

원저

## 冬蟲夏草藥鍼液이 家兔 腎皮質切片에서 細胞膜物質移動系の 機能障礙에 미치는 影響

천갑술 · 서정철 · 윤현민 · 송춘호 · 안창범 · 장경전

동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실

### Abstract

## Beneficial Effect of Cordyceps Sinensis Sacc. Extract (CSS) on Oxidant-Induced Membrane Transport Dysfunction in Rabbit Renal Cortical Slices

Cheon, Kap-Sool · Seo, Jung-Chul · Youn, Hyoun-Min · Song, Choon-Ho  
Ahn, Chang-Beohm · Jang, Kyung-Jeon

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

**Objective :** This study was undertaken to determine whether Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract exerts the protective effect against oxidant-induced alterations in membrane transport function in renal tubules.

**Methods :** Membrane transport function was estimated by examining alterations in p-aminohippurate (PAH) uptake in rabbit renal cortical slices. For induction oxidative stress, slices were treated with an organic peroxide cumene hydroperoxide for 60 min at 37°C. Cumene hydroperoxide inhibited PAH uptake in a time dependent manner.

**Results :** CSS at 0.5-5% concentrations prevented cumene hydroperoxide-induced inhibition of PAH uptake. CSS at 1% also attenuated LDH release and lipid peroxidation induced by cumene hydroperoxide. When slices were treated with 0.2 mM mercury chloride, PAH uptake was inhibited and lipid peroxidation was increased. These changes by mercury were significantly prevented by CSS.

**Conclusion :** These results suggest that CSS prevents oxidant-induced alterations in membrane transport function in rabbit renal cortical slices. Such protective effect of CSS may be attributed to inhibition of peroxidation of membrane lipid.

**Key Words :** Cordyceps Sinensis Sacc, antioxidant, membrane transport, renal cortical slices

· 접수 : 5월 7일 · 수정 : 5월 10일 · 채택 : 5월 19일  
· 교신저자 : 장경전, 부산시 진구 양정2동 산45(Tel : 051-850-8612)  
E-mail : kjang@hyomin.dongueui.ac.kr

## I. 서론

腎은 先天之本으로 膀胱과 表裏關係를 가지며, 體에 있어서는 骨이 되고, 그 華는 髮에 있으며, 耳에 開竅하고, 二陰을 司하며, 生長發育, 生食, 老衰 등의 機能을 主管한다<sup>1-4)</sup>. 또한 <素問·逆調論><sup>4)</sup>에 “腎者水臟, 主津液”이라 하였는데 이는 水液代謝를 調節하는 것으로, 腎의 水液代謝異常으로 나타나는 症狀는 小便不利, 小便不通, 浮腫, 關格, 虛勞, 風水, 尿濁 등이 있다<sup>2)</sup>.

酸素遊離基는 여러가지 腎臟疾患들의 病因으로 認定되고 있다<sup>5-8)</sup>. 다수의 研究에서 腎細尿管 細胞가 다양한 刺戟에 反應하여 酸素遊離基를 生産할 수 있음이 報告되었다<sup>9-12)</sup>. 生體 細胞膜들은 不飽和 脂肪酸을 많이 含有하고 있어 이는 反應性酸素遊離基에 의한 攻擊을 쉽게 받아 脂質의 過酸化가 發生한다<sup>13,14)</sup>. 酸素遊離基와 脂質의 過酸化는 細胞膜透過性을 增加시키고<sup>14,15)</sup>,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 와 같은 必須 蛋白質의 機能을 變化시킨다<sup>16)</sup>. 酸化劑는 腎臟 細尿管細胞에서 글루코스와 磷酸移動을 抑制시키고<sup>17)</sup>, 皮質切片에서 유기음이온인 p-aminohippurate(PAH) 蓄積을 抑制하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 變化는 抗氧化劑에 의해 防止될 수 있다<sup>18)</sup>.

冬蟲夏草(Cordyceps Sinensis Sacc)의 性味는, 甘溫平 無毒하며<sup>19,20)</sup>, 腎·肺 二經에 歸經하고, 主要效能은 滋肺補腎, 止咳化痰, 止血, 補虛損, 益精氣하여, 咳喘, 勞嗽痰血, 陽痿, 遺精, 腰膝酸痛, 自汗, 盜汗, 病後虛損 등을 다스린다<sup>19-22)</sup>.

最近 冬蟲夏草를 利用하여 豚鼠의 子宮平滑筋抑制作用, 氣管支舒暢作用, 腎上腺을 強化시킨다는 報告가 있었으며<sup>22)</sup>, 酸化劑에 의해 損傷된 腎臟近位細尿管細胞에 대한 實驗的 研究로 金 등<sup>23)</sup>은 補腎斂肺하는 胡桃藥液을, 李 등<sup>24)</sup> 金 등<sup>25)</sup>은 活血化瘀

하는 丹蔘藥液을, 金 등<sup>26)</sup>은 活血祛瘀하는 紅花藥液을 利用하여 토끼의 腎臟組織內에서 反應性酸素基에 대해 防禦的 效果를 발휘함을 밝혔으나 冬蟲夏草藥液에 관한 報告는 없었다.

이에 著者는 冬蟲夏草藥液이 腎臟細尿管에서 酸化劑에 의한 物質移動系の 機能障礙를 防止할 수 있는지를 確認하기 위하여, 家兔의 腎皮質切片에서 酸化劑에 의한 유기음이온인 PAH 蓄積 抑制作用에 대한 冬蟲夏草藥液의 影響을 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 실험 방법

### 1. 藥物의 製造

東義大學校 韓醫科大學附屬 韓方病院에서 購入한 冬蟲夏草 15g을 잘게 부순 후 methyl alcohol을 逆流시켜 4時間 동안 抽出하고, 總 抽出液은 壓力을 낮춘 상태에서 蒸發시켜 4.28g으로 만든 후, 抽出液을 生理食鹽水에 溶解시켜 사용하였다.

### 2. 切片製造

實驗材料로 體重 1.5~2 Kg의 New Zealand産 家兔를 犧牲시키고 재빨리 腎臟을 들어낸 후, 腎臟에서 가능한 빨리 많은 血液을 除去하기 위하여 140mM NaCl, 10mM KCl과 1.5mM  $\text{CaCl}_2$ 를 含有하고 있는 冷한 生理食鹽水를 腎動脈內로 즉시 注入하였다. Stadie-Riggs microtome으로 約 0.4~0.5mM 두께의 腎切片을 만들어, 130mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM  $\text{CaCl}_2$ , 5mM Na acetate, 5mM glucose와 20mM Tris/HCl(pH 7.4)를 含有한 차가운 Cross-Taggart溶液에 貯藏하였다.

### 3. 實驗概要

腎皮質切片에 100%酸素를 供給하면서, 37℃에

서 60분동안 中和된 Cross-Taggart溶液內에 있는 一定한 濃度の CHP나 或은  $HgCl_2(Hg)$ 로 미리 處理해 두었다. 酸化劑의 刺戟量에 따른 PAH 蓄積, LDH 流出, 脂質의 過酸化를 아래에 記述된 바에 따라서 測定하였다.

腎皮質內의 PAH蓄積은 金 등<sup>18)</sup>이 記述한 바와 같이 測定하였다.  $75\mu M$  14C-PAH를 包含하고 있는 中和된 Cross-Taggart溶液 4 ml가 들어 있는 20ml 試驗管內에 約 50mg(wet wt.)되는 腎皮質切片을 넣고, 100% 酸素를 供給하면서  $25^{\circ}C$ 의 Dubnoff metabolic shaker안에서 60분동안 培養시켰다. 培養 後에 즉시 試驗管에서 切片을 빨리 들어내어 물기를 닦고 무게를 測定한 다음 1N NaOH 속에 녹였다. 이들 溶解된 液과 incubation溶液을 適當量 취하여 Aquasol(New England Nuclear)을 含有하고 있는 Scintillation瓶에 피펫으로 따르고, 放射線 同位元素의 量을 Scintillation Counter (Packard Tricarb 300C)로 測定하여 切片內에 蓄積된 PAH의 量을 S/M(Slice/Medium)Ratio 즉, 溶液內의 濃度(mole/ml medium)에 대한 組織內 蓄積된 量의 比(mole/g wet tissue)로 나타내었다. LDH流出 測定法은 腎皮質切片을 2ml의 蒸溜水에 破碎시키고 이 破碎均質液을 5분동안 1,000 rpm으로 遠心分離시켰다. 이후 沈澱物은 버리고 上層液을 利用하였다. 上層液에서의 LDH活動성과 培養溶液은 LDH 測定道具로 利用하였다(Iatron Lab., Japan).

細胞膜脂質의 過酸化정도는 腎皮質의 malondialdehyde(MDA)量을 Uchiyama와 Mihara方法<sup>27)</sup>에 따라 測定하여 評價하였다. 간단히 說明하면 腎臟組織을 차가운 1.15% KCl (5% wt/vol)속에서 破碎하였다. 이 組織破碎 均質液 0.5 ml에 1%의 磷酸溶液 3 ml와 0.6% thiobarbituric acid 溶液 1ml를 添加하여 끓는 물에서 45分間 加熱하였다. n-butanol 4ml를 添加하여 완전히 섞은 다음

2,000g에서 20分間 遠心分離한 後, 上層液의 吸光度를 diode array spectrophotometer(分光光度計, H-ewelett Packard, 8452A)를 利用하여 535과 520nm에서 測定하였다. MDA값은 蛋白質 1mg當 nmoles로 表示하였다. 蛋白質濃度は Bradford<sup>28)</sup>의 方法으로 測定하였다.

#### 4. 化學物

Cumene hydroperoxide, thiobarbituric acid 와 Tris는 Sigma Chemical社 (St. Louis, MO)로부터 구입하였다. 14C-PAH와 Aquasol은 New England Nuclear社(Boston, MA)로부터 구입하였다. 모든 化學物들은 商業的等級이 높은 것을 利用하였다.

#### 5. 統計處理

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 0.05未滿일때 有意한 것으로 判定하였다.

### III. 실험 성적

#### 1. 腎皮質切片에서 時間에 따른 PAH蓄積

Fig. 1은 腎皮質切片에서 1mM CHP가 있을 때와 없을 때 時間에 따른 PAH 蓄積을 說明한 것이다. 蓄積은 60分까지 培養에 따라 增加하였다. 그러나 培養時間이 120분이 되었을때 蓄積은 60分일 때와 비슷했다. 따라서 이후의 實驗에서 蓄積은 60分까지 測定되었다. 1mM CHP가 培養溶液에 添加되었을때 PAH 蓄積은 培養 20分 後부터 有意하게 減少되었다(Fig. 1).

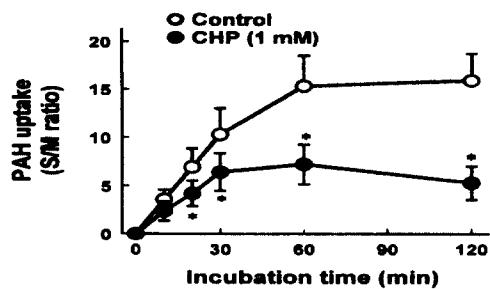


Fig. 1. Time course of PAH uptake in the presence or absence of 1 mM cumene hydroperoxide (CHP) in renal cortical slices. Slices were incubated for 60 min at 37°C. Data are mean SE of four experiments.

## 2. PAH蓄積에 대한 冬蟲夏草藥液의 影響

冬蟲夏草藥液이 酸化劑에 의한 PAH 蓄積 抑制를 防止할 수 있는지를 確認하기 위하여 切片을 多樣한 濃度の 冬蟲夏草藥液이 있는 CHP에 露出시켰다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 0.5~5%농도에서 冬蟲夏草藥液은 1mM CHP에 의해 抑制된 PAH 蓄積을 有意하게 防止하였다(Fig. 2).

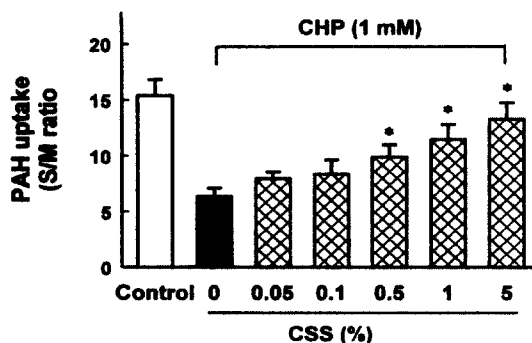


Fig. 2. Effect of Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract on cumene hydroperoxide (CHP)-induced inhibition of PAH uptake in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 1 mM CHP in a medium containing various concentrations of CSS for 60 min at 37°C. Data are mean SE of four experiments. \* $p < 0.05$  compared with CHP alone.

## 3. CHP에 의한 脂質의 過酸化에 대한 冬蟲夏草藥液의 影響

酸化劑에 의한 細胞損傷은 脂質의 過酸化와 關係가 있다고 알려져 있다<sup>31)</sup>. 腎皮質切片에서 酸化劑에 의한 細胞膜 物質移動系의 機能障礙는 脂質의 過酸化에 의해 調節된다고 報告되어 있다<sup>18)</sup>. 따라서, 冬蟲夏草藥液이 CHP에 의한 脂質의 過酸化를 防止할 수 있는지를 調査하였다. Fig. 3에서 볼 수 있듯이 1mM CHP가 脂質의 過酸化를 增加시켰고, 그 影響은 1%의 冬蟲夏草藥液添加에 의해 有意하게 遮斷되었다(Fig. 3).

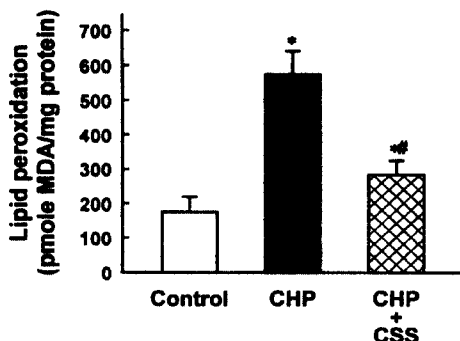


Fig. 3. Effect of Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract on cumene hydroperoxide (CHP)-induced lipid peroxidation in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 1% CSS in a medium containing 1 mM CHP for 60 min at 37°C and then lipid peroxidation was measured. Data are mean SE of four experiments. \* $p < 0.05$  compared with control; # $p < 0.05$  compared with CHP alone.

## 4. CHP에 의한 LDH流出에 대한 冬蟲夏草藥液의 影響

冬蟲夏草藥液이 酸化劑에 의한 非可逆的 細胞損傷을 防止할 수 있는지를 確認하기 위하여 CHP에 의한 LDH流出에 대한 影響을 調査하였다. 1mM CHP는 對照群 切片에서 LDH 流出을 2.45 ±

1.22%에서  $25.93 \pm 2.14\%$ 까지 증가시켰다. 그러나 1%의 冬蟲夏草藥鍼液이 있는 CHP에 處理된 切片에서는 LDH流出이  $7.80 \pm 0.59\%$ 까지 減少되었다 (Fig. 4).

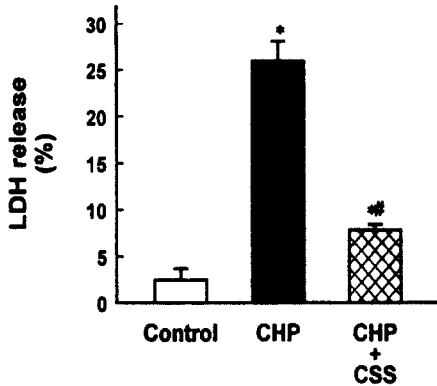


Fig. 4. Effect of Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract on cumene hydroperoxide (CHP)-induced release of lactate dehydrogenase (LDH) in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 1% CSS in a medium containing 1 mM CHP for 60 min at 37°C and then LDH release was measured. Data are mean SE of four experiments. \* $p < 0.05$  compared with control; # $p < 0.05$  compared with CHP alone.

### 5. 水銀鹽에 의한 PAH蓄積抑制과 脂質의 過酸化에 대한 冬蟲夏草藥鍼液의 影響

水銀은 反應性酸素基를 發生시켜 細胞損傷을 招來하는 것으로 알려져 있다<sup>30,31</sup>. 本研究에서는 水銀에 의해 抑制된 PAH蓄積과 脂質의 過酸化에 대한 冬蟲夏草藥鍼液의 影響을 調査하였다. 切片이 0.2mM 水銀鹽에 處理되었을 때는 PAH 蓄積의 S/M率이  $14.09 \pm 1.43$ 에서  $5.28 \pm 0.86$ 로 抑制되었다. 그러나 1%의 冬蟲夏草藥鍼液이 있을 때는 PAH 蓄積의 S/M率이  $10.35 \pm 1.48$ 로 回復되었다 (Fig. 5).

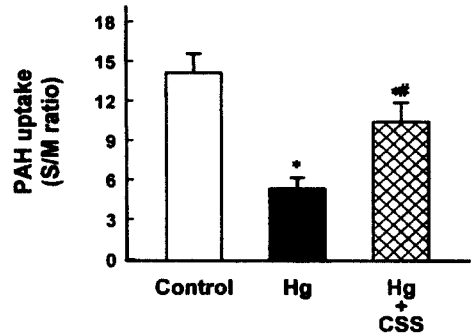


Fig. 5. Effect of Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract on mercury chloride (Hg)-induced inhibition of PAH uptake in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 1% CSS in a medium containing 0.2 mM Hg for 60 min at 37°C and then lipid peroxidation was measured. Data are mean SE of four experiments. \* $p < 0.05$  compared with control; # $p < 0.05$  compared with Hg alone.

類似하게 冬蟲夏草藥鍼液은 水銀에 의한 脂質의 過酸化를 防止하였다. 對照群 切片에서 脂質의 過酸化는  $166.39 \pm 45.95$  pmole MDA/mg protein이었

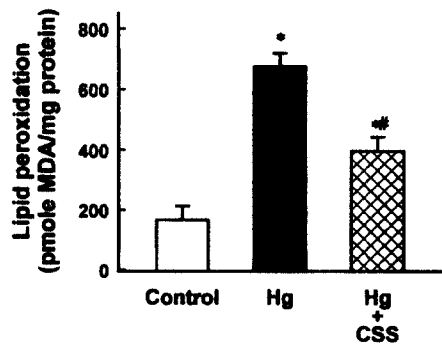


Fig. 6. Effect of Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract on mercury chloride (Hg)-induced lipid peroxidation in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 1% CSS in a medium containing 0.2 mM Hg for 60 min at 37°C and then lipid peroxidation was measured. Data are mean SE of four experiments. \* $p < 0.05$  compared with control; # $p < 0.05$  compared with Hg alone.

다. 그러나 0.2mM 水銀鹽에 의해 脂質의 過酸化는 673.92±44.98 pmole MDA/mg protein까지 增加되었고 이는 1% 冬蟲夏草藥液에 의해 395.03±46.93 pmole MDA/mg protein까지 抑制되었다 (Fig. 6).

### 6. CHP에 의한 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase活性抑制와 ATP枯渴에 대한 冬蟲夏草藥液의 影響

이 實驗의 마지막으로, 冬蟲夏草藥液이 CHP에 의한 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性低下와 ATP 枯渴을 防止할 수 있는지를 調査하였다. 1mM CHP는 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性을 45.39±4.93에서 18.76±2.95 M Pi/mg/hr로 抑制하였다. 그러나 切片을 1%의 冬蟲夏草藥液이 있는 酸化劑에 處理했을 때에는, 酵素의 活性抑制가 有意하게 減少하였다 (32.99±3.89 M Pi/mg/hr) (Fig. 7).

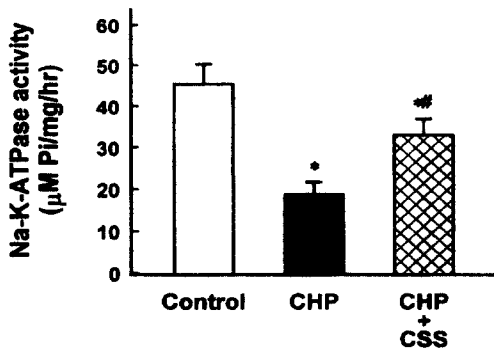


Fig. 7. Effect of Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract on cumene hydroperoxide (CHP)-induced inhibition of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity in microsomal fraction prepared from renal cortical slices. Microsomal fraction was incubated in the presence or absence of 1% CSS in a medium containing 1 mM CHP for 60 min at 37°C and then the enzyme activity was measured for 10 min. Data are mean SE of four experiments. \*p<0.05 compared with control; #p<0.05 compared with CHP alone.

CHP에 의해 誘發된 ATP 枯渴에 대한 調査에서도 비슷한 結果가 觀察되었다. 對照群 切片에서는 ATP量이 9.56±0.92 nmole/mg protein이었고 1mM CHP가 있을 때는 5.28±0.77 nmole/mg protein로 減少되었다. 그러나 切片이 1%의 冬蟲夏草藥液이 있는 酸化劑에 處理되었을 때는 ATP量이 7.89±0.55 nmole/mg protein로 有意하게 增加되었다 (Fig. 8).

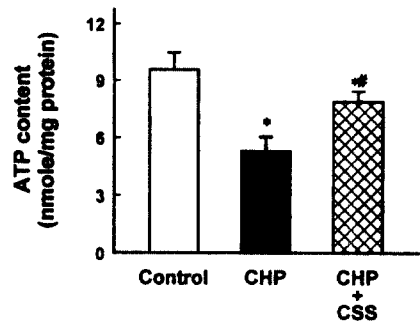


Fig. 8. Effect of Cordyceps sinensis Sacc. (CSS) extract on cumene hydroperoxide (CHP)-induced ATP depletion in renal cortical slices. Slices were incubated in the presence or absence of 1% CSS in a medium containing 1 mM CHP for 60 min at 37°C and then the enzyme activity was measured. Data are mean SE of four experiments. \*p<0.05 compared with control; #p<0.05 compared with CHP alone.

## IV. 高 찰

腎에 關聯하여 <素問·上古天真論><sup>4)</sup>에 “腎者主水, 受五臟六腑之精而藏之”, <素問·逆調論><sup>4)</sup>에 “腎者水臟, 主津液”이라 하였고, 主骨髓, 主納氣, 通於腦, 開竅於耳, 司二陰, 其華在髮하여 生長發育, 生食, 老衰 및 水液代謝를 調節하는데<sup>1-4)</sup>, 이는 西洋醫學의 內分泌係, 泌尿器系, 生殖器系, 思惟活動과 關聯된 中樞神經系 등의 機能을 廣範하게 包含한다<sup>1,2)</sup>.

水液代謝는脾胃의傳受와運化機能,肺의宣發하며水道를通調하는機能,腎의開闔을主管하며水量을排泄하는氣化作用에의해이루어지며이는三焦氣化라할수있다.三焦氣化는일정한熱에너지로水液의代謝,排泄를調節하는것으로,腎陽의推動에의해氣化作用이일어나는것이다.만약膀胱이腎陽의氣化作用을받지못하면小便不利,失禁,遺尿등의症이 나타나며,津液의吸收,輸布에있어서腎陽의氣化作用을받지못하면水腫등이發生하게된다<sup>1)</sup>.따라서腎陽虛나命門火衰는慢性腎炎에서,腎虛水泛은腎症性腎炎(nephrosonephritis)에서,腎氣不固는慢性腎炎,尿崩症,遺尿등의病變에서나타날수있다<sup>2)</sup>.

西洋醫學에서腎臟은老廢物の除去,水分均衡과電解質均衡의調節,滲透壓調節,酸鹽基平衡調節(acid-base balance),動脈血壓調節,赤血球生産調節機能등이있는데,排泄,調節및內分泌機能이腎臟의代表的인機能이며生體內環境의恒常性維持에重要한役割을한다<sup>2,33,34)</sup>.病變이있으면浮腫,蛋白尿,高血壓,尿血,貧血,減尿등이誘發되거나,惡心,乾嘔,頭痛,不嗜食,全身衰弱,尿濁등의症狀이 나타난다<sup>2)</sup>.

腎臟實質의損傷을일으키는機轉은免役의異常,血液凝固의異常,血管疾患,遺傳및代謝障礙,腎臟毒素,感染,尿管閉鎖,腫瘍등의8가지로分類할수있다.이중腎臟毒素은腎細胞에대한直接的인毒性을일으키는경우,腎細尿管內的沈澱또는結晶化로細尿管의閉鎖를招來하는경우,結晶이間質에沈着하여慢性炎症을일으키는경우,腎臟循環의障礙를招來하는경우,過敏反應을일으키는경우에損傷을惹起할수있다<sup>2)</sup>.

最近新鍼療法으로藥鍼療法은經絡學說의原理에依據하여藥物을選擇하여有效性分을抽出한다음有關한穴位와壓痛點或은反應點에注入하여刺鍼效果和藥物作用을結合하여生體의機能을

調節하고病理狀態를改善시켜疾病을治療하는鍼灸科의새로운領域으로활발한臨床應用과研究가이루어지고있다<sup>35-36)</sup>.

本實驗에서藥鍼療法으로使用된冬蟲夏草는,麥角菌科(Clavicipitaceae)에屬한冬蟲夏草菌의子座및거기에寄生하는蝙蝠蛾科의昆蟲인綠蝙蝠蛾의幼蟲死體등의複合體로서,性味는甘溫平無毒하고腎·肺二經에歸經하며<sup>19-22)</sup>,不飽和脂肪酸,飽和脂肪酸,槽蛋白,炭水化物등의成分을含有하고있다<sup>20)</sup>.主要效能은滋肺補腎,止咳化痰,止血<sup>19-21)</sup>,補虛損,益精氣하여<sup>22)</sup>,咳喘,勞嗽痰血,陽痿,遺精,腰膝酸痛,自汗,盜汗,病後虛損등을다스린다<sup>19-22)</sup>.藥理作用으로는抗菌作用,免疫增加作用,抗腫瘤作用,平喘및祛痰作用,抗炎作用등이있고,血液과心血管系統과脂質代謝,內分泌,中樞神經系統등에影響을준다<sup>20)</sup>.

最近實驗의研究로冬蟲夏草를利用하여豚鼠의子宮平滑筋抑制作用,氣管支舒暢作用,腎上腺을強化시킨다는報告가있었으며<sup>22)</sup>,쥐의腎臟5/6를切除한後發生한慢性腎機能衰竭에대해冬蟲夏草를利用하여生存年長및腎機能을改善시켰고<sup>20)</sup>,肺氣腫에대해서도治療效果가있다는報告가있었다<sup>20)</sup>.

實驗的인腎臟損傷에있어서酸素遊離基의重要性에대한認識이增加되고있음에도불구하고正確한機轉이나,腎臟細胞가그러한損傷을입게되는一連의狀況들이明確하게理解되지않고있다.酸化劑에의한細胞損傷은強度나透過性같은細胞膜의物理的인性質이細胞膜移動系或은酵素의機能과같은機能的인性質과相互關係가있을것이다<sup>37)</sup>.실제로,酸化劑는腎臟近位細尿管細胞에서LDH流出을增加시키고<sup>38,39)</sup>,글루코스와磷酸移動을抑制시키며<sup>17)</sup>,皮質切片에서유기음이온인PAH蓄積을減少시킨다고<sup>18)</sup>報告되어있다.金등<sup>18)</sup>은腎皮質切片에서酸化劑에의한LDH流出의

根本的인 機轉은 變更된 細胞膜機能系의 機轉과 다르다고 報告하였고, 酸化劑에 의한 LDH 流出이 脂質의 過酸化와는 關係가 없으나 酸化劑에 의한 PAH蓄積은 脂質의 過酸化에 의해 調節된다고 하였다.

이에 著者는 以上과 같은 理論的 根據를 토대로 冬蟲夏草藥液이 腎臟細尿管에서 酸化劑에 의한 物質移動系의 機能障礙를 防止할 수 있는지를 確認하기 위하여, 家兔의 腎皮質切片에서 酸化劑에 의한 유기음이온인 PAH 蓄積抑制 作用에 대한 冬蟲夏草藥液의 影響을 觀察하였다.

本 實驗에서 CHP가 PAH 蓄積을 抑制시켰고 脂質의 過酸化를 유발시켰던 것(Fig. 1, 3)은 金 등<sup>18)</sup>이 報告한 바와 一致하였다. CHP는 또한 ATP를 枯渴시키고  $Na^+-K^+-ATPase$  活性을 抑制시켰다(Fig. 7, 8). 이 結果들은 腎細尿管에서 다른 研究者들에 의해 觀察된 바와 一致하였다<sup>17,18)</sup>. 그러한 變化들은 腎細尿管細胞膜을 통해 PAH 蓄積과 같은 細胞膜物質移動系機能의 活性을 減少시킬 수 있다<sup>40)</sup>. 그러므로 腎皮質切片에서 酸化劑가 PAH 蓄積을 抑制시키는 機轉은 아마도 ATP 枯渴과  $Na^+-K^+-ATPase$  活性低下에 起因하는 것 같다. Andreoli 등<sup>17)</sup>은 腎細尿管 細胞에서 酸化劑에 의한 損傷은 ATP 枯渴과  $Na^+-K^+-ATPase$  活性低下를 招來하고 이는 正常 이온평형을 깨고 충분히 글루코스과 磷酸移動을 妨害한다고 報告하였다.

0.5~5% 濃度の 冬蟲夏草藥液은 CHP와 水銀에 의한 PAH蓄積抑制를 防止하였다(Fig. 2, 5). 이런 藥物에 의한 脂質의 過酸化는 冬蟲夏草藥液에 의해 防止되었다(Fig. 3, 6). 비록 酸化劑에 의한 細胞膜物質移動系의 機能障礙에 대한 正確한 機轉이 밝혀져야겠지만, Andreoli 등<sup>17)</sup>이 指摘한 바와 같이 ATP 枯渴과  $Na^+-K^+-ATPase$  活性 低下는 細胞膜物質移動系의 損傷에 있어 重要的 端緒가 될 수 있다. 따라서 만약 冬蟲夏草藥液이 酸化劑에

의한 ATP 枯渴과  $Na^+-K^+-ATPase$  活性 低下를 防止한다면, 그 藥物들은 酸化劑에 의한 PAH 蓄積抑制를 改善시킬 수 있을 것이다. 사실은 本 研究에서 이러한 變化들이 有意하게 冬蟲夏草藥液에 관련되어 있음을 보여 주었다. 腎皮質에서 酸化劑에 의한 PAH 蓄積 抑制와  $Na^+-K^+-ATPase$  活性 低下가 脂質의 過酸化와 關係가 있기 때문에<sup>18)</sup>, 冬蟲夏草藥液의 防止效果는 아마도 脂質의 過酸化를 防止에 起因하는 것으로 추측된다. 本 實驗에서 冬蟲夏草藥液은 CHP와 水銀에 의한 脂質의 過酸化를 防止하였다. 그러나 冬蟲夏草藥液이 어떤 機轉에 의해 抗酸化作用을 하는지는 더 研究해 보아야 할 것이다.

以上の 結果로 보아 冬蟲夏草藥液은 腎臟細尿管에서 酸化劑에 의한 物質移動系의 機能障礙를 防止할 수 있었으므로 腎臟疾患에 應用될 수 있을 것으로 생각된다.

## V. 결론

冬蟲夏草藥液이 家兔의 腎皮質切片에서 酸化劑에 의한 細胞膜物質移動系의 機能障礙에 미치는 影響을 調査하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 冬蟲夏草藥液은 CHP에 의한 PAH 蓄積 抑制를 防止하였다.
2. 冬蟲夏草藥液은 CHP에 의한 脂質의 過酸化를 防止하였다.
3. 冬蟲夏草藥液은 CHP에 의한 LDH 流出을 防止하였다.
4. 冬蟲夏草藥液은 水銀鹽에 의한 PAH 蓄積



抑制와 脂質의 過酸化를 防止 하였다.

5. 冬蟲夏草藥鍼液은 CHP에 의한  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活性 抑制와 ATP 枯渴을 防止하였다.

## VI. 참고문헌

1. 大韓東醫生理學會編. 東醫生理學. 서울:慶熙大學校出版局. 1993:318, 332, 324-6.
2. 杜鎬京. 東醫腎系學(上). 서울:東洋醫學研究院. 1992: 51-2, 310-1, 393-4, 435-6, 449-5.
3. 金完熙, 崔達永. 臟腑辨證論治. 서울:成輔社. 1990:371-2.
4. 洪元植. 精校黃帝內經素問. 서울:東洋醫學研究院出版部. 1983: 16, 39, 42, 57, 73, 109, 157, 303, 304.
5. Rehan A, Johnson KJ, Wiggins RC, Kunkel RG and Ward PA. Evidence for the role of oxygen free radicals in acute nephrotoxic nephritis. Lab invest. 1984: 51, 396-403.
6. Shah SV and Walker PD. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. Am J Physiol. 1988:255, F438-43.
7. Walker PD and Shah SV. Evidence of the role of hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. J Clin Invest. 1988: 81, 334-41.
8. Paller, M. S., and Neumann, T. V. Reactive oxygen species and rat renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation. Kid Int. 1991: 40, 1041-9.
9. Andreoli SP and McAteer JA. Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubular epithelial cells in vitro. Kid Int. 1990:38, 785-94.
10. Rovin BH, Wurst E and Kohan DE. Production of reactive oxygen species by tubular epithelial cells in culture. Kid Int. 1990: 37, 1509-14.
11. Guidet B and Shah SV. In vivo generation of hydrogen peroxide by rat kidney cortex and glomeruli. Am J Physiol. 1989: 256, F158-64.
12. Baud L. and Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. Am J Physiol. 1986: 251, F765-76.
13. Mead, J. F. Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes. In Free Radicals in Biology. edited by W. Pryor. New York:Academic Press Inc. 1976: 51-68.
14. Chance B, Sies H and Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol Res. 1979: 59, 527-605.
15. Arstila, A. U., Smith, M. A., Trump, B. F. Microsomal lipid peroxidation, Morphological characterization. Science. 1972:175, 530-3.
16. Kako K, Kato M, Matsuoka T and Mustapha A. Depression of membrane-bound  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity induced by free radicals and by ischemia of kidney. Am J Physiol. 19

- 88:254, C330-7.
17. Andreoli SP, McAteer JA, Seifert SA and Kempson SA. Oxidant-induced alterations in glucose and phosphate transport in LLC-PK1 cells, mechanisms of injury. *Am J Physiol.* 1993 :265, F37-84.
  18. Kim, Y.K. and Kim, Y.H. Differential effect of  $Ca^{2+}$  on oxidant-induced lethal cell injury and alterations of membrane functional integrity in renal cortical slices. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1996: 141, 607-16.
  19. 辛民教. 原色 臨床本草學. 서울:永林社. 1991:214-5.
  20. 新文豐出版公司. 新編 中藥大辭典. 臺北:新文豐出版公司. 1992:1789-96.
  21. 謝宗萬 主編. 全國中草藥匯編. 北京:人民衛生出版社. 1996:279-80.
  22. 責編組. 中藥辭海. 北京:中國醫藥科技出版社. 1993: 497-8.
  23. 金永海, 金甲成. 胡桃藥鍼液이 腎臟細胞에서 oxidant에 의한 損傷에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1996:17:9-20.
  24. 이호동, 윤현민, 장경전, 송춘호, 안창범. 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. 2000:17:208-18.
  25. 金尙範, 鄭智天. Oxidant에 의한 腎臟細尿管物質 移動系의 障礙에 대한 丹蔘의 效果. 大韓韓方病院內科學會誌. 1997:18:147-54.
  26. 金麗眞, 張慶田, 宋春浩, 安昌範. 紅花子藥鍼液이 Oxidant에 의한 家兔의 腎臟 $Na^{+}-K^{+}$ -ATPase에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1998:15: 493-502.
  27. Uchiyama M and Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978:86, 271-8.
  28. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976:72, 248-54.
  29. Farber JL, Kyle ME and Coleman JB. *Biology of disease: Mechanisms of cell injury by activated oxygen species.* *Lab Invest.* 1990:62, 670-9.
  30. Stacey NH and Kappus H. Cellular toxicity and lipid peroxidation in response to mercury. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1982:63, 29-35.
  31. Nath KA, Croatt AJ, Likely S, Behrens TW and Warden D. Renal oxidant response induced by mercury. *Kidney Int.* 1996:50, 1031-43.
  32. 文濬典, 安圭錫, 崔昇勳 共編. 東醫病理學. 서울:高文社. 1990:337-41.
  33. 서울대학교 의과대학편. 腎臟學. 서울:서울대학교출판부. 1985:31, 37, 255, 257.
  34. 이정수 外. 인체생리학. 서울:정담. 1997: 411-26.
  35. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室. 鍼灸學. 서울:集文堂. 1988:1457-67.
  36. 上海中醫學院. 鍼灸學. 北京:人民衛生出版社. 1977:312.
  37. Gardes-Albert M, Jore D and Ferradini C. Membrane lipid peroxidation: pulse and g-radiolysis in oxyradical research. In: *Membrane Lipid Oxidation*, edited by

- C Vigo Pelfery, vol. II. Boston:CRC Press. 1993:1-30.
38. Ueda N and Shah SVM. Role of intracellular calcium in hydrogen peroxide-induced renal tubular cell injury. *Am J Physiol.* 1992;263, F214-21.
39. Salahudeen AK. Role of lipid peroxidation in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced renal epithelial (LLC-PK1) cell injury. *Am J Physiol.* 1995;268, F30-8.
40. Haberle DA. Characteristics of p-aminohippurate transport in the mammalian kidney. In: *Renal Transport of Organic Substances*(eds by Greger R, Lang F and Silbernagl S). New York, Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 1981:189-209.