



신수(BL23) 택사약침이 Cisplatin으로 유발된 급성신부전 백서에 미치는 영향

김명식¹ · 김재홍¹ · 윤대환² · 정현우³ · 조명래¹

¹동신대학교 한의과대학 침구의학교실, ²동신대학교 한의과대학 경혈학교실, ³동신대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of *Alismatis Rhizoma* Pharmacopuncture at BL23 on Cisplatin-Induced Acute Renal Failure in Rats

Myung Sik Kim¹, Jae Hong Kim¹, Dae Hwan Youn², Hyun Woo Jeong³, Myoung Rae Cho¹

¹Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Korean Medicine, Dongshin University,

²Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Dongshin University,

³Department of Pathology, College of Korean Medicine, Dongshin University

Objectives : This study was designed to investigate the effects of *Alismatis Rhizoma* (AR) pharmacopuncture at BL23 on acute renal failure induced by cisplatin. **Methods :** The Sprague-Dawley rats were divided into Normal group (no injection of cisplatin and no treatment), Control group (cisplatin injection without treatment), Acu group (needling at BL23 after cisplatin injection), AR-PA1 group (treated with 0.3571 mg/kg/20 μ l of AR pharmacopuncture at BL23 after cisplatin injection), and AR-PA2 group (treated with 1.7855 mg/kg/20 μ l of AR pharmacopuncture at BL23 after cisplatin injection). Each treatment was given once daily for 8 days. Changes in body weight, kidney weight, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), Cu-Zn superoxide dismutase (Cu-Zn SOD), glutathione peroxidase (GPx), serum blood urea nitrogen (serum BUN), and serum creatinine were observed. **Results :** Body weight was significantly increased in AR-PA1 on 4th and 6th days and AR-PA2 on 2nd day. TNF- α was significantly decreased in Acu, AR-PA1 and AR-PA2 groups. Cu-Zn SOD was significantly increased in AR-PA2 group. GPx was significantly increased in AR-PA1 and AR-PA2 groups. But kidney weight, IL-6, serum BUN and serum creatinine were not significantly changed in any groups compared to control group. **Conclusions :** In acute renal failure induced by cisplatin, AR pharmacopuncture has a mitigating effect on the inflammatory reaction related to the increase of TNF- α in the kidney tissue and a protective effect on the oxidative stress of the kidney tissue. However it is unlikely to restore the glomerular function or inhibit the renal swelling.

Key words : *Alismatis Rhizoma*, Pharmacopuncture, BL23, Cisplatin, Acute renal failure

서론

급성신부전(Acute renal failure, ARF)은 신장의 급격한 배설기능 저하로 인해 핏뇨 또는 무뇨를 나타내는 증후군이며 수분, 염분,

체내 BUN, creatinine의 급격한 상승이 나타난다¹⁾. 신장독성 약물의 사용은 급성신부전의 흔한 원인 중 하나로²⁾, 그 중 하나인 cisplatin은 단독 혹은 다른 항암제와의 병용으로 난소암, 고환암, 방광암, 두경부암, 자궁경부암, 폐암, 골육종, 신경모세포종 등 가장

Received February 21, 2019, Revised March 8, 2019, Accepted March 11, 2019

Corresponding author: **Myoung Rae Cho**

Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, Dongshin Korean Medicine Hospital, 351 Concave road, Yangcheon-gu, Seoul 07999, Korea
Tel: +82-2-2640-2714, Fax: +82-2-2640-2727, E-mail: mrcho63@hanmail.net

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

광범위하게 쓰이는 항암제이나, 치료받은 사람의 25%에서 신장기능 장애가 나타난다³⁾.

한의학에서 급성신부전은 關格, 水腫, 癃閉, 小便不通의 범주에 속하며, 濕熱阻滯로 인한 膀胱의 氣化失常을 가장 큰 원인으로 본다. 최근 임상에서는 대개 병기에 따른 辨證施治를 통해 치료하는데, 쇼크기에는 脫證, 亡陽에 속하는 치료를, 전해질이상기에는 宣肺通調水道, 溫補脾腎利水, 宣氣化滌利水를, 다뇨기에는 益氣養陰의 치법을 위주로 쓴다⁴⁾.

澤瀉(*Alismatis Rhizoma*)는 택사과에 속하는 다년생 沿澤植物로 性은 寒하고 味는 甘하며 腎, 膀胱經에 귀경하여 小便不利, 水腫, 泄瀉, 淋瀝, 帶下, 痰飲 등을 치료한다⁵⁾. 또한 腎經의 相火를 泄하고 膀胱의 熱을 瀉하여 利水, 去濕, 泄熱의 要藥이다⁶⁾.

背俞穴이란 장부의 경기가 輸通而注入하는 곳으로 장부기능의 조정 작용이 우수하여 장부병의 진단, 치료에 사용할 뿐 아니라 유관조직과 오관질환에 多用된다. 신수(BL23)는 足太陽膀胱經 제1선상에 위치한 腎의 背俞穴로 滋補腎陰, 納氣利水, 益水壯火하여 腎, 膀胱, 泌尿生殖器, 下焦의 제반 질환을 主治한다⁷⁾.

이에 신수(BL23) 澤瀉약침이 cisplatin으로 유발된 급성신부전에 미치는 영향을 알아보기 위해, 백서에 cisplatin을 주입하여 급성신부전을 유발시킨 후, 澤瀉약침을 신수(BL23) 상응 부위에 1회/1일 8일간 시술하고, 체중, 신장무게, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), Cu-Zn superoxide dismutase (Cu-Zn SOD), glutathione peroxidase (GPx), serum BUN (serum blood urea nitrogen) 및 serum creatinine 변화를 관찰하여 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물: 약 160~180 g 체중의 Sprague Dawley계의 백서를 항온항습(실내온도 24~26°C, 습도 40~60%) 환경의 사육장내에서 물과 고형사료(Pellet, GMO, 한국)를 충분히 공급하면서 실험실 환경에 1주일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2) 약침 제조: 동신대학교 부속광주한방병원에서 구입한 택사(*Alismatis Rhizoma*, 澤瀉) 200 g을 증류수 1,200 ml과 함께 3시간 동안 끓여 원심분리기(CentriCon T-42K, Italy)로 30분간 5,000 rpm에서 원심 분리하여 상층액을 취하였다. 상층액은 rotary evaporator (Buchi, Netherlands)를 이용하여 100 ml로

감압 농축하였으며, 농축한 약침을 동결건조기(Samwon, Korea)로 -80°C에서 동결 건조시켰다. 이를 통해 최종적으로 25 g의 시료를 얻었다. 실험군에 따라 시료를 각각 생리식염수로 희석한 후, pH meter (Orion, USA)을 사용하여 산도를 pH 7로 조절하여 냉장 보관하였다가 시술시 사용하였다.

2. 방법

1) Acute Renal Failure (ARF) 유발: 사육환경에서 적응시킨 후 cisplatin (Sigma, USA) 5 mg/kg을 saline에 녹여 복강에 1회 주사하여 ARF를 유발하였다. 유발 5시간 후부터 침자 및 약침을 시술하였다.

2) 군 분리: 실험군은 ARF를 유발하지 않고 무처치한 Normal군(n=5), ARF를 유발시킨 후 무처치한 Control군(n=5), ARF를 유발시킨 후 신수(BL23)에 자침한 Acu군(n=5), ARF를 유발시킨 후 신수(BL23)에 0.3571 mg/kg/20 μ l의 농도로 澤瀉약침을 시술한 AR-PA1군(n=5), ARF를 유발시킨 후 신수(BL23)에 1.7855 mg/kg/20 μ l의 농도로 澤瀉약침을 시술한 AR-PA2군(n=5)으로 나누었다.

3) 취혈 및 처치: 백서의 신수(BL23)는 제 2·3요추 극돌기 사이 요함처에서의 수평연장선과, 견갑골의 내측모서리 연장 수직선과 만나는 가상의 위치를 정한 뒤, 제 2·3요추 극돌기 사이 요함처와 가상의 위치간의 중점으로 인체와 상응하는 부위에 취하였다⁸⁾.

침자 및 약침 처치는 ARF 유발 후 5시간째부터 1회/일 간격으로 동일 시간대에 신수(BL23) 좌·우측에 총 8회 시술하였다. 약침은 insulin syringe (31G×8 mm, BD, USA)을 사용하여 각각의 혈위에 20 μ l를 주입하였다. 또한 Acu군은 신수(BL23)에 약침액을 시술하지 않고 insulin syringe만 자입하였다.

4) 체중 및 신장 무게 측정: 체중은 전자저울(CAS, China)을 사용하여 실험기간 중 1회/2일 씩 동일 시간대에 개체별 무게를 측정하였으며, 실험 종료 후 좌측, 우측 신장을 적출하여 renal hilum에 위치한 신정맥 및 신동맥 등을 제거한 후 무게를 측정하였다.

5) 채혈 및 혈청학적 검사: 약침처치 종료 3일 후 심장 천자하여 혈액을 채취하였으며, 채혈에 의하여 얻어진 혈액에서 원심분리기(VS 6000CFI, Vision, Korea)를 이용하여 20분간 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 얻었으며, 이를 이용하여 BUN (mg/dl), creatinine (mg/dl) 등 혈청학적 검사(Dri-chem 4000i, Fujifilm, Japan)를 시행하였다.

6) Total RNA 분리와 Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) analysis

(1) Total RNA 분리: 채혈이 끝난 후 신장을 적출하여 신장 조직

을 급속 냉동시켜 분석할 때까지 -70°C 에서 보관하였다. Total RNA의 분리는 신장 조직(200 mg)을 800 μl Trizol Reagent (Lifetechnologies, U.S.A.)로 균질화하고 균질액에 200 μl 의 chloroform (Sigma, U.S.A.)을 가하여 15초 동안 흔들어서 잘 혼합한 뒤, 실온상태에서 5분 방치한 후 세포 유잔물을 제거하기 위해 5분 동안 4°C , 14,000 rpm에서 원심분리 하였다. 원심분리로 얻어진 상층액과 500 μl 의 isopropanol (sigma, USA)을 첨가하여 5분 동안 실온상태에서 방치한 후 RNA pellet을 얻기 위해 8분간 4°C , 14,000 rpm에서 원심분리하고, 원심분리로 생긴 pellet에 냉장 보관된 70% ethanol과 DEPC를 함께 넣고 5분간 4°C , 7,500 rpm에서 원심분리 후 pellet만 남기고 모두 제거하고, 남은 ethanol은 5분간 실온에 건조한 다음 DEPC-treated water에 녹여 spectrophotometer (Eppendorf, Germany)에서 OD260 값을 읽어 RNA의 순도 및 농도를 정량하였다.

(2) Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) analysis: 분리된 total RNA 5 μg 과 DEPC-treated water, 2.5 μl Oligo (dT)를 RT premix (Bioneer, Korea)에 넣고 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)를 이용하여 PCR 증폭을 위한 template로 50 μl cDNA를 합성하여 사용하였다. 이때 housekeeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (sense primer: 5'-ACTCCATCACCATCTTCCAG-3', antisense primer: 5'-CCTGCTTTCACCACCTCCTTG-3')를 internal control로 사용하였다. Reverse transcription temperature cycle은 1시간 동안 42°C 에서 cDNA synthesis, 5분 동안 94°C 에서 denature 그리고 5분 동안 4°C 에서 cooling하는 단계를 거쳤다. Polymerase chain reaction은 PCR premix (Bioneer, Korea)에 cDNA, 10pg sense primer, 10pg antisense primer, DEPC-treated water를 넣었다. PCR temperature cycle은 cDNA의 증폭을 위하여 300초 동안 95°C 에서 pre-denaturation, 40초 동안 94°C 에서 melting, 40초 동안 55°C 에서 annealing, 90초 동안 72°C 에서 extension하는 과정을 34회 반복하여 수행하고, 마지막 cycle에서 600초 동안 72°C 에서 extension 단계를 거쳐 TNF- α 유전자증폭은 primer (senseprimer: 5'-ATGAGCACAGAAAGCATGATC-3', antisense primer: 5'-TACAGGCTTGCTCACTCGAAT-3'), IL-6 유전자증폭은 primer (senseprimer: 5'-TGCTGGTGACAACAACGGCC-3', antisense primer: 5'-GTACTCCAGAAGACCAGAGG-3'), Cu-Zn SOD 유전자증폭은 primer (senseprimer: 5'-GCAGAAGGCAAGCGGTGAAC-3', antisense primer: 5'-TAGCAGGACAGCAGATGAGT-3'), glutathione peroxidase (GPx) 유전자증폭은 primer (senseprimer:

5'-CTCTCCGCGGTGGCACAGT-3', antisense primer: 5'-CCACCACCGGGTCCGACTAC-3') 이용하여 Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany)에서 시행하였다.

Greenview nucleic acid gel stain (IO Rodeo, 1:10,000)를 포함한 1.5% agarose gel상에서 위의 방법으로 증폭된 TNF- α , IL-6, Cu-Zn SOD, GPx의 DNA를 0.5x TBE buffer (80 mM Tris-HCL, 80 mM boric acid, 2 mM EDTA, pH 8.3)로 100 V에서 전기 영동시켜 관찰한 후 Image Station (Samsung, Korea)을 이용하여 촬영하였고, Alphaease FC StandAlone Software (Alpha Innotech, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계처리

실험 성적은 평균값과 표준오차(mean \pm S.E.)로 표시하였다. 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS (version 21, SPSS)를 이용하였으며, 비모수적 방법 Mann-Whitney U test를 시행하였다⁹⁾. 실험군간의 통계적 유의성은 p 값이 0.05 이하인 경우를 유의성 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 체중 변화에 미치는 영향

Control군은 Normal군에 비하여 2일째($p<0.05$), 4일째($p<0.01$), 6일째($p<0.01$), 8일째($p<0.01$)에 유의하게 감소하였고, AR-PA1군은 4일째($p<0.05$), 6일째($p<0.05$)에, AR-PA2군은 2일째($p<0.01$)에 control군에 비해 유의한 증가를 보였다(Fig. 1).

2. 신장무게 변화에 미치는 영향

Control군은 Normal군에 비해 우측신장무게가 유의하게 증가하였고($p<0.05$), 다른 모든 실험군에서는 control군에 비해 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 2).

3. TNF- α 변화에 미치는 영향

Normal군에서는 103.6 ± 3.40 ($\times 1,000$ O.D.), control군은 133.6 ± 7.72 ($\times 1,000$ O.D.), Acu군은 103.1 ± 2.05 ($\times 1,000$ O.D.), AR-PA1군은 114.7 ± 1.91 ($\times 1,000$ O.D.), AR-PA2군은 113.2 ± 1.59 ($\times 1,000$ O.D.)을 나타내었다.

Normal군에 비하여 control군에서 유의하게 증가하였으며($p<0.01$), Acu군($p<0.01$), AR-PA1군($p<0.05$), AR-PA2군($p<0.05$)은 Control군에 비해 유의한 감소를 보였다(Fig. 3).

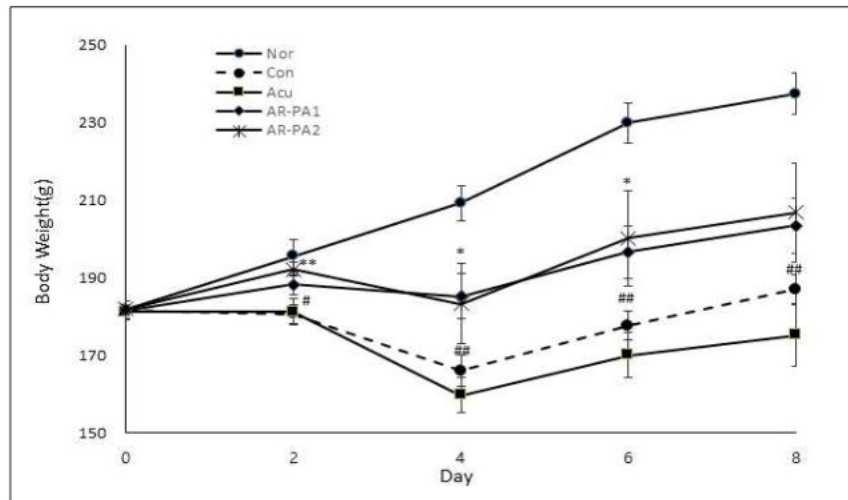


Fig. 1. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the body weight in cisplatin-induced acute renal failure (n=5).

Normal, group with no injection of cisplatin and no treatment; Control, group with no treatment after injection of cisplatin; Acu, group treated with acupuncture at BL23 after injection of cisplatin; AR-PA1, group treated with 0.3571 mg/kg/20 μl concentration of AR pharmacopuncture at BL23 after injection of cisplatin; AR-PA2, group treated with 1.7855 mg/kg/20 μl concentration of AR pharmacopuncture at BL23 after injection of cisplatin. Results are expressed as mean±S.E. * $p < 0.05$ (** $p < 0.01$) statistically significant as compared with the control group. # $p < 0.05$ (## $p < 0.01$) statistically significant as compared with the Normal group.

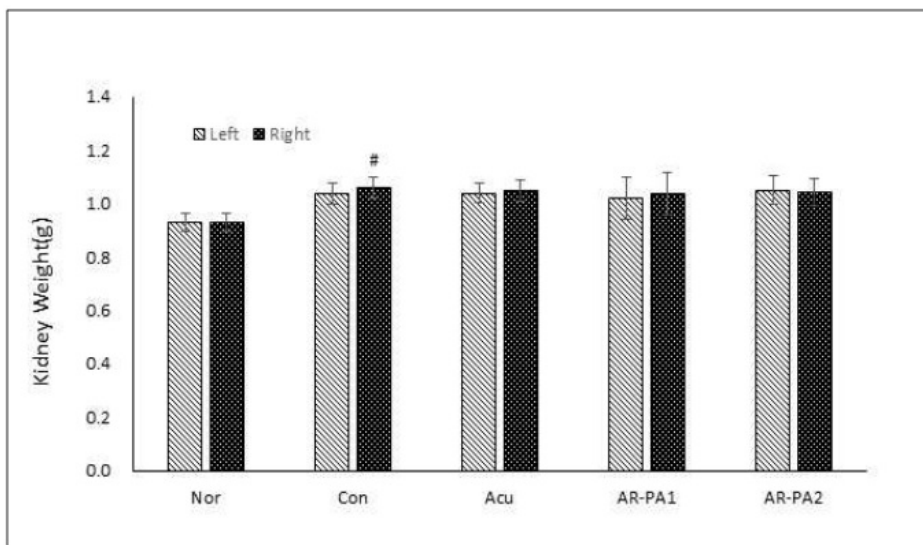


Fig. 2. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the kidney weight in cisplatin-induced acute renal failure (n=5).

Refer to Fig. 1 for groups. Results are expressed as mean±S.E. # $p < 0.05$ statistically significant as compared with the Normal group.

4. IL-6 변화에 미치는 영향

Normal군에서는 106.5 ± 5.23 ($\times 1,000$ O.D.), Control군은 127.9 ± 5.69 ($\times 1,000$ O.D.), Acu군은 125.4 ± 4.71 ($\times 1,000$ O.D.), AR-PA1군은 132.1 ± 6.51 ($\times 1,000$ O.D.), AR-PA2군은 130.5 ± 4.97 ($\times 1,000$ O.D.)을 나타내었다.

Normal군에 비해 Control군에서 유의하게 증가하였고($p < 0.05$), 다른 모든 실험군에서는 Control군에 비하여 유의한 변화를 보

지 않았다(Fig. 4).

5. Cu-Zn SOD 변화에 미치는 영향

Normal군에서는 130.4 ± 4.73 ($\times 1,000$ O.D.), Control군은 120.6 ± 5.18 ($\times 1,000$ O.D.), Acu군은 112.2 ± 6.67 ($\times 1,000$ O.D.), AR-PA1군은 127.4 ± 5.97 ($\times 1,000$ O.D.), AR-PA2군은 138.6 ± 5.45 ($\times 1,000$ O.D.)을 나타내었다.

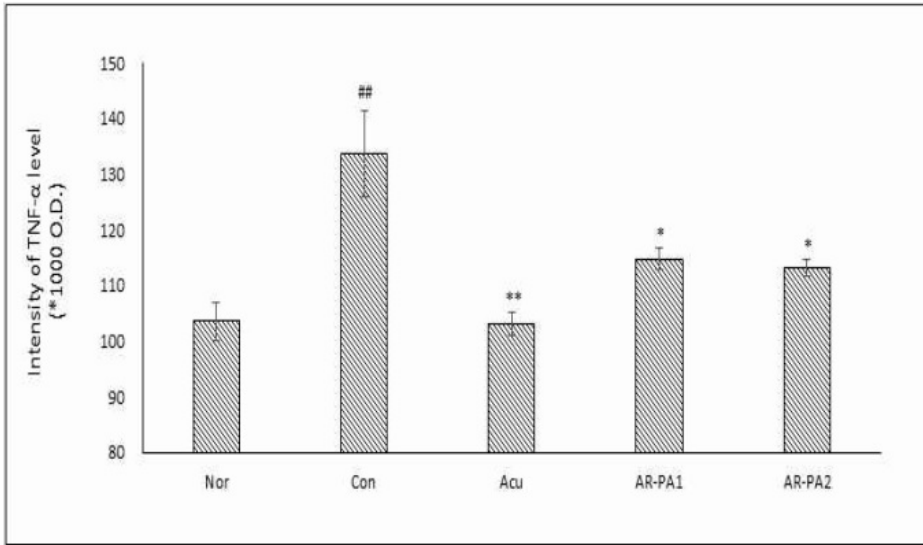


Fig. 3. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the TNF- α in cisplatin-induced acute renal failure (n=5).

Refer to Fig. 1 for groups. Results are expressed as mean \pm S.E. * p <0.05 (** p <0.01) statistically significant as compared with the Control group. ## p <0.01 statistically significant as compared with the Normal group.

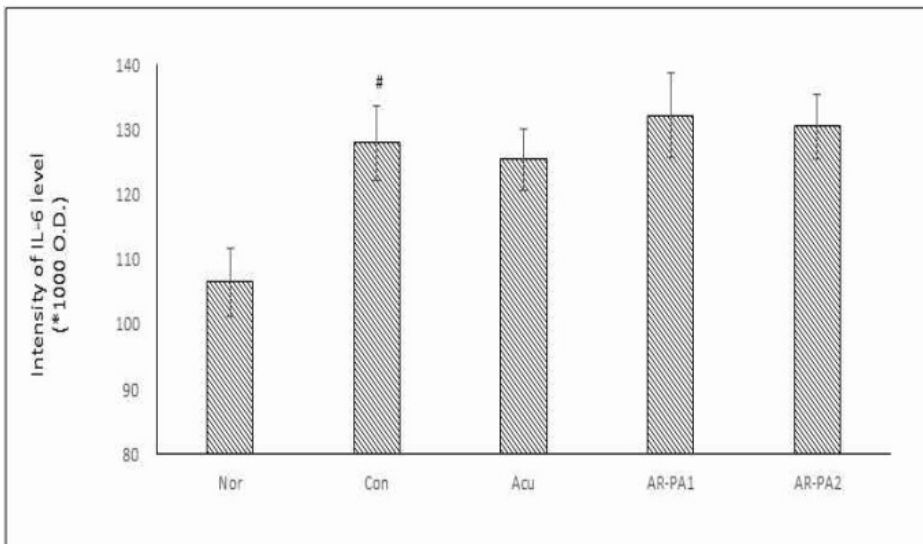


Fig. 4. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the IL-6 in cisplatin-induced acute renal failure (n=5).

Refer to Fig. 1 for groups. Results are expressed as mean \pm S.E. # p <0.05 statistically significant as compared with the Normal group.

Control군에 비해 AR-PA2군에서 유의한 증가를 보였다(p <0.05) (Fig. 5).

6. GPx 변화에 미치는 영향

Normal군에서는 124.2 \pm 3.75 (\times 1,000 O.D.), Control군은 120.9 \pm 3.42 (\times 1,000 O.D.), Acu군은 118.8 \pm 3.83 (\times 1,000 O.D.), AR-PA1군은 145.5 \pm 4.67 (\times 1,000 O.D.), AR-PA2군은 133.6 \pm 4.20 (\times 1,000 O.D.)을 나타내었다.

Control군에 비하여, AR-PA1군(p <0.01), AR-PA2군(p <0.05)에서 유의한 증가를 보였다(Fig. 6).

7. 혈청 BUN 변화에 미치는 영향

Normal군에서는 10.1 \pm 0.57 mg/dl, Control군은 25.9 \pm 2.08 mg/dl, Acu군은 39.5 \pm 6.02 mg/dl, AR-PA1군은 25.4 \pm 6.28 mg/dl, AR-PA2군은 31.4 \pm 9.90 mg/dl을 나타내었다.

Normal군에 비하여, Control군에서 유의하게 증가하였으며 (p <0.01), Control군에 비해 모든 실험군에서 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 7).

8. 혈청 creatinine 변화에 미치는 영향

Normal군에서 0.12 \pm 0.020 mg/dl, Control군은 0.40 \pm 0.027 mg/dl, BL23-1군은 0.36 \pm 0.060 mg/dl, BL23-2군은 0.34 \pm 0.103 mg/dl, BL23-3군은 0.36 \pm 0.125 mg/dl을 나타내었다.

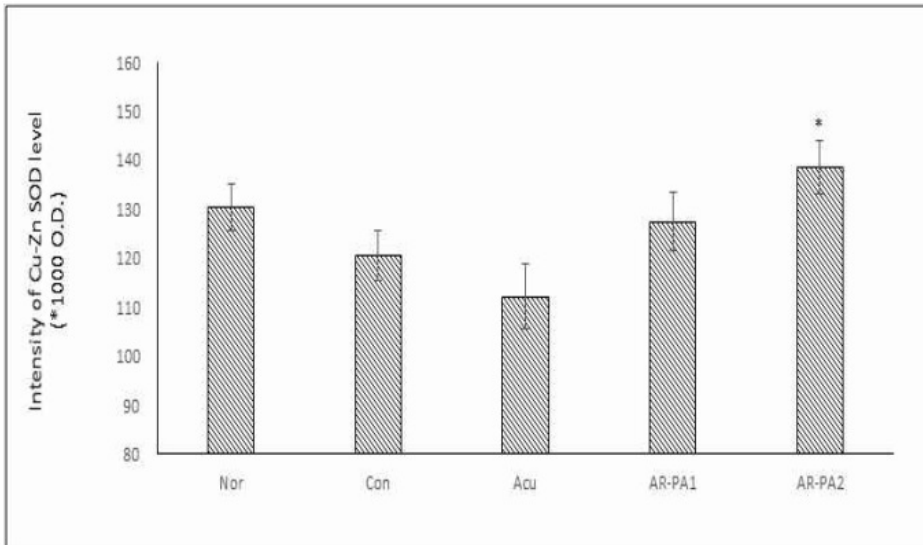


Fig. 5. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the Cu-Zn SOD in cisplatin-induced acute renal failure (n=5).

Refer to Fig. 1 for groups. Results are expressed as mean±S.E. * $p < 0.05$ statistically significant as compared with the Control group.

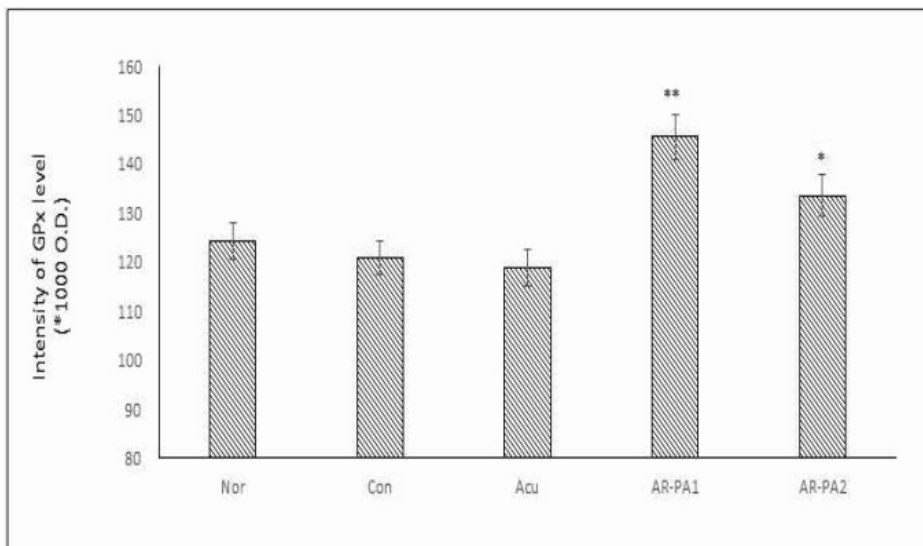


Fig. 6. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the GPx in cisplatin-induced acute renal failure(n=5).

Refer to Fig. 1 for groups. Results are expressed as mean±S.E. * $p < 0.05$ (** $p < 0.01$) statistically significant as compared with the Control group.

Control군은 Normal군에 비해 유의하게 증가하였으며($p < 0.01$), 모든 실험군에서 Control군에 비해 감소하였으나 유의하지는 않았다(Fig. 8).

고 찰

급성신부전(Acute Renal Failure, ARF)은 신장의 급격한 배설기능 저하로 인해 핏뇨 또는 무뇨를 나타내는 중후군으로 수분, 염분, 체내 BUN, creatinine의 급격한 상승이 일어나는 병태를 보인다¹⁾. 급성신부전이 의심되는 가장 흔한 증상이 핏뇨인 반면, 최근에는

비핏뇨성 급성신부전이 증가하는 추세이다. 그 이유는 cisplatin 등의 항암제나 항생제, 방사선 조영제 등과 같은 신장독성 물질 때문에 발생하는 신부전이 증가하기 때문이다¹⁰⁾.

신장독성 약물의 사용은 급성신부전의 흔한 원인 중 하나로, 다양한 항생제나 항암제들이 신장 상피세포에 독성을 일으켜 급성신부전을 유발할 수 있다. 이러한 내인성 급성신부전의 경우에는 사망률이 30~80%로 다양하게 보고되며, 손상 정도에 따라 예후가 결정된다²⁾. 여러 신장독성 약물 중 cisplatin은 단독 혹은 다른 항암제와의 병용으로 난소암, 고환암, 방광암, 두경부암, 자궁경부암, 폐암, 골육종, 신경모세포종 등 가장 광범위하게 쓰이는 항암제이나, 치료받은 사람의 25%에서 신장기능장애가 나타나며³⁾ 이러한

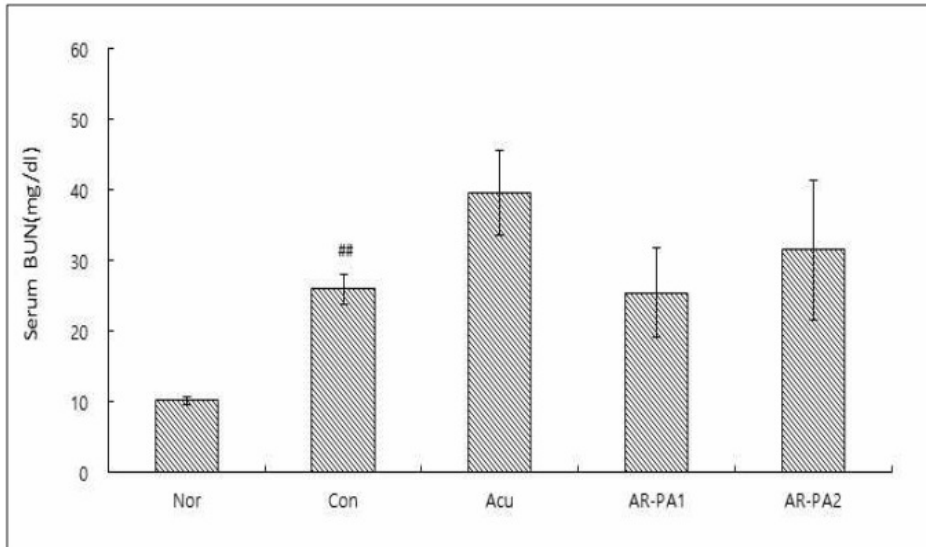


Fig. 7. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the serum BUN in cisplatin-induced acute renal failure (n=5).

Refer to Fig. 1 for groups. Results are expressed as mean±S.E. [#]*p*<0.01 statistically significant as compared with the Normal group.

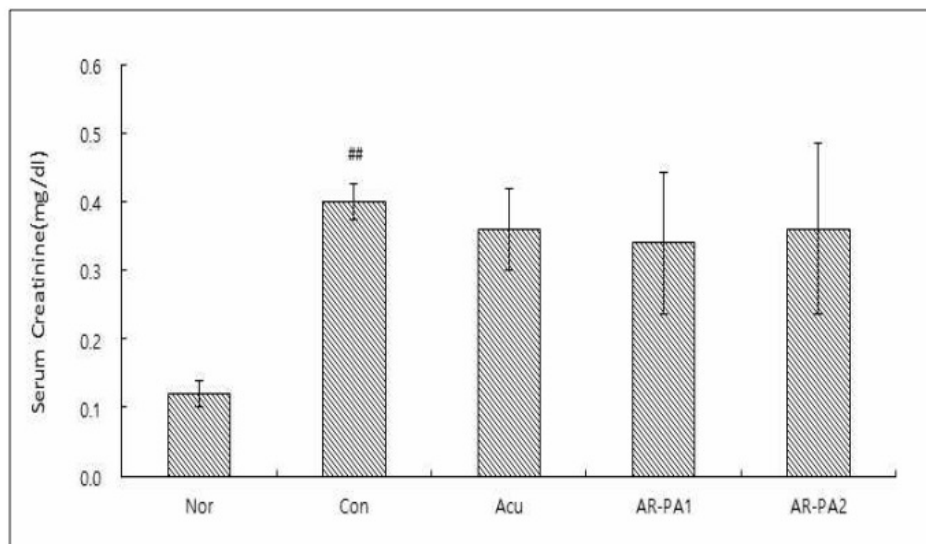


Fig. 8. Effects of *Alismatis Rhizoma* pharmacopuncture treatment at BL23 acupoints on changes in the serum creatinine in cisplatin-induced acute renal failure (n=5).

Refer to Fig. 1 for groups. Results are expressed as mean±S.E. [#]*p*<0.01 statistically significant as compared with the Normal group.

독성효과는 cisplatin의 활성산소종(reactive oxygen specise, ROS) 생성에 의해 일어난다¹¹⁾.

한의학에서 급성신부전은 關格, 水腫, 癰閉, 小便不通의 범주에 속한다고 볼 수 있으며, 그 원인으로 膀胱濕熱, 濁邪閉逆, 脾胃兩虛, 氣陰兩虛, 陰衰陽竭 등이 제시된다. 그 중 濕熱阻滯로 인한 膀胱의 氣化失常을 급성신부전의 가장 큰 원인으로 보며, 이에 따라 清熱利濕, 扶正祛邪, 活血化瘀, 溫補脾胃, 益氣養陰 등의 치법을 쓴다. 최근 임상에서는 대개 급성신부전의 병기에 따른 辨證施治를 통해 치료가 진행되는데, 쇼크기에는 脫證, 亡陽에 속하는 치료를, 전해질이상기에는 宣肺通調水道, 溫補脾胃利水, 宣氣化瘀利水를, 다뇨기에는 益氣養陰의 치법을 위주로 쓴다⁴⁾.

한의학에서 급성신부전에 관한 연구는 大分清飲¹²⁾, 五皮散¹³⁾, 澤瀉散¹⁴⁾, 萬全木桶散¹⁵⁾, 消腫調脾順氣湯¹⁶⁾, 荊防地黃湯, 十二味寬中湯¹⁷⁾ 등의 한약의 경구투여와 丹參¹⁸⁾, 胡桃¹⁹⁾, 車前子²⁰⁾, 八正散²¹⁾ 등의 약침연구가 있었다.

澤瀉 (Rhizoma Alismatis)는 택사과에 속하는 多年生 沿澤植物인 질경이택사 *Alisma plantago-aquatica* L. car. orientale Samuels의 塊莖으로 성분은 Alisol A·B·C, epialisol A, alisol A monoacetate, alisol B monoacetate, alisol C monoacetate, alismol, alismoxide, choline 등을 함유한다.性は 寒하고 味는 甘하며 腎, 膀胱經에 귀경하여 小便不利, 水腫, 泄瀉, 淋濁, 帶下, 痰飲 등을 치료하는데 쓰이며 고혈압, 고지혈증, 지방간, 관상동맥

질환 등에도 사용한다⁵⁾. 또한 腎經의 相火를 泄할 수 있어 遺精, 耳鳴, 眩暈 등의 腎陰不足, 相火亢盛으로 인한 병증을 치료하며, 膀胱의 熱을 瀉하여 利水, 去濕, 泄熱의 要藥이다⁶⁾.

澤瀉의 효능에 대한 연구에는 간 보호²²⁾, 지방간 억제²³⁾, 고지혈 증 개선²⁴⁾, 혈압강하²⁵⁾, 항균 및 항진균^{26,27)}, 항산화^{27,28)} LDL산화 억제 및 ACE저해²⁸⁾, 신장염 완화²⁹⁾, 항비만³⁰⁾, 고혈당 완화^{31,32)}, 간장 글리코겐 증가 및 지질과산화 억제³²⁾ 효과 등이 있었으나 신부전에 관한 연구는 접하지 못하였다.

약침요법이란 여러 독립처방 또는 복합처방으로 구성된 한약물을 이용하여 다양한 방법으로 추출 및 제조된 약침을 질환과 관련된 경혈과 체표촉진으로 얻어진 陽性反應點 및 혈관에 약침주입용 주사기를 이용하여 혈위의 치료작용과 약물의 약리작용을 이용하여 생체의 기능을 조절하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료하는 방법으로, 여러 가지 유효한 경혈자극을 제공할 뿐만 아니라 약물의 사용량을 줄이면서 치료효과를 높일 수 있다³³⁾.

이에 본 저자는 신수(BL23) 澤瀉약침이 cisplatin으로 유발된 급성신부전에 미치는 영향과 그 작용기전을 확인하기 위해, 급성신부전을 유발하지 않고 무처치한 Normal군, 급성신부전을 유발시킨 후 무처치한 Control군, 급성신부전을 유발시킨 후 신수(BL23) 상응 부위에 자침 시술한 Acu군, 급성신부전을 유발시킨 후 신수(BL23) 상응 부위에 澤瀉약침을 각각 저농도(0.3571 mg/kg/20 μ l) 및 고농도(1.7855 mg/kg/20 μ l)로 시술한 AR-PA1군과 AR-PA2군으로 나누고, 각 군의 체중, 신장무게, TNF- α , IL-6, Cu-Zn SOD, GPx, 혈청BUN, 혈청 creatinine 변화를 관찰하여 비교하였다.

Cisplatin 주입 시 유발되는 체중감소는 cisplatin 자체 독성과 그로인해 유도된 급성신부전증에 수반되는 이차적 변화이며, 이러한 체중변화는 신장보호효과를 판단하는 데 기본적인 지표로 사용된다³⁴⁾. 또한 cisplatin 주입 후 급성신부전이 진행되면 간질내의 부종으로 인한 신장중량이 유발되어 신장중량이 증가하는데, 이러한 신장중량변화 또한 신장보호효과 판단의 지표로 사용할 수 있으므로³⁵⁾ 각 군의 체중변화와 신장무게 변화를 관찰하였다.

그 결과 체중은 Normal군에 비하여 Control군은 모든 측정일에 유의하게 감소하였고, Control군에 비하여 AR-PA1군, AR-PA2군에서 체중 증가를 보였으며, 모든 측정일에 유의하지는 않았으나 부분적으로 유의한 증가를 보였다(Fig. 1). 반면 신장무게는 Normal군에 비하여 Control군은 우측신장무게의 유의한 증가를 보였으나, Acu군, AR-PA1군, AR-PA2군에서 모두 유의한 변화가 없었다(Fig. 2). 이는 신수(BL23) 澤瀉약침이 급성신부전으로 인한 신장중량에는 영향을 미치지 않으며, cisplatin으로 인한 이차적인 체중감소에 대해서는 약간의 완화효과가 있다고 볼 수 있다.

TNF- α 와 IL-6은 염증유도매개 cytokine으로, TNF- α 는 염증 반응 및 면역반응을 유도하고 세포의 성장 및 분화, apoptosis, necrosis 등에 관여하며³⁶⁾, IL-6 또한 anti-inflammatory와 pro-inflammatory cytokine으로 알려져 있다³⁷⁾. 이러한 염증성 cytokine은 유도된 급성신부전 상태에서 활성도가 증가하므로^{38,39)} 본 실험에서 IL-6과 TNF- α 의 감소여부를 알아보았다.

TNF- α 는 Normal군에 비하여 Control군에서 유의하게 증가하였고, Control군에 비하여 Acu군, AR-PA1군, AR-PA2군 모두 유의성 있게 감소하였으며, 특히 Acu군에서 가장 많이 감소하였다(Fig. 3). 반면 IL-6에서는 Normal군에 비하여 Control군에서 유의하게 증가하였지만, Acu군, AR-PA1군, AR-PA2군 모두 유의한 변화가 없었다(Fig. 4). 따라서 신수(BL23) 자침 및 澤瀉약침이 유도된 급성신부전에서 TNF- α 의 증가와 관련한 염증반응에 억제효과가 있다고 볼 수 있으나, 澤瀉약침 시술군에서의 TNF- α 억제효과는 약침시술시 동반된 신수(BL23) 자침의 효과일 수 있음을 배제할 수 없다고 생각된다.

세포는 대사과정에서 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)를 생성하는데, 이 ROS는 세포의 단백질, 지질, DNA 등에 산화적 손상을 일으켜 세포의 손상, apoptosis 및 necrosis를 유발하며⁴⁰⁾, 이러한 산화적 스트레스는 cisplatin으로 인한 신장 손상의 주요 기전으로 알려져 있다¹¹⁾. 그리하여 澤瀉약침이 이러한 신장조직의 산화적 스트레스에 대한 억제 효과도 있는지 확인하기 위해 Cu-Zn SOD, GPx의 변화를 알아보았다.

그 결과 Cu-Zn SOD는 Control군에 비해 AR-PA2군에서 유의한 증가를 보였으며(Fig. 5), 또한 GPx는 Control군에 비해 AR-PA1, AR-PA2 두 군에서 유의한 증가를 보였다(Fig. 6). 따라서 신수(BL23) 澤瀉약침이 신장조직의 산화적 스트레스를 방어하는 효능이 있다고 볼 수 있다.

요소질소(BUN)과 혈청 creatinine은 사구체의 기능을 잘 반영하는 물질로, 내인성 급성신부전에서 검사 상 두 가지 모두 증가를 보인다. 특히 creatinine은 신장 외의 다른 인자에 영향을 받기 어렵기 때문에 신장 기능의 우수한 지표이다²⁾.

澤瀉약침이 사구체기능 회복에 효과가 있는지 알아보기 위해 혈청 BUN, creatinine 수치를 관찰한 결과, BUN은 Normal군에 비하여 Control군에서 유의하게 증가하였으나, Control군에 비해 Acu, AR-PA1, AR-PA2군에서 모두 유의한 변화가 없었고(Fig. 7), 혈청 creatinine의 결과도 이와 같았다(Fig. 8). 즉 澤瀉약침은 급성신부전에서의 사구체기능 회복효과는 없는 것으로 보인다.

이상의 결과를 요약하면, 신수(BL23) 澤瀉약침은 cisplatin으로 유발된 급성신부전 백서의 신장무게, BUN 및 creatinine, 그리고

IL-6에는 유의한 영향이 없었고, 백서의 체중변화에서는 일부에서만 유의한 증가를 보인 반면, TNF- α 에서 유의한 감소를, Cu-Zn SOD, GPx의 유의한 증가를 나타내었다. 따라서 cisplatin으로 유발된 급성신부전에서 澤瀉약침은 신장조직에서의 TNF- α 증가와 관련한 염증반응 대한 완화효과 및 신장조직의 산화적 스트레스에 대한 방어효과는 있으나 사구체 기능의 회복이나, 신장중창의 억제 효과는 기대할 수 없는 것으로 사료된다.

결 론

신수(BL23) 澤瀉약침이 급성신부전에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 백서에 cisplatin을 주입하여 급성신부전을 유발시킨 후, 澤瀉약침을 신수(BL23) 상응 부위에 1일 1회씩 8일간 시술하고, 체중, 신장무게, TNF- α , IL-6, Cu-Zn SOD, GPx, 혈청BUN 및 creatinine 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중변화를 관찰한 결과, Control군에 비해 澤瀉약침 시술군(AR-PA1군, AR-PA2군)에서 일부 유의한 증가를 보였다.
2. 신장무게는 Control군에 비해 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다.
3. TNF- α 변화를 관찰한 결과, Acu군, AR-PA1군, AR-PA2군 모두 Control군에 비해 유의하게 감소하였다.
4. IL-6 변화를 관찰한 결과, Control군에 비해 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다.
5. Cu-Zn SOD 변화를 관찰한 결과, AR-PA2군에서 Control군에 비해 유의하게 증가하였다.
6. GPx 변화를 관찰한 결과, 澤瀉약침 시술군(AR-PA1군, AR-PA2군)에서 Control군에 비해 유의하게 증가하였다.
7. 혈청 BUN, creatinine 변화를 관찰한 결과, Control군에 비해 모든 실험군에서 유의한 변화가 없었다.

References

1. Kang SG, Kim W, Lee sik. Nephrology. 2nd ed. Seoul : Korea Medical Book Publishing Company. 2010 : 77-95.
2. Park SB, Kim HC, Park WG, Lim H, Han SY, Won KS, et al. Nephrology for block lecture. 3rd ed. Seoul : Panmun education. 2013 : 135, 165-73.
3. Park JG, Bang YJ, Ha SH. Oncology. Seoul : Ilchokak Publishing

- Company. 2012 : 143-4.
4. Yang SS, Jang SS, Jeon GH. Eastern Clinical Internal Medicine II. Seoul : Bupin Publishing Company. 1999 : 109-13, 530-3.
5. Textbook Compilation Committee of National University of Korean medicine. Herbalogy. Seoul : Yeong-Lim Publishing. 2010 : 348-9.
6. Shin MK. Clinical Traditional Herbalogy. Seoul : Yeong-Lim Publishing. 2010 : 679-80.
7. Lee SR. Acupuncture. Seoul : Cheong-Hong. 2007 : 68, 421-2.
8. Meridian & acupoints Textbook Compilation Committee of National University of Korean medicine. Details of Meridians & Acupoints (Volume I) A Guidebook for College Students. 7nd ed. Daejeon : Jongryeonamu Publishing Company. 2016 : 617.
9. Han HS. Statistical data analysis using SPSS. Seoul : Cheong Moon Gak Publishing Company. 1998 : 171-204
10. Department of Kidney internal medicine. Kidney internal medicine textbook. Seoul : Koonja Publishing Company. 2011 : 225-7.
11. Sawicka E, Dlugosz A, Rembacz KP, Guzik A. The effects of coenzyme Q10 and baicalin in cisplatin-induced lipid peroxidation and nitrosative stress. Acta Poloniae Pharmaceutica. 2013 ; 70(6) : 977-85.
12. Lee YG, Yoon KM, Jang SY, Kang SB. Nephroprotective Effects of Daebuncheong-eum Aqueous Extracts on Cisplatin-induced Acute Renal Failure in Rats. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2009 ; 30(4) : 821-31.
13. Kim TW, Yoon KM, Lim EY, Shin HC, Kang SB. Nephroprotective Effects of Opi-san Aqueous Extracts on Cisplatin-induced Rat Acute Renal Failure. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2010 ; 31(3) : 600-11.
14. Yoo DJ, Lee YG, Kang SB, Yoon KM, Jang SY. Nephroprotective Effects of Taeksa-san Aqueous Extracts on Cisplatin-induced Rat Acute Renal Failure. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2009 ; 30(4) : 832-44.
15. Kim DN, Yoon KM, Shin HC, Kang SB. Nephroprotective Effects of Manjeonmuktong-san on Cisplatin-induced Rat Acute Renal Failure. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2010 ; 31(3) : 620-30.
16. Yoon KM, Kang SB. Effects of Sojongchobisunki-tang on Cisplatin-induced Rat Acute Renal Failure. The Journal of

- Korean Oriental Internal Medicine. 2011 ; 32(2) : 278-87.
17. Lee HS, Kim IH, Kim HS. The Effects of Hyeongbangji-hwang-tang and Sibimikwanjung-tang in Glycerol-Induced Renal Failure in Rats. *Journal of Sasang Constitutional medicine*. 2005 ; 17(3) : 103-12.
 18. Ahn CB, Song CH, Jang GJ, Yoon HM, Seo JC, Lim CW. Effect of *Salviae Radix* herb - acupuncture on rabbits with Hg - induced acute renal failure. *Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society*. 2001 ; 18(2) : 233-48.
 19. Jung HC, Kim CH, Yoon HM, Jang KJ, Ahn CB, Song CH. Effect of *Juglandis Semen* Herbal Acupuncture on Rat by Glycerol-Induced Acute Renal Failure. *Korean Journal of Acupuncture* . 2005 ; 22(3) : 105-17.
 20. Park CH, Chae US, Yoon YC. Beneficial Effect of *Semen Plantaginis* Herbal-Acupuncture on Cisplatin-Induced Acute Renal Failure in Rabbits. *Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society*. 2004 ; 21(2) : 155-66.
 21. Lim JY, Kim MH, Lee KS, Kim HW, Kim BY, Yoon YC, et al. Beneficial Effect of Paljeong-san Pharmacopuncture Treatment Combined with Peritoneal Injection on Glycerol-Induced Acute Renal Failure in Rabbits. *Journal of Pharmacopuncture*. 2010 ; 13(3) : 73-80. doi: 10.3831/kpi.2010.13.3.073.
 22. Seo MJ, Ha H, Yoon SH. Effects of *Alismatis Rhizoma* Extracts on Lipid Components in Experimental Liver Injury. *Journal of Environmental Toxicology*. 1995 ; 10(2) : 15-20.
 23. Kim EY, Lee JH. The Effect of *Alisma orientale* Extract on Free Fatty Acid-induced Lipoapoptosis in HepG2 Cells. *The Journal of Korean Oriental Internal Medicine*. 2014 ; 35(2) : 181-94.
 24. Choi JS, Park SD, Byun JS. Experimental Study on the Effects of *Alismatis Rhizoma* on Hyperlipidemia. *The Journal of Korean Oriental Internal Medicine*. 1998 ; 19(2) : 392-410.
 25. Lee EH, Ko ST. A Study on the Hypotensive Action of *Alismatis* Water Extract. *Journal of the Pharmaceutical Society of Korea*. 1976 ; 20(2) : 83-91.
 26. Do JA. Antimicrobial and Antifungal Studies on *Alismae Rhizoma*. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 1996 ; 27(4) : 378-82.
 27. Seo GI, Cho YS, Park JR, Lee ST, Park CG. Antimicrobial and Antioxidative Effects of *Alismatis Rhizoma* Extract. *Journal of life science*. 2000 ; 10(5) : 524-8.
 28. Yang YI, Lee MJ, Jeong HJ, Lee HS, Kim H, Na ST, et al. Screening of Antioxidative, Anti-atherosclerotic Effect of *Alisma Rhizoma* Extracts. *The Journal of Korean Oriental Internal medicine*. 2008 ; 29(4) : 988-99.
 29. Han JG, Kim YS, Kim BS, Im YG. The Effect of *Alismatis Rhizoma* Herbal-acupuncture at KI10 on LPS-induced Nephritis in Rats. *Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*. 2014 ; 31(1) : 51-60. doi: 10.13045/acupunct.2014006.
 30. Jeong HS. Efficacy of *Alismatis Orientale Rhizoma* on Obesity induced by High Fat Diet. *The Korea Journal of Herbology*. 2013 ; 28(3) : 95-106. doi: 10.6116/kjh.2013.28.3.95.
 31. Im SJ, Kim SH. The Effect of Each Fraction of Methanol Extract of *Alisma canaliculatum* on Blood Glucose Levels and Lipid Metabolism in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *The Korean Journal of Nutrition*. 2001 ; 34(6) : 619-25.
 32. Choi SS. The Effects of *Alisma canaliculatum* Butanol Fraction with Selenium on Glycogen Level, Lipid Metabolism and Lipid Peroxidation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Korean Journal of Nutrition*. 2004 ; 37(1) : 15-22.
 33. Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society, The textbook Compilation Committee, *The Acupuncture and Moxibustion*. Seoul : Jipmoon Publishing Company. 2012 : 225-7.
 34. Latha PG, Panikkar KR. Chemoprotective effect of *Ixora coccinea* L. flowers on cisplatin induced toxicity in mice. *Phytotherapy Research*. 2001 ; 15(4) : 364-6. doi: 10.1002/ptr.727.
 35. Mansour MA, Mostafa AM, Nagi MN, Khatib MM, Al-Shabanah OA. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comparative Biochemistry and Physiology C, Toxicology & Pharmacology*. 2002 ; 132(2) : 123-8. doi: 10.1016/s1532-0456(02)00062-5.
 36. Jeong KH, Lee SH, Lee YJ, Lee TW, Ihm CG, Kim MJ, et al. Association of the Tumor Necrosis Factor- α Gene Polymorphism with End-Stage Kidney Failure. *Kidney Research and Clinical Practice*. 2004 ; 23(3) : 439-45.
 37. Opal, S. M., DePalo, V. A.. Anti-Inflammatory Cytokines. *Chest*. 2000 ; 117(4) : 1162-72. doi: 10.1378/chest.117.4.1162.
 38. Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney International*. 2004 ; 65(4) : 1357-65. doi: 10.1111/j.1523-1755.2004.00512.x.

39. Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, Ljubanovic D, Hoke TS, Somerset H, et al. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1 β , IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney. 1. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2007 ; 322(1) : 8-15. doi: 10.1124/jpet.107.119792.
40. Markesbery, William R. Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology & Medicine*. 1997 ; 23(1) : 134-47. doi: 10.1016/s0891-5849(96)00629-6.