

원 저

## 益苓湯과 益苓湯加味方이 Puromycin Aminonucleoside로 유발된 白鼠의 腎症에 미치는 영향

조충식, 김철중

대전대학교 한의과대학 신계내과학교실

### The Study on the Effect of *Ikryung-tang*(*yiling-tang*) and *Ikryung-tangkamibang*(*yiling-tangjiawEIFang*) on Rats with Nephrosis Induced by Puromycin Aminonucleoside

Chung-Sik Cho, Chul-Jung Kim

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

**Objectives:** This experimental study was performed to prove the effect of *Ikryung-Tang* (*yiling-tang*; *IRT*) and *Ikryung-tangkamibang* (*yiling-tangjiawEIFang*; *IRT I*, *IRT II*) on rats with nephrosis induced by a single intravenous injection of puromycin aminonucleoside (PAN).

**Methods:** The effects of *IRT*, *IRT I* and *IRT II* on PAN nephrosis were evaluated by measuring the gene expression of IL-4, IFN- $\gamma$  and the concentrations of IgE, albumin, total protein, cholesterol, triglyceride, creatinine, and BUN in the serum and the volume & amount of protein of the 24hrs' urine.

**Results:** In the gene expression linked T cell specialization, *IRT II* inhibited IL-4 and IgE but *IRT* and *IRT I* showed no significant difference compared with control group. On the other hand, *IRT*, *IRT I* and *IRT II* increased IFN- $\gamma$  compared with the control group. In the urine protein, serum albumin, total protein, BUN, and creatinine, *IRT I* especially showed more significant effect than other groups. In the serum cholesterol and triglyceride, *IRT II* especially showed more significant effect than other groups. In the urine volume during 24 hrs, *IRT* especially showed more significant effect than other groups.

**Conclusions:** According to the above results, it is suggested that *IRT* is effective for the treatment of edema, *IRT I* is effective for the treatment of hypoproteinemia and kidney dysfunction, *IRT II* is effective for immune modulation and the treatment of cholesteremia. Therefore *IRT*, *IRT I* and *IRT II* seem to be available for treating nephrosis in clinical practice. (*J Korean Oriental Med* 2002;23(1):156-169)

**Key Words:** *Ikryung-tang*(*yiling-tang*), Nephrosis, Puromycin Aminonucleoside, IL-4, IgE, IFN- $\gamma$

## 서 론

腎症候群(nephrotic syndrome)은 다량의 단백뇨로 인한 저단백혈증과 이에 수반하는 浮腫 및 高脂血症을 특징으로 하는 사구체질환으로<sup>1,2)</sup>, 신장의 사구체 모세혈관의 형태학적 변화와 기능적 이상으로 모세혈관의 단백질에 대한 투과성이 증가되어 요중으로 과다하게 소실되어 나타난다<sup>1,2)</sup>.

· 접수 : 2001년 10월 28일 · 채택 : 2002년 2월 3일  
· 교신저자 : 조충식, 대전광역시 중구 대흥동 대전대학교 한방병원 신계내과학교실  
(Tel. 042-229-6808, FAX. 042-254-3403, E-mail: choool2@chollian.net)

微細變化 腎症候群과 유사한 동물실험 모델로는 白鼠에서의 puromycin aminonucleoside(PAN) 腎症을 들 수 있는데<sup>3)</sup>, PAN 腎症은 1955년 Frenk 등<sup>4)</sup>이 처음으로 PAN을 白鼠에 주사하여 腎症을 유발시키고 임상적 증후군과 신장의 병태생리가 소아의 신증후군과 매우 유사하다고 보고한 이후, 신증후군의 병태생리 연구 model로 널리 이용되고 있다<sup>5)</sup>.

微細變化 腎症候群의 서양의학적 발병기전은 아직 명확히 규명되지 않았지만 주로 림프구에서 분비되는 lymphokine, 항원 항체 반응으로 생산되는 화학적 매개물질 등에 의해서 사구체 기저막과 혈장단백의 荷電에 변화를 일으켜 단백질에 대한 투과성의 증가 때문이라는 설이 제기되고 있다<sup>6,7)</sup>.

腎症候群은 동양의학의 ‘浮腫’, ‘虛勞’ 등의 범주에 속하는 것으로, 임상에서는 병증에 따라 利水, 清熱, 解毒, 去濕, 活血, 化癆, 補腎, 補脾, 補氣, 行氣 등의 다양한 처방을 응용하고 있다<sup>8)</sup>.

최근까지 국내한의학계에서 PAN 腎症에 대한 연구로는 白鼠의 혈청학적 및 조직학적 변화를 관찰한 보고들<sup>9,10)</sup>이 있었으며, 두<sup>11)</sup>는 스테로이드의존성 빈혈 재발형 소아 미세변화 신증후군환자에게 柴茶湯과 스테로이드로 병용치료하여 재발율을 크게 감소시켰다는 임상연구 결과를 보고하였고, 안<sup>12)</sup>은 미세변화 신증후군 환자들에게 溫脾湯과 當歸芍藥散을 투여하여 면역조절기능에 미치는 영향을 보고하였다. 이러한 연구성과를 바탕으로 PAN 腎症에서 약물이 면역조절 및 혈청학적조건, 요량 및 요단백의 변화에 미치는 영향에 대한 연구가 필요하리라 생각되었다.

이에 저자는 대전대학교 부속 한방병원에서 신증후군 치료에 이용하고 있는 益茶湯<sup>13)</sup> 및 益茶湯에 白花蛇舌草, 皂角刺, 兔絲子를 가미한 益茶湯加味方 I 과 紅花, 黃柏을 가미한 益茶湯加味方 II 의 임상적인 효능을 실험적으로 규명하기 위하여 사람의 미세변화 신증후증과 유사한 백서의 PAN 腎症에서 면역조절에 미치는 영향과 혈청학적 지표, 요량 및 요단백을 관찰하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실 험

### 1. 동물 및 재료

#### 1) 동물

실험에 사용된 Sprague-Dawley계 雄性 rat(180~200g)와 BALB/c mouse(18~20g)는 중앙 실험 동물 센터로부터 분양받아 사용하였고, 동물의 사육조건은 멸균된 고형사료(삼양유지사료 주식회사, 실험동물용)와 물을 충분히 공급하였으며, 12시간의 명암 주기와 22±2℃의 실험실 환경에 2주 동안 적응시킨 다음 실험에 사용하였다.

#### 2) 재료

본 실험에 사용된 약재는 대전대학교 부속 한방병원에서 구입한 약재를 정선하여 사용하였고, 처방은 대전대학교 부속 한방병원 처방집에 기재된 益茶湯<sup>13)</sup>(IRT) 및 益茶湯에 皂角子, 兔絲子, 白花蛇舌草를 가미한 益茶湯加味方 I (IRT I)과 益茶湯에 紅花, 黃柏을 가미한 益茶湯加味方 II (IRT II)로 각 처방의 내용과 분량은 다음과 같다.

### 2. 방법

#### 1) 검액 조제

IRT, IRT I, IRT II 각각 2침 분량을 약탕기에서 2

Prescription of Ikryung-tang(IRT)

藥物名	生藥名	重量(g)
黃耆	<i>Astragali Radix</i>	10.0
白朮	<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	6.0
人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	4.0
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4.0
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	4.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.0
柴胡	<i>Bupleuri Cimicifugae Rhizoma</i>	1.2
升麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	1.2
澤瀉	<i>Alismatis Rhizoma</i>	10.0
茯苓	<i>Poria</i>	6.0
豬苓	<i>Polyporus</i>	6.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	12.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	8.0
總量		76.4

Prescription of *Ikryung-tangkamibang* I (IRT I)

藥物名	生藥名	重量(g)
黃耆	<i>Astragali Radix</i>	10.0
白朮	<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	6.0
人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	4.0
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4.0
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	4.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.0
柴胡	<i>Bupleuri Cimicifugae Rhizoma</i>	1.2
升麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	1.2
澤瀉	<i>Alismatis Rhizoma</i>	10.0
茯苓	<i>Poria</i>	6.0
豬苓	<i>Polyporus</i>	6.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	12.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	8.0
皂角子	<i>Gleditsiae Spina</i>	4.0
白花蛇舌草	<i>Oldenlandiae Diffusae Herba</i>	8.0
菟絲子	<i>Cuscutae Semen</i>	6.0
總量		94.4

Prescription of *Ikryung-tangkamibang* II (IRT II)

藥物名	生藥名	重量(g)
黃耆	<i>Astragali Radix</i>	10.0
白朮	<i>Atractylodis Macrocephalae Rhizoma</i>	6.0
人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	4.0
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4.0
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	4.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4.0
柴胡	<i>Bupleuri Cimicifugae Rhizoma</i>	1.2
升麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	1.2
澤瀉	<i>Alismatis Rhizoma</i>	10.0
茯苓	<i>Poria</i>	6.0
豬苓	<i>Polyporus</i>	6.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	12.0
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	8.0
紅花	<i>Carthami Flos</i>	4.0
黃柏	<i>Phellodendri Cortex</i>	4.0
總量		84.4

시간 동안 가열하여 약리 성분을 추출하였다. 여과액은 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하고 이 round flask를 -80℃ deep freezer에서 1시간 냉동시켜 freeze dryer로 동결 건조하여 IRT 18.5g, IRT I 34.5g, IRT II 20.5g 등의 건조 분말을 얻었다. 약재의 분말은 냉동고에 보관하고 실험에 필요한 농도로 녹여 사용하였다.

2) 신증 유발 및 투약

Rat 5마리를 1군으로 하여 정상군, 대조군, IRT군, IRT I군, IRT II군으로 나누고, 정상군을 제외한 모든 군에 腎症을 유발시키기 위해 PAN 300mg/kg을 1회 尾靜脈 주사하였다. 그리고 IRT군에는 IRT(310mg/kg), IRT I군에는 IRT I (575mg/kg), IRT II군에는 IRT II (340mg/kg)를 21일간(1회/1일) 경구 투여하였다. 약재 투여 시점은 PAN을 주사한 날부터 시작하였다.

3) 細胞株 및 시약

RAW 264.7 mouse monocyte는 생명공학 연구소에서 분양받아 사용하였다. splenocytes 및 RAW 264.7 monocytes의 배양에 사용한 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM), concanavaline A, puromycine, dimethylsulfonate(DMSO)등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, Mo., U.S.A.), fetal bovine serum(FBS)은 Gibco BRL Co.(Gaithersburg, U.S.A.), random primer와 nucleotides는 Boeringer Mannheim Co.(Mannheim, Germany), Taq polymerase와 R-Nase inhibitor는 TaKaRa Co.(Japan), M-MLV reverse transcriptase는 Promega Co.(Wisconsin, U.S.A.), RNAsol<sup>®</sup>은 Tel-test Co.(U.S.A.)에서 각각 구입하여 사용하였다. 각 cytokine의 검출에 필요한 primer는 Genotech Co.(Korea)에 의뢰하여 합성하였다.

4) MTT assay를 이용한 세포 독성 조사

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)를 phosphate buffered saline에 5mg/ml로 희석하여 0.22 $\mu$ m로 여과하고 불용성 성분을 제거하여 4℃에서 보관하며 사용하였다. 세포 독성 검사는 RAW 264.7 cell을 96 well plate에 1×10<sup>4</sup>이 되도록 넣고 PAN은 농도에 따른 독성 검사를 위해 100ng/ml, 50ng/ml, 25 ng/ml로 처리하였으며, IRT, IRTI, IRTII는 각각 100 $\mu$ g/ml의 농도로 처리하고 CO<sub>2</sub> incubator에서 12시간 배양하였다. 배양이 끝난 세포는 배지 성분을 제거하고 96 well plates에서 MTT stock(5mg/ml in PBS) 25 $\mu$ l를 가하고 37℃에서 4시간

동안 반응시킨 후, 450rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고 100 $\mu$ l의 DMSO를 첨가하였다. MTT가 완전히 녹도록 shaking한 뒤 540nm에서 흡광도 측정하였다.

5) T 세포 분화에 관련된 유전자 발현 측정

(1) Total RNA의 준비

Total RNA의 분리는 적출된 spleen을 D-PBS로 2회 세척하고 mesh를 이용하여 파쇄하여 splenocytes를 분리하였다. Bone marrow cell은 D-PBS와 1ml syringe를 사용하여 대퇴골에서 분리하였다. 분리된 splenocytes에 RNazol<sup>®</sup>(Tel-test Co., U.S.A.) 400 $\mu$ l를 가해 세포가 완전히 용해될 때까지 pipette을 이용하여 고루 섞어 주었다. 세포가 완전히 용해된 다음 전체 1/10 부피의 chloroform을 첨가하여 vortex로 강하게 15초간 혼합하고 얼음에서 15분간 방치하였다. 이를 13,000rpm에서 원심 분리하여 상층액을 취하고 동일량의 isopropanol을 첨가하여 얼음에서 15분간 방치하여 RNA를 침전시키고, 다시 3,000rpm에서 원심 분리하여 RNA를 침전시키고 70% 에탄올로 세척하여 건조한 후에 20 $\mu$ l의 DEPC가 처리된 증류수에 녹여 RNase-free DNase를 처리하였다. 반응이 끝난 RNA는 -80 $^{\circ}$ C에 보관하며 사용하였다.

(2) First strand cDNA의 합성

분리된 total RNA 3 $\mu$ g을 20 $\mu$ l의 반응액(50mM Tris-Cl, pH 8.3, 75mM KCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM DTT, 2.5mM dNTPs, 1 $\mu$ g random hexamer, 200units M-MLV, 20units RNase inhibitor)을 제조하여 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시켜 first strand cDNA를 합성하고 90 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열하여 RT 활성을 제거하였다.

(3) Reverse Transcription-Polymerization Chain Reaction(RT-PCR)

합성된 cDNA 중 1 $\mu$ l는 20 $\mu$ l의 PCR 반응액(10mM Tris, pH 8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 7.5mM dNTPs, 20pmoles sense, antisense primers, 2units Taq polymerase)을 제조하였다. 반응액은 PCR

machine(MWG, Germany)을 사용하여 94 $^{\circ}$ C에서 predenaturation 3분 및 denaturation 1분, 55 $^{\circ}$ C에서 annealing 1분, 72 $^{\circ}$ C에서 extension 1분을 30회 반복하였다. 각 primer의 특성에 따라서 annealing 온도를 변화시켰으며 반응 산물은 1% agarose gel에서 전기영동하여 분석하였다. 각 유전자 검출을 위한 primer의 염기 서열은 다음과 같다(Table 1).

**Table 1.** Primer Sequence of each Genes in This Studies

Gene	Direction	Sequences	Size
IL 4	S	5-AGCCATATCCACGGATGCGAC	382
	AS	5-GCATGGTGGCTCAGTACTACG	
IFN- $\gamma$	S	5-AACGCTACACACTGCAATCTTGG	405
	AS	5-CTCGGATGAGCTCATTGAATGC	
$\beta$ -actin	S	5'-GACCCAGATCATGTTTGAGACC-3'	513
	AS	5'-GATGTCCACGTCACACTTCATG-3'	

6) ELISA법을 이용한 total IgE의 측정

Mouse 3마리를 1군으로 하여 정상군, 대조군, IRT 군, IRT I 군, IRT II 군으로 나누고, 정상군을 제외한 모든 군에 PAN 30mg/kg을 尾靜脈 주사하였으며, IRT 군에는 IRT(31.0mg/kg), IRT I 군에는 IRT I (57.5mg/kg), IRT II 군에는 IRT II (34.0mg/kg)분량을 7일(1회/1일)동안 PAN을 주사한 날부터 경구 투여하였다. 약재 투여를 마친 실험 동물에서 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였다. 혈청은 PBS로 2배 희석하여 0.05M carbonate 완충 용액(pH 9.6)에서 ELISA용 96 well plate에 100 $\mu$ 씩 분주 후 4 $^{\circ}$ C에서 18시간 반응시켜 항원을 부착시켰다. 항원 부착 후 PBST 완충액(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 4.3mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 1.4mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05% Tween 20)으로 3회 세척하고 PBST(PBST, 5% Skim milk)로 실온에서 1시간 동안 여백 부위를 차단하였다. 이를 PBST로 3회 세척하고 PBST에 IgE 항체 (Horse radish peroxidase-conjugated anti-mouse IgE)를 PBST로 100배 희석하여 상온에서 2시간 반응시킨 뒤 PBST로 6회 세척하였다. 세척 후 plate는 발색 기질 용액(TMB solution) 100 $\mu$ 를 첨가하여 1시간 발색시켰다. 발색 반응은 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100 $\mu$ 를 첨가해 정지시키고 ELISA reader

로 파장 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 7) 혈청의 분리

PAN을 주사한 뒤 제 7일, 14일, 21일에 각 실험군을 ether로 가볍게 마취시킨 다음 심장천자로 혈액을 채취하였다. 혈액을 4℃에서 18시간 응고시킨 뒤 pipette으로 혈액 응고체를 건어 내고 2000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층의 혈청을 얻었다.

### 8) 혈청중 각종 성분 측정

#### (1) 혈청중 albumin치 측정

혈청중 albumin치는 BCG법<sup>14)</sup>에 의하여 A/G B kit(Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan)를 사용하여 측정하였다.

#### (2) 혈청중 total protein치 측정

혈청중 total protein치는 Biuret법<sup>14)</sup>에 의하여 A/G B kit(Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan)를 사용하여 측정하였다.

#### (3) 혈청중 cholesterol치 측정

혈청중 cholesterol치는 효소법<sup>14)</sup>에 의하여 생화학 자동 분석기(Hitachi, Japan)를 사용하여 분석하였으며 측정시약은 신양화학약품주식회사의 제품을 사용하여 측정하였다.

#### (4) 혈청중 triglyceride치 측정

혈청중 triglyceride치는 효소법<sup>14)</sup>에 의하여 생화학 자동 분석기(Hitachi, Japan)를 사용하여 분석하였으며 측정시약은 신양화학약품주식회사의 제품을 사용하여 측정하였다.

#### (5) 혈청중 creatinine치 측정

혈청중 creatinine치는 Folin-Wu법<sup>14)</sup>에 의하여 생화학 자동 분석기(Hitachi, Japan)를 사용하여 분석하였으며 측정시약은 신양화학약품주식회사의 제품을 사용하여 측정하였다.

### (6) 혈청중 urea nitrogen(BUN)치 측정

혈청중 BUN치는 Urease Indophenol법<sup>14)</sup>을 개량하여 생화학 자동 분석기(Hitachi, Japan)를 사용하여 분석하였으며 측정시약은 신양화학약품주식회사의 제품을 사용하여 측정하였다.

### 9) 요단백량 및 요량 측정

#### (1) 24시간 요중 단백질 측정

24시간 요중의 단백질량은 metabolic cage에 실험동물을 넣고 물과 사료를 공급하면서 PAN을 주사한 후, 제 7일, 14일, 21일부터 각각 24시간 尿를 채취하여 Biuret법<sup>14)</sup>에 따라 단백 측정용 kit(아산제약, Korea)와 Hitachi 736(Hitachi, Japan)을 사용하여 측정하였다.

#### (2) 24시간 요량 측정

24시간 요량은 metabolic cage에 실험동물을 넣고 물과 사료를 공급하면서 PAN을 주사한 후, 제 7일, 14일, 21일에 24시간 배뇨량을 측정하였다.

### 3. 통계처리

실험결과는 Mean ± Standard deviation으로 표기하였으며, 유의성 검증은 Student's t-test<sup>15)</sup>를 이용하였다.

## 성 적

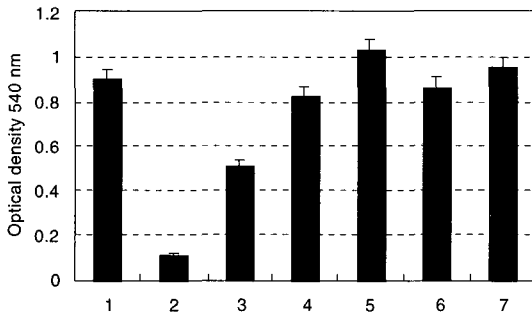
### 1. 세포 독성 검사

PAN이 갖는 세포 독성을 검사하기 위해 RAW 264.7 세포에 대한 MTT assay를 실시하였다. PAN의 농도가 증가할수록 독성이 증가되었고(Fig. 1(lane 2, 3, 4)), IRT군, IRT I 군, IRT II 군에서는 세포의 독성이 감소하였다(Fig. 1(lane 5, 6, 7)).

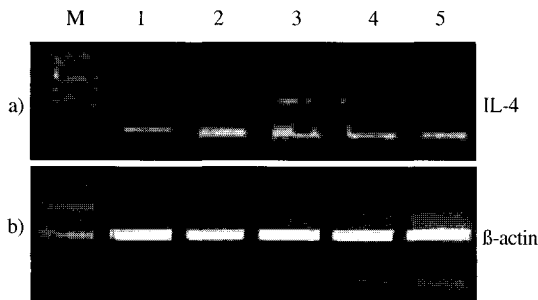
### 2. T 세포 분화에 관련된 유전자 발현

IRT와 IRT I, IRT II 가 면역계에 미치는 영향을 조사하기 위해 cytokines의 발현을 측정하였다. IL-4와 IFN-γ의 mRNA 양을 측정한 결과, IRT II 군에서는 IL-4의 발현이 억제되었으며(Fig. 2), IRT군 및 IRT I

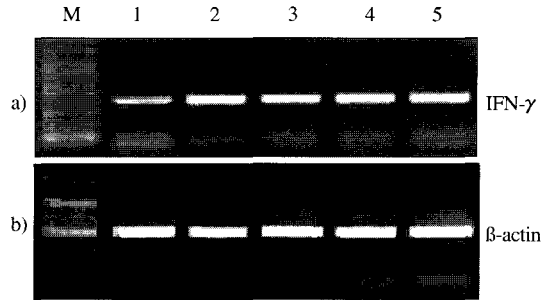
군, IRT II 군에서는 IFN- $\gamma$ 의 발현이 증가되었다(Fig. 3). IgE 농도는 IRT I 군  $0.259\pm 0.004$ ( $p<0.05$ ), IRT II 군  $0.261\pm 0.003$ ( $p<0.01$ )으로 대조군에 비하여 IRT I 군과 IRT II 군에서 유의하게 감소하였다(Table 2).



**Fig. 1.** Assessment of PAN cytotoxicity by MTT assay. RAW 264.7 cells( $1 \times 10^4/ml$ ) were cultured in the absence or presence of various PAN concentration.  
 lane 1 : None-treated wells.  
 lane 2 : Treated wells with PAN 100ng/ml.  
 lane 3 : Treated wells with PAN 50ng/ml.  
 lane 4 : Treated wells with PAN 25ng/ml.  
 lane 5 : Treated wells with IRT 100 $\mu$ g/ml.  
 lane 6 : Treated wells with IRT I 100 $\mu$ g/ml.  
 lane 7 : Treated wells with IRT II 100 $\mu$ g/ml.



**Fig. 2.** The suppression of IL-4 expression in splenocytes following drug treatment.  
 lane M : 100bp DNA marker.  
 lane 1 : Treated wells with Con A 5 $\mu$ g/ml.  
 lane 2 : None-treated wells.  
 lane 3 : Treated wells with IRT 200 $\mu$ g/ml.  
 lane 4 : Treated wells with IRT I 200 $\mu$ g/ml.  
 lane 5 : Treated wells with IRT II 200 $\mu$ g/ml.



**Fig. 3.** The activation of IFN- $\gamma$  expression in splenocytes following drug treatment.  
 lane M : 100bp DNA marker.  
 lane 1 : None-treated wells.  
 lane 2 : Treated wells with Con A 5 $\mu$ g/ml.  
 lane 3 : Treated wells with IRT 200 $\mu$ g/ml.  
 lane 4 : Treated wells with IRT I 200 $\mu$ g/ml.  
 lane 5 : Treated wells with IRT II 200 $\mu$ g/ml.

**Table 2.** Total IgE Concentration in Mouse Serum

	OD <sub>450nm</sub>
Normal	0.233 $\pm$ 0.002*
Control	0.271 $\pm$ 0.002
IRT	0.270 $\pm$ 0.007
IRT I	0.259 $\pm$ 0.004*
IRT II	0.261 $\pm$ 0.003**

a) Mean  $\pm$  Standard deviation.  
 Statistical significance compared with control group. (\* :  $p<0.05$ , \*\* :  $p<0.01$ )  
 Normal : None-treated group.  
 Control : Treated group with PAN 30mg/kg.  
 IRT : Treated group with PAN 30mg/kg and IRT 31.0mg/kg.  
 IRT I : Treated group with PAN 30mg/kg and IRT I 57.5mg/kg.  
 IRT II : Treated group with PAN 30mg/kg and IRT II 34.0mg/kg.

### 3. 혈청중 albumin치과 total protein치의 변화

혈청중 albumin치는 대조군에 비해 IRT군은 제 14일에  $3.32\pm 0.06$ ( $p<0.01$ ), IRT I 군은 제 14일과 21일에  $3.38\pm 0.22$ ( $p<0.05$ ),  $3.48\pm 0.14$ ( $p<0.01$ )g/dl, IRT II 군은 제 14일과 21일에  $3.38\pm 0.11$ ( $p<0.001$ ),  $3.45\pm 0.24$ ( $p<0.05$ )g/dl로 유의하게 증가하였다(Table 3).

혈청중 total protein치는 대조군에 비하여 IRT I 군은  $5.38\pm 0.10$ ( $p<0.05$ ),  $5.43\pm 0.10$ ( $p<0.05$ ),  $5.25\pm 0.13$ ( $p<0.05$ )g/dl, IRT II 군은  $5.23\pm 0.13$ ( $p<0.05$ ),  $5.23\pm 0.05$ ( $p<0.05$ ),  $5.18\pm 0.22$ ( $p<0.05$ )g/dl로 모두 유

의하게 증가하였다(Table 3).

4. 혈청중 cholesterol치와 triglyceride치의 변화

혈청중 cholesterol치는 대조군에 비하여 IRT군은 제 7일과 21일에 49.6±2.1(p<0.01), 49.9±4.6(p<0.01)mg/dl, IRT I 군은 제7일과 21일에 50.1±3.0(p<0.05), 50.6±2.5(p<0.01)mg/dl, IRT II 군은 제7일, 14일, 21일에 50.1±1.9(p<0.05), 49.4±2.4(p<0.01), 50.3±2.1(p<0.01)mg/dl로 유의하게 감소하였다(Table 4).

혈청중 triglyceride치는 IRT II 군은 제 21일에 48.6±1.4(p<0.05)mg/dl로 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(Table 4).

5. 혈청중 creatinine치와 BUN치의 변화

혈청중 creatinine치는 IRT I 군은 제 21일에 0.42±0.01(p<0.05)mg/dl로 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Table 5).

혈청중 BUN치는 대조군에 비하여 IRT군은 제 21일에 15.2±1.6(p<0.01)mg/dl, IRT I 군은 제 14일과 21일에 13.7±0.5(p<0.05), 16.1±1.8(p<0.05)mg/dl, IRT II

군은 제 21일에 14.6±2.3(p<0.01)mg/dl로 유의하게 감소하였다(Table 5).

**Table 4.** The Changes of Serum Cholesterol and Triglyceride in Rats with Nephrosis induced by PAN

Group	Cholesterol (mg/dl)		
	7 (Days)	14 (Days)	21 (Days)
Normal	51.2±3.8 <sup>a)</sup>	48.9±9.0	51.3±2.6
Control	57.7±3.3	57.9±2.5	61.5±3.2
IRT	49.6±2.1**	55.3±2.7	49.9±4.6**
IRT I	50.1±3.0*	51.5±5.0	50.6±2.5**
IRT II	50.1±1.9*	49.4±2.4**	50.3±2.1**
Group	Triglyceride (mg/dl)		
	7 (Days)	14 (Days)	21 (Days)
Normal	52.6±5.2 <sup>a)</sup>	51.5±2.0	52.1±3.5
Control	47.7±4.5	49.9±2.3	57.5±4.2
IRT	49.3±6.8	47.1±8.0	50.5±5.2
IRT I	57.4±3.7*	53.4±4.0	53.2±6.7
IRT II	53.2±6.1	54.6±4.7	48.6±1.4*

a) Mean ± Standard deviation.  
 Statistical significance compared with control group. (\* : p<0.05, \*\* : p<0.01)  
 Normal : None-treated group.  
 Control : Treated group with PAN 300mg/kg.  
 IRT : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT 310mg/kg.  
 IRT I : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT I 575mg/kg.  
 IRT II : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT II 340mg/kg.

**Table 3.** The Changes of Serum Albumin and Total Protein in Rats with Nephrosis induced by PAN

Group	Serum albumin(g/dl)		
	7(Days)	14(Days)	21(Days)
Normal	3.59±0.15 <sup>a)</sup>	3.59±0.13	3.70±0.10
Control	3.10±0.13	2.91±0.11	2.95±0.16
IRT	3.24±0.19	3.32±0.06**	3.20±0.17
IRT I	3.27±0.25	3.38±0.22*	3.48±0.14**
IRT II	3.27±0.15	3.38±0.11***	3.45±0.24*
Group	protein(g/dl)		
	7(Days)	14(Days)	21(Days)
Normal	6.00±0.26 <sup>a)</sup>	6.10±0.26	6.10±0.24
Control	4.55±0.42	4.68±0.34	4.75±0.24
IRT	5.08±0.29	5.05±0.13	5.08±0.10
IRT I	5.38±0.10*	5.43±0.10*	5.25±0.13*
IRT II	5.23±0.13*	5.23±0.05*	5.18±0.22*

a) Mean ± Standard deviation.  
 Statistical significance compared with control group.  
 (\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001)  
 Normal : None-treated group.  
 Control : Treated group with PAN 300mg/kg.  
 IRT : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT 310mg/kg.  
 IRT I : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT I 575mg/kg.  
 IRT II : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT II 340mg/kg.

**Table 5.** The Changes of Serum Creatinine and BUN in Rats with Nephrosis induced by PAN

Group	Creatinine (mg/dl)		
	7 (Days)	14 (Days)	21 (Days)
Normal	0.41±0.02 <sup>a)</sup>	0.44±0.03	0.45±0.01
Control	0.46±0.03	0.46±0.03	0.46±0.02
IRT	0.43±0.01	0.45±0.02	0.45±0.01
IRT I	0.42±0.01	0.45±0.01	0.42±0.01*
IRT II	0.43±0.01	0.44±0.02	0.44±0.02
Group	BUN (mg/dl)		
	7(Days)	14(Days)	21(Days)
Normal	12.0±1.1 <sup>a)</sup>	12.1±1.3	12.3±1.3
Control	13.9±0.9	15.2±1.0	20.7±2.3
IRT	13.1±1.0	15.6±0.8	15.2±1.6**
IRT I	14.5±1.8	13.7±0.5*	16.1±1.8*
IRT II	14.3±1.6	14.1±1.3	14.6±2.3**

a) Mean ± Standard deviation.  
 Statistical significance compared with control group. (\* : p<0.05, \*\* : p<0.01)  
 Normal : None-treated group.  
 Control : Treated group with PAN 300mg/kg.  
 IRT : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT 310mg/kg.  
 IRT I : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT I 575mg/kg.  
 IRT II : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT II 340mg/kg.

6. 24시간 요중 단백질량과 요량의 변화

24시간 요중 단백질량은 대조군에 비하여 제 21일에 IRT군은 17.9±0.5(p<0.05)mg/day, IRT I 군은 17.6±0.6(p<0.05)mg/day로 유의하게 감소되었다(Table 6).

24시간 요량은 대조군에 비하여 IRT I 군은 제 21일에 21.6±3.4ml/day(p<0.05)로 유의하게 증가하였다 (Table 6).

**Table 6.** The Changes of 24hrs Urine Protein and Volume in Rats with Nephrosis induced by PAN

Group	Urine protein (mg/day)		
	7 (Days)	14 (Days)	21 (Days)
Normal	15.0±0.5 <sup>a)</sup>	15.1±0.5	15.2±0.7
Control	19.2±0.9	18.2±0.4	19.8±1.1
IRT	18.6±0.3	19.8±0.8*	17.9±0.5*
IRT I	18.0±1.0	18.2±0.3	17.6±0.6*
IRT II	20.1±0.8	18.1±1.0	19.4±0.7

Group	Urine volume (ml/day)		
	7 (Days)	14 (Days)	21 (Days)
Normal	29.3±3.1 <sup>a)</sup>	28.3±2.0	26.6±1.4
Control	21.0±2.1	19.4±1.8	21.3±2.7
IRT	20.4±3.4	23.9±1.8*	27.1±2.9*
IRT I	19.2±1.2	18.1±2.6	21.6±3.4
IRT II	20.4±2.6	21.1±1.6	20.3±1.6

a) Mean ± Standard deviation.  
 Statistical significant compared with control group. (\* : p<0.05)  
 Normal : None-treated group.  
 Control : Treated group with PAN 300mg/kg.  
 IRT : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT 310mg/kg.  
 IRT I : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT I 575mg/kg.  
 IRT II : Treated group with PAN 300mg/kg and IRT II 340mg/kg.

고 찰

腎症候群은 다량의 단백뇨로 인한 저단백혈증을 특징으로 하며, 전신부종 및 고지질혈증을 동반하는 사구체질환<sup>1,2)</sup>으로, 성인에서는 24시간 요단백량이 3.5mg/M<sup>2</sup>/day 이상일 때, 소아에서는 혈청 albumin 농도가 2.5gm% 이하, 24시간 요단백량이 40mg/hr/M<sup>2</sup> 이상일 때 신증후군으로 진단된다<sup>1,6,17)</sup>. 이러한 단백뇨와 저단백혈증은 신증후군의 진단을 위한 필수조건이며, 혈청 총 cholesterol치 250mg/100ml 이상의 고지혈증과 부종은 본 질환을 위한 필수조건은 아니지만

이것을 확인하면 그 진단이 보다 확실해진다<sup>1,2,17)</sup>.

1955년 Frenk 등<sup>4)</sup>이 미숙한 수컷 생쥐에 PAN을 주사하여 전신의 부종과 복수, 현저한 단백뇨, 저단백혈증, 고지혈증과 고질소혈증(azotemia) 등이 나타나는 것을 관찰하고, 소아에서 발생하는 신증후군과 매우 유사하다고 최초로 보고하였으며, Vernier 등<sup>3)</sup>도 PAN신증은 사람의 미세변화 신증후군과 유사하다고 하였다.

PAN의 독성이 직접 작용하는 곳은 사구체 상피세포포로<sup>18)</sup>, Olson 등<sup>5)</sup>은 PAN으로 유발된 사구체 손상은 charge-selective barrier와 size-selective barrier의 결손으로 생각하고, 이들 중에서 사구체 다음이온(glomerular polyanion)의 손실에 따르는 charge-selective barrier의 결손은 투과 단백질에 대한 전하장벽 효과의 현저한 감소에서 초래된 것이고, size-selective barrier의 결손은 상피세포 족돌기와 slit membrane의 소실에 기인하고, glomerular basement membrane(GBM) 구성의 변화와 같은 다른 요인들도 size 및 charge-selective barrier의 결손에 영향을 줄 수 있다고 하였다.

微細變化 腎症候群은 소아 신증후군의 약 80% 이상을 차지하고, 성인에 있어서는 20% 가량으로 알려져 있다<sup>1,2,17)</sup>. 미세변화 신질환은 특발성 신증후군(idiopathic nephrotic syndrome), 유지질신증(lipoid nephrosis) 또는 족돌기병(foot process disease)이라고도 하며, 명칭이 뜻하는 바와 같이 광학현미경이나 형광현미경으로는 특징적 병변을 발견할 수 없고, 전자현미경 소견상 족돌기의 융합 내지는 폐색을 관찰할 수 있다<sup>1,2,5,17)</sup>.

미세변화 신증후군의 원인 및 발병기전에 대해 Shalhoub<sup>19)</sup>가 처음으로 T 세포의 이상으로 본 질환이 초래된다고 발표한 이후, lymphokine이 사구체 기저막의 음성전하나 혈장단백 전하에 변화를 일으켜서 단백질에 대한 투과성이 증가되어 단백질이 나타난다는 설이 제기되었다<sup>6)</sup>. 최근에는 재발기 신증후군 환자의 혈청 IgE치가 상승되는 것이 보고되었고, IgE 수용체치가 신증후군의 예후표식자로 이용될 수 있



다는 등 본 질환과 혈청 IgE의 관련성에 대한 연구가 있었으며<sup>20,21)</sup>, 또한 조<sup>22,23)</sup>는 IL-4가 신증후군 발병기전은 물론 예후와도 관련이 있다고 보고하는 등 미세변화 신증후군과 cytokines간의 관련성에 대한 연구가 증가되고 있다.

IL-4는 IgE 유전자 발현과 IgE의 생산 및 분비를 촉진시키는 주조절 cytokine이며<sup>24,25)</sup>, 휴지기 B 림프구 표면의 class II major histocompatibility complex molecule(MHC class II)의 발현을 증가시키고, IgE의 Fc부위에 대한 저친화성 IgE 수용체(low affinity receptor for IgE, Fc R II, CD23)를 증가시키는 것으로 보고되고 있다<sup>23,24,26,27)</sup>.

IFN- $\gamma$ 는 immune interferon이라 알려질 만큼 다양한 기능을 갖는 면역조절제로서, T 세포와 NK(natural killer) 세포에서 생산되고, MHC class II 발현과 B 세포 증식 분화, IL-2 및 IL-4의 생산을 억제하는데 관여하며, 대식세포 활성 물질로 가장 잘 알려진 cytokine 중의 하나이다<sup>28,29)</sup>. 또한 조<sup>22)</sup>는 IFN- $\gamma$ 가 신증후군 환자 B 세포의 IL-4에 대한 IgE 수용체 발현 유도 반응을 효과적으로 억제시켰는데 이는 환자의 B 세포가 IFN- $\gamma$ 에 효과적으로 반응할 수 있음을 나타낸다고 하였다.

Nephrosis에서 사구체 맥관막(mesangium)을 중심으로 IgA의 침착이 발생하며 이러한 IgA의 침착은 염증 작용과 관련이 있을 것으로 보고되고 있고<sup>30)</sup>, 또한 침착된 IgA는 사구체에서 염증성 cytokine인 IL-6과 TNF- $\alpha$ 를 만들도록 유도하는 것으로 알려져 있다<sup>31)</sup>. 그러므로 IgA와 염증성 cytokine의 생산은 T 세포의 분화와 연관되어 있으며, CD4<sup>+</sup> Th 림프구는 cytokine의 양상에 따라 Th1과 Th2로 구분되고 분화를 결정하는 요인은 환경적 요인과 유전적 요인으로 구분할 수 있다<sup>32)</sup>. 환경적 요인으로는 항원의 유입 경로, 항원의 물리적 변형, 항원의 양 등이 알려져 있으며, 유전적 요인은 아직 정확하게 밝혀지지 않았다<sup>32)</sup>. 환경적 요인이 Th 림프구의 주변 환경에 존재하는 cytokines을 결정함으로써 Th1과 Th2로 분화를 유도하는데 즉, 분화 초기 존재하는 cytokines 중 IL-4가 많이 존재하면 Th2로 분화가 이루어지고, IFN- $\gamma$ 나 IL-

12가 많이 존재하면 Th1으로 분화가 촉진된다<sup>33)</sup>. 이처럼 분화된 Th1 세포는 IFN- $\gamma$ 와 tumor necrosis factor- $\beta$ (TNF- $\beta$ )를 생성하여 세포 매개성 면역 반응(cell mediated immune response)에 관여를 하고, Th2 림프구는 IL-4, 5, 10, 13을 생성하여 알레르기 및 체액성 면역 반응(humoral immune response)에 관여를 한다<sup>34)</sup>. 또한 일부의 cytokine T 림프구는 target cell에 signal를 보내 apoptosis(program of self destruction)에 이르게 함으로써 염증반응의 부산물로 생겨난 면역 복합체를 제거<sup>35)</sup>하는 항염작용을 나타내게 된다.

이러한 배경으로 IRT과 IRT I 및 IRT II가 T 세포에 미치는 영향을 조사하였다.

東洋醫學에서의 腎症候群은 '浮腫', 즉 '水腫'의 범주에 속하며, 脾, 肺, 腎과 관련이 있다<sup>2,36)</sup>. 또한 腎의 瘀血은 수종 발생의 중요한 원인의 하나이며<sup>2)</sup>, 이<sup>35)</sup>는 사구체신염 환자에서 瘀血症이 병변 악화의 중요원인이 된다고 하였다.

신증후군의 발병은 대부분 風寒濕의 病邪로 風寒이 聚結하나, 腎陽이 虛하여 水液이 범람하여 수종이 발생하고, 또는 腎氣가 內陷되어 精氣를 수렴하지 못하여 營血이 배설되거나, 邪氣가 內結하여 濕熱이 內蒸해서 腎의 生氣가 作亂되어 不調한 것에 원인이 있다<sup>2)</sup>.

치료는 實證에는 清熱利水, 虛證에는 補中, 行濕, 利小便이 기본치법이 되며<sup>2)</sup>, 辨證에 따라 補益脾胃, 溫補脾腎, 活血化瘀 등의 치법들이 응용된다<sup>2,35)</sup>.

본 실험에 사용한 益苓湯<sup>13)</sup>은 補中益氣湯과 四苓散을 기초로 하여 補中行濕利小便을 목표로 立方된 처방으로, 보조적으로 清熱, 活血, 補腎을 목적으로 清熱利濕解毒의 효능이 있는 白花蛇舌草<sup>36)</sup>, 病所에 直達하고 消腫排膿祛風의 효능이 있는 皂角刺<sup>36)</sup>, 補肝腎의 효능이 있는 兔絲子<sup>36)</sup> 등을 가미한 처방을 益湯加味方(I), 清熱活血祛瘀를 목적으로 活血通經, 散瘀止痛하는 紅花<sup>36)</sup>, 清熱燥濕, 瀉火解毒하는 黃柏<sup>36)</sup>을 가미한 처방을 益苓湯加味方(II)로 하여 실험에 사용하였다.

이에 본 연구에서 PAN 신증을 유발시킨 白鼠에

益茶湯과 益茶湯加味方 I, 益茶湯加味方 II를 투여하여 나타난 성적을 정리해보면 다음과 같다.

T 세포의 분화는 초기 단계에서 IL-4, 12의 농도에 의존적으로 결정된다<sup>28)</sup>. 그러나 Th1, Th2 세포로 분화가 된 이후에는 Th1 계열 cytokines인 IFN- $\gamma$ 가 Th2 세포가 분화되는 것을 억제하게 된다<sup>28,37)</sup>.

이러한 T 세포 분화 과정에서 key cytokine으로 작용하는 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 mRNA 양을 측정 한 결과, 대조군에 비하여 IL-4는 IRT II 군에서 발현이 억제되었으며, IFN- $\gamma$ 는 IRT군과 IRT I 군, IRT II 군 모두 발현이 증가되었다. IgE 농도는 대조군에 비하여 IRT I 군과 IRT II 군에서 유의하게 감소하였다. 그러므로 益茶湯과 益茶湯加味方 I, II는 IFN- $\gamma$ 의 발현을 증가시켜 간접적으로 Th2 림프구의 분화와 IgE 수용체를 유도하는 IL-4의 활성을 억제하는 효과가 있는 것으로 생각되며, 전반적으로 益茶湯加味方 II에서 보다 좋은 효과가 나타났다.

사구체 기저막의 상피세포는 그 주성분이 glycosaminoglycans(GAS)으로 음전하를 갖는 多陰이온으로 구성되어 혈청 albumin이 사구체를 거칠 때 여과액의 pH는 7.4로 이 pH에서 net negative charge를 갖고 있으므로 사구체를 통과할 수 없다는 charge selective barrier 설과 정상 사구체의 구멍의 크기는 350 Å이고 albumin의 직경은 360 Å이므로 정상 상태의 사구체에서는 albumin이 빠져나갈 수 없다는 size-selective barrier 설 등으로 단백질의 방어기전을 설명할 수 있다<sup>2)</sup>. 그러므로 사구체가 손상을 받으면 사구체 기저막의 음이온 부위가 많이 소실되어 음이온인 albumin이 쉽게 빠져나갈 수 있게 되며, 상피세포가 벗겨지거나 부분적 연결 단절 형성과 상피 세포 사이에 면역 글로불린의 침착으로 구멍의 크기가 커짐으로써 蛋白과 같은 큰 분자량의 물질이 빠져나가게 된다<sup>2,17,38)</sup>. 저단백혈증은 다량의 요단백 소실, 단백질의 이화작용증가 및 섭취부족, 흡수 감퇴 등으로 발생하며, 특히 소아에서는 albumin의 반감기가 단축되어 있고, 이화작용이 항진되어 있음이 밝혀졌다<sup>2)16)</sup>. 또한 신증후군에서는 저단백혈증 뿐만 아니라 혈장

단백의 분획에도 이상을 가져와 혈청중  $\alpha_2$ -,  $\beta$ -globulin의 증가 또는 현저한 증가가 나타난다<sup>1,39)</sup>.

저단백혈증 개선효과를 살펴보면, 24시간 요중 단백 배설량은 IRT군과 IRT I 군에서는 제 21일에 대조군에 비하여 유의하게 감소되었으나, IRT II 군에서는 대조군에 비하여 억제하는 경향을 보였지만 유의성은 없었다. 혈청중 albumin치는 IRT군은 제 7일, IRT I 군과 IRT II 군은 제 14일과 21일에 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다. 혈청중 total protein치는 IRT군은 대조군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었으며, IRT I 군과 IRT II 군에서는 대조군에 비하여 제 7일, 14일과 21일에 모두 유의하게 증가하였다. 그러므로 益茶湯과 益茶湯加味方 I, II는 모두 저단백혈증을 개선시키는 효과가 나타났으며, 전반적으로 益茶湯加味方 I에서 보다 좋은 효과가 나타났다. 이는 사구체의 손상된 단백뇨 방어기전 상태를 회복시키기 때문으로 생각된다.

腎症候群에서 나타나는 高脂血症은 cholesterol, phospholipid 및 triglyceride 등의 증가에 기인하며, 원인은 확실하지 않지만 그 정도는 저albumin혈증의 정도와 비례하기도 하는데, 이는 혈관 팽창압이 감소되어 肝에서 albumin의 생산이 증가될 때 부산물로서 cholesterol, triglyceride, 지질단백의 형성이 증가되고, 지질단백 lipase등이 소변으로 소실되어 지질의 이화작용이 저하되기 때문으로 추정되고 있다<sup>1,2,17)</sup>.

고지혈증의 개선효과를 살펴보면, 혈청중 cholesterol치는 IRT군과 IRT I 군에서는 제 7일과 21일에 유의하게 감소하였고, IRT II 군에서는 모두 유의하게 감소하였다. 혈청중 triglyceride치는 IRT군에서는 대조군에 비하여 제 14일과 21일에 감소되는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며, IRT I 군에서는 제 7일에 오히려 유의하게 증가하였고, IRT II 군에서는 제 21일에 유의하게 감소하였다. 그러므로 益茶湯과 益茶湯加味方 I, II는 모두 고지혈증을 감소시키는 효과가 나타났으며, 전반적으로 益茶湯加味方 II에서 보다 좋은 효과가 관찰되었다. 이는 단백질과 저albumin혈증을 개선시키므로써 나타난 것으로 생

각된다.

신증후군에서 나타나는 급성신부전은 대개 혈장량의 감소로 인한 급성 허혈성 세뇨관 괴사, 신간질의 부종이 심해 간질압이 상승되어 사구체 여과율이 감소되는 경우, 그리고 양측성의 급성 신정맥혈전증 등으로 추정되고 있다<sup>17)</sup>. Frenk 등<sup>4)</sup>은 PAN 신증이 유발된 白鼠에서 고질소혈증이 나타난다고 보고하였으며, Eddy 등<sup>40)</sup>은 PAN 신증이 유발된 白鼠에서 사구체 여과율이 감소되는 것은 중한 단백뇨의 결과로 생각되는 가역적인 세뇨관간질성 신염(tubulointerstitial nephritis)이 나타나는 것으로 설명하였다.

신기능 개선효과를 살펴보면 혈청중 creatinine치는 대조군에 비하여 IRT군에서는 큰 차이가 없었으며, IRT I 군은 제 21일에 유의하게 증가가 억제되었고, IRT II 군에서도 증가가 억제되었지만 유의성은 없었다. BUN치는 대조군에 비하여 IRT군은 21일에 유의하게 증가가 억제되었고, IRT I 군은 제 14일과 21일에 유의하게 증가가 억제되었으며, IRT II 군은 제 21일에 유의하게 증가가 억제되었다. 그러므로 益茶湯과 益茶湯加味方 I, II는 PAN 신증에서 나타나는 급성신부전의 상태를 완화시키는 효과가 있는 것으로 생각되며, 전반적으로 益茶湯加味方 I에서 보다 좋은 효과가 나타났다. 이는 혈장량 감소로 발생한 급성신부전이 저단백혈증이 개선되면서 혈장량이 증가되기 때문으로 생각된다.

신증후군에서 발생하는 부종의 원인으로는 단백뇨에 따른 혈청 albumin의 감소와 혈장량의 감소 등에 의한다는 이론뿐만 아니라 腎內要因에 의한 저류, atrial natriuretic peptide 등의 異常에 기인한다는 이론도 주장되고 있다<sup>17)</sup>.

부종의 개선효과를 살펴보면 24시간 요량은 대조군에 비하여 IRT군에서는 제 14일과 21일에 유의하게 증가되었으며, IRT I 군과 IRT II 군에서는 대조군에 비해 큰 차이를 보이지 않았다. 그러므로 益茶湯은 PAN 신증에 동반된 급성신부전의 상태를 호전시키고 부종 또한 소실시킬 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 실험결과를 총괄하면 益茶湯과 益茶湯加

味方 I, 益茶湯加味方 II는 모두 IFN- $\gamma$ 의 발현을 증가시킴으로써 간접적으로 Th2 림프구의 분화와 IL-4의 생산을 억제시킬 수 있으리라 생각되며, 전반적으로 益茶湯加味方 II에서 보다 좋은 효과가 나타나므로 향후 頻回再發型 腎症候群 치료에 응용해 볼 수 있으리라 생각된다. 다량의 단백뇨로 인한 저단백혈증에는 益茶湯과 益茶湯加味方 I, 益茶湯加味方 II이 모두 유의한 효과를 보였으며, 전반적으로 益茶湯加味方 I에서 보다 좋은 효과가 나타났다. 이는 손상된 단백뇨 방어기전을 회복시켜 주는 것으로 생각되며, 앞으로 작용기전과 조직학적 변화에 대한 연구가 필요하리라 생각된다. 고지질혈증은 益茶湯과 益茶湯加味方 I, II 모두 효과가 있었으며, 전반적으로 益茶湯加味方 II에서 보다 좋은 효과가 나타났다. 이는 단백뇨와 저albumin혈증을 개선시키므로써 나타난 것으로 생각된다. 전신부종은 益茶湯에서 효과를 기대할 수 있었으며, 급성신부전은 益茶湯과 益茶湯加味方이 모두 효과가 있었으며, 전반적으로 益茶湯加味方 I에서 보다 좋은 효과가 나타났다.

이상으로 益茶湯은 부종개선, 益茶湯加味方 I은 저단백혈증개선, 신기능개선, 益茶湯加味方 II는 면역조절과 고지혈증개선 등에 보다 효과적으로 나타나므로 신증후군의 치료약물로 활용가능성이 높다고 생각되며, 앞으로 益茶湯과 가미한 약재들의 작용기전에 대한 지속적인 연구가 필요하리라 생각된다.

## 결 론

PAN 腎症을 유발한 白鼠에 益茶湯 및 益茶湯加味方 I, 益茶湯加味方 II가 T세포에 미치는 영향과 혈청중 albumin치, total protein치, cholesterol치, triglyceride치, BUN치, creatinine치와 24시간 요중 단백질량, 요량 등에 미치는 영향을 관찰한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. T 세포 분화에 관련된 유전자 발현은 대조군에

비하여 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 IL-4의 발현이 억제되었으며, 益茶湯 투여군과 益茶湯加味方Ⅰ 투여군, 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 모두 IFN- $\gamma$ 의 발현이 증가되었고, 益茶湯加味方Ⅰ 투여군과 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 IgE 농도는 유의하게 감소되었으며, 전반적으로 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 보다 좋은 효과가 나타났다.

2. 저단백혈증 개선효과에서는 대조군에 비하여 24시간 요중 단백 배설량은 益茶湯 투여군과 益茶湯加味方Ⅰ 투여군에서 유의하게 감소되었으며, 혈청 중 albumin치는 益茶湯 투여군과 益茶湯加味方Ⅰ 투여군, 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 모두 유의하게 증가되었고, 혈청 중 total protein치는 益茶湯加味方Ⅰ 투여군과 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 유의하게 증가되었으며, 전반적으로 益茶湯加味方Ⅰ 투여군에서 보다 좋은 효과가 나타났다.

3. 고지혈증 개선효과에서는 대조군에 비하여 혈청 중 cholesterol치는 益茶湯 투여군과 益茶湯加味方Ⅰ 투여군, 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 유의하게 감소되었고, 혈청 중 triglyceride치는 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서는 유의하게 감소되었으며, 전반적으로 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 보다 좋은 효과가 나타났다.

4. 신기능 개선효과에서는 대조군에 비하여 혈청 중 creatinine치는 益茶湯加味方Ⅰ 투여군에서 유의하게 감소되었고, BUN치는 益茶湯 투여군과 益茶湯加味方Ⅰ 투여군, 益茶湯加味方Ⅱ 투여군에서 모두 감소되었으며, 전반적으로 益茶湯加味方Ⅰ 투여군에서 보다 좋은 효과가 나타났다.

5. 부종의 개선효과에서는 대조군에 비하여 24시간 요량은 益茶湯 투여군에서 유의하게 증가되었다.

이상으로 益茶湯은 부종개선, 益茶湯加味方Ⅰ은

저단백혈증개선, 신기능개선, 益茶湯加味方Ⅱ는 면역조절과 고지혈증개선 등에 보다 효과적으로 나타나므로 신증후군의 치료약물로 활용가능성이 높다고 생각되며, 앞으로 益茶湯과 가미한 약제들의 작용기전에 대한 지속적인 연구가 필요하리라 생각된다.

## 참고문헌

1. 강성귀. 신장학. 서울:고려의학. 1994:169-178.
2. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울:東洋醫學研究院 出版部. 1993:238-242,369-377,393.
3. Vernier RL, Papermaster BW, Good RA. Aminonucleoside nephrosis. J Exp Med. 1958;109:115-126.
4. Frenk S, Antonowicz I, Craig JM, Metcove J. Experimental nephrotic syndrome induced in rats by aminonucleoside. Renal lesions and body electrolyte composition. Proc Soc Exp Biol Med. 1955;89:424-427.
5. Olson JL, Renneke HG, Venkatachalam MA. Alterations in the charge and size selectivity barrier of the glomerular filter in aminonucleoside nephrosis in rats. Lab Invest. 1981;44:271-279.
6. Reeves WG, Cameron JS, Johanson SGO, Ogg CS, Peters DK, Weller RO. Nephrotic syndrome. description and immunologic findings. Clin Allergy. 1975;5:121-137.
7. Fodor P, Saitua MT, Rodriguez E, Gonzalez B, Schlesinger L. T-cell dysfunction in minimal change nephrotic syndrome of childhood. Am J Dis Child. 1982;136:713-717.
8. 張大寧. 實用中醫腎病學. 北京:中國醫藥科技出版社. 1990:90,96,344-346.
9. 金鍾大 외. 加減胃茶湯 및 壯元湯이 Puromycin Aminonucleoside로 誘發된 白鼠의 腎症에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集. 1998;21(1):269-296.
10. 洪宗秀. 桂枝茯苓丸合五苓散 및 葶藶分清飲이 Puromycin Aminonucleoside로 誘發된 白鼠의 腎症

- 에 미치는 影響. 慶熙大學校大醫院 博士學位論文. 1999.
11. 杜鎬京 외. 스테로이드依存性 頻回再發型 腎症候群의 治療에 있어서 韓方製劑인 柴苓湯과 洋方藥物인 스테로이드의 併用效果에 대한 研究. 慶熙醫學. 1996;12(2):180-185.
  12. 安永敏. 微細變化 腎症候群에서 溫脾湯과 當歸芍藥散이 免疫調節機能에 미치는 影響. 慶熙大學校大醫院 博士學位論文. 2000.
  13. 大田大學校 韓方病院. 韓方病院 處方集. 大田. 1997:162.
  14. 金井 泉 外. 臨床檢査法提要. 서울:高文社. 1989:114-115,384,390-392,405,408,410,416,433,435,437,459,476,524.
  15. 李承旭. 統計學의 理解. 서울:自由아카데미. 1990:129-132,509-520.
  16. A Report of the International Study of Kidney Disease in Children : Nephrotic syndrome in children ; Prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at the time of diagnosis. *Kidney Int.* 1978;13:159-165.
  17. 서울대학교 의과대학. 신장학. 서울:서울대학교 출판부. 1993;4,174-176,178.
  18. Diamond JR, Karnovsky MJ. Focal and segmental glomerulosclerosis following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. *Am J Pathol.* 1986;122:481-487.
  19. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipoid nephropathy. A disorder of T-cell function. *Lancet* II. 1974:556-560.
  20. 장미영 외. 腎症候群에서 血清 Cytokines에 관한 연구. 소아과학회지. 1997;40(12):1701-1706.
  21. 김기호 외. 미세변화 신증후군 환자에서의 혈청 Immunoglobulin E치의 변화. 소아과학회지. 1989; 32(12):1698-1705.
  22. 조병수 외. 미세변화 신증후군의 발병기전에 있어서 IgE Receptor의 역할과 새로운 면역치료법의 개발에 관한 연구(II). 대한신장학회지. 1992;11(1):10-22.
  23. Cho BS, Lee CE, Pyun KH. Elevation of interleukin-4 activities and mRNA expression in childhood minimal change nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 1991;2:590.
  24. 김수연 외. B림파구의 CD23발현의 조절에 의한 새로운 Interleukin4 Bioassay. 대한면역학회지. 1990;12:31-40.
  25. Ishizaka A, Sakiyama Y, Nakanishi M, Tomizawa K, Osrik E, Kojima K, taguchi Y. The inductive effect of IL-4 on IgG 4 and IgE synthesis in human PB1. *Clin Exp Immunol.* 1990;79:392-396.
  26. 문중호 외. Interleukine-4 및 Interferon-Gamma가 정상인 말초혈액 B림파구의 Fc R II 표현에 미치는 영향. 대한내과학회지. 1993;44(3):285-293.
  27. Neuhaus TJ, Wadhwa M, cALLARD, barratt TM. Increased IL-2, IL-4 and inteferon-gamma(IFN-γ) in steroid-sensitive nephrotic stndrome. *Clin Exp Immunol.* 1995;100:475-479.
  28. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology.* Mosby International Ltd. 1998;5(9):121-138,192,235.
  29. 이명식. Interferon-γ에 의한 Class II MHC 항원의 발현과 그 면역학적 영향에 관한 연구. 서울대학교 대학원 박사학위논문. 1990.
  30. Milan T, Jan N, Bruce AJ, Karel M, Karel K, Jiri M. Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *J. Clin. Invest.* 1999;104:73-81.
  31. Ralf W, Ger VZ, Nicole AM, Verhagen NK, Mohamed RD, Cees VK. Human Mesangial Cells in Culture and in Kidney Sections Fail to Express Fc Alpha Receptor (CD89). *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999;10:770-778.
  32. Charles AJ, Pau T, Mark W, Capra JD. *Immunobiology : The immune system in health and disease.* 4th ed. by Current biology Publications. 1999:280-283,391-398.
  33. Juan JL, Fernando JC, Noelia C, Ascension LC, Cheng Q, Xiaoming X, Francisco B, Jesus, P. Different Doses

- of Adenoviral Vector Expressing IL-12 Enhance or Depress the Immune Response to a Coadministered Antigen : the Role of Nitric Oxide. *J. Immunol.* 1999;162:5270-5277.
34. Antonio L, Federica S. Dynamics of T Lymphocyte Responses: Intermediates, Effectors, and Memory Cells. *Science.* 2000;290:92-97.
35. 李國賢 외. 164例腎炎患者血液流變學指標及與血瘀證的關係. *中國中西醫結合雜誌.* 1993;13:528-530.
36. 李尚仁 외. 本草學. 서울:永林社. 1991:182-183,223-224,424-423,440-441,568-569.
37. Nancy NT, Leonard DS, Frank B, Joseph FU, Jr, Hua G, William EP. An interleukin 4 (IL-4)-independent pathway for CD4+ T cell IL-4 production is revealed in IL-4 receptor-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997;94:10838-10843.
38. Brenner BM, Hostetter TH, Humes TH : Molecular basis of proteinuria of glomerular origin. *N Eng J Med.* 1978;298:826-833.
39. 李貴寧, 李鍾淳. 임상병리과일. 서울:醫學文化社. 1990:955-956.
40. Eddy AA, Michael AF. Acute tubulointerstitial nephritis associated with aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int.* 1988;33:14-23.