

# 六味地黄湯이 Alloxan으로誘發된 생쥐의 糖尿病性 腎症에 미치는 影響

서수환, 김용성

동신대학교 한의과대학 내과학교실

## The Effect of Yookmijihwang-tang(Yookmijihwang-tang:YJT) on Mice with Diabetic Nephropathy Induced by Alloxan

Soo-hwan Seo, Yong-sung Kim

Dept. of Internal Medicine, Collage of Oriental Medicine, Dong-Shin University

This study was done to investigate recovery effects of YJT, which has been used clinically in diabetes therapy. Mice were administered Alloxan to induce diabetes. Their body weight and kidney weight changes, BUN, creatinine, glucose, total protein and ALP activity in serum, urinalysis, excretion volume of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> in urine were measured.

### The results were as follows:

1. Increase in body weight and kidney weight and the ratio of kidney to body weight of YJT treated group showed similar results with those of normal group.
  2. The BUN, creatinine, ALP activity levels in serum of YJT treated group were similar with those of normal group.
  3. The glucose level in serum of YJT treated group was better than that of control group
  4. The result of the urinalysis in the group of YJT was almost same as that of control group
- The above results suggest that YJT partially improves the function of the kidney.

## 1. 緒 論

당뇨병성 신증이란 만성 당뇨병에 의하여 신장의 미소혈관에 장애를 나타내어 신장기능의 저하와 신장조직의 손상, 심하면 신부전의 결과로 인한 요붕증이나 신성 고혈압등을 나타내게 되어 유발되는 신장기능의 장애를 말하는 것으로<sup>1</sup>, 당뇨병성 신증은 당뇨병에 의해서 유발되는 혈관장애들 중에서도 가장 치명적인 상태에 이르게 된다는 점에서 당뇨병의 만성 합병증 중에서 가장 중요하게 다루어지고 있다<sup>2</sup>.

당뇨병성 신증은 당뇨병이 만성적으로 이행되어

발생하고, 당뇨병은 한의학적으로 消渴과 가장 유사하다는 점으로 보아, 당뇨병성 신증을 消渴이 오랜 동안 낮지 않아 발생하는 여러 가지 轉變證들 중에서 尿濁, 水腫, 脹滿, 關格, 虛勞, 腰痛 등과 유사하다고 보여지고 있으며<sup>3</sup>, 그의 辨證 및 治療는 나타나는 증상에 따라 응용하고 있는 상태이다.

六味地黄湯(六味地黄湯:YJT)은 滋陰補腎시키는 基本方으로 여러 醫家들에 의하여 腎水不足, 陰虛陽亢, 先天元氣不足, 腎精不足 등에 補腎의 목적으로 광범위하게 응용되어온 처방으로<sup>4</sup>, 현대에 들어서는 임상적으로나 실험적으로 당뇨병이나 당뇨병의 합병증의 치료에 응용되어 유효함이 밝혀졌고<sup>5,6</sup>, 신장기능의 회복 및 신장독성에 대한 보호 효과에 대하여도 유효함이 입증되어<sup>7</sup>, 당뇨병이나 여러 가지 신장질환 등에 많이 응용되고 있다.

· 접수 : 2005. 7. 27. · 채택 : 2005. 8. 12.

· 교신저자 : 서수환 (Tel. 061-725-0827,

E-mail : bihand@hanmail.net)

당뇨병성 신증의 한의학적 치료에 대하여 지금까지 消渴에 응용되는 人蔘白虎湯을 응용하여 연구한 논문<sup>30</sup>이 있었으나, 실험적으로나 임상적으로 신장 기능 회복과 신장독성 보호 효과가 보고된 YJT을 응용하여 당뇨병성 신증에 미치는 영향을 연구한 논문은 아직까지는 없었다.

이에 저자는 YJT이 당뇨병성 신증에 미치는 영향을 연구하고자 Alloxan을 정맥주사하여 당뇨병성 신증이 유발된 생쥐에게 YGT를 투여하여, 이를 통하여 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 동물 및 재료

#### 1) 동물

본 실험에 사용한 동물은 삼육실험동물에서 구입한 체중 18~22g의 ICR(Institute of Cancer Research)계 생쥐로 수컷을 골라 사용하였으며, 고품사료(삼양유지사료 주식회사, 실험동물용)와 정제수를 자유로이 섭취하도록 하고, 실험실 환경(항온항습조건 23±2℃, 55±5%)에서 2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

#### 2) 재료

본 실험에 사용된 약제는 東新大學校 附屬 韓方病院에서 구입한 것을 정선하여 사용하였으며, YJT의 처방구성은 方藥合編<sup>8</sup> 기재된 六味地黃元에 준하였으며, 용량은 活套에 의거하여 六味地黃元에 기

재된 용량을 20貼으로 分作하여 응용하였다. 1錢의 분량은 4g으로 하였다. 처방내용과 분량은 다음과 같다(Table 1.).

### 2. 방법

#### 1) 검액의 조제

YJT의 10첩 분량인 약재 500g을 가늘게 절제하여 Round flask에 넣고 증류수 3000cc를 넣은 후 약 3시간 전탕하여 여과포로 여과한 검액을 Rotary evaporator로 감압 농축한 다음 농축액을 48시간 동안 -70℃ Deep freezer에 동결시킨후 동결건조기에 24시간 건조시키어 YJT 추출물 56.9g을 얻었다.

#### 2) 당뇨병성 신증의 유발

ICR계 생쥐에 Alloxan(75mg/kg, 정맥주사)을 꼬리정맥에 투여하고 2일 후 공복시 혈당을 측정하여 혈당치가 250~400mg/dl인 생쥐를 고혈당 생쥐로 선별하여 실험에 사용하였으며, 혈당치의 측정을 위한 혈액의 채취는 안와정맥으로부터 채취하여 사용하였다.

#### 3) 실험동물의 분류 및 약물투여

실험동물 5마리를 1군으로 하여 정상군, 대조군 및 실험군의 3개군으로 나눈 뒤 대조군과 실험군에서는 Alloxan을 투여하여 당뇨병성 신증을 유발시키고, 실험군에서는 YJT 추출물을 체중 kg당 50mg의 농도로 매일 1회씩 10일간 경구투여 하였으며, 정상군과 대조군에서는 각각 동량의 생리식염수를 투여하였다.

Table 1. Prescription of YJT.

YJT (YJT)		
韓藥名	Medicinal Name	weight (g)
熟地黃	RADIX REHMANNIAE PREPARATA	16
山藥	RHIZOMA DIOSCOREAE	8
山茱萸	FRUCTUS CORNI	8
白茯苓	PORIA	6
牡丹皮	CORTEX MOUTAN RADICIS	6
澤瀉	RHIZOMA ALISMATIS	6
Total Amount		50

3. 뇨중 각종 성분 및 뇨량 측정

1) 뇨량 측정

뇨량 측정은 metabolic cage에 실험동물을 넣고 물과 사료를 공급하면서 24시간 뇨를 오전 10시에 채취하여 양을 측정하였다.

2) Screening by urinary test strips

Screening by urinary test strips는 URISCAN (Yong Dong Chemical Industries, Ltd., Korea)을 사용하여 2일 주기로 실시하여 뇨중의 Glucose, Protein, Blood, Bilirubin, Urobilinogen, Keton, Nitrite, PH, 비중 등을 관찰하였다.

3) 뇨중 Sodium(Na<sup>+</sup>)치 측정

뇨중 Na<sup>+</sup>치는 Flame Photometry법에 의하여 Flame Photometer(Dorning Co., England)를 사용 측정하였다.

4) 뇨중 Potassium(K<sup>+</sup>)치 측정

뇨중 K<sup>+</sup>치는 Flame Photometry법에 의하여 Flame Photometer(Dorning Co., England)를 사용 측정하였다.

5) 뇨중 Chloride(Cl<sup>-</sup>)치 측정

뇨중 Cl<sup>-</sup>량은 Schales-Schales법에 따라 Thermo Jarrel Ash(Poly Scan 61E)를 사용 측정하였다.

4. 체중 측정

체중을 매일 오전 10시에 측정하였다.

5. 혈액 중 각종 성분 측정

1) 혈액의 채취 및 혈장 분리

생쥐의 안와정맥으로부터 채혈한 후 생쥐를 Ether로 가볍게 마취시킨 후 개복하여 심장채혈하고 Serum을 분리하였다.

2) 혈청 중 Glucose, BUN/Creatinine, Alkaline Phosphatase(ALP), Protein 함량 측정

혈청 중 Glucose, BUN/Creatinine, Alkaline Phosphate(ALP), Protein의 함량은 각각의 측정용 Kit(아산제약 주식회사, Korea)과 분광광도계를 이용하여 측정하였다.

6. 뇨중 각종 성분 및 뇨량 측정

1) 뇨량 측정

뇨량 측정은 Metabolic cage에 실험동물을 넣고 물과 사료를 공급하면서 24시간 뇨를 오전 10시에 채취하여 양을 측정하였다.

2) Screening by Urinary Test Strips

Screening by Urinary Test Strips는 URISCAN (Yong Dong Chemical Industries, Ltd., Korea)을 사용하여 2일 주기로 실시하여 뇨중의 Glucose, Protein, Blood, Bilirubin, Urobilinogen, Ketone, Nitrite, PH, 비중 등을 관찰하였다.

3) 뇨중 Sodium(Na<sup>+</sup>), Potassium(K<sup>+</sup>)량 측정

뇨중 Na<sup>+</sup> 및 K<sup>+</sup>량은 Flame Photometry법에 의하여 Flame Photometer(Corning Co., England)를 사용하여 측정하였다.

7. 신장의 적출 및 신장조직내 Protein, Malondialdehyde(MDA)량 측정

1) 신장의 적출

생쥐를 ether로 가볍게 마취시킨 후 개복하여 신장을 적출하였으며, 신장의 무게는 0.9% NaCl을 Perfusion하여 혈액을 제거하여 분리한 후 우측 신장의 무게를 측정하였다.

2) 신장 조직내 Protein량 측정

단백질 정량은 Bovine-v-globuline을 표준물질로 하여 Bio-Rad Protein assay kit를 사용하여 Bradford법으로 정량하였다. 먼저 이 Protein assay를 위하여 Bovine-v-globuline의 표준곡선을 그리는데 Linear range를 0.2~1.5mg/ml에 두었다. 그리고 각 표준물질과 검체를 Test tube에 100μl를 가하고 5ml의 희석 염색액을 각각의 Tube에 가하고 잘 섞었다가 상온에서 5분간 방치 후 595nm의 흡광도에서 측정하였다.

3) 신장조직 Malondialdehyde(MDA)량 측정

10% 신장 균질액 0.5ml에 10% SDS(sodium dodecylsulfate) 0.4ml을 가하고 37°C에서 30분간 수조에 방치시킨 후 0.1 N-HCl 2ml, 0.67% Thiobarbituric acid (TBA) 1ml을 가하고 혼합하여 Boiling water

bath에서 30분간 반응 후 Ice bath에서 냉각하여 반응을 정지시켰다. 여기에 N-butanol 2ml을 가하고 원심분리하여 상등액을 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

표준물질로 10µg/ml의 TEP을 사용하였다.

8. 통계처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었으며, 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하였다.

III. 실험결과

1. 당뇨유도확인시험

당뇨병을 유도하기 위해 Alloxan 75mg/kg을 ICR 계 생쥐의 꼬리정맥에 투여하였으며 투여 48시간 후 안와정맥으로부터 혈액을 채취하여 혈당치를 측정하였다.

그 결과 Alloxan투여군은 고혈당(326.5±25.6mg/dl)을 유지하였다.

2. 신장기능에 미치는 영향

Alloxan투여 후 이틀 간격으로 신장기능을 검사

하기 위해 혈중 BUN, Creatinine치와 뇨중 Glucose, Protein, Blood, Bilirubin, Urobilinogen, Ketone, Nitrite, PH, 비중 등을 검사하였다.

그 결과 뇨중의 Ketone과 Protein, Glucose, Urobilinogen의 배설이 정상군에 비해 증가되었으며 Alloxan투여 4일째 부터 BUN, Creatinine의 수치가 증가되는 것을 확인 할 수 있어 신사구체의 여과기능, 신세뇨관의 재흡수기능에 기능이상 발생한 것을 알 수 있었다(Table 2, 3.). 따라서, 이후 실험을 75mg/kg의 Alloxan투여 후 투여 2일째 혈당을 측정하여 고혈당 (250~400mg/dl)인 생쥐만을 선별하여 실험에 사용하였다.

Table 3. Renal Dsfuction in Alloxan induced Dabetic Mouse (Serum analysis)

Group	BUN (mg/dl)		Creatinine (mg/dl)	
	4	4(days)	4	4(days)
Normal	13.2±2.3		0.27±0.06	
Control	26.5±5.8*		0.35±0.05*	

Values are Mean ± Standard deviation

\*Significantly different with normal group (P<0.01)

3. 10일간 연속투여에 따른 신장기능회복효과

1) 신장/체중 무게비의 변화

당뇨병성 신증의 경우 신장의 무게에 있어 증가를 보이는 특징이 있다는 주장과, Streptozotocine으로 당뇨 유발된 생쥐의 경우 신장의 무게가 증가했다는

Table 2. Renal Disfunction in Alloxan induced Dabetic Muse (Urineanalysis)

경과일수	시험항목	(n=10)				
		2	4	6	8	10(days)
	Glucose	+++	++++	++++	++++	++++
	Protein	-	-	-	+	++
	Urobilinogen	--	--	--	+	+
	Ketone	-	-	-	±	+
	Blood	-	-	-	-	-
	Bilirubin	-	-	-	-	-
	Nitrite	-	-	-	-	-
	pH	-	-	-	-	-
	비중	-	-	-	±	+

실험보고가 있어, 당뇨가 유발된 생쥐에 있어서 체중과 적출된 신장의 무게비를 보았다. 대조군의 신장/체중의 무게비는  $1.57 \pm 0.07\%$ 로서 정상군의  $0.93 \pm 0.05\%$ 에 비해 70% 가까운 증가수치를 나타내었으나, YJT 추출물 투여군인 실험군에 있어  $1.07 \pm 0.11\%$ 로서 15%의 증가만을 나타내어 유의성이 있음을 알 수 있었다(Table 4.).

**Table 4.** Recovery Effect of YJT on Increase of Kidney Weight/Body Weight Ratio in Alloxan Induced Diabetic Mouse

(n=5)	
Group	Kidney Weight / Body Weight Ratio(%)
Normal	$0.93 \pm 0.05$
Control	$1.57 \pm 0.07$
A-Y	$1.07 \pm 0.11^*$

Values are Mean ± Standard deviation  
 A-Y : The Group that administered the extract of YJT  
 \*Significantly different with normal group(P<0.01)

2) 혈액 생화학적 검사

① 신장기능의 생화학적 인자(BUN, Creatinine치)

당뇨가 유발된 mouse의 경우 신장기능 저하에 따른 배설속도감소로 BUN과 Creatinine이 배설되지 않고 혈액 중에 남아있게 된다. 대조군의 경우 혈중의 BUN, Creatinine치가  $24.1 \pm 3.6\text{mg/dl}$ 와  $0.44 \pm 0.06\text{mg/dl}$ 로 정상군의  $13.2 \pm 2.3\text{mg/dl}$ 와  $0.27 \pm 0.06\text{mg/dl}$ 에 비해서 모두 증가된 수치를 나타내었으며, 이에 비하여 YJT 추출물 투여군인 실험군에 있어서는  $17.2 \pm 2.1\text{mg/dl}$ 와  $0.32 \pm 0.08\text{mg/dl}$ 로 유의성을 나타내었다(Table 5.).

**Table 5.** Recovery Effect of YJT on BUN, Creatinine Level in Alloxan induced Diabetic Mouse

(n=5)		
Group	BUN(mg/dl)	Creatinine(mg/dl)
Normal	$13.2 \pm 2.3$	$0.27 \pm 0.06$
Control	$24.1 \pm 3.6$	$0.44 \pm 0.06$
A-Y	$17.2 \pm 2.1^*$	$0.32 \pm 0.08^*$

Values are Mean ± Standard deviation  
 A-Y : The Group that administered the extract of YJT  
 \*Significantly different with normal group(P<0.01)

② 혈중 Glucose량

대조군인 Alloxan 투여군에 있어 혈당치가  $319.8 \pm 29.2\text{mg/dl}$ 로 증가 되었던 것이 실험군인 YJT 추출물 투여군에서는  $256.4 \pm 32.8\text{mg/dl}$ 로 감소되어 YJT 추출물이 혈당치 개선에 유효함을 알 수 있었다 (Table 6.).

**Table 6.** Recovery Effect of YJT on Serum Glucose Level in Alloxan induced Diabetic Mouse

(n=5)	
Group	Serum Glucose(mg/dl)
Normal	$168 \pm 38.7$
Control	$319.8 \pm 29.2$
A-Y	$256.4 \pm 32.8^*$

Values are Mean ± Standard deviation  
 A-Y : The Group that administered the extract of YJT  
 \*Significantly different with normal group (P<0.01)

③ 혈중 Total Protein량

당뇨에 의해 신기능이 저하되면 혈중 단백질, 특히 Albumin의 노중 배설증가로 현저한 수치의 저하가 나타나게 된다.

대조군의 경우 혈중 총단백량이  $6.9 \pm 0.2\text{g/dl}$ 로 정상군의  $8.3 \pm 0.2\text{g/dl}$ 에 비해 20%정도 감소되었으며, 실험군인 YJT 추출물 투여군은  $7.4 \pm 0.4\text{g/dl}$ 로 대조군에 비하여 감소가 억제되어 유의성이 있음을 확인할 수 있었다(Table 7.).

**Table 7.** Recovery Effect of YJT on Serum Total Protein Level in Alloxan induced Diabetic Mouse

(n=5)	
Group	Serum Total Protein (g/dl)
Normal	$8.3 \pm 0.2$
Control	$6.9 \pm 0.2$
A-Y	$7.4 \pm 0.4^*$

Values are Mean ± Standard deviation  
 A-Y : The Group that administered the extract of YJT  
 \*Significantly different with normal group (P<0.01)

④ 혈중 Alkaline Phosphatase활성

조직 손상에 따라 혈중으로 유출되어 혈중활성이 증가되는 것으로 알려진 Alkaline Phosphatase 활성을 대조군은 19.7±1.2k-unit로 정상군의 8.8±0.9k-unit에 비하면 큰증가를 보이던 것이 실험군인 YJT 추출물 투여군의 경우에는 16.5±1.5k-unit로 정상군에 비하여 증가가 감소되어 유의성이 있음을 확인할 수 있었다(Table 8.).

Table 8. Recovery Effect of YJT on Serum Alkaline Phosphatase Activity in Alloxan induced Diabetic Mouse

(n=5)	
Group	Alkaline phosphatase
Normal	8.8 ± 0.9k-unit
Control	19.7 ± 1.2k-unit
A-Y	16.5 ± 1.5k-unit*

Values are Mean ± Standard deviation

A-Y : The Group that administered the extract of YJT

\*Significantly different with normal group (P<0.05)

3) 뇨검사

뇨검사는 Alloxan투여 후 3, 5, 7, 9, 11, 13일째에 실시하였으며 Glucose, Protein, Ketone, Urobilinogen이외의 시험항목에 있어서는 별다른 변화를 보이지 않았다.

Glucose의 경우 대조군에 있어 실험이 종료되는 13일까지 계속 다량의 Glucose를 뇨를 통해 배설하였으며, 실험군도 대조군과 별다른 차이 없이 다량의 Glucose를 배설하였다.

Protein에 있어서는 대조군이 7일째부터 Protein 배설이 나타나 13일째까지 계속되는 반면 실험군은 5마리중 2마리만이 13일째에 약간의 배설이 보였다.

Urobilinogen에 있어서는 대조군이 9일째부터 13일째까지 뇨중으로 약간 배설이 되었으며 실험군에 있어서는 5마리 중 1마리에 있어 11일부터 13일까지 배설이 되었다.

Ketone은 대조군이 9일부터 13일까지 약간 뇨중으로 배설되고 있었으며 실험군에 있어 5마리중 2마리가 대조군보다 적은 량의 배설을 보일 뿐이었다

(Table. 9).

Table 9. Recovery Effect of YJT on Urine Glucose, Protein, Urobilinogen, Ketone Levels in Alloxan induced Diabetic Mouse

(n=5)				
시험항목	Group	Normal	Control	A-Y
Glucose	3	-	++++	+++
	5	-	++++	++++
	7	-	++++	++++
	9	-	++++	++++
	11	-	++++	++++
	13	-	++++	++++
Protein	3	-	-	-
	5	-	-	-
	7	-	+	-
	9	-	+	-
	11	-	++	-
	13	-	++	± (2)
Urobilinogen	3	-	-	-
	5	-	-	-
	7	-	-	-
	9	-	+	-
	11	-	+	± (1)
	13	-	+	± (1)
Ketone	3	-	-	-
	5	-	-	-
	7	-	-	-
	9	-	±	± (2)
	11	-	+	± (2)
	13	-	+	± (2)

A-Y : The Group that administered the extract of YJT

4) 뇨 생화학적 검사

① 뇨중 Na<sup>+</sup>량

급성 또는 만성 신장애인 경우 신장기능이 저하되면 뇨중 Na<sup>+</sup>의 재흡수기능이 저하되어 뇨중 Na<sup>+</sup> 배설량이 증가하게 되며 이로 인해 체내 전해질 균형이 깨지게 되는데<sup>1)</sup>, 대조군은 뇨중 Na<sup>+</sup> 배설량이 정상군에 비해 약간 증가하는 경향이 있었으며 실험군인 YJT 추출물 투여군의 경우 정상군 보다 약간 낮은 정도의 배설을 보였으나 유의성은 없었다 (Table 10.).

**Table 10.** Recovery Effect of YJT on Urine Sodium Level in Alloxan induced Diabetic Mouse (n=5)

Group	Urine Na <sup>+</sup> (mEq/ℓ)
Normal	214 ± 6
Control	239 ± 5
A-Y	192 ± 6*

Values are Mean ± Standard deviation

A-Y : The Group that administered the extract of YJT

\*Significantly different with normal group (P<0.05)

② 뇨중 K<sup>+</sup> 량

고혈당으로 인한 경우에 K<sup>+</sup>의 배출이 증가되기도 하는데<sup>1</sup> 본 실험에서의 뇨중 K<sup>+</sup>배설은 대조군에서 36.6±5.9mEq/ℓ로 정상군 23.2±3.8mEq/ℓ에 비해 크게 배설 증가를 보였으며 실험군인 YJT 추출물 투여군은 19.9 ± 3.1mEq/ℓ로 정상치에 가깝게 회복되어 유의성이 있었다(Table 11.).

**Table 11.** Recovery Effect of YJT on Urine Potassium Level in Alloxan induced Diabetic Mouse (n=5)

Group	Urine K <sup>+</sup> (mEq/ℓ)
Normal	23.2 ± 3.8
Control	36.6 ± 5.9
A-Y	19.9 ± 3.1*

Values are Mean ± Standard deviation

A-Y : The Group that administered the extract of YJT

\*Significantly different with normal group (P<0.05)

5) 과산화지질 생성량

당뇨병성 신증에 의하여 신장조직의 손상이 발생하면 신장조직의 과산화지질의 생성량이 증가하는데, 대조군에 있어 신장조직중의 Malondialdehyde (MDA)의 생성량이 2.54±0.16mg/ml인데 반해 실험군인 YJT 추출물 투여군의 경우 2.01±0.12mg/ml을 나타내어 정상군의 수치인 1.82±0.15mg/ml에 가깝게 회복되었음을 확인할 수 있었다(Table 12.).

**Table 12.** Recovery Effect of YJT on Kidney Tissue Lipid Peroxide Level in Alloxan induced Diabetic Mouse (n=5)

Group	MDA(mg/ml)
Normal	1.82 ± 0.15
Control	2.54 ± 0.16
A-Y	2.01 ± 0.12*

Values are Mean ± Standard deviation

A-Y : The Group that administered the extract of YJT

\*Significantly different with normal group (P<0.05)

IV. 고찰

당뇨병이란 만성 고혈당 상태를 나타내는 말로, 당뇨병의 원인으로서는 다수의 환경인자, 유전인자 및 그들의 복합인자에 기인한다<sup>2</sup>.

당뇨병성 혈관장애들 중에서 당뇨병성 신증은 당뇨병성 미소혈관장애의 대표적 질환이라고 할 수 있는데, 당뇨병성 망막증이나 신경장애의 경우 최악의 상태라 할지라도 생명에 치명적인 장애를 주지는 않으나, 당뇨병성 신증의 경우 요독증의 상태에 이르게 하는 원인이 되어 심하면 사망에 이르게 되는 치명적인 장애를 일으키게 되므로 당뇨병성 신증을 중요하게 다루어지고 있다<sup>2</sup>.

당뇨병성 신증 초기에 사구체여과율의 증가와 단백뇨가 나타나는데, 사구체여과율이 증가하는 원인은 정확하게 밝혀지지는 않았으나 대부분 사구체 고리의 혈관내강이 정상보다 좁아지기 때문으로 추측하고 있다. 단백뇨 중 당뇨병성 신증 초기의 지표가 되는 것은 Albumin으로, Albumin이외의 다른 단백질 성분은 단순 고혈당에서도 충분한 증가를 보일 수 있으나 Albumin은 신증이 나타나면서 증가하기 때문이다. 당뇨병성 신증 초기의 변화는 가역적이어서 고혈당에 대한 치료가 초기에 실시되면 이러한 변화들도 정상으로 회복될 가능성이 있다. 그러나 단백뇨가 지속적이고 대량으로 나타나면, 저단백혈증, 부종을 나타내는 신증후군으로 진행되게 된다<sup>1,2,10</sup>.

당뇨병의 한의학적 범주는 그 증상에 따라 消渴, 燥, 風痺, 痿, 二陽病, 癰疽, 眼昏, 痺痛 등으로 표현되는데, 이 중 당뇨병과 가장 유사한 병증은 消渴로 볼 수 있다<sup>11</sup>. 한의학적으로 당뇨병성 신증은 당뇨병이 만성적으로 이행되었을 때 발발한다는 점과 당뇨병과 消渴이 가장 유사하다는 점에 착안하여 고전에 나타난 消渴이 오래 낫지 않아 발생하는 轉變證의 범주로 볼 수 있으며<sup>12</sup>, 이들 중 脹滿, 鼓脹, 水病, 腫脹, 虛乏 등이 당뇨병성 신증과 유사한 증상을 나타내는 證으로 사료된다.

消渴의 轉變證에 대하여는 張<sup>13</sup>이 「金匱要略」에서 최초로 浮腫 원인증의 하나로서 消渴을 언급한 이후 巢<sup>14</sup>와 王<sup>15</sup>, 趙<sup>16</sup> 등이 消渴이 오래되어 癰疽나 浮腫이 나타남을 말하였으며, 李<sup>17</sup>는 음식을 먹을 수 있는 자는 腦疽나 背瘡이, 먹을 수 없는 자는 中滿과 鼓脹이 나타난다고 하였으며, 朱<sup>18</sup>는 膀胱의 熱이 鬱結되어 부종이 나타난다고 하였고, 方<sup>19</sup>은 雀目과 內障, 癰疽瘡瘍과 嗽喘, 痔痢, 水腫 등이 나타난다고 하여 당뇨병성 괴저 및 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 심근증, 당뇨병성 신증 등의 당뇨병의 만성 후유증과 유사한 증상들을 열거하였다.

YJT은 張仲景의 金匱要略<sup>13</sup>에 있는 八味腎氣丸에서 宋代 錢乙<sup>20</sup>이 純陽한 小兒의 특성에 부합하도록 肉桂와 附子를 去하여 立方한 것을 「小兒藥證直訣」에 전하여 기록한 방제로, 創方 이후 여러 醫家들에 의하여 腎水不足, 陰虛陽亢, 先天元氣不足, 腎精不足 등에 補腎의 목적으로 광범위하게 응용되어 왔다<sup>4</sup>. 이러한 YJT은 현대적으로 주로 신장의 물질적 기초를 보충하여 만성소모성질환이나, 내분비기능계, 각종 비뇨생식기 계통의 질환을 치료하는 효능을 갖는다고 알려져 있으며<sup>21</sup>, 근래에 들어 임상적으로나 실험적으로 급만성 신부전<sup>7</sup>, 당뇨병성 신경병증<sup>5</sup> 등의 신장질환에 YJT이 유효함이 입증되어 지고 있으며, 신장독성에 의한 신장기능의 보호효과 또한 유효함<sup>22</sup>이 실험적으로 증명되어지고 있다.

본 실험에서 당뇨병 유발물질로 사용된 Alloxan은  $C_4H_2N_2O_4$ 의 강한 산화력 화합물로 Goldner와 Gomori<sup>23</sup>의 실험에서 췌장의  $\beta$ -세포에 선택적인 괴

사작용을 보였으며, 金<sup>24</sup>은 Alloxan의 투여가 췌장 내에서  $\beta$ -세포의 면적을 감소시켜 Insulin의 분비를 선택적으로 차단하여 당뇨병을 유발하는 과정을 보고하여 Alloxan이 Insulin결핍을 초래하여 당뇨병을 유발시키는 물질임을 밝혔다<sup>25</sup>.

본 실험에서 Alloxan을 사용하여 당뇨병성 신증을 유발한 생쥐에 YJT을 투여하여 나타난 성적을 고찰하여 보면 다음과 같다.

먼저 당뇨유도확인 및 당뇨발생 생쥐의 신장기능 확인 실험에서 정상군과 Alloxan을 투여하여 당뇨를 유발시킨 대조군의 두 군으로 나누어 혈액검사와 뇨검사를 시행한 결과 Alloxan투여군의 경우 투여 4일째부터 BUN 및 Creatinine수치가 증가되었고, 10일 후에는 뇨중에 Glucose, Protein, Urobilinogen, Ketone등이 증가됨을 나타내어 신장 기능의 감소를 나타내었으며 이후 본 실험에서 75mg/kg의 Alloxan 투여 후 투여 2일째 혈당을 측정하여 고혈당인 생쥐를 선발하여 실험하였다.

실험은 Alloxan을 ICR계 생쥐에 투여하여 당뇨 유발을 시킨 뒤 YJT 추출물을 50mg/kg 용량으로 10일간 경구투여한 후 신장기능의 회복여부를 혈액, 뇨, 신장조직에 대한 생화학적 검사, 체중, 신장무게의 변화, 신장배설기능검사를 통해 확인 하였다.

당뇨병성 신증은 사구체 간질의 비후와 사구체 기저막의 확장, 사구체 및 세뇨관에 알부민이나 다른 단백질의 침착 등의 기질적인 변화를 나타내는데<sup>1</sup>, 본 실험에서 Alloxan투여군의 체중변화 및 신장무게와의 비를 측정해본 결과, 데이터에는 없지만 초기에는 부종으로 인해 체중의 증가를 보이다가 후기에 들어 체중이 감소하는 경향을 나타내었으며 신장무게는 증가하여 신장/체중의 무게비는 정상에 비하여 70%에 가까운 증가를 나타낸 반면 YJT 추출물 투여군은 초기에 약간의 체중증가가 보이나 곧 정상군과 비슷한 체중을 나타내었고, 신장/체중 무게비에 있어서도 정상군의 15%에 가까운 증가를 보여 당뇨병성 신증에 의해 나타나는 신장내의 단백질 함량의 증가가 YJT 추출물 투여에 의하여 감소됨을 알 수 있다.



혈액 생화학적 검사를 통하여 신장기능의 이상과 신장조직의 손상 유무를 알아보기 위하여 신장기능을 나타내는 대표적인 혈액인자인 Blood Urea Nitrogen(BUN)치와 혈중 Creatinine, 혈중 Glucose, 혈중 총 Protein량, 혈중 Alkaline Phosphatase의 활성을 측정하여 보았다.

BUN은 혈중요소질소로 BUN중의 Urea는 단백질과 아미노산의 주요 최종산물로서 간의 urea cycle에 의해 생성되어 신장으로 배출되기 때문에 신장기능의 이상시 BUN이 증가되어 나타난다. 또한 Creatinine은 간에서 합성된 Creatine이 근육에서 Creatine Phosphate로 인하여 인산화된 것으로, Creatinine은 신장의 사구체를 통하여만 배설되기 때문에 BUN에 비하여 신장질환에 더욱 특이적이다<sup>26</sup>. Alloxan 투여군의 경우 BUN 및 Creatinine치는  $24.1 \pm 3.6 \text{ mg/dl}$ 와  $0.44 \pm 0.06 \text{ mg/dl}$ 로 정상치인  $13.2 \pm 2.3 \text{ mg/dl}$ 와  $0.27 \pm 0.06 \text{ mg/dl}$ 에 비해 크게 증가되어 신사구체의 손상을 확인할 수 있었으며, YJT 추출물의 투여에 의해 BUN과 Creatinine 모두  $17.2 \pm 2.1 \text{ mg/dl}$ 와  $0.32 \pm 0.08 \text{ mg/dl}$ 로 감소하여 정상치에 가까운 회복을 보임을 확인할 수 있었으며, 이러한 결과는 YJT이 신장기능의 회복에 영향을 미침을 뜻한다고 해석할 수 있다.

혈중 총 Protein량은 Alloxan 투여군에 있어서  $6.9 \pm 0.2 \text{ g/dl}$ 로 정상군의  $8.3 \pm 0.2 \text{ g/dl}$ 에 비해 크게 감소하였고, 이것이 YJT 추출물 투여군에서는 유의성 있게 회복되는 것을 알 수 있었다. 이는 YJT이 단백질의 여과와 재흡수에 관여하는 신사구체와 신세뇨관의 기능회복에 영향을 미침을 뜻한다.

Alkaline Phosphatase(ALP)는 주로 간이나 뇌, 비장, 태반, 신장 등에 분포하여 폐쇄성 황달이나 간염, 간종양, 간농양과 같은 간담즙성 질환이나, 골연화증, 구부병, 골전이암 등의 골형성성 질환 그리고 임신, 약물복용 등의 경우와<sup>26</sup>, 만성신부전의 경우에 증가한다<sup>27</sup>. Alloxan 투여군에 있어 ALP는  $19.7 \pm 1.2 \text{ k-unit}$ 로 정상군의  $8.8 \pm 0.9 \text{ k-unit}$ 에 비해 크게 증가하였고 노중 Urobilinogen도 보이는 것으로 보아 Alloxan에 의한 간손상의 결과로 볼 수도 있으나,

YJT 투여에 의해  $16.5 \pm 1.5 \text{ k-unit}$ 로 유의성 있게 감소되었고 혈중 BUN, Creatinine의 결과도 YJT 투여군에 있어서는 호전되고 있어, 이에 대하여는 추후 여타의 간장손상에 관한 지표 및 간장조직의 손상 정도를 확인하는 실험이 필요할 것으로 사료된다.

Alloxan 투여군의 당뇨발후 시일경과에 따른 뇨검사를 실시하였다. 뇨검사는 Alloxan 투여후 3, 5, 7, 9, 11, 13일째에 실시하였으며 Glucose, Protein, Ketone, Urobilinogen이외의 시험항목에 있어서는 별다른 차이를 보이지 않았다.

노중 Glucose량은 Alloxan 투여군에 있어서 13일째까지 지속적으로 +4까지 배설되었으며 YJT 추출물 투여군에 있어서도 Alloxan 투여군과 큰 차이 없이 나타났으나, 혈중 Glucose량이 Alloxan 투여군에 있어  $319.8 \pm 29.2 \text{ mg/dl}$ 로 증가되었던 것이 YJT 추출물 투여군에서는  $256.4 \pm 32.8 \text{ mg/dl}$ 로 감소하는 결과를 보였으며, 노중 Ketone량 또한 Alloxan 투여군이 11일째부터 +1을 보이기 시작하여 당뇨에 의하여 Kotosis를 초래하고 있는 것으로 보여지던 것이, YJT 추출물 투여군에 있어 9일째부터 5마리중 2마리의 경우에서만 나타나는 것으로 보아, YJT의 혈당치 강하효과는 그리 크지는 않으나 어느 정도의 개선효과를 나타냄을 알 수 있다.

당뇨병성 신증의 초기에는 신장의 파괴능과 함께 미세 알부민뇨를 나타내게 되는데, 이러한 미세알부민뇨의 원인은 신사구체의 기저막에서 일차적으로 Heparan Sulfate Proteoglycan(HSPG)의 농도감소로 인해 발생한다<sup>1</sup>. HSPG는 사구체 기저막을 구성하는 성분중의 하나로 HSPG로 인하여 기저막이 전기적으로 음이온 부하를 띄게 되어 투과성에 매우 중요하게 작용한다고 알려져 있으며, 단백뇨를 보이는 당뇨병성 신염이나 몇몇 신질환에서 농도감소를 나타낸다<sup>28</sup>. 노중 Protein량은 Alloxan 투여군에 있어서 7일째부터 보이기 시작하여 13일째는 +2까지 배설되었는데, YJT 추출물 투여군에 있어서는 13일째에서야 5마리중 2마리에서만 나타나는 것으로 호전되었다. 이는 노중 Protein 배설의 증가로 인한 혈중 총 Protein량의 저하를 회복시킴으로 인하여 저단백

혈증으로 인한 전신부종과 신증후군이 유발되는 기전<sup>10</sup>을 미리 차단하여 주는 것으로 앞에서의 체중 측정결과와 함께 보면 YJT이 부종을 억제하고 신기능을 회복시켜 주는 것으로 사료되어진다.

노중 Urobilinogen은 간의 Bilirubin생성항진, 간세포장애, 변비 등에 의하여 증가하며, 일부는 신장을 거쳐 요로 배설된다<sup>27</sup>. Alloxan 투여군에 있어서 9일째부터 +1을 보이기 시작하였고, YJT 추출물 투여군에 있어서는 11일째부터 5마리중 1마리에서만 나타나는 결과를 보여 YJT이 간기능을 개선이나 신기능의 회복에 유효함을 의미한다고 추측할 수 있다.

데이터에는 없지만 총노량은 Alloxan 투여군과 정상군에 있어 큰 차이를 보이지 않았으며 YJT 추출물 투여군에서도 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

한편 뇨의 생화학적 검사에 있어서는 뇨중 Na<sup>+</sup>와 K<sup>+</sup>를 측정하였는데, 고혈당성이나 급성 혹은 만성 신기능 장애인 경우 신장기능이 저하되면 재흡수기능이 저하되어 뇨중 Na<sup>+</sup>배설이 증가하게 되며 이로 인하여 전해질 균형이 깨지게 되고, 뇨중 K<sup>+</sup>의 경우 고혈당으로 인한 경우 배설이 증가되므로<sup>1</sup>, 뇨중 Na<sup>+</sup>는 Alloxan 투여군에 의해 약간 증가되었고 YJT 추출물 투여군에서는 정상군보다 약간 저하되었으나 유의성은 없었으며, 뇨중 K<sup>+</sup>경우 배설량이 Alloxan투여군에 있어 증가를 보였고 YJT 추출물 투여군의 경우 정상군보다 낮은 수치를 나타내 유의한 변화를 보여주었다. 이러한 결과는 YJT이 신장기능의 회복이나 혈당의 저하에 어느 정도 관여함을 시사한다고 할 수 있다.

과산화지질은 자동산화반응에 의한 불포화지방산에 산소가 부가된 생성물의 총칭으로 산화에 의한 세포 손상이 과산화지질의 생성량이 증가하게 되므로, 세포 손상에 관한 지표 중의 하나로 이용된다<sup>29</sup>. Alloxan 투여군의 신장세포 손상 정도와 YJT의 세포손상 방어효과를 측정하기 위하여 Alloxan 투여군과 YJT 추출물 투여군에 있어서의 신장조직중의 과산화지질량을 Malondialdehyde(MDA)량을 측

정하여 알아보았다. MDA는 세포막의 지질이 과산화되어 신장조직의 손상이 일어남을 나타내는 산물로, 실험 결과 신장조직중 MDA 생성량은 Alloxan 투여군의 경우 2.54±0.16mg/dl로 정상군의 1.82±0.15mg/dl에 비해 현저하게 증가하였으나 YJT 추출물 투여군에서는 거의 2.01±0.12mg/dl로 나타났다. 이는 YJT이 신장조직의 손상을 방지하는 효과를 나타냄을 의미한다고 할 수 있다.

이상의 실험결과를 요약하여 보면, Alloxan 투여군에서는 신장/체중의 무게비, 혈액검사상의 BUN, Creatinine, Glucose, ALP, 뇨 검사상의 Glucose, Protein, 뇨중 K<sup>+</sup>배설량과, 신장조직의 MDA량 등이 유의하게 증가 하였으며, YJT 추출물 투여군에서는 신장/체중 무게비의 증가를 억제시키며, 혈액검사상의 BUN, Creatinine, Glucose, ALP는 Alloxan 투여군에 비하여 유의성있게 감소시키고, 뇨중의 protein, K<sup>+</sup>배설을 감소시키고, 신장조직의 MDA량을 유의성 있게 감소시켜 YJT이 사구체 여과기능과 세뇨관 재흡수 기능의 회복을 통한 혈액과 뇨의 생화학적 인자의 개선에 유효할 것으로 사료된다.

이를 人蔘白虎湯을 이용하여 당뇨병성 신증에 미치는 영향을 살펴본 金<sup>30</sup>의 논문과 비교하여 살펴보면 人蔘白虎湯은 특히 혈중 Glucose의 강하효과가 뛰어나 혈당강하로 인하여 당뇨병성 신증의 발생을 방지하는 기전으로 효능을 나타낸 반면 YJT의 혈당강하 효과는 人蔘白虎湯에 비하여 저조하나 신장기능에 대한 보호효과로 인하여 당뇨병이 유발한 신장기능의 저하를 회복시키는 방향으로 당뇨병성 신증의 치료에 응용되어 人蔘白虎湯과는 서로 작용기전이 다를 수 있을 것으로 추측할 수 있다.

본 실험에서는 신장질환 지표중의 하나인 혈중 Cholesterol치와 고혈압, 간독성 여부를 파악하기 위한 간기능 검사 그리고 당뇨병성 신증시의 신장의 조직학적 변화를 보지 못한 점이 아쉬움으로 남고 있으며, YJT이 혈당강하 효과에 미치는 기전과, 당뇨병성 신증에서의 신장 손상이 회복되는 기전에 대한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 결론

ICR계 생쥐에 Alloxan을 75mg/kg 정맥주사의 방법으로 투여하여 혈당치가 250-400mg/dl의 당뇨병성 신증을 유발한 생쥐에 한의학에서 신장기능의 회복에 널리 응용되는 YJT이 미치는 효능을 규명하기 위한 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. YJT 추출물 투여군에서는 신장/체중의 비가 Alloxan 투여군에 비하여 유의성있게 감소 하여 부종의 개선 및 신장내의 단백질 증가억제에 유효함을 알 수 있었다.
2. YJT 추출물 투여군에서는 혈청중의 BUN, Creatinine, ALP의 활성이 Alloxan 투여군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
3. YJT 추출물 투여군에서는 뇨중의 Glucose는 Alloxan 투여군과 큰 차이를 나타내지는 않았으나, 혈중 Glucose와 뇨중 Ketone의 경우 Alloxan 투여군에 비하여 감소하는 경향을 보여 YJT이 혈당개선효과를 가짐을 알 수 있었다.
4. YJT 추출물 투여군에서는 뇨중 Protein, K<sup>+</sup>치 등이 Alloxan 투여군에 비하여 유의성있게 감소하였다.
5. YJT 추출물 투여군에서는 Alloxan 투여군에 비하여 MDA의 생성량이 감소하여 신장조직내의 과산화지질 생성량이 유의성있게 감소하였다.

이상의 결과로부터 YJT는 당뇨병성 신증 치료에 응용될 수 있을 것으로 생각되어지며, YJT이 신장기능 손상을 회복시키는 기전에 대한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. 해리슨 번역편찬위원회. HARRISONS 내과학 (1,2권). 서울: 정담; 1997, p.2162, p.2144-5.
2. Futoshi Shintani. Steps to Internal medicine. 서울: 정담; 2002, p.155-6, 167-76.
3. 呂仁和 등. 糖尿病腎病臨床研究述評. 北京中醫藥大學學報. 1994, p.17(2): 2-5.
4. 신재용 편저. 방약합편해설. 서울: 정보사; 1989, p.45-7, 62-9.
5. 조기호, 정우상, 이경진. 六味地黃丸으로 호전된 당뇨병성 신경병증 1례. 대한한방내과학회지. 1999, p.20(1):280-90.
6. 광계호, 김성훈, 송효정. 육미지황탕가산약이 Alloxan 당뇨 백서의 혈당 및 혈청변화에 미치는 영향. 대한동의병리학회지. 1993;8(1):137-56.
7. 안세영. 오령산 및 YJT이 Gentamicin sulfate로 유발된 백서 급성신부전에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 1993.
8. 황도연. 대석 증맥·방약합편. 서울: 남산당; 1987, p.165-8.
9. R Rasch and J Dorup. Quantitative morphology of the rat kidney during diabetes mellitus and insulin treatment. Diabetologia. 1997; 40: 802-9.
10. 대한당뇨병학회. 제2판 당뇨병학. 서울: 고려의학; 1998, p.271.
11. 杜鎬京. 東醫腎系學 研究. 서울: 慶熙大學校 出版局; 1994, p.429.
12. 申載鏞. 糖尿病과 消渴. 서울: 成輔社; 1985, p.13, pp16-9, 72-6.
13. 張仲景. 完譯金匱要略. 서울: 서원당; 1986, p.57, 384-5.
14. 巢元方. 諸病源候論. 서울: 大星出版社; 1992, p.48.
15. 王壽. 外臺秘要. 서울: 成輔社; 1975, p.294.
16. 趙信. 聖濟總錄. 北京: 人民衛生出版社; 1992, p.1064, 1078.
17. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울: 大星文化社; 1996, p.170.
18. 朱權. 欽定四庫全書(普濟方). 서울: 大星文化社; 1995, p.752-803.
19. 朱丹溪. 丹溪心法附餘. 서울: 大星文化社; 1993, p.502.
20. 錢乙. 小兒藥證直訣. 북경: 인민위생출판사; 1991, p.56.

21. 윤용갑. 동의방제와 처방해설. 서울: 의성당; 1998, p.331-5.
22. 최종배. 六味地黃湯加黃芪人蔘 추출물의 Cisplatin 유도 신장독성 보호효과. 동신대 석사학위논문. 2003.
23. Goldner, M G and Gomori, G. Alloxan diabetes. *proc. Am. Diabetes*, 1944, p.89.
24. 김석대. Alloxan이 흰쥐 췌장도  $\beta$ -세포에 미치는 영향에 관한 영상 해석적 연구. 경희대 박사학위논문. 1984.
25. 孫洛源. Alloxan 糖尿에 白虎湯이 미치는 影響에 대한 免疫組織學的 研究. 慶熙大學校 論文集, 1989; 12: 35-55.
26. 대한임상병리학회. 임상병리학. 서울: 고려의학; 1990, p.60-1, 77-80.
27. 이귀녕 외. 임상병리파일. 서울: 고려의학; 1993, p.1183-4.
28. 고철우. 흰쥐에서 Glomerular Basement Membrane Heparan Sulfate Proteoglycan(GBM HSPG)의 클론. 대한신장학회지. 1996, 15(3): p264.
29. Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. Biology of disease. Mechanism of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest*. 1990, p.670-9.
30. 김용성. 人蔘白虎湯이 Alloxan으로 유도된 mouse의 당뇨병성 신증에 미치는 영향. 한국한의학연구원논문집. 2000; 5(1), p17-25.