

胡桃藥鍼이 水銀에 의한 急性腎不全 家兔의 腎細尿管 物質移動系 障礙에 미치는 影響

이성한¹ · 김철홍² · 윤현민² · 장경전² · 안창범² · 송춘호¹

동의대학교 한의과대학 ¹경혈학교실, ²침구학교실

The Effect of Juglandis Semen Herbal Acupuncture on Alterations of Tubular Transport Function in Rabbits with Mercury-Induced Acute Renal Failure

Seong-Han Lee¹, Cheol-Hong Kim², Hyoun-Min Youn², Kyung-Jeon Jang²,
Chang-Beohm Ahn², Choon-Ho Song¹

Dept. of ¹Meridian & Acupoint, ²Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Dongeui University

Abstract

Objective: This study was undertaken to determine if Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA) exerts protective effect against alterations in membrane transport function in rabbits with mercury-induced acute renal failure.

Methods: Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shènshū(BL₂₃, Sinsu) for 7 days.

Results: The administration of Hg at a subcutaneous single dose of 10 mg/kg caused a reduction in GFR to 12% of the basal value and an increase in fractional Na⁺ excretion to 8.9-fold, indicating generation of acute renal failure. When JSA were given for 7 days prior to Hg administration, such changes were significantly attenuated. The fractional excretion of glucose and phosphate was increased to approximately 102- and 35-fold, respectively, in rabbits treated with Hg alone. The increase in rabbits treated with Hg following JSA are significantly lower than that in animals treated with Hg alone. 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. Such changes were prevented by JSA.

Conclusion: These results indicate that the administration of Hg causes impairment in reabsorption of solutes in the proximal tubule via the generation of reactive oxygen species. JSA provides the protection against the Hg-induced impairment in proximal reabsorption, and its effect may be resulted from its antioxidant action.

Key words: Juglandis Semen, herbal acupuncture, tubular transport function, acute renal failure

· 교신저자: 송춘호, 부산광역시 부산진구 양정2동 산 45-1 동의대학교
한의과대학 경혈학교실, Tel. 051-850-8643,
Fax. 051-853-4036, E-mail: chsong@deu.ac.kr

· 투고: 2006/02/27 · 수정: 2006/03/07 · 채택: 2006/03/22

I. 緒 論

急性腎不全은 絲球體濾過率의 급격한 감소로 인하여 일어나는 체내의 수분과 용질 및 질소 노폐물 등이 축적되어 나타나는 임상증후군으로 그 원인이 다양할 뿐 아니라 豫後와 治療方法도 각기 다르다^{1,2)}. 急性腎不全의 발생기전은 명확하지 않으나 腎虛血이나 腎毒素 損傷에 의한 腎臟內 혈관수축과 腎血流量 감소로 絲球體濾過率이 저하되기 때문인 것으로 알려져 있다³⁾.

水銀(Hg)은 인간과 동물의 腎毒性 물질로 잘 알려져 있고, 水銀에 노출되면 광범위한 腎臟損傷을 유발하는데 특히 近位細尿管에서 많이 나타난다⁴⁾. 近位細尿管은 絲球體에서 여과된 유기물질들을 능동적으로 재흡수하는 중요한 부위이기 때문에 近位細尿管 細胞損傷은 포도당이나 아미노산과 같은 유기물질들의 재흡수 장애를 일으킨다는 보고가 있다⁵⁾.

Lund 등⁶⁾은 시험관내 실험과 생체실험에서 水銀이 腎臟 미토콘드리아의 수소과산화 형성을 증가시킨다고 보고했고, 또 다른 연구⁷⁾에서 脂質過酸化가 水銀에 의한 腎臟細胞 損傷誘導에 있어서 주된 역할을 할 것으로 추측하였으며, 따라서 항산화기능을 가진 약물은 水銀에 의한 急性腎不全을 방지한다고 하였다.

胡桃는 胡桃科 植物 胡桃의 種仁으로 甘溫無毒하고 腎·肺經에 歸經한다. 腎臟을 補하여 腰膝을 强健케 하고 또한 補腎納氣하여 定喘시키는 효능이 있어 腎虛腰痛이나 肺腎虛喘을 치료한다^{8,9)}.

金 등¹⁰⁾은 胡桃藥鉞液이 腎臟組織에서 oxidant에 의한 細胞損傷과 脂質의 過酸化를 방지하는 효과가 있다고 하였고, 李 등¹¹⁾은 胡桃藥鉞液이 토끼 肝細胞에서 강력한 抗酸化作用을 나타낸다고 보고하였다.

이에 胡桃藥鉞이 急性腎不全 家兎의 細尿管機能에 미치는 影響을 알아보기 위해 絲球體濾過率, Na⁺, 葡萄糖 및 磷酸의 排泄分率, 세뇨관강막에서 葡萄糖과 磷酸의 移動, Na⁺-K⁺-ATPase 活性의 변화, 腎臟皮質切片에서 有機이온의 移動, 水銀에 의한 腎皮質 細胞損傷 및 脂質過酸化에 대한 影響을 측정하였던 바 有意한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 動物

實驗動物은 체중 1.5~2.5 kg의 뉴질랜드 흰색 家兎를 구입하여 사육실에서 2週日間 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 藥材

實驗에 사용한 胡桃는 충북 영동산 胡桃를 동의대학교 부속한방병원에서 購入해서 精選하여 사용하였다.

2. 方法

1) 胡桃藥鉞液(JSA) 제조

胡桃肉 500 g을 粉末로 만들어 증류수 2 l 속에 넣고 8시간 동안 煎湯하여 여과한 후 40℃에서 減壓濃縮하여 35 g(회수율 7%)을 얻었다. 여기에 saline液을 加하고 10 N NaOH로 pH 6~7이 되게 조절하여 全量이 1,000 ml 되게 한 다음 이를 低溫에서 24시간 放置한 후, nucleopore filter paper (0.45μm, 직경 25 mm, U.S.A.)로 여과하고 加壓滅菌하여 藥鉞液을 만들어 使用하였다.

2) 水銀鹽化合物에 의한 腎毒性 誘發 및 藥鉍 注入

實驗動物은 水銀鹽化合物(10 mg/kg)을 식염수에 稀釋한 후 1回 皮下注射하여 腎毒性을 誘發하였다. 胡桃藥鉍液의 效果를 試驗하기 위해서 家兔 6마리를 1群으로하여 水銀鹽化合物을 注入하기 7일전부터 1日 1回 0.1% 胡桃藥鉍液 0.5 ml로 양쪽 腎俞(BL₂₃)를 刺戟하였다. 實驗動物은 水銀만 處置한 群과 胡桃藥鉍으로 刺戟한 후 水銀을 處置한 實驗群으로 나누었다. 水銀鹽化合物 注入 24時間 後 24時間동안 小便을 採取하였고, 家兔의 귀 靜脈에서 血液을 採取하였다.

3) 血液 및 尿分析

採取한 小便 및 血液에서 creatinine (Iatron Lab., Japan), 葡萄糖 (Iatron Lab., Japan), 磷酸, Na⁺ (flame photometer, Beckman)을 分析하였다. Creatinine clearance를 통해서 絲球體 濾過率(GFR)을 계산하였고, 各 物質의 排泄分率은 標準方式으로 산정하였다.

4) 腎皮質 切片 마련

家兔를 犠牲시킨 후 재빨리 腎臟을 꺼내어 되도록 많은 피를 除去하기 위해서 140 mM NaCl, 10 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂를 含有한 冷藏된 等張性 食염수용액을 腎動脈에 관류시켰다. Stadie-Riggs microtome으로 자른 얇은 腎皮質切片(0.4-0.5mm두께)을 130 mM NaCl, 10 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂, 5 mM Na acetate, 20 mM Tris/HCl(pH7.8)로 구성된 冷한 Cross-Taggart 溶液에 貯藏하였다.

5) 腎皮質 切片에서 有機이온의 變化

水銀 혹은 食염수를 주사한 동물들을 48시간 뒤에 죽인 다음 신장을 재빨리 꺼내어 처리하

였다¹²⁾. 4 ml의 고정된 Cross-Taggart 배지를 함유한 20 ml 비이커에 약 50 mg(wet wt)의 절편들을 넣어 ¹⁴C-labeled기질(Amersham, Arlington heights, IL)에서 배양하였다. 사용된 기질 농도는 75 μM p-aminohippurate(PAH), 10 μM tetraethylammonium(TEA)이다. 배양은 100% 산소압, 25 °C에서 60분 동안 Dubnoff metabolic shaker에서 시행하였다. 배양 후 조직절편들을 비이커에서 꺼낸 다음 표시 후 무게를 달고 1 N NaOH에 용해시켰다. 배양배지와 용해된 조직 정제들을 Aquasol(New England Nuclear)을 함유한 scintillation vial에 피펫으로 옮겼다. 그리고 liquid scintillation counter (Packard Tricarb 300C)를 사용하여 방사능을 측정하였다. 신피질에서 유기이온의 섭취는 표본대 배지비(S/M) 즉, 조직 혼합물의 농도(mole/g wet tissue) : 배지에서 나뉜 농도(mole/ml medium)로 표현하였다.

6) 세노관강막의 마련

세노관강막 (Brush-border membrane vesicles, BBMV)은 Percoll-밀도구배 遠心分離와 Mg²⁺-沈降反應 方法^{13,14)}에 의해 分離하였다. 分離된 vesicles는 vesicle buffer에 蛋白質 濃도가 6 mg/ml되게 부유시켜 -70 °C에서 使用될 때까지 貯藏하였다. 蛋白質은 r-globulin을 標準으로 使用하여 Bradford의 方法¹⁵⁾으로 測定하였다.

7) 세노관강막에서의 物質移動 實驗

vesicles에 의한 기질의 移動은 빠른 濾過技法에 의해 測定하였다. 簡略하게 說明하면 反應은 膜胞를 25 °C에서 50 μM [¹⁴C]-D-glucose 또는 ³²P를 含有한 배양배지(1:10으로 稀釋된 膜胞 懸濁液)에 添加함으로써 開始되었다. 豫定된 時間에 100 μl를 取하여 증류수에 하룻밤동

안 담겨진 millipore filter (HAWP, 0.45 μ m)를 통해서 진공상태에서 재빨리 濾過시켰다. 濾過液은 기질이 없는 배양배지와 同一한 構成으로 이루어진 5 ml의 冷한 정지용액으로 씻어서 1.0 ml의 methoxyethanol에서 溶解하였다. 10 ml scintillation cocktail을 添加한 후 膜胞에 의해 吸收된 放射能量은 liquid scintillation spectrometry (Packard Tricarb 300C)로 測定하였다. 세노관강막에 放射能 기질의 非特異的 結合은 0.1% deoxycholate와 放射能 표지된 기질을 含有한 運搬 溶液에서 膜胞을 배양함으로써 測定하였다. 모든 放射能 混合物은 Amersham International (Amersham, U.K.)로부터 얻었다.

8) Na⁺-K⁺-ATPase 活性 測定

腎臟組織에서 microsome 分割은 腎臟皮質에서 分離하였다. microsome 分割의 ATPase 活性은 3 mM ATP (Sigma, U.S.A.)를 기질로 含有한 적절한 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 100 mM Na⁺, 20 mM K⁺, 3 mM Mg²⁺, 2 mM EDTA, 40 mM imidazole (pH7.4)로 構成된 溶液속에서 測定하였다. Mg-ATPase 活性은 總 ATPase 活性을 測定하는 溶液內에서 K를 除外하고 대신 1 mM ouabain을 添加하여 測定하였으며, 總 ATPase 活性과 Mg-ATPase 活性의 差異를 Na-K-ATPase 活性으로 하였다. 37 °에서 전배양 5分 後에 microsome 分割을 添加하여 反應을 始作하였으며, 10分 後에 冷한 6% percholic acid를 添加하여 反應을 停止시켰다. 混合物을 3,500 g에서 遠心分離한 후 無機磷酸의 濃度를 Fiske and SubbaRow 方法¹⁶⁾으로 測定하였다.

9) 腎皮質 切片에서의 LDH방출과 Lipid peroxidation 측정

LDH유출을 測定하기 위해서 腎皮質 切片을 2 ml의 증류수에 均등하게 섞고 組織 均質液은 5分동안 1,000 rpm으로 遠心分離 하였다. pellet은 버린 후 上層液만 사용하였다. LDH 活性度는 上層液에서 측정하였고 배양배지로 LDH kit (Iatron Lab., Japan)를 사용하였다.

細胞膜 脂質의 過酸化 정도는 그 산물인 MDA (malondialdehyde) 량을 Uchiyama와 Mihara의 방법¹⁷⁾으로 測定하였는데, 腎臟組織을 차가운 1.15% KCl 용액 (5% wt/vol) 속에서 破碎한 후, 이 組織破碎均質液 0.5 ml에 1% 磷酸 용액 3 ml와 0.6% thiobarbituric acid 용액 1 ml를 첨가하여 끓는 물에서 45分간 加熱하고, n-butanol 4 ml를 첨가하여 완전히 섞은 다음 2,000 g에서 20分간 遠心分離한 후, 上層液의 吸光度를 536과 520 nm에서 測定하였다. MDA 값은 蛋白質 1 mg당 nmoles로 표시하였고, 蛋白質濃度는 Bradford의 方法¹⁵⁾으로 測定하였다.

10) 統計分析

成績은 平均值±標準誤差로 나타내었으며, 平均值간의 有意性은 Student's t-test를 使用하여 檢定하였고, p값이 0.05미만일 때 有意한 것으로 判定하였다.

III. 實驗結果

1. 絲球體濾過率의 變化

絲球體濾過率은 水銀을 處置하기 前 1.99±0.33 l/day/kg이었으나 處置한 後 0.24±0.07 l/day/kg로 12%까지 急速하게 減少하였다. 實驗群에서는 1.55±0.22 l/day/kg까지 上昇하여

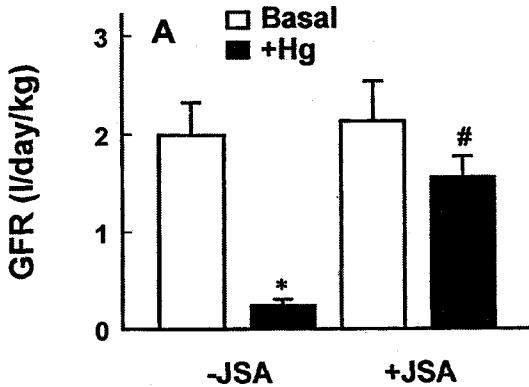


Fig. 1. Changes in glomerular filtration rate(GFR) 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA)

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shēnshū(BL₂₃) for 7 days.

Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value

: p<0.05 compared with Hg alone

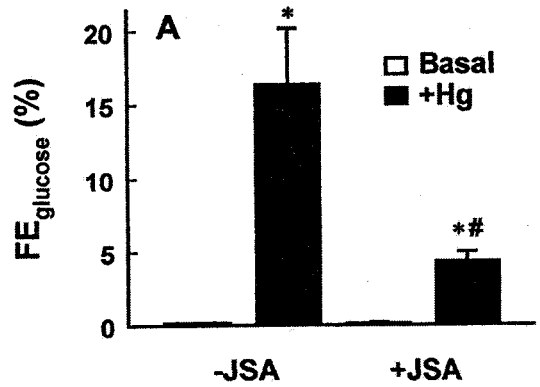


Fig. 3. Changes in fractional excretion of glucose 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA)

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shēnshū(BL₂₃) for 7 days.

Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value

: p<0.05 compared with Hg alone

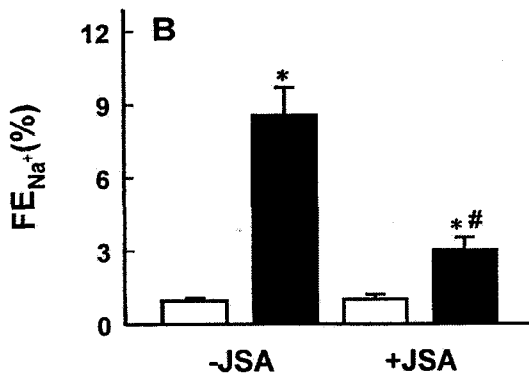


Fig. 2. Changes in fractional excretion of Na⁺ 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA)

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shēnshū(BL₂₃) for 7 days.

Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value

: p<0.05 compared with Hg alone

水銀만 處置한 群에 비해 有意한 增加가 있었다(Fig. 1).

2. Na⁺ 排泄分率의 變化

Na⁺ 排泄分率は 水銀을 處置하기 前 0.96±0.11%이었으나 處置한 後 8.56±1.13%로 增加하였다. 實驗群에서는 3.94±0.98%로 水銀만 處置한 群에 비해 有意한 減少가 있었다(Fig. 2).

3. 葡萄糖 排泄分率의 變化

葡萄糖의 排泄分率は 水銀을 處置하기 前 0.16±0.01%이었으나 處置한 後 16.34±3.82%로 102배 增加하였다. 實驗群에서는 4.28±0.68%로 水銀만 處置한 群에 비해 有意한 減少가 있었다(Fig. 3).

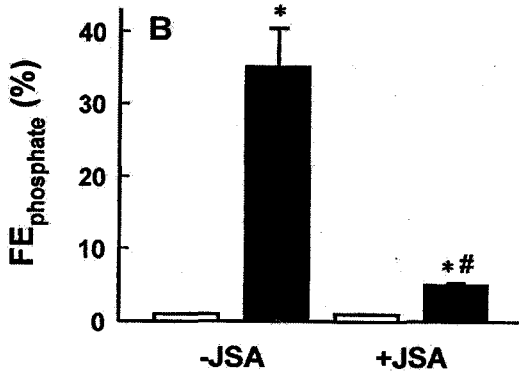


Fig. 4. Changes in fractional excretion of phosphate 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA)

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shènsū(BL₂₃) for 7 days. Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value

: p<0.05 compared with Hg alone

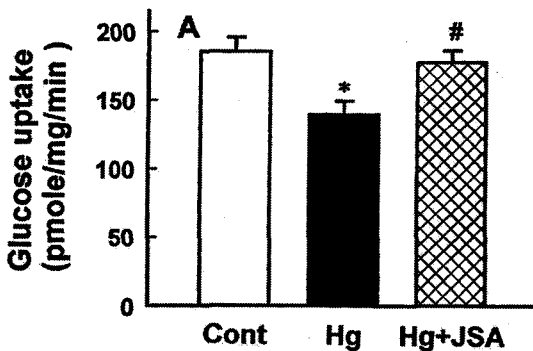


Fig. 5. Changes in uptakes of glucose by brush-border membrane vesicles (BBMV) 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA)

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shènsū(BL₂₃) for 7 days. Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value

: p<0.05 compared with Hg alone

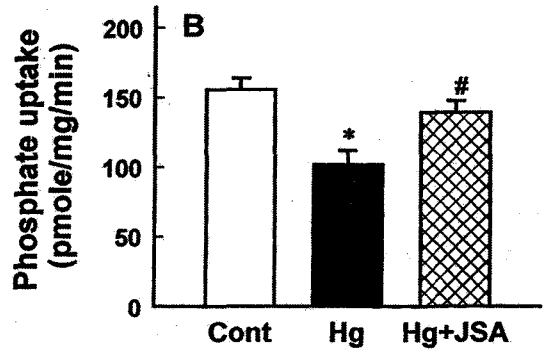


Fig. 6. Changes in uptakes of phosphate by brush-border membrane vesicles (BBMV) 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA)

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shènsū(BL₂₃) for 7 days. Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value

: p<0.05 compared with Hg alone

4. 磷酸 排泄分率의 變化

磷酸의 排泄分率は 水銀을 處置하기 前 1.01 ±0.02%이었으나 處置한 後 35.03±5.32%로 약 35배 增加하였다. 實驗群에서는 4.96±0.32%로 水銀만 處置한 群에 비해 有意한 減少가 있었다(Fig. 4).

5. 세노관강막에서 葡萄糖과 磷酸의 移動

세노관강막에서 葡萄糖의 移動은 水銀을 處置하기 前 185.36±10.35 pmole/mg protein/min 이었으나 處置한 後 139.25±9.93 pmole/mg protein/min로 減少하였다. 實驗群에서는 177.38 ±8.48 pmole/mg protein/min로 水銀만 處置한 群에 비해 有意하게 增加하였다(Fig. 5).

세노관강막에서 磷酸의 移動은 水銀을 處置

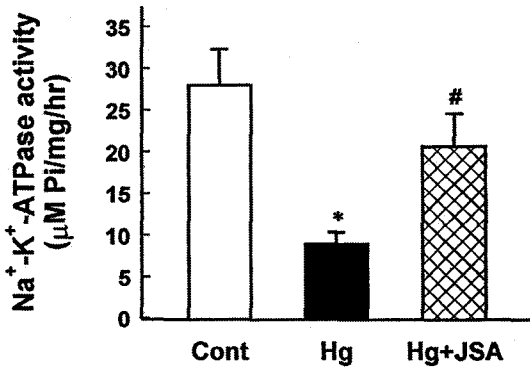


Fig. 7. Changes in Na⁺-K⁺-ATPase activity in renal microsomal fraction 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA)

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shēnshū(BL₂₃) for 7 days. Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the respective basal value

: p<0.05 compared with Hg alone

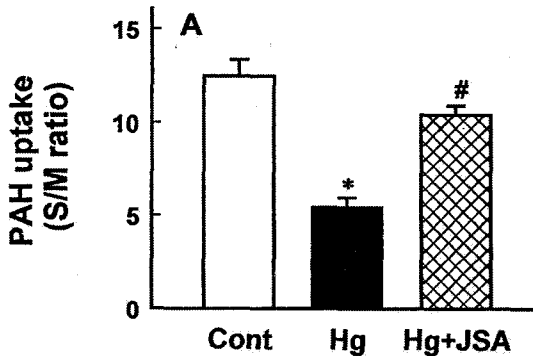


Fig. 8. Changes in uptakes of PAH by renal cortical slices 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA).

Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shēnshū(BL₂₃) for 7 days. Data are mean±SE of six experiments.

* : p<0.05 compared with the control

: p<0.05 compared with Hg alone

하기 前 155.25±8.49 pmole/mg protein/min이었으나, 處置한 後 101.83±10.24 pmole/mg protein/min으로 減少하였다. 實驗群에서는 138.92±8.48 pmole/mg protein/min로 水銀만 處置한 群에 비해 有意하게 增加하였다(Fig. 6).

6. Na⁺-K⁺-ATPase 活性의 變化

Na⁺-K⁺-ATPase 活性은 水銀을 處置하기 前 27.93±4.35 µ M Pi/mg protein/hr이었으나 處置한 後 8.89±1.39 µ M Pi/mg protein/hr로 減少하였다. 實驗群에서는 20.56±3.92 µ M Pi/mg protein/hr로 水銀만 處置한 群에 비해 有意하게 增加하였다(Fig. 7).

7. 腎皮質 切片에서 有機이온의 移動變化

腎皮質 切片에서의 PAH移動에 있어서 S/M비는 水銀을 處置하기 前 12.45±0.88이었으나 處置한 後 5.39±0.54까지 억제되었다. 實驗群에서는 10.38±0.52으로 水銀만 處置한 群에 비해 有意하게 增加하였다(Fig. 8). TEA移動에 있어서 S/M비는 水銀을 處置하기 前 17.39±0.68이었으나 處置한 後 8.35±0.85까지 억제되었고, 實驗群에서는 14.28±1.69로 水銀만 處置한 群에 비해 有意하게 增加하였다(Fig. 9).

8. 水銀에 의한 腎皮質 細胞損傷 및 脂質 過酸化에 대한 영향

LDH유출은 水銀을 處置하기 前 2.03±0.15%이었으나 處置한 後 15.28±2.94% 까지 增加하였다. 實驗群에서는 5.32±0.98%로 水銀만 處置한 群에 비해 有意하게 減少하였다(Fig. 10). 脂質過酸化는 水銀을 處置하기 前 129.48±15.38 pmole MDA/mg protein이었으나 處置한 後 593.55±37.84 pmole MDA/mg protein까지 增

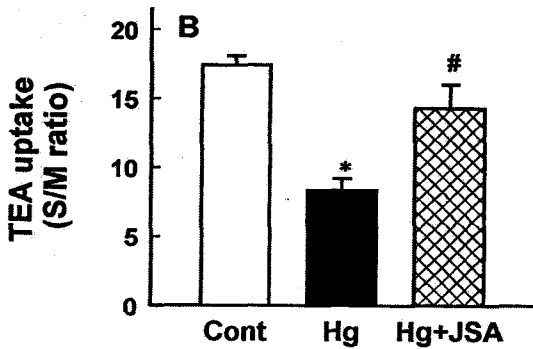


Fig. 9. Changes in uptakes of TEA by renal cortical slices 24 hr following administration of mercury chloride in rabbits with or without Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA). Nephrotoxicity was induced by subcutaneous administration of Hg(a single dose of 10 mg/kg) and JSA was performed at both sides of Shēnshū(BL₂₃) for 7 days. Data are mean±SE of six experiments. * : p<0.05 compared with the control # : p<0.05 compared with Hg alone

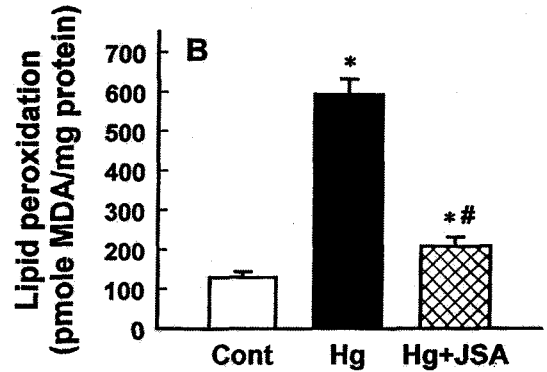


Fig. 11. Changes in lipid peroxidation in renal cortical slices exposed to Hg *in vitro*. Slices were exposed to 0.2 mM HgCl₂ for 60 min at 37 °C in the presence or absence of Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA), and then lipid peroxidation were measured.

Data are mean±SE of six experiments
* : p<0.05 compared with the control
: p<0.05 compared with Hg alone

加하였다. 實驗群에서는 209.45±22.75 pmole MDA/mg protein으로 水銀만 處置한 群에 비해 有意하게 減少하였다(Fig. 11).

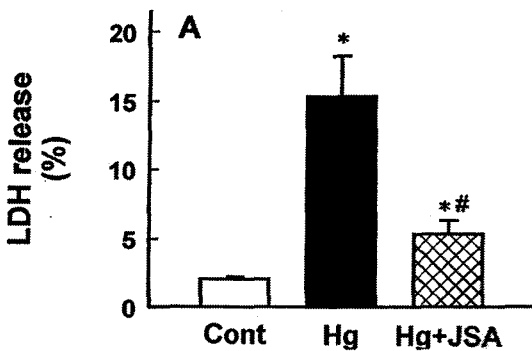


Fig. 10. Changes in LDH release in renal cortical slices exposed to Hg *in vitro*. Slices were exposed to 0.2 mM HgCl₂ for 60 min at 37 °C in the presence or absence of Juglandis Semen herbal acupuncture (JSA), and then LDH release were measured.

Data are mean±SE of six experiments
* : p<0.05 compared with the control
: p<0.05 compared with Hg alone

IV. 考 察

胡桃는 胡桃科에 속한 落葉喬木인 胡桃나무의 性숙한 果實을 건조한 것으로, 가을에 채취하여 去殼하고 晒乾한 種仁이다. 性味는 甘溫 無毒하고 腎·肺經에 歸經하며 補腎固精, 溫肺定喘, 潤腸하는 效能이 있어, 腎虛喘嗽, 腰痛脚弱, 陽痿, 遺精, 小便頻數, 大便燥結 등을 治療한다(8,9,18)

우리가 攝取하는 飲食物은 體內에서 energy를 生産하는 동시에 老廢物을 生成한다. 이러한 老廢物은 주로 腎臟과 大腸을 通하여 排出되는데 腎臟에서는 老廢物을 尿의 形態로서 體外로 排泄하는 바, 腎臟은 尿의 形成을 通하여 體內的 體液의 量, 滲透質濃度, 酸鹽基平衡, 內

的環境의 恒常性 등을 維持시키는 중요한 臟器이다. 이외에도 腎臟은 호르몬 또는 이와 關聯되는 物質을 生成하여 직접 또는 간접으로 他臟器에 影響을 주기도 하고 받기도 한다^{1,2)}.

腎臟은 韓醫學의으로는 腎과 비유될 수 있는데, 韓醫學의 臟象觀에 의하면, 腎은 沈靜과 排泄에 관한 機能을 한다. 즉 濾過 分泌하고 排泄하며 精을 貯藏하고 施泄하는 作用 등의 內分泌를 包括하는 機能을 하는데, 人體의 體液代謝를 調節하고 肺와 더불어 協助하여 納氣하며 生體의 基本物質인 精을 藏하고 骨과 髓를 主한다^{1,2)}. 細尿管은 길이 약 25~60mm의 가느다란 細管인데, 보우만氏 주머니로부터 腎盂까지 奇妙한 形態를 지니고 있다. 이 細尿管은 構造와 그 機能으로 近位細尿管, 헨레氏 고리, 遠位細尿管, 集合管 등으로 나눈다. 近位細尿管은 再吸收過程이 가장 旺盛한 곳인데, 葡萄糖, 磷酸, 아미노산, 尿酸, 蛋白質 및 칼륨 등은 거의 再吸收하고, 濾過된 NaCl과 水分은 70%를 等張의 再吸收하며, 수소이온, 암모니아 등을 排泄한다. 헨레氏 고리는 腎髓質組織의 滲透壓을 높여 滲透質濃度調節의 基盤을 마련하는데, 尿를 稀釋시키고 濃縮시킨다. 遠位細尿管은 濾過된 NaCl일부를 再吸收하고, 칼슘排泄의 능동적 調節作用을 한다. 集合管은 遠位細尿管에서 稀釋된 尿를 모아 腎盂로 排出한다^{1-3,19-22)}.

急性腎不全이란 廣義로는 腎前性, 腎性, 腎後性 등의 原因으로 誘發되는 모든 境遇의 急激한 腎機能障礙를 말하지만, 狹義로는 腎臟外的 要因, 즉 血力學的이나 機械的 要因의 除去로 好轉되지 않는 腎機能의 急激한 障礙를 말하며, 大部分의 境遇 24時間 尿량이 400 ml 이하의 乏尿를 나타내지만 2,000 ml 이상의 多尿나 100 ml 이하의 無尿를 보이기도 하므로 尿량은

急性腎不全의 診斷에 重要한 意義를 갖지 않고, 體內 窒素 老廢物의 漸進的인 蓄積에 의한 進行性 高窒素血症이 確實한 證據가 된다^{1-3,19-22)}.

急性腎不全은 典型的 臨床經過에 따라 나타나는 小便의 異常과 이에 隨伴되어 나타나는 症狀를 참작하여 볼 때 東洋醫學에서는 關格, 小便不通, 尿不利, 浮腫, 虛損 등의 範疇에 屬하며, 그 治療 方法은 辨證論治에 立脚하여 祛邪, 通泄, 宣導, 清熱解毒, 利水泄濁, 活血化瘀 등이 基本的 治法이다^{1,2)}.

藥鍼療法은 韓方 基本理論을 토대로 經絡經穴의 治療作用과 藥物의 藥理作用을 併用시켜 形成된 一種의 獨特한 療法인 만큼, 그 效能상 特徵은 이 療法에 內在되어 있는 鍼灸學의 效能과 本草學의 效能의 長點이 同時에 상승적으로 발현된다는 點이다. 鍼灸學의 效能이란 內服藥이 갖는 消化吸收 科程에서의 長時間 소요, 有效 成分의 消失, 服用의 不便함을 克服하고 經絡經穴을 刺戟함으로써 內臟과 病巢에 直接 傳達하게 하는 것인 바 最少量의 藥物로 最大의 效果를 기대할 수 있다는 利點이 있다. 本草學의 效能이란 韓藥이 지닌 天然物로서의 安定성을 그대로 살린 채 韓藥의 效能을 發揮케 하는 것이다. 그러므로 藥鍼의 效能은 鍼術의 신속성과 韓藥의 安定성과 有效性이 人體 內에서 상승작용을 하며 直接的으로 나타나는 데 이러한 效能은 모든 疾患에서 發揮되지만 특히 慢性 難治病, 成人病, 腫瘍 및 疼痛性 疾患 등에서 特殊한 效果를 나타낸다²³⁻²⁵⁾.

腎俞(BL₂₃)는 足太陽膀胱經의 背俞穴로서 部位는 第14椎(第2腰椎)下兩方 相去各1寸5分이고 穴性은 滋補腎陰, 振氣化, 祛水濕, 強腰脊, 益水壯火, 益聰明目 등이고 腰痛, 腎臟膀胱疾患, 子宮疾患 등을 治療하는데 腎氣轉輸之處로서 腎

臟機能과 密接한 聯關性을 가지며 腎臟疾患의 治療에 重要한 穴位이다. 特히 背俞穴은 五臟六腑의 氣가 背部의 特定한 곳에 輸注되는 곳으로서 臟腑의 氣가 該當되는 背俞穴에 通하므로 五臟六腑病症을 治療하는 臨床應用의 效果가 顯著하다^{25,26)}.

毒性物質에 의한 腎損傷은 주로 抗生劑消炎鎮痛劑造影劑 등에 의하는데, 이들 毒性物質에 의한 腎損傷의 점유율은 理化學檢査의 일반화에 따라 점차 높아지는 추세에 있다고 보고되고 있다^{1,2)}.

無機 水銀과 有機 水銀製劑들은 毒性物質에 의하여 急性腎不全을 誘發하는 腎毒性 모델로 자주 利用되어져 왔으며, 水銀의 近位細尿管 上皮細胞에 대한 影響은 數年동안 研究되어 왔다²⁷⁾. 水銀은 細胞膜과 細胞內에서 多様な 作用部位를 가지고 있는 것으로 알려졌다²⁸⁾. 急性 水銀中毒은 매우 높은 선택적인 近位細尿管 部位에 壞死를 誘發하는데, 이러한 현상은 細胞膜損傷과 미토콘드리아 構造와 機能의 損傷 後에 나타나는 것으로 報告되었다^{29,30)}. 그러므로, 近位細尿管에서 物質의 再吸收와 分泌過程은 水銀에 의해 誘發된 急性腎不全에 의하여 심각하게 損傷받을 可能性이 많다.

본 研究에서 水銀 皮下注射 (10 mg/kg) 24 時間 後에 Na^+ 排泄分率의 增加와 더불어 糸球體濾過率이 심하게 減少하는 등 急性腎不全의 症狀이 나타나고 있음을 確認하였고 (Fig. 1 and 2), 또한 水銀에 露出받은 境遇 葡萄糖과 磷酸의 排泄分率이 현저히 增加함을 보여주었다 (Fig. 3 and 4). 葡萄糖과 磷酸은 近位細尿管에서 再吸收되기 때문에 葡萄糖과 磷酸의 排泄分率 增加는 水銀露出에 의해 近位細尿管의 再吸收機能이 障礙받고 있음을 나타낸다.

정제된 세노관강막은 膜에서 物質移動系 自

體의 變化를 調査하는데 있어 다른 방법과 비교하여 상당한 장점을 지니고 있다³¹⁾. 葡萄糖과 磷酸의 近位細尿管 再吸收에 대한 能動的移動 과정은 세노관강막에서 일어나며, Na^+ 依存性 運搬系가 관여한다³²⁾.

그러므로, 葡萄糖과 磷酸의 再吸收 減少는 세노관강막에 있는 이들 運搬體와 basolateral membrane의 Na^+ -pump activity에 直接的인 損傷을 일으킴으로써 일어날 수 있다. 現在 研究에 의하면 水銀이 注入된 動物의 세노관강막에서 葡萄糖과 磷酸의 移動이 抑制되었고 (Fig. 5 and 6), 또한 Na^+ - K^+ -ATPase activity가 有意하게 抑制되어 있음을 알 수 있었다 (Fig. 7). 세노관강막에 의한 移動減少는 細胞膜에 있는 이러한 용질들을 위한 運搬體 숫자의 減少 또는 交替率 (turn over rate)의 減少 때문일 수 있다. 더욱이, Na^+ - K^+ -ATPase의 抑制는 Na^+ 依存性 기전에 의해 運搬된 溶質을 위한 原動力인 Na^+ -농도경사 장애를 일으켜서 溶質들의 再吸收 減少를 惹起할 것이다.

腎皮質에서 有機이온의 移動은 腎毒性을 測定하는데 중요한 자료로 이용되어 왔다³³⁾. 따라서, in vitro에서 近位細尿管 細胞損傷 평가를 위해 腎皮質 切片을 이용한 有機양이온 PAH 移動과 有機음이온 TEA移動을 측정하였다. 腎皮質 切片의 PAH와 TEA移動 能力은 水銀에 노출시킨 후 급격히 減少되었다 (Fig.8 and 9). 이것은 basolateral membrane에서 水銀의 노출에 의한 PAH와 TEA移動의 장애와 近位細尿管의 有機이온 分泌能力이 減少되었음을 반영한다. 본 研究의 結果와 비슷하게, Preuss 등³⁴⁾은 낮은 用量(4.7 mg/kg)이 아닌 高用量의 水銀(24 mg/kg)을 投與한 쥐에서 PAH와 TEA 攝取가 注射後 2時間 內에 약간 減少하였음을 報告하였다.

腎皮質 切片의 水銀 노출은 LDH分泌를 增加시켰고 脂質過酸化를 惹起하였는데 이는 非可逆的 細胞損傷을 誘發한다는 것을 의미하며, 이러한 반응은 胡桃藥鍼液에 의하여 명백히 防止되어졌다 (Fig.10 and 11).

本 研究에서 胡桃藥鍼은 水銀에 露出된 家兔에서 腎臟濾過不全과 細尿管機能損傷을 抑制함이 확인되었다. 實驗群이 對照群보다 明白하게 絲球體濾過率에 維持될 수 있었고, Na^+ , 葡萄糖 및 磷酸의 排泄分率は 減少되었다. 또한 葡萄糖과 磷酸의 增加된 排泄分率에 대한 胡桃藥鍼의 抑制效果는 세노관강막을 통한 이런 溶質들의 減少된 移動과 抑制된 Na^+ -pump activity의 회복에 隨伴되어 일어났다. 유사하게 近位細尿管에서의 能動的 過程들에 의해 分泌되는 有機이온들, 溶質들의 吸收에 있어서의 減少도 역시 胡桃藥鍼에 의해 抑制되었다.

胡桃藥鍼이 제공하는 防禦의 效果의 機轉은 本 研究만으로 볼 때 明確하지는 않다. 그러나 이전의 研究들은 胡桃藥鍼液이 酸化劑에 誘導된 細胞損傷을 막는다는 것을 보여주었다. 生體 그리고 實驗室에서의 研究들은 水銀의 腎毒性이 反應性 산소물질들에 의한 것이라는 것을 證明하였다^{7,35,36}. 만약 胡桃藥鍼이 抗酸化效果를 나타낸다면 水銀에 誘導된 腎細尿管 物質移動 機能의 障礙를 防止할 수 있을 것이다. 本 研究는 胡桃藥鍼이 腎皮質切片의 水銀處理에 의해 誘導된 LDH 分泌와 脂質過酸化를 防止한다는 것을 證明하고 있다. 이들 結果들은 胡桃藥鍼이 脂質過酸化 防止에 의해 水銀의 細胞損傷에 대하여 防禦效果를 나타낸다는 것을 의미할 수 있다. 그러나 胡桃藥鍼이 나타내는 抗酸化作用에 따른 精確한 機轉은 풀어야할 과제로 남아있으며, 이에 대한 研究가 더욱 進行되어야 밝혀질 것으로 생각된다.

V. 結 論

胡桃藥鍼이 水銀에 의한 急性腎不全 家兔의 腎細尿管 物質移動系 障礙에 미치는 影響을 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 絲球體濾過率은 實驗群이 水銀만 處置한 群에 비해 有意性있게 增加하였다.
2. Na^+ , 葡萄糖 및 磷酸의 排泄分率は 實驗群이 水銀만 處置한 群에 비해 有意性있게 減少하였다.
3. 세노관강막에서 葡萄糖과 磷酸의 移動은 實驗群이 水銀만 處置한 群에 비해 有意性있게 增加하였다.
4. Na^+ - K^+ -ATPase活性은 實驗群이 水銀만 處置한 群에 비해 有意性있게 增加하였다.
5. 腎皮質 切片에서 PAH와 TEA는 實驗群이 水銀만 處置한 群에 비해 有意性있게 增加하였다.
6. 腎皮質 切片에서 LDH 유출과 脂質過酸化는 實驗群이 水銀만 處置한 群에 비해 有意性있게 減少하였다.

이상의 실험결과에서 胡桃藥鍼은 水銀에 의해 急性腎不全이 유발된 家兔의 腎細尿管 物質移動系 障礙에 有意한 效果가 있었으며, 향후 急性腎不全의 豫防 및 治療에 活用될 수 있을 것으로 생각된다.

參 考 文 獻

1. 杜鎬京. 臨床腎系學研究. 서울 : 成輔社. 1995 : 191-2, 195-6, 293-7.
2. 杜鎬京. 東醫腎系內科學. 서울 : 東洋醫學研究院. 1989 : 5-8, 425-7, 437.
3. 서울대학교 의과대학편. 신장학. 서울 : 서울대학교 출판부. 1990 : 253-6.
4. Nicholson JK, Timbrell JA, Sadler PJ.

- Proton NMR spectra of urine as indicators of renal damage. Mercury-induced nephrotoxicity in rats. *Mol Pharmacol*. 1985 ; 27 : 644-51.
5. Schreiner GE , Maher JF. Toxic nephropathy. *Am J med*. 1965 ; 38 : 409.
 6. Lund BO, Miller DM, Woods JS. Studies on Hg (II)-induced H₂O₂ formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol*. 1993 ; 45 : 2017-24.
 7. Lund BO, Miller DM, Woods JS. Mercury-induced H₂O₂ production and lipid peroxidation in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol*. 1991 ; 42 : S181-7.
 8. 全國韓醫科大學本草學教室. 本草學. 서울 : 永林社. 1991 : 566-7.
 9. 李尙仁. 本草學. 서울 : 修書院. 1981 : 92-3.
 10. 金永海, 金甲成. 胡桃藥鍼液의 抗酸化 效果에 對한 研究. *大韓韓醫學會誌*. 1996 ; 17(1) : 9-20.
 11. 李京泰, 宋春浩. 胡桃藥鍼液이 水銀에 의한 肝組織 損傷에 미치는 影響. *大韓鍼灸學會誌*. 1999 ; 16(3) : 221-30.
 12. Kim YK, Kim YH. Differential effect of Ca⁺ on oxidant-induced lethal cell injury and alterations of membrane functional integrity in renal cortical slices. *Toxicol Appl Pharamcol*. 1995 ; 141 : 607-16.
 13. Kim YK, Jung JS, Lee SH. Dicarboxylate transport in renal basolateral and brush-border membrane vesicles. *Can J Physiol Pharmacol*. 1992 ; 70 : 106-12.
 14. Kim YK, Jung JS, Lee SH. Inhibition of H⁺/organic cation antiport by carboxyl reagents in rabbit renal brush-border membrane vesicles. *J Pharmacol Exp Ther*. 1993 ; 266 : 500-5.
 15. 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.
 16. Fiske CH, SubbaRow Y. The color imetric determination of phosphorus. *J Biol hem*. 1925 ; 66 : 375-400.
 17. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978 ; 86, 271-8.
 18. 辛民教. 原色臨床本草學. 서울 : 永林社. 1986 : 194-5.
 19. 서울대학교의과대학내과학교실. 내과학. 서울 : 군자출판사. 1996 : 1040-3.
 20. 해리슨내과학편찬위원회. Harrison's 내과학. 서울 : 정담. 1997 : 1363-72.
 21. 醫學教育研修院. 家庭醫學. 서울 : 서울대학교 출판부. 1995 : 407-13.
 22. 연세대학교 신장질환연구소. 신장학. 서울 : 의학문화사. 1999 : 19, 367.
 23. 崔改燮, 高炯均, 金昌煥. 水鍼療法에 관한 考察. *大韓鍼灸學會誌*, 1989 ; 6(1) 315-29.
 24. 李惠貞. 藥鍼學 概論 및 臨床. 서울 : 一中社. 1999 : 16-7.
 25. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學. 서울 : 集文堂. 1994 : 198-9, 489-90, 1457-67.
 26. 楊繼洲. 鍼灸大成. 서울 : 大星文化社. 1984 : 378.
 27. Conner EA, Fowler BA. Mechanisms of metal-induced nephrotoxicity. In *Toxico-*

- logy of the Kidney (Hook JB and Goldstein RS Ed.). 2nd ed. New York : Raven Press. 1993 : 437-57.
28. Rodin AE, Crowson CN. Mercury nephrotoxicity in the rat. I. Factors influencing the localization of tubular lesion. *Am J Physiol.* 1962 ; 41 : 297-314.
29. Taylor NS. Histochemical studies of nephrotoxicity with sublethal doses of mercury in rats. *Am J Pathol.* 1965 ; 46 : 1-21.
30. Trump BF, Berezsky IK, Sato T, Laiho KU, Phelps PC, Declaris N. Cell calcium, cell injury, and cell death. *Environ Health Perspect.* 1984 ; 57 : 281-7.
31. Sachs GR, Jackson J, Ravon EC, Use of plasma membrane vesicle. *Am J Physiol.* 1980 ; 238 : G151-64.
32. Valtin H. Renal function : Mechanisms preserving fluid and solute balance in health. 2nd ed. Boston : Little, Brown and Company. 1983 : 65-85.
33. Hirsch FH: Differential effects of nephrotoxic agents on renal transport and metabolism by use of in vitro techniques. *Environ Health Perspect.* 1976 ; 15 : 89-99.
34. Preuss HG, Tourkantonis A, Hsu CH, Shim PS, Barzyk P, Tio F, Shreiner GE. Early events in various forms of experimental acute tubular necrosis in rats. *Lab Invest.* 1975 ; 32 : 286-92.
35. Yonaha M, Itoh E, Ohbayashi Y, Uchiyama M. Introduction of lipid peroxidation in rats by mercuric chloride. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1980 ; 28 : 105-12.
36. Benov LC, Benchev IC, Monovich OH, Thiol antidotes effect on lipid peroxidation in mercury-poisoned rats. *Chem Biol Interact.* 1990 ; 76 : 321-32.