

陰谷 白茯苓藥침이 Lipopolysaccharide로 유도된 흰쥐의 염증성 궤 손상에 미치는 영향

김민식, 김병수, 임윤경*

대전대학교 한의과대학 한의학과 경락경혈학교실



[Abstract]

The Effect of *Hoelen* Herbal-acupuncture at KI₁₀ on Lipopolysaccharide Induced Nephritis in Rats

Min Sik Kim, Byung Soo Kim and Yun Kyoung Yim*

Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Daejeon University

Objectives : The purpose of this study is evaluating the effect of *Hoelen* Herbal-acupuncture (HO-HA) at KI₁₀ (*Umgok*) on Lipopolysaccharide(LPS) induced nephritis in rats

Methods : The experimental rats were assigned to four groups; normal, LPS, saline, HO-HA groups. LPS(2 mg/kg) was administered to the rats in LPS, saline and HO-HA groups to induce acute inflammatory kidney damage. Saline injection and HO-HA were administered at KI₁₀ three times a week.

Blood samples were taken from the rats for analysis of white blood cell(WBC), neutrophil, blood urea nitrogen(BUN), creatinine TNF- α , CINC-1. Urine samples were taken from the rats for analysis of urinal volume, creatinine and total protein. The kidney samples were taken from the rats for analysis of renal myeloperoxidase(MPO).

Results : HO-HA suppressed the increases of WBC and neutrophils in blood, BUN, creatinine, TNF- α and CINC-1 in serum, and MPO in kidney of LPS-stimulated rats. In addition, HO-HA inhibited the decrease of urinary volume in LPS-stimulated rats.

Conclusions : HO-HA has therapeutic effects on LPS-induced inflammatory kidney damage in rats. Further studies may be needed for clinical use of HO-HA.

Key words :
 Herbal-acupuncture;
 Nephritis;
 LPS;
 KI₁₀;
Hoelen

Received : 2014. 05. 13.
 Revised : 2014. 05. 28.
 Accepted : 2014. 06. 03.
 On-line : 2014. 06. 20.

* Corresponding author : Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Daejeon University, 62, Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon, 300-716, Republic of Korea
 Tel : +82-42-280-2610 E-mail : docwindy@dju.kr

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The Acupuncture is the Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. (<http://www.TheAcupuncture.org>)

Copyright © 2014 KAMMS. Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. All rights reserved.

I. 서 론

의학은 일반 과학의 진보에 힘입어 최근 비약적인 발전을 하였다. 그 과정에서 윤리적 논쟁이 있지만, 의학 발전에 중요한 역할 중 하나가 동물 실험으로, 사람에게 적용하기 전에 동물을 통하여 안전성과 효과를 연구하기 위한 방법이다¹⁾. 韓醫學도 현대의 의학이기에 과학적 규명이 필요한 부분이 있다. 현대 과학으로 아직까지 규명하지 못하는 부분이 많지만, 가능한 부분은 모두 연구할 필요가 있다. 대표적으로 經絡은 과학으로 규명하기 쉽지 않은 분야이다. 그러나 현상적으로 효과가 존재하고, 수천 년간 치료의 근간이 된 이론이기에 존재 자체를 부정할 수 없다²⁾. 經絡 이론 기반에서 판단하면, 동물에게도 경락이 존재한다는 사실은 의심할 수 없는 사실이다³⁾.

五臟중 腎臟은 《黃帝內經·素問》에서 “腎者主水 受五臟六府之精而藏之 故五臟盛 乃能寫”, “腎者 主蛰 封藏之本 精之處也 其華在髮 其充在骨 爲陰中之少陰 通於冬氣”⁴⁾라고 하여 五臟六腑의 뿌리가 되는 장부이다. 이러한 신장에 발생하는 질환은 다양하지만, 신장관련 질환 중 신장의 염증성 질환 범주에 해당하는 질환은 임상에서 자주 나타난다⁶⁾.

급성 신장염은 통상적으로 신원(nephron)의 급성 염증에 의하여 육안 혹은 현미경적 혈뇨와 단백뇨, 부종, 고혈압이나 사구체 여과율 감소 등 급격한 신장 기능 악화에 의한 증상이 출현하는 질환군인데, 곧 급성으로 신장에 염증이 생기는 전체적인 질환을 의미한다. 급성 신장염에 대한 서양의학의 치료방법은 감염에 의한 것은 항생제 등을 투여하며, 이외의 것은 대증치료만 존재한다⁷⁻¹⁰⁾.

한의학의 치료법 중 현대에 들어와서 새롭게 생긴 藥鍼 시술을 통하여 穴位의 치료효과와 藥物의 치료효과를 동시에 얻을 수 있다. 본 연구에서 穴位는 足少陰腎經 중 合穴이면서 本經의 속성인 水의 속성을 가진 陰谷¹¹⁻¹³⁾을, 약물은 利水滲濕 작용이 있다고 알려진 白茯苓¹⁴⁻¹⁶⁾을 선택하여 신장염의 치료효과에 대한 연구를 진행하였다.

기존의 한의학적 실험 연구로는 구맥¹⁷⁾·차전자¹⁸⁾·적소두¹⁹⁾약침을 음극 상응부위에 시행하여 유효한 효과를 보인 보고가 있다. 백복령의 신장염에 관련된 연구로는 Moon et al²⁰⁾의 白茯苓 전탕액 배수혈 약침이 정상 흰쥐의 신장 기능에 미치는 영향에 대한 연구, Yoo et al²¹⁾의 白茯苓 전탕액 경구투여가 정상 흰쥐의 신장 기능에 미치는 영향에 대한 연구가 존재하지만, 신장염에 대한 음극 백복령약침의 효과에 대한 연구 보고는 접하지 못하였다.

이에 저자는 백복령약침을 흰쥐의 음극 상응 부위에 시

술하고 lipopolysaccharide(LPS)로 흰쥐에 염증성 신 손상을 유발한 후, 신장염 및 그에 따른 신장 기능 손상에 대한 영향을 평가하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실 험

1. 재 료

1) 동 물

동물은 6주령의 웅성 Sprague Dawley(SD) rat을 (주) 대한바이오링크(경기도, 한국)에서 공급받아 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 실험 당일까지 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하고, 실험실은 실온(22±2 °C)과 습도 50~60 %을 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리규정을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 백복령(*Hoelen*; 이하 HO)는 대전대학교 한방병원에서 구입하여 실온에서 보관되었으며, 사용하기 전 초음파 세척을 실시하였다.

3) 시약 및 기기

(1) 시약

본 연구에 사용된 시약은 phosphate buffer saline (Sigma, USA), HBSS(Sigma, USA), lipopolysaccharide (Sigma, USA), absolute EtOH(Sigma, USA), tumor necrosis factor- α enzyme-linked immunosorbent assay kit(Oxford, USA), creatinine assay kit(Bio Assay Systems, USA), cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1 ELISA kit(ALPCO, USA), Myeloperoxidase ELISA kit(Cellscience, USA)이다.

(2) 기기

본 연구에 사용된 기기는 rotary evaporator(Eyela, Japan), ELISA reader(TARAN, Canada), sonicate (Fisher, USA), metabolic cage(B&P, Korea), cytological centrifuge(Hanil, Korea), micro centrifuge(Hanil, Korea)이다.

2. 방법

1) 약침액의 제조

분쇄기로 백복령 55 g을 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500 ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축 하였다. 농축액에 90 % ethyl alcohol 30 ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 80 % ethyl alcohol 30 ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 70 % ethyl alcohol 30 ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20 ml

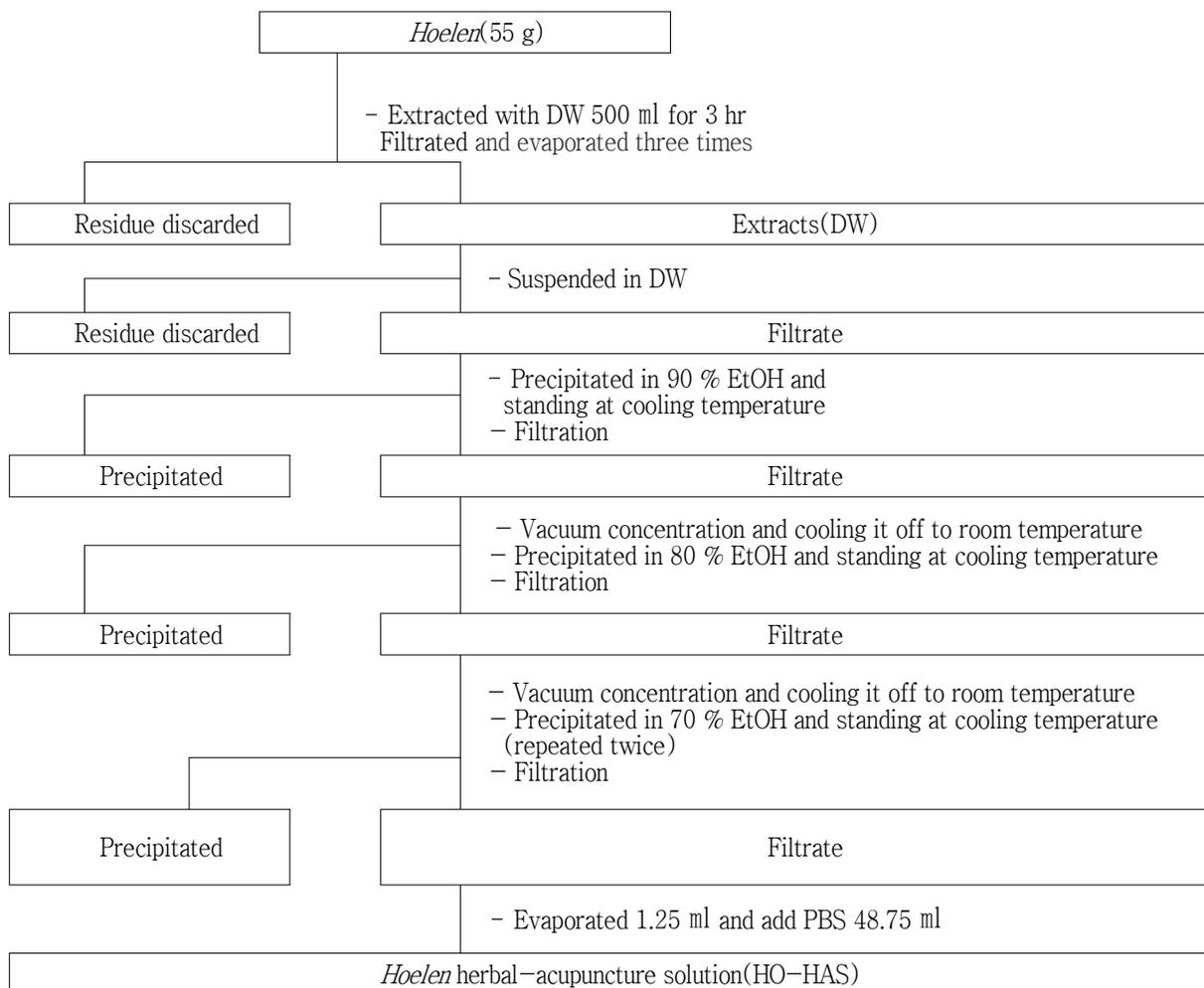
가 되게 하였다. 백복령 55 g으로부터 얻은 약침액을 감압 농축하여 수분을 모두 증발시켰을 때 건조분말은 0.128 g 이었다(수율 0.23 %). 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4 °C에서 12시간 방치한 후, 침전 물을 제거하기 위해 syringe filtering을 실시하였다. 여과 된 농축액에 phosphate buffered saline(PBS)를 첨가하여 2.5 %로 희석하여 약침액으로 사용하였다(Scheme 1).

2) 염증성 신 손상 동물 모델

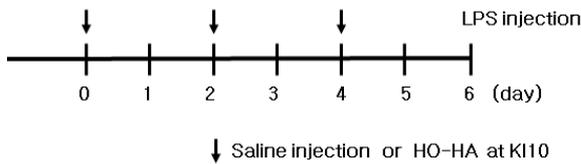
6주령 수컷 SD rat에 LPS(2 mg/kg)를 복강에 투여하여 염증성 신 손상을 유도하였다¹⁾.

3) 실험군 분류 및 처치

실험동물은 정상군(normal), LPS군(LPS), saline군(saline), 백복령약침군(HO-HA)의 4군으로 나누었으며, 각 실험군에는 실험동물을 8마리씩 배정하였다. 정상군을 제외한



Scheme 1. Manufacturing procedure of Hoelen herbal acupuncture solution



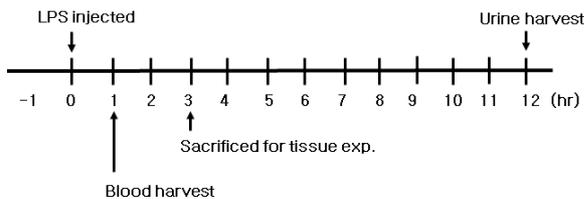
Scheme 2. Experimental procedure

LPS군, saline군, 백복령약침군은 각각 2 mg/kg의 LPS를 복강에 투여하였다. Saline군, 백복령약침군은 LPS 투여 전에 좌우 교대로 음곡(KI₁₀) 상응부위에 saline 주입 또는 백복령약침 처치를 격일로 3회 실시하였다(Scheme 2). 각 실험군에 대한 처치는 다음과 같다.

- ① 정상군(normal) : 아무 처치하지 않은 정상 SD rat
- ② LPS군(LPS) : 실험 당일 LPS를 2 mg/kg으로 복강 투여한 군
- ③ Saline군(saline) : 실험 전 saline 0.2 ml를 격일로 3회 음곡(KI₁₀) 상응 부위에 주입하고, 실험 당일 LPS 2 mg/kg을 복강에 투여한 군
- ④ 백복령약침군(HO-HA) : 실험 전 2.5 %의 백복령약침액 0.2 ml를 격일로 3회 음곡(KI₁₀) 상응부위에 주입하고, 실험 당일 LPS 2 mg/kg을 복강에 투여한 군

4) 샘플 채취

LPS 투여 1시간 뒤, 각 실험군에서 5마리의 혈액 sample을 채취하였으며, LPS 투여 3시간 후에는 혈액을 채취했던 동물 5마리를 sacrifice하여 신장을 적출하였다. 각 실험군의 나머지 3마리로부터 LPS 투여 후 12시간 동안 소변 sample을 채취하였다(Scheme 3).



Scheme 3. Acquisition of experimental samples

5) 결과분석

(1) 혈액 분석

LPS 처리 1시간 후 ethyl ether를 이용하여 rat를 마취하고 각 동물에서 4 ml의 혈액을 채취하였다. (주) 이원 임상검사센터(대전, 한국)에 의뢰하여 혈중 white blood cell(WBC) 및 WBC 중 neutrophils의 비율을 측정하였으며,

혈청 blood urea nitrogen(BUN)의 농도를 확인하였다. 혈청 TNF- α , cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1(CINC-1), creatinine의 농도는 ELISA kit을 이용하여 확인하였다.

(2) 배뇨량 측정

Metabolic cage에서 12시간동안 소변을 채취하여, 배뇨량을 측정하였다.

(3) 신장 내 염증활성 평가

LPS 처리 3시간 후, ethyl ether를 이용하여 rat를 마취하고 대동맥 혈관에 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 투여하여 방혈한 후 신장을 적출하였다. 적출된 신장조직은 0.010 % sodium azide가 첨가된 0.1 M phosphate buffer(pH7.4)를 넣고 sonicate(Fisher, USA)하여 잘게 간 후, 2000 × g에서 10분간 원심분리하였다. 분리된 supernatant는 -80 °C에서 보관하였다가 ELISA kit을 이용하여 myeloperoxidase(MPO)의 농도를 측정하였다.

(4) 통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(ver 18.0 KO)을 이용하였다. 결과값은 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 실험 결과는 Kruskal-Wallis test를 이용하여 분석한 후 Mann-Whitney U test를 이용하여 각 군간 차이를 확인하였다. 신뢰도 95 % 이상($p < 0.05$) 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 성 적

1. 혈액학적 분석

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고, 1시간 후에 rat의 혈액을 채취하여 red blood cell(RBC), WBC의 수와 WBC 중 neutrophil의 비율을 측정하였다.

1) WBC

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고, 1시간 후에 rat의 혈중 WBC 수를 측정하였다. LPS군의 혈중 WBC는 정상군보다 유의하게 증가하였다. Saline군과 백복령약침군의 혈중 WBC는 LPS군보다 유의하게 감소하였다(Fig. 1).

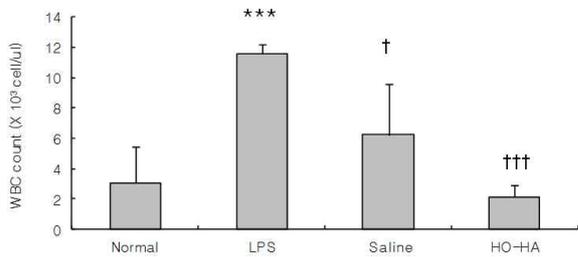


Fig. 1. Effect of HO-HA on WBC count in blood of LPS-stimulated rats

Normal : normal SD rat.

LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.

Saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 μ l/rat) injection at KI₁₀.

HO-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and HO-HA(2.5 %, 200 μ l /rat) at KI₁₀.

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

††† : $p < 0.001$, † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-Wallis test.

2) Neutrophil

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고, 1시간 후에 rat의 혈액을 채취하여 WBC 중 neutrophil 비율을 측정하였다. 백복령약침군에서 normal군, LPS군, saline군에 비하여 neutrophil 비율이 유의하게 감소하였다(Fig. 2).

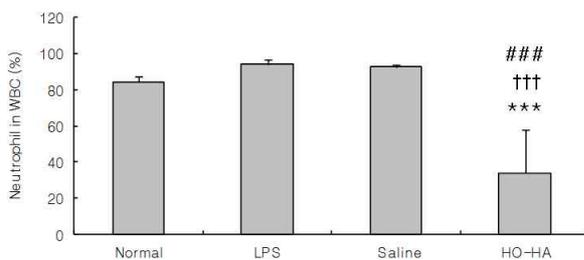


Fig. 2. Effect of HO-HA on neutrophil count in blood of LPS-stimulated rats

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

††† : $p < 0.001$ compared to LPS group by Kruskal-Wallis test.

: $p < 0.001$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

2. Blood chemistry

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고, 1시간 후에 rat의 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후, 혈청 BUN, creatinine, TNF- α 그리고 CINC-1의 농도를 측정하였다.

1) BUN

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고 1시간 후에

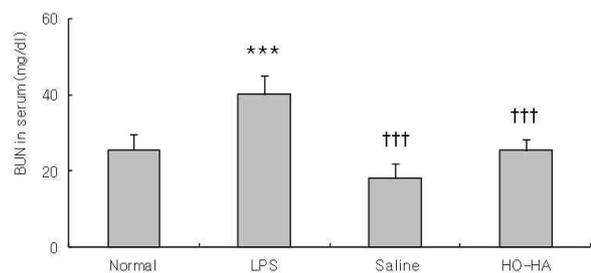


Fig. 3. Effects of HO-HA on serum BUN level in LPS-stimulated rats

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

††† : $p < 0.001$ compared to LPS group by Kruskal-Wallis test.

rat의 혈청 BUN 농도를 확인하였다. LPS군에서 정상군에 비하여 혈청 BUN 농도가 유의하게 증가하였다. Saline군과 백복령약침군에서는 LPS군에 비하여 혈청 BUN 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

2) Creatinine

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고 1시간 후에 rat의 혈청 creatinine 농도를 확인하였다. LPS군과 saline군에서 정상군에 비하여 혈청 creatinine이 유의하게 증가하였다. 백복령약침군에서는 LPS군 및 saline군에 비하여 혈청 creatinine 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 4).

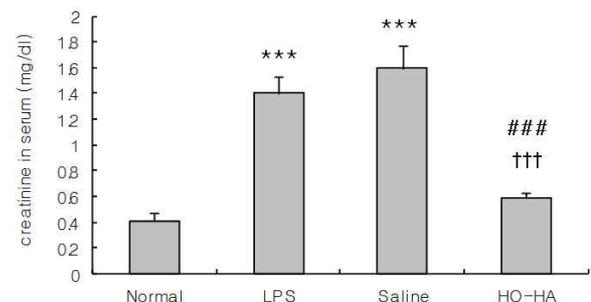


Fig. 4. Effects of HO-HA on serum creatinine level in LPS-stimulated rats

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

††† : $p < 0.001$, † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-Wallis test.

: $p < 0.001$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

3) TNF- α

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고 1시간 후에 rat의 혈청 TNF- α 농도를 확인하였다. LPS군, Saline군 및 백복령약침군에서 정상군에 비하여 혈청 TNF- α 가 유

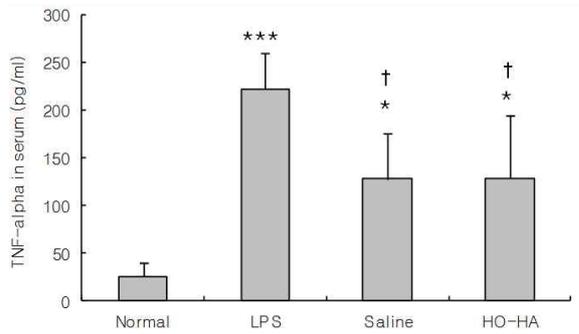


Fig. 5. Effects of HO-HA on serum TNF- α level in LPS-stimulated rats.
 *** : $p < 0.001$ ★ : $p < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.
 † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-Wallis test.

의하게 증가하였다. Saline군과 백복령약침군에서는 LPS군에 비하여 혈청 TNF- α 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

4) CINC-1

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고 1시간 후에 rat의 혈청 CINC-1 농도를 확인하였다. LPS군에서는 정상군에 비하여 혈청 CINC-1이 유의하게 증가하였다. 백복령약침군에서는 LPS군에 비하여 혈청 CINC-1 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

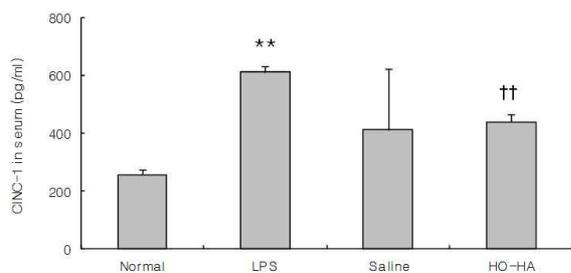


Fig. 6. Effects of HO-HA on serum CINC-1 level in LPS-stimulated rats
 ** : $p < 0.01$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.
 † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-Wallis test.

3. 배뇨량 측정

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고 12시간 동안 소변을 채취하여 배뇨량을 측정하였다. Saline군에서는 정상군에 비하여 배뇨량이 유의하게 감소하였다. 백복령약침군에서는 LPS군과 saline군에 비하여 배뇨량이 유의하게

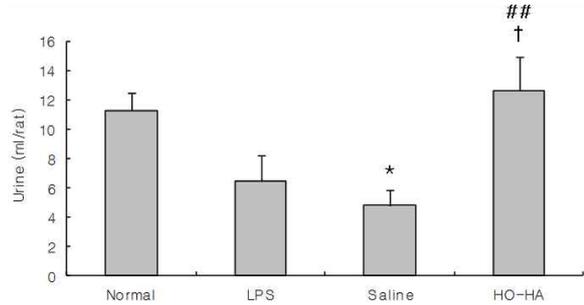


Fig. 7. Effect of HO-HA on urinary volume in LPS-stimulated rats
 ★ : $p < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.
 † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-Wallis test.
 ## : $p < 0.01$ compared to Saline group by Kruskal-Wallis test.

증가하였다(Fig. 7).

4. 신장 내 염증활성

Rat에 LPS로 염증성 신 손상을 유도하고 3시간 후에 신장을 적출하여 신장조직을 분획한 후 renal MPO의 농도를 측정하였다. LPS군, saline군, 백복령약침군은 정상군에 비하여 renal MPO가 현저하게 증가하였다. 백복령약침군의 renal MPO는 LPS군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

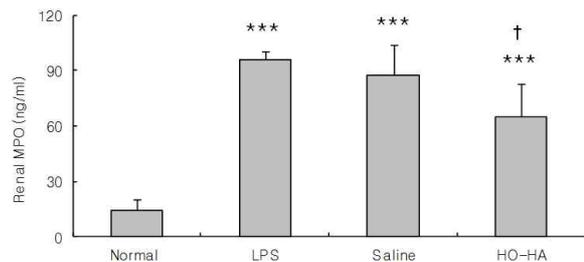


Fig. 8. Effects of HO-HA on renal MPO level in LPS-stimulated rats
 *** : $p < 0.001$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

IV. 고 찰

한의학에서 五臟 중 水에 배속된 腎臟은 해부학적으로도 신장(콩팥, kidneys)으로, 남자의 경우 대략 높이 10~11 cm, 폭 5.5~6 cm, 두께 2.5~4 cm, 무게는 약 150 g이 되는 내측면이 오목하고 외측면은 볼록한 강낭콩 모양의 구조를

가진 쌍으로 된 장기로 복막의 장기이다²²⁻²⁴. 신장은 해부 생리학적으로 혈중 노폐물을 배설하고 산염기 균형과 전해질 대사 등의 체내 항상성을 유지하는 기능을 한다. 양쪽 신장의 총 무게는 전체 체중의 약 0.4 %에 지나지 않지만 생명 유지에 매우 중요한 생리적 기능을 수행한다. 전체 심박출량의 20~25 %가 신장으로 유입되며, 정상적인 상태에서 신장은 하루에 혈액에서 대략 180~200 L에 이르는 원뇨를 걸러내고, 이 중 대략 99 %를 재흡수하여, 실제로 대략 1.8~2 L 정도를 소변으로 배출한다. 이 과정을 통해서 체내 수분량과 전해질 대사 등을 조절하여 항상성을 유지한다^{25,26}. 한의학적으로는 《黃帝內經》에서 “腎者主水, 受五藏六府之精而藏之, 故五藏盛, 乃能寫⁴⁾”, “腎者, 作強之官, 伎巧出焉⁵⁾”, “腎者, 主壙地藏之本, 精之處也; 其華在髮, 其充在骨; 爲陰中之少陰, 通於冬氣⁵⁾” 등으로 설명한다. 腎은 ‘先天之本’으로 《難經·四十二難》에서 “腎有兩枚, 重一斤一兩”이라 하여 형태와 무게를 설명하였고, 이런 내용이 해부학적 내용과 대조되어 신장(콩팥)과 같다고 본다. 한의학에서의 중요한 기능은 精을 藏하고, 水液과 骨을 주관하며, 髓를 生하고, 耳로 開竅하고, 前陰과 後陰을 다스리며, 그의 華가 髮에 있기 때문에 腎의 기능이 異常해지면, 生殖과 發育方面에 病態가 나타나고, 水液代謝가 障礙되며, 主骨生髓方面이 失調되면 이로 말미암아 허리가 나른해지고, 骨의 發育이 異常하게 되며, 혹은 呼吸과 聽力 및 頭髮에 異常이 나타나기도 한다²⁷⁾.

신장염 또는 사구체 신염(glomerulonephritis, GN)은 신장의 사구체나 작은 혈관들의 염증을 특징하는 일차성, 또는 이차성의 면역 매개성 질환이다. 급성 신장염(acute nephritis)은 중후군으로 신원(nephron)에 급성 염증이 발생하여 육안적 혹은 현미경적 혈뇨와 단백뇨, 부종, 고혈압 등의 증상이 발생하거나 사구체 여과율 감소 등의 급격한 신장 기능 악화에 의한 증상이 출현하는 질환을 통칭한다. 일반적으로는 인체가 다양한 자극에 대해 면역반응을 일으키고, 이 면역반응이 과도하여 신장에서 염증반응을 일으키는 중후군이다. 또한 급성 신장염을 일으키는 대부분의 질환은 또한 급성 진행성 신부전의 원인이 된다⁷⁻¹⁰⁾. 한의학적으로는 尿不利, 尿濁, 淋病 등의 범주와 증상이 같은데 小便淋瀝, 澀痛, 排尿困難, 頻尿短澀, 澀澀不盡, 排尿時刺痛, 小腹拘急 등의 증상이 나타난다⁷⁾.

급성 신염 중후군에 대한 한의학적 처치는 ‘陰虛則小便難, 小便澀者血因火燥, 熱在下焦填塞不便其澀, 小便澀而不渴時見躁者是也’와 같이 각각의 증상에 따른 원인이 제시되어 있으며, 이에 따른 辨證論治를 시행한다²⁸⁾.

현대에 들어와서 생리 藥劑療法은 침구요법과 약물요법을 결합한 신침요법의 일종이다. 기존 침법에 한약의 효능

을 더할 수 있도록 발전시킨 새로운 치료법으로 한약제제를 경혈의 자극수단으로 사용하는데 효과를 보다 극대화할 수 있는 치료법이다²⁹⁾.

陰谷(KI₁₀)은 少陰腎經의 10번째 경혈로 슬관절 후부의 내측 함요처에 위치하는데, 해부학적으로는 오금 횡문상에서 반힘줄모양근(semi-tendinous muscle)²³⁾과 반막모양근(semimembranous muscle)²³⁾ 사이에 위치한다. 腎經의 合水穴로 腎經·衝脈·陰維脈의 交會穴이다. 祛濕通復, 滋腎清熱, 疏泄厥氣, 利導下焦하는 효능이 있어 煩逆, 溺難, 小便急引, 陰痛, 陰萎, 腹脹滿不得息, 小便黃 등을 치료한다¹¹⁻¹³⁾.

白茯苓은 多孔菌科(구멍쟁이버섯과; Polyporaceae)에 속한 眞菌인 茯苓 *Poria cocos*(Schw.) Walf. (*Hoelen*)의 菌核을 건조한 것이다. 性은 平하고 無毒하며, 味는 甘淡하고, 心脾經에 귀경한다. 利水滲濕, 健脾寧心하는 효능을 가지고 있고, 水腫尿少, 痰飲眩暈, 脾虛食少, 便唐泄瀉, 心神不安, 驚悸失眠 등을 치료할 수 있다¹⁴⁻¹⁶⁾.

LPS는 지방과 다당류의 복합체로서 gram-negative bacteria의 외세포막의 주요 구성 성분으로, 치사독성, 발열 등의 각종 생물학적 활성을 나타낸다^{30,31)}. LPS는 강력한 면역활성화 인자로서 T세포의 분열과 성숙 및 분화를 자극하고 대식세포를 활성화한다. 활성화 대식세포는 oxidant와 protease를 분비하여 사구체 기저막을 손상시키고 섬유소 및 반월체를 형성시키며 IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α 등의 cytokine^{32,33)} 및 성장인자를 분비하여 사구체세포에서 세포의 기질형성을 자극하고³²⁾, 백혈구의 침윤 및 활성화에 관여하여 신 손상을 유도한다^{33,34)}.

본 실험에서는 rat의 陰谷 상응 부위에 격일로 3회 白茯苓약침을 시술한 후 LPS를 이용하여 염증성 신 손상을 유발하고 혈액분석, 배뇨량 측정, 신장 내 염증활성 분석 등을 통하여 陰谷 白茯苓약침이 염증성 신 손상에 미치는 영향을 관찰하였다.

Kim et al¹⁷⁾, Park et al¹⁸⁾, Kwak et al¹⁹⁾에 따르면 rat에 LPS를 투여한 후 serum TNF- α 는 초기 1시간에 크게 증가하고 이후 다시 감소하였으며, renal TNF- α 는 투여 3시간 후 유의하게 증가하였다고 하였다. TNF- α 는 여러 세포를 자극하여 다양한 효과를 나타내는 강력한 pro-inflammatory cytokine으로 염증반응의 급성기에 작용한다. TNF- α 는 주로 활성화된 대식세포에 의해 분비되는데, 보조 T세포, 자연살해세포, 그리고 뉴런 등의 다양한 세포에서도 분비된다. TNF- α 의 가장 중요한 역할은 면역세포의 조절이다. 또한 TNF- α 는 체내 발열원으로 열이 나게 유도하고, 혈관투과도를 증가시키며 혈관을 확장시키고, 호중구를 활성화시키며 특정 종양세포에 종양 파괴 효과를 나타낸다. 이러한 TNF- α 의 측정을 통해 신장의 염

증 유발을 확인할 수 있다. 이에, Kim et al¹⁷⁾, Park et al¹⁸⁾, Kwak et al¹⁹⁾의 선행연구보고를 근거로 본 실험에서 혈액분석은 LPS 투여 1시간 후에 시행하였고, 실험동물의 신장은 LPS 투여 3시간 후에 적출하였다.

본 실험에서는 陰谷에 saline을 주입하여 대조군으로 설정하였다. Normal saline의 시술이 단순 穴位 자극과 같다고 할 수는 없지만, 본 실험에서 투여된 normal saline의 양과 투여 방식은 normal saline이 약리적 효과를 일으켰다고 보기 어려운 수준이기에 穴位의 자극으로 판단하는 것이 합리적이다. 서양의학에서 normal saline 투여할 때는 탈수나, 다른 약물 투여 시 基劑로 사용하는 경우가 있으며, 정맥에 투여 시 소이는 체중 기준으로 1,000 ml/kg을 기준으로 투여량을 정한다. 즉, normal saline으로 체액의 균형을 조절할 때는 다량 투여하며, 그 외 약물 투여 시 基劑로 사용할 때는 약효에 영향을 미치지 않음을 시사하는 것으로 사료된다. 이에 단순 saline의 투여는 약물의 화학 작용이 없는 단순 穴位 자극으로 간주할 수 있다고 판단하였다³⁵⁾.

이런 기준으로 볼 때, 혈중 WBC 수가 saline군에서 LPS 군에 비하여 유의하게 감소한 것은 음곡의 경혈 효능으로 추정된다. 또한 백복령약침군에서 LPS군에 비하여 혈중 WBC 수가 유의하게 감소하였을 뿐 아니라 정상군에 유사한 수준으로 유지된 것은 경혈의 효능에 백복령의 약리적 효능이 더하여 작용한 결과로 추정된다(Fig. 1).

Neutrophil은 골수에서 생성되는 백혈구 중 호중구이다. 백혈구 중 가장 많은 비중으로, 세균감염이나 염증 발생 시 탐식작용을 통해 이를 제거하는 역할을 한다. 혈액에서 neutrophil 수치가 높아지면 감염이나 염증의 발생을 의미한다. 그러나 이 수치는 상황에 따른 변동의 여지가 많아서 절대적 지표는 아니다. 실험결과 백혈구 중 neutrophil의 비율은 정상군, LPS군, saline군 모두 비슷한 데 반해, 백복령약침군의 백혈구 중 neutrophil 비율은 다른 실험군에 비하여 절반 이하로 감소하였다(Fig. 2).

강력한 pro-inflammatory cytokine인 TNF- α 의 혈중 농도는 LPS군에 비해 saline군과 백복령약침군에서 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

TNF- α 는 유착분자의 발현을 유도하며 IL-1, IL-6, IL-8 등의 다른 cytokine 방출을 촉진한다. IL-1, IL-6은 패혈증을 유발하기도 하고, IL-8은 내피세포에서 분비되어 neutrophil을 유도하며 활성화시킨다. CINC-1은 IL-8 계열의 하나이며 neutrophil에 특화된 화학주성인자로 CINC-1을 측정하여 neutrophil의 활성화 정도를 평가할 수 있다³⁰⁾. 본 실험에서 혈중 CINC-1 분석 결과 saline군과 백복령약침군은 LPS군에 비하여 유의하게 감소하였다

(Fig. 6).

MPO는 골수구계세포의 1차 과립에 존재하는 효소로, 세균 등의 탐식 후, 산소의존성 살균에 중요한 효소로, 림프구계 세포에는 존재하지 않기 때문에 골수구계의 백혈병 등의 진단에 사용한다³⁶⁾. 본 연구에서 renal MPO의 측정 결과 LPS군에 비해 백복령약침군에서 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

이와 같이 음곡 상응 부위에 백복령약침을 시술한 경우 혈중 WBC 수, 백혈구 중 neutrophil의 비율, serum TNF- α , serum CINC-1, renal MPO 등, LPS 투여에 의한 염증반응이 유의하게 감소하였으며, 이는 음곡의 경혈 효능과 백복령의 약리적 효능이 상승작용을 하여 염증반응을 억제한 결과로 추정된다.

BUN은 non-protein nitrogen(NPN)의 약 반을 차지하며 신장기능 저하 때는 NPN과 비례하여 증가하므로 검사의 지표로 사용할 수 있다. Urea는 체내의 어디에나 골고루 퍼지는 성질이 있으므로 측정할 때는 serum, whole blood 어느 것을 재료로 쓰든 BUN 측정에는 별 차이가 없다. BUN이 상승하는 것은 대부분 신장 질환 또는 요도 폐색이 있어 배설이 잘 안 되될 때이다. 흔히 BUN이 상승하는 것은 신우신염, 진행된 신장경화, 신장결핵, 신피질의 피사, 만성 통풍 등의 경우이다³⁷⁾. Creatinine은 creatine의 탈수물이며 내인성 단백질대사의 종산물로서 신장으로 배설되는 질소 성분 중 가장 배설이 잘 되는 물질 중의 하나이다. Creatinine이 상승한다는 것은 심각한 신장 기능의 장애를 의미한다³⁷⁾. 본 실험에서 혈중 BUN은 LPS군에 비해 saline군과 백복령약침군에서 유의하게 감소하였고, 혈중 creatinine은 LPS군과 saline군에 비해 백복령약침군에서 유의하게 감소하였다(Fig. 3, 4).

소변분석 결과 이뇨활성이 LPS군과 saline군에 비해 백복령약침군에서 유의하게 증가하여 소변량이 정상 수준을 유지하였는데, 이는 핏뇨, 신기능 저하 등의 증상이 있는 급성 신장염에서 의미 있는 효능으로 판단되는 결과이다(Fig. 7).

본 실험에서 음곡 상응 부위에 시술한 백복령약침에 의하여 LPS를 투여한 rat의 혈중 BUN과 creatinine이 감소하고 배뇨량이 증가한 것은 LPS 투여 후 신 손상에 따른 신기능 저하를 음곡 백복령약침이 억제한 결과로 추정되며, 따라서 음곡 백복령약침은 신장의 보호와 신기능 회복에 유의한 효능이 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 정리하여 볼 때 LPS로 유발된 흰쥐의 염증성 신 손상에 陰谷의 경혈 속성과 白茯苓의 약리적 효능이 함께 작용하여 염증 반응과 신 손상에 따른 신기능 저하를 억제한 것으로 판단되며, 향후 이에 대한 지속적 연구와

함께 임상적인 연구가 동반되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

足少陰腎經의 合水穴인 陰谷(KI₁₀)에 시술한 白茯苓藥침의 신장염에 대한 효능을 알아보기 위하여 실험용 rat에 LPS로 염증성腎 손상을 유발하여 혈액분석, 혈액화학분석, 소변분석, 신장 내 염증분석을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 백복령약침군은 LPS군에 비하여 혈중 WBC 수, WBC 중 neutrophil 비율, 혈청 BUN, creatinine, TNF- α , CINC-1, renal MPO가 유의하게 감소하였으며, 이노활성이 유의하게 증가하였다.
2. 백복령약침군은 saline군에 비하여 WBC 중 neutrophil 비율, 혈청 creatinine이 유의하게 감소하였으며, 이노활성이 유의하게 증가하였다.

VI. References

1. Kim MS, Animal experimentation and deliberation. Chinju National University of Education. 2005.
2. Lee HJ. Traditional medical ideology of Korean oriental medicine and the development strategy through globalization. Acta Koreana. 2013 ; 51 : 333-55.
3. Go HK, In CS. Korean veterinary acupuncture. Seoul : Kyung Hee University Press. 1999 : 1-4, 29-42.
4. Lee GJ. *Somundaeyo Sanggocheonjinronpyeon Jeil*. Gyeonggi : Daeseongmunhwasa. 2003 : 20.
5. Lee GU. *Hwangjenaegyongsomun 1*. Seoul : Yeogang Publishing company. 1994 : 231, 263.
6. KOSIS. Inpatient benefits by frequency of disease (female) 2011 [Internet]. Daejeon : Statistics Korea ; c1990-2014. Available from : http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=350&tblId=DT_35001_A0781&conn_path=I2
7. Du HG. Nephro-endo system in internal medicine of oriental medicine(volume 1). Seoul : Dong-yanguihakeonguwon. 1993 : 85-97, 108-30 225-309, 312-3, 402-11.
8. Kurt J. Isselbacher. Harrison's principle of internal medicine. - 13th ed II. Seoul : Jeongdam. 1997 : 1349.
9. Beers Mark H, Bogin Robert M, Fletcher Andrew. The merck manual. Seoul : Hanuri. 2002 : 1993-7.
10. The Daegu Gyeongbuk Chapter of The Korean Society Of Pathologists. Essential physiology. Seoul : Jeongmungak. 1998 : 343-50.
11. Meridian & Acupoint Compilation Committee of Korean Oriental Medical Colleges. Principles of meridians & acupoints : a guidebook for college students. Daejeon : JongRyeoNaMu. 2012 : 285-315.
12. Meridian & Acupoint Compilation Committee of Korean Oriental Medical Colleges. Detail of meridians & acupoints : a guidebook for college students. Daejeon : JongRyeoNaMu. 2012 : 634-6.
13. Jeong HW, Park HS. MPS and acupuncture, acupoints. Seoul : Iljungsae . 1999 : 287-8.
14. Lee SJ. *Wonhae Bonchogangmok*. Seoul : Gmunasa. 1987 : 1224-6.
15. Kang BS et al. Herbology. Seoul : Youngrimsa. 1998 : 302-4
16. Sin GG. Detail of Sin's herbology. Seoul : Sumunsa. 1988 : 357-62.
17. Kim KM, Lee H, Kang HJ, Lee YH, Yim YK. Anti-inflammatory effect of dianthi semen herbal-acupuncture at KI₁₀ on nephritis in rats. Korean Journal of Acupuncture. 2009 ; 26(1) : 61-77.
18. Park BM, Hur B, Yim YK. Anti-inflammatory effect of *Plantaginis semen* Herbal-acupuncture at KI₁₀ on LPS-induced nephritis in rats. Korean Journal of Acupuncture. 2009 ; 26(2) : 127-43.
19. Kwak KI, Kang JH, Lee H. The effect of *Phaseoli Semen* herbal-acupuncture at KI₁₀ in lipopolysaccharide induced acute nephritis in rats. The Acupuncture. 2013 ; 30(3) : 61-73.
20. Moon BW, Lee HS. Effects of aqua-acupuncture of hoelen water extract on the renal function in rats. Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society. 1997 ; 14(2) : 199-207.
21. Yoo YJ, Lee HS. Effect of polyporus umbellatus and hoelen water extracts on the renal function,

- plasma renin activity and plasma levels of atrial natriuretic peptide and aldosterone in rats. Wonkwang-Oriental Medicines Research Institute. 1996 ; 6(1) : 1-14.
22. Keith L Moore et al. Kim GR, Kim DJ, Kim MJ. Clinically oriented anatomy 6/e. Seoul : Sinheung Medscience. 2010 : 224-5, 301-4.
 23. Jeong IH. Human anatomy 2/e. Seoul : Academy Book. 1996 : 414-8, 517-8.
 24. L Carlos Junqueira et al. Park KA et al. Histology. Seoul : Korea Medical Book. 1992 : 497-8.
 25. William F Ganong. Review of medical physiology. Seoul : Hanuri. 2000 : 751, 756-82.
 26. Lee SG. Human physiology. Seoul : Gyechukmunhwasa. 1998 : 43, 239-43, 280-93.
 27. Kim WH, Choe DY. *Jangbubyeonjeungnonchi*. Seoul : Seongbosa. 1996 : 281-8.
 28. Hur J. *Donguibogam*. Seoul : Bubin Publishers. 1999 : 328-31, 399-409, 412-25.
 29. Korean Pharmacopuncture Institute Science Committee. Pharmacopunctureology. Seoul : Elsevier Korea. 2008 : 3-8.
 30. Watanabe K, Koizumi F, Kurashige Y, Tsurufuji S, Nakagawa H. Rat CINC, a member of the interleukin-8 family, is a neutrophil-specific chemoattractant in vivo. *Exp Mol Pathol*. 1991 Aug ; 55(1) : 30-7.
 31. Choi WI, Kwon KY, Seo JW, John Beagle, Deborah A Quinn, Charles A Hales. The role of phosphodiesterase 3 in endotoxin-induced acute kidney injury. *BMC Infect Dis*. 2009 ; 9 : 80. Published online 2009 June 1.
 32. The Korean Society of Nephrology. Clinical nephrology. Seoul : Gwangmun Publishers. 2005 : 199.
 33. Matsukawa A, Ohkawara S, Maeda T, Takagi Y, Yoshinaga M. Production of IL-1 and IL-1 receptor antagonist and the pathological significance in lipopolysaccharide induced arthritis in rabbit. *Chin Exp. Immunol*. 1993 : 93, 206-11.
 34. Seoul National University College of Medicine. Nephrology and urology. Seoul : Seoul University Press. 2005 : 213-4.
 35. Continuing Education Center for Advanced Medicine. Family medicine. Seoul : Seoul University Press. 2011 : 1198-9.
 36. Malle E, Buch T, Grone HJ. Myeloperoxidase in kidney disease. *Kidney International*. 2003 ; 64(6) : 1956-67.
 37. Lee SY, Jeong YS, Kwon OH, Song KS. Examination of medical technology. Seoul : Yonsei University Press. 2000 : 51-2, 80-2, 234-41, 618-9.