

茵陳五苓散이 흰쥐의 腎毒性에 미치는 影響

김 호 현 · 신 흥 목 · 김 길 환*

Effect of *InJinORyungSan* on the nephrotoxicity in rat

Kim, Ho-Hyun · Shin, Heung-Mook · Kim, Gil-Whon
Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine, Dong Guk Univ.

ABSTRACT

This study investigated the effect of *InJinORyungSan* on the nephrotoxicity in rat treated with cyclosporin A.

Control group were injected with cyclosporin A alone, whereas test group were injected with cyclosporin A and *InJinORyungSan* extract.

In the control group, blood urea nitrogen(BUN), serum creatinine(S-Cr) and renal lipid peroxidation(LPO) level were significantly increased, but renal superoxide dismutase(SOD) activity was significantly decreased. In the kidney of control group, the destruction of distal convoluted tubules(DCT) and proximal convoluted tubules(PCT) were observed in renal cortex, lymphocytes and fibroblast were appeared in the portion of DCT destruction.

However, in the test group, BUN, S-Cr and renal LPO level were significantly decreased as compared with control group, on the other hand, renal SOD activity was significantly increased. In the kidney of test group, the destruction of DCT and PCT were repaired as compared with

* 동국대학교 한의과대학 생리학교실

control group.

These results demonstrated that *InJinORyungSan* can be attributed to recovery from nephrotoxicity. We consider that activated SOD by *InJinORyungSan* suppress renal LPO or production of free radicals induced by cyclosporin A.

Key Words : *InJinORyungSan*, free radical, LPO, SOD, nephrotoxicity

I. 緒 論

東醫學에서 腎臟은 人體의 精氣를 간직하여 발육과 생식에 관여하고, 水液을 주관함으로써 인체의 水液代謝를 조절하며, 納氣를 통하여 폐에 의해 흡입된 淸氣를 귀납시키는 기능을 담당하는 臟器이다^{1,2,3}.

특히 水液代謝를 조절함에 있어서는 음식물에서 흡수되어 人身을 滋潤하는 津液을 全身으로 散布시켜 周身케하는 기능과 각 조직과 기관에서 이용된 후 생산되는 대사산물을 방광을 통하여 배설시키는 양방면의 기능이 있는데, 이는 腎이 水液을 升淸降濁시키는 기능으로 氣化작용에 의하여 이루어지는 것이다⁴.

한편 茵陳五苓散은 淸熱利水시키는 효능이 있어 濕熱로 인한 機疸의 치료에 多用되는 처방으로⁵, 구성 약물중의 五苓散은 대표적인 利水滲濕劑로서 通陽化氣하고 健脾利水시키는 효능이 있어 浮腫, 口渴, 小便不利, 泄瀉, 腎硬變, 尿毒症 및 糖尿病등 임상에 광범위하게 응용되고⁶, 茵陳은 苦寒한 약성을 갖고 있어 黃疸을 치료하고 濕을 제거하며 利水시키고 淸熱시키는 효능이 있다^{7,8}.

일반적으로 많은 약물의 독성은 대사 및 배설장기인 肝臟과 腎臟에 약물이 농축되어 그 장기를 손상시키는 경우가 많아 약물중독의 치료에 있어서 신장기능, 산염기 평형, 전해질평형 등을 유지하는 것이 독성의 치료에 중요시 된다^{9,10,11}. 따라서 茵陳五苓散은 通陽化氣하고 健脾利水작용에 의한 水液代謝를 촉진하여 독성물질의 배설을 촉진함으로써 生體로 하여금 독성물질의 흡수를 줄이고 제반 臟器의 독성을 완화할 수 있으리라 생각된다.

이에 cyclosporin A투여로 손상된 흰쥐의 腎毒性에 미치는 茵陳五苓散의 영향을 검증하기 위하여 혈청중의 urea nitrogen, creatinine과 腎臟 조직중의 LPO 함량, SOD 활성도 및 腎조직의 변화를 관찰한 바, 다음과 같은 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 藥材 및 動物

(1) 藥材

본 실험에 사용한 韓藥材는 동국대학교 부속한방병원에서 구입하여 사용하였으며, 處方의 구성은 方藥合編에 의거하였고 1貼의 분량은 다음과 같다.

茵 陳 (<i>Artemisiae Capillaris Herba</i>)	30g
澤 瀉 (<i>Alismatis Rhizoma</i>)	10g
赤茯苓 (<i>Hoelen</i>)	6g
白 朮 (<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>)	6g
豬 苓 (<i>Polyporus</i>)	6g
肉 桂 (<i>Ciniamomi Cortex</i>)	2g
합 계	60g

(2) 動物

체중 200g內외의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 10일이상 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2. 方法

(1) 檢液의 製造

茵陳五苓散을 4첩 분량인 240g을 round flask에 증류수 2000ml와 함께 넣은 뒤 heating mantle에서 냉각기를 부착하고 3시간 동안 가열 추출한 다음, 여과한 餘液을 rotary evaporator로 감압 농축하여 100ml가 되게 하였다.

이 농축액 100ml에 ethanol을 가하여 ethanol농도 75%용액으로 만들어 여과한 餘液을 농축하여 100ml가 되게 하였다. 다시 농축액 100ml에 ethanol을 가하여 ethanol농도 85%용액으로 만들어 여과한 餘液을 농축하여 100ml가 되게 하였다. 다시 농축액 100ml에 ethanol을 가하여 ethanol농도 95%용액으로 만들어 여과한 餘液을 농축하여 100ml가 되게 하였다.

이 농축액 100ml에 증류수 100ml를 가하여 농축하여 100ml가 되게 한 다음, 1M의 NaOH용액을 가하여 pH를 7로 조정 한 후, syringe filter(0.2 μ m)로 여과하여 檢液으로 사용하였다.

(2) 實驗動物의 處置

흰쥐 6마리씩을 1群으로 하여 정상군과 대조군 및 실험군으로 나누었다.

대조군은 실험 1일부터 7일까지 cyclosporin A를 15mg/kg/day씩 복강주사 하였고, 8일부터 14일까지는 아무런 처치를 하지 않았다.

실험군에서는 실험 1일부터 7일까지 cyclosporin A를 15mg/kg/day씩 복강주사한 후 茵陳五苓散 檢液을 0.5ml/kg/day씩 피하주사하였고, 실험 8일부터 14일까지는 茵陳五苓散 檢液만 0.5ml/kg/day씩 피하주사하였다.

(3) 採血 및 血清分離

정상군은 실험 8일째에, 대조군 및 실험군은 8일과 15일째에 ether로 마취하여 採血하였고, 실온에서 1시간 방치한 후 3000rpm에서 15분간 원심분리하여 血清을 얻었다.

(4) 組織標本의 製作

정상군은 실험 8일째에, 대조군 및 실험군은 8일과 15일째에 ether로 마취하여 희생된 흰쥐에서 腎臟을 적출하여 10%중성 포르말린(NBF)에서 24시간 고정하고 이를 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 microtome으로 5 μ m씩의 연속절편을 만들어 hematoxylin과 eosin으로 염색하여 광학현미경으로 檢鏡하였다.

(5) 血清中 Urea Nitrogen 含量測定

血清中 urea nitrogen의 함량측정은 urease효소법을 이용한 Jacobs¹²⁾ 등의 방법에 따라 조제된 kit를 이용하여 측정하였다.

시험관에 미리 조제된 효소완충액 일정량(2.0ml)을 넣고 여기에 검체 혈청(20 μ l)을 가하여 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 15분간 방치시킨 다음 여기에 발색시액 2.0ml을 첨가하였다. 이 반응액을 다시 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 5분간 방치시킨 후 맹검을 대조로하여 파장 570nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

(6) 血清中 Creatinine 含量測定

血清中 creatinine의 함량측정은 Jaffe반응법을 변형시킨 Margrey¹³⁾ 등의 방법에 따라 측정하였다.

시험관에 혈청 0.1ml을 넣고 여기에 picrin산 시액 3.0ml을 첨가한 다음 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 20분간 충분히 반응시키고 맹검을 대조로하여 파장 515nm에서 검체 및 표준의 흡광도를 읽는다(A1). 또다시 검체의 시험관에 모두 acid 시약을 2적씩 가한 다음 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 5분간 방치시킨 후 맹검을 대조로 검체의 흡광도를 다시 읽는다(A2). 일차 흡광도(A1)에서 이차 흡광도(A2)를 감한 값으로 표준곡선에 의거하여 creatinine의 함량을 산정하였다.

(7) 組織中 LPO 含量測定

과산화지질 함량 측정은 Ohkawa¹⁴⁾ 등의 방법에 준해 腎조직의 마쇄균질액 일정량에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid(TBA) 용액을 가해 95 $^{\circ}$ C에

서 1시간 동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-Butanol : Pyridine (15:1) 혼액으로 이행시켜 파장 532nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다.

과산화지질의 함량은 조직 1g당 MDA의 양을 nmole로 나타내었다.

(8) 組織中 SOD 活性測定

SOD활성 측정은 Martin¹⁵⁾ 등의 방법에 준해 실시하였다. 효소원 조제 방법에 따라 분리된 cytosolic fraction에 EtOH:CHCl₃ (5:3)혼액 0.4배량을 가하여 잘 혼합한 다음 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 상층액을 얻고 이것을 superoxide dismutase활성 측정의 효소원으로 사용하였다.

반응액은 50mM K.P. buffer (pH 7.5, EDTA 0.1mM 함유) 일정량에 5mM hematoxylin, 효소액의 용량을 달리하여 첨가하고 최종 반응액이 3.0ml이 되게 하였다. 이 반응액을 25℃에서 5분간 반응시킨 다음 560nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소 활성을 산정하였다.

효소 활성의 unit는 효소를 넣지 않고 반응시킨 5mM hematoxylin액의 흡광도 증가를 50% 억제하는 단백질의 양으로 산정하였다.

(9) 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry¹⁶⁾ 등의 방법에 준하여 bovine serum albumin을 표준단백으로하여 측정하였다.

(10) 실험성적의 통계처리

실험결과의 유의성 검증은 student's t-test를 이용하여 상호 비교하여 관찰하였다.

III. 成 績

1. 血清中 Urea Nitrogen 含量

혈청중 urea nitrogen함량의 변화는 정상군에 있

어서 실험 8일째에 19.84±2.58 mg/dl이었다.

대조군은 실험 8일째와 15일째에 각각 46.21 ± 5.01, 42.68±4.43 mg/dl로 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

실험군은 실험 8일째와 15일째에 각각 21.21 ± 2.65, 18.13±2.29 mg/dl로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다. (Table I, Figure 1)

Table I. Effect of *InJinORyungSan* extract on the serum uera nitrogen levels in rat treated with cyclosporin A.

Group	BUN level (mg/dl of serum)	
	8 day	15 day
Normal	19.84 ± 2.58	
Control	46.21 ± 5.01 #	42.68 ± 4.43 #
Test	21.21 ± 2.65 **	18.13 ± 2.29 **

Values are mean ± standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg/day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg/day for 7days

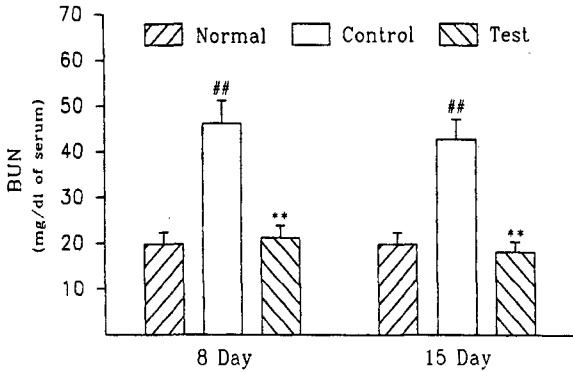
: Stastical significance as compared with normal group.

(# : P < 0.01)

* : Stastical significance as compared with control group.

(** : P < 0.01)

Figure 1. Comparison of the effects of *InJinORyungSan* extract on the serum urea nitrogen levels in rat treated with cyclosporin A.



Values are mean \pm standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg/day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg /day for 7days

: Stastical significance as compared with normal group.

(## : P < 0.01)

* : Stastical significance as compared with control group.

(** : P < 0.01)

2. 血清中 Creatinine 含量

혈청중 creatinine 함량의 변화는 정상군에 있어서 실험 8일째에 0.85 ± 0.09 mg/dl이었다.

대조군은 실험 8일째와 15일째에 각각 1.19 ± 0.07 , 1.21 ± 0.26 mg/dl로 정상군에 비하여 유의성있게 증가하였다.

실험군은 실험 8일째와 15일째에 각각 0.78 ± 0.12 , 0.78 ± 0.09 mg/dl로 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다.(Table II, Figure 2)

Table II. Effect of *InJinORyungSan* extract on the serum creatinine levels in rat treated with cyclosporin A.

Group	Creatinine level (mg/dl of serum)	
	8 day	15 day
Normal	0.85 ± 0.09	
Control	1.19 ± 0.07 #	1.21 ± 0.26 #
Test	0.78 ± 0.12 *	0.78 ± 0.09 *

Values are mean \pm standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg/day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg /day for 7days

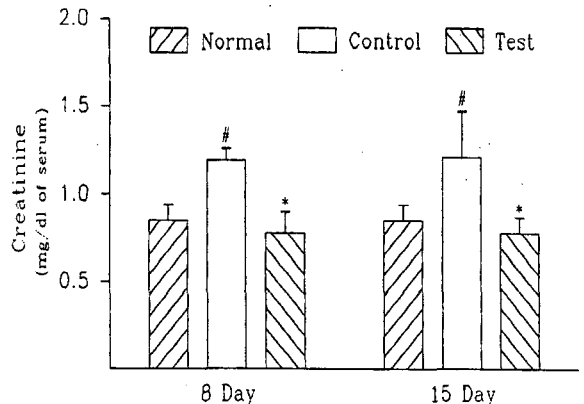
: Stastical significance as compared with normal group.

(# : P < 0.05)

* : Stastical significance as compared with control group.

(* : P < 0.05)

Figure 2. Comparison of the effects of *InJinORyungSan* extract on the serum creatinine levels in rat treated with cyclosporin A.



Values are mean ± standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg/day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg /day for 7days

: Stastical significance as compared with normal group.

(# : P < 0.05)

* : Stastical significance as compared with control group.

(* : P < 0.05)

3. 組織中 LPO 含量

조직중 LPO 함량의 변화는 정상군에 있어서 실험 8일째에 12.7±1.12 nmole/g이었다.

대조군은 실험 8일째와 15일째에 각각 19.9±0.85, 20.0±1.20 nmole/g으로 정상군에 비하여 유의성있게 증가하였다.

실험군은 실험 8일째와 15일째에 각각 16.6±0.68, 14.7±1.16 nmole/g으로 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다.(Table III, Figure 3)

Table III. Effect of *InJinORyungSan* extract on the LPO contents in the kidney of rat treated with cyclosporin A.

Group	LPO content (MDA nmoles/g of tissue)	
	8 day	15 day
Normal	12.7 ± 1.12	
Control	19.9 ± 0.85 ##	20.0 ± 1.20 ##
Test	16.6 ± 0.68 *	14.7 ± 1.16 *

Values are mean ± standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg /day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg /day for 7days

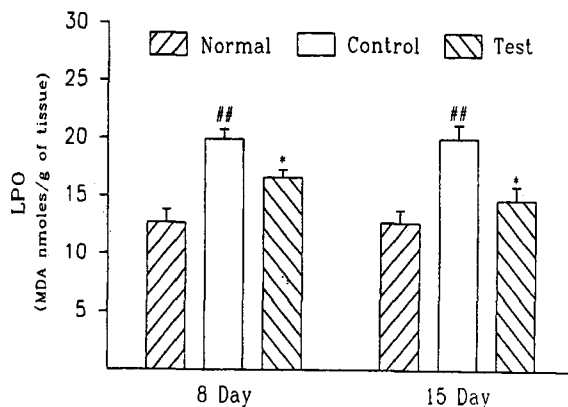
: Stastical significance as compared with normal group.

(## : P < 0.01)

* : Stastical significance as compared with control group.

(* : P < 0.05)

Figure 3. Comparison of the effects of *InJinORyungSan* extract on the LPO contents in the kidney of rat treated with cyclosporin A.



Values are mean ± standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg /day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg /day for 7days

: Stastical significance as compared with normal group.

(## : P < 0.01)

* : Stastical significance as compared with control group.

(* : P < 0.05)

4. 組織中 SOD 活性

조직중 SOD 활성도의 변화는 정상군에 있어서 실험 8일째에 8.93 ± 1.02 unit/mg이었다.

대조군은 실험 8일째와 15일째에 각각 4.42 ± 1.10 , 4.98 ± 1.08 unit/mg으로 정상군에 비하여 유의성있게 감소하였다.

실험군은 실험 8일째와 15일째에 각각 8.66 ± 0.66 , 9.34 ± 0.91 unit/mg으로 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다.(Table IV, Figure 4)

Table IV. Effect of *InJinORyungSan* extract on the activity of SOD in the kidney of rat treated with cyclosporin A.

Group	SOD activity (units/mg of protein)	
	8 day	15 day
Normal	8.93 ± 1.02	
Control	4.42 ± 1.10 #	4.98 ± 1.08 #
Test	8.66 ± 0.66 *	9.34 ± 0.91 *

Values are mean \pm standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg /day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg /day for 7days

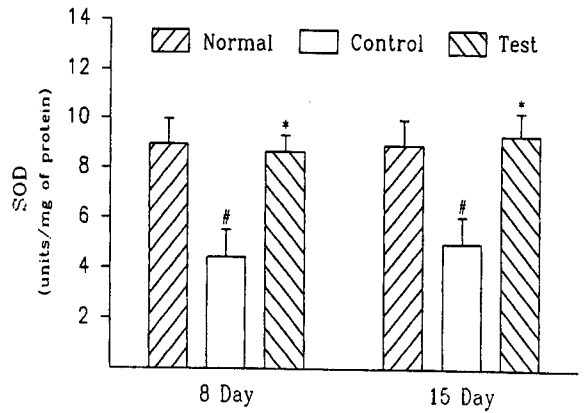
: Stastical significance as compared with normal group.

(# : P < 0.05)

* : Stastical cignificance as compared with control group.

(* : P < 0.05)

Figure 4. Comparison of the effects of *InJinORyungSan* extract on the activity of SOD in the kidney of rat treated with cyclosporin A.



Values are mean \pm standard error(n=6)

Normal : Non-treated group

Control : Injection of cyclosporin A 15mg/kg/day for 7days

Test : Injection of *InJinORyungSan* extract 0.5ml/kg /day after injected with cyclosporin A 15mg/kg/day and *InJinORyungSan* extract 0.5 ml/kg /day for 7days

: Stastical significance as compared with normal group.

(# : P < 0.05)

* : Stastical significance as compared with control group.

(* : P < 0.05)

5. 腎組織 所見

대조군에서는 신장의 외부형태 변화는 나타나지 않았으나 내부 피질(cortex)에서는 변화가 관찰되었다.

대조군의 실험 8일째에서 일부 피질상층부의 보우만주머니 주변에서 근위원위곡세뇨관(proximal·distal convoluted tubules)이 파괴되어 그물처럼 얽혀진 형태를 취하고 있는 것을 발견할 수 있었다(Figure 6).

또한 상층부에서 피질-수질경계부까지 길게 늘어선 원위곡세뇨관의 파괴를 두드러지게 관찰할 수 있었고 파괴된 원위곡세뇨관에 림프구와 섬유아세포

(fibroblast) 등의 결합조직 성분들이 채워져 있었다. 그러나 그 주변의 근위곡세뇨관은 정상적인 형태를 취하고 있었으며(Figure 7), 곡세뇨관의 변화에도 불구하고 보우만 주머니의 변화는 관찰되지 않았다.

대조군의 실험 15일째에서 신장 피질부의 파괴는 대조군의 실험 8일째와 비슷한 양상으로 보우만주머니 주변의 근위·원위곡세뇨관에 일어났으며 크기 또한 비슷한 양상을 나타내었다(Figure 8). 그러나 대조군의 실험 8일째와 같이 곡세뇨관이 파괴된 부분에 림프구와 섬유아세포(fibroblast) 등의 결합조직 성분을 관찰할 수 있었다.

실험군의 실험 8일째는 대조군과 마찬가지로 피질 상층부의 일부 보우만주머니 주변에서 근위·원위곡세뇨관의 파괴를 관찰할 수 있었으나 이는 대조군에 비해서는 그 수와 크기가 작았다(Figure 9). 그리고 대조군에서 볼 수 있었던 파괴된 원위곡세뇨관을 메꾸고 있는 결합조직 성분을 볼 수 없었다.

실험군의 실험 15일째에서는 파괴된 곡세뇨관들이 회복되어 정상군과 유사한 형태를 가지게 되었다(Figure 10). 그리고 실험군의 실험 8일과 15일째 모두 보우만 주머니의 파괴는 관찰할 수 없었다.

Legends for Figures

Figure 5. The normal structure of renal cortex in rat. PCT : Proximal convoluted tubule, DCT : Distal convoluted tubule. ×400. H&E.

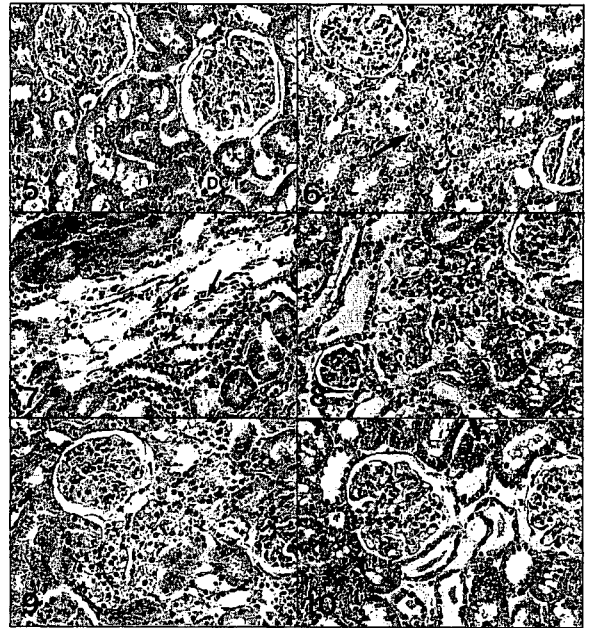
Figure 6. Rat kidney of control group at 8day. The destruction(arrow) of DCT and PCT were appeared in renal cortex. × 400. H&E.

Figure 7. Rat kidney of control group at 8day. The lymphocytes and fibroblast(arrow) were appeared in the portion of DCT destruction. ×400. H&E.

Figure 8. Rat kidney of control group at 15day. The destruction of DCT and PCT were appeared in renal cortex as same as 8day in control group. ×400. H&E.

Figure 9. Rat kidney of test group at 8day. The destruction of DCT and PCT were appeared less than 8day in control group. ×400. H&E.

Figure 10. Rat kidney of test group at 15day. The destruction of DCT and PCT were repaired as compared with 15day in control group. There were little change of renal corpuscle. ×400. H&E.



IV. 考 察

東醫學에서 腎臟의 기능은 인체의 발육과 생식을 주관하는 장기로 五臟六腑의 精을 간직하고, 水液을 주관함으로써 肺의 通調水道하는 기능과 더불어 인체의 水液代謝를 조절하며, 納氣를 주하여 肺를 통해 흡입된 氣를 腎으로 귀납시키는 기능을 담당하는 臟器이다^{1,2,3)}.

특히 腎臟의 기능중 水液代謝를 조절함에 있어서는 두 방면으로 나누어 볼 수 있는바, 水液이 胃의 受納작용에서 비롯되어 脾의 轉輸, 肺의 肅降작용을 거쳐 腎으로 下注하는 것으로 人身을 滋潤하는 津液을 全身으로 散布시켜 周身케하는 기능이고, 다른 하나는 각 조직과 기관에서 이용된 후 생산되는 대사산물인 수분을 방광을 통하여 체외로 배설시키는 기능으로, 이는 모두 腎의 氣化작용에 의하여 이루어지는 것이며 水液을 升清降濁시키는 기능으로 표현된다^{1,2,3,4}.

한편 茵陳五苓散은 濕熱로 인한 黃疸의 치료에 多用되는 처방으로⁵, 구성 약물중의 五苓散은 傷寒論에서 太陽病의 表邪가 완전히 제거되지 않고 內로 太陽膀胱에 전이됨으로써 방광의 氣化失調로 인한 小便不利, 水濕內停의 병변을 치료¹⁸하는 대표적인 利水滲濕劑로서 通陽化氣하고 健脾利水시키는 효능을 갖고 있어 浮腫, 口渴, 小便不利, 惡心, 嘔吐, 眩暈, 泄瀉, 惡性胃腸炎, 宿醉, 腎硬變, 尿毒症 및 糖尿病등 입상에 광범위하게 응용되며⁶, 茵陳은 苦寒한 약성을 갖고 있어 黃疸를 치료하고 濕을 제거하며 利水시키고 清熱시키는 효능을 나타낸다^{7,8}.

일반적으로 많은 약물의 독성작용은 대사장기 및 배설장기인 肝臟과 腎臟에 약물이 농축되어 그 장기를 손상시키는 경우가 많아 약물중독의 치료는 신장기능, 산염기 평형, 전해질평형 등을 유지하는 것이 중요하므로^{9,10,11}, 茵陳五苓散은 腎臟의 氣化작용에 의한 利水滲濕작용을 통하여 독성물질의 배설을 촉진함으로써 생체로 하여금 독성물질의 흡수를 줄여 제반 臟器의 毒性을 緩和할 수 있으리라 생각된다.

이에 저자는 cyclosporin A를 投與하여 흰쥐의 腎臟에 독성을 유발시키고, 腎독성에 미치는 茵陳五苓散의 영향을 검증하기 위한 일환으로 혈청중의 urea nitrogen, creatinine과 腎臟 조직중의 LPO함량, SOD의 活性度 및 腎組織을 中心으로 변화를 관찰하였다.

BUN함량의 변화에서 대조군은 정상군에 비하여

유의성있는 증가를 나타내었으며, 실험군은 대조군에 비하여 유의성있는 감소를 나타내었다.

Creatinine함량의 변화에서 대조군은 정상군에 비하여 유의성있는 증가를 나타내었으며, 실험군은 대조군에 비하여 유의성있는 감소를 나타내었다.

BUN과 creatinine은 腎臟기능의 장애가 있을 경우 제거되지 못하여 혈중에서 증가하므로¹⁸ 대조군에서 함량이 증가한 것은 cyclosporin A에 의하여 腎독성이 유발되었음을 나타내고^{19,20}, 실험군에서 유의성있는 감소를 나타낸 것으로 보아 茵陳五苓散에 의해 腎기능이 개선된 것을 알 수 있다.

腎臟은 독성물질을 체외로 배설하는데 가장 중요한 장기로서 체내 노폐물을 제거하는 기전과 동일하게 주로 수용성인 물질들을 제거하므로^{9,10,11} 茵陳五苓散에 의하여 腎臟의 노폐물을 배설시키는 기능이 활성화되어 BUN과 creatinine이 제거되었을 가능성을 추측할 수 있다.

LPO함량의 변화에서 대조군은 정상군에 비하여 유의성있는 증가를 나타내었으며, 실험군은 대조군에 비하여 유의성있는 감소를 나타내었다.

SOD활성도의 변화에서 대조군은 정상군에 비하여 유의성있는 감소를 나타내었으며, 실험군은 대조군에 비하여 유의성있는 증가를 나타내었다.

이 결과는 free radical이 세포막의 불포화지방산과 쉽게 반응하여 lipid peroxidation을 유발시켜 단백질의 변성이나 세포의 파괴, 기능소실, 조직의 손상을 초래할 뿐만아니라 많은 질환의 원인이 되는 것으로 알려져 있고^{21,22,23,24}, SOD는 free radical을 촉매하여 과산화수소로 바꾸어 주고 catalase가 과산화수소를 H₂O와 분자상 산소로 바꾸어 주어 free radical을 제거하는 효소로 알려져 있는바^{25,26,27,28}, 대조군에서 腎臟 조직중의 LPO의 함량이 증가하고 SOD의 활성도가 감소한 것은 cyclosporin A투여로 free radical이 생성되어 lipid peroxidation을 유발시키고^{20,29}, SOD의 활성을 억제하여 free radical을 제거하지 못함으로 인해 腎臟 조직에 손상을 초래하였을 것으로 생각된다.

한편 실험군에서 LPO의 함량이 감소하고 SOD의 활성도가 증가한 것으로 보아 茵陳五苓散이 SOD활성을 증가시켜 free radical을 제거함으로써 lipid peroxidation을 억제하여 활성산소와 과산화지질로부터 생물체를 보호하는 효과를 나타낸 것으로 보인다.

Cyclosporin A투여에 따른 腎조직의 변화에서 대조군에서는 실험 8일째에서 일부 피질상층부의 보수만주머니 주변에서 근위·원위곡세뇨관(proximal·distal convoluted tubules)이 파괴되어 그물처럼 얽혀진 형태를 취하고 있는 것을 발견할 수 있었고, 파괴된 원위곡세뇨관에 림프구와 섬유아세포(fibroblast) 등의 결합조직 성분들이 채워져 있었다.

Cyclosporin A투여로 인한 腎조직의 손상은 Cyclosporin A가 free radical을 생성시키고²⁹⁾ free radical을 제거하는 효소인 SOD의 활성을 억제^{30,31)}함으로써, 제거되지 못한 free radical이 세포막의 다가불포화 지방산을 공격하여 lipid peroxidation을 유발시키고 이들이 다시 인접부위의 다가불포화 지방산의 과산화반응을 유도하여 또다른 lipid peroxidation을 유발시키는 연쇄반응으로 조직의 손상을 유발^{32,33,34)}한 것으로 보인다.

실험군은 실험 8일째는 대조군과 마찬가지로 피질 상층부의 일부 보수만주머니 주변에서 근위·원위곡세뇨관의 파괴를 관찰할 수 있었으나 이는 대조군에 비해서는 그 수와 크기가 작았으며, 대조군에서 볼 수 있었던 파괴된 원위곡세뇨관을 메꾸고 있는 결합조직 성분을 볼 수 없었다.

실험군의 실험 15일째에서는 파괴된 곡세뇨관이 회복되어 정상군과 유사한 형태를 가지게 되었다. 그리고 실험군의 실험 8일과 15일째 모두 보수만주머니의 파괴는 관찰할 수 없었다.

腎조직의 손상이 회복된 것은 cyclosporin A에 의한 free radical과 lipid peroxidation을 유발시켜 독성을 초래하고 SOD가 신독성에 대한 방어기전으로 작용할 것이라는 보고^{30,31,35,36)}로 미루어, 茵陳五苓散이 SOD의 활성을 증가시켜 free radical을 제

거함으로써 lipid peroxidation을 억제하여 독성물질로부터 조직의 손상을 방어하고 손상된 조직을 회복시켰을 것으로 사료된다.

이상의 결과로부터 茵陳五苓散이 cyclosporin A에 의한 腎독성에 유효한 작용을 하였음을 관찰할 수 있었고, 이는 茵陳五苓散이 腎기능을 활성화하여 대사산물을 방광을 통해 체외로 배설시키는 기능을 개선시켜 BUN과 creatinine의 함량을 감소시킨 것으로 보이며, 또한 人身을 滋潤하는 津液을 全身으로 散布시켜 제반 臟器의 기능을 활성화함으로써 SOD의 활성을 증가시키고, SOD가 free radical을 제거함으로써 lipid peroxidation을 억제하여 독성물질의 제거와 손상된 조직을 회복시켜 생체를 보호하는 방어기전에 작용하는 것으로 사료된다.

이와같은 효능은 猪苓과 茯苓의 淡味가 肺와 방광에 작용하여 利水시키고, 澤瀉의 甘鹹味가 腎과 방광에 작용하여 水道를 이롭게하고, 白朮의 苦溫한 性味가 健脾祛濕함으로써 益土하여 水를 억제하고, 肉桂의 辛熱이 腎陽을 補益하고 방광의 氣化를 돕게되고, 茵陳이 苦寒한 약성이 太陽陽明의 濕熱을 제거하며 水道를 淸利시키는 약리작용을 가지고 있어서^{5,7,8)} 茵陳五苓散의 通陽化氣와 利水滲濕 및 水道를 淸利시키는 작용은 생체의 水液대사를 촉진시키고 독성물질의 빠른 배설을 유도함으로써 腎臟을 독성으로부터 회복시키거나 이를 예방하는 효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

V. 結 論

茵陳五苓散이 腎독성에 미치는 영향을 검증하고자 cyclosporin A로 腎독성을 유발시킨 흰쥐에 茵陳五苓散 검약을 투여하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈청중 urea nitrogen함량의 변화는 실험군이 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다.
2. 혈청중 creatinine함량의 변화는 실험군이 대조

군에 비하여 유의성있게 감소하였다.

3. 조직중 LPO함량의 변화는 실험군이 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다.

4. 조직중 SOD활성도의 변화는 실험군이 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다.

5. 신조직소견은 대조군에서 일부 피질상층부의 보우만주머니 주변에서 근위·원위곡세뇨관이 파괴되었고, 파괴된 원위곡세뇨관에 림프구와 섬유아세포등의 결합조직 성분들이 채워져 있었으나 실험군은 파괴된 곡세뇨관들이 회복되어 정상군과 유사한 형태를 나타내었고, 보우만 주머니의 파괴는 관찰할 수 없었다.

이상의 결과로부터 茵陳五苓散은腎기능의 활성화를 통하여 cyclosporin A로 유도된腎독성에 대하여 효과적으로 작용함을 관찰할 수 있었다.

VI. 參考文獻

1. 洪元植, 精校黃帝內經素問, 東洋醫學研究院出版部, 1985, p. 11, 34, 127, 213.
2. 洪元植, 精校黃帝內經靈樞, 東洋醫學研究院出版部, 1985, p. 79.
3. 李 梴, 國譯編註醫學入門, 南山堂, 1984, p. 458, 473.
4. 金完熙 외, 東醫生理學, 慶熙大學校 出版局, 1993, pp. 318~337.
5. 汪 昂, 國譯醫方集解, 大星文化社, 1989, pp. 369~376.
6. 高山宏世, 中醫方劑病證圖解, 山西科學技術出版社, 1991, pp. 234~235.
7. 康秉秀, 金永坂, 臨床配合本草學, 永林社, 1994, pp. 101, 203, 551, 540~543, 549, 558, 8 7.
8. 李尙仁, 本草學, 圖書出版 修書院, 1981, pp. 56~58, 61~63, 281~286, 513~514.
9. 高錫太 외, 毒物學, 正文閣, 1995, pp. 47~48.
10. 조맹행, 기초독성학, 도서출판 영지문화사, 1995, pp. 121~122, 140~150.
11. 홍사석, 이우주의 약리학강의, 의학문화사, 1993, pp. 65~68.
12. Jacobs, H. A. M., Olthuis, F. M. K. G., A kinetic determination of ammonia in plasma, Clin. Chim. Acta., 1973, 43, 81~86.
13. Margrey, M., Margrey, K., Bruns, D. E., Boyd, J. C., Fortier, G. A., Renoe, B. W., Savory, J., Enzymatic assay for creatinine with fixed-time kinetics on a centrifugal analyzer, Am. Clin. Lab. Science, 1984, 14, 298~303.
14. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yaki, K., Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, Anal. Biochem., 1979, 95, 351~358.
15. Martin, J. P., Dailey, M., Sugarman, E., Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation, Arch. Biochem. Biophys., 1987, 255, 329~336.
16. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J., Protein measurement with folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 1951, 193, 265~275.
17. 蔡仁植, 傷寒論譯註, 高文社, 1985, pp. 66~68.
18. Marshall, W. J., Bangert, S. K. * Clinical Biochemistry, Churchill Livingstone, 1985, pp. 123~142.
19. Yoshimura, R., Yoshimura, N., Nakatani, T., Kusunose, E., Yamaguchi, T., Oka, T., Kishimoto, T., The effects of cyclosporin on renal microsomal cytochrome P-450 systems, Clin. Nephrol., 1993, 40(6), 339~ 345.
20. Shackleton, C. R., Ettinger, S. L., Scudamore, C. H., Toleikis, P. F., Keown, P. A., Effect of a 21- aminosteroid, U74006F, on lipid peroxidation and glomerulotubular function

- following experimental renal ischemia, *J. Surg. Res.*, 1994, 57(4), 433~437.
21. Curtis, M. T., Gilfor, D. and Farber, J. L. : Lipid peroxidation increases the molecular order of microsomal membranes., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1984, 235, 644~649.
22. David, R., Mechanistic toxicology : A radical perspective, *J. Pharm.*, 1989, 41, 505~511.
23. Sharma, S. C., Mukhtar, H., Sharma, S. K., Krishna-Murt, C. R., Lipid peroxide formation in experimental inflammation, *Biochem. Pharmacol.*, 1982, 21, 1210~3346.
24. Trush, A. M., Mimnaugh, E. G., Gram, T. E., Activation of pharmacologic agents to radical intermediates : Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity, *Biochem. Pharmacol.*, 1982, 31, 3335-3346.
25. Lehininger, A. L., 생화학, 서울외국서적, 1988, p. 496.
26. 백광진, 이희성, Prednisone투여에 의한 흰쥐 위 점막 손상과 Liposomal Superoxide Dismutase의 보호효과, *한국생화학회지*, 1989, 22(2) 170~177.
27. McCord, J. M., Fridovich, I., Superoxide dismutase, An enzymatic function for erythrocyte (hemocuperin), *J. Biol. Chem.*, 1967, 244, 6049~6055.
28. McCord, J. M., Free radical and inflammation; Protection of synovial fluid by superoxide dismutase, *Science*, 1974, 185, 529~531.
29. Inselmann, G., Hannemann, J., Baumann, K., Cyclosporine A induced lipid peroxidation and influence on glucose- 6-phosphatase in rat hepatic and renal microsomes, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1990, 68(2), 189~203.
30. 朴宰賢, 補中益氣湯이 Cyclosporin A를 投與한 흰쥐의 肝 및 腎損傷에 미치는 影響, 동국대학교 대학원 박사학위, 1993.
31. Somani, S. M., Ravi, R., Rybak, L. P., Diethyldithiocarbamate protection against cisplatin nephrotoxicity : Antioxidant system, *Drug. Chem. Toxicol.*, 1995, 18(2~3), 151~170.
32. Freemann, B. A., Crapo, J. D., Biology of disease ; Free radicals and tissue injury, *Lab. Invest.*, 1982, 47, 412~426.
33. Larry, W. O., Terry, B. O., Free radicals, aging and degenerative disease, Alan R. Liss Inc., 1986, 325~371.
34. Takenaka, T., Goto, F., Alteration of lipid peroxidation and the activity of peroxide metabolism enzymes in the liver, kidney and lung following the administration of paraquat in mice, *Jpn. J. Anesthesiol.*, 1994, 43(1), 34~40.
35. Mimic, O. J., Simic, T., Ekmescic, V., Dragicevic, P., Erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in different stages of chronic renal failure, *Clin. Nephrol.*, 1995, 44(1), 44~48.
36. Radak, Z., Asano, K., Inoue, M., Kizaki, T., Suzuki, K., Ohno, H., Taniguchi, N., Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhausting exercise, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 1996, 72(3), 189~194.