. 2시간 후 PBS-Tween 20 (0.05%) 용액 200 μ l/well을 이용, 각 well당 3회씩 washing하였다. Washing 후 2% BSA in PBS-T 용액 200 μ l를 각 well당 가하고, 다시 1시간 동안 incubation하였다. 1시간 후, PBS-T 200 μ l로 3회 washing하고, 대표적 호흡기 뮤신인 MUC5AC에 대한 monoclonal antibody인 mouse anti-MUC5AC clone 45M1 (NeoMarkers, Fremont, CA)을 2% BSA에 1:1000의 비율로 희석한 후에, 각 well당 100 μ l씩 첨가하고 1시간 동안 incubation하였다. 1시간 후 PBS-T로 3회 washing하고 2차 항체인 HRP-Goat Anti-Mouse IgG(H+L) Conjugate를 2% BSA에 1:5000의 비율로 희석한 후, 각 well당 100 μ l씩 첨가하여 1시간 동안 incubation하였다. PBS-T로 다시 3회 washing 후, 과산화수소와 3',3',5',5'-tetramethyl-bezidine (TMB)의 혼합조제 용액 100 μ l를 각 well에 첨가하고, 5분 후 1N 황산 용액 50 μ l를 첨가, 반응을 정지시켰다. 450 nm에서 각 well의 흡광도를

측정함으로써, 대조군과 약물 처리군 간의 *in vivo* 유신의 양을 정량, 비교하였다^{21,22)}.

(4) 약물이 배상세포 내 점액함유 정도에 미치는 영향

기관내강 상피세포에의 조직학적 변화에 미치는 약물의 영향을 판별하기 위하여 조직학적 검사를 실시하였다. 3주간의 이산화황 노출 기간이 종료된 후, 각 군에 소속된 해당 실험동물들을 이산화탄소로 질식사시키고, 기관을 절개, 분리하여, 냉각된 10% formalin in PBS (pH 7.2)에 넣어 24 시간동안 고정하였다. 고정된 조직을 파라핀으로 포매(embedding)하고, Microtome을 이용, 5 μm 두께로 잘라 조직절편을 제작하였다. 탈파라핀 과정을 거치고, Alcian Blue 염색을 실시한 후 광학 현미경 하에서 관찰하고 사진 촬영하였다. 대조군, 이산화황 처리군, 약물 투여군의 기관내강 배상세포(goblet cell)의 증식 여부 및 배상세포내 점액함유 정도를 비교함으로써 약물이 배상세포 내 점액함유 정도에 미치는 영향을 판별하였다^{21,22)}.

2) *In vitro*

(1) 햄스터 기관표면 상피세포의 분리 및 배양

햄스터의 기관표면 상피세포(Hamster Tracheal Surface Epithelial cell, 이하 HTSE cell) 분리와 배양에 적용된 실험방법은 Kim 등²³⁻²⁵⁾과 Wu 등^{26,27)}의 방법을 사용하였다. 세포들이 1~3일간 배양된 후에는 37°C incubator에서 32°C incubator로 옮겨서 배양했다. 배양액 교체는 배양 개시 후 제 1, 3, 5, 7 일에 각각 시행하였다.

(2) 유신의 대사적 방사능 표지(radiolabeling)

Kim 등^{24,28-30)}의 방법을 이용하였는데, 배양세포 중의 유신은 성숙한 배양세포(24 well plate, 5×10^5 cells/well)에, 10 $\mu\text{Ci/ml}$ 의 [$6\text{-}^3\text{H}$] glucosamine을 함유하는 완전 배양액(insulin (5 $\mu\text{g/ml}$), transferrin (5 $\mu\text{g/ml}$), epidermal growth factor (12.5 $\mu\text{g/ml}$), hydrocortisone (0.1 μM), sodium selenite (0.01 μM), fetal bovine serum (5%, V/V)(이하 FBS), retinoic acid (0.1 μM), penicillin G (100 U/ml), streptomycin (100 $\mu\text{g/ml}$), gentamicin (50 $\mu\text{g/ml}$)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DME)과 Medium 199(M199)의 1:1 혼합 배양액)을 well당 200 μl 씩 가하고 32°C에서 24시간 동안 배양함으로써 방사능 표지(metabolic radiolabeling)되었다.

(3) 약물 처리

24시간 동안의 대사적 방사능 표지가 완결된 후 배양액(pretreatment sample, 이하 PT)을 수거해 두었다. 배양세포에 well당 0.5 ml의 Dulbecco's Ca^{++} , Mg^{++} free PBS (Phosphate-Buffered Saline)를 가하고 세척하는 조작을 2회 반복함으로써 배양세포의 잔사 등을 제거한 뒤, 각 약물 추출물 10~40 μl 를 함유하는 PBS 200 μl 를 well마다 가하고 32°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 μl 의 상등액은 젖산탈수소효소 활성측정(LDH activity assay)을 위해 따로 덜어두고 나머지는 방사성 유신함량을 측정할 때까지 -70°C에서 냉동 저장했다^{24,28-30)}.

(4) 뮤신 함량 측정법

Hyaluronidase에 의해 분해되지 않으며, Sepharose CL-4B column으로부터 exclude되는 고분자량의 glycoconjugate를 뮤신으로 정의하였고, Kim 등 및 여러 연구자들의 방법^{24,28-31)}에 따라 방사성 뮤신의 함량을 측정하였다.

(5) 젖산 탈수소효소 활성 측정 (LDH activity assay)

배양세포 중의 뮤신은, 다 자란 배양세포 (24 well plate, 5×10^5 cells/well)에, $10 \mu\text{Ci/ml}$ 의 [^3H] glucosamine을 함유하는 완전 배양액을 well당 $200 \mu\text{l}$ 씩 가하고 32°C 에서 24시간 동안 배양함으로써 방사능 표지하였고, 방사능 표지가 완결된 후 spent medium은 수거해 두었다. 배양세포에 well당 0.5 ml 의 PBS를 가하고 세척하는 조작을 2회 반복함으로써 배양세포의 잔사 등을 제거한 뒤, 각 약물 추출물 $10 \sim 40 \mu\text{l}$ 를 함유하는 PBS $200 \mu\text{l}$ 를 well마다 가하고 32°C 에서 30분간 배양하였다. 30분의 배양이 끝난 뒤 T sample을 수거하였다. 수거된 모든 sample들은 원심분리하여 부유세포 기타 잔사를 제거하고, $50 \mu\text{l}$ 의 상등액을 LDH activity assay에 사용했다. LDH 활성 측정은 commercial kit를 이용하였다^{29,30)}.

(6) 적출 기관 평활근에 대한 약물의 영향

체중 1.5 kg 정도의 건강한 백색 가토를 이산화탄소를 이용하여 질식사시킨 후 즉시 기관 전체를 적출하여 Tyrode 용액으로 세척하고, 주위 조직을 조심스럽게 제거하였다. 기관을 가로 방향으로 절취하여 기관 연결 3~5개를 포함하는 기관근 절편 표본을 제작하였다. 이렇게 얻어진 표본을 Tyrode 영양액

이 들어있는 chamber(Magnus 장치)의 하단에 고정하고 상단은 isometric transducer에 연결, physiograph를 이용하여 수축 정도를 측정하였다. 기관 표본에 5 g 의 resting tension을 가하고 37°C , 산소 공급 하에서 약 1시간 동안 15분 간격으로 세척하면서 안정화시켰다. 이 표본에 방금 조제된 acetylcholine 용액 $1 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$ 를 투여하여 최고 수축도를 측정한 다음, 세척하고, 15분간 안정화시켰다. 약물에 의한 기관 수축 억제효과(기관 평활근 이완 효과) 측정은, Magnus 장치에 담긴 Tyrode solution 50 ml 당 약물 추출액 $50 \sim 500 \mu\text{l}$ 를 투여하고 5분간 방치한 다음 acetylcholine 용액 $1 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$ 을 투여하여 각 약물을 투여하기 전 acetylcholine 단독투여에 의한 수축도와 비교함으로써 시행하였다.

3) 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, $p < 0.05$ 인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 성 적

1. In vivo

1) 이산화황으로 유발된 기도점액 과다 분비 상태에 미치는 영향

仙方敗毒湯은 이산화황으로 유발된 과다분비된 점액의 양을 유의성($p < 0.05$) 있게 감소시켰다(Fig. 1).

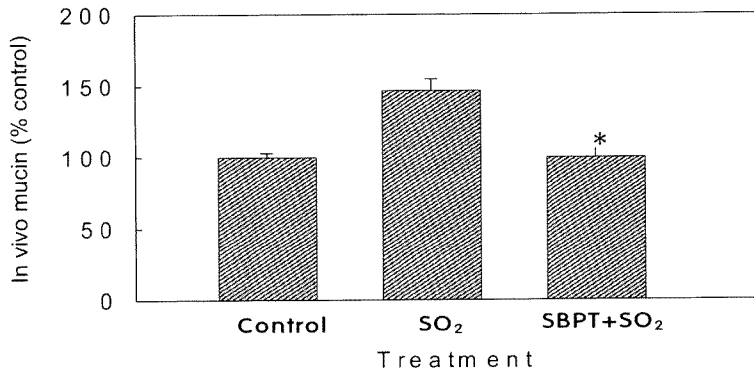


Fig. 1. *In vivo* effect of SBPT on hypersecretion of mucin from trachea of rats exposed to sulfur dioxide

Rats were exposed to sulfur dioxide and effect of orally-administered SBPT extract on quantity of secreted airway mucin from rats, as described in Materials and Methods.

* : significantly different from SO₂ group (p<0.05)

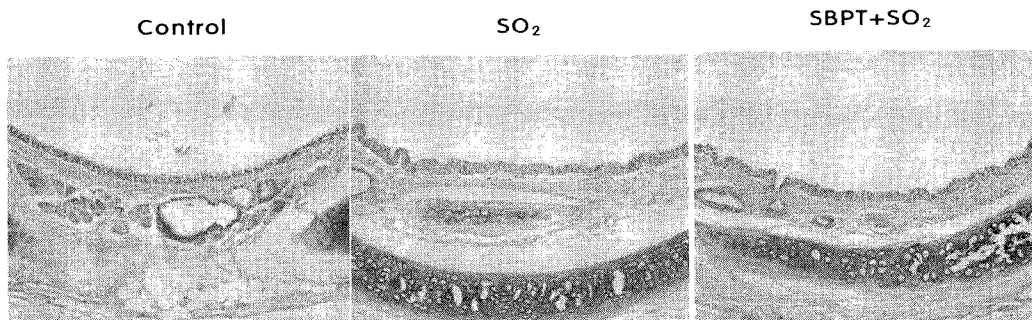


Fig. 2. *In vivo* effect of SBPT on intraepithelial mucosubstances and hyperplasia of goblet cells in trachea of rats exposed to sulfur dioxide

Rats were exposed to sulfur dioxide and effect of orally-administered SBPT extract on intraepithelial mucosubstances and hyperplasia of goblet cells, as described in Materials and Methods.

2) 이산화황으로 유발된 기도 배상세포 내 점액 함유정도 증가 및 배상세포 수 증가에 미치는 영향

仙方敗毒湯은 이산화황으로 유발된 기도 배상세포 내 점액 함유정도 증가 및 배상세포 수 증가를 억제하였다(Fig. 2).

2. *In vitro*

1) 일차배양 HTSE 세포로부터의 뮤신분비에 미치는 영향

仙方敗毒湯은 최종 추출물 10~80 μ l/200 μ l PBS의 투여 농도 범위에서, 뮤신분비에 영향을 주지 못하였다(Fig. 3).

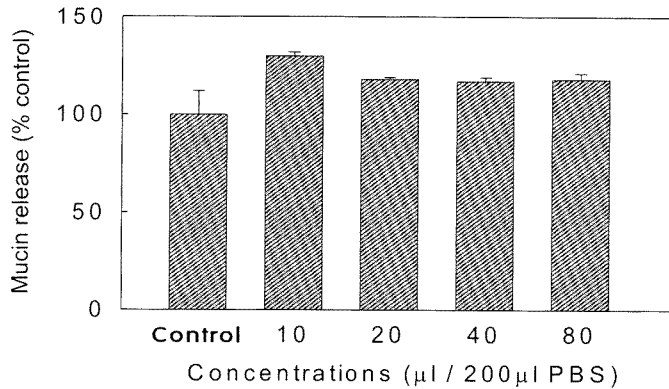


Fig. 3. Effect of SBPT on mucin release from cultured HTSE cells

Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of SBPT 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.

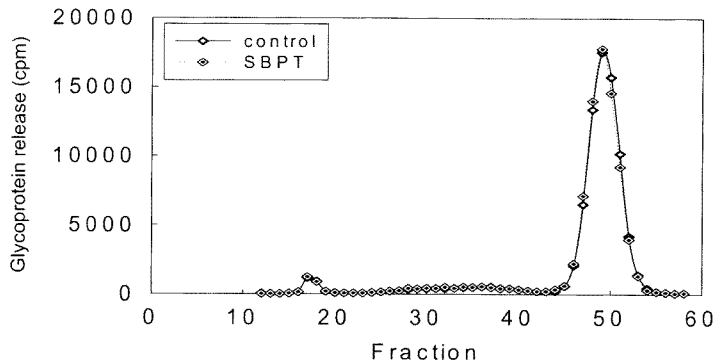


Fig. 4. Effect of SBPT on total elution profile of treatment sample through sepharose CL-4B column

Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of SBPT 80 μl/200 μl PBS and total elution profiles of control spent media and treatment sample through Sepharose CL-4B column were analysed, as described in Materials and Methods.

2) 仙方敗毒湯 처리 배양 상등액의 겔 여과 크로마토그래피를 이용한 전체 용출 양상 분석

仙方敗毒湯은 최종 추출물 80 μl/200 μl

PBS의 투여농도에서 뮤신 및 그보다 분자량이 작은 여타의 당단백질들의 분비에 영향을 주지 않았다(Fig. 4).

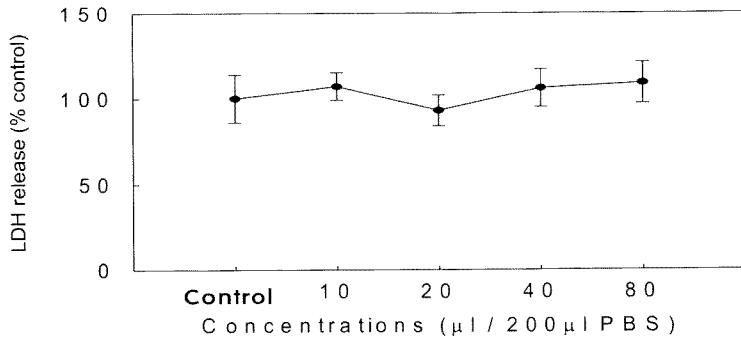


Fig. 5. Effect of SBPT on LDH release from cultured HTSE cells

Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of SBPT 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.

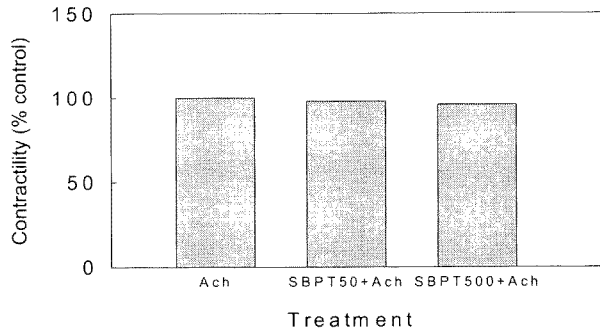


Fig. 6. Effect of SBPT on contractility of isolated tracheal smooth muscle

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

3) 일차배양 HTSE 세포로부터의 LDH 분비에 미치는 영향

仙方敗毒湯은 최종 추출물 10~80 μl/200 μl PBS의 투여 농도 범위에서 세포독성의 한 지표인 LDH 분비에 유의성 있는 영향을 주지 않았다(Fig. 5).

4) 적출된 토끼 기관 평활근의 긴장도에 미치는 영향

仙方敗毒湯은 최종 추출물 500 μl/Tyrode solution 50 ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 1×10⁻⁴ g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성 있는 영향을 주지 못하였다(Fig. 6).

IV. 고 찰

사람의 호흡기는 산소의 흡입과 이산화탄소의 배출과 같은 생명유지의 근간이 되는 기능을 수행함과 동시에 흡기를 통해 인체에 유입되는 유해한 물질에 대해 생물학적 방어 기능을 수행하는 기관이다³²⁾.

호흡기는 하루에 약 20,000 ℓ의 공기를 흡입하며 공기 속에는 세균, 바이러스, 진균류, 유해가스, 담배연기 등 각종 유해물질이 함유되어 있다³³⁾. 이에 대한 기도의 방어기전은 면역학적 방어기전과 비면역학적 방어기전으로 구분할 수 있는데, 면역학적 방어기전은 림프계, 보체계, 면역글로블린계로 분류할 수 있고 비면역학적 방어기전에는 여과청소, 점액성 섬모청소, 기침반사, 식균청소, 점막 단백질 등이 관여한다. 그 중 점액성 섬모청소는 어떤 입자나 병원균이 들어왔을 때 이를 점액전의 형태로 싸서 위로 올려보내는 것으로³⁴⁾ 기도를 덮고 있는 표피세포가 가지고 있는 섬모와 점액(mucus)이 함께 작용한다³³⁾.

호흡기 점액은 상피 배상세포와 점막하 점액선으로부터 유리된 분비물의 혼합물로서, 배상세포들로부터의 분비물은 주로 뮤신(mucin)과 액체성분으로 이루어져 있으며 점막하 점액선(submucosal gland)의 분비물은 뮤신, 액체성분, 폐포의 표면과 주위로부터 유래된 용질들을 함유하고 있다^{35,36)}. 그 구성 성분 중 95%가 수분, 나머지 5% 정도는 당단백질, 지질 및 무기질 등으로 이루어져 있으며 당단백질의 구조가 선형중합체 이중구조로 되어있는 겔 형태라서 끈적이는 양상을 보인다. 따라서 객담의 점도는 기관지 점액의 수분함량이 적을수록 더 높아지게 된다³⁷⁾.

정상적인 호흡기 점액은 기관지 표면을 살

짝 덮어 항상 촉촉하게 유지함으로써 기관지를 물리적 자극으로부터 보호할 뿐 아니라, IgA와 같은 면역물질들을 포함하고 있으면서 병원균이 호흡점막에 부착하는 것을 방해하고 여러 독성물질로부터 기도를 보호하는 중요한 방어역할을 한다. 따라서 기관지 점액 생성 자체는 우리 인체의 중요한 방어기전 중의 하나로 생리적 현상이라 할 수 있으며³⁷⁾, 점액의 양은 점액의 생성율과 재흡수, 증발 및 섬모수송에 의해 일어나는 점액제거율의 균형에 의해 유지된다⁴⁾. 그러나 오존, endotoxin, 이산화황과 같은 자극성 가스나 바이러스 혹은 염증 매체들에 노출되면 이러한 균형이 깨어지게 되고⁴⁾, 기관지 내 점액분비가 비정상적으로 증가하여 기관지 내 이물감, 기관지 폐쇄, 그로 인한 환기 장애 및 호흡곤란 등이 나타나기 때문에 가래라는 형태로 이를 배출하게 된다. 정상인은 생성되는 객담의 양 자체가 많지 않으며 대부분 무의식적으로 삼키기 때문에 실제 밖으로 배출되는 경우가 거의 없지만, 기관지 염증을 초래하는 병적인 상태에서 비정상적으로 가래가 많이 생성되면 우선 기관지 내의 이물감으로 인하여 기침을 자주하게 되고, 생성된 가래로 인하여 기관지가 꽉 막히면 무기폐가 발생하여 고열, 흉통, 호흡곤란 등이 나타나게 된다³⁷⁾. 따라서 천식, 만성 기관지염, 폐기종, 기관지 확장증, 낭포성 섬유증 등의 호흡기 질환에서 관찰되는 객담 혹은 점액의 과다분비는 이러한 질환군의 예후를 악화시키는 주된 요인이 된다³⁵⁾.

이에 대해 점액을 감소시키기 위한 치료방침으로는 점액의 분비 자체를 줄이는 것, 상피세포의 점액수송능을 증대시키는 것, 점액의 유동학적 특성을 변화시켜 기침에 의해 보다 효과적으로 제거할 수 있는 방법의 세

가지가 있으나 점액의 분비 자체를 줄이는 방법이 가장 효과적이고 임상에서 널리 쓰이는 방법이라고 알려져 있다⁴¹. 서양의학에서 흔히 거담제라고 쓰이는 약제들은 기관지 상피세포의 섬모운동에 의해 점액 제거를 용이하게 하거나 점액 자체를 용해하여 점성을 떨어뜨려서 제거를 용이하게 하는 작용을 하며, 이중 점액용해제는 기도 분비물의 점성을 낮추어서 쉽게 배출이 되도록 하는 약제로 N-acetylcysteine(NAC), bromhexine, carbocysteine, guaifenesin 등의 약물이 사용되고 있다. 그러나 대부분의 점액 용해제와 거담제는 placebo 대조시험 결과에서 효과가 확실하지 않으며, 위점막을 자극하여 기관지 분비물을 증가시키므로 위장장애가 발생하기 쉽다³⁷. 또한 반사기전에 의한 극심한 점액 분비를 초래하거나 지나친 점도 감소로 점액의 원위 기관 유입을 초래하기도 하며⁵ COPD의 급성악화 시에는 기관지 수축을 일으켜 오히려 해가 될 수도 있다³⁷.

한의학에서 보는 체내 수액대사는 往復出入과 上下升降의 운동을 반복하면서 복잡한 대사과정을 거치게 된다. 이는 결국 여러 臟腑間 상호협조의 결과이고 이를 다시 三焦의 氣化作用으로 개괄할 수 있으며 그 중에서도 肺脾腎 三臟이 가장 중요한 의미를 지니고 있다. 즉, 肺에 의하여 하강하고 腎에 의하여 상승하는 과정에 있어서 肺의 宣降作用과 腎陽의 蒸化, 推進作用 외에 脾에 의한 傳授작용과도 관련을 맺고 있으며 이러한 진액의 授布에 肝은 그 疏泄기능으로써 협력하고 있다. 또한 《素問·靈蘭秘典論》에서는 “三焦者 決瀆之官 水道出焉”이라 하여 진액의 順行과 收布에 있어 三焦가 그 통로가 됨을 가리키고 있다³⁸. 臟腑機能失常이나 병리적인 熱로 인하여 이러한 체내의 수액대사가 실조

되면 기도, 소화관, 근육, 피부 사이 등과 같은 체내 어느 한 부분에 과다한 수분이 정체되어 담음이 생성된다^{39,40}. 狹義의 痰은 咯出한 痰液, 즉 咯痰을 가리키며 廣義의 痰은 체내의 經絡, 臟腑 各處에 留滯될 수 있고 각각 다른 증후로 표현된다. 痰이 肺에 留滯하면 咳喘, 痰多하고 胃에 留滯하면 惡心, 嘔吐를 일으키며 胸膈間에 留滯하면 胸滿而喘하게 된다³⁹.

소아는 생리적으로 臟腑嬌嫩 形氣未充하여 《小兒藥證直訣》⁴¹에서는 “五臟六腑 成而未全…全而未壯”이라 하였으며 臟腑嬌嫩에는 五臟六腑가 모두 포함되지만 특히 肺, 脾, 腎이 중요하다. 또한 병리적으로 易于發病하는 특징으로 《醫學三字經》⁴²에서 “稚陽體 邪易干”라고 하여 소아는 질병에 대한 저항력이 낮아 외사에 감염되기 쉽고, 《溫病條辨·解兒難》⁴³에서는 “臟腑薄 藩籬疏 易于傳變 肌腐嫩 神氣怯 易于感觸”라고 하여 臟腑機能과 衛外機能의 취약한 생리적 특징으로 인해 질병의 이환과 전변이 쉽다고 설명하고 있다. 따라서 小兒는 外因으로 六淫의 侵襲과 內因으로 음식에 傷하는 것이 쉬워 脾肺의 病證이 가장 많으며 특히 肺常不足으로 衛外기능의 未固로 六淫의 邪氣를 받기 쉬워 급성 호흡기 감염으로 인한 咯痰을 주증으로 하는 感冒, 咳嗽, 哮喘, 肺炎 등이 많다⁴⁴. 실제 한^{45,46} 등의 연구에 따르면 한방병원을 내원하는 소아 외래환자의 주소증 중 호흡기계 질환이 가장 많은 비율을 나타내고 있으며, 한방치료에 대한 선호도 또한 호흡기계가 가장 높다고 하였다.

仙方敗毒湯은 荊防敗毒散⁴⁷과 仙方活命飲⁴⁸의 加減方으로, 乳蛾와 같은 염증성 질환에 활용되는 처방이다¹¹. 荊防敗毒散은 《醫學正傳》⁴⁷에 최초로 수록되어 있으며 外感風寒

濕邪를 主治하여 時氣發熱, 肢節痛, 瘡瘍을 치료하는 처방으로⁷⁾ 傷寒 時氣로 頭痛項強, 壯熱惡寒, 身體煩疼한 증상에 사용한다¹⁰⁾. 仙方活命飲은 陳의 《婦人良方大全》⁴⁸⁾에 처음 수록되었으며 消腫, 止痛, 解熱, 散瘀, 排膿, 補血, 活血하여 癰疽 및 각종 염증성 질환, 膿瘍, 腫瘍등의 치료에 사용되는 처방이다⁸⁾.

仙方敗毒湯의 약물구성을 살펴보면, 金銀花는 散熱解毒하는 聖藥으로서 君藥으로 정하였으며 連翹 天花粉과 함께 그 火를 淸解하고 防風과 白芷는 皮膚표면으로 약성이 도달케하고 皂角刺는 經맥을 뚫게 하며, 血은 氣가 없으면 순행하지 못하므로 貝母로 氣를 散理하고 羌活 獨活 柴胡 前胡는 解熱 散表 寒邪하며 荊芥로 發毒하고 桔梗 枳殼으로 祛痰 散結痰滯하며 黃芩 玄蔘 牛蒡子로 咽喉痛을 消하고 無根之火를 瀉하며 射干 山豆根으로 淸熱解毒 祛痰利咽하고, 薄荷로 行氣시키며 茯苓 桑白皮로 淸利濕熱 瀉肺平喘하고 甘草로 緩和 解毒한다. 약물 구성의 전체적인 약성은 寒 無毒하고 味는 苦하며 歸經은 肺經, 大腸經, 胃經, 肝經의 순서로 빈도가 높았으며 약리적으로 解熱, 鎮痛, 抗菌, 消炎, 鎮靜의 효과가 있다^{11,49)}.

따라서 仙方敗毒湯은 淸熱解毒, 消腫散結하여 氣血의 凝滯를 消散시키고, 降氣化痰, 潤肺祛痰, 利水滲濕, 淸肺提氣, 祛痰排膿, 通經絡하여 수분대사의 실조 혹은 혈관 투과성의 증대나 염증 등에 수반하여 체내에 저류된 痰飲, 水腫을 제거, 치료하는 데 활용되고 있다⁹⁾.

이에 저자는 仙方敗毒湯이 喀痰의 생성 및 과다분비 조절에 미치는 영향을 객관적으로 규명하고자, *in vivo*에서 이산화황의 흡입으로 유발된 호흡기 점액 과다분비 동물모델을 이용하여 仙方敗毒湯의 기도점액 분비에 대

한 영향을 측정하고 기도 배상세포 내 점액 함유정도 증가 및 배상세포 수에 미치는 영향을 검증하였다. 또한 *in vitro*에서 일차배양된 햄스터 기관 표면 상피세포 (HTSE cell)로부터의 뮤신 생성, 젖산 탈수소효소 활성 (LDH activity)에 미치는 효과를 관찰하였다.

실험결과 흰쥐를 이산화황 기체에 3주간 노출시켰을 때 기도점액의 분비량이 대조군보다 유의성 있게 증가하였으나, 1주간의 仙方敗毒湯 투여군에서는 기도점액의 분비량이 다시 감소하였다(Fig. 1). 동시에 仙方敗毒湯 투여가 기도 상피세포층의 조직학적 변화에도 유의성 있는 영향을 발현하였다. 이산화황 3주 처리로 기도 배상세포의 수가 증가하고 배상세포내 점액 함유정도가 증가하는 현상을 관찰할 수 있었으나, 총 3주의 이산화황 노출 기간 중 최종 1주간 仙方敗毒湯을 경구 투여한 동물군에서는 배상세포내 점액함유정도나 기도 배상세포의 수가 이산화황 3주 단독처리군에 비해 유의성 있게 감소한 것을 발견할 수 있었다(Fig. 2). 이러한 결과는, 仙方敗毒湯 투여로 기도점액의 분비 및 과다분비 상태가 유발된 기도 상피세포의 조직학적 변화를 억제함으로써, 仙方敗毒湯이 기도 염증 상태에서의 점액 과다분비를 조절하여 천식, 급만성 기관지염, 상기도 증후군, 기관지 확장증 등 호흡기 염증성 질환에서의 치료작용을 발현함에 대한 기초과학적 배경을 제시하고 있다. 한편, 仙方敗毒湯은 최종 추출물 10~80 μl /200 μl PBS의 투여농도 범위에서 30분간의 *in vitro* 약물처리 기간 동안 뮤신 분비에 영향을 주지 못하였다(Fig. 3).

이상의 결과는 仙方敗毒湯이 단기적(*in vitro*)으로는 뮤신분비에 영향을 주지 못하나 장기(*in vivo*)적으로 반복투여 시에는 뮤신의 과다분비를 감소시킬 가능성을 시사함으로써

仙方敗毒湯이 임상적으로 기도점액 과다분비 상태를 개선시킬 가능성을 실험적 증거를 통하여 제시하고 있다.

다음으로 뮤신분비에 영향을 주는 仙方敗毒湯이 거대 당단백질인 뮤신보다 분자량이 작고 구조도 다른 여타의 방사능 표지 당단백질들의 분비에도 영향을 미치는지 여부를 검증하고자 하였다. 일차배양된 HTSE 세포에 ^3H -glucosamine을 이용, 배양세포가 생산하는 뮤신 및 glucosamine을 함유하는 여타의 당단백질에 방사능 표지한 후, 일정 기간 동안 세포를 배양하면 ^3H -표지 당단백질들이 배양액 중으로 유리된다²⁴⁾. 이때 이 배양액을 Sepharose CL-4B column에 loading 하면 ^3H -표지 당단백질 중 분자량 수백만 dalton에 해당하는 거대분자인 뮤신으로부터 가장 크기가 작은 ^3H -glucosamine까지 용출되는 특정한 용출양상(elution profile)이 나타난다. 만약 대조 배양액의 전체 용출양상을 기준으로 각 약물을 처리했을 때 전체 용출양상(total elution profile)의 특정부분에 변화가 생겼다면, 그 변화는 특정 크기의 ^3H -당단백질 분비량의 변화를 의미하는 것이다^{28,29)}. 仙方敗毒湯은 뮤신 뿐만 아니라 여타의 당단백질의 분비에도 유의성 있는 영향을 주지 않았다(Fig. 4). 이러한 실험 결과는 仙方敗毒湯이 *in vitro*에서 뮤신과 그보다 크기가 작고 구조도 다른 당단백질들의 분비에도 유의성 있는 영향을 미칠 가능성이 낮다는 점을 의미하는 것이다. 또한 본 연구에서는 세포막 손상의 한 지표인 LDH 활성 측정을 통하여 이 약물에 의한 세포독성 발현 가능성을 검증하고자 하였다. 세포막이 손상되면 세포는 그 완전성과 정상 기능을 상실한다³⁰⁾. 그러므로 세포막 손상 시 분비되는 LDH의 활성 측정을 세포독성 유발여부 측정의 한 방법으로

채택할 수 있다. 仙方敗毒湯은 최종 추출물 10~80 $\mu\text{l}/200 \mu\text{l}$ PBS의 투여 농도에서 LDH 분비에 유의성 있는 영향을 주지 않았다(Fig. 5). 이러한 결과는 仙方敗毒湯이 배양된 기도 상피세포에 대해 현저한 세포막 손상을 일으키지 않을 가능성을 시사하는 결과로 볼 수 있으며 세포독성 측정을 위해 사용하는 다양한 방법론을 적용, 추가적인 독성 연구를 시행해 볼 필요성이 있다 할 것이다.

본 연구에서는 仙方敗毒湯이 적출된 토끼 기관 평활근의 수축도에 미치는 영향을 검증함으로써, 천식 등의 기관 평활근 수축 상태에서 仙方敗毒湯에 의한 기관 평활근 이완 효능도 검증하고자 하였다. 仙方敗毒湯은 최종 추출물 50~500 $\mu\text{l}/\text{Tyrode solution } 50 \text{ ml}$ 의 투여 농도에서 토끼 적출 기관에서 $1 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$ 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성 있는 영향을 주지 못하였다(Fig. 6).

이러한 연구결과로 볼 때, 仙方敗毒湯의 경우 기관 평활근의 긴장도에 영향을 주지 못함, 즉 직접적인 기관 혹은 기관지 확장효과를 발현하지 못함으로써 항천식 효능은 나타내지 않을 가능성이 있는 것으로 잠정적인 결론을 내릴 수 있을 것이다. 그러나 확정적인 항천식 효과의 검증을 위해서는 천식 모델 흰쥐의 기도저항에 미치는 약물의 영향 등을 규명하는 과정, 즉 *in vivo*에서 약물의 항천식 활성 검증 과정이 수반되어야 할 것으로 판단된다.

결론적으로 상기의 연구결과들은 급만성 염증성 호흡기 질환에 사용되는 약물인 仙方敗毒湯의 임상 한의학적 효능에 대한 기초과학적 해석의 근거를 제시하고 있으며, 나아가 호흡기 질환의 다양한 병태생리를 반영하는 여타의 *in vivo* 동물모델들을 이용하여 약물

의 효능에 대한 후속연구의 필요성을 제시하고 있다.

V. 결 론

仙方敗毒湯의 뮤신분비 조절기능 및 기도 배상세포 수에 미치는 영향과 HTSE 세포에서 뮤신 함량, 젓산 탈수소효소 활성 및 기관 평활근 이완 효과를 연구한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 仙方敗毒湯은 이산화황으로 유발된 기도점액 과다분비 동물모델에서 *in vivo* 뮤신의 분비를 감소시켰으며, 기도 상피 조직에서 배상세포수의 증가를 억제하였다.
2. 仙方敗毒湯은 HTSE 세포에서 뮤신분비 및 호흡기 배상세포에서 분비될 수 있는 여타의 당단백질들의 분비에 영향을 주지 않았으며, LDH 분비에 유의성 있는 영향을 주지 않았다.
3. 仙方敗毒湯은 토끼의 적출 기관 평활근의 수축도에 유의성 있는 영향을 주지 못하였다.

VI. 참고문헌

1. 안효섭. 홍창의 소아과학. 서울:대한교과서 주식회사. 2004:606.
2. 新谷太. Step to internal medicine. 서울:정담. 2002:19-24.
3. Newhouse MT., Biennenstock J. Respiratory tract defense mechanism, Inc: Textbook of Pulmonary Disease. Boston/ Toronto: Little Brown and Company. 1983:3.
4. 윤주현. 기도 상피세포의 점액분비 조절. 대한알레르기학회지. 1997;17(3):201-12.
5. Mutschler E., Derendorf H. Drug actions. Florida:CRC press. Inc. Boca Raton. 1995: 410-1.
6. 大田大學校附屬 韓方病院. 大田大學校附屬 韓方病院處方集. 大田:韓國出版社. 2001: 397.
7. 李鍾秀, 丁奎萬. 仙方敗毒湯의 본초학적 약리작용에 관한 고찰. 대한한의학회지. 1983;4(2):355-8.
8. 안봉전, 이진태, 이창언, 손준호, 이인철, 이진영, 박태순, 장민정, 송미애, 지선영. 仙方活命飲의 항암 및 항산화효과 검증. 대한본초학회지. 2005;20(3):51-8.
9. 申東浩, 金禹淵, 李進容, 金德坤. 仙方敗毒湯이 아토피 피부염 환자 단핵세포의 Cytokine 분비에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 2002;16(1):21-37.
10. 이재원, 정규만. 仙方敗毒湯이 항알레르기 작용에 미치는 影響. 경희대경희한의대는 문집. 1990;13:247-59.
11. 이종수. 仙方敗毒湯의 鎮痛. 鎮靜. 消炎. 解熱 및 抗菌에 미치는 實驗의 效果. 경희대경희한의대는문집. 1988;11:213-26.
12. 金潤希, 韓在敬, 金允姬. 淸連湯 및 淸瀉散가미방이 기도점액 분비 및 기관평활근 긴장도에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 2005;19(1):11-23.
13. 김정숙, 김윤희. 加味腎氣湯 등 數種方劑가 일차배양 호흡기 상피세포에서의 점액

- 분비에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 2006;20(1):109-35.
14. 윤재은, 한재경, 김윤희. 柴梗清肺湯 및 通竅湯加味方이 기도점액분비 및 기관평활근 긴장도에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 2006;20(1):93-107.
 15. 나도균, 이충재, 박양춘. 소청룡탕 및 가미치효산이 호흡기 배상세포로부터의 뮤신 분비에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2004;18(3):734-9.
 16. 이정은, 박양춘. 淸金降火湯 및 瓜蒌枳實湯이 호흡기 배상세포로부터의 뮤신 分泌에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2004;25(2):238-44.
 17. 임도희, 이정은, 한영주, 황지호, 조철준, 배한호, 박양춘, 채은영. 행소탕 및 가미팔미환이 호흡기배상세포로부터의 뮤신분비에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2005;26(1):221-8.
 18. 김준명, 이충재, 박양춘. 정천화담탕 등 수종 방제의 호흡기 객담분비 조절 효능에 관한 실험적 연구. 대한한방내과학회지. 2006;27(1):126-37.
 19. 한달수, 김윤희, 강탁림. 加味腎氣湯 및 加味淸肺湯이 기도점액분비 및 기관평활근 긴장도에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2006;20(1):156-62.
 20. Pon D.J., Van Staden C.J., Boulet L., Rodger I.W. Hyperplastic effects of aerosolized sodium metasulfite on rat airway mucus-secreting epithelial cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1994;72: 1025-30.
 21. Harkema J.R., Hotchkiss J.A. *In vivo* effects of endotoxin on intraepithelial mucosubstances in rat pulmonary airways: quantitative histochemistry. *Am. J. Pathol.* 1992;141:307-31.
 22. St. George J.A., Cranz D.L., Zicker S., Etchison J.R., Dungworth D.L., Plopper. An immunohistochemical characterization of Rhesus monkey respiratory secretions using monoclonal antibodies. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1985;132: 556-63.
 23. 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.
 24. Kim K.C., Rearick J.I., Nettlesheim P., Jetten A.M. Biochemical characterization of mucous glycoproteins synthesized and secreted by hamster tracheal epithelial cells in primary culture, *J. Biol. Chem.* 1985;260:4021-7.
 25. 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;105:158.
 26. Wu R., Smith D. Continuous multiplication of rabbit tracheal epithelial cells in a defined, hormone-supplemented medium. *In Vitro.* 1982;18: 800-12.
 27. Wu R., Nolan E. Turner C. Expression of tracheal differentiated function in serum-free hormone-supplemented medium, *J. Cell Physiol.* 1985;125:167-81.
 28. 이충재. 설치류 기관 뮤신유리 억제에서의 폴리양이온성 작용기전. 서울대학교대학원. 1997:4.
 29. Lee C.J. Specificity in the inhibition of

- mucin release from airway goblet cells by polycationic peptides, *J. Appl. Pharmacol.* 2001;9(3):218-23.
30. Ko K.H., Lee C.J., Shin C.Y., Jo M.-J. Kim K.C. Inhibition of mucin release from airway goblet cells by polycationic peptides. *Am. J. Physiol.* 1999;277(21):L811-5.
 31. Cheng P.W., Sherman J.M., Boat T.E., Bruce M. Quantitation of radiolabeled mucous glycoproteins secreted by tracheal explants, *Anal. Biochem.* 1981;117:301-6.
 32. Netter F.H. Respiratory system of the ciba collection of medical illustrations. 1979;7:3-208.
 33. 서울대학교 의과대학. 호흡기학. 서울:서울대학교출판부. 1994:43-53.
 34. 이동근. 호흡기질환 치료제의 이론과 실제-기도면역학. 대한소아알레르기 및 호흡기학회. 1994;4(2):189-94.
 35. Frigas E., Loegering D.A., Solley G.O., Farrow G.M., 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.
 36. Gleich G.J. The eosinophil and bronchial asthma. Current understanding. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;85(2):422-36.
 37. 김세규, 장준. 호흡기 증상 완화제-진해제, 거담제, 항히스타민제-. 결핵 및 호흡기 질환. 2006;60(3):261-9.
 38. 대한동의생리학회. 동의생리학. 서울:일중사. 2004:110-5,357-8.
 39. 김완희. 韓醫學原論. 서울. 정보사부설 한의학연구원. 2003:129-32, 165-8, 352-8,
 40. 전국한의학대학교 폐계내과학교실. 동의폐계내과학. 서울:도서출판한문화사. 2002:102.
 41. 錢乙. 小兒藥證直訣. 서울:여강출판사. 2002:35-6.
 42. 陳修園. 醫學三字經. 上海:上海科學技術出版社. 1979:31.
 43. 吳國通. 溫病條辨. 서울:集文堂. 2004:711.
 44. 金德坤, 金允姬, 金璋顯, 朴恩貞, 白政翰, 李承蓮, 李進容, 張奎台. 동의 소아과학. 서울:정담. 2002:28-30.
 45. 한재경, 김윤희. 대전대학교 부속 한방병원 소아과에 래원한 환자에 대한 실태 분석. 대한한방소아과학회지. 2001;15(2):209-20.
 46. 이승연. 소아과외래환자의 주소증에 관한 임상적 고찰. 대한한방소아과학회지. 2001;15(1):203-16.
 47. 虞天民. 醫學正傳. 서울:醫藥社. 1973:117-26.
 48. 陳白明. 婦人良方大全. 臺北:文光圖書. 1981:24:34-5.
 49. 전국한의학대학교본초학교수. 본초학. 서울:영림사. 2000:127-32, 142-5, 165-6, 192-3, 149, 178-9, 198-201, 214-6, 260, 302, 351, 428-30, 440-1, 458-61, 463-4, 484-5, 540.
 50. Freshny. Measurement of viability and cytotoxicity. In, Culture of animal cells (3rd ed.). Willey-Liss, Inc. 1994:288.