

## TCDD로 유발된 Oxidative Stress에 대한 생약재 추출물의 방어 및 해독효과

황진국 · 이경진 · 양희진 · 박기문<sup>†</sup>

성균관대학교 생명공학부

### Protection and Detoxification Effects of Oriental Herb Extract Mixture on TCDD-Induced Oxidative Stress

Jin-Kook Hwang, Kyung-Jin Lee, Hee-Jin Yang, and Ki-Moon Park<sup>†</sup>

Faculty of Life Science and Technology, Sungkyunkwan University, Gyeonggi 440-746, Korea

#### Abstract

This study was carried out to investigate the protective effects and detoxification of oriental herb extracts mixture (*Saururus chinensis*, *Taraxacum platycarpum*, *Ulmus macrocarpa*, *Glycyrrhiza glabra*, *Rhynchosia nulubilis*) on TCDD-induced oxidative stress. Thirty five male rats were divided into 5 groups: normal control group received saline; vehicle control group received DMSO and acetone; only TCDD-treated group received multiple intraperitoneal injection of TCDD (100 µg/kg) and saline; post-treated group of OHEM (400 mg/kg/day) received oral administration for 5 weeks after TCDD treatment; and pre-treated group of OHEM (400 mg/kg/day) received oral administration for 6 weeks from 1 week before TCDD treatment. The elevated serum activities of alanine transaminase (AST), aspartate transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH) and atherorganic index due to TCDD were significantly decreased by the treatment of OHEM ( $p < 0.05$ ); the pre-treatment of OHEM was especially effective. Hydropic lesions and cytoplasmic vacuolizations in the liver of TCDD-treated rats were inhibited by the treatment of OHEM. Also, OHEM treatment reduced edemas in small intestine villus of TCDD-treated rats. These results suggest that OHEM from various oriental herb extracts might be a useful protective and detoxification agent against TCDD.

**Key words:** detoxification, TCDD, dioxin, oriental herb

#### 서 론

현대 사회가 각종 유해물질에 의해 광범위하게 오염됨에 따라 이러한 물질이 직·간접적으로 인체에 노출되면서 현대인들은 면역능력 저하를 초래해 건강한 삶을 영위할 수 있는 기회가 줄어들고 있다. 이처럼 현대인들은 수많은 유해물질과 독성물질에 쉽게 노출되어 있으며, 그 중 대표적인 외부 유해물질로 환경호르몬과 중금속을 들 수 있다. 환경호르몬은 비교적 최근에 문제가 제기된 유해 독성물질로서 발암 물질로도 분류가 되며, 동물이나 인간의 체내에 유입되어 내분비계 장애물질로 작용하여 생식기능 장애, 면역력저하 등의 원인이 되는 물질이다(1).

환경호르몬 중에서도 인간에게 치명적인 영향을 미치는 것으로 널리 알려진 dioxin은 화학적으로 안정해서 자연계에서 한번 생성되면 쉽게 분해되지 않고 오랜 시간 동안 존재하게 되는데, 그 중 가장 독성이 강한 dioxin은 TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)로 펄프 표백과정, 산불, 쓰레기 소각장, 자동차 배기가스, 흡연 그리고 그 외 연소

과정에서 발생하는 polyhalogenated aromatic hydrocarbon으로 최악의 독성물질로 손꼽히는 내분비계 장애물질이다(2). TCDD는 estrogen과 anti-estrogen 두 가지의 성질을 모두 가지고 있고 호르몬 합성 조절, ligand의 대사증가, 수용체의 수나 ligand와의 결합력을 저하시킴으로써 체내 내분비계를 교란시키는 것으로 알려져 있다(3).

Reactive oxygen species(ROS)는 oxidative stress 및 세포손상, 질병을 유발하는데 환경독소인 TCDD의 노출에 의해서도 ROS가 생성되는 것이 밝혀짐에 따라 TCDD에 대한 독성 발현 기전을 oxidative stress 유발에 의한 것으로 생각하고 이에 관심을 가지고 많은 연구가 수행되고 있다(4). TCDD는 동물실험에서 liver, thymus, adipose tissue 등 다양한 내부 기관에 손상을 일으키며(3), aryl hydrocarbon receptor와 결합하여 cytochrome p450 gene을 발현시키고(5), cytochrome p450의 활성이 증가하여 산소분자의 전자전달을 촉진시켜 ROS의 형성 및 지질과산화물을 유발한다고 알려져 있고, 특히 cytochrome p450 효소군 중 CYP1A1이 TCDD에 의한 oxidative stress 유발과 관계가 있다고 보고되었다(6-8).

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: pkm1001@skku.edu  
Phone: 82-31-290-7806, Fax: 82-31-290-7816

식품 및 대기오염을 통한 dioxin 독성에 대한 문제가 현대인의 사회적 관심사로 떠오르면서 dioxin에 대한 독성 완화 및 해독 물질 개발에 대한 연구가 최근에 많이 이루어지고 있다. 이러한 연구 물질 중 대표적인 것으로는 녹차, 홍삼, 플라보노이드, 키토올리고당, 어성초, 삼백초, 녹용 등이 있다(9-14). 또한 이전의 본 연구실의 생약재 혼합추출물을 이용한 dioxin 해독효과 결과에서도 독성경감작용을 확인할 수 있었다(15).

본 연구에서는 앞서 진행한 연구를 바탕으로 한국 및 중국에서 예로부터 한방 및 민간요법에서 알려진 약재 및 식용으로 사용되어 오던 식물 중에 해독 작용이 우수하다고 전해지는 5가지 식물인 삼백초(*Saururus chinensis*), 포공영(*Taraxacum platycarpum*), 유근피(*Ulmus macrocarpa*), 흑두(*Rhynchosia nulubilis*), 감초(*Glycyrrhiza glabra*)를 재료로 이용하여 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 통해 TCDD로 유발된 oxidative stress에 대한 생약재 추출물의 방어 및 해독효과를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 앞서 해독효과가 있는 것으로 알려진 10 여종의 생약재를 선별하여 세포주를 이용한 예비실험을 실시하였다. 그 중에서 높은 효능을 나타낸 삼백초(*Saururus chinensis*), 포공영(*Taraxacum platycarpum*), 흑두(*Rhynchosia nulubilis*), 유근피(*Ulmus macrocarpa*) 및 감초(*Glycyrrhiza glabra*)를 선택하여 실험에 사용하였다.

선택되어진 각 생약재들은 2004년 8월 경동시장에서 구매하여 각각 500 g씩 세절한 후 생약재 별로 40% 에탄올 10 L에 첨가한 후 40°C에서 48시간 동안 환류 추출하였다. 각 추출액은 40°C에서 고형분 함량 25%까지 감압농축한 후 동결 건조하여 5종류의 생약재 추출분말을 동량으로 혼합하여 생약재 추출물 혼합분말(oriental herb extract mixtures, OHEM)을 제조하여 실험에 사용하였다.

### *in vitro*에서 생약재 추출혼합물(OHEM)의 TCDD 방어 효과 측정

TCDD에 대한 생약재 추출물의 효과 측정을 위해 mouse 유래 간세포주인 NCTC clone 1469(KCLB 10009.1)를 한국 세포주은행(KCLB)으로부터 분양받아 사용하였다. 이 세포주의 배지로는 10% FBS와 1% 항생제가 포함된 DMEM 배지를 사용하였다.

**MTT assay:** TCDD에 대한 생약재 추출물의 oxidative stress 방어 및 해독 효과를 측정하기 위하여 MTT assay로 cytotoxicity를 측정하였다. 예비실험을 통하여 세포에 대한 독성을 배제하기 위해 생약재 추출물 및 OHEM의 농도는 100 µg/mL, TCDD의 용매로 사용되는 DMSO의 농도는

0.001%로 결정하여 실험하였다. NCTC clone 1469 세포에 TCDD를 0.01~100 nM의 농도로 24시간 처리한 후, TCDD가 포함되어 있는 배지를 제거한 다음 OHEM을 100 µg/mL의 농도로 처리하였다. TCDD 처리구는 동일 농도로 하여 24시간 배양 후 새로 제조한 TCDD를 첨가하여 24시간 더 배양한 다음 MTT assay를 수행하였다.

**Lactate dehydrogenase(LDH) activity 측정:** LDH 측정은 Hayes 등(16)의 방법을 사용하여 측정하였다. NCTC clone 1469 cell을 TCDD 24시간 처리 후에 OHEM을 24, 48시간 처리한 군과 TCDD 48시간 처리 후 OHEM을 24, 48시간 처리한 군에서 최후한 세포로부터 얻은 12.5 µg의 protein을 20°C로 유지한 1.25 mL NADH 용액과 혼합한 후 12.5 µL 5 mM tris buffer(pH 7.2)와 0.25 mL pyruvate 용액을 첨가하였다. 이것을 340 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 2분 동안 흡광도의 변화를 측정하였으며, 대조군의 LDH 함량(100%)을 기준으로 하여 LDH 함량변화를 %로 계산하였다.

**Nitric oxide(NO) 생성 측정:** NCTC clone 1469 cell에서 생산되는 NO는 Green 등(17)의 방법을 사용하여 측정하였다. MTT assay에서와 동일하게 TCDD 및 OHEM을 처리하여 4일간 배양과정을 거친 후 세포배양액 100 µL을 96 well microplate에 분주하였다. 분주 후 100 µL의 Griess reagent를 첨가하여 암실에서 25°C로 10분간 반응시켰다. 발색반응은 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였고, sodium nitrite 표준용액을 이용하여 검량선을 작성하여 nitrite양을 정량하였다.

**Cytochrome p450 함량 측정:** NCTC clone 1469 cell microsomal fraction의 cytochrome p450의 함량 측정은 Omura와 Sato(18)의 방법으로 측정하였다. 즉, 4°C 이하(ice bath)에서 test tube에 microsome 현탁액 0.2 mL을 넣은 후 1 mL의 0.1 M tris buffer(pH 7.5)를 첨가하였다. 여기에 19K syringe needle을 이용하여 1분 동안 CO gas를 bubbling (250 bubbles/min)한 다음 환원제로 2 mg sodium hydro-sulfite(sodium dithionate, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)를 넣고 혼합하여 1분간 CO gas로 다시 bubbling시켰다. 기포생성 종료 후 450 nm과 480 nm에서의 흡광도를 측정하였으며 아래의 식에 따라 함량을 계산하였다.

$$\text{Cytochrome p450 (nmol w/mg)} = \frac{\Delta A(450-490 \text{ nm}) \times V_1}{91 \times V} \times 1,000$$

$V_1$ : microsome volume + tris-buffer volume (mL)

$V$ : microsome volume (mL)

### *in vivo*에서 OHEM의 TCDD 방어 효과 측정

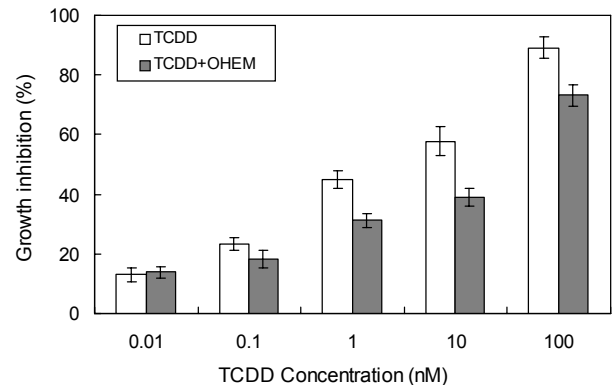
**실험설계 및 임상지수 분석:** 체중 약 80±20 g의 3주령 수컷 Sprague Dawley rat(대한바이오텍, 충북 음성) 35마리를 처리군 별로 7마리씩으로 나누어 1주일간 환경에 적응

시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물의 사육은 온도  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도  $55 \pm 5\%$ , 환기회수 12회/일, 명암주기 12시간/일(아침 8시 점등, 밤 8시 소등)로 설정된 환경에서 cage당 1마리씩 수용하였으며 사료는 rat용 고형사료를 물과 함께 자유 급여 하였다.

TCDD(AccuStandard) 1 mg을 25  $\mu\text{L}$  DMSO와 225  $\mu\text{L}$  acetone에 녹인 후 2.25 mL의 옥배유에 희석하여 사용하였으며, 시료로는 생약재 추출 혼합물을 증류수에 용해한 후 400 mg/kg/day 수준으로 존대를 이용하여 경구 투여하였다. Group 1(정상대조군)은 생리식염수, group 2(용매대조군)는 TCDD를 용해시킨 용매와 생리식염수, group 3(TCDD 단독 처리군)은 TCDD(100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )와 생리식염수를 각 처리군 별로 0.4 mL씩 마우스의 복강에 주사하였다. Group 4(TCDD와 OHEM 처리군)는 TCDD 최초 복강주사와 동시에 OHEM을 경구 투여하였고, group 5(OHEM 전처리 및 TCDD와 OHEM 처리군)는 TCDD 최초 복강주사 7일 전부터 OHEM 시료를 경구 투여하였다. 생리식염수 및 TCDD의 주사는 1주 간격으로 총 5회에 걸쳐 투여하였으며, 실험기간 동안 group 1, 2, 3은 식염수를, group 4, 5는 OHEM을 매일 경구 투여하였다. 그리고 마지막 복강주사 1주일 후 rat을 ethyl ether로 마취시켜 심장에서 채혈한 후 신속하게 간, 심장, 비장, 신장, 비장 등의 장기를 적출하여 해부생리학적 검사 및 혈액임상지수분석에 사용하였다. Statix를 이용하여 각 군 간에 ANOVA로 통계학적 유의성을 검정한 후 최소유의차 검정( $\alpha=0.05$ )을 하여 각 군 간의 유의성을 비교하였다.

**병리 조직학적 관찰:** 적출한 간 조직의 좌우엽 일정한 부위를 5 mm의 두께로 자른 다음 10% neutral formalin에 48시간 고정한 후 유수에 12시간 동안 수세한 다음 60% 에탄올에서 100% 에탄올까지 농도를 증가시켜 탈수하였다. 그 다음에 toluene을 이용하여 투명화 과정을 마친 후 용해된 paraffin에 침투 및 포배하여 block을 제작하였다. 만들어진 paraffin block은 4  $\mu\text{m}$  두께로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin으로 염색한 다음 image analyzer(Analysis 3.2, Softimaging System, Germany)를 이용하여 관찰하였다.

신장과 소장의 경우에는 각 조직을 3 mm의 일정한 두께로 자른 다음 통상의 방법에 따라 10% neutral formalin에서 48시간 고정하였다. 고정된 조직은 PBS에서 24시간 동안 수세한 후 50%, 70%, 90%, 95% 및 100% ethanol에 차례로 20~40분 동안 처리한 다음 amyacetate: ethanol(1:1) 용액으로 20분 동안 처리하였고 이 과정을 2회 반복하여 탈수과정을 마무리하였다. 그 다음 critical point dryer를 이용하여 건조한 후 specimen holder에 장착하여 고정시킨 다음 12시간 이상 방치한 후, ion sputter를 이용하여 Au coating을 120초간 2회한 후 주사전자현미경(SEM, Hitachi S-570, Japan)으로 관찰하였다.



**Fig. 1. Recovery effects of TCDD-mediated cell cytotoxicity by OHEM.**

NCTC clone 1469 cells (normal liver cell) were exposed to TCDD for 24 hr and then were treated OHEM (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) for 24 hr. Values are represent the mean percent  $\pm$  standard deviations of six replicates.

## 결과 및 고찰

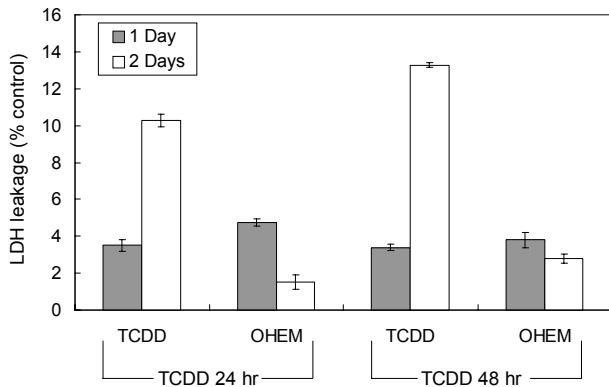
TCDD에 의해 유발된 cytotoxicity에 대한 OHEM의 방어 효과

TCDD에 대한 생약재 추출물의 oxidative stress 방어 및 해독 효과를 측정하기 위하여 정상 간세포주인 NCTC clone 1469의 cytotoxicity를 측정하였다(Fig. 1). 0.01 nM의 농도로 TCDD를 전처리한 후 TCDD와 OHEM을 처리하였을 때 모두 13% 정도로 OHEM의 영향은 나타나지 않는 것으로 관찰되었다. 0.1 nM부터 100 nM까지의 농도로 TCDD 전처리를 한 후 TCDD와 OHEM을 처리한 결과에서는 TCDD 전처리 농도가 증가할수록 TCDD 처리는 23.3, 44.8, 57.8, 89.2%, OHEM은 18.2, 31.2, 38.92, 73.2%로 cytotoxicity는 증가하였다. 하지만 OHEM의 처리는 TCDD에 의한 cell cytotoxicity를 각각 5.1, 13.7, 18.8, 16% 감소시켜 TCDD 노출에 대한 회복 효과가 있는 것으로 판단되며 저농도보다는 고농도의 TCDD 노출 시에 OHEM이 TCDD 독성에 대한 회복 효과를 나타내는 것으로 관찰되었다.

### LDH activity

NCTC clone 1469 cell의 대조군에서의 lactate dehydrogenase(LDH) 함량(100%)을 기준으로 100 pM TCDD 24시간 전처리 후 OHEM을 24시간, 48시간 처리군과 100 pM TCDD 48시간 처리 후 OHEM을 24시간, 48시간 처리군의 LDH 함량변화율을 %로 나타내었다(Fig. 2).

TCDD를 24시간 동안 전처리한 후 TCDD에서 24시간 배양시에는 3.5%, 48시간 배양 후에는 10.28%로 LDH 유리량이 3배가량 증가하였으나, OHEM의 처리로 24시간 배양 후에는 4.76%, 48시간 배양 후에는 1.52%로 LDH 유리량이 감소하였다. 그리고 TCDD를 48시간 전처리한 실험군에서는 TCDD에서 24시간 배양 시에는 3.5%, 48시간 배양 시에



**Fig. 2. Effects of OHEM on the lactate dehydrogenase leakage in NCTC clone 1469 cells.**

Cells were exposed to 100 pM TCDD for 24 hr and 48 hr respectively. And then treated OHEM (100 µg/mL) for 24 hr and 48 hr.

는 13.28%로 3배 이상의 LDH의 유리량이 증가하였다. OHEM의 경우에는 24시간 배양 시 3.8%, 48시간 배양 시 2.8%로 TCDD에 24시간 전처리한 실험군에 비해 LDH 유리량도 작았으며 배양시간 증가에 따른 감소의 폭도 낮은 것으로 관찰되었다.

LDH는 모든 세포에서 안정한 상태로 세포질 내에 존재하는 효소로서 세포막이 손상을 받으면 stress로 인하여 세포 내에 양이 빠르게 증가하는 효소이다. 이러한 특징으로 인하여 LDH는 세포괴사의 지표로서 사용된다. 본 실험의 결과에서 LDH의 함량의 증가는 NCTC clone 1469 정상 간세포에 독성을 나타내는 물질임을 시사한다고 할 수 있다. OHEM의 처리는 초기 LDH의 유리량을 증가시키지만 점차 그 양이 감소함을 알 수 있어 OHEM은 NCTC clone 1469 정상 간세포에 비교적 안전한 물질임을 확인할 수 있었으며, 0.1 nM TCDD를 24시간, 48시간 처리한 시험의 경우 OHEM은 생약제 추출 24시간 및 48시간의 LDH 양이 감소한 것으로 판단해 볼 때 TCDD에 의한 독성 효과를 감소시키는 물질임을 확인할 수 있었다. OHEM의 경우 NCTC clone 1469

정상 간세포에 상당히 안전하며, TCDD로 인한 독성 효과를 감소시키는 것으로 판단되었다.

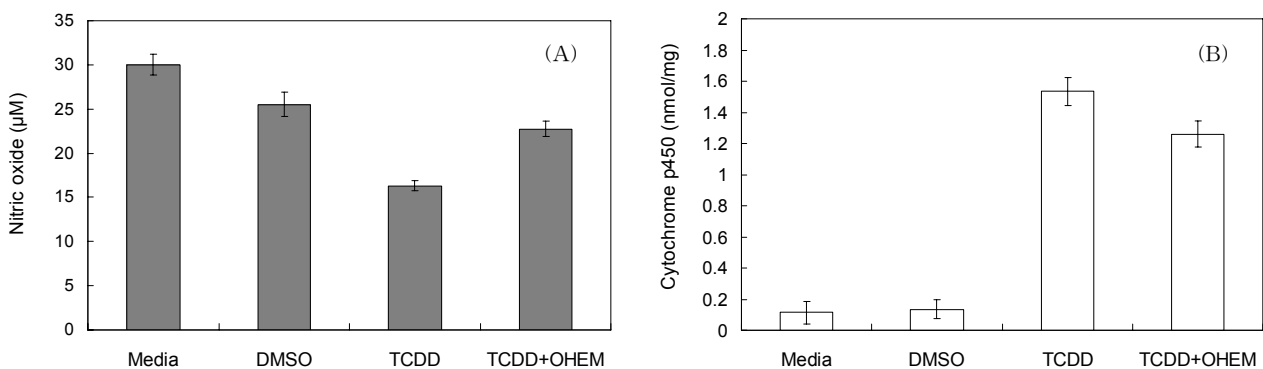
#### NO와 cytochrome p450 함량

Fig. 3은 TCDD 독성에 대한 OHEM의 방어 및 회복 효과를 알아보기 위하여 NCTC clone 1469 정상 간세포에서 유리되는 nitric oxide와 cytochrome p450의 양을 정량한 결과이다. 먼저 NO의 분비량을 측정해보면 세포를 media에서 배양하였을 경우에는 30 µM이었으며, 0.001% DMSO를 처리한 군에서는 25.5 µM으로 별다른 차이가 없었다.

반면에 100 pM TCDD에 48시간 노출시켰을 경우 NO의 생성량은 16.3 µM으로 대조군인 DMSO 처리군과 비교했을 때 36.15% 감소된 양이었다. 따라서 NCTC clone 1469 정상 간세포 배양에서 TCDD 처리는 NO의 생성량을 감소시키는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 0.1 nM TCDD를 24시간 노출시킨 후 생약제 추출물 및 OHEM을 24시간 동안 처리하여 TCDD 독성 회복 및 방어 효과를 알아본 결과 OHEM 22.77 µM의 NO 생성량을 나타내어 6.47 µM의 NO 생성량 증가를 확인할 수 있었다.

TCDD에의 노출은 세포분화 촉진과 세포의 enzyme 체계를 변화시켜 암화를 유도하고 변이를 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 그런데 NO는 체내에서 여러 가지 역할을 하지만 그 중 암세포의 성장저해 및 파괴에도 관여하기 때문에 본 실험에서의 NO 증가 결과는 TCDD로 인하여 발생하는 암화를 억제할 수 있는 가능성을 보여주는 것에 그 의미를 둘 수 있겠다.

Cytochrome p450의 생성량은 media 및 0.001% DMSO에서 배양하였을 경우 각각 0.11, 0.14 nM/mg으로 함량은 매우 낮았으나 TCDD에 노출된 경우 1.54±0.10 nM/mg으로 높게 나타났다. TCDD를 처리한 후 OHEM을 처리하였을 경우, TCDD 단독 처리시 증가했던 cytochrome p450의 함량을 OHEM의 처리로 1.26 nM/mg으로 TCDD에 비하여 0.28 nM/mg 감소시키는 것을 확인하였다. 따라서 TCDD의 처리는 cytochrome p450 A1 및 A2의 발현량을 증가시키나



**Fig. 3. Effects of OHEM on the nitric oxide (A) and cytochrome p450 (B) production in NCTC clone 1469 cells.**

NCTC clone 1469 (normal liver) were exposed to 100 pM TCDD for 24 hr and then were treated OHEM (100 µg/mL) for 24 hr.

**Table 1. Change of body weight, food intakes and organ weights of Sprague Dawley rat for six weeks**

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
Initial body weight (g)	102.45±6.48 <sup>1)</sup>	102.87±6.85	103.04±6.71	102.96±7.95	103.97±9.52
Final body weight (g)	371.53±12.75 <sup>a2)</sup>	371.17±18.05 <sup>a</sup>	345.41±11.90 <sup>b</sup>	353.22±23.29 <sup>ab</sup>	363.81±27.66 <sup>ab</sup>
Body weight gain (g/day)	7.45±5.34	7.68±3.36	6.93±6.10	7.13±5.99	7.14±3.58
Food intake (g/day)	27.58±4.84 <sup>a</sup>	27.64±6.16 <sup>a</sup>	25.58±3.74 <sup>b</sup>	26.81±4.27 <sup>ab</sup>	26.41±4.13 <sup>ab</sup>
Food efficiency ratio	0.32±0.14	0.29±0.10	0.29±0.13	0.28±0.13	0.28±0.14
Liver weight (g)	15.33±0.88 <sup>a</sup>	14.89±0.67 <sup>a</sup>	19.63±2.00 <sup>b</sup>	20.46±1.28 <sup>b</sup>	19.57±1.43 <sup>b</sup>
Kidney weight (g)	3.13±0.39 <sup>a</sup>	2.99±0.20 <sup>ab</sup>	2.72±2.00 <sup>b</sup>	2.79±0.23 <sup>b</sup>	2.77±0.23 <sup>b</sup>
Heart weight (g)	1.39±0.04	1.34±0.07	1.34±0.08	1.30±0.11	1.30±0.16
Spleen weight (g)	0.87±0.10	0.86±0.14	0.82±0.06	0.81±0.06	0.84±0.09

<sup>1)</sup>Mean±SD.

<sup>2)</sup>Different letters within a row indicate significant differences between mean values (p<0.05).

Group 1: normal control, Group 2: vehicle control, Group 3: only TCDD-treated group, Group 4: TCDD treatment+OHEM (400 mg/kg/day), Group 5: pre-treated OHEM (400 mg/kg/day)+TCDD treatment.

OHEM의 처리가 이러한 cytochrome p450 complex enzyme의 증가를 소폭 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

#### 실험동물을 이용한 TCDD 해독 시험

**체중, 식이섭취량 및 장기 무게의 변화:** Sprague Dawley rat에 6주 동안 매주 100 µg/kg 농도로 TCDD를 복강 주사하여 TCDD 급성 독성을 유도하였다. 6주간의 실험 경과 후 그간의 체중과 먹이 섭취량의 변화를 계산하였고, 적출한 장기로부터 장기들의 무게를 측정하여 TCDD 급성 독성 처리에 의해 어떠한 변화가 있는지를 측정하였다(Table 1).

최종 체중의 경우 대조군인 group 1, 2와 TCDD의 처리를 받은 group 3의 체중 저하가 유의성 있게 관찰되었고 일일 사료섭취량에서도 TCDD 단독 처리군인 group 3만 대조군과의 차이를 나타내었다. Kociba 등(19)은 TCDD 노출이 식욕감퇴 및 체중감소를 보인다고 하였는데, 본 연구 결과에서도 6주간의 TCDD 노출은 체중 및 사료섭취량을 유의적으로 감소시켰으며, 이것은 rat의 식욕을 감퇴시켜 최종 몸무게에 영향을 미치는 것으로 생각되어진다. 하지만 일일체중량, 식이효율에서 실험군 간의 유의차를 나타내지 않았다.

실험군별로 체내 주요 장기인 간, 신장, 심장, 비장의 중량을 측정했을 때, 간 중량은 group 1과 2에 비해 TCDD 처리를 받은 group 3, 4, 5 모두에서 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다(p<0.05). 이것은 독성물질인 TCDD 처리에 의

해 간 중량을 증가시켰으나, TCDD 처리한 군들 간에는 유의차가 나타나지 않아 OHEM의 투여가 간의 중량변화에는 아무런 영향을 미치지 않는 것을 관찰할 수 있었다.

신장의 경우에도 OHEM의 투여가 TCDD 처리에 별다른 영향을 나타내지 못하는 것으로 관찰되었으나 TCDD 처리군과 비처리군 사이에서는 차이가 있어 TCDD의 처리가 신장에 영향을 끼칠 수 있는 요인이라고 생각되어진다. 그러나 심장과 비장의 경우에는 TCDD 처리와 OHEM의 투여가 이들 중량에 유의적 차이를 나타내지 않아 TCDD 급성독성 유발 및 OHEM의 전투여 및 동시투여는 비장과 심장에 특별한 영향이 없는 것으로 나타났다.

**혈액의 임상화학적 분석:** Table 2는 TCDD로 급성독성을 유도한 rat의 간기능 혈액임상화학적 지수에 OHEM의 투여가 미치는 영향을 측정된 결과이다. TCDD의 생체 노출은 혈중 cholesterol, ALP, GOT, GPT 활성을 증가한다고 하였으며, protein 합성이 증가한다고 보고된바 있다(20,21). TCDD의 단독 노출은 간 기능과 관련된 임상화학적지수 중 GOT, GPT 및 LDH 수치를 정상군보다 높게 유의적(p<0.05)으로 증가시켜 간염 및 심장질환에 영향을 미칠 수 있는 가능성이 있는 것으로 생각되어지며, 또한 OHEM의 사전투여가 TCDD의 처리로 인한 GOT, GPT, ALP, LDH 증가를 정상군과 같은 수준으로 유의성 있게 회복시키는 것을 확인할 수 있었다(p<0.05). 그리고 통계학적으로 유의성

**Table 2. Effects of OHEM on clinical parameters of liver function of TCDD-exposed Sprague Dawley rats**

Clinical chemical parameters	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
TP (g/dL): total protein	6.04±0.24 <sup>1)ab2)</sup>	5.87±0.16 <sup>b</sup>	6.23±0.32 <sup>a</sup>	6.11±0.24 <sup>ab</sup>	6.13±0.18 <sup>a</sup>
ALB (g/dL): albumin	2.21±0.07	2.24±0.13	2.34±0.16	2.33±0.11	2.31±0.12
GOT; AST (IU/L): aspartate aminotransferase	189.57±66.05 <sup>b</sup>	191.71±45.35 <sup>b</sup>	280.67±84.53 <sup>a</sup>	261.40±68.87 <sup>ab</sup>	196.50±64.44 <sup>b</sup>
GPT; ALT (IU/L): alanine aminotransferase	54.43±4.43 <sup>b</sup>	54.43±3.69 <sup>b</sup>	66.14±11.38 <sup>a</sup>	61.14±13.04 <sup>ab</sup>	52.00±6.27 <sup>b</sup>
γ-GT (IU/L): γ-glutamyltranspeptidase	1.69±0.58	1.69±0.58	1.69±0.58	1.69±0.58	1.69±0.58
ALP (IU/L): alkaline phosphatase	230.00±16.15 <sup>ab</sup>	224.00±53.44 <sup>b</sup>	275.75±53.44 <sup>a</sup>	235.20±11.86 <sup>ab</sup>	222.75±37.71 <sup>b</sup>
LDH (IU/L): lactate dehydrogenase	3686.70±380.04 <sup>b</sup>	3757.50±331.40 <sup>b</sup>	4637.50±228.97 <sup>a</sup>	3522.50±686.72 <sup>b</sup>	2770±266.71 <sup>c</sup>
Iron (µg/dL)	188.00±28.18 <sup>ab</sup>	177.57±40.81 <sup>b</sup>	208.43±16.97 <sup>a</sup>	197.57±20.61 <sup>ab</sup>	198.71±6.61 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SD.

<sup>2)</sup>Different letters within a row indicate significant differences between mean values (p<0.05).

Group 1: normal control, Group 2: vehicle control, Group 3: only TCDD-treated group, Group 4: TCDD treatment+OHEM (400 mg/kg/day), Group 5: pre-treated OHEM (400 mg/kg/day)+TCDD treatment.

은 나타나지 않았지만 OHEM의 동시투여의 경우도 TCDD 노출로 인하여 증가한 GOT, GPT, ALP, LDH의 임상화학지수를 감소시키는 경향을 관찰할 수 있었다. 이 결과는 TCDD로 독성을 유도한 녹용 추출물의 방어 효과 실험과 유사한 결과를 나타내었고(14), 이러한 결과로 볼 때 OHEM은 TCDD에 의하여 유발된 oxidative stress 인한 간 및 심장 손상에 대하여 뛰어난 방어 및 해독 효과가 있는 것으로 판단되어진다.

TCDD 노출로 인한 rat의 신장기능 지표를 분석해보았다 (Table 3). 신장은 혈류량이 많아 노폐물을 여과시키는 과정에서 혈액에 함유된 독성물질에 노출될 기회가 많고, 일시적 저장기간 동안 독성물질이 농축되는 장소로서 독성물질의 표적기관이 되며, 항이노 호르몬을 생성하는 기능에도 관여하기 때문에 TCDD 처리로 인하여 독성이 발현된다고 한다 (14). 그러나 본 연구의 결과에서는 blood urea nitrogen과 creatinine만이 약간 증가할 뿐 나머지 uric acid, calcium, inorganic phosphorus의 임상지수 농도 모두가 실험군 간의 유의적 차이를 나타내지 않아 TCDD의 노출은 신장독성이 발현되지는 않지만 신장기능과 관련하여 크게 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

TCDD 급성독성에 대한 OHEM의 췌장기능 및 심혈관질환지수 회복 효과를 알아본 결과를 Table 4에 나타내었다. TCDD 단독처리한 경우 total cholesterol의 수치도 높았으며 atherogenic index 및 cardiac risk factor가 정상군과 유의적인 차이를 나타내어 심혈관질환의 위험도가 증가하고 췌장기능에 이상을 초래하였으나, OHEM의 처리로 인하여

이러한 심혈관질환의 위험성을 일부 감소시키며 췌장기능을 일부 회복시키는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과는 Swift 등(22)과 Dibartolomeis 등(23)의 TCDD 처리로 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증이 유발된다고 보고와 유사한 것으로 관찰되었다.

그리고 표에 결과 수치를 나타내지는 않았지만 대장, 췌장, 위암 등 소화기계 암의 판별에 사용되는 혈액임상화학지수로서 사용되는 carcinoembryonic antigen(CEA)의 경우에는 정상, 용매 대조군에서는 검출되지 않았으나, TCDD 처리를 받은 실험군에서는 검출이 되었다. Group 3에서는 0.07 ng/mL, OHEM 동시처리군인 group 4는 0.04 ng/mL, OHEM 전투여군인 group 5에서는 0.02 ng/mL로 측정되었다. 결과 자체는 유의성이 없지만 TCDD의 노출로 CEA의 발현을 증가시켰고, 또한 OHEM의 처리로서 CEA의 발현량이 감소하는 것을 확인할 수 있어 OHEM은 TCDD로 인해 발생할 수 있는 소화기계 종양 및 암의 발생을 저하시킬 수 있는 가능성이 있는 것으로 여겨진다.

**간 및 신장, 소장의 조직학적 관찰:** Rat의 간조직을 적출하여 hematoxylin-eosin staining(H&E)한 것을 이미지 분석기를 이용하여 사진 촬영하였다(Fig. 4). (A)는 정상대조군인 group 1의 간조직을 촬영한 것으로 모두 핵 모양이 뚜렷하고 세포질이 분홍색으로 선명히 염색되었으며 어떠한 병변 및 병적 징후도 관찰되지 않았으며 group 2(B)의 간조직도 group 1과 별다른 차이를 관찰할 수 없었으며 정상적인 간조직의 형태를 나타내었다. 그러나 TCDD에 단독 노출된 group 3(C)의 간조직은 수포변병(hydropic changes)

**Table 3. Effects of OHEM on clinical parameters of kidney function of TCDD-exposed Sprague Dawley rats**

Clinical chemical parameters	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
BUN (mg/dL): blood urea nitrogen	19.13±1.35 <sup>1)ab2)</sup>	18.86±1.35 <sup>b</sup>	21.86±2.54 <sup>a</sup>	19.71±3.04 <sup>ab</sup>	19.71±3.40 <sup>ab</sup>
CTRN (mg/dL): creatinine	0.24±0.05 <sup>b</sup>	0.29±0.04 <sup>ab</sup>	0.33±0.05 <sup>a</sup>	0.30±0.00 <sup>a</sup>	0.31±0.07 <sup>a</sup>
UA (mg/dL): uric acid	1.01±0.72	1.86±0.42	2.04±0.66	1.70±0.54	1.63±0.70
Calcium (mg/dL)	9.38±0.55	9.88±0.26	9.68±0.33	9.63±0.31	9.63±0.45
Phosphorus (mg/dL)	8.25±0.21	8.40±0.57	8.58±0.61	8.85±0.38	8.65±0.40

<sup>1)</sup>Mean ± SD.

<sup>2)</sup>Different letters within a row indicate significant differences between mean values (p<0.05).

Group 1: normal control, Group 2: vehicle control, Group 3: only TCDD-treated group, Group 4: TCDD treatment+OHEM (400 mg/kg/day), Group 5: pre-treated OHEM (400 mg/kg/day)+TCDD treatment.

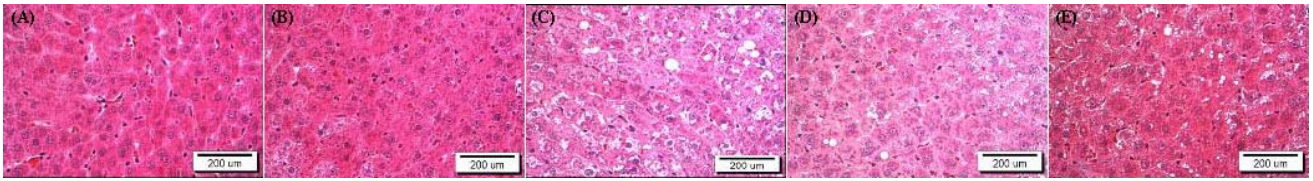
**Table 4. Effects of OHEM on clinical parameters of pancreas function and cardiovascular disease factor of TCDD-exposed Sprague Dawley rats**

Clinical chemical parameters	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
Total cholesterol (mg/dL)	83.86±9.38 <sup>1)c2)</sup>	87.43±5.91 <sup>c</sup>	139.03±9.41 <sup>a</sup>	99.72±6.18 <sup>b</sup>	96.50±7.03 <sup>b</sup>
HDL-cholesterol (mg/dL)	68.86±5.27 <sup>b</sup>	69.83±5.04 <sup>b</sup>	78.00±7.83 <sup>a</sup>	68.50±7.83 <sup>b</sup>	66.50±6.71 <sup>b</sup>
Triglyceride (mg/dL)	56.75±10.66	54.00±8.84	58.71±14.14	51.00±11.16	57.00±6.08
Amylase (IU/L)	1,722.00±63.98 <sup>a</sup>	1,684.20±191.08 <sup>ab</sup>	1,619.70±188.92 <sup>ab</sup>	1,559.80±169.39 <sup>ab</sup>	1,547.00±155.73 <sup>b</sup>
Lipase (IU/L)	-	-	-	-	-
Atherogenic index	0.21±0.17 <sup>c</sup>	0.25±0.12 <sup>c</sup>	0.78±0.11 <sup>a</sup>	0.46±0.11 <sup>b</sup>	0.45±0.11 <sup>b</sup>
Cardiac risk factor	1.21±0.17 <sup>c</sup>	1.25±0.12 <sup>c</sup>	1.78±0.11 <sup>a</sup>	1.46±0.11 <sup>b</sup>	1.45±0.11 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean ± SD.

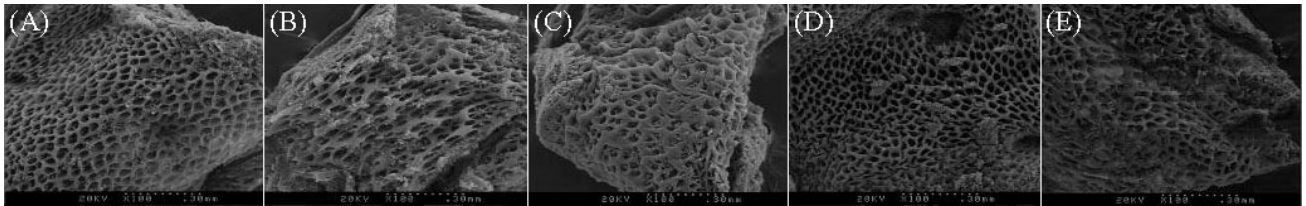
<sup>2)</sup>Different letters within a row indicate significant differences between mean values (p<0.05).

Group 1: normal control, Group 2: vehicle control, Group 3: only TCDD-treated group, Group 4: TCDD treatment+OHEM (400 mg/kg/day), Group 5: pre-treated OHEM (400 mg/kg/day)+TCDD treatment.



**Fig. 4. Histological findings of rat liver tissues treated with TCDD or OHEM.**

Hematoxylin-eosin stained rat liver. A: normal control group, B: vehicle control group, C: only TCDD-exposed group, D: TCDD-exposed and OHEM simultaneous treatment group, E: OHEM pretreated and TCDD-exposed group.



**Fig. 5. Histological findings of rat small intestine tissues treated with TCDD or OHEM.**

Small intestine photograph scanning electron microscopy (SEM). A: normal control group, B: vehicle control group, C: only TCDD-exposed group, D: TCDD-exposed and OHEM simultaneous treatment group, E: OHEM pretreated and TCDD-exposed group.

으로 인한 풍선변병과 공포화가 유발된 것을 관찰할 수 있었으며, 이러한 풍선변병은 세포의 염색성을 소실시켜 하얀 풍선모양의 형태로 나타나게 된다.

TCDD 노출과 동시에 OHEM을 투여한 group 4(D)와 OHEM을 전투여 받은 group 5(E)에서는 풍선변병과 호산성 간세포가 확인되었으나, (C)에 비하여 비교적 풍선변병이 적게 발생하고 공포화가 감소하였으며, 또한 (E)의 형태는 (D)보다 간조직의 핵 형태가 비교적 뚜렷한 것을 확인할 수 있었다.

TCDD에 대한 노출은 조직학적으로 간조직 내 necrotic centrilobular lesion의 변화와 간세포의 팽윤, 세포핵 과염색상, 세포질의 공포 및 지방성 병변이 발생하며 이러한 병변은 TCDD 노출로 lipid peroxidation의 증가와 parenchymal cell의 hyperplasia 및 hypertrophy와 같은 현상에서 비롯된다고 보고되고 있다(24,25). 이러한 기존의 연구결과와 동일하게 본 실험의 결과에서도 TCDD 단독 투여군의 간세포의 형태는 정상세포와는 상당히 다른 조직적 형태를 나타냈으며 자료로 제시되지 않았지만 간내 출혈로 인한 혈전과 검은 흑점 형태의 응고 괴사부도 다량 관찰되었다. OHEM의 동시투여와 사전투여로 인한 간조직의 형태는 TCDD 처리군과 마찬가지로 풍선변병과 공포, 호산성 간세포, 수포병변 등이 확인되기는 하였지만 상대적으로 풍선변병과 수포병변, 공포가 감소하여 정상적인 간세포의 형태와 가까운 형태를 보여주었다. 따라서 TCDD 노출로 인한 간조직의 손상은 OHEM의 처리로 인하여 감소하는 것을 확인할 수 있었으며 또한 OHEM 사전투여로 인한 TCDD 독성에 대한 예방 효과가 있는 것으로 여겨진다.

Rat으로부터 적출한 신장조직을 주사전자현미경을 이용하여 관찰한 결과에서는 모든 실험군에서 특별한 병적 징후

를 관찰할 수 없었다. 이것은 앞서 실험한 혈액임상적 분석에서 신장기능지표의 결과가 실험군별로 별다른 차이를 측정할 수 없었던 것과 연관된 결과로 생각되어진다. 이러한 결과는 TCDD 노출이 신장의 혈관간, 근위세노관 및 원위세노관 세포의 파괴와 fibronectin protein의 분비를 증가시켜 신장 섬유화를 유발한다는 Kim 등(26)의 보고와는 차이가 있는 것으로 나타났다.

Fig. 5는 소장의 용모조직을 SEM을 이용하여 촬영한 것으로 group 1(A)에서는 병적 징후나 소장 용모 손상을 찾아볼 수 없는 정상상태이며 용매대조군인 group 2(B)도 마찬가지로 정상적인 형태를 보여주었다. 그러나 (C)처럼 TCDD 단독 노출군인 group 3은 용모조직의 상단부위가 부풀어 오른 것을 확인할 수 있었다. TCDD 노출과 함께 OHEM을 투여한 group 4의 용모조직은 (A), (B)의 용모조직과 유사한 형태였으며, OHEM을 사전투여 받은 group 5의 용모 상태도 정상적인 형태에 가까운 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 TCDD 노출이 소장 점막기관에 이상증을 나타내어 부종을 유발하지만 OHEM의 전투여 및 동시투여가 이러한 부종의 생성을 효과적으로 감소시키는 것으로 판단된다. 따라서 TCDD의 노출은 간 및 소장에 독성을 유발하지만 OHEM의 처리에 따라 이러한 간독성 및 소장의 부종을 예방 및 회복시킬 수 있는 것으로 확인되었다.

## 요 약

본 연구는 삼백초(*aururus chinensis*), 포공영(*Taraxacum platycarpum*), 유근피(*Ulmus macrocarpa*), 감초(*Glycyrrhiza glabra*), 흑두(*Rhynchosia nulubilis*)로부터 제조된 생약재 추출 혼합물이 dioxin 중 중독성이 가장 강하다고 알려진

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD)에 의한 산화적 스트레스에 미치는 효과를 실험하였다. 정상적인 간세포주를 TCDD에 노출시킨 후 OHEM을 처리한 결과, TCDD에 의한 세포독성을 감소시켰으며, 간세포주로부터 생성된 lactate dehydrogenase, nitric oxide, cytochrome p450의 생성량 측정 결과로 OHEM이 TCDD로 유발된 간 독성을 해독할 수 있는 것으로 나타났다. 그리고 rat을 이용한 TCDD 급성독성 유발 실험에서는 TCDD 투여에 의해 증가된 AST, ALT, ALP, LDH 및 동맥경화지수가 OHEM의 투여에 의해 유의성 있게 감소하였으며 OHEM의 사전투여에 의한 방어효과가 높은 것으로 측정되었다( $p < 0.05$ ). 또한 OHEM의 투여가 TCDD에 의해 손상된 간세포 조직의 풍선병변과 공포화를 감소시켰고, 소장 세포의 조직에서는 용모조직의 부종을 현저하게 감소시켰다.

### 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(과제번호: 20070301034009)의 지원에 의해 이루어진 연구의 일부이며 지원에 감사드립니다.

### 문헌

- Liem AK, Fürst P, Rappe C. 2000. Exposure of population to dioxins and related compounds. *Food Addit Contam* 17: 241-259.
- Safe S. 1995. Modulation of gene expression and endocrine response pathways by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related compound. *Pharmacol Ther* 67: 247-281.
- Poland A, Knutson JC. 1982. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: Examination of the mechanism of toxicol. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 22: 517-554.
- Stoys SJ. 1990. Oxidative stress induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Free Radic Biol Med* 9: 79-90.
- Jones PB, Galeazzi DR, Fisher JM, Whitlock JP Jr. 1985. Control of cytochrome P1-450 gene expression by dioxin. *Science* 227: 1499-1502.
- Goeptar AR, Scheerens H, Vermeulen NP. 1995. Oxygen and xenobiotic reductase activities of cytochrome p450. *Crit Rev Toxicol* 25: 25-65.
- Bradfield JY, Lee YH, Keeley LL. 1991. Cytochrome p450 family 4 in a cockroach: molecular cloning and regulation by regulation by hypertrehalosemic hormone. *Proc Natl Acad Sci* 88: 4558-4562.
- Gelboin HV. 1980. Benzo[alpha]pyrene metabolism, activation and carcinogenesis: role and regulation of mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiol Rev* 60: 1107-1066.
- Kang KS, Lee YS. 1999. Effect of green tea on the male reproductive system of rat exposed 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. International Symposium for Endocrine Disrupting Chemicals. p 441-444.
- Kim W, Hwang S, Lee H, Song H, Kim S. 1999. Panax ginseng protects the testis against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced testicular damage in guinea pigs. *BJU International* 83: 842-849.
- Ashida H, Fukuda I, Yamashita T, Kanszawa K. 2000. Flavons and flavonols at dietary levels inhibit a transformation of aryl hydrocarbon receptor induced by dioxin. *FEBS Lett* 476: 213-217.
- Shon YH, Park IK, Moon IS, Chang HW, Park IK, Nam KS. 2002. Effect of chitosan oligosaccharide on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in mice. *Biol Pharm Bull* 25: 1161-1164.
- Ha BJ. 2003. Effects of *Houttuynia Cordata thunb* on anti-oxidative activity against TCDD damage. *J Environmental Science* 12: 599-603.
- Hwang SY, Yang JB, Chang CS, Lee YC, Lee HC. 2002. Protective effect of cornu parvum extract on toxicity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rat. *Korea J Oriental Physiology & Pathology* 16: 674-679.
- Park KM, Hwang JK, Shin KM, Kim HS, Song JH. 2003. Detoxicating effects of oriental herb extract mixtures on nicotine and dioxin. *Korean J Food Sci Technol* 35: 980-987.
- Hayes MA, Roberts E, Roomi MW, Safe SH, Farber E, Cameron RG. 1984. Comparative influences of different PB-type and 3-MC-type polychlorinated biphenyl-induced phenotypes on cytotoxicity of bromobenzene and acetaminophen. *Toxicol Appl Pharmacol* 76: 118-127.
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126: 131-138.
- Omura T, Sato R. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties. *J Biol Chem* 239: 2379-2385.
- Kociba RJ, Keeler PA, Park CN, Gehring PJ. 1976. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) results of a 13 week oral toxicity study in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 35: 553-574.
- Hook GE, Haemann RJK, Lucer GW. 1975. Induction and suppression of hepatic and extra-hepatic microsomal foreign compound metabolizing enzyme system by 2,3,7,8-TCDD. *Chem Biol Interact* 10: 199-214.
- Cunningham HM, Williams DT. 1972. Effect of tetrachlorodibenzo-p-dioxin on growth rate and synthesis of lipid and proteins in rats. *Bull Environ Contam* 7: 45-51.
- Swift LL, Gasiewicz TA, Dunn D, Soule PD, Neal RA. 1981. Characterization of the hyperlipidemia in guinea pigs induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 59: 489-499.
- Dibartolomeis MJ, Moore RW, Peterson RE, Jefcoate CR. 1986. Hypercholesterolemia and the regulation of Adrenal steroidogenesis in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 85: 213-323.
- Buu-Hoi NP, Harris MJA, Vos JG. 1972. Organism as targets of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in toxication. *Naturwiss* 59: 174-183.
- Kimbrough RD, Carter CD, Liddle JA, Cline RE, Phillips PE. 1977. Epidermiology and pathology of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin poisoning episode. *Arch Environ Health* 32: 77-85.
- Kim EN, Yoo MR, Lim HJ, Hwang EW, Ha HJ, Lee HP. 2002. Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on cultured agglomerulus mesangial cell and renal tubule epithelial cell activation. *Korean Journal of Nephrology* 21: 12-19.

(2007년 11월 2일 접수; 2008년 3월 3일 채택)