

# 五加皮 물추출물이 허혈-재관류로 유발된 급성 신부전에 미치는 영향

이안숙 · 강대길 · 김은주 · 양선녀 · 엄재연 · 안준석 · 이호섭\*

원광대학교 한의학전문대학원

## Effect of Acanthopanax cortex Water Extract on Renal Function in Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Renal Failure Rats

An Sook Lee, Dae Gill Kang, Eun Ju Kim, Sun Nye Yang, Jae Yeon Uhm, Jun Seok An, Ho Sub Lee\*

Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

The present study was designed to examine whether water extract of Acanthopanax cortex(AC) has an effect on renal functional parameters in association with the expression of aquaporin 2 (AQP-2) and heme oxygenase-1 (HO-1) in the ischemia/reperfusion induced acute renal failure (ARF) rats. Polyuria caused by down-regulation of renal AQP 2 in the ischemia-induced ARF rats was markedly restored by administration of AC (200 mg/kg, p.o.) with restoring expression of AQP 2 in the kidney. Administration of AC lowered the renal expression of HO-1, which was upregulated in rats with ischemia/reperfusion-induced ARF. The renal functional parameters including creatinine clearance, urinary sodium excretion, urinary osmolality, and solute-free reabsorption were also markedly restored in ischemia-ARF rats by administration of AC. Histological study also showed that renal damages in the ARF rats were abrogated by administration of AC. Taken together, the present data indicate that AC ameliorates renal defects in rats with ischemia/reperfusion-induced ARF.

Key words : water extract of Acanthopanax cortex (AC), ischemia, acute renal failure (ARF), aquaporin 2 (AQP-2), heme oxygenase-1 (HO-1)

### 서 론

韓醫學에서 腎의 생리기능은 主水液, 藏精, 司二陰 등의 생명현상으로 발현되는 一個의 기능계를 자칭하는 것으로, 左腎水 右命門의 腎陰과 腎陽으로 구분하며 腎病도 腎陰虛와 腎陽虛로 구분하고 있다<sup>1)</sup>. 서양의학적인 腎의 생리기능은 체내 전해질의 농도와 산-염기 평형 유지, 노폐물 배설 및 내분비기관의 役割 등으로 요약 된다<sup>2)</sup>. 급성신부전의 원인은 허혈 및 신독성 물질에 의한 세뇨관 손상이 가장 많은 부분을 차지하며 병리적으로는 세뇨관 괴사를 특징으로 한다<sup>3)</sup>. 허혈에 의한 급성신부전은 저혈압, 심한 탈수, 심장 기능 부전, 패혈증, 외상 등으로 인하여 일시적인 신 관류압 및 신 혈류가 감소되어 발생하게 된다<sup>4)</sup>. 한의학

에서 關格, 小便不利, 小便不通, 癰閉, 浮腫, 虛損, 蓄血, 中毒 등의 범주에 속하는 것으로, 腎元, 肺失肅降, 肝失疏泄, 脾氣不升, 瘀濁內停 등의 원인으로 三焦의 氣化기능이 영향을 받아 발생한다<sup>5)</sup>. 허혈로 손상을 받은 신장에 나타나는 구조적 및 생화학적 변화는 혈관 수축, 세뇨관세포의 박리, 세뇨관 내강의 폐쇄 그리고 세뇨관 내 사구체 여과액의 역류로 요약할 수 있다<sup>6)</sup>. 이러한 손상의 기전은 세뇨관에서의 세포내 유리 칼슘의 증가로 인한 세포막 융합막 구조의 결손이 관여한다. 최근 허혈성 급성 신부전에 관한 혈관 및 세포기전에 대한 연구로 이 질환의 발생과 유지의 병태 생리 뿐 아니라 손상 받은 세뇨관이 완전히 복원되는 과정도 많이 이해하게 되었다.

오가피(Acanthopanax cortex)는 오갈피나무(Acanthopanax sessiliflorum Seeman) 및 동속식물(Araliaceae)의 경피 및 지피로 오래전부터 동양권에서 독성과 부작용이 없다는 상약으로 분류하여 뿌리와 껍질을 약제로 사용하였다. 오가피 류의 생물학적

\* 교신저자 : 이호섭, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원

· E-mail : host@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6841

· 접수 : 2007/08/28 · 채택 : 2007/09/11

효능은 항스트레스작용 및 항 피로작용<sup>7)</sup>, 항히스타민작용, 항 당뇨작용<sup>8)</sup>, 항 산화작용<sup>9)</sup>, 항 알러지작용<sup>10)</sup>, 항 염증작용<sup>11)</sup>, 항 고지혈<sup>12)</sup>, 콜레스테롤 저하효과<sup>13)</sup> 등이 보고되었다. 전통적으로 한의학에서 오가피의 性味는 辛微苦 溫하고, 脾腎心經으로 歸經하여 腎을 補益하고 腰膝을 튼튼히 하고, 氣를 補益하여 精神을 安靜되게 하고, 活血시켜 絡脈을 通하게 하는 효능이 있어, 腎虛體弱, 腰膝酸軟, 小兒行遲, 脾虛乏力, 氣虛浮腫, 食慾不振, 失眠多夢, 健忘, 胸痹疼痛, 風寒濕痹 등의 치료에 주로 사용되고 있다.<sup>14)</sup> 현재까지 알려진 오가피속 식물의 성분으로는 eleutheroside A, B, B1, B4, C, D, E, I, K, L, M과 chlorogenic acid, sesamin, caffeic acid,  $\beta$ -sitosterol, oleanolic acid 등이 알려져 있다.<sup>15,16)</sup> 최근의 연구에 의하면 오가피 물 추출물을 경구 투여한 결과 혈중 LDL-C, VLDL-C의 농도가 감소되고 HDL-C의 농도는 증가되며<sup>17)</sup>, 혈중 glucose, cholesterol, triglyceride 농도가 감소되고<sup>18)</sup>, 지질과산화는 억제되며<sup>19)</sup>, 요중 albumin 배설량의 상승을 억제하고 평균 맥동압을 유의하게 하강시키며<sup>20)</sup>, 당뇨유발을 억제하고 glucose의 상승을 억제하는 효과<sup>21)</sup>에 대한 보고가 있으나 신기능에 대한 연구는 아직 보고되지 않았다.

본 연구에서는 신장 동맥의 허혈/재관류에 의해 유발된 급성 신부전 백서에 오가피추출물을 경구 투여하여 신기능, 혈액학적 분석 및 조직학적 변화를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 오가피추출물의 제조

국내산 오가피를 깨끗이 세척한 다음 300 g을 증류수 3 L에 넣고 냉각기가 설치된 삼각플라스틱에 넣은 후 120분간 가열하였다. Whatman No. 2로 여과하고 추출된 전탕액을 3000 rpm으로 30 분간 원심분리하여 얻은 전탕액을 rotary evaporator로 농축한 후, 최종적으로 얻은 오가피 추출 용액을 -80°C에서 동결 건조하여 분말로 얻었다.

### 2. 실험 동물

실험동물은 체중 200-250 g의 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐 (주)샘타코바이오코리아 (경기도 오산)를 사용하였으며, 물과 고형 사료를 충분히 공급하면서 1주 이상 metabolic cage에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 표준적인 사육조건인 온도 22±2°C, 상대습도 50±10%, 환기횟수 10-15 회/hr의 환경조건을 유지한다.

### 3. 허혈성 신부전의 유발

실험동물을 정상군, ARF군, 및 ARF/AC군으로 나누어 정상군은 대조 수술을 하였고, ARF군과 ARF/AC군은 허혈을 유도하였는데 ketamine을 50 mg/kg의 농도로 복강내 주사하여 마취시킨 후 북부중양선을 절개하여 양측 신동맥을 조심스럽게 분리한 후 silver clip을 이용하여 45분간 신장 동맥을 결찰함으로써 허혈을 유발하였으며 이로부터 45분 후에 결찰을 풀어 혈액을 재 관류하였다. Sham operation 쥐는 동일한 방법을 취하되 신동맥을 결찰하는 과정을 생략하는 경우로 하였다. 백서를 자유롭게 물과 먹이에 접근할 수 있는 metabolic cage에 넣어 수술 후

4일 동안 24시간마다 뇨를 채취하였다. 오가피추출물은 ARF/AC군에 매일 일정한 시간(오전 10시)에 200 mg/kg/day의 농도로 oral zonde needle을 이용하여 수술 후 4일 동안 경구 투여하였으며, 정상군과 ARF군은 증류수를 4 일 동안 경구 투여하였다. 허혈성 손상을 준 뒤 4일후 sacrifice하여 혈액을 채취하고 조직을 얻었으며, 채취된 혈액 및 뇨를 이용하여 creatinine 및 청소율(Ccr)변화, 전해질 농도, 용질-자유 수분 재흡수( $T^C H_2O$ )를 측정하였다.

### 4. 시료 채취

채혈은 의식이 있는 상태의 백서를 scaffold로 단두하여 100 mM EDTA 가 포함된 tube에 혈액을 채취한 후 원심분리(3,000 rpm, 10 분, 4°C)하여 혈청을 분리하고, 분석 전까지 -70°C에 보관하였다. 혈액을 채취 한 후 즉시 신장을 분리하여 10% 포름알데히드 용액에 고정한 후 조직 염색 전까지 냉장보관하였다.

### 5. 요중 creatinine 및 전해질 농도의 측정

요와 혈장의 creatinine은 분광광도계 (Miloton Roy, Rochester, NY, USA)를 이용해 정량하였고, 전해질 농도는 전해질분석기 (NOVA 4, Biochemical, Waltham, MA, USA)를 이용하여 분석하였으며, 삼투질 농도는 osmometer (Model 3900, Advanced Instruments Inc., Norwood, MS, USA)를 이용하여 측정하였다. 용질-자유 수분 재흡수( $T^C H_2O$ )의 측정은 혈청과 요의 삼투질 농도를 측정한 후 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$T^C H_2O = V (U_{osmol}/P_{osmol} - 1), V = \text{urine volume},$$

Uosmol= urinary osmolality, Posmol = plasma osmolality.

### 6. 단백질의 분리

백서를 단두하여 신장을 분리한 후 액체질소에서 얼린 후 사용할 때까지 -70°C 에 보관한다. 보관된 신장은 피질, 외수질, 내수질로 다시 분리한 후 각각을 250 mmol/L sucrose, 1 mmol/L EDTA, 0.1 mmol/L phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSE, freshly prepared)가 포함된 Tris-HCL 완충용액(pH 7.6)에 넣고 3,000 rpm에서 3회 균질화하였다. 1,000 g에서 5 분, 10,000 g에서 10 분간 연속 원심 분리하여 큰 조직덩어리나, 핵 조각은 제거하고 총 단백 추출물만 얻었다. 총 단백 추출물을 다시 100,000 g에서 1시간 동안 원심 분리하여 세포질 내의 가용성 단백질과 막 결합 단백질로 분리하고 단백질의 농도는 소 혈청 알부민을 표준용액으로 한 Bradford 법으로 정량화 하였다.

### 7. Western Blot 분석

10% sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE)로 전기 영동하여 분리하였다. 전기영동 후 western transfer apparatus(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)를 이용하여 gel 내 단백질들을 nitrocellulose membrane(Amersham, Buckinghamshire, England)에 전이시켰다. Membrane을 5% (w/v) non-fat dry milk가 포함된 Tris-buffered saline (TBS: 10 mM Tris pH 7.4, 150 mM NaCl) with 0.1% Tween-20 (TBS-T)용액에 1시간 동안 담궈 비 특이적인 결합을 방지하기 위

하여 blocking을 시행하였다. Blocking된 membrane에 1차 항체로 AQP 2 (Alomone Lab., Jerusalem, Israel), HO-1 (Stressgen bioreagents, victoria, Canada),  $\beta$ -actin (Santa Cruz Biotechnology, USA)을 이용하여 1:1000 비율로 희석해 4°C에서 반응시켰다. 그 후 TBS-T에 1:2000으로 희석한 horseradish peroxidase (HRP)-conjugated anti-mouse 혹은 goat IgG Ab와 상온에서 반응시키고, TBS-T로 충분히 세척하고 enhanced chemiluminescence system을 이용하여 발현 정도를 확인하였다.

9. 면역조직화학염색법(Immunohistochemistry)

labeled-streptoavidin(LAB-SA) 법으로 AQP 2와 HO-1을 면역 반응시켰다. 조직 xylene용액에 담가 파라핀을 제거하고 100% 알코올에서 단계적으로 탈파라핀액을 제거하고, 흡수과정을 거친 후 증류수로 세척한다. 배경염색을 유발하는 조직내 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위해 0.3% 과산화수소를 포함한 methanol에 30분간 반응시킨 후 phosphate buffered saline (PBS)에 수세한다. 조직과 항혈청사이의 비 특이적 반응을 억제시키기 위해 normal goat serum 으로 반응시킨 다음 1차 항체를 희석하여 붙인 후에 overnight시킨 뒤 2차 항체 처리를 한다. AEC chromogen (Zymed, CA, USA)으로 발색 시킨 뒤에 hematoxylin으로 대조염색을 실시한 후 봉입하여 광학현미경 (Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰한다.

10. 통계 처리

실험군 간의 유의성은 실험 결과를 Student's t-test나 one-way ANOVA test를 통하여 p값이 0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판정 하였고, 실험 치의 표현은 mean±SE로 하였다.

결 과

1. 체중에 미치는 영향

실험 기간 동안 모든 실험 백서군의 체중변화는 시간에 따른 증가로, 각 군간의 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 1).

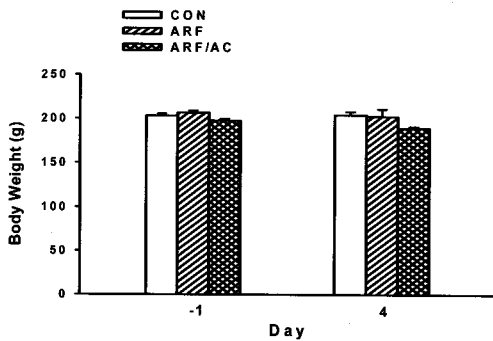


Fig. 1. Effect of the Acanthopanax cortex (AC) on body weight in rats with control (CON), ischemia/reperfusion-induced ARF (ARF), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200 mg/kg/day) for 4 days.

2. 요량에 미치는 영향

정상군의 요량은 4일동안 일정 수준을 유지한 반면, ARF군의 요량은 정상군에 비하여 유의한 증가(p<0.01)를 보였다. ARF/AC군의 요량은 정상군에 비해서 증가하였지만 ARF군에 비해서는 유의한 감소(p<0.05)를 보였다(Fig. 2).

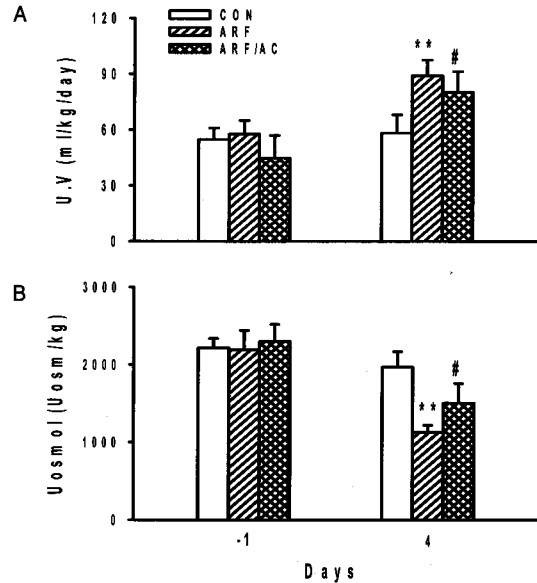


Fig. 2. Effect of the Acanthopanax cortex (AC) on urine volume (A) and urine osmolality (B) in rats with control (CON), ischemia/reperfusion-induced ARF (ARF), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200mg/kg/day) for 4 days. Each value represents the mean±SE of 6 experiments. \*\*p<0.01, compared with control group; #p<0.05, ##p<0.01, compared with ARF group.

3. 요중 삼투질 농도 배설에 미치는 영향

ARF군의 요중 삼투질 농도(Uosmol)는 정상군과 비교하여 유의한 감소(p<0.01)를 보였다. ARF/AC군의 요중 전해질 배설량은 정상군에 비해서는 감소하였지만 ARF군에 비해서는 유의하게 증가되었다(p<0.05, Fig. 2).

4. 요중 전해질 배설에 미치는 영향

ARF군의 요중 Na<sup>+</sup> 배설량이 정상군에 비하여 유의한 감소(p<0.05)를 보였지만, ARF/AC군은 ARF군과 비교하여 배설량이 증가하였다(Fig. 3). 요중 K<sup>+</sup> 배설량은 ARF군이 정상군에 비하여 유의한 감소(p<0.05)를 보이고, ARF/AC군에서 ARF군에 비해서 유의하게 증가하였다(p<0.05, Fig. 3). 요중 Cl<sup>-</sup> 배설량도 ARF군이 정상군에 비하여 유의하게 감소하였지만(p<0.05), ARF/AC군에서는 ARF군에 비하여 유의하게 증가되었다(p<0.05, Fig. 3).

5. 혈장 내 BUN 및 Creatinine에 미치는 영향

혈장 내 Blood Urea Nitrogen 수치는 ARF군이 정상군에 비해 유의한 증가(p<0.01, Fig. 4)를 보였고, ARF/AC군에서는 ARF군과 비교하여 유의하게 감소되었다(p<0.01, Fig. 4). 또한 혈장 내 Creatinine 농도는 ARF군이 정상군에 비해 역시 유의한 증가(p<0.01, Fig. 4)를 보였고, ARF/AC군에서 ARF군과 비교했을 때 유의하게 감소되었다(p<0.01, Fig. 4).

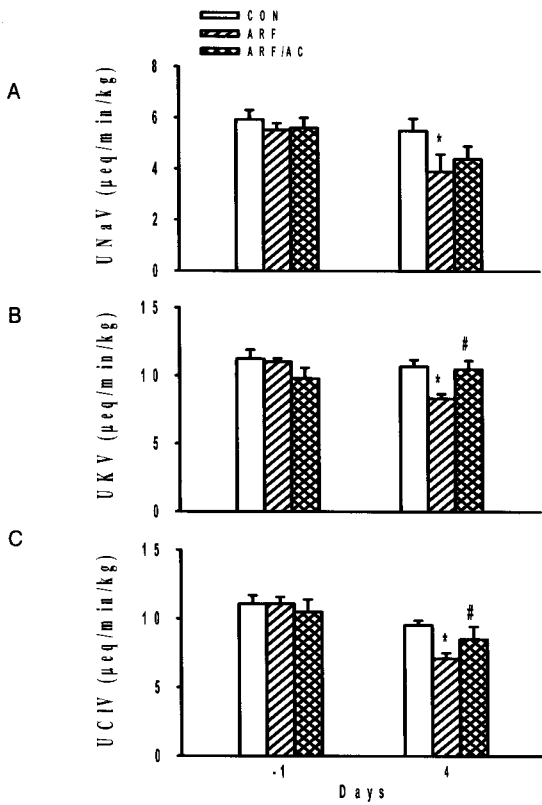


Fig. 3. Effect of the *Acanthopanax cortex* (AC) on UNaV (A), UKV (B), UCIV (C) in rats with control (CON), ischemia/reperfusion-induced ARF (ARF), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200 mg/kg/day) for 4 days. Each value represents the mean±SE of 6 experiments. \*p<0.05, compared with control group; #p<0.05, compared with ARF group.

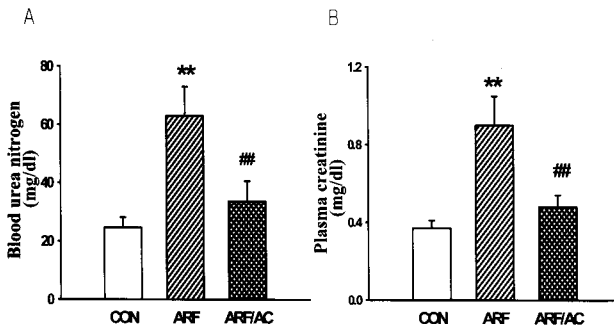


Fig. 4. Effect of the *Acanthopanax cortex*(AC) on blood urea nitrogen (A), plasma creatinine (B) in rats with control (CON), ischemia/reperfusion-induced ARF (ARF), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200mg/kg/day) for 4 days. Each value represents the mean±SE of 6 experiments. \*\*p<0.01, compared with control group; ##p<0.01, compared with ARF group.

#### 6. Creatinine 청소율 및 용질-자유수분 재흡수에 미치는 영향

Fig. 6에서 보여주는 바와 같이 실험을 시작하고 4일 후 creatinine제거율(Ccr)을 측정 한 결과 ARF군에서 정상군과 비교했을 때 유의하게 감소하였고( $p<0.05$ ), ARF/AC군에서는 유의하게 회복되었다( $p<0.01$ , Fig. 5). 용질-자유수분 재흡수( $T^C H_2O$ )를 측정 한 결과 ARF군에서 정상군과 비교하여 유의한 감소를 보였고 ( $p<0.05$ ), ARF/AC군에서 유의하게 회복되었다( $p<0.05$ , Fig. 5).

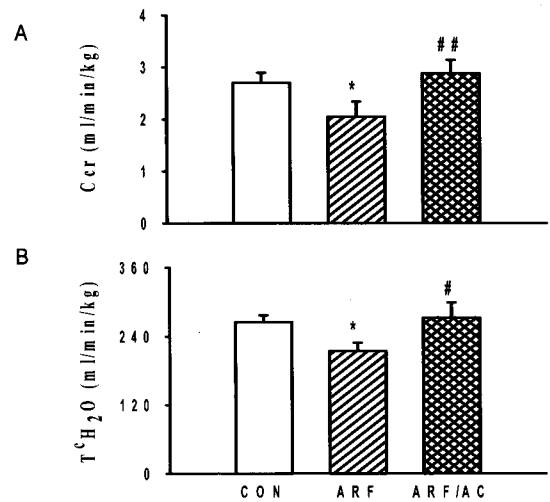


Fig. 5. Changes in creatinine clearance, solute-free water reabsorption in rats with control (CON), ischemia/reperfusion-induced ARF (ARF), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200 mg/kg/day) for 4 days. Each value represents the mean±SE of 6 experiments. \*p<0.05, compared with control group; #p<0.05, ##p<0.01, compared with ARF group.

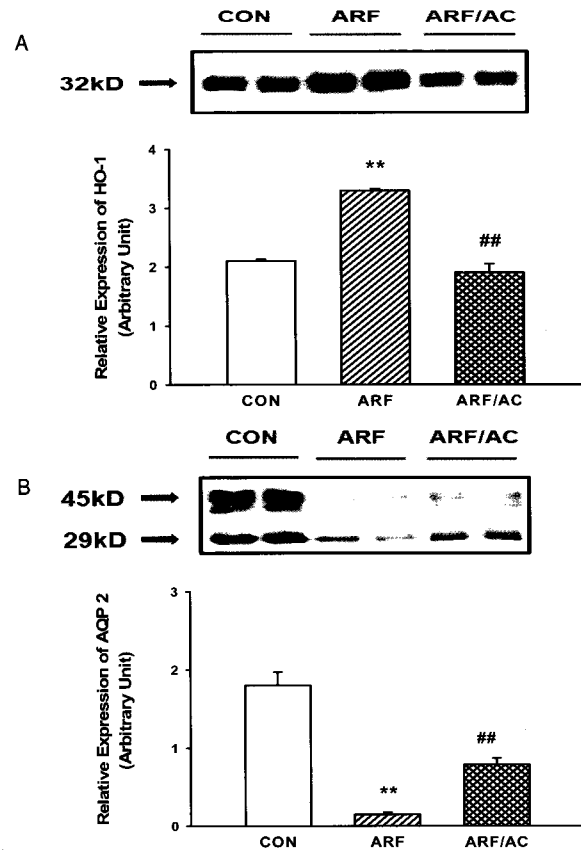


Fig. 6. Representative Western blot and corresponding densitometric analyses of AQP 2 expression (A), HO-1 expression (B) in the renal inner medulla of control (CON), ischemia/reperfusion-induced ARF (ARF), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200mg/kg/day) for 4 days. Each value represents the mean±SE of 6 experiments. \*\*p<0.01, compared with control group; ##p<0.01, compared with ARF group.

7. Aquaporin 2의 발현에 미치는 영향

Fig. 6에서 보는바와 같이 요 농축 능에 주요 기능을 하는 수분 채널 중 내수질에서 AQP 2의 단백질 발현을 보면, ARF군에서 발현이 유의하게 감소하였고( $p < 0.01$ ), ARF 유도후 AC를 투여한 군에서 유의하게 증가되었다( $p < 0.01$ ).

8. Heme oxygenase-1의 발현에 미치는 영향

Fig. 6에서 보여지는 바와 같이 내수질에서 HO-1의 단백질 발현은, ARF 유도군에서 발현이 유의하게 증가하였고( $p < 0.01$ ), ARF 유도 후 AC를 투여한 군에서 유의하게 감소되었다( $p < 0.01$ ). HO-1의 외수질(Outer medulla)에서의 단백질 발현도 마찬가지로, ARF 유도군에서 발현이 유의하게 증가하였고( $p < 0.01$ ), ARF 유도후 AC를 투여한 군에서 유의하게 감소되었다( $p < 0.05$ ).

9. 신장의 면역조직화학적 변화

신장의 구조적인 변화를 보면 ARF를 유도한 군의 신장 단면이 정상군에 비해 사구체의 손상과 함께 피질에 존재하는 세뇨관의 부분적인 괴사와 상피세포의 기저막으로부터의 분리되는 것을 보이며, 원위세뇨관의 팽창과 근위세뇨관의 괴사를 보였다. 반면 AC를 투여한 군에서는 ARF군에 비해서 현저하게 회복된 것을 볼 수 있었다. 면역조직염색법으로 정상군과 ARF군의 AQP 2의 발현 정도를 비교한 결과 내수질에서 ARF군의 AQP 2 발현이 현저하게 감소된 것을 볼 수 있었고, AC를 투여한 군은 정상군 수준으로 회복된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 7). 외수질에서는 ARF군의 AQP 2발현이 현저하게 감소된 것을 볼 수 있었고, AC를 투여한 군은 부분적으로 회복된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 7). 피질에서는 전체적으로 수질에 비해서 발현량이 많지 않지만 ARF군의 AQP 2발현이 감소된 것을 볼 수 있었고, AC를 투여한 군은 회복된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 7).

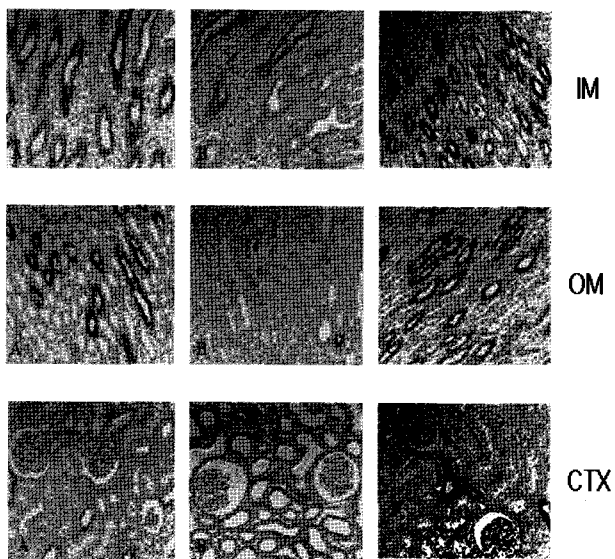


Fig. 7. Immunohistochemical staining of AQP-2 in the renal inner medulla (IM), outer medulla (OM), cortex (CTX). Representative AQP-2 staining of control (A), ischemia/reperfusion-induced ARF (B), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200mg/kg/day) (C). (Magnification x400).

정상군과 ARF군의 HO-1의 발현 정도를 비교한 결과 내수질에서 ARF군의 HO-1 발현이 현저하게 증가된 것을 볼 수 있었고, AC를 투여한 군에서는 정상군과 비슷한 수준으로 회복된 것을 볼 수 있었다(Fig. 8). 외수질에서는 ARF군의 HO-1발현이 증가된 것을 볼 수 있었고, AC를 투여한 군은 발현이 감소됨으로써 회복된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 8). 피질에서는 전체적으로 수질에 비해서 발현량이 많지 않지만 ARF군의 HO-1발현이 증가된 것을 볼 수 있었고, AC를 투여한 군은 발현량이 감소함으로써 회복된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 8).

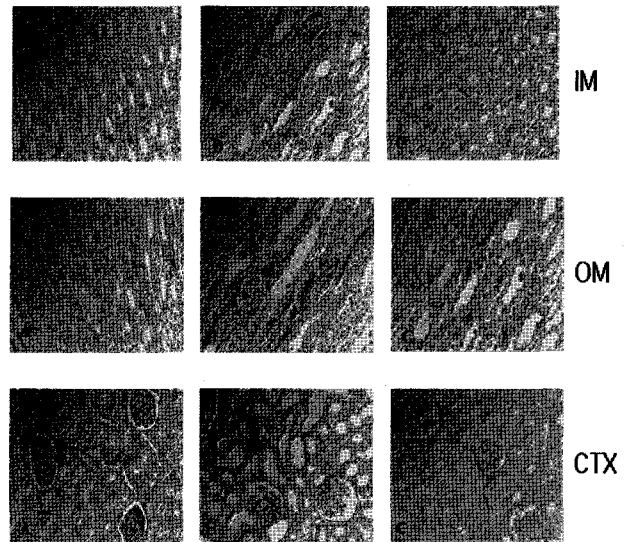


Fig. 8. Immunohistochemical staining of HO-1 in the renal inner medulla (IM), outer medulla (OM), cortex (CTX). Representative AQP-2 staining of control (A), ischemia/reperfusion-induced ARF (B), and ischemia/reperfusion-induced ARF administered with AC (ARF/AC; 200mg/kg/day) (C). (Magnification x400).

고찰

오가피가 현대병의 예방치료에 뛰어난 효과가 있다는 사실은 최근 발표된 연구논문을 통해 알려졌다. 인삼을 비롯한 많은 생약들은 옛 부터 강장의 목적으로 한방과 민간요법에서 널리 이용되어 왔으며, 최근에는 과학적인 방법에 의하여 그 효능이 입증되고 있다. 오가피(五加皮)는 오갈피과 (Araliaceae)에 속하는 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorum* Seeman) 또는 기타 동속식물의 뿌리, 줄기 및 가지의 껍질로서 관상 또는 반관상으로 길이 5-10 cm, 지름 5-8 mm, 두께 1 mm정도이고, 군데군데 가시가 있거나 또는 그 자국이 있고 비교적 어린 가지의 껍질에는 회백색의 반점이 있다. 안쪽면은 황백색이며 섬유성이므로 자르기 어렵고, 이 약은 특이한 냄새가 있고 맛은 약간 쓰다<sup>29)</sup>. 중국의 흑룡강 유역, 만주, 러시아 우수리강 유역에 분포하고 우리나라에서는 추풍령, 광릉, 지리산, 가야산 이북, 치악산 등 중부 이북에 자생한다. 전통적으로 한의학에서 오가피는 맛은 맵고 따듯하여 하초(下焦) 즉 간(肝)과 신(腎)에 작용하며 거풍습, 장근골, 활혈화어 등의 효능이 있다고 해왔으며, 오가피의 근피를 이용하여 만드는 술인 오가피주는 저혈압, 피로회복, 어혈, 강장, 강정, 활력, 근육강화 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 한방에서

오가피는 주로 자양, 신경통, 음위, 진경, 근골동통, 산기복통, 요슬, 동통 등의 효능이 있어 주로 강장약으로 신경통, 중풍, 고혈압, 당뇨병 및 류마티스성 관절염 등의 치료에 이용되고 있다. 오가피는 신체기관들의 기능을 활성화시키고, 생체의 입상적 방어능력을 향상시켜주는데 사용될 수 있는 약리적 특성을 지닌 물질이다. 오가피는 인삼과 같은 두릅나무과 식물로 오래 전부터 동양권(한방)에서 독성과 부작용이 없다는 상약으로 분류하여 뿌리와 껍질을 약제로 사용하였다. 이 오가피의 주성분은 스테미나 증진, 항 스트레스 및 항 피로작용이 있다고 한다<sup>23)</sup>. 현대에 와서 다시 주목을 받게 된 것은 구소련 과학아카데미 시베리아지부의 브레크만 박사가 “고려인삼을 능가하는 약효가 있다”는 연구 결과를 학계에 발표하면서부터이다. 그 이후 오가피의 가치는 국내외의 많은 학자들의 논문을 통하여 연구 발표되었다. 특히 국내 논문에서 오가피가 유해자극 또는 공포에 대한 항 스트레스 작용이 있다고 했다. 정기화 등(1980)도 항히스타민 작용, 항 당뇨 및 해당작용 등이 있음을 밝힌 바 있으며, 또한 혈소판 응집 억제작용이 있음을 보고하였다<sup>24)</sup>.

腎은 인체의 중요한 臟器의 하나로 “先天之精”을 藏하고 있어서 臟腑陰陽의 本이며 생명의 근본이 된다고 여겨 “先天之本”이 된다고 하였으며<sup>25)</sup>, 서양의학에서도 신장은 단순히 체내의 노폐물만을 제거하는 기관이 아니라 체내의 수분 및 전해질량과 삼투질 농도를 조절하며 산-염기 평형에 기여하는 등 생체의 내부 환경 유지에 중요한 역할을 담당하고 있으므로 신은 동서양을 막론하고 인체의 생명 활동의 유지에 중요한 작용을 하고 있음을 알 수 있다.

급성신부전이란 광의로는 원인에 관계없이 급격한 신기능의 장애를 말하지만 좁은 의미로는 신장 외적요인, 즉 혈액학적 또는 기계적 요인의 제거로 호전되지 않는 신능의 급격한 장애를 말하는 것으로 그 원인으로 크게 혈액학적으로 관해해서는 허혈 손상, 신독성 손상, 신혈관 및 간질 손상 등이 작용한다<sup>26)</sup>. 급성신부전의 원인으로 신허혈에 의한 급성 세뇨관 괴사가 높은 빈도를 차지하고 있으며 최근 약제와 같은 신독성 물질에 의한 급성신부전이 점차 증가되고 있다. 허혈로 손상을 받은 신장에 나타나는 구조적 및 생화학적 변화는 혈관 수축, 세뇨관 세포의 박리, 세뇨관 내강의 폐쇄 그리고 세뇨관 내 사구체 여과액의 역류로 요약될 수 있으며, 최근 허혈성 급성신부전에 관한 혈관 및 세포 기전에 대한 연구로 이 질환의 발생과 유지의 병태 생리 뿐 아니라 손상 받은 세뇨관이 복원되는 과정도 많이 밝혀졌다.

허혈성 급성신부전에서는 집합관에서 물의 재흡수가 억제된 결과로 다뇨증이 생성되는데 본 실험 결과에 의하면 ARF 유도후 오가피 추출물을 투여한 군에서는 ARF군에 비해서 유의하게 요량이 감소하였다. 이와 같은 결과로 볼 때 오가피 추출물은 허혈성 급성신부전에 의한 다뇨증을 억제시키는 것으로 사료된다. 또한 급성신부전에 의한 요중 Na 와 Cl, K의 배설량은 ARF 군에서 정상군과 비교해 감소하였고, 오가피 추출물을 투여한 군에서 유의하게 회복되었다. 요중 삼투질 농도는 급성신부전에서 현저하게 감소하였고, 오가피 추출물을 투여한 군에서 유의하게 회복하였다. 혈중의 creatinine은 신장의 신사구체에서 여과되는 동안 거의 재흡수되지 않고 전부 요중에 배설되므로 creatinine

의 요중 배설량은 체내의 creatinine 생성량과 동일하며, 요중 배설은 사구체의 여과에 의하여 좌우되므로 신장 약물 배설의 지표로서 신장 기능의 평가에 이용된다. 다음으로 BUN (blood urea nitrogen)은 체내에서 단백질의 이화작용으로 생긴 대사산물로서 90% 이상이 신장으로 배설되며 나머지 소량은 장관이나 피부를 통하여 배설된다. 혈중 요소는 사구체에서 여과되어 배설되는데 여과된 요소의 40-70%가 재흡수되어 혈중으로 돌아가므로 요소 청소율은 실제 사구체 여과율보다 낮게 된다<sup>27)</sup>. 이렇게 급성신부전으로 인하여 상승된 혈중의 creatinine과 BUN은 오가피 추출물의 투여로 인해 모두 유의한 감소를 보였다. 또한 ARF 군에서 creatinine 청소율과 용질-자유수분 재흡수가 현저하게 억제되었고 오가피 추출물을 투여한 군에서 회복되는 것을 볼 수 있었다. 이러한 결과로 볼 때 허혈성 급성신부전에서는 신장의 여과기능과 재흡수 기능이 동시에 억제되고, 이러한 증상이 오가피 추출물 투여에 의해 회복되는 것으로 사료된다.

허혈과 재관류에 의한 급성신부전의 주요 원인은 활성 산소종에 의한 세포 손상의 결과라는 것은 널리 알려져 있다<sup>28)</sup>. 급성신부전 시 활성 산소종에 의한 신장 조직의 손상은 신혈관, 사구체, 세뇨관, 문맥 등 광범위하게 일어난다. 본 실험 결과에 의하면, 앞서 보고에서도 발표된 바와 같이 오가피가 항산화 활성이 높은 것으로 생각되어 급성신부전시 과량으로 생성되는 활성 산소종을 제거하여 신장 조직의 손상을 억제시킬 것으로 사료된다. 요약하면 허혈성 급성신부전은 다뇨, 사구체 여과율의 감소, 용질-자유수분 재흡수의 억제 등의 신기능을 현저하게 감소시키고 오가피가 이러한 허혈로 인한 신부전을 회복시키는 것으로 사료된다.

AQP-2 (aquaporin 2)는 신장의 집합관에서 수분을 재 흡수하는 수분 채널 단백질 중의 하나로써<sup>29)</sup>, 항이뇨호르몬 (antidiuretic hormone, ADH)에 의해 조절되는데 AQP-2의 발현 억제는 요붕증을 초래한다. 한편, 급성신부전을 유발하는 다양한 요인 중에서 허혈 손상이 중요하고, 이 경우 신전성 질소혈증과는 달리 요 농축 장애를 동반한다<sup>30)</sup>. 이러한 요 농축 장애의 한 가지 기전으로서 수분통로의 발현저하가 관여할 것이라고 허혈성 급성신부전의 동물모델을 이용한 국내외 연구자들이 보고한 바 있다<sup>31)</sup>. Fernandez-Llama 등<sup>31)</sup>은 좌측 신동맥을 45분간 결찰하고 반대쪽 신장을 적출하는 실험쥐 모델에서 1-3 일 동안 이노 효과를 관찰하고 동시에 집합관의 AQP 2의 발현이 현저히 감소하는 것을 보고하였다. AQP 2의 발현은 사구체 여과율에 좌우되는데 AQP 2의 발현감소는 수분 재흡수의 감소를 의미하며 집합관에서 AQP 2의 기능을 촉진하는 endothelin-1의 제거는 고혈압과 나트륨의 저류를 유발한다<sup>32)</sup>. AQP 2 단백질 발현은 허혈성 급성신부전에서는 현저하게 감소하는데 비해 오가피 추출물을 투여한 군에서 유의한 증가를 보였다. 사구체 여과율의 감소로 인한 사구체내 고혈압은 장기적으로 신장에 장애를 유발하여 신부전의 진행에 관여하는 요인으로 AQP 2 단백질 발현의 증가는 오가피 추출물의 투여가 사구체율을 증가시켜서 신부전의 진행을 개선하는 것으로 사료된다.

허혈 손상에 대해 이를 방어하는 인자는 heat shock protein

(HSP), 항산화효소, 산화질소 합성효소(NOS) 등이 있으며, 최근에는 허혈 또는 산화 스트레스 등에 의해서 유발되는 heme oxygenase-1(HO-1)이 발견되었다. 이렇게 유발된 HO-1은 허혈-재관류, 산화제에 의한 손상, 그리고 내독성 쇼크에 대해 방어하는 기능을 한다<sup>33</sup>. HO는 heme 분해 과정의 속도 조절 효소로 처음 기술되었으며 heme을 분해하여 CO, biliverdin 및 iron의 활성을 통하여 신경계통 형성 및 발달과정 조절에 관여하고 조직의 항산화 방어기전을 담당한다<sup>34</sup>. 유발효소인 HO-1은 heat shock protein (HSP32)으로 비장과 간 등에 집중적으로 분포하고, 뇌의 일부세포에 극히 소량 존재하며, 열 자극, glutathione 결핍, 허혈과 같은 산화손상과 병적 환경을 유발하는 다양한 자극으로 활성이 증가된다<sup>35</sup>. HO-1의 유도가 다발성 장기부전에 대한 보호작용을 한다고 보고되었고, HO-1을 knockout 시켰을 때 산화 스트레스에 더 민감한 것으로 보고되었다<sup>36</sup>. Applegate 등<sup>37</sup>은 산화적 스트레스에 대한 반응 즉 세포내 환원제의 양이 감소하거나 혹은 반응성 산소기(reactive oxygen species, ROS)가 증가하는 상태에서는 원인에 상관없이 공통적인 과정으로서 HO-1이 유도될 수 있고 이러한 결과를 근거로 HO-1이 세포를 보호하는 역할을 수행할 가능성이 있다고 언급하였다. 이후 Nath 등<sup>38</sup>은 글리세롤에 의한 횡문근 용해가 발생한 쥐에서 HO-1 유도 시 신부전과 사망률이 감소되고, HO-1활성을 감소시키면 신부전과 사망률이 증가함을 보고하여 생체 내에서 HO-1의 세포 보호 기능을 증명하였다. 이러한 효과는 산화스트레스에 의한 세포고사에 대하여 HO-1의 보호효과 때문인 것으로 알려져 있는데, 분자생물학적인 기전으로 세포 내 전산화제의 양을 감소시키고 빌리루빈의 양을 감소시키며 일산화탄소의 생성 증가가 알려져 있다. Heme은 다양한 활성산소종의 생성을 유도하고, 증가된 세포 내 산화제는 다양한 종류의 세포에서 세포고사를 초래하는데<sup>39</sup>, HO-1은 이러한 heme을 분해시켜 ferritin의 합성을 증가시킴으로써 전산화제(pro-oxidant)의 양을 감소시킨다<sup>40</sup>. 또한 heme의 대사과정에서 HO과 biliverdin reductase에 의해 생성된 빌리루빈은 강력한 활성산소종의 제거기능을 가져서 세포고사에 대한 보호효과를 보인다. 이번 연구에서 정상군의 신장 조직에서의 HO-1의 발현은 미약했으며, 허혈-재관류로 급성신부전을 일으킨 군에서는 HO-1의 발현이 매우 높았다. 그래서 허혈성 급성 신부전에서 HO-1의 과 발현은 연구 소견 및 문헌 고찰 등을 통한 HO-1의 기능을 종합적으로 고려할 때 허혈 및 유독한 heme을 분해하고자 하는 방어 기능일 수 있다. 그리고 급성 신부전 모델에 오가피 추출물을 투여한 군에서는 HO-1의 발현이 유의하게 감소되는 것을 관찰 할 수 있었다. 이는 오가피가 활성산소종의 제거기능을 가져서 신장의 손상을 보호한 것으로 생각되어진다. 조직학적인 관찰에 의해서도, 급성신부전 백서 신장의 사구체 및 세뇨관 부분 손상이 뚜렷하게 나타났으나, 오가피 물 추출물 투여에 의하여 손상이 현저하게 억제되었다.

이상의 내용을 요약하면 허혈-재관류로 발생한 급성신부전으로 인해 약화된 신장 기능에 오가피 물 추출물의 투여가 효과적으로 작용할 수 있음이 확인되었으며, 향후 오가피의 항산화 효능과 허혈-재관류에 대한 신장 독성 억제 기전 및 기타 생체에

서의 허혈성 질환의 억제제로의 유용성에 관해 다각적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

오가피 물 추출물이 허혈성 급성 신부전의 신기능 손상에 대하여 억제효과가 있는지를 알아보고자, 허혈/재관류에 의해 유발된 급성 신부전 백서에 4일 동안 오가피 물 추출물을 투여한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. 급성 신부전 백서에서 요량(UV)은 유의하게 증가하였고, 요중 나트륨 배설량(UNaV), 칼륨 배설량(UKV), 요중 삼투질 농도는 감소되었으나, 오가피 물 추출물을 투여한 결과 요량은 유의하게 감소되었으며, 나트륨 배설량(UNaV), 칼륨 배설량 (UKV), 요중 삼투질 농도는 증가하였다. 급성 신부전 백서에서 creatinine 청소율 (Ccr)과 용질 자유수분 재흡수율( $T^cH_2O$ )이 감소하였으나, 오가피 물 추출물 투여에 의하여 회복되었다. 또한 혈장 creatinine과 blood urea nitrogen의 농도가 오가피 물 추출물 투여에 의하여 유의하게 감소하였다. 신장의 수분 재흡수에 관여하는 단백질인 aquaporin 2는 급성신부전시 발현이 억제되었으나, 오가피 물추출물 투여에 의하여 유의하게 회복되었고, 급성신부전 백서의 신장에서 heme oxygenase-1(HO-1)의 발현이 증가되었으나, 오가피 물 추출물의 투여에 의하여 유의하게 감소되었다. 면역조직화적인 연구에서, 급성신부전 백서 신장의 사구체 및 세뇨관 부분 손상이 뚜렷하게 나타났으나, 오가피 물 추출물 투여에 의하여 손상이 현저하게 억제되었다. 이와 같은 결과로 볼 때 오가피 물 추출물은 허혈-재관류로 인한 급성신부전 백서의 신장 기능의 장애를 회복시키는 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 연구는 보건복지부의 뇌질환 한방연구센터(03-PJ9-PG6-SO02-0001)의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

## 참고문헌

1. 장개민. 경약전서. 서울, 한성사, pp 13-15, 53-55, 1139-1140, 1983.
2. 서울대학교 의과대학. 신장학. 서울대학교 출판부, p 7, 1989.
3. Thadhini, R., Pascual, M., Bonventre, J.V.M. Acute renal failure. N Eng J Med 5(30):1448-1460, 1996.
4. Kon, V., Ichikawa, I. Physiologist of acute renal failure. J Pediat 105: 351, 1984.
5. 방약중. 실용주의내과학. 상해, 상해과학기술출판사, pp 287-289, 1986.
6. 조동규. 허혈성 급성 신부전의 병태생리. 대한신장학회지 16(2):189-198, 1997.
7. Brekhman. Eleutherococcus senticosus a new medicinal herb of the araliaceae family. Second International Pharmacological Meeting 7: 97-102, 1963.

8. Jung, K.W. Studies on pharmacological activity of root bark of *Acanthopanax Chiisanensis* Nakai. Bull. Kyung Hee. Pharma. Sci. 9: 21-29, 1981.
9. Shin, W.T., Lee, K.S. The effect of Ogapi's ingestion exercise performance and SOD, MDA for 12 weeks. Korean Sport Res. 15: 1309-1320, 2004.
10. Yoon, J.T., Seol, I.C., Kim, D.H., Kim, S.H., Kim, H.S. An experimental study of anti-allergic activity of medicinal acupuncture solution of *Acanthopanax senticosus*. J. Korean Acup. Moxi. Soc. 18: 136-149, 2001.
11. Han, Y.S. A study on the effect of anti-inflammatory plant extracts on melanogenesis. Ph.D thesis, Ajou University, Suwon, Korea, 2002.
12. Szolomicki, S., Samochowiec, I., Wojcicki, J., Drozdziak, M. The influence of active components of *Eleutherococcus senticosus* on cellular defence and physical fitness in man. Phytotherapy Res. 14: 30-35, 2000.
13. Hirata, F., Fujita, K., Ishikura, Y., Hosoda, K., Ishikawa, H. Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans. Atherosclerosis 122: 135-136, 1996.
14. 王本祥 編著. 現代中藥藥理學. 天津, 天津科學 技術出版社. pp 1222-1227, 1997.
15. Kim, S.K., Kim, Y.G., Lee, M.K., Ham, J.S., Lee, J.H., Lee, H.Y. Comparison of biological activity according to extracting solvents of four *Acanthopanax* root bark. Korean J. Medicinal Corp. Sci. 8(1):21-28, 2000.
16. Ahn, J.K., Lee, W.Y., Oh, S.J., Park, Y.H., Hur, S.D., Choi, M.S. The Contents of chlorogenic acid and Eleutheroside E in *Eleutherococcus senticosus*(Rupr.et Maxim.) Harms. Jour. Korean For. Soc. 89(2):211-222, 2000.
17. 成泰洙. 영지, 오가피 및 천궁의 열수추출액이 고지방식이에 의한 비만 유도 백서의 지방 축적에 미치는 영향. 영남대학교 대학원, 1991.
18. 황완규. 가시오가피 및 두충 혼합액기스의 생리활성. Kor J Pharmacol. 27(1):65-74, 1996.
19. 한용남, 권은경, 한병훈. 인삼과 가시오가피의 지질과산화억제작용에 관한 비교연구. 생약학회지 12: 26-30, 1981.
20. 이경근, 최도영, 강성길. 가시오가피 약침이 항당뇨 및 신장 보호활성에 미치는 영향. 대한침구학회지 19(2):1-13, 2002.
21. 정종운, 이윤호, 강성길. 가시오가피 약침이 당뇨유발억제 및 신장 보호 활성에 미치는 영향. 대한침구학회지 20(3):1-14, 2003.
22. 한국약학대학협의회 약전분과회, 대한약전 제7개정, 서울, 문성사, p 1078, 1999.
23. Brekhman. *Eleutherococcus senticosus* a new medicinal herb of the araliaceae family. Second International Pharmacological Meeting, 7: 97-102, 1963.
24. 정기화. 지리산오갈피나무 근피유출물의 약리작용. 경희대학교 대학원 박사학위논문, 1980.
25. 나창수, 맹웅재, 채우석. 한의학 기초이론. 서울, 의성당, p 141, 2000.
26. 서울대학교 의과대학 편. 신장학. 서울대학교 출판부, pp 277-280, 1999.
27. 의학교육연수원 편. 증상별 임상검사. 서울대학교 출판부, pp 176-178, 500-501, 1997.
28. Nath, K.A., Norby, S.M. Reactive oxygen species and acute renal failure. Am J Med 109: 665-678, 2000.
29. Tajika, Y., Matsuzaki, T., Suzuki, T., Aoki, T., Hagiwara, H., Kuwahara, M., Sasaki, S., Takata, K. Aquaporin-2 is retrieved to the apical storage compartment via early endosomes and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. Endocrinology 145(9):4375-4783, 2004.
30. Miller, T.R., Anderson, R.J., Linas, S.L., Henrich, W.L., Berns, A.S., Gabow, P.A., Schrier, R.W. Urinary diagnostic indices in acute renal failure: a prospective study. Ann Intern Med 89: 47-50, 1978.
31. Fernandez-Llama, P., Andrews, P., Turner, R., Saggi, S., Dimari, J., Kwon, T.H., Nielsen, S., Safirstein, R., Knepper, M.A. Increased abundance of collecting duct aquaporins in post-ischemic renal failure in rats. J Am Soc Nephrol 10: 1658-1668, 1999.
32. Ahn, D., Ge, Y., Stricklett, P.K., Gill, P., Taylor, D., Hughes, A.K., Yanagisawa, M., Miller, L., Nelson, R.D., Kohan, D.E. Collecting duct-specific knockout of endothelin-1 causes hypertension and sodium retention. J Clin Invest 114(4):504-511, 2004.
33. Tamion, F., Richard, V., Bonmarchand, G., Leroy, J., Lebreton, J.P., Thuillez, C. Induction of heme-oxygenase-1 prevents the systemic responses to hemorrhagic shock. Am J Respir Crit Care Med 164: 1933-1938, 2001.
34. Maines, M.D. The heme oxygenase system : a regulator of second messenger gases. Annu Rev Pharmacol Toxicol 37: 517-554, 1997.
35. Ewing, J.F., Maines, M.D. Rapid induction of heme oxygenase-1 mRNA and protein by hyperthermia in the rat brain : heme oxygenase-2 is not a heat shock protein. Proc Natl Acad Sci USA 88: 5364-5368, 1991.
36. Yachie, A., Niida, Y., Wada, T., Igarashi, N., Kaneda, H., Toma, T., et al. Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency. J Clin Invest 103: 129-135, 1999.
37. Applegate, L.A., Luscher, P., Tyrrell, R.M. Induction of heme oxygenase: a general response to oxidant stress in cultured mammalian cells. Cancer Res 51: 974-978, 1991.
38. Nath, K.A., Balla, G., Vercellotii, G.M., Balla, J., Jacob, H.S., Levitt, M.D., et al. Induction of heme oxygenase is a rapid protective response in rhabdomyolysis in the rat. J Clin



Invest 90: 267-270, 1992.

39. Dumont, A., Hehner, S.P., Hofmann, T.G., Ueffing, M., Droge, W., Schmitz, M.L. Hydrogen peroxide-induced apoptosis is CD95-independent, requires the release of mitochondria-derived reactive oxygen species and the activation of NF-kappaB. *Oncogene* 18: 747-757, 1999.
40. Vile, G.F., Tyrrell, R.M. Oxidative stress resulting from ultraviolet A irradiation of human skin fibroblasts leads to a heme oxygenase-dependent increase in ferritin. *J Biol Chem* 268: 14678-14681, 1993.