

원저

蜜炙黃耆가 Cyclosporin A로 誘發된 白鼠의 腎毒性에 미치는 影響

朴茂景* · 朴世起* · 金東佑* · 韓陽熙* · 全燦容* · 朴鍾榮*

ABSTRACT

A Study on the Effects of Honey-fried Astragali Radix Extract on the Nephrotoxicity in Rats Induced by Cyclosporin A

Moo-Kyung Park*, Se-Ki Park*, Dong-Woo Kim*,
Yang-Hee Han*, Chan-Yong Jun*, Chong-Hyeong Park*

* Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine Kyung Won University

The purpose of this study is to find out the effects of honey-fried Astragali Radix extract on the nephrotoxicity in rats induced by cyclosporin A(CsA). The experimental rats were divided into three groups of ten. The Normal group was given nothing. The Control group was given only saline water every day for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day during a period of 14 days. The sample group was administered 4.8mg/200g of Astragali Radix extract daily for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days. These groups were observed for 14 days.

This experimental research focused on measuring the levels of BUN, creatinine, total protein, sodium, potassium, chloride, AST and ALT in the serum and specific gravity and creatinine in the urine.

The results were summarized as follows :

1. Changes in serum

The levels of BUN, creatinine, AST and ALT in the serum were significantly decreased in the sample group as compared with those of the control group.

Total Protein level in the serum was significantly increased in the sample group as compared with that of the control group. Sodium and Potassium levels in the serum in the sample group were a little lower than those of the control group but no significance was noted.

The chloride level in the serum in the sample group significantly increased as compared with that of the control group on the 7th day but in the sample group was significantly decreased as compared with that of the control group on the 14th day.

2. Changes in urine

Urinary specific gravity in the sample group showed significant increase, compared to the control group on the 7th day but were a little higher than that of the control group on the 14th day.

Creatinine level in the urine were a little higher than that of the control group but no significance was found.

These results suggest that honey-fried Astragali Radix might be effective on the nephrotoxicity in rats caused by CsA.

key word : Cyclosporin A, nephrotoxicity, Blood urea nitrogen, Aspartate aminotransferase,
Alanine aminotransferase, Creatinine

* 暎園大學校 大學院 韓醫學科 內科學教室

접수: 99. 5. 31 최종수정: 99. 7. 28 연락처: 심문기 T. 02-425-3451/9

I. 緒 論

最近 外科의 技術의 發達로 肝臟, 腎臟, 心臟 등의 臟器 移植手術이 開發되고, 免疫缺乏疾患, 白血病, 再生不良性 貧血과 自家免疫疾患 등의 치료에 骨髓移植이 行해지고 있다. 그러나, 移植手術 후 나타나는 發熱, 貧血, 發疹, 體重減少, 下痢, 脾臟腫大 등의 移植拒否反應¹⁴⁾이 問題點으로 부각되어 이를 防止하는 免疫抑制劑가 만들어졌지만 만족할 만한 效果를 얻지 못하였다. 輕度の 抗真菌作用 이외에 骨髓毒性이 거의 없다는 Cyclosporin A (以下 CsA라 略稱)가 開發되어 동물과 사람의 각종 臟器移植, 骨髓移植 등에 가장 廣範圍하게 使用되고 있다¹⁶⁾. CsA는 강력한 免疫抑制劑로 臟器移植에서 同種移植의 拒否反應을 억제시키고, 惡性 貧血, 溶血性 貧血 등의 自家免疫疾患의 치료목적에도 使用되고 있다^{5,19)}. 그러나, 毒作用으로 因하여 眩暈, 頭痛, 上熱感, 全身痙攣, 振顫, 手足灼熱鈍感, 精神錯亂, 傾眠, 糖尿, 高血壓 등의 副作用을 유발시킨다³⁰⁾.

최근 腎臟疾患의 東洋醫學的 치료에 黃耆를 君藥으로 사용한 方劑를 應用하고 있으며, 이에 對한 臨床결과가 보고되고 있다. 韓醫學에서 널리 쓰이고 있는 黃耆는 神農本草經²⁶⁾에 처음 收載된 이후 각종 醫書에 수록되었고, 黃耆의 效能은 시대에 따라 相異한 表現이 있으며, 清代의 本草備要¹¹⁾와 本草求真²²⁾에 生用과 炙用時의 效能을 구별하여 기록하고 있다.

黃耆의 藥理作用에 관하여는 利尿作用, 實驗的 腎炎抑制作用, 免疫增強作用, 細胞代謝增加作用, 強心作用, 血壓降下作用, 鎮靜作用, 血糖降下作用, 強壯作用, 抗菌作用, 實驗的 肝疾患 改善作用 등이 있다는 報告가 있다^{24,27,28)}.

最近 黃耆에 관한 연구로 陸¹⁰⁾은 黃耆 및 蜜炙黃耆 煎湯液이 Gentamicin Sulfate로 誘發된 白鼠의 急性腎不全에 미치는 影響을 관찰하였으며, 吳⁹⁾는 黃耆가 細胞性 免疫反應 및 體液性 免疫反應을 增加시키는 작용이 있다고 報告하였고, 陳²¹⁾은 黃耆가 免疫細胞의

機能에 미치는 影響에 대하여 報告하였다. 또 한 鄭²⁰⁾은 加味四六湯이 CsA로 손상된 肝臟, 脾臟 조직에 미치는 影響에 대하여, 朴⁶⁾은 補中益氣湯이 CsA의 과량 투여로 손상된 白鼠의 肝 및 腎損傷에 미치는 影響에 대하여 보고하였다. 그러나, 黃耆가 CsA의 과량 투여로 인한 腎臟損傷에 미치는 影響에 대한 實驗 研究는 없었다.

이에 CsA로 誘發된 白鼠의 腎臟損傷에 蜜炙黃耆 煎湯液을 經口投與하여 다음과 같은 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料와 方法

1. 材料

1) 動物

실험동물은 Sprague - Dawley계 수컷 흰 쥐를 2주일간 동물용 항온항습기(대중 기기, 한국)에서 溫度 $22.0 \pm 1.5^\circ\text{C}$, 濕度 $55.0 \pm 3.0\%$ 및 12시간씩 晝夜 環境에 適應시킨 다음 體重 240g 內외의 것만을 選定하여 使用하였다.

2) 藥材

(1) 黃耆(*Astragalus membranaceus* BUNGE, ASTRAGALI RADIX : 강원도 정선産, 5年根)

(2) 蜂蜜(경북 울진産, 아카시아 養蜂)

黃耆와 蜂蜜는 市中에서 구입, 精選하여 蜜炙黃耆 460g을 만들어 使用하였다.

3) Cyclosporin A(CsA)

注射用 CsA(Sandoz, swiss)를 使用하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製

(1) 蜜炙黃耆의 調製

市中에서 구한 黃耆 400g과 꿀 120g을 가지고 炒하였는데, 먼저 꿀을 적당한 양의 물(이 實驗에서는 꿀과 같은 量인 120g으로 함)에 희석하여 黃耆와 함께 섞어서 꿀이 黃耆에 완전히 스며들 때까지 방치한 다음, 약한 불로 炒하여 색이 짙어지면서 끈끈한 것이 없어진 다음 꺼내어 使用하였다¹⁸⁾.

(2) 蜜炙黃耆추출물의 調製

이 蜜炙黃耆 460g을 round flask에 넣고,

蒸溜水 3,000ml를 넣은 後 約 4時間 煎湯하여 여과한 濾液을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 다음, 凍結乾燥器(Model 104, ALPHA, W, Germany)로 凍結乾燥하여 黃耆抽出物 164g을 얻었다.

2) 檢液의 投與

實驗動物 10마리씩을 한 群으로 하여 CsA를 주사하지 않은 正常群(Normal group), CsA 50mg/kg를 격일로 14일간 皮下注射한 다음 生理食鹽水를 투여한 對照群(Control group) 및 CsA 50mg/kg를 격일로 14일간 皮下注射한 다음 黃耆抽出物을 체중 200g당 4.8mg을 1日 1回씩 14日 經口投與한 實驗群(Sample group)으로 하였다.

3) 血清分離 및 採尿

各群의 實驗動物을 藥物投與 7일과 14일째에 各各 ketamin(유한양행, 한국)마취 하에 心臟穿刺로 혈액을 채취한 다음 실온에서 30분간 놓아두었다가 3,500rpm에서 15분 원심 분리하여 血清을 분리하였다. 또한 6일과 13일째 藥물을 투여한 다음 동물들을 代謝cage에 넣어 24시간 동안 小便을 받아 뇨검사에 사용하였다.

3. 血清 및 尿檢査

1) 血清中 blood urea nitrogen(BUN)值 測定

血清中 BUN 함량은 Krieg 등(Krieg M et al. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:863)의 방법으로 urea kit(Boehringer mannheim, Germany)를 이용하여 자동 생화학 분석기(HITACHI747, Japan)로 측정하였다.

2) 血清中 creatinine值 測定

血清中 creatinine 함량은 Cook(Cook, JGH. Clin Chem Acta 1971;32:485)의 방법으로 crea kit(Boehringer mannheim, Germany)를 이용하여 자동 생화학 분석기(HITACHI747, Japan)로 측정하였다.

3) 血清中 total protein值 測定

血清中 total protein 함량은 Witt와 Trendelenburg(Witt I and trendelenburg C.J Clin Chem Clin Biochem 1982;20:235)의 방법으로 TP kit(Boehringer mann heim, Germany)

를 이용하여 자동 생화학 분석기(HITACHI747, Japan)로 측정하였다.

4) 血清中 sodium值 測定

血清中 sodium 함량은 Tietz(Teitz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed: Philadelphia: WB Saunders;1995;562-5)의 방법으로 Ciba-corning 644 cal-park kit(Ciba corning Diagnostics Ltd, Germany)를 이용하여 전해질 분석 장비(CIBA-corning 644)로 측정하였다.

5) 血清中 potassium值 測定

血清中 potassium 함량은 Tietz(Teitz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed: Philadelphia: WB Saunders;1995;502-7)의 방법으로 Ciba-corning 644cal -park kit(Ciba corning Diagnostics Ltd, Germany)를 이용하여 전해질 분석장비(CIBA-corning 644)로 측정하였다.

6) 血清中 chloride值 測定

血清中 chloride 함량은 Tietz(Teitz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed: Philadelphia: WB Saunders;1995;124-7)의 방법으로 Ciba-corning 644cal-park kit(Ciba corning Diagnostics Ltd, Germany)를 이용하여 전해질 분석 장비(CIBA-corning 644)로 측정하였다.

7) 血清中 aspartate aminotransferase(AST)值 測定

血清中 AST 함량은 Lorentz 등(Lorentz K, Rohle G, Siekannl DG. Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26:190-2)의 방법으로 AST kit(Boehringer mannheim, Germany)를 이용하여 자동 생화학 분석기(HITACHI747, Japan)로 측정하였다.

8) 血清中 alanine aminotransferase(ALT)值 測定

血清中 ALT 함량은 Thefeld 등(Thefeld W et al. Dtsch Med Wschr 1974;99:343)의 방법으로 ALT kit(Boehringer mannheim, Germany)를 이용하여 자동 생화학분석기(HITACHI747, Japan)로 측정하였다.

9) 尿의 specific gravity(SG) 測定

尿中 SG 함량은 Free와 Free(Free, AH and Free, HM. Urinalisis in Clinical Laboratory Practice, CRC Press, Cleveland, Ohio, 1975;236)의 방법으로 Combur-10 test RL(Boehringer mannheim, Germany)를 이용하여 자동 요화학 분석기(Urotron RL 9, Germany)로 측정하였다.

10) 尿의 creatinine值 測定

尿中 creatinine 함량은 Cook(Cook, JGH. Clin Chem Acta 1971;32:485)의 방법으로 crea kit(Boehringer mannheim, Germany)를 이용하여 자동 생화학 분석기(HITACHI747, Japan)로 측정하였다.

11) 統計處理

모든 data는 mean ± standard error로 나타내었고, 有意性 檢定은 Student's t - test를 사용하였으며, P < 0.05 이하인 경우를 有意性 이 있는 것으로 간주하였다.⁴⁾

III. 實驗成績

1. 血清中 blood urea nitrogen(BUN)值 變化

血清中 blood urea nitrogen(BUN)值는 正常群이 23.40 ± 0.59mg/dl이었고, CsA 50mg/kg을 격일로 14일간 皮下注射하여 腎毒性을 誘發한 다음 生理食鹽水를 투여한 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 70.87 ± 1.69, 27.03 ± 0.73, 24.25 ± 0.68mg/dl이었다. 이에 비해 CsA 50mg/kg을 격일로 14일간 皮下注射하여 腎毒性을 誘發한 다음 蜜炙黃耆를 經口投與한 實驗群은 第0日, 7日, 14日에 各各 70.87 ± 1.69, 23.61 ± 0.99(P < 0.01), 22.07 ± 1.22mg/dl로 7日에 對照群에 比하여 有意하게 減少하였다. (Table I)

Table I. The effect of honey-fried Astragali Radix extract on the serum BUN level in rats with nephrotoxicity induced by Cyclosporin A

Group	The Number of Animals	BUN(mg/dl)		
		0	7	14(days)
Normal	10	23.40 ± 0.59 ^{a)}		
Control	10	70.87 ± 1.69	27.03 ± 0.73	24.25 ± 0.68
Sample	10		23.61 ± 0.99 ^{***}	22.07 ± 1.22

a) Mean ± Standard Error.

Control : only saline water every day for 14 days after the subcutaneous IV njection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.

Sample : administration of 4.8mg/200g of Astragali Radix extract every day for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.(*** : P < 0.01)

2. 血清中 creatinine值 變化

血清中 creatinine值 變化는 正常群에서 0.61 ± 0.01mg/dl이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 0.72 ± 0.01, 0.51 ± 0.01, 0.51 ± 0.01mg/dl이었다. 實驗群에서는 0.72 ± 0.01, 0.53 ± 0.02, 0.52 ± 0.01mg/dl로 對照群에 比하여 有意性이 없었다. (Table II)

Table II. The effect of honey-fried Astragali Radix extract on the serum creatinine level in rats with nephrotoxicity induced by Cyclosporin A

Group	The Number of Animals	Creatinine(mg/dl)		
		0	7	14(days)
Normal	10	0.61 ± 0.01 ^{a)}		
Control	10	0.72 ± 0.01	0.51 ± 0.01	0.51 ± 0.01
Sample	10		0.53 ± 0.02	0.52 ± 0.01

a) Mean ± Standard Error.

Control : only saline water every day for 14 days after the subcutaneous IV njection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.

Sample : administration of 4.8mg/200g of Astragali Radix extract every day for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.

3. 血清中 total protein值 變化

血清中 total protein值 變化에서 正常群에서 6.03 ± 0.054g/dl이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 5.33 ± 0.15, 5.66 ± 0.03, 5.81 ± 0.04g/dl이었다. 實驗群은 5.33 ± 0.15, 5.71 ± 0.03, 6.01 ± 0.05(P < 0.005) g/dl로 14日에 對照群에 比하여 有意하게 증가하였다. (Table III)

Table III. The effect of honey-fried Astragali Radix extract on the serum total protein level in rats with nephrotoxicity induced by Cyclosporin A

Group	The Number of Animals	Total Protein(g/dl)		
		0	7	14(days)
Normal	10	6.03±0.05 st		
Control	10	5.33±0.15	5.66±0.03	5.81±0.04
Sample	10	5.71±0.03 6.01±0.05****		

a) : Mean±Standard Error.

Control : only saline water every day for 14 days after the subcutaneous IV njection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.

Sample : administration of 4.8mg/200g of Astragali Radix extract every day for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days. (**** : P<0.005 vs. control group)

4. 血清中 sodium值 變化

血清中 sodium值 變化는 正常群에서 136.6±0.42mmol/L이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에는 各各 135.2±0.47, 137.9±0.37, 136.9±0.36mmol/L이었다. 實驗群에서는 135.2±0.47, 137.5±0.52, 136.4±0.45mmol/L로 감소하였으나 有意性이 없었다.

5. 血清中 potassium值 變化

血清中 potassium值 變化는 正常群에서 4.66±0.09mmol/L이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 4.91±0.17, 4.58±0.12, 4.91±0.23mmol/L이었다. 實驗群에서는 4.91±0.17, 4.52±0.17, 4.86±0.12mmol/L로 對照群에 비하여 낮았으나 有意性이 없었다.

6. 血清中 chloride值 變化

血清中 chloride值 變化는 正常群에서 101.9±0.43mmol/L이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 100.8±0.70, 101.7±0.36, 104.5±0.43mmol/L이었다. 實驗群에서는 100.8±0.70, 103.8±0.82mmol/L(P<0.025), 102.7±0.63(P<0.025) mmol/L로 實驗群에서 7日에는 對照群에 비해 有意하게 증가하였으나, 14日에는 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다. (Table IV)

Table IV. The effect of honey-fried Astragali Radix extract on the serum chloride level in rats with nephrotoxicity induced by Cyclosporin A

Group	The Number of Animals	Chloride(mmol/L)		
		0	7	14(days)
Normal	10	101.9±0.43 st		
Control	10	100.8±0.70	101.7±0.36	104.5±0.43
Sample	10	103.8±0.82** 102.7±0.63**		

a) : Mean±Standard Error.

Control : only saline water every day for 14 days after the subcutaneous IV njection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.

Sample : administration of 4.8mg/200g of Astragali Radix extract every day for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days. (** : P<0.025 vs. control group)

7. 血清中 aspartate aminotransferase(AST) 值 變化

血清中 aspartate aminotransferase(AST)值는 正常群이 88.50±8.30U/L이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 85.83±16.64, 133.4±18.06, 109.7±6.73U/L이었다. 이에 비해 實驗群은 85.83±16.64, 102.6±6.79, 84.13±9.05(P<0.025) U/L로 14일에 有意하게 減少하였다.(Table V)

Table V. The effect of honey-fried Astragali Radix extract on the serum AST level in rats with nephrotoxicity induced by Cyclosporin A

Group	The Number of Animals	AST(U/L)		
		0	7	14(days)
Normal	10	88.50±8.30 st		
Control	10	85.83±16.64	133.4±18.06	109.7±6.73
Sample	10	102.6±6.79 84.13±9.05**		

a) Mean±Standard Error.

Control : only saline water every day for 14 days after the subcutaneous IV njection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.

Sample : administration of 4.8mg/200g of Astragali Radix extract every day for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days. (** : P<0.025 vs. control group.)

8. 血清中 alanine aminotransferase(ALT) 值 變化

血清中 alanine aminotransferase(ALT)値는 正常群이 51.4±3.43 IU/L이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 35.17±5.44, 87.33±6.83, 66.40±2.88IU/L이었다. 實驗群에서는 35.17±5.44, 67.63±4.59(P<0.025), 53.33±2.97(P<0.005) IU/L로 7日과 14日에 對照群에 比하여 有意하게 감소하였다.(Table VI)

Table VI. The effect of honey-fried Astragali Radix extract on the serum ALT level in rats with nephrotoxicity induced by Cyclosporin A

Group	The Number of Animals	ALT(IU/L)		
		0	7	14(days)
Normal	10	51.40±3.43 ^{a)}		
Control	10	35.17±5.44	87.33±6.83	66.40±2.88
Sample	10		67.63±4.59 ^{**}	53.33±2.97 ^{****}

a) : Mean±Standard Error.

Control : only saline water every day for 14 days after the subcutaneous IV njection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.

Sample : administration of 4.8mg/200g of Astragali Radix extract every day for 14 days after the subcutaneous IV injection of 50mg/kg in CsA every other day for 14 days.(** : P<0.025, **** : P<0.005 vs. control group.)

9. 尿의 specific gravity(SG) 變化

尿中 specific gravity(SG)値 變化는 正常群에서 1.018±0.002이었고, 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 1.021±0.004, 1.018±0.003, 1.005±0.002이었다. 實驗群에서는 1.021±0.004, 1.028±0.001(P<0.005), 1.008±0.001로 7日에 대조군에 비해 매우 有意하게 증가하였고 14日에서는 약간의 증가를 나타냈으나 有意성은 없었다.

10. 尿의 creatinine値 變化

尿의 creatinine値 變化는 正常群에서 95.65±3.76mg/dl이었고 對照群에서는 第0日, 7日, 14日에 各各 61.73±6.19, 72.17±6.84, 76.93±3.93mg/dl이며 實驗群에서는 61.73±6.19, 75.17±15.37, 78.97±5.18mg/dl으로 증가하였으나 有意성은 없었다.

IV. 考 察

腎臟은 인체 최대의 排泄기관으로서, 老廢物과 水分의 排泄을 통하여 酸·鹽基의 電解質 平衡과 체액의 恒常性을 유지하는 기능을 수행한다. 1분 동안 心搏出量의 약 1/4인 1,200ml의 血液이 腎臟으로 유입되고, 이 中에 약 120ml의 혈액이 腎絲毬體를 통하여 細尿管으로 濾過된다. 따라서 腎絲毬體 및 細尿管의 內皮細胞는 血液中の 各種물질에 넓게 노출되어 있으며, 腎髓質部의 濃縮機轉은 毒性物質과의 많은 접촉으로 濃度가 높게 되고, 腎細尿管細胞는 많은 효소계의 旺盛한 代謝作用으로 毒性物質에 대한 感受性이 높은 특징을 가지고 있으므로 혈액 中에 포함된 腎毒性 物質 및 藥物에 손상 받기 쉬운 여건에 있다^{1,15)}. 따라서 腎臟의 이러한 특성은 일상적으로 섭취하는 모든 飮食物, 藥物 등이 腎毒作用을 일으킬 可能性을 시사한다. 藥物에 의한 腎毒性 損傷은 투여된 藥物 또는 그 代謝産物에 의하여 腎臟에 構造的 혹은 機能的인 이상이 초래되는 경우로 臨床적으로는 急·慢性 腎不全, 絲毬體腎炎, 腎症候群, 腎細尿管障碍, 急·慢性 間質性 腎炎, 尿路閉鎖等이다¹⁵⁾.

1976년 Borel³³⁾이 토양의 진균인 *Trichoderma polysporum*과 *Cylindrocarpon lucidum*의 대사 추출물인 CsA는 강력하고 독특한 면역억제기능이 있다고 발표하였다. 1978년 Calne³⁴⁾이 이 약제를 실제 사체신이식患者에 투여하여 1년 移植腎 생존율이 종래의 경우보다 20%이상 好轉되었음을 보고한 이후 이식 臨床에서 큰 주목을 끌어왔다.

그후 많은 동물 실험과 臨床 例에서 CsA가 骨髓 機能이나 末梢淋巴球의 기능을 저하시키지 않으면서 細胞性 및 體液性 면역 기능을 억제하여 이식장기 생존율을 높인다는 것이 公印되어 근래에는 각종 臟器 移植에서 일차적 免疫 抑制劑로 사용되고 있다²⁹⁾. Cyclosporine은 T 細胞의 活性化를 억제하는 약물로서 특히 보조 T 세포에서 항원이나 기타 자극에 의한 세포성 반응 初期를 억제한다. Cyclosporine에 의하여 여러 limphokine

의 합성 및 유리가 억제되며, 특히 IL-2 의 생성과 분비가 강하게 억제된다. 또한 IL-2 수용체의 표현도 저하된다. 이런 변화의 생화학적 기전에 관하여는 확실히 밝혀져 있지 않으나 Cyclosporine과 결합하는 cyclophilin 이 관여될 것으로 생각된다. Cyclophilin은 림프조직에 풍부한 蛋白質로서 여러 同種 酵素가 있는데 모든 同種 酵素가 Cyclosporine과 결합한다. 그러므로 Cyclosporine에 의한 cyclophilin의 기능 억압이 면역 억제기능과 연관이 있는 것으로 보인다. Cyclophilin의 동종 효소 가운데 하나로 최근 peptidyl proline cis-trans isomerase가 확인되었으며, 이 효소는 단백질 합성된 후 단백질의 folding에 관여한다²³⁾. Cyclosporine을 經口 投與하면 20~50% 정도 흡수되며 투여 3~4시간에 最高 濃度에 달한다. 血中の Cyclosporine은 60~70%가 적혈구에 섭취되며, 10~20%만이 백혈구에 들어간다. 反感期는 약 6시간이며 대부분 肝에서 代謝된 후 담즙을 통하여 배설된다.

그러나 이 藥劑가 점차 널리 이용되면서 면역 억제기능 외에 여러 가지 부작용들이 보고되었는데, 주 부작용은 腎毒性으로 25~75%환자에서 나타난다. 絲球體 여과율(glomerular filtration rate)과 腎血流量이 감소하며 近位細尿管과 소동맥의 내피세포 및 평활근 손상도 관찰된다. 臟器移植患者의 30% 정도에서 고혈압이 나타난다. 神經毒性도 있어서 振顫(tremor)이나 癇疾發作이 나타나기도 한다. 50% 환자에서 AST 및 ALT의 활성과 bilirubin이 증가하나 약물을 줄이거나 중단하면 없어진다. 感染症도 증가하나 다른 면역 억제제 보다는 弱하다. Cyclosporine 단독 투여때 암 발생이 약간 증가하나 다른 면역 억제제와 병용하였을 때는 惡性 白血病의 발생이 급증하며, 腦에 轉移를 보이는 경우가 많다. 多毛症(hirsuitism)과 齒齦增殖症(gingival hyperplasia)이 10~30% 환자에서 나타나고, 頭痛, 感覺 異常, 紅潮, 副鼻洞炎(sinusitis), 女性形乳房(gynecomastia), 結膜炎 및 耳鳴(tinnitus) 등이 나타날 수 있다²³⁾.

CsA의 腎毒性은 그 機轉이 명확하지 않지만 腎臟組織의 細尿管에 직접 毒性이 作用하며, 腎臟의 變化는 주로 近位細尿管과 腎絲球體의 壞死와 血清中 BUN과 creatinine의 上升으로 나타난다고 하였다^{31,32,37,38)}.

특히 부작용 中에서 腎毒性은 早期에 발견하여 약물을 減量하거나 中止하지 않으면 不可逆性 腎不全을 초래할 수 있어 주목을 끌게 되었으며, Myers들³⁶⁾은 심장 이식 후 12개월 이상 CsA를 사용한 환자 32명 중 2명에서 移植 前에 정상 腎臟이었던 것이 말기 腎不全症이 된 것을 보고한 바 있다.

이와 같은 CsA로 인한 腎毒性을 규명하기 위하여 동물 실험을 하게 되는데 여러 동물 중에서 흰쥐가 가장 적당하다고 알려져 있다. Sullivan들⁴⁰⁾은 身長과 體重의 比가 사람은 1:240인데 반해 흰쥐는 1:125이므로 약제의 投與 量을 사람의 2배 내지 3배로 해야 사람에서와 같은 변화를 볼 수 있다고 하였다. 李¹³⁾는 CsA에 의한 腎臟 變化는 일차적으로 近位細尿管 上皮에 손상을 주어 공포와 PAS양성 붕입체 및 electron dens inclusion 등의 변성을 가져오고, 시일이 경과하면 이차적으로 인한 萎縮과 間質纖維增殖을 초래한다고 보고하였다.

이에 CsA의 副作用을 줄이기 위한 연구가 계속되고 있는 바 강²⁾은 verapamil이 CsA투여에 의한 腎臟의 기능 장애와 組織 損傷에 대한 防禦 效果를 지니고 있다고 보고하였다. 鄭²⁰⁾은 加味四六湯이 Cylosporin A 투여로 손상된 脾臟組織에는 특별한 有意성이 없고, 肝臟組織에서 일정한 有意성이 있음을 보고한 바 있다. 또한 朴⁶⁾은 益氣升陽 調補脾胃의 效能이 있는 補中益氣湯은 CsA의 免疫抑制로 유발된 흰쥐의 損傷肝 및 腎臟에 有效하게 作用하였음을 보고하였다.

韓醫學에서 널리 쓰이고 있는 黃耆는 神農本草經²⁶⁾上品에 「味甘微溫 主癰疽 久 敗創 排膿止痛 大風癩疾 五痔鼠瘻 補虛小兒百病 一名戴糝 生山谷 一名百草 生蜀郡 白水漢中 二月 十月 采陰乾」이라고 收載되어 있다. 宋代의 經史證類大觀本草²⁵⁾에서는 「婦人子藏 風

邪氣 逐五藏間惡血 補丈夫虛損 五勞羸瘦 止渴 腹痛 洩痢 益氣 利陰氣 生白水者冷 補其莖葉療渴及 筋攣癰腫疽瘡 一名戴椹 一名百草 生蜀郡山谷 白水漢中 二月 十月 采陰乾」 이라 하여 本經의 主治證을 立證하였으며, 產地와 採取時期에 關하여 記錄되어 있다. 黃耆의 效能은 시대에 따라 相異한 表現이 있으며, 清代의 本草備要¹¹⁾와 本草求真²²⁾에는 生用과 炙用時의 效能을 區別하여 記錄하였고, 最近에 李 등¹⁸⁾은 黃耆의 性은 溫無毒하고, 味는 甘하며, 脾, 肺經으로 入하고, 그 효능 및 主治는 修治에 따라 生用하면 益衛固表, 利水消腫, 托毒, 生肌, 治 自汗, 盜汗, 血痺, 浮腫, 癰疽不潰, 潰久不斂한다고 하였으며, 炙用時에는 補中益氣, 治內傷勞倦, 脾虛泄瀉, 脫肛, 氣虛血脫, 崩帶, 一切氣衰血虛之證한다고 하였다.

補氣藥인 黃耆는 荳科(콩과 ; Leguminosae)에 屬한 多年生 草本인 黃耆 *Astragalus membranaceus* BUNGE의 뿌리를 乾燥한 것¹⁸⁾이다. 成分으로 알칼로이드, β-sitosterol, linolic acid, linolenic acid와 플라보노이드:

- (I) 7, 3'-dihydroxy-4'-methoxyisoblavone
- (II) (3R)-2', 3'-dihydroxy-7, 4'- dimethoxyisoblavone
- (III) (6aR, 11aR)-10-hydroxy-3, 9-dimethoxypterocarpan

糖: D-glucose, D-fructose, sucrose 과 아미노산, 數種아미노산, 점액질 및 셀레늄, 규소 등 多種의 미량 금속 원소 등을 含有하고 있다⁷⁾.

黃耆의 藥理作用에 關하여는 利尿作用, 實驗的 腎炎抑制作用, 免疫增強作用, 細胞代謝增加作用, 強心作用, 血壓降下作用, 鎮靜作用, 血糖降下作用, 強壯作用, 抗菌作用, 實驗的 肝疾患 改善作用 등이 있다는 報告가 있으며^{24,27,28)}, 안⁷⁾은 黃耆의 약리 작용에 關하여 백혈구, 망상내피 계통, 인터페론 및 cAMP 와 cGMP, 항체 생산, 세포의 첫 번째 배양계에 有效한 영향을 주며 抗腎炎 作用이 있다고 하였다.

최근의 黃耆와 關連하여 陸¹⁰⁾은 黃耆 및 蜜

炙黃耆煎湯液이 Gentamicin Sulfate로 誘發된 白鼠의 急性腎不全에 미치는 영향을, 吳⁹⁾는 黃耆가 細胞性 免疫反應 및 體液性 免疫反應을 增加시키는 작용을, 陳²¹⁾은 黃耆가 면역기능을 증가시킨다는 것을 報告하였다. 最近 腎臟疾患에 臨床적으로 많이 應用하는 黃耆가 CsA의 과량 투여로 인한 腎臟疾患에 미치는 영향에 대한 實驗的 研究가 없었다.

이에 본인은 黃耆가 CsA 과량 투여로 유발된 腎損傷에 미치는 영향에 關한 研究를 하게 되었다.

혈액內的 creatinine은 筋肉의 수축 에너지로서 creatine phosphate에서 生成된 creatine이 脫水되어 생긴 代謝終産物이다. 오로지 腎臟을 통해서만 體外로 排泄되므로 creatinine의 尿中 排泄量은 체內的 creatinine生成량과 同一하며 絲球體의 여과에 따라 변하므로 血清 creatinine値는 腎機能의 指標가 된다³⁾. 즉, creatinine은 尿素窒素와는 달리 外因性 또는 腎臟 이외의 要因에 영향을 받지 않으며 腎絲球體로 濾過되어 細尿管에서 재 흡수되지 않고 體外로 排泄된다¹²⁾. 따라서 creatinine은 一種의 GFR(絲球體濾過率)의 測定物이며, 血液中的 creatinine 濃度는 腎臟의 排泄機能과 연관이 있기 때문에 腎血流量이 減少할 때와 腎絲球體의 濾過値가 減少할 때에 增加한다. 또한 尿素窒素와는 달리 食餌性 蛋白의 과잉 섭취, 胃腸管內的 出血 등 腎外性 因子의 영향도 적기 때문에 腎機能 장애의 指標로서 尿素窒素보다 特異性이 크다. 또한 creatinine의 1日 尿中 排泄量은 個體의 근육 량에 비례하고 食餌의 영향을 거의 받지 않고 일정하므로 1日 縮尿가 제대로 되었는지 與否도 check할 수 있다¹²⁾. Blood Urea Nitrogen (BUN)은 amino酸의 脫amino반응으로 生成된 ammonia로 主로 肝의 尿素 回路(urea cycle)에서 生成되며, 血流를 通하여 腎絲球體에서 여과된 다음 細尿管에서 일부 재 흡수되고 나머지는 尿中으로 排泄되는데, 腎機能이 低下하여 絲球體濾過率이 감소하면 血中 濃도가 상승하므로 腎機能의 指標가 된다¹²⁾.

Sodium(Na⁺)은 細胞外液中的의 主된 陽ion으

로 體液量과 滲透壓 調節에 중요한 역할을 담당하며, 細胞外液量은 혈장 삼투압과 순환 혈장으로 調節되고 血漿 $[Na^+]$ 는 體液의 Na와 水分의 平衡으로 決定된다¹²⁾. Potassium (K^+)은 細胞內에 대량 존재하는 陽ion으로 體內 총 K量의 98%가 細胞內에 분포되어 있다. 혈장 K는 體內 총 K量의 0.4%에 지나지 않으나 그 농도 변화는 총 K量의 變動을 반영하는 것이고, 혈장 K의 이상은 가장 흔히 볼 수 있는 전해질 이상으로 尿 $[K^+]$, 혈장 $[HCO_3^-]$, 尿 $[Cl^-]$ 측정으로 腎臟의 배설 상태, 酸·鹽基 平衡 異常等 K代謝異常의 成因을 파악하기 위하여 혈장 renin 및 aldosterone을 측정하면 hormone 이상 여부를 診斷할 수 있다¹²⁾.

血清 Cl^- 는 體液의 滲透壓을 유지하는 중요한 陰ion으로, HCO_3^- 와 서로 補完해서 變動하는 것으로 Cl^- 의 平衡에 의하여 水分, Na^+ 平衡의 異常을 알 수 있다. 細胞內에 Cl^- 가 高濃度로 存在하는 곳은 적혈구(45mmol/L)로 hemoglobin의 O_2 , CO_2 운반에 參與한다. 食鹽으로 섭취된 Cl^- 의 대부분은 小便으로, 일부는 汗 및 大便으로 배설된다. Cl^- 는 Na^+ 과 더불어 絲絨體로 여과된 후 近位細尿管에서 Na^+ 이 能動的으로 재 흡수되는데 반해 Cl^- 는 전위구배 및 농도구배에 인하여 受動的으로 재 흡수된다. 또한 Henle's loop의 上行脚(ascending limb)에서는 Cl^- 가 能動的으로 재 흡수되고, Na^+ 은 전기적 구배에 의하여 受動的으로 재 흡수된다. 그러므로 細尿管에서의 Cl^- 재 흡수는 Na^+ 의 濃도와 거의 병행한다. 그 결과로 혈장 $[Cl^-]$ 이상은 그 자체에 意義가 있다기보다 HCO_3^- 또는 유기산 등 Cl^- 이외의 陰 ion 이상을 시사한다¹²⁾. AST(aspartate aminotransferase)와 ALT(alanine aminotransferase)는 일반적으로 GOT 및 GPT라고 불리고 있는데 이를 각각 AST 및 ALT라 불리는 효소이다. 조직이 손상된 경우의 血中 酵素 활성치는 손상 범위, 조직내 효소 함량, 혈중으로의 유출조건, 효소의 안정성, 血中 酵素의 반감기 등에 의하여 決定된다. 따라서 어떤 시점의 血清 AST, ALT 활성이 장애 크

기를 나타내는 것만은 아니다¹²⁾.

일반적으로 腎臟 機能이 低下되면 요농축력, 희석력 모두 低下되는데 초기에는 농축력이 현저하게 低下한다. 腎實質障 礙 이외에 요농축력, 희석력이 低下하는 질환으로는 低K血症, 高Ca血症 등이 있다. 정상인에서 尿量과 比重은 반비례하지만 糖尿病 환자는 尿量이 많은데도 比重이 높다. 또한 腎臟疾患 환자의 尿는 尿量이 감소하여도 比重이 낮다¹²⁾.

血清에서 실험한 결과, 對照群에 비해 實驗群에서 BUN, ALT, AST이 有意한 감소를 보였고, total protein은 有意한 증가를 보였다. 그러나 血清 creatinine値는 有意한 변화가 없었고, Chloride는 對照群에 비해 7日째에 有意한 增加를 보였으나, 14日째는 有意한 減少를 보였다. Potassium과 Sodium은 對照群에 비해 有意한 변화가 없었다.

尿의 specific gravity는 對照群에 비해 7日째에 有意한 증가를 보였는데, 이것을 BUN의 변화와 尿中 creatinine 排泄量의 변화와 함께 考慮해 보면 黃耆가 白鼠의 高질소혈증을 개선함과 동시에 腎臟의 尿 濃縮力을 회복시킨 결과라고 思料된다.

V. 結 論

Cyclosporin A로 腎損傷을 유발시킨 흰쥐에 蜜炙黃耆 추출물을 經口投與하여 血清中 BUN, creatinine, total protein, sodium, potassium, chloride, AST, ALT와 尿中 specific gravity, creatinine을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 血清中 BUN, ALT, AST는 有意한 감소를 보였고, total protein은 有意한 증가를 보였고, chloride에서는 7日째에 有意하게 증가하였으나, 14日째는 有意하게 감소하였다.

2. 尿比重은 유의하게 증가하였으며, 尿中 creatinine 배설량은 증가하는 경향이 있었으나 有意성은 없었다.

以上の 實驗結果로 보아 蜜炙黃耆는 Cyclosporin A로 인한 白鼠의 腎毒性 및 肝毒性을 회복시키는 효과가 있는 것으로 思料

되며, 향후 이에 대한 組織學的 研究가 必要 할 것으로 思料된다.

參考文獻

1. 姜英俊 : 毒性 腎臟病症, 大韓內科學會雜誌, 27:632-40, 1984.
2. 姜주섭 : 편측 신질제 흰쥐에서의 CYCLOSPORIN A 유발 신독성에 대한 VERAPAMIL의 효과, 한양대학교 대학원, 1992.
3. 杜鎬京 : 東醫腎系學(上), 서울, 東洋醫學研究會, 255-6, 1991.
4. 김태웅, 이원준 : 통계학 개론, 서울, 研岩社, 151-169, 1998.
5. 金學成, 許 瑾 : 臨床藥理學, 서울, 高文社, 161, 1986.
6. 朴宰賢 : 補中益氣湯이 Cyclosporin A를 투여한 흰쥐의 肝 및 腎損傷에 미치는 影響, 東國大學校 大學院, 1993.
7. 안덕균 譯 : 면역과 한방, 서울, 도서출판 열린 책들, 146-53, 1992.
8. 吳旻哲 : 黃耆 및 當歸의 免疫增強效果에 關한 研究, 慶熙大學校 大學院, 1986.
9. 吳鐘鉉 : Closporin A가 體液性 및 細胞性 免疫反應에 미치는 影響, 全北大學校 大學院, 1983.
10. 陸玄碩 : 黃耆 및 蜜炙黃耆煎湯液이 Gentamicin Sulfate로 誘發된 白鼠의 急性 腎不全에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院, 1993.
11. 醫學研究會 : 增補本草備要, 서울, 高文社, 1-2, 1974.
12. 이귀녕, 이종순 : 臨床病理과일 (제2판), 서울, 醫學文化社, 82-3, 86-7, 279, 303, 312, 315-6, 683, 1990.
13. 李美愛 : Cyclosporin A에 의한 백서 신장의 형태학적 변화에 관한 연구, 이화여자대학교 대학원, 1991.
14. 이연대 : 최신면역학, 서울, 집문당, 298-304, 1982.
15. 李正相 : 藥物에 의한 腎臟疾患, 臨床藥學, 서울, 月刊臨床藥學社, 60:103-6, 1986.
16. 林定圭 : GOODMAN & GILMAN's 藥物治療의 基礎와 臨床, 서울, 高麗醫學, (下卷) 1335-6, 1990.
17. 張敬善 : 人蔘과 黃耆가 白鼠의 遲延性 過敏反應 및 抗體形成能에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1990.
18. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著 : 本草學, 서울, 永林社, 109-10, 534-5, 1991.
19. 鄭대호 : 免疫學講義, 대구, 慶北大 出版部 171-3, 1991.
20. 鄭翰聖 : 加味四六湯이 Cyclosporin A로 損傷된 肝臟, 脾臟 組織에 미치는 影響, 東國大學校 大學院, 1993.
21. 陳善斗 : 黃耆의 投與가 生體 및 試驗管 內에서 免疫細胞의 機能에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1995.
22. 黃宮繡 纂 : 本草求真, 서울, 一中社, 5-6, 1992.
23. 홍사석 : 이우주의 약리학강의(제3판), 서울, 의학문화사, 664-5, 1993.
24. 江蘇省植物研究所 外 : 新華本草綱目(第二冊), 上海, 上海科學技術出版社, 96-7, 1991.
25. 唐慎微編 : 經史證類大觀本草, 台北, 國立中國醫藥研究所出版, 187, 1971.
26. 孫憑翼 外 : 神農本草經, 太原市, 西科學技術出版社, 26, 1991.
27. 全國中草藥匯編 編寫組編 : 全國中草藥匯編(上冊), 北京, 人民衛生出版社, 761-3, 1990.
28. 中國醫學科學院藥物研究所等 編 : 中藥志, 北京, 人民衛生出版社, 187-94, 1982.
29. Andrus, L & Lafferty, KJ : Inhibition of T-cell activity by cyclosporin A. *Scand J Immunol* 15, 449-58, 1982.
30. Barry D Kahan : *The new England journal of medicine*, 321(12), 1725-36, 1989.
31. Bennett WM and Norman DJ : Action and toxicity of cyclosporine, *Annu Rev Med*, 37, 215-24, 1986
32. Blair JT et al : Toxicity of the immune suppressant cyclosporin A in rat, *The Journal of Pathology*, 138(2), 163-78, 1982.
33. Borel JF, Feuer C, Gubler HV & Stahelin H : Biological effects of cyclosporin A: A new anti-lymphocyte agent. *Agents Actions*. 6, 468-75, 1976.
34. Calne RT, White, DJG & Thirm, S :

- Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* *ii*, 1323-7, 1978.
35. Drugge RJ and Handschumacher RE : Cyclosporine-mechanism of action, *Transplant. Proc.*, 20, 301-9, 1988.
 36. Myers BD, Ross J, Newton L & Luetscher J: Cyclosporin-associated chronic nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 311, 699-705, 1984.
 37. Nooter K et al : Blood and tissue distribution of cyclosporin a after a single oral dose in the rat, *Experientia*, 40, 559-61, 1984.
 38. Racusen LC et al: Cyclosporine nephrotoxicity, *International Review of Experimental Pathology*, 30, 107-57, 1988.
 39. Rotolo FS et al : Effects of cyclosporine on bile secretion in rats, *Am J Surg*, 151, 35, 1986.
 40. Sullivan BA, Hak LJ & Finn WF : Cyclosporine nephrotoxicity : Studies in laboratory animals. *Transpl. Proc.* 17, 14 5-54, 1985.