

다계층 상호작용 네트워크 기반 사상처방의 작용 기전과 대상 질환 탐색 연구

이원용¹ · 김지환^{2,*}

¹원광대학교 한의과대학 병리학교실 교수, ²가천대학교 한의과대학 사상체질의학교실 교수

Abstract

Exploring the Mechanisms and Target Diseases of Sasang Constitutional Prescription based on Multiscale Interactome

Won-Yung Lee¹ · Ji Hwan Kim^{2,*}

¹Dept. of Pathology, College of Korean Medicine, Wonkwang University

²Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine, Gachon University

Objectives

The aim of this study is to explore the mechanism of action and target diseases of Sasang constitutional prescriptions using a multiscale interactome approach.

Methods

The compound and target information of Sasang constitutional prescriptions were retrieved from various databases such as the TM-MC, STITCH, and TTD. Key targets for Sasang constitutional prescriptions were identified by selecting the top 100 targets based on the number of simple paths within the constructed network. Diffusion profiles for Sasang constitutional prescriptions and diseases were calculated based on a biased random walk algorithm. Potential diseases and key mechanisms of Sasang constitutional prescriptions were identified by analyzing diffusion profiles.

Results

We identified 144 Sasang constitutional prescriptions and their targets, finding 80 herbs with effective biological targets. A cluster analysis based on selecting up to 100 key targets for each prescription revealed a more cohesive grouping of prescriptions according to Sasang constitution. We then predicted potential diseases for 62 Sasang constitutional prescriptions using diffusion profiles calculated on a multiscale interactome. Finally, our analysis of diffusion profiles revealed key targets and biological functions of prescriptions in obesity and diabetes.

Conclusions

This study demonstrates the effectiveness of a multiscale interactome approach in elucidating the complex mechanisms and potential therapeutic applications of prescriptions in Sasang constitutional medicine.

Key Words : Sasang constitutional medicine, Herbal medicine, Network pharmacology, Multiscale interactome, Disease, Mechanism

Received 20, November 2023 Revised 23, November 2023 Accepted 14, December 2023

Corresponding author: Ji Hwan Kim

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, Gil hospital of Korean Medicine, Gachon University,
21, Keunumul-ro, Jung-gu, Incheon, Rep. of Korea

Tel: +82-32-770-1293, E-mail: jani77@gachon.ac.kr

© The Society of Sasang Constitutional Medicine.
All rights reserved. This is an open access article
distributed under the terms of the Creative
Commons attribution Non-commercial License
(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>)

I. 緒論

사상의학에서는 생리적 개념의 사상인을 판별하는 사상체질진단과, 병리적으로 발현되는 증상 조합을 변증(辨證)하는 사상체질 병증진단에 의거하여 환자에게 사상처방을 투여한다. 이는 질병에 의해 생물학적 기능이 손상되거나 교란되어 나타난 일련의 병리적 상황을 정상적으로 회복시키는 치료방법으로, 아직 치료법이 정립되지 않은 새로운 질병이 발생한 경우나, 특정 질환으로 진단받지 못한 경우에도 생체의 반응(특히 각 사상인 별 특유의 대응반응)에 의거하여 유연하게 대처할 수 있다는 장점을 갖는다.

하지만 사상의학적 치료과정의 바탕인 병리적 설명과 처방 기전에 대한 설명 방식 - 예를 들어 각 사상인 별 애노회락의 편차에 따른 폐비간신 기운의 편차, 혹은 보명지주(保命之主)의 손상을 사상처방이 조절하고 회복시킨다 - 은 추상적일 수 밖에 없으므로, 이런 설명방식으로는 실제 생체의 어떤 문제로 생물학적 기능이 손상되거나 교란되어 병리적인 상황이 발생했으며 이 상황에서 사상처방은 어떻게 치료효과를 보이는지를 현대적 관점으로 해석하기 힘들다. 이런 문제점을 보완하기 위한 노력들로 주로 세포나 질환 별 동물 모델에 특정 사상 처방을 적용한 후 변화된 분자를 파악하는 방식의 연구들이 오랫동안 시도되었다. 하지만 이 경우 그 모델 만의 표적과 기전을 확인할 수 밖에 없으며, 적합한 모델이 없는 경우 연구조차 할 수 없다는 한계가 있다. 실험연구는 사상체질의학회지에 2018년 이전까지 꾸준히 보고되었으나 세포실험의 경우 2013년¹, 동물실험의 경우 2017년²을 끝으로 연구가 발표되고 있지 않고 있으며, 현재는 임상 증례보고가 상대적으로 증가하는 추세에 있다³.

네트워크 약리학은 약물의 기전을 인체 상호작용 네트워크에서 탐색하는 학문으로 Hopkins⁴가 2008년 단일표적기반 약물개발 방식의 대안으로 제안하면서 해당 분야가 정립되었다. Barabasi 등⁵은 생체의 분자들과 질병 개념을 네트워크 기반의 상호작용체(Interactome)의 연결성으로 표현하였고, 이 상호작용

체 상에서 질환 단백질 군에 근접한 약물이 해당 질병을 치료하는 경향이 있음을 규명하였다. Zhang 등⁶은 단일 성분이 아닌 복합성분의 한약이 생체의 어떤 기전에 작용하는지에 파악하기 위해 시스템 약리학을 도입할 것을 제안하였다. 이후 네트워크 약리학적 방식으로 한약이 생체의 어떤 표적에 작용하는지 예측하는 연구들이 발표되면서^{7,8} 기존의 세포나 동물 모델을 사용한 기존 연구 방식의 약점을 극복하게 되었다. 다만 이 당시 네트워크 약리학의 연구 방법들은 네트워크 상에서 질병관련 분자들과 처방 성분 간의 근접도를 바탕으로 해당 질병에 최적인 처방을 제안해주는 방식이었으므로, 어떠한 생물학적 기전으로 처방이 치료효과를 보이는지 정확히 파악할 수 없으며, 근접도가 낮음에도 처방의 치료효과가 나타나는 경우에 대해서는 설명할 수 없다는 단점이 존재했다. 이에 Ruiz 등⁹은 기존의 약물-단백질-표적의 네트워크에 단백질-단백질 상호작용 (protein-protein interaction), 단백질-생물학적 기능 상호작용 (protein-biological function interaction), 그리고 생물학적 기능 간 상호작용 (biological function-biological function interaction) 네트워크를 모두 통합하여 다계층의 상호작용체(multiscale interactome)를 구축하는 방법으로 이 문제를 해결했다고 보고했다.

앞서 언급한 것처럼 사상체질의학의 치료 목표는 결국 질병에 의해 손상되거나 교란된 생체의 생물학적 기능을 회복시키는데 있으며, 이는 약물-단백질-표적으로 구성된 네트워크에서 약물과 질병표적이 직접적으로 연결되어 나타나는 치료효과 뿐만 아니라, 중간 의 여러 분자들을 경유하게 되는 간접적인 연결 및 생물학적 기능 간 상호작용을 통해 이루어지는 치료효과까지도 고려할 필요가 있음을 암시한다. 이에 저자들은 본 연구를 통해 Ruiz 연구진의 연구방법론을 활용하여 단백질 및 생물학적 기능으로 구성된 다계층 상호작용 네트워크를 구축한 후, 이 네트워크 상에서의 사상처방의 전파효과를 측정하여 특정 질환에 대한 사상처방의 기전과 특정 사상처방이 적용될 수 있는 대상 후보 질환을 탐색하는 방법을 제시하고자 한다.

II. 研究方法

1. 사상처방의 구성 본초 파악

사상처방의 구성 본초는 『동의수세보원 신축본』(이하 신축본)을 바탕으로 구성되었으며, 신축본의 구성 본초의 명명은 사상체질별 본초 선별 및 네트워크 약리학 데이터베이스와의 연관성을 탐색한 이전 연구¹⁰를 참조하였다. 이 연구에서는 소음인, 소양인, 태음인의 경우 배^{11,12,13}의 연구를 기본으로 삼았으며, 태양인의 경우 김¹⁴의 연구를 참고하였고 여기에 본초의 포제 사항까지 고려된 명칭도 추가로 수기 조사하여 최종 본초 리스트를 선정하였다.

2. 본초의 성분정보 파악

사상체질처방 구성 본초의 성분정보는 네트워크 약리학 데이터베이스 중 하나인 'TM-MC'¹⁵에서 확보했다. TM-MC는 크로마토그래피(Chromatography) 방식으로 검출할 수 있는 한약 성분에 대한 포괄적인 성분정보를 제공하는 데이터베이스이며, 성분에 대한 정보를 표준 명칭 중 하나인 'pubchem compound ID'를 제공해주는 특성이 있다. 한글 명칭을 기준으로 'TM-MC'에서 사상처방의 구성 약물을 검색하였으며, 검색된 정보를 바탕으로 사상처방의 본초-성분 연결 관계를 추출하였다.

3. 성분의 표적정보 파악

Huang 등¹⁶이 여러 데이터베이스를 종합하여 천연물에 대한 다양한 직·간접적 표적 정보를 정리하여 구축한 데이터 세트와, 문헌, 실험적 근거 등을 포함한 다양한 데이터베이스를 종합하여 40만개 이상의 성분에 대한 표적 정보를 통합 제공하는 'Search Tool for Interactions of Chemicals(STITCH)'¹⁷, 그리고 이미 알려진 표적정보와 질환 관련 표적 및 신호전달경로 등을 제공하는 'Therapeutic Target Database(TTD)'¹⁸ 데이터베이스 등을 활용하여 실험적으로 검증된 성분-표적

상호작용의 정보를 파악하였다. 단백질 명명체계의 통일을 위해, 'STITCH'의 'ensemble protein ID'는 'gene symbol' 및 'entrez gene ID'로 변환했다.

4. 사상처방의 중요 표적 선택

처방-단백질-표적으로 단순히 연결 짓는 네트워크 약리학적 분석 시에는, '어떤 처방 내 여러 성분과 상호작용하는 특정 표적'과 '또 다른 처방 내 단지 하나의 성분과 작용하는 특정 표적'이 단순하게 동등한 관계로 취급되므로 해당 특정 표적에 대해 두 처방에 동등한 정도로 작용한다고 해석하게 되는 문제가 발생할 수 있다. 이를 해결하기 위해 저자들은 각 사상처방 별 단순 경로의 수를 계산 후, 그 결과를 바탕으로 각 처방 별로 단순 경로의 숫자가 높은 상위 100개의 표적들을 선별하였다. 만일 처방의 표적들이 100개가 넘지 않는 경우 이들 모두를 주요 표적으로 간주하였다. 단순 경로는 네트워크상에서 출발 노드(node)에서 연결 노드까지의 다다를 수 있는 경로의 개수를 의미하므로, 단순 경로의 숫자가 높다는 것은 특정 표적에 대한 처방의 영향력이 상대적으로 강하다는 것을 뜻한다. 100개라는 기준은 한약 연구에 있어서 도출된 다양한 성분 및 한약들을 활용하여 연구했던 Zhang 등¹⁹, Wang 등²⁰의 연구를 참조하였다. 이 과정에서 주요 표적의 선택이 사상처방에 내재된 사상체질 별 분류 정보에 미치는 영향을 탐색하기 위하여, 모든 표적을 포함했을 경우와 100개 이하의 표적으로 군집(cluster)을 구축한 경우를 서로 비교해보았다.

5. 다계층 상호작용 네트워크의 구축

Ruiz 등의 제안에 따라 다계층 상호작용 네트워크를 구축하기 위하여 단백질-단백질 상호작용의 경우, 'Biological General Repository for Interaction Datasets'²¹, 'Database of Interacting Proteins'²², 그리고 'Human Reference Protein Interactome Mapping Project'²³ 등에서 얻어진 17,660개의 단백질 간에 387,626개의 연관 관계를 수집하였다. 그리고 'Gene Ontology'에서 인간에

게 존재하는 단백질-생물학적 기능 상호 작용에 대한 7,993개의 단백질과 6,387개의 생물학적 기능 사이의 34,777개의 연관 관계를, 그리고 생물학적 기능간 상호작용의 경우 9,798개의 생물학적 기능 간에 생성되는 22,545개의 연관 관계를 수집하였다. 마지막으로 질병-단백질 상호 작용의 경우, 'DisGeNet'²⁴에서 얻어진 840종의 질병과 25,212개의 연관 관계를 수집하였다.

6. 확산 프로파일 계산

Ruiz 등은 약물이나 질병이 인체 다계층 상호작용 네트워크상에 미치는 영향을 이해하기 위하여 확산 프로파일(diffusion profile)을 계산하였다. 이 확산 프로파일은 기본적으로 랜덤워크(Random walker) 알고리즘을 바탕으로 계산된다. 이 알고리즘은 특정 단백질의 기능 및 유전자의 기능을 예측²⁵하는데 사용되거나, 소셜 네트워크 분석²⁶, 웹 페이지 랭킹 분석²⁷, 추천 시스템 개발 등의 IT 분야에서도 사용되며, 복잡한 네트워크에서 단일 노드의 영향의 정도 및 전파효과를 추론하는데 활용되는 그래프 기반의 알고리즘이다. 기본적인 랜덤워크 알고리즘은 네트워크에서 단일 노드 및 복수의 노드를 시작점으로 주변의 노드 중 하나로 무작위로 동일한 확률이 따라 이동하거나, 조건 상 다시 초기 노드로 돌아가 재 시작하는 방식으로 진행되나 본 연구에서는 생물학적인 현상에 대한 정확한 예측을 위해, 특정 노드에서 인접한 단백질 및 생물학적 기능으로 나아갈 확률이 서로 다른, 치우친 랜덤워크(biased random walk with restart) 알고리즘을 사용하였다. 이전 연구는 특정 노드에서 단백질보다 생물학적 기능으로 이동할 확률이 1.5배가량 높을 때 약물의 치료효과 예측에 최적의 성능을 발휘한다는 것을 제시하였다. 결국 이러한 치우친 랜덤워크 알고리즘이 충분히 반복적으로 수행되어, 더 이상 각 노드의 방문 빈도가 변하지 않을 정도가 될 정도로 수렴하면 탐색 과정은 종료된다.

탐색과정이 종료된 후 다계층 상호작용 네트워크를 구성하는 각 노드의 영향력을 벡터로 정의하고

변환하기 위해 해당 단백질이 약물의 표적이거나 질환 관련된 단백질이면 1, 아니면 0으로 정의하게 되며 현재 노드에서 다음 노드로 이동할 상대적 확률이 표현된 'biased transition matrix'를 곱해주게 된다. 이 연산을 통해 랜덤 워크의 알고리즘 상 k번째 방문할 확률 상태에서 k+1번째 상태로 옮겨갔을 때의 확률을 도출할 수 있다. 이 과정은 'transition matrix'를 곱해도 더 이상 그 방문 빈도의 차이가 미리 정해진 허용 오차(tolerance parameter)보다 더 크지 않을 때까지 반복된다. 이러한 반복 연산과정으로 얻어진 특정 약물이나 질환에 연관된 각 노드의 방문빈도가 바로 확산 프로파일로 정의된다. 즉, 확산 프로파일은 처방에 대한 표적, 질환에 관련된 표적과 같은 관심 단백질군의 단백질과 생물학적 기능, 이들 간 상호작용으로 구성된 다계층 상호작용 네트워크 상의 전파 효과를 측정된 값을 포함하고 있는 개념이다. 약물의 확산프로파일과 질병의 확산 프로파일을 각각 확보한 후, 두 확산 프로파일 간의 피어슨 상관 계수(Pearson correlation coefficient)를 계산하여 약물과 질병 사이의 연관성을 정량적으로 파악하였다. 상관점수가 높은 처방-질환 쌍은 네트워크 상 질환 관련 단백질로 인한 영향과 사상 처방에 포함된 단백질 군의 영향이 밀접한 관련성을 보인다는 것으로, 그 질환을 해당 처방이 효과적으로 작용할 수 있는 질환으로 고려할 수 있다는 것을 의미한다. 본 연구에서는 특정 질병에 대해 사상처방이 본 연구방법에 의해 어떻게 추천되는 지를 확인하기 위해 2022년 발간된 사상체질병증 임상진료지침²⁸에 제시된 주된 질환인 비만과 당뇨병에 대한 추천 처방을 탐색해보기로 했다. 또한 임상진료지침에 제시된 처방이 어느 순위에서 나타나는지 확인해보았다.

7. 질환 처방 핵심 기전 규명

비만과 당뇨병에 대한 추천 사상처방 중 1순위 처방과 함께 임상진료지침에 추천된 처방에 대해 본 연구방법이 어떻게 사상처방이 특정 질병에 작용하는 핵심 기전을 제안하는 확인해보았다. 확산 프로파일

에서 각 벡터의 구성원소의 값은 특정 약물 표적 혹은 질환 관련 단백질을 시작점으로 다계층 상호작용 네트워크의 노드에 랜덤 위커가 방문한 빈도이므로, 이 값이 큰 단백질 혹은 생물학적 기능은 특정 약물 혹은 질환에 의해 영향력을 많이 받은 요소라고 가정할 수 있다. 그러므로 각 약물 또는 질병에 대해 상위 20번째 방문 빈도가 높은 영향력 있는 노드들만을 선택하여 이들만의 네트워크를 별도로 구성했다. 상위 20번째의 선택기준은 이전 연구를 참조하였다. 질병 관련 단백질 또는 생물학적 기능에 연결되지 않은 약물이거나, 반대로 특정 약물에 연결되지 않은 단백질 및 생물학적 기능은 선택에서 제외하였다.

III. 研究結果

1. 사상체질처방의 표적 탐색과 처방-표적 상호 연결 구축

신축본에 등장한 사상처방은 총 144개(소음인 47개, 소양인 37개, 태음인 44개, 태양인 16개)로 조사되었다. 이 처방들을 구성하고 있는 본초 중 성분 정보가 없거나 성분 정보가 있어도 그 성분의 표적이 없는

본초를 제외하였다. 그 결과, 유효한 생체표적을 갖는 80종 본초를 확인하였다(Figure 1A). 각 본초 별 표적 개수는 다양했는데(Figure 1B), 태음인 본초에 해당하는 오매(烏梅)가 1071개, 백과(白果)가 632개 등으로 표적이 가장 많았으며, 소음인 처방에 포함된 당귀(當歸)가 587개, 인삼(人蔘)이 491개, 그리고 소양인 처방에 포함된 시호(柴胡)가 286개, 금은화(金銀花)가 255개의 표적을 가지고 있는 것으로 나타났다. 반면, 표적이 확보된 본초 중 60% (소음인 20개, 소양인 15개, 태음인 12개, 태양인 1개)가 100개 이하의 표적을 가지는 것으로 나타났다.

선택된 본초에 대한 정보를 활용하여 구축된 네트워크는 62개의 처방, 80개의 본초, 248개의 성분, 2643개의 표적과 이들 간의 총 연결 관계 8,272로 구성되었다(Figure 2, Supplementary Table 1). 소음인의 경우 24종의 처방, 32종의 본초, 128종의 성분, 1,671종의 표적과 이들 사이의 4,035개의 상호 연결이 있었다. 소양인의 경우, 16종의 처방, 26종의 본초, 91종의 성분, 1,107종의 표적과 이들 사이의 2,578개의 상호 연결이 있었다. 태음인의 경우, 20종의 처방, 21종의 본초, 79종의 성분과 1,855종의 표적, 그리고 이들 사이의 3,953개의 상호 연결이 있었다. 태양인의 경우 2종의 처방, 1종의 본초, 1종의 성분, 26종의 표적과 28개의 상호 연결이 있었다.

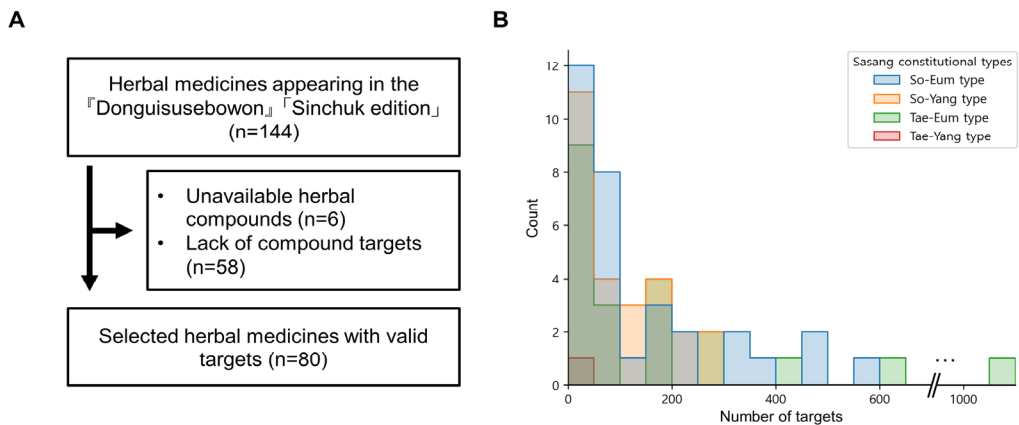


Figure 1. Herbal medicine selection and target distribution in sasang constitutional types
 A. flowchart of herbal medicine selection from 『Donguisusebowon, Sinchuk』. B. distribution of herbal medicine targets by Sasang constitutional types.

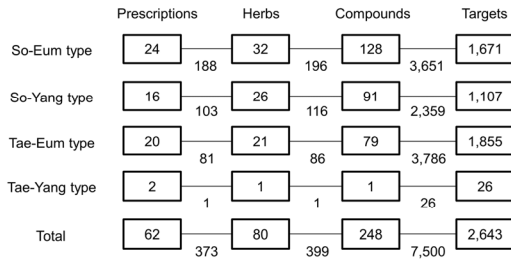


Figure 2. Distribution of prescriptions, herbs, compounds, and targets and their interactions by Sasang constitutional type

In the total count, prescriptions and herbs for each Sasang constitution type are considered independent, while compounds and targets are unique, with duplicates removed

Table 1. Top Prescriptions with High Correlation Coefficient between Obesity or Diabetes and Sasang Constitutional Prescription

Obesity		Diabetes Mellitus	
Prescription name	Correlation score	Prescription name	Correlation score
巴豆丹	0.012	熟地黄苦参汤	0.008
鹿茸大补汤	0.011	十二味地黄汤	0.008
调胃升清汤	0.011	牛黄清心元	0.007
太阴调胃汤	0.011	拱辰黑元丹	0.007
麻黄定喘汤	0.011	-	-

2. 사상처방 별 표적 정보 확인 및 100개 이하의 주요 표적 선정에 의한 군집분석

본초 별 표적 정보를 활용하여 처방 별로 포함되어 있는 표적의 개수를 측정한 결과, 각 처방의 평균 표적 개수는 912.4개였으며, 많은 표적을 가지고 있는 표적은 2,297개의 표적을 갖은 우황청심원이었고, 순서대로 2,054개의 표적을 갖은 팔물군자탕, 2,013개 표적을 갖은 승양의기부자탕, 2,011개 표적을 갖은 인삼관계부자탕 등이 있었다(Figure 3-A).

또한 처방 별 군집을 구축한 결과, 모든 표적에 대한 정보를 활용한 기본 설정(default setting)일 때에 비해, 단순경로가 많은 순위에 따라 표적의 개수를 100개로 한정할 때 군집들에 체질별 처방들이 더 잘 모이는 경향이 있었다. 특히, 소음인의 경우 기본 설정에서는 소음인에 대한 사상처방이 4개의 군집으로 분리되어 있었으나, 표적을 100개로 한정하게 되면 파두단 하나의 처방을 제외하고는 모든 처방이 하나의 군집으로 할당되어 모이게 되었다(Figure 3-B).

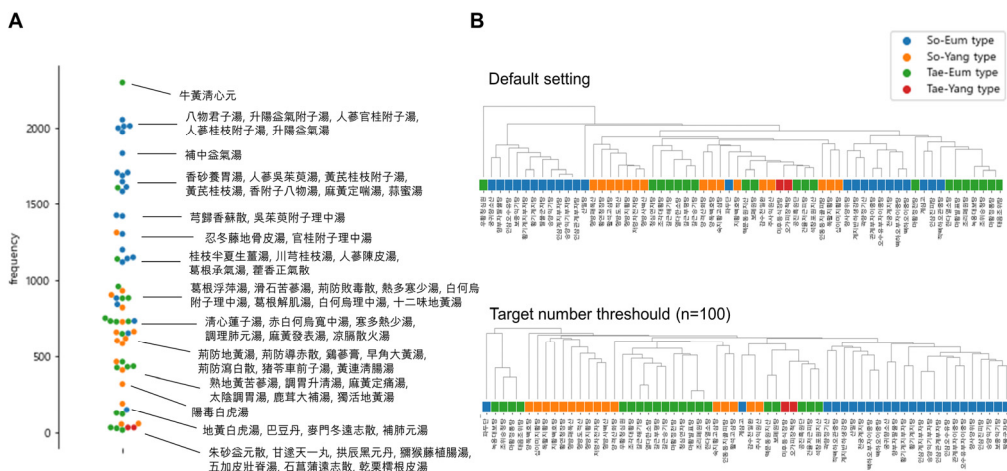


Figure 3. Distribution of number of targets per prescription and cluster-map of similarity between prescription targets by target threshold

A. Distribution of number of targets per Sasang constitutional prescription. B. Similarity clusters by target selection method for prescriptions.

3. 다계층 상호작용 네트워크에 기반한 각 사상 처방 별 대상 질환의 여측(예사: 비만, 당뇨병)

표적이 확보된 62종 사상체질 처방과 'DisGeNet'에서 확보된 840종 질환과의 모든 연결 조합은 52,080쌍으로 확인되었으며 각 질환에 대해 우선적으로 활용될 수 있는 사상체질처방을 파악하기 위하여, 모든 처방-질환 쌍에 대한 확산프로파일 사이의 상관관계 점수를 계산한 후 점수가 높은 순서대로 처방-질환 쌍을 나열하였다(Supplementary table 2). 질환에 대해서 높은 상관점수를 가지는 사상처방은 해당 질환에 우선적으로 활용될 가능성이 높은 것을 나타낸다. 해당 연구결과에서 비만(UMLS disease ID: C0028754 /Obesity)로 검색한 경우, 파두단이 0.012로 가장 상관관계 점수가 높았으며, 녹용대보탕, 조위승청탕, 태음조위탕, 마황정통탕이 0.011로 그 뒤를 이었다. 이처럼 임상진료지침에서 제안된 태음조위탕은 상관관계 점수 2순위에 해당하였다. 당뇨병(UMLS disease ID: C0011849 /Diabetes mellitus)로 검색한 경우에는 숙지황고삼탕과 십이미지황탕이 0.008로 가장 상관관계 점수가 높았으며, 이어 우황청심원과 공진흑원단이 0.007로 뒤를 이었다(Table 1). 하지만 임상진료지침에서 당뇨병 치료에 사용할 수 있다고 권고된 청폐사간탕(열다한소탕 가 고본, 대황)은 신축본에는 제시되지 않는 처방명이었으므로 본 연구에서 구축한 처방데이터베이스에 수록이 안되었으므로 상관관계 점수를 확인할 수 없었다.

4. 다계층 상호작용 네트워크에 기반한 사상체질처방의 핵심기전 규명

앞서 비만 및 당뇨병에 대해 높은 상관관계를 보이는 처방에 대해 표적과 질환 관련 단백질 사이의 핵심기전을 규명하고자 하기 위해 비만과 파두단 혹은 당뇨병과 숙지황고삼탕 및 십이미지황탕에 대한 상위 20번 째까지 방문 빈도가 높은 영향력 있는 노드들만을 이용해서 다계층 상호작용 네트워크를 별도로 구

성하였다(Figure 4). 먼저 비만의 제1순위 처방으로 제시된 파두단의 경우 비만 관련 단백질인 CNR1에 직접적으로 영향을 미치고, 간접적으로 HTR1A과 HTR2B를 경유하여 G 단백질과 연계된 신호전달체계를 통해 비만 관련 단백질인 INS와 APOE에 영향을 끼쳐 비만에 대한 치료효과를 나타내는 것으로 예측되었다(Figure 4A). 다음으로 임상진료지침에 제시된 태음조위탕의 경우 비만 관련 단백질인 PTGS2, PPARA, TNF에 직접적으로 영향을 미칠 수 있었으며, 간접적으로는 PKM, TP53, RELA, MAPK1, TGFBI, MC4R를 경유하거나 단백질 인산화(protein phosphorylation), DNA 전사과정이나 RNA 중합효소 II에 대한 활성 혹은 억제 기전으로 비만관련 단백질에 영향을 미칠 수 있는 것으로 예측되었다(Figure 4B). 한편 당뇨병의 제1순위 처방으로 제시된 숙지황고삼탕의 경우 당뇨병 관련 단백질인 LMNA과 SIRT1에 직접 영향을 끼치고 있으며, 간접적으로는 JUN, RELA, ABL1, MAPK8, TGFBI, TP53, TRAF6를 경유하거나, RNA 중합효소II의 전사 조절을 활성화시키는 방식으로 당뇨병을 조절하는 것으로 예측되었다. 또 다른 1순위 처방인 십이미지황탕은 당뇨병 관련 단백질인 LMNA, PTGS2를 직접 조절하고 EGFR, TNF, ABL1, RELA, MAPK8, AKT1를 경유하며 RNA 중합효소II의 전사 조절을 활성화시키는 방식으로 당뇨병 치료에 효과를 보이는 것으로 예측되었다(Figure 4C).

IV. 考察

본 연구에서는 다계층 상호작용 네트워크 접근방식을 이용하여 특정 질환에 어떠한 사상처방이 효과가 있는지를 예측하거나 특정 질환에 사상처방이 어떠한 기전으로 치료효과를 보이는지를 예측하는 연구방법론을 탐색하였다. 이 과정에서 다양한 의생명 데이터베이스에서 추출된 사상처방 관련 분초·성분·표적에 대한 정보를 확보하였으며, 이를 활용하여 62종 사상처방에 대한 네트워크를 구축하였다. 이 네트워

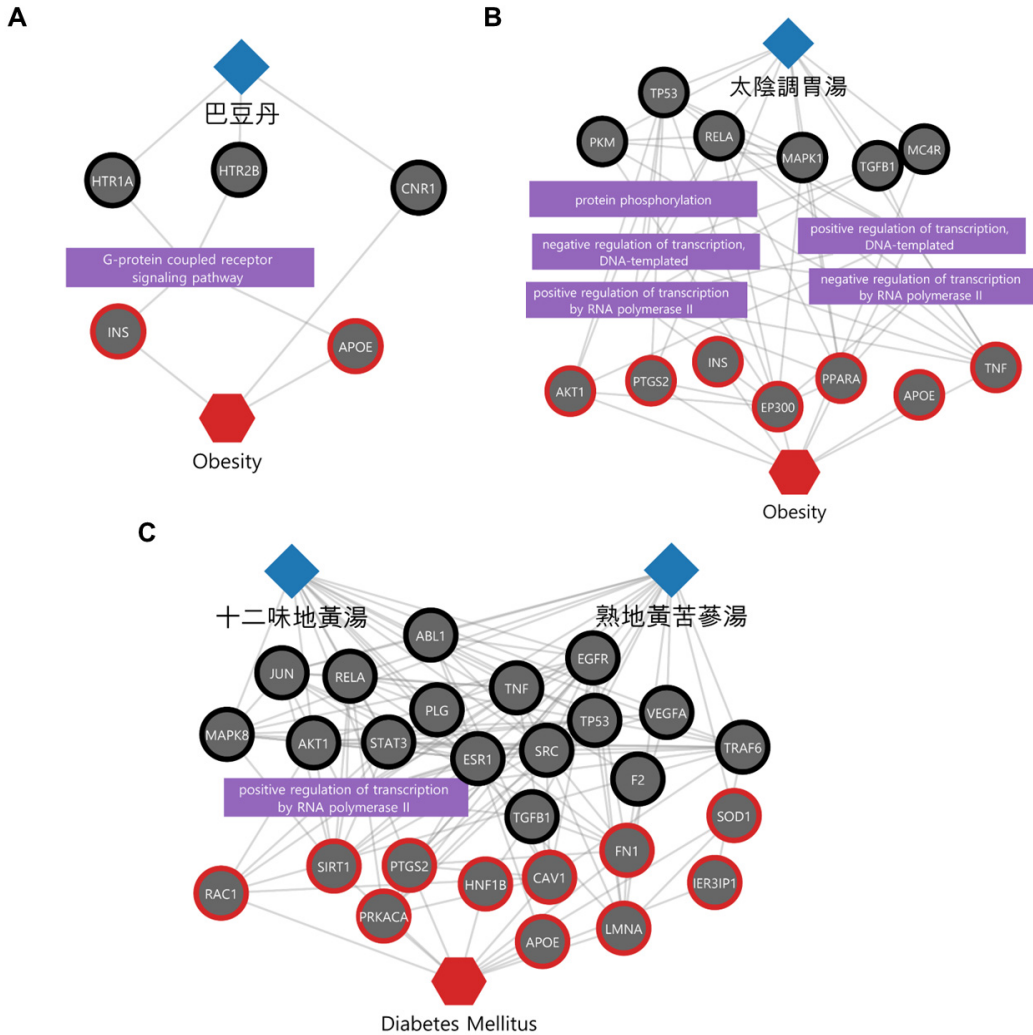


Figure 4. Multi-scale level potential mechanisms of sasang constitutional prescriptions

A. Padu-dan, B. Taeumjowi-tang on obesity, and C. sukjihwanggosam-tang and sipyimijhwang-tang on diabetes mellitus. Graph visualizes the proteins and biological functions most influenced by the propagation effects between the desired Sasang constitution prescription and disease. Blue diamonds represent drugs, black circles represent proteins, and purple squares signify biological functions, respectively. The red-bordered circles represent proteins associated with obesity or diabetes mellitus represented by a red hexagon.

크 상에서 처방과 표적 사이의 단순 경로의 수를 계산하여 각 사상처방에 대한 100개 이하의 중요 표적을 파악하였다. 군집분석 결과, 이렇게 중요 표적의 숫자를 제한하는 방법이 사상체질 별 처방 간의 공통적 특성을 더욱 잘 보존할 수 있다는 것을 확인하였다. 다음으로 다계층 상호작용 네트워크를 통해 'DisGeNet'

에서 제공되는 840종 질환 각각에 대해 치료효과가 있는 사상처방들을 예측할 수 있었으며 2022년에 발간된 사상체질병증 임상진료지침에서 제시된 비만과 당뇨병에 대해 예측된 처방 및 지침에 제시된 처방이 직·간접적으로 어떤 기전을 통해 비만과 당뇨병에 대한 치료효과를 나타내는지를 확인할 수 있었다.

Ruiz 등²⁹은 다계층 네트워크 기반 접근방식으로 약물의 질환치료에 대한 적응증 예측 성능을 기존의 방법들보다 향상시킬 수 있으며, 약물의 핵심 치료 기전을 보다 잘 규명해준다고 보고했다. 본 연구의 분석결과 역시 다계층 네트워크 기반의 연구방법이 사상처방이 어떤 질환의 핵심적인 단백질과 생물학적 기능에 어떻게 작용할 수 있는지 탐색하는데 충분히 도움을 줄 수 있다는 것을 보여줬다.

먼저 비만에 대한 1순위 처방으로 제안된 파두단은 소음인에게 사용 가능한 처방으로 비만과 관련된 CNR1에 직접적으로 영향을 미치며, G 단백질 연결 수용체와 연계된 신호전달체계를 통해 비만 관련 단백질인 INS와 APOE에 영향을 끼칠 수 있는 것을 확인하였다. CNR1은 에너지 균형과 체중 조절에 중요한 역할을 하는 G 단백질 연결 수용체 중 하나로서, 억제될 경우 식욕 감소와 음식 섭취량 감소로 이어져 비만 치료에 긍정적인 영향을 미칠 수 있다고 보고되었다²⁹. G 단백질 연결 수용체(GPCR)는 세포 신호 전달에서 핵심적인 역할을 하며 식욕, 에너지 대사, 지방세포의 기능 등 비만과 밀접하게 관련된 여러 생리적 과정을 조절할 수 있는 것으로 보고되었다³⁰. 한편 임상진료 지침에서 비만에 효과적인 처방으로 제시된, 태음인을 위한 태음조위탕은 간접적으로 단백질 인산화 (protein phosphorylation), DNA 전사과정이나 RNA 중합효소 II에 대한 활성 혹은 억제 기전을 통해 비만에 대한 치료효과를 보이며, PKM, TP53, RELA, MAPK1, TGFβ1, MC4R를 경유하여 효과를 보인다고 예측되었다. 이 중 TP53(또는 p53)은 세포주기 조절과 종양 억제에 핵심적인 역할을 하는 단백질로서, 비만 관련 세포의 스트레스와 사멸에 미치는 영향에 대해 보고된 바 있다³¹. 또한, TGFβ1은 비만에서 지방세포 분화 및 면역-염증 환경을 조절하여 중요한 역할을 수행하는데, 지방간 질환의 발전과 관련이 있으며 비만 환자의 간 이상 현상과 밀접한 연관성이 있다고 보고된 바 있다³². 본 연구에서는 비만과 확산프로파일 상 가장 높은 상관관계 점수를 얻은 사상처방은 파두단이었으나 임상진료지침에서는 태음조위탕이 제시되는

이유는 아마도 질병과 처방 간의 관계만을 고려할 때와는 다르게, 실제 임상 상황에서는 질병을 가진 환자의 특성 측면까지 고려 조건에 포함(예를 들어 소음인보다도 태음인이 비만할 가능성이 더 높다)되기 때문으로 추측할 수 있으며, 본 연구결과에서 제시한 기전처럼 태음조위탕이 파두단보다는 다양한 경로로 비만에 작용하기 때문인 것으로 생각된다. 또한 태음인 처방이자 태음조위탕과 같은 위완한증 혹은 위완한폐 조병의 카테고리에 포함되는 녹용대보탕, 조위승청탕이 2순위로 제안되는 것도 사상인 및 사상체질병증의 특성이 비만이라는 질환과 연관성이 있을 수 있다는 것을 추측하게 해준다.

당뇨병의 경우 소양인 소갈증(消渴證) 말증에 해당하는 하소의 처방인 숙지황고삼탕과, 하소와 병리적 단계가 유사한 것으로 다뤄지는 음허오열증의 처방인 십이미지황탕이 가장 높은 상관관계 점수를 받았다. 두 처방 모두 직접적으로 당뇨병 관련 단백질과 연계될 뿐만 아니라, RNA 중합효소II의 전사 조절을 활성화시키는 방식으로 당뇨병을 조절하거나, JUN, RELA, ABL1, MAPK8, TGFβ1, TP53, TRAF6, EGFR, TNF, AKT1를 경유하여 간접적으로 치료효과를 보일 것으로 예측되었다. 두 처방에 모두 관여하는 것으로 파악된 단백질들 위주로 살펴보면, 먼저 ABL1은 세포 성장, 분화, 스트레스 반응에 중요한 역할을 하는 단백질로, 인슐린 신호 전달과 세포 대사 조절에 관여하여 당뇨병의 발병 및 진행에 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다³³. 또한, RELA는 NF-κB 신호 전달 경로의 주요 구성 요소로, 염증 반응 및 세포 생존을 조절하여 당뇨병에서의 염증과 관련된 합병증에 기여할 수 있다³⁴. 마지막으로, MAPK8은 세포의 스트레스 반응 및 염증 과정에 중요한 역할을 하여 인슐린 저항성 및 당뇨병 관련 세포 손상과 관련될 수 있다고 보고되었다³⁴.

임상진료지침에서는 소양인의 당뇨병에 대한 권고 처방은 제시되지 않고 있으나, 신축본에서 숙지황고삼탕은 현대의 당뇨병과 유사한 증상을 보이는 소갈증(消渴證)의 처방이며, 십이미지황탕도 병리적

단계가 유사한 것으로 제시된 점, 그리고 본 연구에서도 1순위 처방으로 제시된 점을 볼 때, 임상데이터가 충분히 쌓일 경우 본 처방들이 충분히 임상현상에 권고될 수 있을 것이라고 생각한다. 한편 임상진료지침에서는 태음인의 당뇨병에 대해 청폐사간탕(열다한 소탕 가 고본 대황)이 권고되고 있는데 본 연구에서는 태음인의 당뇨병에 대해 우황청심원과 공진흑원단이 우선 순위로 제안되고 있다. 신축본에서는 공진흑원단 역시 청폐사간탕이 속한 병증인 간열폐조병에 해당한다는 점에서 당뇨병의 치료에 활용될 수 있을 것이라 추측할 수 있지만, 우황청심원은 신축본의 내용상 줄중풍에 대응하는 처방이므로 실제 임상현장에서 당뇨병의 치료 시 선택 선택되지 않을 것으로 생각된다. 이처럼 특정 처방에 대해 예측된 대상 질병이 신축본에 근거한 사상의학적 관점에서는 부적절한 것으로 보여지는 경우가 본 연구방법에 따른 결과에서 종종 나타난다. Ruiz 연구팀에서도 다계층 상호작용 네트워크를 사용할 경우 생물학적 기능의 연관관계까지 고려되므로 직접적인 분자 간 결합을 위주로 고려하는 방식으로는 전혀 파악되지 않았던 새로운 처방의 적응증이 제시되는데 이는 오히려 장점이라고 주장하고 있다. 본 연구 방법의 결과 역시 사상의학 이론에 의거한 용약의 개념과는 전혀 다른 방식으로 질환과 약물의 관계에 접근하여 도출된 것임을 감안할 필요가 있다.

그밖에 본 연구는 다음과 같은 한계를 갖고 있다.

첫째, TM-MC에 존재하며 동시에 유효한 표적을 갖는 본초를 선별하는 과정에서 본초가 80종으로 줄어들어 사상처방을 온전히 복잡성분체제로 모사하지 못했다. 이는 향후 다른 본초 데이터 베이스를 활용하거나, 여러 데이터 베이스를 종합하여 더 정보량이 많은 데이터베이스를 구축하는 방법으로 해결될 수 있을 것 같다.

둘째, 표적 100개 이하의 제한은 소음인의 군집화를 가능하게 했는데 더 다양한 한계 표적수의 설정을 통해 모든 처방을 사상체질별로 적절히 군집화할 수 있는 최적 표적 제한 조건까지는 탐색하지 못했다.

이는 추후 보다 자세한 연구가 필요할 것으로 보인다.

셋째, 처방-질환 상관점수의 유의성을 판별할 수 있는 정량적인 기준이 필요하다. 한의학 처방과 모든 질환사이의 상관점수의 분포를 계산하고, 이 분포에서 상대적인 등수를 비교분석함으로써 유의성에 대한 기준을 탐색하는 연구가 필요할 것으로 보인다.

넷째, 본초 및 성분에 대한 정보는 처방의 대표 표적을 선정할 때에만 활용되어, 질환 탐색에서 이들 요소를 탐색하는 과정이 한정적으로 수행되었다. 연구 및 처방의 대상 질환 탐색에 배타적인 영향을 미치는 본초 또는 성분을 규명할 수 있는 연구가 필요할 것으로 보인다.

하지만 본 연구에서 제시한 방법론은 임상가에게는 사상의학적인 진료과정을 거쳐 환자에게 처방할 수 있는 후보 처방들을 선정한 다음 단계에서 그 환자의 질환 자체에 더 유효한 처방을 고르기 위한 의사결정과정에 도움을 줄 수 있으며, 기초 연구자에게는 특정 질환에 유효한 사상처방과 그 기전을 탐색하는데 도움을 줄 수 있을 것이다.

V. 結論

이상 본 연구의 주요 결론을 요약하면 다음과 같다.

1. 동의수세보원 신축본에서 제시된 총 144개 처방에 대해 최종적으로 62개의 사상처방, 80개의 본초, 248개의 성분, 2643개의 표적과 이들 간의 총 연결 관계 8,272로 구성된 사상처방-본초-성분-표적 네트워크를 구축하였다.
2. 단순경로가 많은 순위로 표적의 개수를 100개로 한정할 경우 소음인 처방의 군집화가 더 잘 이루어졌다.
3. 다계층 상호작용 네트워크 상 62종의 사상처방과 'DisGeNet'에서 확보된 840종 질환과의 모든 연결 조합은 52,080쌍으로 사상처방과 질환의 확산프로파일 간의 상관관계 점수가 높은 순으

로 나열한 데이터베이스를 구축하였다. 이 데이터베이스로 특정 처방이 어떠한 질환에 작용할 수 있는지, 혹은 특정 질환에 어떤 처방들이 작용할 수 있는지를 쉽게 파악할 수 있다.

- 다계층 상호작용 네트워크 방법론으로 비만 및 당뇨병의 확산프로파일과 가장 유사한 처방으로 각각 과두단과 숙지황고삼탕, 십이미지황탕이 직·간접적으로 질병에 작용하는 기전을 파악할 수 있었다.

VI. Acknowledgements

이 논문은 2022년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단 기초연구사업의 지원을 받아 수행된 연구임 (2022R111A2066653).

VII. References

- Yi JW, Jang MH, Choi JS, Ahn TW. The Effect of Yongyukjowitang Distillate on the Immune Activity of Spleen Cells of Aged Rats. *J Sasang Constit Med.* 2013;25(3):218-32. (Korean) doi: 10.7730/JSCM.2013.25.3.218
- Kwak JY, Park JH, Ko YM, Park JM, Ahn TW. The Effect of Phaseolus Angularis Shell on Soyang-in Metabolic Syndrome with Obesity. *J Sasang Constit Med.* 2017;29(2):136-53. (Korean) doi: 10.7730/JSCM.2017.29.2.136
- Kim HG, Kim SH, Lee SI. Analysis of Research Trends in Papers Published in the Journal of Sasang Constitutional Medicine from 1989 to 2018. *J Sasang Constit Med.* 2020;32(1):1-11. (Korean) doi: 10.7730/JSCM.2020.32.1.1
- Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. *Nat Chem Biol.* 2008;4(11):682-90. doi: 10.1038/nchembio.118
- Barabási AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet.* 2011;12(1):56-68. doi: 10.1038/nrg2918
- Zhang W, Huai Y, Miao Z, Qian A, Wang Y. Systems pharmacology for investigation of the mechanisms of action of traditional Chinese medicine in drug discovery. *Front Pharmacol.* 2019;10:743. doi: 10.3389/fphar.2019.00743
- Wan Y, Xu L, Liu Z, Yang M, Jiang X, Zhang Q, et al. Utilising network pharmacology to explore the underlying mechanism of Wumei Pill in treating pancreatic neoplasms. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19:1-12. doi: 10.1186/s12906-019-2580-y
- Pang HQ, Yue SJ, Tang YP, Chen YY, Tan YJ, Cao YJ, et al. Integrated metabolomics and network pharmacology approach to explain possible action mechanisms of Xin-Sheng-Hua granule for treating anemia. *Front Pharmacol.* 2018;9:165. doi: 10.3389/fphar.2018.00165
- Ruiz C, Zitnik M, Leskovec J. Identification of disease treatment mechanisms through the multi-scale interactome. *Nat Commun.* 2021;12(1):1796. doi: 10.1038/s41467-021-21770-8
- Kim JH. The study on the selection of Sasang Constitution-specific herbs in 『Dongyisusebowon Sinchuk-Bon』 from TCMID and TCMS. *J Sasang Constit Med.* 2019;31(3):19-33. (Korean) doi: 10.7730/JSCM.2019.31.3.19
- Park SS, Bae HS. The study on the formative process of Soeumin prescription. *J Sasang Constit Med.* 2002;14(1):10-25. (Korean)
- Park SS, Bae HS. The Study on History of Prescription through Comparison 『Dongyi-Soose-Bowon

- Chopanbon』 with 『Sasang-Yihak-Chobonguen』 and 『Dongyi-Soose-Bowon Gapobon』. *J Sasang Constit Med.* 2001;13(2):110-23. (Korean)
13. Park SS, Bae HS. The study on the formative process of Soyangin prescription. *J Sasang Constit Med.* 2002;14(3):33-51. (Korean)
 14. Kim KY, Kim JY. A research on the classification of herbal medicines based on the Sasang constitution (Taumin and Taeyangin Part). *J Sasang Constit Med.* 2002;14(1):1-9. (Korean)
 15. Kim SK, Nam S, Jang H, Kim A, Lee JJ. TM-MC: a database of medicinal materials and chemical compounds in Northeast Asian traditional medicine. *BMC Complement Altern Med.* 2015;15(1):1-8. doi: 0.1186/s12906-015-0758-5
 16. Huang Y, Fang J, Lu W, Wang Z, Wang Q, Hou Y, et al. A systems pharmacology approach uncovers wogonoside as an angiogenesis inhibitor of triple-negative breast cancer by targeting hedgehog signaling. *Cell Chem Biol.* 2019;26(8):1143-58. e6. doi: 10.1016/j.chembiol.2019.05.004
 17. Szklarczyk D, Santos A, Von Mering C, Jensen LJ, Bork P, Kuhn M. STITCH 5: augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D380-D4. doi: 10.1093/nar/gkv1277
 18. Wang Y, Zhang S, Li F, Zhou Y, Zhang Y, Wang Z, et al. Therapeutic target database 2020: enriched resource for facilitating research and early development of targeted therapeutics. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D1031-D41. doi: 10.1093/nar/gkz981
 19. Zhang Y, Bai M, Zhang B, Liu C, Guo Q, Sun Y, et al. Uncovering pharmacological mechanisms of Wu-tou decoction acting on rheumatoid arthritis through systems approaches: drug-target prediction, network analysis and experimental validation. *Sci Rep.* 2015;5(1):9463. doi: 10.1038/srep09463
 20. Wang X, Wu M, Lai X, Zheng J, Hu M, Li Y, et al. Network pharmacology to uncover the biological basis of spleen qi deficiency syndrome and herbal treatment. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1-20. doi: 10.1155/2020/2974268
 21. Oughtred, R. et al. The BioGRID interaction database: 2019 update. *Nucleic Acids Res.* 2019;47:D529-D541. doi: 10.1093/nar/gky1079
 22. Salwinski, L. et al. The Database of Interacting Proteins: 2004 update. *Nucleic Acids Res.* 2004;32:D449-D451. doi: 10.1093/nar/gkh086
 23. Rolland T, Taşan M, Charleatoux B, Pevzner SJ, Zhong Q, Sahni N, et al. A proteome-scale map of the human interactome network. *Cell.* 2014;159(5):1212-26. doi: 10.1016/j.cell.2014.10.050
 24. Piñero J, Ramírez-Anguita JM, Saüch-Pitarch J, Ronzano F, Centeno E, Sanz F, et al. The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D845-D55. doi: 10.1093/nar/gkz1021
 25. Hu S, Zhang Z, Xiong H, Jiang M, Luo Y, Yan W, et al. A tensor-based bi-random walks model for protein function prediction. *BMC Bioinformatics.* 2022;23(1):1-19. doi: 10.1186/s12859-022-04747-2
 26. Nakajima K, Shudo K. Random walk sampling in social networks involving private nodes. *ACM Trans Knowl Discov Data.* 2023;17(4):1-28. doi: 10.1145/3561388
 27. Dvurechensky P, Gasnikov A, Zhukovskii M. Random walk based web page ranking functions learning with gradient-free optimization methods. *arXiv.* 2014:1411.4282v3.
 28. Society of Sasang constitutional medicine. *Clinical Practice Guideline of Korean Medicine Sasang Constitutional Medicine Patterns.* 1st. Seoul: Pan-

- Mun Education. 2022:11-12.
29. Matias I, Di Marzo V. Endocannabinoids and the control of energy balance. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;18(1):27-37. doi: 10.1016/j.tem.2006.11.006
30. Schioth HB. G protein-coupled receptors in regulation of body weight. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2006;5(3):241-9. doi: 10.2174/187152706777452263
31. Strycharz J, Drzewoski J, Szemraj J, Sliwinska A. Is p53 involved in tissue-specific insulin resistance formation? *Oxid Med Cell Longev.* 2017: 9270549. doi: 10.1155/2017/9270549
32. Mendes NF, Gaspar JM, Lima-Júnior JC, Donato Jr J, Velloso LA, Araújo EP. TGF- β 1 down-regulation in the mediobasal hypothalamus attenuates hypothalamic inflammation and protects against diet-induced obesity. *Metabolism.* 2018;85:171-82. doi: 10.1016/j.metabol.2018.04.005
33. Genua M, Pandini G, Cassarino MF, Messina RL, Frasca F. c Abl and Insulin Receptor Signalling. *Vitam Horm.* 2009;80:77-105. doi: 10.1016/S0083-6729(08)00604-3
34. Lawrence T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(6):a001651. doi: 10.1101/cshperspect.a001651
35. Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: a 10-year update. *Physiol Rev.* 2012; 92(2):689-737. doi: 10.1152/physrev.00028.2011