

음곡에 시술한 택사 약침이 LPS로 유도된 흰쥐의 신장염에 미치는 영향

한제근, 김양섭, 김병수, 임윤경*

대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실



[Abstract]

The Effect of *Alismatis Rhizoma* Herbal-acupuncture at KI₁₀ on LPS-induced Nephritis in Rats

Je Geun Han, Yang Seob Kim, Byung Soo Kim and Yun Kyoung Yim*

Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Daejeon University

Objectives : This study aimed to evaluate the effects of *Alismatis Rhizoma* Herbal-acupuncture (AR-HA) at KI₁₀ (*Umgok*) on nephritis induced by lipopolysaccharide (LPS) in rat.

Methods : Rats were injected with LPS to induce nephritis. The rats in KI₁₀-AR-HA group were treated with AR-HA, KI₁₀-NP group with needle prick, KI₁₀-saline group with normal saline injection respectively at KI₁₀ three times for a week. Several experimental items were performed including measurements of the numbers of RBC, WBC, neutrophil in blood, the levels of creatinine, TNF- α , CINC-1 in serum, creatinine, total protein in urine, MPO in kidney.

Results : Needle prick stimulation at KI₁₀ significantly reduced WBC in blood of LPS-stimulated rats. Saline injection at KI₁₀ significantly reduced WBC in blood, TNF- α in serum, total protein in urine of LPS-stimulated rats. AR-HA at KI₁₀ significantly reduced WBC, neutrophil in blood, TNF- α , CINC-1 in serum, creatinine, total protein in urine of LPS-stimulated rats.

Conclusion : AR-HA at KI₁₀ has a therapeutic effect on nephritis in LPS-stimulated rat. There may be a synergism between KI₁₀ (*Umgok*) stimulation and AR-HA solution.

Key words :
Nephritis;
Herbal-acupuncture;
KI₁₀;
Alismatis Rhizoma

Received : 2014. 02. 06.
Revised : 2014. 02. 14.
Accepted : 2014. 02. 14.
On-line : 2014. 03. 20.

* Corresponding author : Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Daejeon University, 62, Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 300-716, Republic of Korea
Tel : +82-42-280-2610 E-mail : docwindy@dju.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The Acupuncture is the Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. (<http://www.TheAcupuncture.or.kr>)
Copyright © 2014 KAMMS. Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. All rights reserved.

I. 서론

급성 신장염은 갑자기 시작하는 혈뇨, 단백뇨와 더불어 사구체 여과율 감소로 인한 질소혈증과 신장을 통한 염분과 수분의 축적이 특징적이다. 원인은 매우 다양하며 각종 감염에 의해 발생하는 것이 대부분이며, 전신성 홍반성 루푸스, 혈관염 등 전신질환에 의하거나, 1차성 사구체질환으로 인해 발생하기도 한다¹⁾.

택사(*Alismatis Rhizoma*)는澤瀉科에 속한 질경이택사 혹은 택사의塊莖으로 性은寒無毒하고 味는甘하다.歸經은腎膀胱經이며,利水滲濕,泄熱하는 효능이 있어小便不利,水腫脹滿,泄瀉尿少,熱淋澀痛을 치료한다²⁾.

陰谷(KI₁₀)은足少陰腎經의合水穴,足少陰腎經·衝脈·陰維脈의交會穴로서,補腎培元,調經利水の 효능으로陽萎,月經不調,崩漏,小便難을 치료하는 데 상용된다³⁾.

일반적으로 급성 신장염은 근본적인 치료법이 없으며, 안정을 취하고 몸을 따뜻하게 하며 식이요법으로 관리하면서 염증의 자연관해가 일어날 때까지 기다리는 것이 기본 원칙이다. 합병증을 예방하기 위한 조치로 대증요법 혹은 항생제나 이뇨제를 투여하는 경우가 있으나 이것은 근본적인 치료는 아니어서 한방적인 치료가 보다 효과가 있을 것으로 생각된다⁴⁾.

한의학적으로 신장염은風水,浮腫,尿濁,虛勞등의 범주에 속하는 것으로 대개風,寒,濕,外邪의侵襲 후에 속발하는 병증으로風寒,風熱,寒濕등에 신장이 손상되거나,肝腎陰虛와內熱로 인해氣機가失常하여 발생하는 질환이다¹⁾.

한의학적인 신장염의 치료법은 병증에 따른辨證施治를 원칙으로 하며, 기본적인 치법은清熱과利水이다¹⁾. 따라서泄熱과利水の 효능이 동시에 있는 택사를 이용한 약침을足少陰腎經의合水穴인陰谷에 시술을 한다면 신장염에 유의미한 결과가 있을 것으로 생각하였다.

신장 독성 및 기능저하에 관한 한의학적 연구로는 옥미지 황탕⁵⁾, 단삼⁶⁾, 녹용⁷⁾ 등의 약물을 이용한 연구와 구맥⁸⁾·차전자⁹⁾·동과인¹⁰⁾·금전초¹¹⁾·목통¹²⁾ 등을 음곡에 자침하여 신장염에 유의한 효과를 보인 예가 있었으며, 택사에 관한 연구로는 Lee et al¹³⁾의 택사 추출물을 이용한 고지혈증 연구와 Lee et al¹⁴⁾이 연구한 택사약침의 항산화 효과에 관한 연구가 있었으나 택사약침을 이용한 신장염 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 택사약침이 급성 신장염에 미치는 영향을 확인하기 위한 목적으로 택사약침을 주 3회 환귀의陰谷(KI₁₀) 상응 부위에 시술한 후 lipopolysaccharide(이하 LSP)로 급성 신장염을 유발하고, 혈액분석, 소변분석 등을

통하여 신장 내 염증활성 평가를 시행하여 유의미한 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 6주령의 웅성 SD rat을 (주)대한바이오링크(경기도, 한국)에서 공급받아 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 실험 당일까지 고형사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하였으며, 실험실은 실온(22±2 °C)과 습도 40~60 %를 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험 윤리위원회의 규정을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 택사(*Alismatis Rhizoma*, AR)는 대전대학교 한방병원에서 구입하여 실온에서 보관되었으며, 사용하기 전 초음파 세척을 실시하였다.

3) 시약 및 기기

(1) 시약

본 연구에 사용된 시약은 Table 1과 같다.

Table 1. Reagents

Reagent	Manufacturer	Country
Phosphate buffer saline(PBS)		
HBSS		
Lipopolysaccharide(LPS)	Sigma	
gum-sucrose		
absolute EtOH		
Antibiotics		
FBS	Hyclone	USA
BCA kit	BD	
TNF-alpha ELISA kit	Oxford	
Creatinine assay kit	Bio Assay Systems	
CINC-1 ELISA kit	ALPCO	
MPO ELISA kit	Cellscience	
Ethyl ether		

(2) 기기

본 연구에 사용된 기기는 Table 2와 같다.

Table 2. Instruments

Instrument	Manufacturer	Country
Rotary evaporator	Eyela	Japan
ELISA reader	TARAN	Canada
Sonicate	Fisher	USA
Metabolic cage	B&P	
Cytological centrifuge	Hanil	Korea
Micro centrifuge		

2. 방법

1) 약침액의 제조

분쇄기를 이용해서 택사 55 g을 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500 ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축 하였다. 농축액에 90 % ethyl alcohol 30 ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 다음 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 80 % ethyl alcohol 30 ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 70 % ethyl alcohol 30 ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20 ml가 되게 하였다. 택사 55 g에서 얻은 약침액을 감압농축하여 수분을 모두 날렸을 때 건조분말은 1.811 g이었다(수율 3.29 %). 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4 °C에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filtering하였다. 여과된 농축액에 PBS를 첨가하여 5 %로 희석하여 약침액으로 사용하였다(Scheme 1).

2) 신장염 동물 모델

6주령 수컷 SD rat에 lepopolysaccharide(이하 LPS, 2 mg/kg)를 복강에 투여하여 신장염을 유도하였다¹⁾. 각 실험군에는 실험동물을 8마리씩 배정하였다. LPS 투여 1시간 뒤, 각 실험군에서 5마리의 혈액 sample을 채취하였으며, LPS 투여 3시간 후에는 혈액을 채취했던 동물 5마리를 sacrifice하여 신장을 적출하였다. 각 실험군의 나머지 3마리로부터 LPS 투여 후 12시간 동안 소변 sample을 채취하였다(Scheme 2).

3) 실험군 분류 및 처치

실험동물은 정상군(normal), LPS군(LPS), 음곡 needle prick군(KI₁₀-NP), 음곡 saline 주입군(KI₁₀-saline), 음곡 택사약침군(KI₁₀-AR-HA)의 5군으로 나누었으며, 각 실험군에는 실험동물을 8마리씩 배정하였다. 정상군을 제외한 나머지 군은 각각 2 mg/kg의 LPS를 복강에 투여하였다. KI₁₀-NP군과 KI₁₀-saline군, KI₁₀-AR-HA군은 LPS 투여 1주일 전에 좌우 교대로 음곡(KI₁₀) 상응부위에 needle prick(NP)자극, saline 주입, 택사 약침처치를 주3회 실시하였다. 각 실험군에 대한 처치는 다음과 같다.

- ① 정상군(normal) : 아무 처치를 하지 않은 정상 SD rat
- ② LPS군(LPS) : 실험 당일 LPS를 2 mg/kg으로 복강 투여한 군
- ③ 음곡 needle prick군(KI₁₀-NP) : 실험 전 1주일간 주 3회 음곡(KI₁₀) 상응 부위에 26 gauge 주사기를 0.5 cm 정도 깊이로 자입한 후 즉시 제거하고, 실험 당일 LPS 2 mg/kg을 복강에 투여한 군
- ④ 음곡 saline 주입군(KI₁₀-saline) : 실험 전 1주일간 saline 0.2 ml를 주 3회 음곡(KI₁₀) 상응 부위에 주입하고, 실험 당일 LPS 2 mg/kg을 복강에 투여한 군
- ⑤ 음곡 택사약침군(KI₁₀-AR-HA) : 실험 전 1주일간 10 %의 택사 약침액 0.2 ml를 주 3회 음곡(KI₁₀) 상응 부위에 주입하고, 실험 당일 LPS 2 mg/kg을 복강에 투여한 군

4) 결과 분석

(1) 혈액 분석

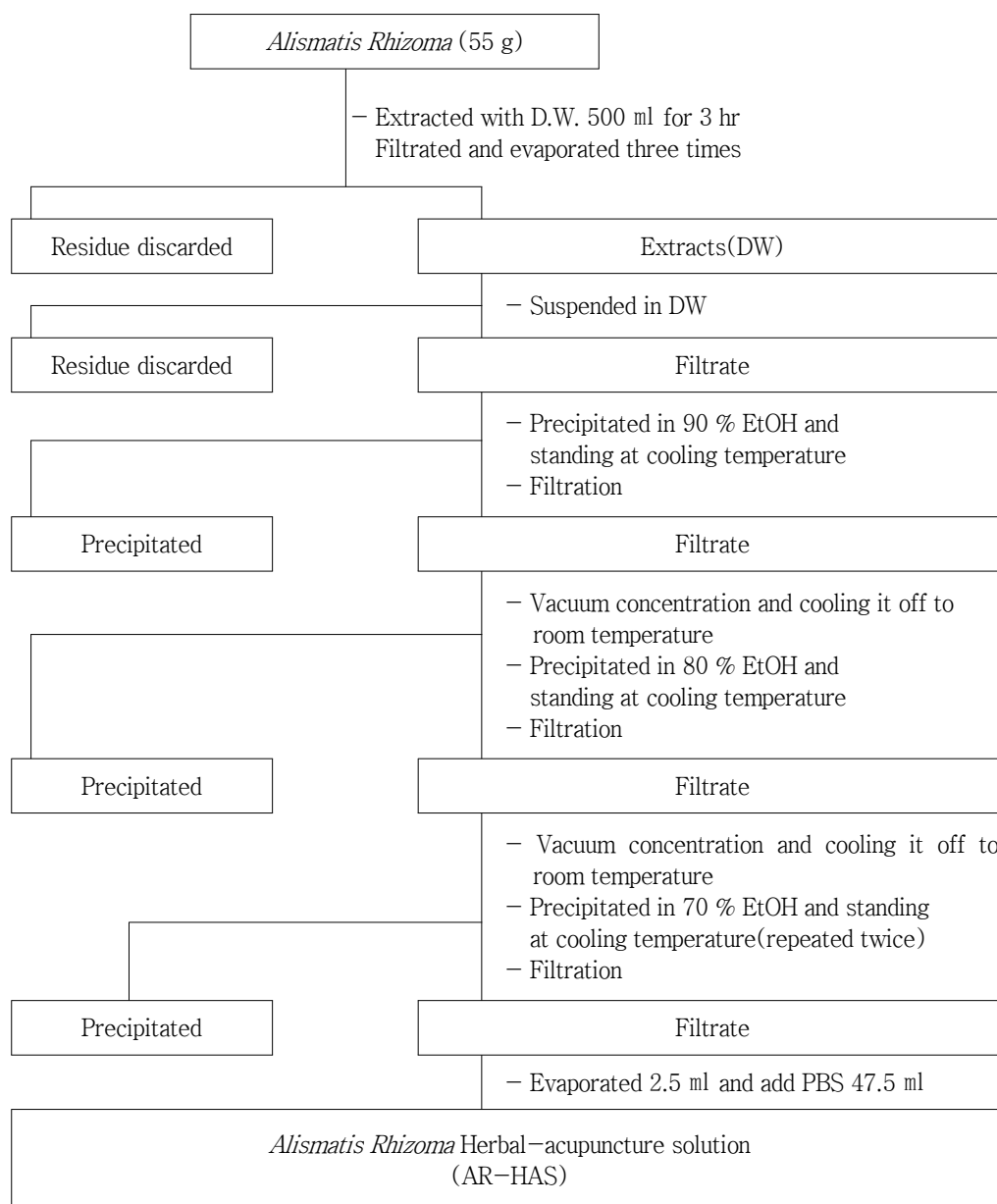
LPS 처리 1시간 뒤, 각 동물에서 4 ml의 혈액을 채취하였다. (주) 이원 임상검사센터(대전, 한국)에 의뢰하여 혈중 red blood cell, white blood cell, neutrophils의 비율을 측정하였으며, 혈청 TNF- α , CINC-1의 농도를 ELISA kit를 이용하여 확인하였다.

(2) 소변 분석

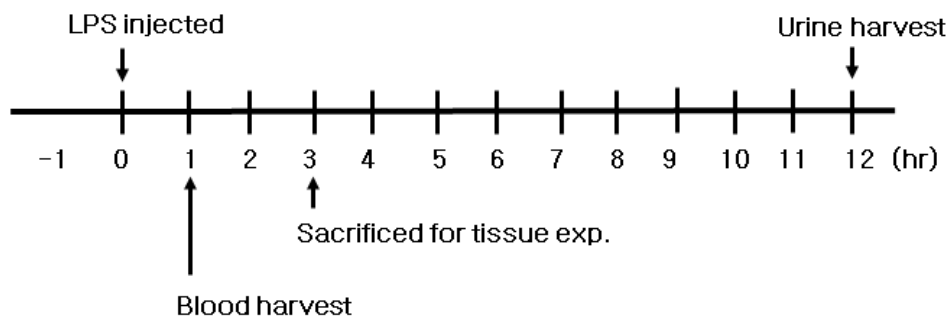
Metabolic cage에서 12시간 동안 소변을 채취하여 요중 total protein과 creatinine 농도를 kit를 이용하여 측정하였다.

(3) 신장 내 염증활성 평가

LPS 처리 3시간 후, ethyl ether를 이용하여 rat를 마취하고 대동맥 혈관에 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 투여하여 방혈한 후 신장을 적출하였다. 적출된 신장조직은 0.010 % sodium azide가 첨가된 0.1 M phosphate buffer(pH7.4)를 넣고 sonicate(Fisher, USA)하여 잘게 간 후, 2000×g에



Scheme 1. Manufacturing procedure of *Alismatis Rhizoma* herbal acupuncture solution



Scheme 2. Experimental procedure

서 10분간 원심분리하였다. 분리된 supernatant는 -80°C 에서 보관되었다가 ELISA kit을 이용하여 myeloperoxidase (이하 MPO)의 농도를 측정하였다.

(4) 통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(18.0 KO)을 이용하였다. 결과값은 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. Kruskal-wallis test를 이용하여 분석한 후 Mann Whitney U test를 이용하여 각 군간 차이를 확인하였다. 신뢰도 95% 이상 ($p < 0.05$) 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 혈액학적 분석

Rat에 LPS로 신장염을 유도하고, 1시간 후에 rat의 혈액을 채취하여 RBC, WBC의 수와 WBC 중 neutrophil의 비율을 측정하였다.

1) RBC

KI₁₀-AR-HA군은 정상군, LPS군, KI₁₀-NP군에 비하여 혈중 RBC 수가 유의하게 증가하였다(Fig. 1).

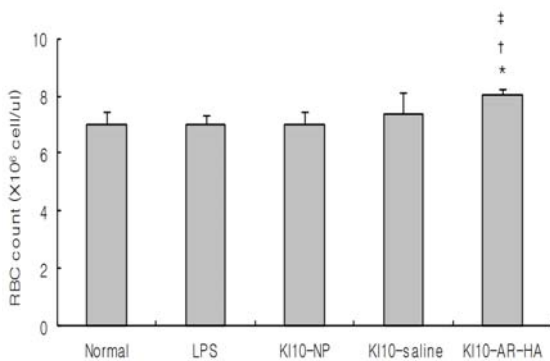


Fig. 1. Effect of AR-HA at KI₁₀ on RBC count in blood of LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean \pm SD(n=5).
 Normal : normal SD rat.
 LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.
 KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.
 KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200ul/rat) injection at KI₁₀.
 KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 ul/rat) at KI₁₀.
 * : $p < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-wallis test.
 † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-wallis test.
 ‡ : $p < 0.05$ compared to NP group by Kruskal-wallis test.

2) WBC

LPS군의 혈중 WBC는 정상군에 비하여 유의하게 증가하였다. KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군, KI₁₀-AR-HA군은 LPS군에 비하여 혈중 WBC수가 유의하게 감소하였다(Fig. 2).

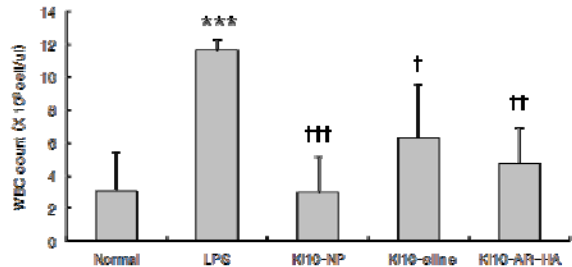


Fig. 2. Effect of AR-HA at KI₁₀ on WBC count in blood of LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean \pm SD (n=5).
 Normal : normal SD rat.
 LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.
 KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.
 KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 ul/rat) injection at KI₁₀.
 KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 ul/rat) at KI₁₀.
 *** : $p < 0.001$ compared to normal group by Kruskal-wallis test.
 ††† : $p < 0.001$, †† : $p < 0.01$, † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-wallis test.

3) Neutrophil

정상군에 비하여 LPS군의 WBC 중 neutrophil 비율이 증가하였으나, 유의성은 나타나지 않았다. KI₁₀-AR-HA

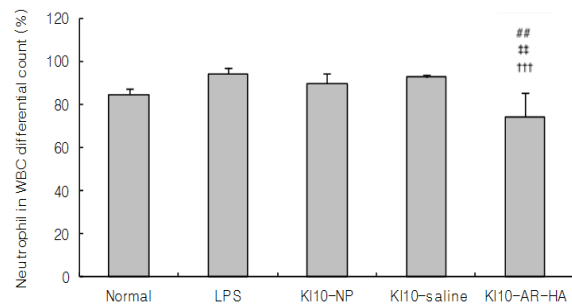


Fig. 3. Effect of AR-HA at KI₁₀ on neutrophil count in blood of LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean \pm SD(n=5).
 Normal : normal SD rat.
 LPS : LPS(2mg/kg) challenge.
 KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.
 KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 ul/rat) injection at KI₁₀.
 KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 ul/rat) at KI₁₀.
 ††† : $p < 0.001$ compared to LPS group by Kruskal-wallis test.
 †† : $p < 0.01$ compared to N.P. group by Kruskal-wallis test.
 ## : $p < 0.01$ compared to saline group by Kruskal-wallis test.

군에서는 LPS군, KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군에 비하여 neutrophil 비율이 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

2. Blood chemistry

Rat에 LPS로 신장염을 유도하고, 1시간 후에 rat의 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후, TNF- α 와 CINC-1의 농도를 측정하였다.

1) TNF- α

LPS군, KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군에서 정상군에 비하여 혈청 TNF- α 가 유의하게 증가하였다. KI₁₀-saline군과 KI₁₀-AR-HA군에서는 LPS군과 KI₁₀-NP군에 비하여 혈청 TNF- α 가 유의하게 감소하였다(Fig. 4).

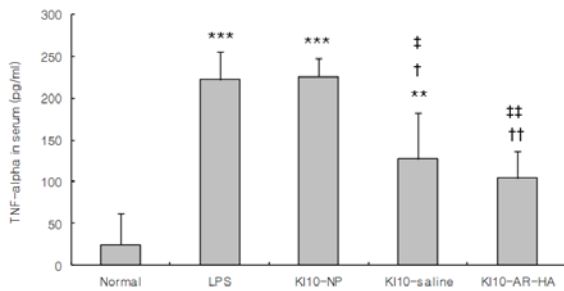


Fig. 4. Effect of AR-HA at KI₁₀ on serum TNF- α level in LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean \pm SD(n=5).

Normal : normal SD rat.

LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.

KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.

KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 μ l/rat) injection at KI₁₀.

KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 μ l/rat) at KI₁₀.

*** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$ compared to normal group by Kruskal-wallis test .

†† : $p < 0.01$, † : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-wallis test.

‡‡ : $p < 0.01$,

‡ : $p < 0.05$ compared to NP group by Kruskal-wallis test.

2) CINC-1(cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1)

LPS군에서는 정상군에 비하여 혈청 CINC-1이 유의하게 증가하였다. KI₁₀-AR-HA군에서는 LPS군에 비하여 혈청 CINC-1이 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

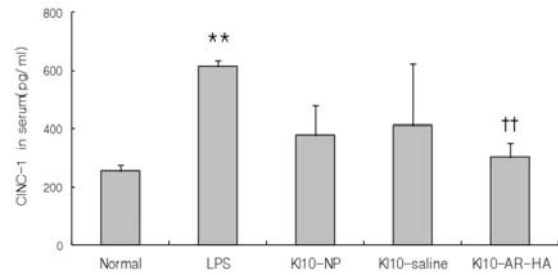


Fig. 5. Effect of AR-HA at KI₁₀ on serum CINC-1 level in LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean \pm SD(n=5).

Normal : normal SD rat.

LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.

KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.

KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 μ l/rat) injection at KI₁₀.

KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 μ l/rat) at KI₁₀.

** : $p < 0.01$ compared to normal group by Kruskal-wallis test.

†† : $p < 0.01$ compared to LPS group by Kruskal-wallis test.

3) 소변 분석

Rat에 LPS로 신장염을 유도하고 12시간 동안 소변을 채취하여 요중 creatinine과 total protein의 양을 측정하였다.

(1) Creatinine

LPS군의 요중 creatinine 농도는 정상군에 비하여 증가하였으나, 유의성은 나타나지 않았다. KI₁₀-AR-HA군에서는 LPS군에 비하여 요중 creatinine 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

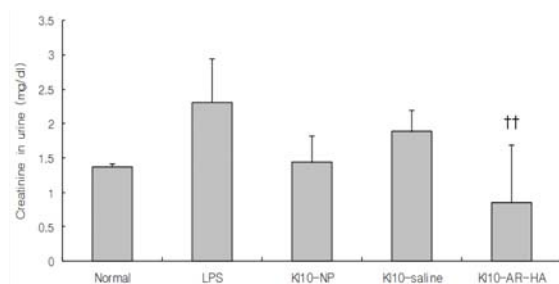


Fig. 6. Effect of AR-HA at KI₁₀ on urinary creatinine level in LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean \pm SD(n=3).

Normal : normal SD rat.

LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.

KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.

KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 μ l/rat) injection at KI₁₀.

KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 μ l/rat) at KI₁₀.

†† : $p < 0.01$ compared to LPS group by Kruskal-wallis test.

(2) Total protein

LPS군에서는 정상군에 비하여 요중 total protein이 유의하게 증가하였다. KI₁₀-saline군과 KI₁₀-AR-HA군에서는 LPS군에 비하여 요중 total protein 양이 유의하게 감소하였다(Fig. 7).

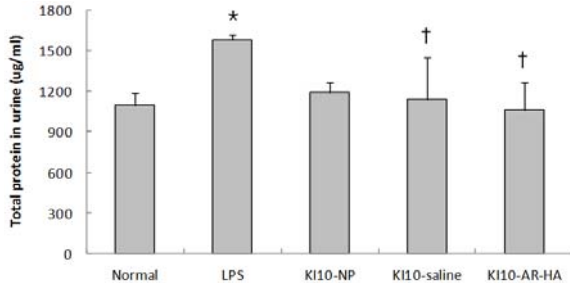


Fig. 7. Effect of AR-HA at KI₁₀ on total protein level in urine of LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean ± SD(n=3).

Normal : normal SD rat.

LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.

KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.

KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 µl/rat) injection at KI₁₀.

KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 µl/rat) at KI₁₀.

* : $p < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-wallis test.

† : $p < 0.05$ compared to LPS group by Kruskal-wallis test.

4) 신장 내 염증활성

Rat에 LPS로 신장염을 유도하고 3시간 후에 신장을 적출하여 신장조직을 분획한 후 MPO의 농도를 측정하였다.

LPS군, KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군, KI₁₀-AR-HA군은 정상군에 비하여 renal MPO가 현저하게 증가하였다. KI₁₀-AR-HA군의 renal MPO는 LPS군에 비하여 감소하

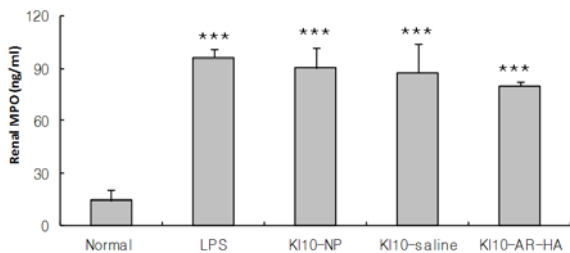


Fig. 8. Effect of AR-HA at KI₁₀ on renal MPO level in LPS-stimulated rats

Data were expressed as mean ± SD(n=5).

Normal : normal SD rat.

LPS : LPS(2 mg/kg) challenge.

KI₁₀-NP : LPS(2 mg/kg) challenge and a needle prick at KI₁₀.

KI₁₀-saline : LPS(2 mg/kg) challenge and saline(200 µl/rat) injection at KI₁₀.

KI₁₀-AR-HA : LPS(2 mg/kg) challenge and AR-HA(5 %, 200 µl/rat) at KI₁₀.

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by Kruskal-wallis test.

였으나 유의성은 없었다(Fig. 8).

IV. 고 찰

해부학적으로 신장은 후복벽에 접촉하는 복막후기관으로서, 척추 양측에 있다. 제11흉추 위로부터 제3요추 사이에 있으나, 우신은 간장의 우엽에 눌리기 때문에 좌신보다 약간 낮게 위치한다. 신장의 크기는 길이가 약 10 cm, 폭이 5 cm, 두께가 2.5 cm이며, 중량은 약 130 g이다¹⁵⁾.

신장은 섭취 또는 대사에 의해 생성된 노폐물을 제거하는 기능 이외에도 전해질 조절, 산-염기 조절, 혈압 조절 등의 기능을 담당한다. 신장의 기능 구성 단위인 신원은 사구체, 보우먼주머니, 세뇨관으로 이루어지며 1개의 신장에는 약 100만 개의 신원이 있다. 사구체에서 혈액으로부터 많은 양의 체액이 여과되고 이 여과물은 세뇨관을 지나면서 재흡수와 재분비의 과정을 거쳐 소변으로 만들어진다¹⁶⁾.

면역복합체나 그 외 여러 가지 원인에 의하여 사구체에 염증이 일어나면 사구체의 기능이 약화되어 노폐물의 배출이 감소하게 되므로 노폐물이 혈액 내에 축적된다. 처음에는 고질소혈증이 일어나지만, 점차 질병이 진행하여 기저막의 여과창문이 막히거나 파괴의 정도가 심해지면 체내의 독소가 배제되지 않고 계속 축적되어 요독증이 발생한다¹⁷⁾.

LPS는 그람음성균의 외막성분으로, 세균이 사멸될 때 균체밖으로 유리된다. LPS의 독소능은 지닌 균종의 종류와 무관하게 유사하다. 혈류 안에서 LPS는 단백질과 결합하여 순환하다가 큰포식세포, 단핵구 및 세망내피계의 세포에 존재하는 수용체와 결합한다. 그 결과 IL-1, TNF 및 기타 사이토카인이 이들 세포에서 분비되고, 보체 및 일련의 응고과정이 활성화된다. 발열, 백혈구 감소증, 저혈당, 저혈압이 유발되고, 필수 장기(뇌, 심장, 신장 등)들에 대한 혈액공급에 장애가 생겨 쇼크 또는 다양한 기능 이상을 유발할 수 있다. 또한 LPS는 다량의 산화질소(nitric oxide)를 발생하게 하며, 메산지움 세포의 증식을 일으켜 신장염, 사구체경화증, 신부전과 같은 신장손상에 관여한다¹⁸⁻²³⁾.

급성 신장염은 비교적 갑자기 발생하는 혈뇨와 더불어 흔히 단백뇨, 사구체 여과율의 감소, 고혈압, 부종 등이 동반되며 乏尿가 발생되는 수가 있다. 보통 자연적으로 회복되는 경향이 있으며 발병 전 세균감염이 선행하는 경우가 많다. 전신성 홍반성 루푸스, 혈관염 등 전신질환에 의하거나, 1차성 사구체질환으로 인해 발생하기도 한다¹⁾.

한의학적으로 신장염은 風水, 浮腫, 尿濁, 虛勞 등의 범주

에 속하는 것으로 대개 風寒濕의 外邪의 침습 후에 속발하는 병증이다. 治法은 주로 淸熱과 利水 등의 방법을 사용하므로 利水滲濕, 泄熱하는 효능이 있는 택사를 실험연구에 사용하였다¹⁾.

택사(*Alismatis Rhizoma*)는 澤瀉科에 속한 질경이택사 혹은 택사의 塊莖으로 性은 寒 無毒하고 味는 甘하다. 歸經은 腎 膀胱經이며, 利水滲濕, 泄熱하는 효능이 있어 小便不利, 水腫長滿, 泄瀉尿少, 痰飲眩暈, 熱淋澀痛, 高脂血症을 치료한다²⁾. 택사에 관한 연구로는 Lee et al¹³⁾의 택사 추출물을 이용한 고지혈증 연구와 Lee et al¹⁴⁾이 연구한 택사약침의 항산화효과에 관한 연구가 있었다.

陰谷(KI₁₀)은 足少陰腎經의 合水穴, 足少陰腎經衝脈絡維脈의 交會穴로서, 補腎培元, 調經利水의 효능으로 陽萎, 月經不調, 崩漏, 小便難을 치료하는 데 사용된다³⁾.

이에 저자는 음곡 부위에 시술한 택사약침이 급성 신장염에 미치는 영향을 알아보기로 택사약침을 흰쥐의 음곡상응부위에 시술한 후 LPS로 신장염을 유발하여 혈액 및 혈청 분석, 소변 분석 및 신장 내 염증활성평가를 시행하였다.

RBC는 골수에서 생성되어 혈관 내에서 순환하면서 조직에 산소를 공급하고 이산화탄소 및 노폐물을 제거하는 역할을 한다¹⁶⁾. 본 실험에서 정상군, LPS군, KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군에 비해 KI₁₀-AR-HA군에서 RBC수가 유의하게 증가하였다. 따라서 음곡 택사약침이 혈액 내 산소공급과 노폐물 제거에 긍정적 영향을 미치는 것으로 보인다(Fig. 1).

WBC는 면역체계를 구성하는 세포로 감염성 질환 및 외부물질에 대한 방어기능을 수행한다. WBC는 혈액 1 μl당 4,000~10,000개 정도 포함되어 있으며 WBC의 수는 몸의 면역상태, 감염 여부에 따라 매우 다양하게 나타날 수 있어, 염증반응을 감별하는 중요한 혈액검사 중 하나이다¹⁶⁾. 본 실험에서 LPS군에 비해 KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군, KI₁₀-AR-HA군 모두 혈중 WBC수가 유의하게 감소하였다. 이는 음곡혈의 補腎培元, 滋腎淸熱 기능으로 음곡 자침이 면역력을 증가시키고, 염증반응을 억제하였음을 의미하는 것으로 사료된다(Fig. 2).

Neutrophil은 혈중 순환 WBC의 50~60 %를 차지하며, 염증반응에 있어 초기반응을 수행한다. 염증이 발생하면 혈관의 내피 사이를 빠져나가 혈관 밖으로 유주하고, 화학주성에 의해 항원과 이물을 탐식하여 농을 형성한다¹⁷⁾. 본 실험에서 neutrophil 비율이 LPS군, KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군에 비해 KI₁₀-AR-HA군에서 유의하게 감소하였다. 이는 염증반응을 억제하는 데에는 음곡 자침보다 음곡에 시술한 택사약침이 더욱 유효함을 나타내는 것으로 사료된다(Fig. 3).

TNF-α는 비만세포의 과립 안에 존재하다가 염증반응을 일으킬 때 방출되어 면역반응에서 다양한 역할을 하는 사이토카인의 일종이다²⁴⁾. 이는 면역계에 있어 염증을 일으키는 주요 사이토카인으로, 세포독성, 면역조절 등의 기능을 한다²⁵⁾. 본 실험에서 TNF-α의 농도는 LPS군, KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가한 반면, KI₁₀-AR-HA군에서는 증가하지 않았다. 또한 KI₁₀-saline군, KI₁₀-AR-HA군에서 LPS군, KI₁₀-NP군에 비하여 유의하게 감소하였다. 이는 음곡 택사약침이 신장의 염증반응을 억제하는 데 유효함을 보여주는 것으로 사료된다(Fig. 4).

CINC-1은 LPS로 활성화한 대식세포에서 세포활성물질에 의해 neutrophil의 화학주성을 나타내는 사이토카인의 일종으로, 흰쥐의 병태모델에서 염증의 지표로 사용되어왔다^{26,27)}. 본 실험에서 CINC-1의 농도는 LPS군에서만 정상군에 비하여 유의하게 증가하였고, KI₁₀-NP군, KI₁₀-saline군, KI₁₀-AR-HA군에서는 증가하지 않았다. 또한 KI₁₀-AR-HA군에서 LPS군에 비하여 유의하게 감소하였다. 이는 음곡 자침이 염증반응 억제에 영향을 주고 있으며, 또한 음곡 자침보다 음곡 택사약침이 더욱 유효함을 보여주는 것으로 사료된다(Fig. 5).

Creatinine은 주로 근육의 creatine으로부터 비효소적 탈수반응에 의해 생산되며, 신장을 통해 배출되는데, 재흡수되지 않기 때문에 신장 기능의 이상을 감지하는 지표로 삼는다¹⁾.

신장은 대사산물 및 노폐물을 걸러서 소변으로 배출하는 배설 기능이 있다. 정상 신장에서는 적혈구와 단백질은 사구체를 통하여 여과되지 않는다. 그러나 사구체가 파괴되거나 투과성이 증가되면 단백질이 소변으로 나오게 된다¹⁷⁾.

본 실험에서는 LPS로 신장염을 유도한 후 12시간 동안 소변을 채취하여 요중의 creatinine과 total protein의 양을 측정하였다.

요중의 creatinine과 total protein은 모두 LPS투여군에 비하여 KI₁₀-AR-HA군에서 유의하게 감소하였다. 이는 신장염으로 인한 사구체의 손상을 음곡 택사약침이 억제하였음을 보여주는 것으로 사료된다(Fig. 6, 7).

MPO는 neutrophil이 탐식한 세균 또는 이물질을 분해하는 효소로 염증조직 내에서 수치가 증가하여 염증의 지표로 사용된다²⁸⁾. 본 실험에서는 신장 내 염증활성도를 측정하기 위해 신장 조직 내 MPO의 농도를 측정하였다. MPO의 농도는 LPS투여군에 비하여 KI₁₀-AR-HA군에서 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Fig. 8).

이상의 결과를 요약하면, 음곡 택사약침은 LPS로 유도된 흰쥐의 급성신장염에 대하여, 혈액 내 적혈구를 증가시

키고, 백혈구 및 neutrophil의 증가를 억제하였으며, 혈청 분석에 있어서는 TNF- α , CINC-1이, 소변분석에서는 요 중의 creatinine과 total protein이 모두 유의하게 감소하였다. KI₁₀-saline군, KI₁₀-NP군에서도 혈중 WBC가 감소하였으므로 이는 陰谷이라는 경혈의 작용과 관련 있으리라 사료된다. 또한, 음곡에 대한 택사약침액 주입뿐 아니라 saline 주입에 의해서도 혈청 TNF- α 와 요중 total protein이 감소한 것은 음곡에 대한 액체 주입에 따른 물리적 효과가 작용하였음을 나타내는 것으로 추정되며, 혈액 내 적혈구를 증가시키고, neutrophil의 증가를 억제하고, 혈청 CINC-1, 요중 creatinine을 감소시킨 것은 택사약침액의 화학적 작용에 의한 것으로 사료된다.

이와 같이, 음곡 택사약침은 신장의 염증반응을 억제시키고 신장의 기능에 긍정적인 영향을 주는 것으로 생각되며, 여기에는 음곡 자극과 택사약침액의 상승작용이 있었을 것으로 사료된다. 향후 이에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

V. 결 론

택사약침을 흰쥐의 음곡 상응 부위에 시술한 후 LPS로 신장염을 유도하여 혈액 및 혈청 분석, 소변 분석 및 신장 내 염증활성을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. KI₁₀-NP군에서 LPS군에 비해 혈중의 WBC가 유의하게 감소하였다.
2. KI₁₀-saline군에서 LPS군에 비해 혈중 WBC, 혈청 TNF- α , 요중 total protein이 유의하게 감소하였으며, KI₁₀-NP군에 비해 혈청 TNF- α 가 유의하게 감소하였다.
3. KI₁₀-AR-HA군에서 LPS군에 비해 혈중의 WBC, WBC 중 neutrophil 비율, 혈청 TNF- α , CINC-1, 요중의 creatinine과 total protein이 유의하게 감소하였고, KI₁₀-NP군에 비해 WBC 중 neutrophil 비율, 혈청 TNF- α 가 유의하게 감소하였으며, KI₁₀-saline군에 비해 WBC 중 neutrophil 비율이 유의하게 감소하였다.

이상의 결과를 볼 때 음곡 택사약침은 신장의 염증반응과 신장염에 의한 신장기능저하를 억제하는 효과가 있으며, 여기에는 음곡 자극과 택사약침액이 상승적으로 작용한 것으로 추정된다.

VI. References

1. Kyoung DH. Oriental Kidney System Internal Medicine. Seoul : Institute of the oriental science. 1993 : 225, 238-47, 256-7, 334-5, 359-401.
2. Committee of Korean Textbook Publisher. Herbology 6th, Seoul : Yeong Lim Sa. 1999 : 305-6.
3. Meridian & Acupoint Compilation Committee of Korean Oriental Medical Colleges. Details of Meridians & Acupoint; A Guidebook for College Students. Daejeon : JongRyeoNaMu Publishing Co. 2012 : 634-6.
4. Park HG, Lee JS, Han DS, Kim MJ, Park HS, You DJ. Renal Disease. Seoul : Min Jung Seo Gwan. 1999 : 98-106.
5. Choe JB, Lee KH, Kim YS. Beneficial Effect of Liuwei Dihuang Tang Jia Renshen-Huangqi Extract on Cisplatin-Induced Kidney Toxicity in Rats. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2003 ; 24(3) : 579-87.
6. Hwang YG, Jeong JC. Effect of Salciae Radix on renal tubular reabsorption in rabbits with mercury-induced acute renal failure. Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 2000 ; 21(2) : 227-34.
7. Yoon CH, Jeong JC, Shin YS. Antioxydant effect of Cervi Pantotrichum Cornu Pharmacopuncture on Renal dysfunction by Bromobenzene. Journal of Korean Oriental Internal Medicine. 1999 ; 20(2) : 287-302.
8. Kim KM, Lee H, Kang HJ, Lee YH, Yim YK. Anti-inflammatory Effect of Dianthi Semen Herbal-acupuncture at KI₁₀ on nephritis in rats. Journal of Meridian & Acupoint. 2009 ; 26(1) : 66-77.
9. Park BM, Hur B, Yim YK. Anti-inflammatory Effect of Plantaginis Semen Herbal-acupuncture at KI₁₀ on LPS-induced nephritis in rats. Journal of Meridian & Acupoint. 2009 ; 26(2) : 127-43.
10. Lee JH, Kim JH, Kim YI. Anti-inflammatory Effect of Benincasae Semen Herbal-acupuncture at KI₁₀ on nephritis in rats. Journal of pharm-acupuncture. 2010 ; 13(2) : 51-65.
11. Yoon KS, Kang JH, Lee H. Anti-inflammatory

- Effect on Desmodii Herba Pharmacopuncture at KI₁₀ on Nephritis in Rats. *Journal Of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*. 2011 ; 28(3) : 43–54.
12. Cho E, Kang JH, Lee H. Anti-inflammatory Effect of Akebiae Lignum Pharmacopuncture at KI₁₀ on LPS-induced Acute Nephritis in Rats. *The Journal Of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*. 2012 ; 29(3) : 41–53.
 13. Lee JC, Lee E, Lee YC. Effects of Rhizoma Alismatis on Lipid Composition and TBARS Concentration in Rat Fed High Fat Diet. *The Society for Herbal*. 2008 ; 23(3) : 113–7.
 14. Lee JM, Lee BR. The Experimental Study about Antioxidant Activities of Alismatis Rhizoma Herbal Acupunctre. *Journal Of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*. 2003 ; 20(1) : 159–76.
 15. Kang KS, Lee DM, Lee HK, Jeong YT. *Systematic Human Anatomy*. Seoul : Komoonsa. 1996 : 267–70.
 16. Arthur C Guyton, John E Hall. *Textbook of medical physiology*. Seoul : Jeong Dam. 2002 : 318–33, 434–5, 446–9.
 17. Song KY, Ji JK, Ham UK. *Core Pathology*. Seoul : Korea Medical Book Publishing company. 1998 : 79–80, 573, 576–80.
 18. Department of Microbiology and Immunology Seoul National University College of Medicine. *Core Medical Microbiology*. Seoul : Seoul National University Publishing Committe. 2006 : 70–1.
 19. Masayo Naito, Karol Bomsztyk and Richard A Zager. Endotoxin Mediates Recruitment of RNA Polymerase II to Target Genes in Acute Renal Failure. *J Am Soc Nephrol*. 2008 ; 19(7) : 1321–30.
 20. Suzanne Heemskerk, Arianne van Koppen, Luc van den Broek, Geert JM Poelen, Alfons C Wouterse, Henry BPM Dijkman, Frans GM Russel and Rosalinde Masereeuw. Nitric oxide differentially regulates renal ATPbinding cassette transporters during endotoxemia. *Pflugers Arch*. 2007 ; 454(2) : 321–34.
 21. Choi WI, Kwon KY, Seo JW, John Beagle, Deborah A Quinn and Charles A Hales. The role of phosphodiesterase 3 in endotoxin-induced acute kidney injury. *BMC Infect Dis*. 2009 ; 9 : 80.
 22. Welch TR, Frenzke M, Witte D and Davis AE III. C5a is important in the tubulointerstitial component of experimental immune complex glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol*. 2002 ; 130(1) : 43–8.
 23. Noiri E, Kuwata S, Nosaka K, Tokunaga K, Juji T, Shibata Y, and Kurokawa K. Tumor necrosis factor- α mRNA expression in lipopolysaccharide-stimulated rat kidney. Chronological analysis of localization. *Am J Pathol*. 1994 ; 144(6) : 1159–66.
 24. Choe HH. *Microbiology*. Seoul : Academybook. 2004 : 415.
 25. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol*. 1991 : 411–52
 26. Mantovani A, Dejana E. Cytokines as communication signals between leukocytes and endothelial cells. *Immunol Today*. 1989 ; 10(11) : 373–5
 27. Ha JY, Kim YK, Lee KS, Min KR, Kim YS. Inhibitory effects of herbal extracts on CINC-1 induction in LPS-stimulated rat kidney epithelioid NRK-52E cells. *Natural Product Sciences*. 1997 : 59–70.
 28. Matthew B Schabath, Margaret R Spitz, Xinmei Zhang, George L Delclos, Xifeng Wu. Genetic variants of myeloperoxidase and lung cancer risk. *Carcinogenesis*. 2000 ; 21(6) : 1163–6.