

원 저

蓼芪地黃湯이 Streptozotocin에 의한 흰쥐의 糖尿病性 腎症에 미치는 영향

김상대, 김용성

동신대학교 한의과대학 신계내과학교실

Beneficial Effect of Samgijihwang-Tang on Diabetic Nephropathy Rats

Sang-Dae Kim, Yong-Sung Kim

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,
Dong-Shin University

Objectives: The present study was carried out to investigate the preventive effects of Samgijihwang-Tang(SJT) on streptozotocin(STZ)-induced diabetic nephropathy.

Methods: SJT was given to rats through oral administration. The experimental animals were divided into a normal group of rats, a control group of STZ-induced diabetic rats, and a sample group with SJT administration. Rehmanniae Radix Preparat is combined in the original prescription of SJT, but in this experiment, Rehmanniae Radix was combined instead of Rehmanniae Radix Preparat to compare the effects of anti-diabetic nephropathy. Experimental diabetic nephropathy was induced by the injection of STZ(60mg/kg) in the rat via the peritoneum. The effect of SJT on STZ-induced diabetic nephropathy was observed by measuring the serum level of creatinine and BUN, in addition to urine secretion of albumin for 24 hours and the level of glucose found in the urine. Anti-oxidative stress of SJT administration in a living body was estimated by measuring lipid peroxide and GSH content in the cortex of kidneys.

Results: STZ induced an increase of serum creatinine, urine glucose and renal cortical lipid peroxidation was lowered by Rehmanniae Radix Preparat combined SJT administration.

Conclusions: The SJT treatment showed a protective effect on the rat diabetic nephropathy model, and action mechanism of the effect was thought to be concerned with anti-oxidative stress.

Key Words: Samgijihwang-Tang(SJT), Diabetes, Diabetic nephropathy

서 론

당뇨병은 인슐린의 절대량이 부족하거나 혹은 생체 내 인슐린의 효율이 떨어지면서 혈중 포도당 농도가 증가되어 일어나는 질환이며¹⁾, 당뇨병성 신증은 신사구체의 미세혈관병변을 기본으로 하는 당뇨병의 3대 합병증 중의 하나로 말기 신부전을 야기시키는 가장 흔한 원인이 되며, 당뇨 합병증에 의한 사망률 중 가장 높은 빈도를 차지하는 질환이다²⁾.

당뇨병에 대하여 최근 黃 등은 漏微, 水腫, 腰

· 접수 : 2006년 8월 15일 · 논문심사 : 2006년 8월 16일
· 채택 : 2006년 8월 20일
· 교신저자 : 김상대, 대전시 동구 가양 2동 418-8번지
동지환의원
(Tel: 042-625-3375, Fax: 042-625-4588
E-mail: odksd@hanmail.net)

Table 1. Prescription of SJT.

韓藥名 (Herbal Name)	生藥名 (Scientific Name)	重量 (Weight, g)
白茯苓	Poria	16
澤瀉	Alismatis Rhizoma	6
牡丹皮	Moutan Cortex	6
山藥	Dioscoreae Rhizoma	8
山茱萸	Corni Fructus	8
熟地黃 (生地黃)	Rehmanniae Radix Preparat (Rehmanniae Radix)	8
人參	Ginseng Radix	4
黃耆	Astragali Radix	4
Total Amount		64

痛, 關格, 消渴, 腎衰, 眩暈, 虛勞의 범주에 속한다고 하였으며, 한의학적 원인으로 稟賦不足, 飲食不節, 情志失節, 勞欲傷腎, 失治誤治 등을 꼽았다³⁻⁵⁾.

본 실험에서 응용한 蓼苈地黃湯은 당뇨병과 신장질환에 대응되는 처방인 六味地黃湯에 혈당의 강하, 당대사의 개선과 사구체질환과 당뇨병성 신증에 활용하는 人參과 黃芪를 加味하여 만들어진 처방으로 이 등^{6,7)}이 실험적·임상적으로 만성신부전 치료에 효과가 있다고 보고한 바 있으나, 당뇨병성 신증에 대한 실험적 보고는 아직까지 없었다.

이에 저자는 streptozotocin(STZ)을 이용하여 흰쥐에 당뇨병성 신증을 유발시킨 후 蓼苈地黃湯을 투여하여 蓼苈地黃湯이 당뇨병성 신증에 나타내는 영향을 알아보기로 혈청 creatinine, 혈청 BUN, 뇨중 albumin 배설량, 뇨중 glucose 함량, 신장피질의 malondialdehyde(MDA)와 glutathione(GSH) 등을 측정한 후 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 체중 200g 정도의 Sprague-Dawley계

수컷 흰쥐(대한실험동물센터, Korea)를 사용하였으며, 2주 이상 실험실 환경에 적응시키는 동안 고형사료(삼양 배합사료 실험동물용, 삼양유지사료, Korea)와 물을 충분히 공급하면서, 2주 이상 실험실 환경(온도, 22±2℃; 밤/낮, 12hrs)에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 실험약물 및 구성 약재

실험약물은 蓼苈地黃湯을 재료로 하였고 이를 구성하는 약재는 동신대학교 목포한방병원에서 구입·정선하였으며 처방의 내용은 Table 1과 같다. 처방 중 熟地黃을 그대로 이용한 처방(SJTRP)과 生地黃으로 대체한 처방(SJTR)을 이용하여 동일한 실험을 수행하였다.

3) 시약 및 기기

혈청 중 creatinine 및 BUN은 시중에서 국산 측정용 kit(아산제약, 한국)을 구입하여 사용하였다. 기타 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA)제품을 구입하였다. 측정을 위해 사용된 기기는 분광광도계(U-2800, Hitachi, Japan), 분쇄기(DIAX 600, Heidolph, Germany), 원심분리기(VS-15000CFN, Vision, 한국), 동결건조기(E20, Eyla, Japan), 전자저울(AR2140, OHAUS, USA) 등이었다.

2. 방법

1) 처방의 추출

SJTRP와 SJTR의 원재료 2첩 분량인 128g에 증류수 2,000ml를 각각 가하고 대웅 약탕기(DWP-1800T, 한국)로 2시간 동안 전탕한 후 여과하고 상층액을 감압, 농축, 건조하여 추출물을 얻었다. 최후의 건조물은 각각 21.0g 및 13.9g으로 熟地黃을 구성 약물로 했을 때의 추출률이 더 높은 것으로 나타났다. SJTRP와 SJTR을 사용치 않을 때는 냉동 보관해 두었다가 실험 직전에 필요한 농도에 맞춰 희석하여 신선하게 사용하였다.

2) 당뇨병성 신증의 유도 및 검액 투여

실험은 정상군, 당뇨병성 신증을 유도한 대조군, 당뇨병성 신증 유도 후 검액인 SJTR과 SJTRP를 투여한 두 가지의 실험군으로 나누어 시행하였다. 대조군과 실험군은 STZ를 10mM citrate buffer에 녹여 pH를 4.5에 맞추고, 60mg/kg weight 되도록 각 동물에 복강 주사하였다. 동일한 날을 시작으로 SJTR과 SJTRP를 투여하였는데, 실험동물의 체중에 대해 100mg/kg 농도로 10일간 투여하였으며, 대조군은 동량의 음용수를 투여하였다. 실험동물은 희생 전 16시간 동안은 물만 섭취토록 하고 절식시켰다.

3) 혈액 채취, 혈청 분리, 혈청 중 creatinine 및 BUN 함량 측정

STZ 및 SJT 투여 시작 10일째에 흰쥐를 에테르로 가볍게 마취시키고 5ml 용량의 일회용 주사기(삼우, 한국)로 혈액을 심장으로부터 3.0ml 이상 취하여 실온에 30분 방치한 후 냉장원심분리기(VS6000CFN, Vision, 한국)로 1,300×g로 20분간 원심 분리시켜 상층의 혈청을 얻었다. 혈청 중 creatinine 등의 함량은 각각의 측정용 kit(아산제약 주식회사, Korea)과 분광광도계를 이용하여 측정하였다.

4) 24시간 뇨의 수집 및 albumin 배설량, glucose 함량 측정

STZ 및 SJT 투여 9일째에 대사 케이지에서 24

시간 뇨를 수집하고 이로부터 albumin 배설량 및 glucose 함량을 각각의 측정용 kit(아산제약 주식회사, Korea)과 분광광도계를 이용하여 측정하였다.

5) 신장 피질의 지질 과산화 정도 측정

신장 피질의 지질의 과산화는 그 산물인 MDA를 측정하여 평가하였다. MDA 함량은 Uchiyama와 Mihara의 방법⁸⁾으로 측정하였는데, 간단히 설명하면 혈액을 채취한 직후 신장을 들어내어 100mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM CaCl₂, 40mM Tris-HCl(pH, 7.5)로 된 차가운 용액을 신장 동맥 내에 주입하여 혈액을 제거한 다음 Stadie-Riggs microtome으로 약 0.3~0.5 mm 두께의 신장 피질 절편을 만든 다음 절편을 차가운 1.15% KCl 용액 (5% wt/vol) 속에서 파쇄하였다. 이 조직 파쇄 균질액 0.5ml에 1% 인산 용액 3ml과 0.6% thiobarbituric acid 용액 1ml을 첨가하여 끓는 물에서 45분간 가열하였다. n-butanol 4ml을 첨가하여 완전히 섞은 다음 2,000×g에서 20분간 원심분리한 후, 상층액의 흡광도를 536와 520nm에서 측정하였다. MDA 값은 단백질 1mg 당 pmoles로 표시하였다. 단백질 농도는 Bradford의 방법⁹⁾으로 측정하였다.

6) 신장 피질 내 GSH 함량 측정

GSH 함량은 Anderson의 방법¹⁰⁾으로 측정하였다. 0.248mg/ml NADPH(143 mM sodium phosphate, 6.3 mM Na₄-EDTA(pH. 7.5)를 함유하고 있는) 용액 700 μ l, 6mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 용액 100 μ l와 증류수 198 μ l를 cuvette에 넣어 30°C에서 15분간 데운 후 시료 2 μ l를 넣고 섞은 다음 266U/ml GSSG reductase 10 μ l를 첨가하여 412nm에서 흡광도의 변화를 관찰하였고 단위는 μ g/mg protein으로 나타내었다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은

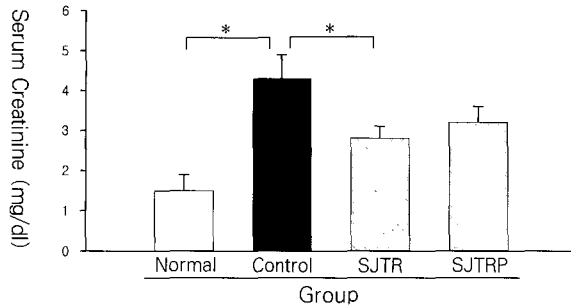


Fig. 1. Effect of SJT treatment on changes in serum creatinine levels in STZ-induced diabetic nephropathy in rats. Data are mean±SE of six experiments. Normal, normal group; Control, control group; SJTR, SJTR administered sample group; SJTRP, SJTRP administered sample group. *, significantly different when compared(p<0.05).

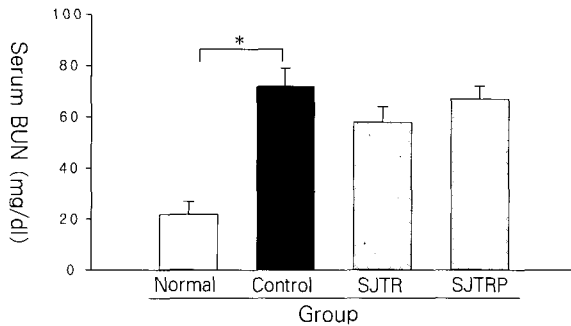


Fig. 2. Effect of SJT treatment on changes in serum BUN levels in STZ-induced diabetic nephropathy in rats. Data are mean±SE of six experiments. Normal, normal group; Control, control group; SJTR, SJTR administered sample group; SJTRP, SJTRP administered sample group. *, significantly different when compared(p<0.05).

평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군간 평균의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test를 사용하여 p<0.05수준에서 유의성을 검정하였다.

성적

1. 혈청 중 creatinine 함량

STZ를 처리하지 않은 정상군에 비해 STZ를 투여한 대조군의 경우 혈청 중 creatinine 수치가 유의성 있게 증가하였다. SJTR을 경구 투여한 결과 혈청 creatinine 수치가 유의성 있게 감소하였으며, SJTRP를 투여한 경우에는 감소의 경향은 나타났으나 유의성은 없었다(Fig. 1).

2. 혈청 중 BUN 함량

STZ를 처리하지 않은 정상군에 비해 STZ를 투여한 대조군의 경우 혈청 중 BUN 수치가 유의성 있게 증가하였다. 그러나 SJT를 투여한 실험군의 경우 대조군과의 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2).

3. 24시간 뇨중 albumin 배설량

24시간 뇨중 albumin 배설량은 정상군에 비하여 대조군에서 유의성 있게 증가하여 당뇨병성 신증의 전형적인 검사 소견이 나타났다. 그러나 SJT를 투여한 실험군은 대조군에 비해 차이가 나타나지 않았다(Fig. 3).

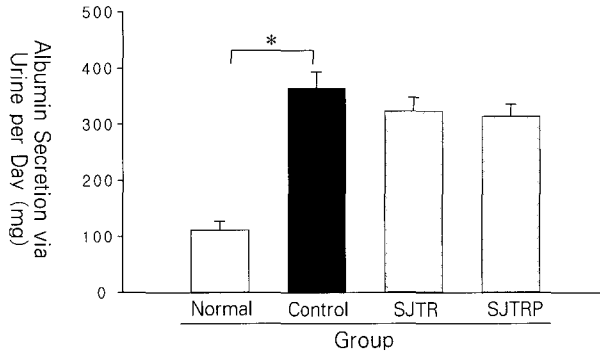


Fig. 3. Effect of SJT treatment on changes in albumin secretion via urine for 24 hours in STZ-induced diabetic nephropathy in rats. Data are mean±SE of six experiments. Normal, normal group; Control, control group; SJTR, SJTR administered sample group; SJTRP, SJTRP administered sample group. *, significantly different when compared($p<0.05$).

4. 뇨중 glucose 함량

STZ를 처리하지 않은 정상군에 비해 STZ를 투여한 대조군의 경우 뇨중 glucose 함량이 유의성 있게 증가하였다. 실험군의 경우 SJTR 투여군은 대조군과 비교하여 뇨중 glucose 함량이 유의성 있게 감소하였으나, SJTRP 투여군에서는 변화가 나타나지 않았다(Fig. 4).

투여군에서 유의성 있게 감소되었다(Fig. 5).

6. 신장 피질 내 GSH 함량

정상군에 비해 STZ를 처리한 대조군은 GSH 함량이 유의성 있게 감소하였으며, SJT를 투여한 실험군의 경우 대조군과 비교하여 통계적인 차이가 나타나지는 않았다(Fig. 6).

5. 신장 피질의 과산화 지질 함량

STZ 투여로 인해 신장 피질 조직 내 과산화 지질은 유의성 있게 증가되었으며, 실험군 중 SJTR

고 찰

당뇨병은 인슐린 분비의 절대적 또는 상대적

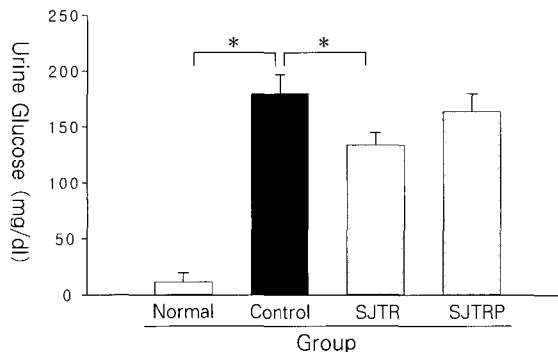


Fig. 4. Effect of SJT treatment on changes in urine glucose levels in STZ-induced diabetic nephropathy in rats. Data are mean±SE of six experiments. Normal, normal group; Control, control group; SJTR, SJTR administered sample group; SJTRP, SJTRP administered sample group. *, significantly different when compared($p<0.05$).

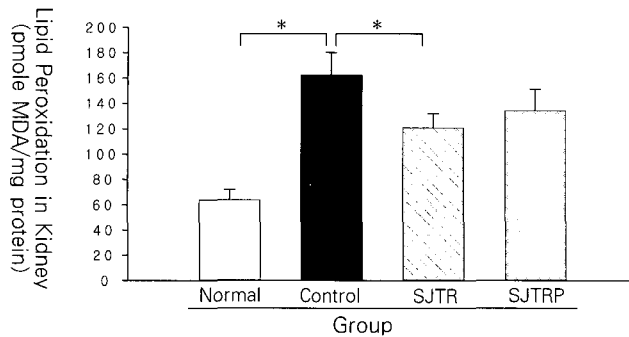


Fig. 5. Effect of SJT treatment on changes in lipid peroxidation of cortex of kidneys in STZ-induced diabetic nephropathy in rats. Data are mean±SE of six experiments. Normal, normal group; Control, control group; SJTR, SJTR administered sample group; SJTRP, SJTRP administered sample group. *, significantly different when compared($p<0.05$).

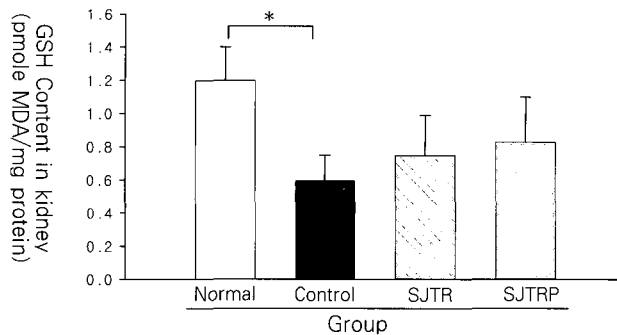


Fig. 6. Effect of SJT treatment on changes in GSH content of the cortex of kidneys in STZ-induced diabetic nephropathy in rats. Data are mean±SE of six experiments. Normal, normal group; Control, control group; SJTR, SJTR administered sample group; SJTRP, SJTRP administered sample group. *, significantly different when compared($p<0.05$).

부족이나 인슐린 표적세포에서 인슐린의 생물학적 효과 감소로 인하여 발생하는 고혈당 상태와 이에 수반되는 대사장애가 장기간으로 지속되는 질환이다.¹¹⁻¹³ 당뇨병의 합병증은 당뇨병성 케톤산혈증, 고삼투성 비케톤성 혼수, 저혈당 등의 급성 합병증과 망막병증, 신증, 신경병증, 당뇨병성 족부병변, 대혈관장애 등의 만성 합병증이 있다.¹³⁻¹⁶

당뇨병의 만성 합병증 중 당뇨병성 신증은 당뇨병의 합병증에 의한 사망률 중 제일 높은 빈도를 보이는 질환으로, 미국에서 말기 신장 질환의 원

인 중 약 반 정도가 당뇨병성 신증이다. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자의 35%정도에서 당뇨병성 신증이 발생하며 인슐린 비의존성 당뇨병에서는 15~60%정도의 다양한 유병률을 나타낸다^{17,18}.

당뇨병성 신증은 미만성과 결절성의 두 가지 다른 병리학적 소견을 가지며, 미만성 사구체경화는 사구체 간질의 확장과 사구체 기저막의 비후를 특징으로 하면서, 둘중 더 높은 빈도를 차지한다. 결절성 사구체경화는 많은 양의 PAS 양성물질이 말초 사구체군(glomerular tuft)에 침착하는데 이

를 Kimmelstiel-Wilson nodule이라 한다¹³⁾.

임상적으로 당뇨병에 의한 신장의 기능이상을 처음 객관적으로 알 수 있는 것은 미세단백뇨로 약 26~250mg/day의 단백이 소변으로 배출된다. 이러한 병변이 진행하면 저알부민혈증, 부종, 고혈압, 고 콜레스테롤혈증 등의 전형적인 신증후군이 되며 단백뇨가 시작한지 1년 내지 십수년후 혈중 크레아티닌이 상승하기 시작한다. 신부전이 발생하고 나면 신장은 일정한 속도로 직선적 기능감소를 보이면서 말기 신질환으로 이행한다¹³⁾.

당뇨병성 신증에 대한 현대의학적인 치료방법으로는 초기에 혈당 조절을 엄격히 하거나 ACE 차단제, 저단백 식이 등을 이용하여 당뇨병성 신증의 진행을 늦추게 할 수 있으나, 일단 고질소혈증이 발생하면 치료는 다른 형태의 신부전과 같아지며, 말기 신부전이 되면 혈액투석이나 복막투석 혹은 신장이식수술을 시행한다¹⁹⁾.

당뇨병의 병증은 한의학에서 消渴, 皮膚搔癢, 燥, 風痺, 痿, 二陽病, 癰疽, 眼昏, 痺痛 등의 범주에 속하며 이 중 가장 근사한 병증은 消渴로, 여러 문헌에 나타난 消渴의 傳變症은 당뇨병의 만성 합병증에서 나타날 수 있는 증상들과 유사하다²⁰⁾.

消渴의 轉變症은 한의학에서 癰疽, 煩燥, 口舌乾燥, 腹脹, 小便白濁, 口渴, 渴利, 消中, 消腎, 瞶盲, 瘡癰, 瘰癧, 浮腫, 腦疽, 背瘡, 中滿, 鼓脹, 水病 등으로 바라보았다.

최근 중국에서는 당뇨병성 신증에 대하여 황⁴⁾은 消渴, 水腫, 關格, 腎衰 등의 범주로 보았으며 정³⁾은 漏微, 水腫, 腰痛, 關格, 이²¹⁾와 진²²⁾은 消渴, 水腫, 眩暈, 虛勞 등의 범주로 보았다. 이는 대부분 대증에 따라 변증한 것으로 볼 수 있으나, 정³⁾은 단백뇨를 漏微로 언급하여 현대의학적인 개념을 도입하기도 하였다. 또한 당뇨병성 신증에 대하여 韓醫學의 原因으로는 稟賦不足, 飲食不節, 情志失節, 調養不得 消渴病의 未治, 失治, 誤治, 勞欲過度 등을 들었으며, 이를 각각 氣陰兩虛, 陰虛陽亢, 腎虛血瘀, 脾腎兩虛, 陽虛水泛, 腎虛關格

로 辨證하고 益氣養陰, 滋腎潛陽, 補腎活血, 健脾補腎, 溫陽利水, 溫腎泄濁, 和胃降逆의 방법으로 치료하고자 하였다^{3,4,21,22)}. 이처럼 중국에서는 당뇨병성 신증에 대해 주로 本虛로 인하여 발생된 것으로 보고 거기에 더하여 나타나는 증상에 따른 對證治療를 겸하고 있음을 알 수 있었다.

蓼地黃湯은 동물실험을 통하여 신장독소 보호효과에 유효성이 있다고 밝혀진 처방⁶⁾으로 그 구성은 六味地黃湯에 人蔘과 黃芪를 加하고 白茯苓을 君藥으로 한 것이다.

六味地黃湯은 예로부터 滋陰補腎의 基本方으로 본 실험에서 白茯苓을 君藥으로 한 이유는 錢²³⁾의 加減法에 나타난 “小便이 或多或少, 或赤或白일 때는 茯苓을 君藥으로 한다.”는 活套와 茯苓이 複方(黨蔘, 白朮, 茯苓) 煎劑에서 細胞免役과 體液免疫의 作用을 促進하고 血糖을 낮추는 作用²⁴⁾이 있다는 실험결과에 근거한다.

人蔘은 大補元氣, 固脫生津, 安神작용이 있으며, 김 등^{25,26)}의 실험적으로 면역 증강에 효과가 있음과, Sonnenborn²⁷⁾ 등은 인삼이 당 항상성을 개선시키고, 인슐린의 민감도를 높인다는 보고, Sontaniemi²⁸⁾ 등의 인삼이 공복 시 혈당강하 효과, 체중 감소 효과 및 당화 혈색소 수치 개선 효과, Yokozawa²⁹⁾ 등의 실험적으로 인삼이 신장을 절제한 흰 쥐에서 노중 알부민 배설을 줄이고, mesangium의 비대 및 사구체 병변을 개선시키는 효과가 있다는 보고가 있었다.

黃芪는 益胃固表, 利水消腫, 托毒生肌, 補中益氣 작용이 있으며, 김 등^{26,30)}의 실험적으로도 면역증강에 효과가 있음이 보고된 바 있고, 徐³¹⁾의 일정한 정도의 糖尿病性 腎症의 동물적 당대사를 개선하는 효과가 있어 신장비대의 조기출현을 억제하고 노단백 배출을 감소시키는 기전을 가능하게 하고 당대사를 개선시키는 효과가 있음이 실험적으로 입증되었다.

이에 저자는 糖尿病性 腎症의 발병원인이 고혈당이며, 발병초기에 혈당조절을 엄격하게 하면 신

기능이 정상으로 돌아올 수 있다는 이론과 糖尿病性腎症이 만성적으로 이환된 질병이며 만성적으로 진행하였을 경우 신부전이 발생한다는 사실에 근거하여, 본 실험에 사용될 약물을 蓼芪地黃湯으로 선택하였다.

蓼芪地黃湯에서 熟地黃 대신 生地黃으로 대체한 또 하나의 처방을 이용하여 같은 실험을 수행한 것은, 祝³²⁾의 生黃芪 配 生地黃은 降血糖 한다는 이론에 의한 것으로, 최근 李³³⁾의 熟地黃과 生地黃 추출물이 毒性 藥物에 의한 腎臟 組織의 損傷에 유효함을 밝힌 실험에 근거하여, 熟地黃과 生地黃 추출물의 複方에서의 유효성에 대해선 알아보고자 한 것이다.

STZ는 백혈병 치료제와 발암물질로서 시험 동물에서 당뇨를 유발하는 물질로 가장 널리 사용되어지고 있다. STZ의 투여는 고혈당과 함께 췌장 소도에 림프구의 침윤, 즉 소도염을 유발하며, 이는 insulin 결핍에 의한 고혈당이 초래되기 전에 오랜 기간 동안 β 세포의 파괴가 서서히 진행된다는 점에서 사람의 insulin 의존형 당뇨병과 유사한 것으로 생각되어지고 있다³⁴⁾.

혈액·생화학적 검사를 통하여 신장 기능의 이상과 신장조직의 손상 유무를 알아보기 위하여 신장 기능을 나타내는 대표적인 혈액인자인 BUN치와 혈중 creatinine, 24시간 뇨중 albumin 배설량, 뇨중 glucose와 세포막의 지질이 과산화되어 신장조직의 손상이 일어남을 나타내는 산물인 MDA와 환원성 Glutathione인 GSH를 측정하여 보았다.

BUN은 혈중요소질소로 BUN중의 urea는 단백과 아미노산의 주요 최종산물로서 간의 urea cycle에 의해 생성되어 신장으로 배출되기 때문에 신장기능의 이상시 BUN이 증가되어 나타난다. 또한 ceatinine은 근육에서 creatine과 creatine phosphate로부터 만들어지는 것으로 creatine은 간에서 합성되어서 근육에서 인산화되어 에너지원으로 저장이 되게된다. 이러한 creatine의 최종대사산물이 creatinine이며 creatinine은 신장의 사구체를 통하

여만 배설되기 때문에 BUN에 비하여 신질환에 더욱 특이적이고 예민하게 나타난다. 실험에서 흰쥐에 STZ를 투여하였을 때, 정상군에 비해 대조군에서 혈청 중 creatinine 및 BUN 수치가 유의하게 증가하여(Fig. 1, 2), STZ에 의해 신증이 유발되었음을 확인하였다. SJTR 투여군은 혈청 creatinine 수치가 유의하게 감소하였으나 BUN 수치에는 유의성 있는 변화를 보이지 않았으며, SJTRP 투여군은 위의 두 측정 항목에 대조군과의 차이를 보이지 않았다. 그러므로 신사구체 손상회복에 SJTR 투여가 효과가 있는 것으로 사료된다.

당뇨병성 신증이 진행되면 단백뇨와 저albumin 혈증이 나타나게 되므로 뇨중 albumin 배설량을 관찰하였다. 정상군에 비하여 대조군에서는 유의한 증가를 보였으나 실험군인 SJTR과 SJTRP 투여군 모두 유의한 변화를 나타내지 않았다(Fig. 3).

당뇨의 상태를 알기 위해 뇨중 glucose 함량 변화를 관찰한 결과 대조군에 비하여 SJTR 투여군이 효과적으로 억제하였고, SJTRP 투여군에서는 유의한 변화를 보이지 않았다.(Fig. 4). 따라서 SJTR 투여군의 경우 혈당강하효과가 있을 것으로 사료되어진다.

MDA는 세포막의 지질이 과산화되어 나타나는 지표로 활성산소에 의해 발생하는 것이다. 활성산소란 산소가 가지는 화학적 특성으로 인하여 생성되는 oxygen free radical 및 이것으로부터 유래된 일군의 산소 화합물을 일컫는데 현재까지 밝혀진 바에 의하면, 활성산소가 이롭게 작용하는 경우는 세균 감염 때의 산화성 살균 작용이고 그 이외의 모든 경우는 과다한 활성 산소 생성이 조직 손상을 유발하여 궁극적으로 질병을 일으킨다. 대표적인 허혈/재관류 조직 손상에서부터 각종 성인병, 발암 및 노화에 이르기까지 다양한 질병이 과다하게 생성된 활성산소에 의한 산화성 스트레스에 기인한다고 여겨진다³⁵⁾. 이러한 지질 과산화가 급성 산화 자극을 동반한 비가역적 세포 손상의 원인으로 작용한다는 것이 계속 논의 중임에도 불구하고

지질 과산화는 산화에 의한 세포 손상을 나타내는 표현의 하나로 널리 알려져 있다³⁶⁾.

산화성 스트레스가 조직 손상을 유발하는데 중요한 역할을 한다고 인정받기 위해서는 활성 산소가 손상된 조직에 존재하여야 하며, 적합한 농도의 활성 산소를 조직에 투여했을 때 조직 손상에서 관찰되는 대부분의 변화가 초래되어야 하며, 활성 산소를 제거하거나 그 생성을 억제할 때 조직 손상이 완화되어야 하고, 손상의 완화 정도와 활성 산소의 제거 및 생성 억제 정도에 상관성이 있어야 한다³⁷⁾. 활성산소는 당뇨병에서도 증가가 나타나며 이 증가가 당뇨병의 미세혈관 합병증을 초래할 수 있는 것으로 알려져 있다. 당뇨병성 신증은 인슐린 의존형 당뇨병 환자에서 보이는 심각한 미세혈관 합병증으로 이에 대한 병인론은 아직까지 정확히 알려져 있지 않으나 활성산소에 의한 peritubular microcirculation의 변화와 endothelial dysfunction 등이 신장 기능의 악화에 관여하는 것으로 알려져 있다³⁸⁾.

활성 산소의 공격에 의한 지질과산화 반응으로 생성되는 과산화 지질의 생성은 강한 세포 독성을 나타내기 때문에 이의 혈액 중 함량은 성인병의 중증도 뿐만 아니라 노화 과정에 관여한다는 사실이 밝혀져 있으므로³⁹⁾ 혈청 내 지질 과산화물의 생성을 억제할 수 있다면 질병의 예방과 치료에 효과적일 것이다. 그리하여 STZ 투여군의 신장세포 손상정도와 SJT의 세포손상 방어효과를 측정하기 위하여 신장조직중의 과산화지질량을 MDA량을 측정하여 알아보았다. 본 실험에서 SJTR 투여군은 대조군에 비해 STZ에 의해 증가되는 신장피질 조직 내 과산화 지질을 유의성 있게 억제하였으나 SJTRP 투여군은 유의성 있는 변화를 보이지 않았는데, 이는 SJTR 투여군이 혈청 내 지질 과산화물의 생성을 억제하여 신장의 독성을 방어하고 있는 것으로 사료된다.

GSH는 glutathione의 환원형으로 헤모글로빈과 적혈구에 있는 그 밖의 단백질들의 시스테인 잔기

를 환원상태로 유지하는 술프히드릴기 완충제(sulfhydryl buffer)의 역할을 한다. 환원형은 또한 과산화수소나 유기과산화물과 반응함으로써 해독작용을 하며 적혈구의 정상구조를 유지하고 헤모글로빈을 제일철 상태로 유지하는데 필수적이다. 환원형 글루타티온의 수준이 저하된 세포들은 용혈되기가 쉽다. 그리고 과산화물들은 정상적으로 환원형 글루타티온과의 반응으로 제거되는것으로 MDA와 더불어 신장손상의 지표로 사용되고 있다. 그리하여 세포손상의 방어효과를 알아보기 위해서 GSH의 활성을 알아보았으나 실험에서 SJTR과 SJTRP 투여군 모두 STZ에 의해 감소되는 GSH의 활성을 증가시키지는 못하였다(Fig. 5, 6).⁴⁰⁾

이상의 실험결과를 요약하여 보면, 대조군에서는 혈청 BUN, 혈청 Creatinine, 뇨중 albumin과 glucose, 신장조직의 MDA량 및 신장 피질 내 GSH 함량 등이 유의성 있게 변화 하였으며, SJTR 투여군이 대조군에 비하여 혈청 creatinine을 유의성 있게 감소시키고, 신장조직의 MDA량을 유의성 있게 감소시켜 SJTR 투여군이 사구체 여과기능과 세뇨관 재흡수 기능의 회복을 통한 혈액과 뇨의 생화학적 인자의 개선에 유효할 것으로 사료된다. 아울러 SJTR투여군이 뇨중 glucose를 감소시키는 것으로 보아 혈당 강하에도 작용하는 것으로 사료된다.

이상의 결과로 보아 SJTR투여군은 혈당 강하 효과와 당뇨병성 신증에서의 세포손상 억제효과를 보여 신장손상을 회복시키는 기능이 있을 것으로 사료되며, 蓼芪地黃湯을 당뇨병성 신증에 활용할 경우 熟地黃보다 生地黃을 활용하는 것이 더욱 좋은 결과를 나타낼 수 있을 것으로 생각되어지나, 이와 관련된 명확한 작용 기전은 아직 확인할 수 없다. 약제의 가공에 따른 성분의 변화 및 처방에 배합되어 있는 약재들 상호작용으로 인한 생체내 항산화 효소의 활성변화에 대한 추후 연구가 필요할 것이다.

결론

흰쥐에 Streptozotocin을 이용하여 당뇨병성 신증을 유발 시킨 후 蓼芪地黃湯이 당뇨병성 신증에 나타내는 효능을 알아보기 위하여 혈청 creatinine, 혈청 BUN, 노중 albumin 배설량, 노중 glucose 함량 측정, 신장피질의 MDA와 GSH 등을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. SJTR 투여군은 혈청 중 creatinine의 함량에 대해 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었고 SJTRP 투여군은 유의성이 없었다.
2. SJTR과 SJTRP 투여군은 혈청 중 BUN 함량에 대하여 영향을 미치지 못하였다.
3. SJTR과 SJTRP 투여군은 24시간 노중 albumin 배설 증가를 억제하지 못하였다.
4. SJTR 투여군은 노중 glucose 함량에서 대조군에 비해 유의하게 감소시켰으나, SJTRP 투여군은 유의성이 없었다.
5. SJTR 투여군은 MDA 함량의 변화에서 대조군에 비해 유의성 있게 억제시켰으나, SJTRP 투여군은 억제하지 못하였다.
6. SJTR과 SJTRP 투여군은 GSH 함량 변화에 있어서 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

참고문헌

1. Harrison TR. Principles of Internal Medicine, Diabetes Mellitus. 11th ed. New York: McGraw-Hill Book Company. 1987:1778-1797.
2. United State Renal Data System. USRDS Annual Data Report. Bethesda, MD, National Institute of Keabetes and Keigestive and Kidney Disease. July. 1994.
3. 鄭尋壽. 糖尿病 慢性併發症. 天津: 天津科學技術出版社. 2001:17-21.
4. 黃春林. 心腎疾病臨證證治. 廣東: 廣東人民出版社. 2000:316.

5. 대사호, 사복안 진건 광립중 .腎臟病, 北京, 人民衛生出版社. 2000:133.
6. 최종배. 六味地黃湯加黃芪人蔘 추출물의 Cisplatin 유도 신장독성보호효과. 한방내과학회지. 2003 ;24(3):579-587.
7. 이경환, 김용성, 광정진, 류형천, 김행진. 만성신부전으로 의심되는 환자에서 주증에 따른 한의학적 변증치료의 예. 한방내과학회지. 2003;24(2):1046-1054.
8. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem. 1987;86 :271-278.
9. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding. Anal. Biochem. Vol. 72, 1976 :248-524.
10. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. Methods Enzymol. 1985;113:548-554.
11. 閔獻基. 臨床內分泌學. 서울: 고려의학, 1990 :266-270.
12. 서울대학교 의과대학. 內分泌學. 서울: 서울대학교 출판부. 1991:243-253.
13. 김응진. 糖尿病學. 서울: 高麗醫學. 1992:391-468.
14. 平田幸正. 糖尿病의 診斷과 治療. 광주: 서광의학. 1994:503-699.
15. 이태희. 糖尿病. 광주: 전남대학교 출판부. 1990 :132-133.
16. 황정운, 김응진. 한국인 糖尿病의 역학적 연구. 糖尿病. 1974;2:27-27.
17. 杜鎬京. 臨床腎系學研究. 서울: 成輔社. 1995 :526-582.
18. 上海中醫學院. 中醫內科學. 上海: 商務印書館. 1981:503-511.
19. Kurt J. Isselbacher. HARRISON'S Principles

- of Internal Medicine. 서울: 도서출판정담. 1997:2161-2167.
20. 杜鎬京. 東醫腎系學 研究. 서울: 慶熙大學校出版局. 1994:427-429.
 21. 이정, 진건중, 성옥무. 腎虛病症의 診斷與治療. 北京: 人民軍醫出版社. 1999:320-327.
 22. 陳以平. 腎病的辨證與辨病治療. 北京: 人民衛生出版社. 2003:154-154.
 23. 錢乙. 小兒藥證直訣. 北京: 人民衛生出版社. 1991:56-56.
 24. 李平. 中草藥 腎損害 與 中醫藥治療. 北京: 人民衛生出版社. 2004:307-307.
 25. 고병희, 송일병. 鹿茸地黃湯, 인삼, 오가피가 면역반응 및 NK세포 활성도에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1986;9:193-216.
 26. 김정현. 補中益氣湯, 인삼 및 황기 약침이 면역기능저하에 미치는 영향. 경희대학교대학원. 1999.
 27. Sonnenborn,U.andn Proppert,Y. Ginseng (Panax ginseng C.A. Meyer). Zeitschrift fur Phytotherapie. 1990;11:35-49.
 28. Sotaniemi, E.A., Haapakoski, E. and Rautio, A. Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients. Diabetes Care. 1995;18(10):1373-1375.
 29. Yokozawa, T. Kobayashi, T. Kawai, A. Oura, H. Kawashima, Y. Chem Pharm Bull, 1984 ;32:2766-2766.
 30. 박진웅 외. 농도차에 따른 황기약침이 methorxate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1994;11(1):67-81.
 31. 徐郁杰. 黃芪對糖尿病大鼠早期腎肥大和蛋白尿的影響. 上海第二醫科大學學報, 1997;17(5):357-357.
 32. 박경수, 이원창, 주승균. 祝甚如臨床經驗集. 서울: 醫聖堂. 2001:70-71.
 33. 이경환. 生地黃과 熟地黃의 흰쥐 신장에서의 항산화 효과. 한방내과학회지. 2003;24(3):522-530.
 34. 양용준, 김연섭. 석산이 Streptozotocin으로 유발된 당뇨에 대한 면역조직화학적 연구. 대한본초학회지. 2004;19(1):111-119.
 35. 이귀녕, 권오현. 임상병리과파일(제3판). 서울: 의학문화사. 2000:179-181.
 36. Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. Biology of disease. Mechanism of cell injury by activated oxygen species. Lab Invest. 1990 ;62:670-679.
 37. 하현주, 김경환. 당뇨병성 신증의 발생과 진행에 관여하는 산화성 스트레스의 역할. 대한신장학회지. 1997;16(2):S134-139.
 38. 박근용, 박성배, 김현철, 문교철, 곽춘식, 강미정. 당뇨병성 신증환자에서 혈청 크레아티닌치와 적혈구의 Malondialdehyde(MDA) 및 항산화효소의 상관 관계에 관한 연구. 대한신장학회지. 1997;16(3):482-487.
 39. Yagi K : Lipid peroxides and human disease, Chemistry and Physics of Lipids, 1987:45, 337-351.
 40. Lubert Stryer. Stryer 生化學(下). 서울: 서울의국서적. 1999:602-604.