

원저

丹蔘藥鍼이 急性腎不全 家兔의 腎細尿管에 미치는 影響

임춘우 · 서정철 · 윤현민 · 장경전 · 송춘호 · 안창범

동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

Abstract

Effect of Salviae Radix herb-acupuncture on rabbits with Hg-induced acute renal failure

Lim, Chun-Woo · Seo, Jung-Chul · Youn, Hyoun-Min · Jang, Kyung-Jeon
Song, Choon-Ho · Ahn, Chang-Beohm

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dong Eui University

Objectives ; This study was undertaken to determine if Salviae Radix herb-acupuncture (SRA) exerts protective effect against alterations in membrane transport function in rabbits with mercury chloride (Hg)-induced acute renal failure.

Methods and Results ; The administration of Hg at a subcutaneous single dose of 10 mg/kg caused a reduction in GFR to 9.4% of the basal value and an increase in fractional Na⁺ excretion to 10-fold, indicating generation of acute renal failure. When animals were acupuncture with 0.5 ml of SRA extract (0.1%) in both sides of Shinsu(BL23) for 7 days prior to Hg administration, such changes were significantly attenuated. The fractional excretion of glucose and phosphate was increased to approximately 132-fold and 7-fold, respectively, in rabbits treated with Hg alone, but the fractional excretion of glucose was increased to 26-fold and that of phosphate was not different from the basal value in SRA-pretreated rabbits. Uptakes of glucose and phosphate in purified isolated brush-border membrane and Na⁺-K⁺-ATPase activity in microsomal fraction were inhibited in rabbits treated with Hg alone, suggesting that impairment in proximal reabsorption of glucose and phosphate is resulted from a direct damage of membrane transport carriers and disruption of the normal Na⁺ gradient.

Conclusions ; Such changes were prevented by SRA. Uptakes of organic ions, PAH and TEA, in renal cortical slices were inhibited by the administration of Hg, which was prevented by SRA. Pretreatment of an antioxidant DPPD attenuated the increase in the fractional excretion of glucose and phosphate induced by the administration of Hg.

Key Words : Salviae Radix, herb-acupuncture, acute renal failure

· 접수 : 3월 7일 · 수정 : 3월 16일 · 채택 : 3월 22일
· 교신저자 : 안창범, 부산시 부산진구 양정2동 산 45 동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실(TEL. 051-850-8610)
E-mail: cbahn@hyomin.donggeui.ac.kr

I. 서론

腎은 先天의 本으로¹⁾ 『素問·上古天真論』에서 “腎者主水 受五臟六腑之精而藏之”라 하여²⁾, 主水液·藏精·司二陰 등의 生命現狀으로 發現되는 生長發育, 生殖機能, 水液代謝 등 一個의 機能系를 指稱한다.^{1,3)}

急性腎不全은 腎臟內 血管收縮과 腎血流量的 減少로 絲球體濾過率(GFR)이 急激하게 低下되어 體內에 窒素代謝産物이 계속적으로 蓄積되는 것으로^{4,5)}, 韓醫學에서는 關格, 小便不利, 小便不通, 浮腫, 虛損 등의 範疇에 속한다.^{3,6)}

丹蔘(Salvie Radix)은 꿀풀科에 속한 多年生 草本植物로 養血安神, 活血祛瘀, 涼血, 生新血, 安生胎, 調經血, 除煩熱, 和中止痛 등의 效能이 있어 心絞痛, 月經不調, 痛經, 經閉, 血崩帶下, 積聚, 瘀血腹痛, 骨折疼痛, 驚悸, 不眠 등을 다스린다.⁷⁻¹⁰⁾

腎俞(BL23)는 腎臟의 背俞穴로서 滋補腎陰, 振氣化, 強腰脊, 益水壯火, 去水濕, 益聽明目 등의 效能을 가지고 있다.¹¹⁾

최근 急性腎不全에 관한 實驗報告로 李¹²⁾, 金¹³⁾ 등의 藥物投與, 趙¹⁴⁾ 등의 艾灸에 관한 研究와, 崔¹⁵⁾, 金¹⁶⁾ 등의 木通藥鍼이, 趙¹⁷⁾ 등의 紅花子藥鍼이, 徐¹⁸⁾ 등의 胡桃藥鍼이 急性腎不全에 미치는 影響에 대한 報告가 있었고, 朴¹⁹⁾ 등의 虛血性 急性腎不全에서 丹蔘藥鍼의 影響에 대한 報告가 있었으나, 최근 문제되고 있는 環境汚染이나 藥物副作用과 관계된 毒性物質로 誘發된 急性腎不全에서 丹蔘藥鍼의 影響에 대한 報告는 없었다.

이에 家兎의 腎俞(BL23) 相應部位에 丹蔘藥鍼을 施行한 후 皮下에 HgCl₂를 注入하여 急性腎不全을 誘發하고 絲球體濾過率의 變化, 腎細尿管에서 Na⁺, 葡萄糖 및 磷酸의 排泄分率의 變化, Brush-border membrane vesicles(BBMV)에서 葡萄糖과 磷酸의

吸收能 變化, microsomal fraction에서의 Na⁺-K⁺-ATPase의 活性 變化, 腎臟皮質切片에서 유기 이온의 移動變化, 抗酸化劑에 의한 葡萄糖과 磷酸의 排泄分率 變化 등을 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 실험

1. 動物 및 材料

1) 動物

動物은 體重 1.5~2.0kg의 뉴질랜드産 WHITE種 家兎를 國內 전문사육장에서 購入하여 암수 구별 없이 사용하였다.

2) 藥材

實驗에 사용한 丹蔘(Salviae Radix)은 市中에서 購入, 精選하여 사용하였다.

3) 藥鍼注入器

鍼은 1.0ml의 26gauge 1回用注射鍼(보인메디카 : 韓國)을 사용하였다.

2. 실험방법

1) 藥鍼液 製造

丹蔘(Salviae Radix) 2kg을 粉末로 만들어 methyl alcohol을 4시간씩 3次例 逆流시켜 抽出한 후 減壓狀態에서 蒸發시켜 168g을 얻었다. 이중 50g을 蒸溜水에 溶解시킨 후 n-hexane을 이용하여 脂肪을 除去하고 butanol로 抽出한 후 減壓狀態에서 蒸發시켜 6.8g을 얻었으며 이를 生理食鹽水에 0.1%의 濃도가 되게 녹여 藥鍼液으로 사용하였다.

2) 水銀에 의한 急性腎不全 誘發 및 丹蔘藥鍼液 注入

實驗에 使用된 動物은 metabolic cage에서 2일 간 適應 후 各各 家兔 6마리를 1群으로 하여 24시간 尿와 血液을 採取하여 各 群의 正常值(Basal)를 구한 뒤 HgCl₂를 1回 皮下注射(10 mg/kg body wt.)하여 急性腎不全을 誘發하여 水銀處置群으로, 7일 동안 0.1%의 丹蔘藥鍼液 0.5ml를 兩側 腎俞穴 相應部位에 注入한 후 HgCl₂를 1回 皮下注射(10mg/kg body wt.)하여 丹蔘藥鍼群으로 구분하였다.

抗酸化劑의 效果를 實驗하기 위해서 各各 家兔 6마리를 1群으로 하여 24시간 尿와 血液을 採取하여 各 群의 正常值(Basal)를 구한 뒤 HgCl₂를 1回 皮下注射(10mg/kg body wt.)하여 急性腎不全을 誘發하여 水銀處置群으로, 水銀注入 24시간 전에 DPPD (0.5g/kg in corn oil)를 腹膜內에 注入하여 DPPD 處置群으로 구분하였다.

3) 尿와 血液의 分析

24시간 尿는 HgCl₂ 注入 후 24시간에서 48시간 사이에 採集하였고, 血液은 家兔의 귀 靜脈에서 採取하였다. 採取한 尿와 血液에서 各各 creatinine (Iatron Lab., Japan), glucose(Iatron Lab., Japan), phosphate²⁰⁾, 그리고 Na⁺(Frame photometer, Beckman)을 測定하였다. 絲球體濾過率(GFR)은 creatinine clearance로 評價하였고 Na⁺의 排泄分率은 일반적인 方法으로 計算하였다.

4) 腎臟皮質切片의 마련

生理食鹽水 0.5ml를 兩側 腎俞穴에 注入한 正常對照群(Control)과 水銀處置群, 丹蔘藥鍼群의 實驗動物을 犧牲시킨 후 곧바로 腎臟을 摘出하여 140mM NaCl, 10mM KCl 그리고 1.5mM CaCl₂를 含有한 等張性 食鹽水를 얼음으로 冷却하고 腎動脈에 貫流시켜 血液을 최대한 除去하였다. Stadie-Riggs microtome으로 얇게 자른 腎臟皮質切片(0.4~0.5mm)을 130mM KCl, 1.5mM CaCl₂, 5mM

Na acetate 그리고 20mM Tris/HCl (pH 7.8)로 구성된 얼음으로 冷却한 Cross-Taggart 溶液에 貯藏하였다.

5) Na⁺-K⁺-ATPase 活性 測定

腎臟皮質에서 分離한 microsomal fraction의 ATPase 活性은 3mM ATP (sigma)를 基質로 含有한 배지로 microsome을 培養하는 동안 ATP가 加水分解되어 流出된 無機磷酸을 測定하여 決定하였다. 總 ATPase 活性은 100mM Na⁺, 20mM K⁺, 3mM Mg²⁺, 2mM ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 그리고 40mM imidazole (pH7.4)로 構成된 溶液속에서 測定하였다. Mg²⁺-ATPase 活性은 總 ATPase 活性을 測定하는 溶液內에서 K를 除外하고 대신 1mM ouabain을 添加하여 測定하였고, 總 ATPase 活性의 差異를 Na⁺-K⁺-ATPase 活性으로 하였다. 37℃에서 前培養 5分 후에 microsomal fraction을 添加하여 反應을 始作하였으며, 10分 후에 얼음으로 冷却한 6% percholicacid를 添加하여 反應을 停止시켰다. 混合物를 3,500g에서 遠心分離한 후 無機磷酸의 濃度를 Fiske and SubbaRow 法²⁰⁾으로 測定하였다.

6) BBMV(Brush-border membrane vesicles)의 마련

BBMV는 Percoll-gradient를 이용하여 分離한 다음 Mg²⁺-沈降反應法으로 더욱 純粹하게 分離하였다. 分離된 Vesicles는 Vesicle buffer에 蛋白質濃度를 6mg/ml로 부유시켜 -70℃에서 使用될 때까지 貯藏하였다. 蛋白質은 γ -globulin을 標準으로 사용하여 Bradford 法²¹⁾으로 測定하였다.

7) BBMV에서의 物質移動 實驗

Vesicles에 의한 基質의 吸收은 急速濾過法으로 測定하였다. membrane vesicles를 25℃에서 50 μ

M [14 C]-D-glucose 또는 32 P를 含有한 배양배지 (1:10으로 稀釋된 membrane vesicle 懸濁液)에 添加하여 反應을 개시하였다. 1分 동안 培養 후 100 μ l를 取하여 증류수에 하룻밤 동안 담겨진 milipore filter (HAWP, 0.45 μ m pore size)를 통해 眞空狀態에서 즉시 濾過시켰다. 濾過液은 基質이 없는 배양배지와 同一한 構成으로 이루어진 5ml의 冷한 停止溶液으로 洗滌하여 1.0ml의 methoxyethanol에 溶解하였다. 10ml의 scintillation cocktail을 添加한 후 vesicles에 吸收된 放射能量은 liquid scintillation spectrometry (Packard Tri-carb 300C)로 決定하였다. plasma membrane에 放射能基質의 非特異的 結合은 0.1% deoxycholate와 放射能 標識基質을 含有한 運送溶液에서 培養하여 測定하였다.

8) 試藥

[14 C]-D-glucose, 32 P, [14 C]-PAH 그리고 [14 C]-TEA는 Amersham International (Amersham, UK)社로부터, DPPD는 Aldrich Chemical (Milwaukee, WI)社로부터 購入하였고 다른 試藥들은 市販品中 最高의 것을 使用하였다.

9) 統計處理

實驗成績은 平均値±標準誤差로 나타내었으며, 平均値間의 有意性은 Student's t-test를 利用하여 檢定하였고, p값이 0.05미만일 때 有意한 것으로 判定하였다.

III. 실험 결과

1. 絲球體濾過率의 變化

水銀處置群은 絲球體濾過率이 正常値의 9.4%로 顯著하게 減少하였고(0.114 \pm 0.02 vs. 1.209 \pm 0.1

26 ℓ /day/kg for the basal period), 丹蔘藥鍼群의 絲球體濾過率은 正常値의 42.3%로(0.49 \pm 0.13 vs. 1.26 \pm 0.09 ℓ /day/kg for the basal period) 水銀處置群에 비해 絲球體濾過率의 減少가 有意하게 防止되었다(Fig. 1).

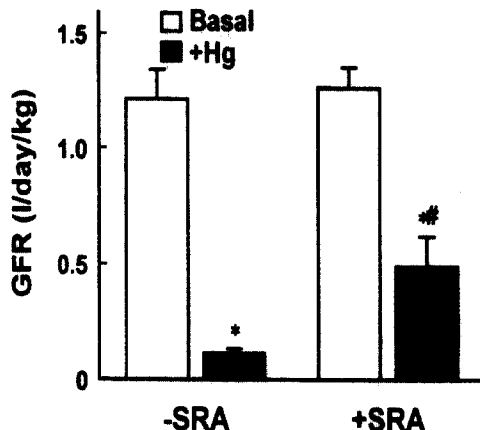


Fig. 1. Changes in glomerular filtration rate (GFR) 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) in rabbits with or without Salviae Radix-herb-acupuncture (SRA).

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg (a single dose of 10mg/kg) and SRA [0.5ml of 0.1% SRA extract in both sides of Shinsu (BL23)] was performed for 7 days before Hg injection.

Data are mean \pm S.E. of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value.

: p<0.05 compared with Hg alone.

2. 腎細尿管에서 Na⁺, 葡萄糖 및 磷酸의 排泄分率의 變化

Na⁺ 平均 排泄分率은 水銀處置群에서 0.89 \pm 0.55%에서 8.93 \pm 1.26%로 增加하였으나, 丹蔘藥鍼群에서는 그 增加程度가 1.01 \pm 0.64%에서 3.94 \pm 0.98%로 水銀處置群에 비해 排泄分率의 增加가 有意하게 減少하였다(Fig. 2).

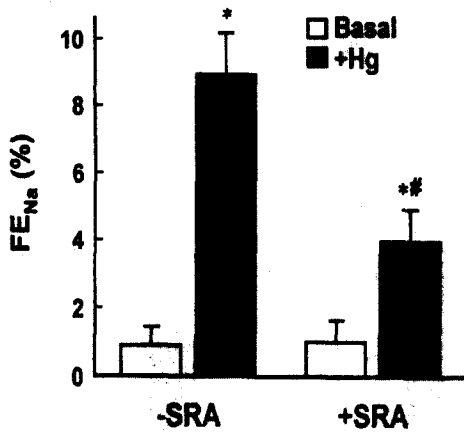


Fig. 2. Changes in fractional excretion of Na⁺ 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) in rabbits with or without Salviae Radix herb-acupuncture (SRA).

Experimental conditions were of the same as in Fig. 1. Data are mean±S.E. of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value.

: p<0.05 compared with Hg alone.

水銀處置群에서 葡萄糖의 平均 排泄分率は 11.92 ± 1.33%로 正常値(0.09±0.05%)의 132倍를 超過하였지만, 丹蔘藥鍼群은 2.86±0.87%로 正常値(0.11±0.09%)의 26倍로 水銀處置群에 비해 排泄分率의 有意한 減少가 있었다(Fig. 3).

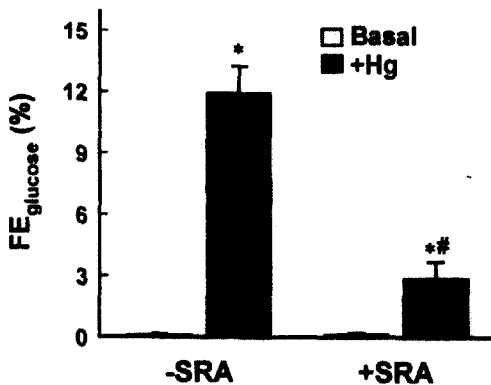


Fig. 3. Changes in fractional excretion of glucose 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) in rabbits with or without Salviae Radix herb-acupuncture (SRA).

Experimental conditions were of the same as in Fig. 1.

Data are mean±S.E. of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value.

: p<0.05 compared with Hg alone.

비슷한 防禦效果가 磷酸의 排泄分率에도 나타났다. 磷酸의 平均 排泄分率は 水銀處置群에서 거의 7.1倍로 增加하였으나(27.93±6.07 vs. 3.95±0.98% for the basal period), 丹蔘藥鍼群에서는 正常値와 비슷하였다(5.54±1.49 vs. 4.08±0.25% for the basal period)(Fig. 4).

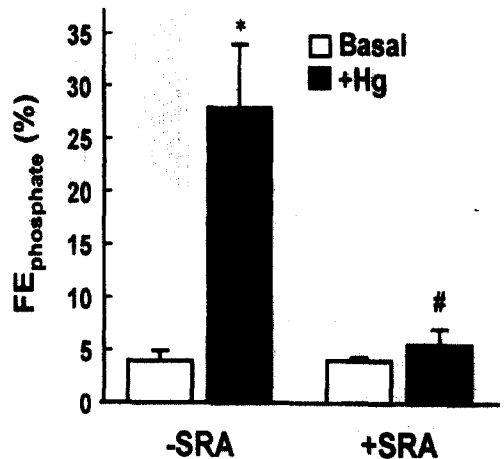


Fig. 4. Changes in fractional excretion of phosphate 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) in rabbits with or without Salviae Radix herb-acupuncture (SRA).

Experimental conditions were of the same as in Fig. 1. Data are mean±S.E. of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value.

: p<0.05 compared with Hg alone.

3. BBMV에서 葡萄糖과 磷酸의 吸收

水銀이 近位細尿管의 物質移動에 있어 直接的인

損傷을 가져오는지 檢査하기 위해 水銀處置群과 正常對照群(Control)의 腎臟皮質에서 分離한 BBMV에서 葡萄糖과 磷酸의 吸收를 測定하였다.

葡萄糖의 吸收는 正常對照群은 250.40 ± 12.09 pmole/mg/min, 水銀處置群은 155.80 ± 7.78 pmole/mg/min, 丹蔘藥鍼群에서는 184.30 ± 6.49 pmole/mg/min로 나타나 丹蔘藥鍼群이 水銀處置群에 비해 有意하게 增加하였다(Fig. 5).

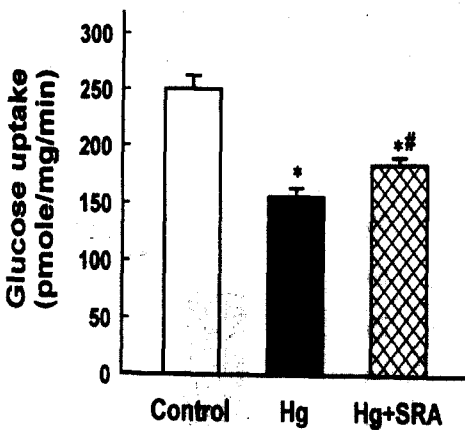


Fig. 5. Changes in glucose uptake by brush-border membrane vesicles (BBMV) 24 hr following administration of mercurychloride (Hg) in rabbits with or without Salviae Radix herb-acupuncture (SRA).

Animals were treated with Hg and SRA as described in Fig. 1. Membrane vesicles were loaded with a buffer containing 100mM mannitol, 100mM KCl and 20mM HEPES/Tris (pH 7.5) and were incubated in a buffer containing $50 \mu\text{M}$ [^{14}C]-D-glucose, 100mM mannitol, 100 mM NaCl and 20mM HEPES/Tris (pH 7.5) for 1min at 25°C .

Data are mean \pm S.E. of six experiments.

* : $p < 0.05$ compared with the control.

: $p < 0.05$ compared with Hg alone.

마찬가지로 磷酸의 吸收 역시 丹蔘藥鍼群이 水銀處置群보다 有意하게 增加하였다. 正常對照群에서 磷酸의 吸收는 155.40 ± 6.45 pmole/mg/min이고, 水

銀處置群에서는 110.20 ± 6.09 pmole/mg/min이고, 丹蔘藥鍼群에서는 145.90 ± 7.36 pmole/mg/min이었다(Fig. 6).

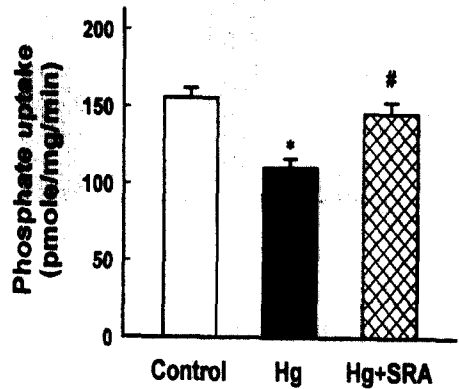


Fig. 6. Changes in phosphate uptake by brush-border membrane vesicles (BBMV) 24 hr following administration of mercurychloride (Hg) in rabbits with or without Salviae Radix herb-acupuncture (SRA).

Animals were treated with Hg and SRA as described in Fig. 1. Membrane vesicles were loaded with a buffer containing 100mM mannitol, 100mM KCl and 20mM HEPES/Tris (pH 7.5) and were incubated in a buffer containing $50 \mu\text{M}$ ^{32}P , 100mM mannitol, 100mM NaCl and 20mM HEPES/Tris (pH 7.5) for 1 min at 25°C .

Data are mean \pm S.E. of six experiments.

* : $p < 0.05$ compared with the control.

: $p < 0.05$ compared with Hg alone.

4. Microsomal fraction에서 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 活性

水銀이 $\text{Na}^+ - \text{pump}$ 의 活性에 대한 損傷을 檢査하기 위해 水銀投與 24시간 후 腎臟皮質에서 準備한 microsome에서 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 活性을 測定하였다.

正常對照群의 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性은 $26.85 \pm 3.24 \mu\text{M Pi/mg/hr}$, 水銀處置群에서는 $11.02 \pm$

1.88 $\mu\text{M Pi/mg/hr}$, 丹蔘藥鍼群에서는 17.99 \pm 1.92 $\mu\text{M Pi/mg/hr}$ 로 正常對照群과 比較한 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性的 低下가 丹蔘藥鍼群이 水銀處置群에 비해 有意하게 減少하였다(Fig. 7).

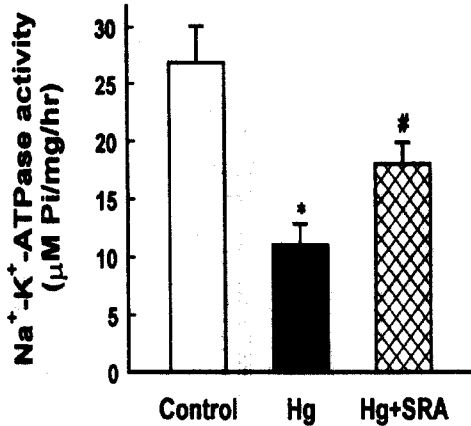


Fig. 7. Changes in $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in renal microsomal fraction 24hr following administration of mercury chloride(Hg) in rabbits with or without *Salviae Radix* herb-acupuncture (SRA).

Animals were treated with Hg and SRA as described in Fig. 1.

Data are mean \pm S.E. of six experiments.

* : $p < 0.05$ compared with the control.

: $p < 0.05$ compared with Hg alone.

5. 腎臟皮質切片에서 PAH와 TEA의 移動變化

In vitro에서 近位細尿管의 細胞損傷을 評價하기 위한 生化學的 指標로 腎臟皮質切片에서 유기음이온인 PAH(p-aminohippurate)와 유기양이온인 TEA (tetraethylammonium)의 吸收를 測定하였다.

正常對照群 切片에서의 PAH의 흡수 S/M比는 14.96 \pm 0.55, 水銀處置群에서는 5.52 \pm 0.38로 抑制되었으나, 丹蔘藥鍼群에서는 9.83 \pm 0.68로 水銀處置群에 비해 有意하게 增加되었다(Fig. 8).

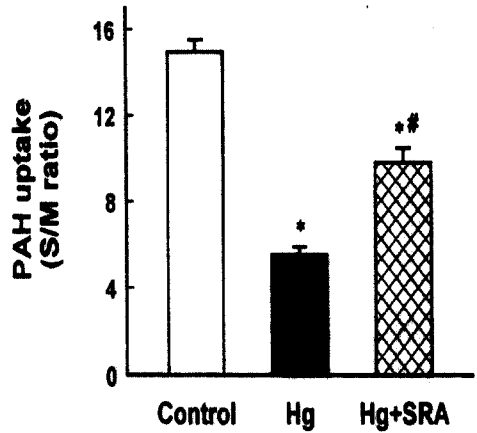


Fig. 8. Changes in PAH uptake by renal cortical slices 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) in rabbits with or without *Salviae Radix* herb-acupuncture(SRA).

Animals were treated with Hg and SRA as described in Fig. 1

Data are mean \pm S.E. of six experiments.

* : $p < 0.05$ compared with the control.

: $p < 0.05$ compared with Hg alone.

비슷한 결과가 TEA의 吸收에서도 나타났다. 正常對照群 切片에서의 TEA 吸收 S/M比는 17.93 \pm 0.54, 水銀處置群에서는 8.43 \pm 0.44로 抑制되었으나, 丹蔘藥鍼群에서는 13.09 \pm 0.75로 水銀處置群에 비해 有意하게 增加되었다(Fig. 9).

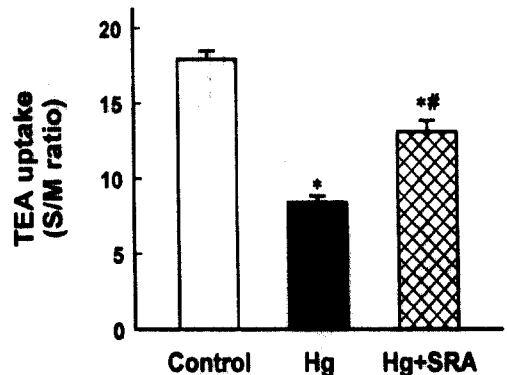


Fig. 9. Changes in TEA uptake by renal cortical slices 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) in rabbits with or without *Salviae Radix* herb-acupuncture (SRA).

Animals were treated with Hg and SRA as described in Fig. 1.

Data are mean±S.E. of six experiments.

- * : p<0.05 compared with the control.
- # : p<0.05 compared with Hg alone.

6. 抗酸化劑의 效果

葡萄糖의 平均 排泄分率은 水銀處置群에서는 0.05±0.02%에서 5.93±0.76%로 增加하였으나 DP PD處置群은 0.08±0.06%에서 1.15±0.77%로 增加하여 水銀處置群에 비해 排泄分率의 增加가 有意하게 減少되었고(Fig. 10), 마찬가지로 磷酸의 平均 排泄分率은 水銀處置群에서는 2.09±0.56%에서 15.28±3.23%로 增加하였고 DPPD處置群은 3.25±0.55%에서 6.27±1.12%로 增加하여 水銀處置群에 비해 排泄分率의 增加가 有意하게 減少되었다(Fig. 11).

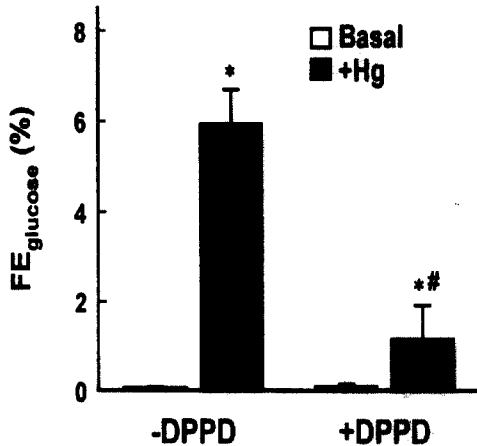


Fig. 10. Changes in fractional excretion of glucose 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) and in DPPD-pretreated rabbits.

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg (a single dose of 10 mg/kg) and DPPD

(0.5 g/kg, i.p.) was pretreated 24 hr before the administration of Hg.

Data are mean±S.E. of six experiments.

- * : p<0.05 compared with the respective basal value.
- # : p<0.05 compared with Hg alone.

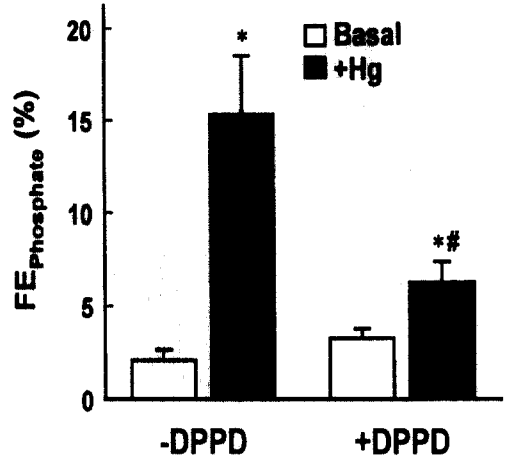


Fig. 11. Changes in fractional excretion of phosphate 24 hr following administration of mercury chloride (Hg) and in DPPD-pretreated rabbits.

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg (a single dose of 10 mg/kg) and DPPD (0.5 g/kg, i.p.) was pretreated 24 hr before the administration of Hg.

Data are mean±S.E. of six experiments.

- * : p<0.05 compared with the respective basal value.
- # : p<0.05 compared with Hg alone.

IV. 고찰

韓醫學에서 腎은 先天의 本으로 膀胱과 表裏를 이루며^{1,22)} 骨, 髓, 腦, 髮, 耳, 二陰 등과 더불어 腎의 系統을 構成한다³⁾. 그리고 腎의 生理機能은 主水液·藏精·司二陰 등의 生命現狀으로 發現되는 生長發育, 生殖機能, 水液代謝 등 一個의 機能系를 指稱한다^{1,3)}.

急性腎不全의 原因은 크게 血力學的인 것과 腎毒性 物質에 의한 것으로 分類할 수 있으며, 腎臟內 血管收縮과 腎血流量的 減少로 急激히 絲球體濾過 率에 低下되어 體內 窒素代謝產物이 계속적으로 蓄積되며 水分과 電解質의 平衡障礙 및 산·염기 代謝障礙를 同伴하여 無尿, 乏尿 등의 症狀을 수반하나 尿量이 하루 1~2ℓ 이상인 경우도 있다^{4,5)}. 血中 尿素 窒素(BUN)와 creatinine의 急激한 上昇으로 진단할 수 있으며^{4,23)}, 死亡率이 內科의 疾患은 20~50%, 外科의 疾患의 경우 60~70%에 이르며 이는 지난 20년간 減少하지 않고 있다²⁴⁾.

韓醫學에서 急性腎不全은 關格, 小便不利, 小便不通, 浮腫, 虛損 등의 範疇에 속하며宣導通泄, 清熱解毒, 利水泄瀉, 活血化瘀 등이 基本的 治法이 될 수 있고 治療方劑로는 五苓散, 清腎健脾湯, 補中治濕湯 등이 주로 應用되고 있다^{3,6)}.

藥鍼療法은 經絡學說의 原理에 依據하여 藥物을 選擇해서 有關한 穴位, 壓痛點 或은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性反應點에 注入하여 刺鍼과 藥物作用을 통해 生體의 機能을 調整하고, 病理狀態를 改善시켜 疾病을 治療하는 新鍼療法의 一種으로, 이는 藥鍼製劑를 經穴, 皮下, 肌肉 또는 靜脈 등에 直接 注入함으로써 藥效의 發生이 빠르고, 施術이 簡便하면서도 藥物이 胃腸管에서 破壞되는 것을 防止할 수 있어 많은 適用·研究가 進行되고 있다^{11,25,26)}.

丹蔘은 罂粟科에 속한 多年生 草本으로 味苦甘, 性微寒, 無毒하며 心經, 心包經, 肝經, 腎經에 歸經하고, 主成分은 tanshinone, cryptotanshinone, hydroxytanshinone, methyltanshinonate, miltirone, tanshinol, salviol, vitamin A, E 등이 있으며, 活血祛瘀, 養血安神, 涼血, 生新血 등의 效能이 있어 心絞痛, 月經不調, 痛經, 經閉, 血崩帶下, 積聚, 瘀血腹痛, 骨折疼痛, 驚悸, 不眠 등의 症狀에 活用할 수 있다⁷⁻¹⁰⁾.

丹蔘藥鍼에 대한 研究로는 金²⁷⁾ 등의 正常 白鼠에 대한 丹蔘藥鍼의 尿量增加와 尿中 creatinine 排

泄量의 增加, 血漿 aldosterone과 atrial natriuretic peptide의 濃度의 增加 報告와, 金²⁸⁾ 등의 白鼠의 自然發證 高血壓에 대한 丹蔘藥鍼의 有意한 血壓降下效果에 대한 報告, 林²⁹⁾ 등의 丹蔘藥鍼의 骨代謝에 미치는 影響 등이 있으며, 最近 朴¹⁸⁾ 등은 丹蔘藥鍼이 rhabdomyolysis에 의한 急性腎不全을 防止하는 效果가 있다고 報告하였고, 李³⁰⁾ 등이 丹蔘藥鍼이 酸化劑에 의한 腎臟 近位細尿管에서 磷酸의 移動抑制를 防止함을 報告하였다.

腎俞(BL23)는 腎臟의 背俞穴로 足太陽膀胱經上 第 2~3 腰椎間 兩傍 1寸 5分에 位置하며 腎臟의 氣를 輸注하는 經穴이다. 穴性은 補腎臟, 振氣化, 去水濕, 強腰脊, 益水壯火, 明目聽耳로 主治症은 腎虛腰痛, 腎炎, 遺精, 水腫, 陰痿, 早漏, 膀胱炎, 結石, 帶下, 月經不調, 不妊, 耳鳴, 耳聾, 脫毛 등 腎臟機能의 異常으로 因한 疾病을 다스린다^{11,26,31,32)}.

無機水銀과 有機水銀은 毒性物質로 誘發되는 急性腎不全의 腎毒性 모델로 頻繁히 사용되었고, 近位細尿管의 上皮細胞에 대한 水銀의 影響은 多年간 研究되어 왔다³³⁾. 急性 水銀中毒은 近位細尿管 部位에 高選擇的 壞死를 誘發시키며 細胞膜과 미토콘드리아의 構造와 機能의 損傷이 先行되었다^{34,35)}. 따라서 水銀處置 후 近位細尿管의 再吸收와 分泌過程은 甚하게 損傷된다.

이상의 根據를 바탕으로 本 研究에서는 丹蔘藥鍼이 毒性物質에 의해 誘發된 急性腎不全에 미치는 影響을 관찰하기 위해 家兔의 腎俞(BL23) 相應部位에 丹蔘藥鍼을 施行한 후 皮下에 HgCl₂를 注入하여 急性腎不全을 誘發하고 絲球體濾過率의 變化, 腎細尿管에서 Na⁺, 葡萄糖 및 磷酸의 排泄分率의 變化, BBMV에서 葡萄糖과 磷酸의 吸收能 變化, microsomal fraction에서의 Na⁺-K⁺-ATPase의 活性 變化, 腎臟皮質切片에서 유기이온의 移動變化, 抗酸化劑에 의한 葡萄糖과 磷酸의 排泄分率 變化 등을 測定하여 比較 檢討하였다.

본 研究에서 $HgCl_2$ 의 皮下注射(10mg/kg)는 急性腎不全의 發生을 나타내는 絲球體濾過率의 顯著한 減少와 Na^+ 의 排泄分率의 增加를 일으켰다(Fig. 1, 2). 또한 水銀處置는 葡萄糖과 磷酸의 排泄分率의 顯著한 增加를 나타내었다(Fig. 3, 4). 葡萄糖과 磷酸은 近位細尿管에서 再吸收되므로 이 結果들은 水銀에 의해 近位細尿管의 再吸收 機轉이 損傷받음을 나타낸다.

葡萄糖과 磷酸의 近位細尿管에서의 再吸收 程度는 BBMV에 關係되어 있고, Na^+ 依存性 輸送機轉이 關與한다³⁶⁾. 그러므로 葡萄糖과 磷酸의 吸收 減少는 brush-border membrane의 輸送體와 basolateral membrane의 Na^+ -pump 活性의 直接的인 損傷에 起因할 수 있다. 실제로 본 研究에서 BBMV에서의 葡萄糖과 磷酸의 吸收와 Na^+ - K^+ -ATPase 活性이 水銀處置에 의해 顯著히 沮害받음이 나타났다(Fig. 5~7). BBMV에서의 葡萄糖과 磷酸의 吸收 減少는 細胞膜에서의 葡萄糖과 磷酸의 輸送體 숫자의 減少 또는 移動率(turnover rate)의 減少에서 發生 할 수 있다. 또한 Na^+ - K^+ -ATPase 活性의 抑制는 Na^+ 依存性 輸送機轉의 原動力인 Na^+ 의 濃度障得을 일으켜 溶質들의 再吸收 減少를 惹起한다.

腎臟皮質切片에서의 PAH와 TEA의 蓄積能은 水銀處置 結果 顯著히 減少하였다(Fig. 8, 9). 이는 水銀處置가 basolateral membrane에서 PAH와 TEA의 移動低下를 招來하고 近位細尿管에서의 유기이온의 分泌能을 減少시킴을 反映한다. 이와 類似的한 結果로 Preuss³⁷⁾ 등이 쥐에게 高用量(24mg/kg)의 水銀注射 후 2시간 이내에 腎臟皮質切片에서 PAH와 TEA의 吸收가 減少됨을 報告한 바 있다.

본 研究 結果, 丹蔘藥鍼이 水銀으로 誘發된 家兔의 腎臟의 濾過率障得과 細尿管 機能障得을 有意하게 減少시키는 것으로 나타났다. 丹蔘藥鍼群은 水銀處置群에 비해 有意하게 絲球體濾過率을 維持하였고, Na^+ 의 排泄分率도 減少하였다. 또한 葡萄糖과

磷酸의 排泄分率 增加에 대한 丹蔘藥鍼의 防止效果는 brush-border membrane에서의 이들 溶質의 吸收 增加와 Na^+ -pump 活性 回復을 同伴하였다. 類似하게 細尿管 活性過程에서 分泌되는 유기이온들의 吸收 減少 또한 丹蔘藥鍼으로 防止되었다.

그리고 in vivo와 in vitro 實驗에서 反應性 酸素基가 水銀의 腎臟毒性을 일으키는 것으로 알려져 있으며³⁸⁻⁴⁰⁾, 본 研究에서 抗酸化劑인 DPPD가 水銀으로 惹起된 葡萄糖과 磷酸의 排泄 減少를 防止하는 것으로 나타나(Fig. 10, 11) 이는 丹蔘藥鍼이 水銀에 의한 急性腎不全을 防止하는 效果가 강력한 抗酸化作用에 起因된다는 것을 암시하고 있다.

이상에서 丹蔘藥鍼이 毒性物質에 의한 急性腎不全을 豫防 및 防止할 수 있을 것으로 보여지며, 丹蔘藥鍼의 抗酸化作用에 대한 精確한 機轉은 더욱 研究해야 될 것으로 생각된다.

V. 結 論

丹蔘藥鍼이 水銀으로 誘發된 急性腎不全 家兔의 腎細尿管에 미치는 影響을 實驗하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 丹蔘藥鍼은 絲球體濾過率 減少를 有意하게 防止하였다.
2. 丹蔘藥鍼은 Na^+ , 葡萄糖 및 磷酸의 排泄分率 增加를 有意하게 防止하였다.
3. 丹蔘藥鍼은 BBMV에서 葡萄糖과 磷酸의 吸收를 有意하게 增加시켰다.
4. 丹蔘藥鍼은 Na^+ - K^+ -ATPase 活性을 有意하게 增加시켰다.

5. 丹蔘藥鍼은 腎臟皮質切片에서 PAH와 TEA의 吸收를 有意하게 增加시켰다.

6. DPPD는 葡萄糖과 磷酸의 排泄分率의 增加를 有意하게 防止하였다.

VI. 참고문헌

1. 金完熙 外, 「韓醫學原論」, 서울 : 成輔社, 1978, pp. 107~111.
2. 郭霽春, 「黃帝內經素問校注語譯」, 서울 : 一中社, 1991, p.4.
3. 杜鎬京, 「東醫腎系學(上)」, 서울 : 東洋醫學研究院 出版部, 1993, pp. 3~11, 36~49, 85~97, 244.
4. 서울대학교 의과대학 내과학교실, 「내과학」, 서울 : 군자출판사, 1996, pp. 1058~1071.
5. 醫學教育研修院, 「家庭醫學」, 서울 : 서울대학교 출판부, 1997, p. 401.
6. 杜鎬京, 「臨床腎系學研究」, 서울 : 成輔社, 1995, pp. 294~297.
7. 李時珍, 「本草綱目(上)」, 北京 : 人民衛生出版社, 1982, pp. 758~760.
8. 姜순수 外, 「本草學」, 서울 : 永林社, 1991, pp. 419~420.
9. 辛民教, 「原色臨床本草學」, 서울 : 南山堂, 1986, pp. 372~374.
10. 李尙仁, 「本草學」, 서울 : 修書院, 1981, pp. 428~429.
11. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室, 「鍼灸學(上, 下)」, 서울 : 集文堂, 1991, p. 198, 489~490, 1457.
12. 李聖賢 外, “大戟煎湯液이 Gentamicin Sulfate로 誘發된 白鼠의 急性腎不全에 미치는 影響”, 大韓韓醫學會誌, Vol. 16, No. 1, 1995, pp. 319~338.
13. 金仁仙 外, “壯元湯 加味方 및 補中治濕湯 加味方이 Gentamicin Sulfate로 誘發된 白鼠의 急性腎不全에 미치는 效果”, 家庭醫學, Vol. 7, No. 2, 1991, pp. 168~192.
14. 趙東漢 外, “艾灸가 HgCl₂에 依한 白鼠腎不全에 미치는 影響”, 大韓針灸學會誌, Vol. 1, 1984, pp. 57~75.
15. 崔道永, “木通水鍼刺戟이 Gentamicin Sulfate로 誘發된 흰쥐의 急性腎不全에 미치는 影響”, 慶熙韓醫大論文集, Vol. 15, 1992, pp. 231~258.
16. 金秀美, “部位別 木通藥鍼이 Gentamicin Sulfate로 誘發된 白鼠의 急性腎不全에 미치는 影響”, 慶熙韓醫大論文集, Vol. 16, 1993, pp. 373~397.
17. 趙敏秀 外, “紅花子藥鍼이 水銀中毒에 의한 家兔의 急性腎不全에 미치는 影響”, 大韓鍼灸學會誌, Vol. 15, No. 1, 1998, pp. 503~513.
18. 徐正浩 外, “胡桃水鍼이 毒性物質에 의해 誘發된 家兔의 急性腎不全에 미치는 影響”, 大韓鍼灸學會誌, Vol. 16, No. 1, 1999, pp. 473~484.
19. 朴世貞 外, “丹蔘藥鍼이 Rhabdomyolysis에 의한 急性腎不全에 미치는 影響”, 大韓鍼灸學會誌, Vol. 16, No. 2, 1999, pp. 233~248.
20. Fiske, C. H., and SubbaRow, Y. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem 1925 ;66 : 375~400.
21. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram

- quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding. *Anal. Biochem.* 1976 ; 72 : 248~254.
22. 巢元方, 「諸病源候論」, 서울 : 大成出版社, 1992, pp. 692~693.
 23. 전국의과대학교수 역, 「오늘의 진단 및 치료」, 서울 : 한우리, 1999, pp.964~965.
 24. 전국의과대학 임상교수 편역, 「Color Atlas 임상의학」, 서울 : 한우리, 1999, p. 281.
 25. 大韓藥鍼學會 編譯, 「약침제제와 임상응용 (I)」, 서울 : 大韓藥鍼學會, 1997, pp. 1~5.
 26. 安榮基, 「經穴學叢書」, 서울 : 成輔社, 1991, pp. 362~363.
 27. 김경식 外, “丹蔘 藥鍼의 白鼠 腎臟機能에 미치는 影響”, 大韓鍼灸學會誌, Vol. 15, No. 1, 1998, pp. 297~303.
 28. 김상희 外, “丹蔘 藥鍼의 自然發證 高血壓 白鼠 血壓에 미치는 影響”, 大韓鍼灸學會誌, Vol. 16, No. 2, 1999, pp. 349~354.
 29. 林廷殷 外, “丹蔘藥鍼이 骨代謝에 미치는 影響”, 大韓鍼灸學會誌, Vol. 16, No. 4, 1999, pp. 365~376.
 30. 이호동 外, “丹蔘藥鍼液이 腎臟 近位細尿管細胞에서 酸化劑에 의한 磷酸의 移動抑制에 미치는 影響”, 大韓鍼灸學會誌, Vol. 17, No. 3, 2000, pp. 208~219.
 31. 林鍾國, 「鍼灸治療學」, 서울 : 集文堂, 1983, p. 164, 234~235, 367~368.
 32. 李世珍, 「常用穴臨床發揮」, 北京 : 人民衛生出版社, 1989, p. 458.
 33. Conner, E. A. and Fowler, B. A. Mechanisms of metal-induced nephrotoxicity. In *Toxicology of the Kidney* (J.B. Hook and R.T. S.Goldstein Ed.). 2nd ed. New York : Raven Press, 1993 : 437~457.
 34. Tayler, N. S. Histochemical studies of nephrotoxicity with sublethaldoses of mercury in rats. *Am J Pathol* 1965 ; 46 : 1~21.
 35. Trump, B. F., Berezesky, I. K., Sato, T., Laiho, K. U., Phelps, P. C., and DeClaris, N. Call calcium, cell injury, and cell death. *Environ Health Perspect* 1984 ; 57 : 281~287.
 36. Valtin, H. *Renal function: Mechanisms preserving fluid and solute balance in health.* 2nd ed. Boston : Little, Brown and Company, 1983 : 65~85.
 37. Preuss, H. G., Tourkantonis, A., Hsu, C.-H., Shim, P. S., Barzyk, P., Tio, F., and Shreiner, G. E. Early events in various forms of experimental acute tubular necrosis in rats. *Lab. Invest* 1975 ; 32 : 286~2924.
 38. Lund, B. O., Miller, D. M., and Woods, J. S. Mercury-induced H₂O₂ production and lipid peroxidation in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1991 ; 42 : S181~S187.
 39. Yonaha, M., Itoh, E., Ohbayashi, Y., and Uchiyama, M. Induction of lipid peroxidation in rats by mercuric chloride. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1980 ; 28 : 105~112.
 40. Benov, L. C., Benchev, I. C., and Monovich, O. H. Thiol antidotes effect on lipid peroxidation in mercury-poisoned rats. *Chem Biol Interact* 1990 ; 76 : 321~332.