

Puromycin Aminonucleoside에 의해 유도된 신증후군에 대한 玉米鬚의 보호효과

¹원광대학교 한의과대학 생리학교실, ²한의학전문대학원 천연물개발학
³원광대학교 한방심신증후군연구센터, ⁴한국한의학연구원 한의과학연구부
윤정주^{1,2,3}, 고민철³, 한병혁^{1,2,3}, 김혜음^{1,2,3}, 안유미⁴, 이윤정^{1,2,3}, 이호섭^{1,2,3}, 강대길^{1,2,3}

ABSTRACT

Renoprotective Effect of *Maydis Stigma* on Puromycin Aminonucleoside-induced Nephrotic Syndrome

Jung-Joo Yoon^{1,2,3}, Min-Chol Kho³, Byung-Hyuk Han^{1,2,3}, Hye-Yoom Kim^{1,2,3},
You-Mee Ahn⁴, Yun-Jung Lee^{1,2,3}, Ho-Sub Lee^{1,2,3}, Dae-Gill Kang^{1,2,3}

¹Dept. of Physiology, College of Korean Medicine

²Dept. of herbal Resources, Professional Graduate School of Korean Medicine

³Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center

⁴Clinical Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives: Nephrotic syndrome is a kidney disorder, which is characterized by proteinuria, edema (swelling), and hyperlipidemia. *Maydis Stigma* (Corn silk) has been widely used in Asia as a traditional medicine and is known to have a diuretic effect and is used for the treatment of edema and indigestion.

Methods: The aim of this study is to investigate the improvement effect of *Maydis Stigma* in treating nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside. Sprague-Dawley rats were intravenously injected with 75 mg/kg/day puromycin aminonucleoside, then treated with either Losartan or 200 mg/kg/day *Maydis Stigma* for seven days.

Results: *Maydis Stigma* significantly decreased ascites and proteinuria level. Plasma levels of blood urea nitrogen (BUN) and plasma creatinine reduced significantly by *Maydis Stigma*. In addition, treatment with *Maydis Stigma* attenuated histological damage. Treatment with *Maydis Stigma* also restored podocin expression and reduced inflammation markers such as intracellular adhesion molecules (ICAM-1), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and high-mobility group box-1 (HMGB1).

Conclusions: *Maydis Stigma* ameliorates kidney injury in nephrotic syndrome rat models. *Maydis Stigma* exerts a renoprotective effect owing to its anti-inflammatory effects and reductions of ascites and proteinuria. Thus, these results indicate that *Maydis Stigma* is likely to be a promising agent in the treatment of nephrotic syndrome.

Key Words: Nephrotic syndrome, *Maydis Stigma*, Ascites, Proteinuria, Inflammation

I. 서 론

일반적으로 신증후군을 유발하여 실험 모델로 만드는데 사용되는 Puromycin aminonucleoside(PAN)는 신장 사구체에서 메산지움 기질을 증가시킨다. 신증후군 또는 신증은 소변 내 단백질의 실질적인 손실(주로 알부민뇨)로 정의되며, 이는 저단백혈증 및 복수를 유발한다^{1,2)}. 신증후군 환자의 75% 이상이 자주 재발하고, 거의 절반이 빈번한 재발을 보이는 것으로 알려져 있다³⁾. 신증후군의 발병기전은 복잡하고 완전히 명확하지 않으며, 특히 순환계와 대사계를 포함하고 있다⁴⁾. 여러 연구에서는 높은 지질 수치, 신장 염증 및 신장 기능 장애와 관련된 신증후군 병리학적 특징의 발달 및 진행을 시사하고 있다⁵⁾. 백혈구 부착은 사구체신염, 혈관염, 세뇨관-간질성 신증후군 및 동종이식 거부반응과 같은 신장 손상의 매개체로서 염증의 근본적인 시작이다. 또한, 투석 전후에 당뇨병성 신병증에서 부착 분자와 사이토카인의 변화가 입증되었으며, 이는 신장 미세혈관 합병증에서 이들의 진단 역할을 강조하고 있다⁶⁾.

한약재는 암, 부인과질환, 신증후군 등 다양한 만성질환의 치료 및 개선 효과가 있을 뿐만 아니라 부작용이 적고 기존 합성약물에 비해 안전하다^{7,8)}. 일반적으로 옥수수 수염으로 알려진 *Maydis Stigma*는 한약재로는 옥미수(玉米鬚)라고 불리며, 당뇨병, 심장병, 고혈압, 황달, 신장염, 식욕 증진 및 죽상 동맥 경화증에 이르는 유익한 효과가 있는 것으로 오랫동안 알려져 왔다⁹⁾. 또한 국내뿐 아니라 중국, 베트남, 남미 등지에서 요로결석, 신염, 당뇨병 치료제, 이뇨제로 사용되고

있다¹⁰⁻²⁾. 그러나 신증후군에 대한 *Maydis Stigma*의 효능은 아직 보고된 바 없다. 따라서 본 연구의 목적은 신증후군에서 *Maydis Stigma*의 신기능 및 염증의 보호 효과를 조사하는 데 있다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 제조

옥미수의 건조된 시료는 전북 익산에 있는 한약협동조합에서 분양받아 실험에 사용하였으며, 옥미수 시료 제조 방법은 다음과 같다. 옥미수 200 g을 100°C의 증류수로 2시간 동안 전기 추출기(COSMOS-660; Kyungseo Machine Co., Incheon, Korea)를 이용하여 추출하였다. 그런 다음 standard sieve(N0.270, 53 µm; Chung Gye Sang Gong Sa, Seoul, Korea)를 이용하여 여과하였다. Vacuum(Eyela N-11, Tokyo, Japan)을 이용하여 건조시키기 위하여 4°C에서 증발 시켰으며, 그 후 동결건조하였다(PVTFD10RS, IlShinBioBase, Yangju, Korea). 최종 추출물의 총 양은 16.14 g이며 추후 실험에 사용하기 위하여 4°C에 보관하였다.

2. 신증후군 동물모델

동물 사용과 관련된 모든 실험 프로토콜은 국립보건원(NIH) 지침에 따라 수행되었으며 원광대학교 의과대학 동물실험 윤리위원회(WKU12-12)의 승인을 받았다. 8주령 수컷 Sprague-Dawley(SD) 랫드(170-200 g)를 Samtako(오산)에서 입수하였다. 실험 전반에 걸쳐 온도(23±2°C), 습도(~50%-60%) 및 12시간 명암 주기가 자동으로 유지되는 방에 쥐를 사육하였다. 실험 동안 모든 랫드에게 표준 식

이를 임의로 제공하였고 다음과 같이 무작위로 4개의 그룹으로 나누었다. 정상군: PAN 처리된 신증후군: PAN + Losartan(30 mg/kg/day) 처리군: PAN + *Maydis Stigma*(200 mg/kg/day) 처리군. 정상군에는 식염수만 주입하였다. 다른 그룹에는 랫드에 75 mg/kg/day PAN을 정맥 주사하였다. 쥐에게 7일 동안 1일 1회 증류수(대조군 및 신증후군 군), Losartan 또는 *Maydis Stigma*를 각각 경구투여하였다. 실험 동안 모든 동물은 대사 케이지에 별도로 수용되었으며 희생 전에 24시간 소변 샘플을 수집하였다. 모든 쥐는 혈액과 신장 조직 분리를 위해 희생되었으며, 혈액 샘플을 수집하고 4°C에서 15분 동안 600 xg에서 혈장을 분리하기 위해 원심분리하였다. 복수의 양을 측정하기 위하여 무게를 잰 티슈 페이퍼를 복부에 삽입하여 흡수시킨 후 측정하였다.

3. 신장 기능 측정

각 그룹의 쥐를 대사 케이지에서 유지하고 PAN 주사 후 24시간 소변을 수집하였다. 단백뇨 및 기타 신장 기능 매개변수(Na^+ , Cl^- , K^+)의 결정을 위해 소변 샘플을 수집하였다. 요 단백질 농도는 Bradford Dye Reagent(Bio-Rad, München, Germany)를 사용하여 측정하고 이온 농도는 전해질 분석기(NOVA 5+, Biochemical, Waltham, MA)를 사용하여 측정하였다.

4. 혈액생화학분석

혈장 혈액 요소 질소(BUN)는 시판 키트(ARKRAY, Inc., Minami-ku, Kyoto, Japan)를 사용하여 측정하였고 혈장 크레아티닌은 분광 광도계(Milton Roy, Rochester, NY)를 사용하여 비색법으로

측정하였다. 1 mg/ml EDTA을 포함하는 미리 냉각된 튜브를 사용하여 혈장을 분석하였다.

5. 신장 조직 염색

조직학적 염색을 위해 분리된 신장 조직을 4°C에서 48시간 동안 4% paraformaldehyde에 담가 고정한 다음 2일 동안 30% sucrose와 함께 담가두었다. 각 신장 조직 샘플은 OCT 화합물(Sakura Finetek USA Inc., Torrance, CA)에 액체 질소에서 포매하고 동결 후 실험에 사용될 때까지 -70°C에 보관하였다. 절편을 5 μm 크기로 절단하고 periodic acid-Schiff(PAS)(Sigma, MO)으로 염색하였다. Axiovision 4 Imaging/Archiving 소프트웨어를 사용하여 신장 섹션의 이미지를 촬영하였고, Image J(NIH, Bethesda, MD) 프로그램을 사용하여 단백질 캐스트 형성에 대해 분석하여 각 이미지의 전체 영역에 대한 백분율로 PAS 염색 영역을 선택하고 정량화하였다.

6. Western blot 분석

신장에서 추출한 단백질(20-50 μg)을 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 전기영동하여 분리한 후 nitrocellulose membrane으로 transfer 하였다. 비특이적 항체 결합을 방지하기 위하여 Bovine Serum Albumin(BSA)가 함유된 용액에 상온에서 1시간 동안 blocking 하였다. Blocking된 membrane을 1:1000으로 희석한 각 타겟 단백질의 1차 항체를 처리한 다음 1:2000으로 희석한 2차 항체를 상온에서 1시간 반응시키고 ChemiDoc(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)를 사용하여 EzWestLumi 플러스 용액(Cat. no. WSE-7120, Atto

Corporation)으로 단백질 밴드를 검출하였다.

7. 통계분석

실험 결과의 분석은 각 실험군 간의 평균치와 표준편차로 표시하였으며, 실험 결과의 통계처리는 Systat의 SigmaPlot version 10.0을 사용하여 Student's t-test를 통하여 p 값이 0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판정하였다.

III. 결 과

1. *Maydis Stigma*가 소변량과 전해질에 미치는 영향

Table 1. Effect of *Maydis Stigma* on renal balance

Groups	Control	PAN [†]	PAN	
			Losartan	<i>Maydis Stigma</i>
UV [‡] (ml/kg/day)	43.7±4.0	32.2±4.3	52.9±5.2 ^{##}	48.2±5.0 [#]
UNaV [§] (μeq/h/kg)	306.5±10.6	73.1±16.1 ^{**}	267.9±38.3 ^{##}	205.7±35.5 ^{##}
UKV (μeq/h/kg)	543.5±22.2	369.9±29.2 ^{**}	514.2±37.0 ^{##}	468.7±34.7 ^{##}
UCIV [¶] (μeq/h/kg)	378.3±9.8	168.3±18.9 ^{**}	352.9±34.5 ^{##}	289.0±32.8 ^{##}

Values were expressed as mean±S.E. (n=7). ** p <0.01 versus. Cont., # p <0.05, ## p <0.01 versus PAN. [†]PAN : puromycin aminonucleoside, PAN+Los. : puromycin aminonucleoside with Losartan, PAN+*Maydis Stigma* : puromycin aminonucleoside with *Maydis Stigma*, [‡]UV : urine volume, [§]UNaV : urinary sodium volume, ^{||}UKV : urinary pottasium volume, [¶]UCIV : urinary chloride volume

2. 단백뇨 및 복수에 대한 *Maydis Stigma*의 효과

*Maydis Stigma*가 단백뇨와 복수를 개선할 수 있는지 여부를 조사하기 위해 소변을 분석하였다. 24시간 동안 소변 단백질 배설은 PAN 단일 주입 후 4일부터 유의하게 증가하여 대조군과 비교하여 7일째에 가장 크게 증가하였다. 그러나 *Maydis Stigma* 투여군은 7일째에 단

실험 동안, 대조군에 비해 PAN 그룹에서 체중이 증가하였다(데이터는 나타나지 않음). *Maydis Stigma* 투여군과 Losartan 투여군에서 PAN군에 비해 소변량이 유의하게 증가하였다. 소변 전해질(Na^+ , Cl^- 및 K^+)의 측정은 체액 및 급성 신장 손상의 진단 평가에 유용하다. Table 1에서 보는 바와 같이 PAN군의 요 전해질은 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p <0.01). 그러나 *Maydis Stigma* 투여군에서는 요 전해질(Na^+ , Cl^- 및 K^+)이 유의하게 감소하였다(p <0.01).

백뇨 수치가 유의하게 감소한 것으로 나타났다(p <0.01). 유사하게, Losartan을 사용한 치료는 *Maydis Stigma* 그룹과 유사한 결과를 나타냈다(p <0.01). 또한 PAN군은 대조군에 비해 복수량이 유의하게 증가하였다. 복수의 부피는 *Maydis Stigma*와 Losartan 투여군에서 유의하게 감소하였다(Fig. 1).

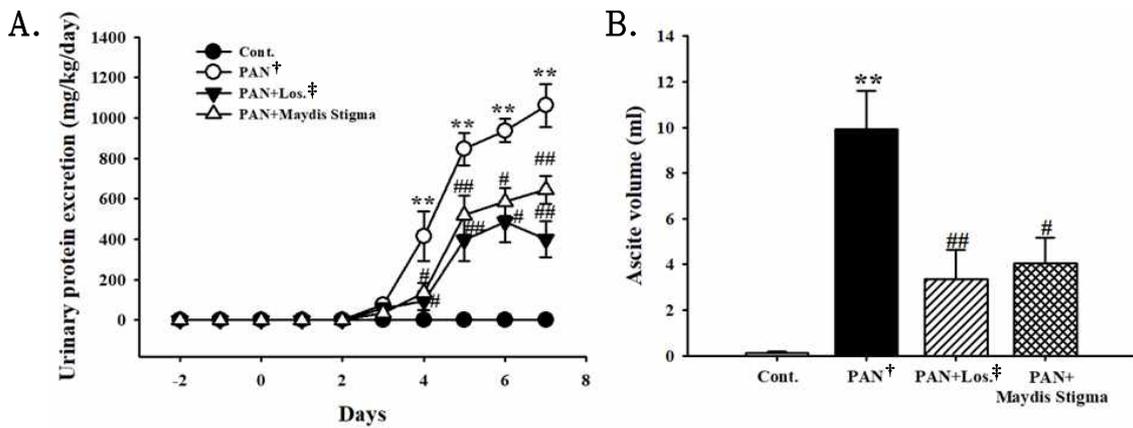


Fig. 1. Effects of *Maydis Stigma* on urinary protein excretion at each time point (A) and ascite (B) in PAN-induced nephrotic syndrome model. Rats received PAN (75 mg/kg), intraperitoneally, and then Losartan (30 mg/kg/day) or *Maydis Stigma* (200 mg/kg/day) was administered. Values were expressed as mean±S.E. (n=7). **p<0.01 versus. Cont., #p<0.05, ##p<0.01 versus PAN. †PAN : puromycin aminonucleoside, ‡PAN+Los. : puromycin aminonucleoside with Losartan, PAN+ *Maydis Stigma* : puromycin aminonucleoside with *Maydis Stigma*

3. 혈장 BUN 및 크레아티닌에 대한 *Maydis Stigma*의 효과

Fig. 2에 따르면 PAN군(56.4±5.5 mg/dl)은 대조군(13.7±0.8 mg/dl)에 비해 혈장 BUN 수치가 증가한 반면(p<0.01), *Maydis Stigma* 투여군(32.5±4.1 mg/dl)에서는 유의하게 감소하였다(p<0.01). Losartan 투여군 역시 *Maydis Stigma* 그룹(33.9±6.3 mg/dl)에서 볼 수 있는 것과 유사한 결

과를 나타냈다. 또한, PAN 그룹은 혈장 크레아티닌 수치를 증가시켰다. 그러나 *Maydis Stigma* 투여군과 Losartan 투여군에서 혈장 크레아티닌 수치가 유의하게 감소하였다(0.16±0.01 mg/dl; 0.13±0.02 mg/dl, p<0.01). 이러한 결과는 *Maydis Stigma*가 PAN 쥐 모델에서 혈장 바이오마커를 개선시킴으로써 신장 기능부전을 감소시킬 수 있음을 나타낸다.

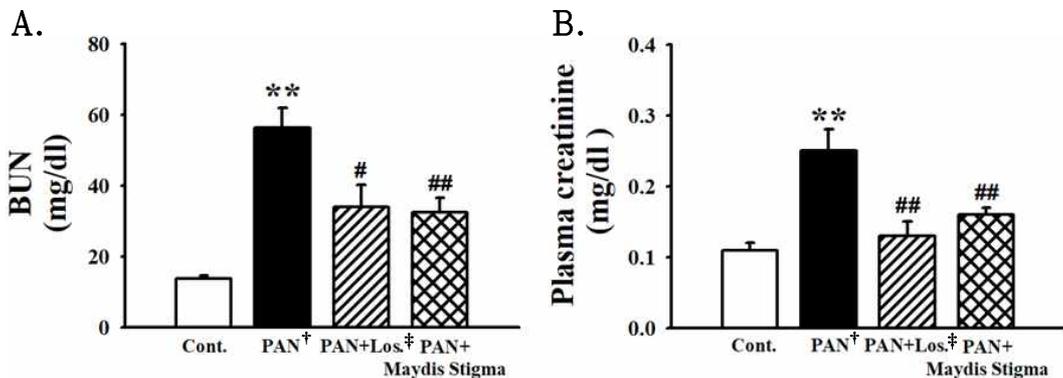


Fig. 2. Effect of *Maydis Stigma* on plasma biomarkers in rats with PAN-induced nephrotic syndrome. Values were expressed as mean±S.E. (n=7). **p<0.01 versus. Cont., #p<0.05, ##p<0.01 versus PAN. †PAN : puromycin aminonucleoside, ‡PAN+Los. : puromycin aminonucleoside with Losartan, PAN+ *Maydis Stigma* : puromycin aminonucleoside with *Maydis Stigma*, BUN : blood urea nitrogen

4. *Maydis Stigma*가 신장의 조직학적 형태에 미치는 영향

Fig. 3에 나타난 바와 같이, 사구체 크기의 유의한 조직병리학적 차이는 모든 군에서 관찰되지 않았다. PAN 군은 신장 사구체와 세뇨관 상피의 비대가 증가한 반면 *Maydis Stigma* 투여군은 병리학적

손상이 어느 정도 회복되었다. 병리학적 손상정도를 점수로 나타냈을 때 *Maydis Stigma* 투여군은 PAN군에 비해 손상의 정도가 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 이러한 결과는 *Maydis Stigma*가 PAN 유도 신증후군 랫드의 신장에 대한 병리학적 손상을 완화할 수 있음을 나타낸다.

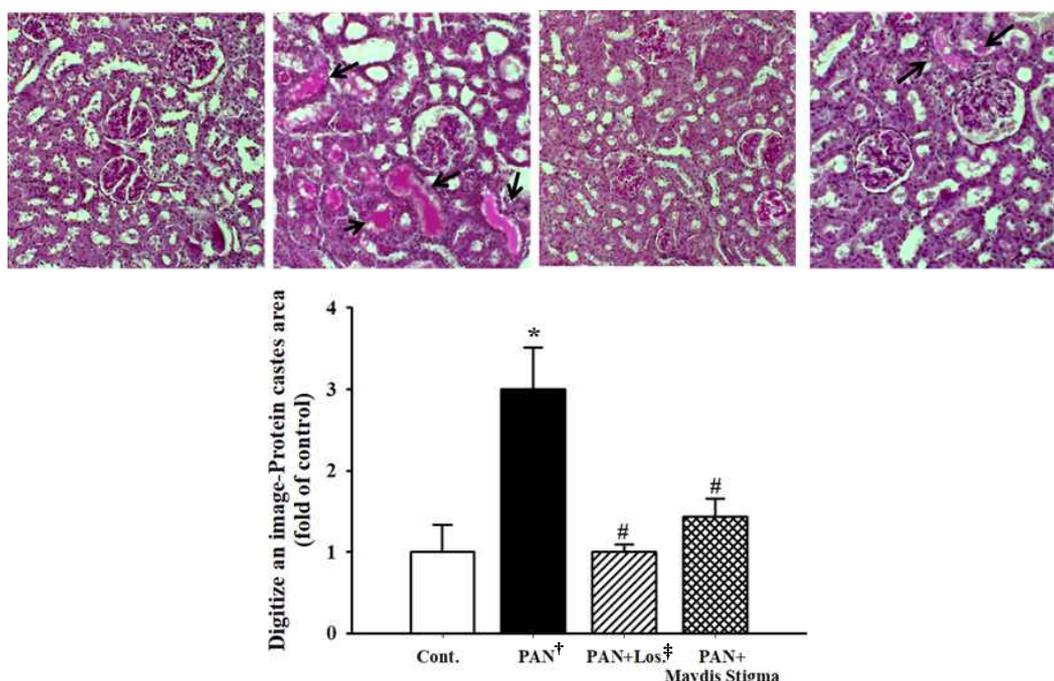


Fig. 3. Effects of treatment of *Maydis Stigma* on renal morphology. Representative pictures of PAS (periodic acid-Schiff staining; magnification x200). The bottom panels represent quantitative assessments of protein cast area. The protein cast in the distal tubules is indicated by black arrow in the pictures. Values were expressed as mean±S.E. (n=3). * $p < 0.05$ versus Cont., # $p < 0.05$ versus PAN. †PAN : puromycin aminonucleoside, ‡PAN+Los. : puromycin aminonucleoside with Losartan, PAN+*Maydis Stigma* : puromycin aminonucleoside with *Maydis Stigma*

5. 사구체 족세포 손상에 대한 *Maydis Stigma*의 효과

신증후군은 다량의 단백뇨와 족세포라고 하는 특수화된 사구체 상피세포의 손상이 특징이다¹⁴. *Maydis Stigma*가 PAN 쥐의 신장에서 podocin (podocyte-specific protein) 활성화에 미치는 영향을 연구하기 위해 면역조직화학 분석을 사용하여

podocin 발현을 측정하였다. Fig. 4에 나타난 바와 같이 신증후군 유발군은 대조군에 비해 podocin의 발현이 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). 그러나 *Maydis Stigma* 처리군은 PAN 투여 랫드의 신장에서 podocin 발현을 유의하게 회복시켰다($p < 0.05$). 이러한 결과는 *Maydis Stigma*가 PAN 쥐의 podocin 발현 증가를 통해 족세포

손상을 개선시킴을 시사한다.

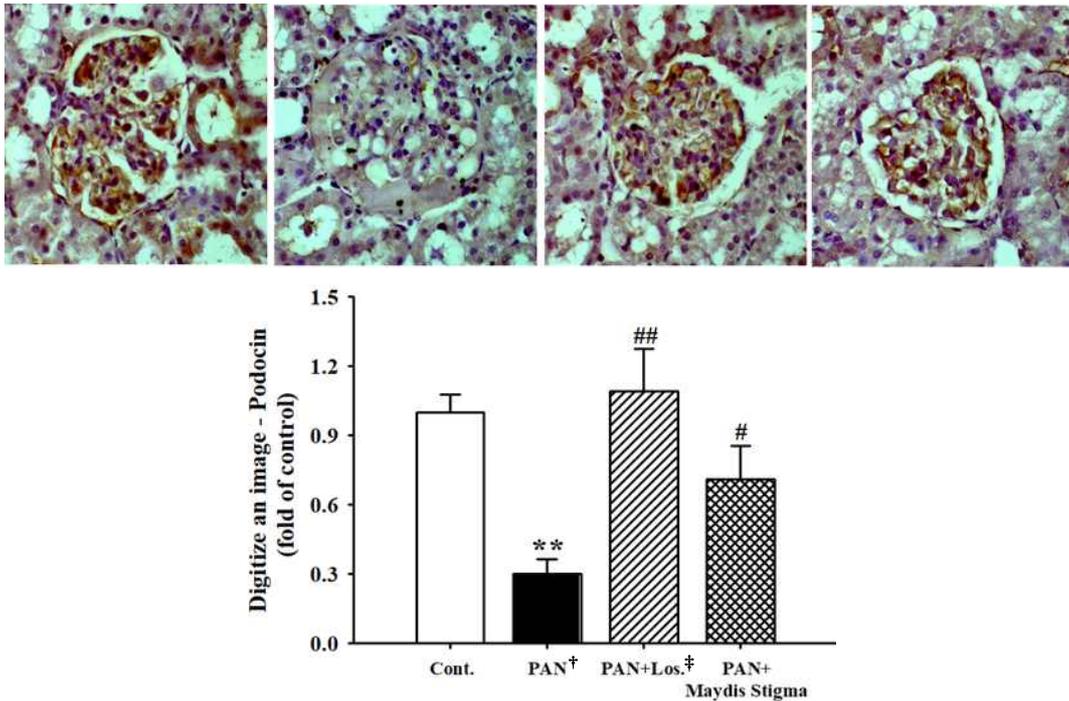


Fig. 4. Effects of treatment of *Maydis Stigma* on renal podocin expression. As shown top panels immunohistochemistry staining (A) and western blot (B) in renal tissues (magnification x400). The bottom panels represent quantitative assessments of podocin expression. Values were expressed as mean±S.E. (n=3). *p<0.05 versus. Cont., #p<0.05 versus PAN. †PAN : puromycin aminonucleoside, ‡PAN+Los. : puromycin aminonucleoside with Losartan, PAN+*Maydis Stigma* : puromycin aminonucleoside with *Maydis Stigma*

6. *Maydis Stigma*가 신장 염증에 미치는 영향

PAN로 유도된 신증후군 랫드에 대한 *Maydis Stigma*의 항염증 효과를 분석하였다. 신증후군 그룹에서 Intracellular adhesion molecules(ICAM-1), monocyte chemotactic protein-1(MCP-1), tumor necrosis factor alpha(TNF-α) and high-mobility group box-1(HMGB1)와 같은 염증성 마커의

단백질 발현이 유의하게 증가하였다. 그러나 *Maydis Stigma* 및 Losartan 투여군은 이들 마커의 단백질 발현을 유의하게 감소시켰다(Fig. 5). 이러한 결과는 *Maydis Stigma*가 ICAM-1, HMGB1, MCP-1 및 TNF-α와 같은 염증성 마커의 발현 증가를 억제하여 PAN 유발 신장의 염증 반응을 개선시킴을 의미한다.

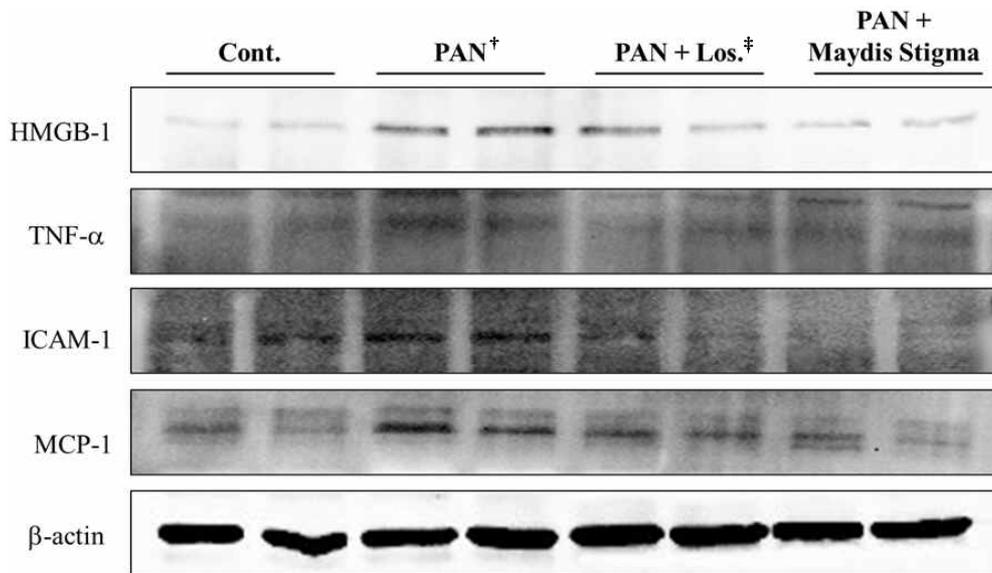


Fig. 5. Effect of *Maydis Stigma* on the expression of inflammation markers in the renal tissues.

The total protein was extracted in kidney tissue and protein levels determined by Western blot analysis. *PAN : puromycin aminonucleoside, ‡PAN+Los. : puromycin aminonucleoside with Losartan, PAN+*Maydis Stigma* : puromycin aminonucleoside with *Maydis Stigma*

IV. 고찰

심한 단백뇨, 고혈압, 고지혈증 및 부종 형성을 특징으로 하는 신증후군은 다양한 원인에 의하며 당뇨병, 과응고 및 대사 장애의 합병증으로 발생할 수 있다^{15,16}. 신증후군을 치료하려는 많은 노력에도 불구하고 현재까지의 충분한 해결책은 없는 것으로 보고되고 있다. 본 연구는 PAN 유도 신증후군 모델에서 죽세포 손상의 개선과 단백뇨 및 신장 기능의 개선에 의한 *Maydis Stigma*의 보호 효과를 보고하고 있다.

PAN 동물 모델은 신증후군에 대한 이미 정립된 실험 모델 중 하나이며, 신장 병변을 동반하고 복수 또는 부종의 형성을 촉진하는 심각한 단백뇨를 유도한다. 이전 연구에서는 PAN이 소변량의 변화와 혈장 BUN 및 creatinine의 증가

를 특징으로 하는 신장 기능 장애를 유발한다는 것이 보고되었다¹⁸. 수많은 연구에 따르면 신증후군의 단백뇨는 신장 병변, 염증 증가 및 세포사멸사를 동반하며, 이는 세포 사멸과 함께 염증이 이러한 변화의 기본 메커니즘일 수 있음을 나타낸다¹⁹. 신장 기능은 단백뇨의 배설 수준과 밀접한 관련이 있으며 신장 질환의 진행을 직접적으로 반영한다. 우리의 연구 결과는 이전에 보고된 바와 같이 PAN 투여가 혈장 BUN 및 creatinine의 현저한 상승과 함께 신장 손상을 유발한다는 결과를 확인하였다^{5,20}. *Maydis Stigma* 투여는 BUN 및 creatinine 수치의 증가를 유의하게 감소시켰을 뿐만 아니라 요단백 수치와 복수 부피 역시 유의하게 감소시켰다. PAN으로 인한 신장 손상은 세뇨관 상피 세포의 변성 및 박리, 유리질 캐스트 형성, 염증 세포 침윤과 같은 해당 조직의 병리학적 변화를 동반하였

다. *Maydis Stigma*를 사용한 치료는 염증 세포 침윤 및 단백질 캐스트 형성을 감소시켜 병리학적 손상을 감소시켰다. 따라서 이러한 결과는 *Maydis Stigma*가 신장의 조직병리학적 손상을 완화하고 단백뇨 배설을 감소시켜 신장 기능을 향상시킬 수 있음을 의미한다.

PAN은 특히 단백뇨의 발병과 함께 족세포 손상과 nephrin 및 podocin과 같은 slit diaphragm 단백질의 발현 감소를 유발한다^{22,23}). 따라서 족세포 손상은 신증후군에서 중요한 마커이며 그것의 보호는 단백뇨와 국소 분절 사구체 경화증의 진행을 억제하는데 효과적이다²⁴). 이번 연구에서 *Maydis Stigma* 투여가 PAN 쥐의 족세포에서 podocin의 발현을 유의하게 감소시켰음을 보여주었다. 따라서 이러한 결과는 족세포를 타겟으로 하는 *Maydis Stigma*의 단백뇨 억제효과가 신증후군에 대한 새로운 치료법을 나타낼 수 있다는 증거를 제시한다.

염증과 세포 사멸은 사구체 경화증, 세뇨관 위축과 같은 다양한 신장 질환이 공유하는 전형적인 병리학적 특징으로 결과적으로 신부전을 유발한다²⁵). 수많은 연구에서 단백뇨가 신장 병변, 염증 증가 및 세포 사멸을 동반한다는 것을 확인했으며, 이는 세포 사멸과 함께 염증이 이러한 변화의 기본 메커니즘일 수 있음을 나타낸다^{25,26}). 신장 염증 또는 세포 사멸의 억제는 신장 질환 치료에 있어 핵심 문제이다. ICAM-1, MCP-1, TNF- α 및 HMGB1 등 염증성 사이토카인은 대식세포를 자극하고 관상 상피 세포, 족세포 및 간질세포를 포함한 신장 기능세포를 손상시켜 chemokine, 세포부착 분자, ROS, 전사인자 등의 활성을 유도한다.

이러한 요인은 대식세포 모집을 촉진하고 신장 접착 분자를 상향 조절한다²⁸). 잠재적인 염증성 사이토카인으로서 HMGB1은 신장 질환의 병인에서 여러 역할을 하며 거의 모든 세포 유형의 핵과 세포질에 존재하며 염증이 필요하고 매개체이다^{29,30}). 염증이 초기 매개체인 ICAM-1과 MCP-1은 대식세포가 사구체로 침투하여 유착을 일으키고 단백구를 대식세포로 변형시키는 데 중요한 역할을 한다³¹). 그들은 다양한 신장 세포에서 세포 사멸을 유발할 뿐만 아니라 신장 손상 및 염증이 활성화 및 진행과 밀접하게 연관되어 있다. 따라서 항염증 작용기전을 더 명확히 하기 위해 *Maydis Stigma*가 PAN 유발 신증에서 주요 염증 인자의 발현에 미치는 영향을 분석하였다. ICAM-1, MCP-1 및 TNF- α 를 포함한 신증후군에 관여하는 HMGB1 및 케모카인 활성화는 *Maydis Stigma* 처리에 의해 억제되었다. 그러므로 *Maydis Stigma*가 HMGB1 및 관련 염증 신호 전달 경로의 억제에 의해 신증후군을 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

V. 결 론

본 연구에서 *Maydis Stigma* 투여가 신장 기능 및 염증 측면에서 신증후군에서 대항하여 보호 효과가 있다는 것을 확인하였다. 이러한 효과는 단백뇨 및 복수 감소, 염증인자 억제, podocin 발현 상향 조절을 통해 나타날 것으로 기대된다. 따라서 *Maydis Stigma*는 신증후군에서 신기능 장애와 염증을 동시에 개선함으로써 한의학기반 새로운 치료방법의 대안이 될 수 있다.

□ Received : Sep 03, 2021

□ Revised : Oct 18, 2021

□ Accepted : Nov 26, 2021

감사의 글

본 논문의 연구는 원광대학교(2020)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Seckin I, et al. Experimentally induced puromycine aminonucleoside nephrosis (PAN) in rats: evaluation of angiogenic protein platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) expression in glomeruli. *J Biomed Sci.* 2012;19(1):24.
2. Orth SR, et al. The nephrotic syndrome. *N Engl J Med.* 1998;338(17):1202-11.
3. Hodson EM, et al. Corticosteroid therapy for nephrotic syndrome in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005;1:CD001533.
4. Bulucu F, et al. Oxidative stress status in adults with nephrotic syndrome. *Clin Nephrol.* 2000;53(3):169-73.
5. Kawachi H, et al. Role of podocyte slit diaphragm as a filtration barrier. *Nephrology.* 2006;11(4):274-81.
6. Zhao X, et al. Kidney injury molecule-1 is upregulated in renal lipotoxicity and mediates palmitate-induced tubular cell injury and inflammatory response. *Int J Mol Sci.* 2019;20(14):3406.
7. Hsiao WL, et al. The role of traditional Chinese herbal medicines in cancer therapy—from TCM theory to mechanistic insights. *Planta Med.* 2010;76(11):1118-31.
8. Wang W, et al. Nephrotic syndrome and the TCM treatment. *J Tradit Chin Med.* 2004;24(3):201-3.
9. Kim YS, et al. Anti-inflammatory Effect of *Zea Stigma* Herbal-acupuncture at KI10 on LPS-induced Nephritis in Rats. *J Kor Med.* 2013;34(3):143-57.
10. Cáceres A, et al. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *J Ethnopharmacol.* 1987;19(3):233-45.
11. Doan DD, et al. Studies on the individual and combined diuretic effects of four Vietnamese traditional herbal remedies (*Zea mays*, *Imperata cylindrica*, *Plantago major* and *Orthosiphon stamineus*). *J Ethnopharmacol.* 1992;36(3):225-31.
12. Morton JF. Some folk-medicine plants of central american markets. *Quart J Crude Drug Res.* 1997;15:165-92.
13. Shiraishi T, et al. Combination of ACE inhibitor with nicorandil provides further protection in chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014;307(12):F1313-22.
14. Sharma R, et al. Thrombin-Induced Podocyte Injury Is Protease-Activated Receptor Dependent. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(9):2618-30.
15. Song H, et al. Glomerulosclerosis in adriamycin-induced nephrosis is accelerated by a lipid-rich diet. *Pediatr Nephrol.* 2000;15(3-4):196-200.
16. Franceschini N, et al. NPHS2 gene,

- nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis: a HuGE review. *Genet Med.* 2006;8(2):63-75.
17. Doucet A, et al. Molecular mechanism of edema formation in nephrotic syndrome: therapeutic implications. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(12):1983-90.
 18. Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004;5(11):897-907.
 19. Wen Y, et al. Yi Qi Qing Re Gao formula ameliorates puromycin aminonucleoside-induced nephrosis by suppressing inflammation and apoptosis. *BMC Complement Altern Med.* 2015;15:155.
 20. Erdely A, et al. Protection against puromycin aminonucleoside-induced chronic renal disease in the Wistar-Furth rat. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;287(1):F81-9.
 21. Ahmed MM, et al. Diuretic and serum electrolyte regulation potential of aqueous methanolic extract of *Solanum surattense* fruit validates its folkloric use in dysuria. *BMC Complement Altern Med.* 2016;16:166.
 22. Guan N, et al. Key molecular events in puromycin aminonucleoside nephrosis rats. *Pathol Int.* 2004;54(9):703-11.
 23. Lowenborg EK, et al. Glomerular function and morphology in puromycin aminonucleoside nephropathy in rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(10):1547-55.
 24. Coward RJ, et al. Nephrotic plasma alters slit diaphragm-dependent signaling and translocates nephrin, Podocin, and CD2 associated protein in cultured human podocytes. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(3):629-37.
 25. Zoja C, et al. Progression of renal injury toward interstitial inflammation and glomerular sclerosis is dependent on abnormal protein filtration. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30(5):706-12.
 26. Sanz AB, et al. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19(9):1634-42.
 27. Wang Y, et al. Macrophages in renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(1):21-7.
 28. Xu X, et al. The role of determining the levels of serum collagen type IV in diagnosing early diabetic nephropathy. *Ren Fail.* 2002;24(6):747-53.
 29. Zhu P, et al. High mobility group box 1 and kidney diseases. *Int J Mol Med.* 2013;31(4):763-8.
 30. van Beijnum JR, et al. Convergence and amplification of toll-like receptor (TLR) and receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathways via high mobility group B1 (HMGB1). *Angiogenesis.* 2008;11(1):91-9.
 31. Zhang H, et al. High Mobility Group Box1 Inhibitor Glycyrrhizic Acid Attenuates Kidney Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Kidney Blood Press Res.* 2017;42(5):894-904.
 32. Rincon J, et al. Increased oxidative stress and apoptosis in acute puromycin aminonucleoside nephrosis. *Int J Exp Pathol.* 2004;85(1):25-33.