

# CCl<sub>4</sub>를 투여한 랫드에서 헛개나무 열수추출물의 지질과산화 억제와 신기능 개선 작용

박연우<sup>1</sup> · 양시용<sup>1</sup> · 이민경<sup>1</sup> · 진주영<sup>1</sup> · 조정희<sup>2</sup> · 김기영<sup>1,4\*</sup>

1: 원광대학교 한의학전문대학원, 2: 원광대학교 의과대학 병리학교실, 3: 식품안전청 생약평가부 생약제제과

## Water Extract of *Hovenia dulcis* Suppressed Lipid Peroxidation and Improved Renal Function in CCl<sub>4</sub> Intoxicated Rats

Yeun Woo Park<sup>1</sup>, Si Yong Yang<sup>1</sup>, Min Kyung Lee<sup>1</sup>, Ju Young Jin<sup>1</sup>, Jung Hee Cho<sup>3</sup>, Ki Young Kim<sup>1,2\*</sup>

1: Professional Graduate School of Oriental Medicine, 2: Department of Pathology, Medical School Wonkwang University, 3: Division of Herbal Medicine Preparation Korea Food & Drug Administration

Renal dysfunction could be developed as the secondary disease of liver cirrhosis. Delayed or suppressed lipid peroxidation by the treatment with physiological active substances could be explained as the antioxidative and protective effect in tissue damage. In this study, we investigated an antioxidative effect and renal function improvement of *Hovenia dulcis* in liver fibrosis(cirrhosis) induced rats. The female Sprague-Dawley rats (180~210 g) were divided into 3 groups (Normal, AC: CCl<sub>4</sub> mixture treated group, AC-HV: CCl<sub>4</sub> mixture+ *Hovenia dulcis* treated group) and renal damage was developed by CCl<sub>4</sub> mixture administration in 4 weeks (0.8 ml/rat). The tissue of kidney and liver and sera were used for quantitative measurement of enzyme activity, MDA and Hyp. The histological change and gene expression of collagen α1(III) mRNA and α1(IV) mRNA were observed by Masson's trichrome staining and RT-PCR. As a result, the clinical biochemical parameters of liver function (AST and ALT) in sera of AC-HV group showed significantly 46.4% and 104.8% lower (p<0.005), and the level of ALP and BUN as the parameter of protein urine and azotemia showed 17.8 % and 25.8 % lower than in AC group. In AC-HV group, the concentration of MDA in kidney and liver was decreased significantly 15.8% and 21.3% when compared with AC group (p<0.01~0.005). The content of Hyp in kidney of AC-HV group is merely higher than in AC group, in contrast to liver tissue. The expression of collagen α1(III) mRNA and collagen α1(IV) mRNA was decreased in AC, but both of collagen mRNA in normal and AC-HV group expressed fast similar. More massive lipid droplets, thicker collagen fiber bundles in portal triads and more formation of portal central septum were observed in the liver of AC group than in AC-HV group. In conclusion, CCl<sub>4</sub> mixture intoxication could be developed not only liver fibrosis(cirrhosis) but also renal dysfunction by the massive lipid peroxidation and suppression of interstitial collagen and basement membrane collagen synthesis. And the water extract of *Hovenia dulcis* may be possessed the antioxidative and protective effect and improvement of kidney function in renal dysfunction induced rats.

Key words : *Hovenia dulcis*, Lipid peroxidation, Renal dysfunction, CCl<sub>4</sub> mixture intoxication, Malonedialdehyde(MDA), Collagen gene expression

### 서 론

헛개나무(*Hovenia dulcis* THUNB.)는 일명 枳椇木이라고 불리

며, 중약대사전에서는 과병이 붙어 있는 열매 또는 씨를 枳椇子, 목부의 껍질(cortex)은 枳椇木皮라고 구분하였다<sup>1)</sup>. 효능을 살펴 보면 약용부위인 枳椇子和 枳椇木皮는 거의 유사한 것으로 기록되어 있으며<sup>1)</sup>, 《本草綱目》에는 '枳椇 音止矩. 唐本草 白木部移入此, 并入拾遺木蜜. …… 實 甘, 平, 無毒. 唐本止渴除煩, 去腸上熱, 潤五臟, 利大小便. …… 木皮 甘, 溫, 無毒. 五痔, 和五臟.'이라고 기록되어 있다<sup>2)</sup>.

\* 교신저자 : 김기영, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의학전문대학원  
· E-mail : kkyoung@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-5105  
· 접수 : 2004/03/28 · 수정 : 2004/04/30 · 채택 : 2004/06/02

신질환과 관련되는 직접적인 효능에 대한 내용은 그다지 많지 않고 “利大小便”, 臨床에서는 “小便熱急或澀痛, 尿少, 或水腫” 등의 증상에 利尿通淋藥과 配合하여 사용한다고 설명되어 있다<sup>3)</sup>.

신장은 약물, 화학물질, 식품 등의 활성화된 대사산물에 노출되거나 지질과산화 같은 생체내 반응에 의해 손상받기 쉬운 장기이다. 신기능 저하, 신부전 등의 신질환은 간 질환이 장기간 지속될 때와 50% 가량의 간경변 환자에서 수반되는 질병이라고 보고되었고<sup>4)</sup>, 이때에 사구체 여과율의 저하에 따른 단백뇨 (protein urine)와 고질소혈증(azotemia)이 나타난다.

실험적 신기능 저하 또는 신장 손상은 CCl<sub>4</sub>, iron over load, lead acetate, 당뇨병(Diabetes mellitus), gentamicin 등에 의해서 유발되며, 특히 CCl<sub>4</sub>는 mitochondria에서 cytochrome P-450에 의해 활성화되어 trichloromethyl free radical(CCl<sub>3</sub>·)로 전환된 후에 O<sub>2</sub>와 신속히 반응하여 trichloromethylperoxy radical (CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>·)을 생성하여 세포막을 파괴시키고, 특히 간, 신장, 심장 등의 세포와 조직의 손상을 초래기 때문에<sup>5,6)</sup> 간섬유화와 신기능 개선 병리 연구와 약물의 효과 검색에 사용되고 있다. CCl<sub>4</sub> 또는 담즙 울체로 간섬유화를 유도한 동물에서 이차적으로 신기능 저하가 나타나고 신장에서 지질과산화 지표인 malone -dialdehyde (MDA), 4-hydroxynonenal (HNE)의 증가와 collagen 양이 증가된다고 보고되었다<sup>6)</sup>. 그러나 신장 섬유화가 유도된 동물에서 collagen 양과 collagen 유전자의 발현이 증가된다는 것 외에는 신부전과 신기능 장애가 일어났을 때 collagen양의 변화와 collagen type 별 유전자 발현에 관한 보고는 거의 전무하다<sup>7)</sup>. 최근의 연구에서 헛개나무에 대한 연구는 간 또는 당뇨와 관련된 보고는 많으나<sup>9,11)</sup>, 신 기능 개선과 항산화에 대한 연구보고는 매우 적다.

따라서 본 연구에서는 枳椇木皮 열수 추출물을 CCl<sub>4</sub>로 간섬유화(경화)가 수반하는 신부전을 유도한 랫드에 투여하여 생화학적 지표와 지질과산화 지표, collagen 합성(축적) 지표와 collagen 유전자 발현을 관찰하여 항산화와 신 기능 개선 효과를 검색하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 실험동물군

실험동물은 체중이 약 180~210 g인 12 주령 Sprague-Dawley 랫드(다물사이언스, 오산, 한국)를 사용하였고, 사료와 물은 자유로이 공급하였으며 밤과 낮을 구분하여 주었다. 정상군(normal)은 8 마리, CCl<sub>4</sub> 투여군(AC)과 CCl<sub>4</sub> + 약물 투여군(AC-HV)은 12 마리씩을 한군으로 설정하였다.

### 2. 간섬유화(경화)에 의한 속발성 신장 손상 유도

정상군을 제외한 AC, AC-HV군에 thiopental sod., olive oil 과 CCl<sub>4</sub> 혼합액(0.8 ml/rat)을 일주일에 3회 4주간 투여하여 간섬유화(경화)에 의한 신장손상을 유도하였다.

### 3. 관찰기간 및 약물용량

정상군, AC군과 AC-HV군의 동물을 4주 동안 관찰하였고, 주 1회 체중을 측정하였다. AC-HV군의 랫드에는 전처리한 HV

농축액(1.5 ml/rat/day)을 4주 동안 경구투여하였다.

### 4. 약물의 전처리

Hovenia cortex(枳椇木皮)를 익산의 한약재 시장에서 구입하여 확인을 한 후에 사용하였다. 1.0 l의 증류수에 20 g의 枳椇木皮를 넣고 2 시간 추출하여 여과한 후에 다시 10 배로 농축시켜서 동물에 경구투여하였다.

### 5. 실험재료의 채취

심장에서 채혈한 혈액을 2시간 이상 실온에 방치하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후에 혈청을 수집하여 -20℃에 보관하고, 간과 신장조직의 일부는 -75℃에 보관하여 사용하였다. 혈청은 생화학적 검사, 간과 신장조직은 malondialdehyde (MDA), hydroxyproline (hyp) 측정과 collagen α1(III)와 α1(IV) mRNA의 발현 관찰 및 Masson's trichrome 염색에 사용하였다.

### 6. 혈청생화학적 검사

EMBIEL-kit를 사용하여 alanin aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), blood urea nitrogen (BUN)을 분석하였다.

### 7. Hydroxyproline(hyp)양 측정

간 또는 신장조직내 hyp양의 측정은 Jamall 등<sup>12)</sup>의 방법을 사용하였다. Trans 4-hydroxyproline을 희석하여 표준액으로 사용하였고, 간과 신장 조직 0.2 g에 6N- HCl 4 ml를 넣고 110℃에서 12시간 가수분해시켜서 여과하여 가수분해물을 얻었다. 50 μl의 희석한 표준액과 가수분해물에 isopropylalcohol을 1.2 ml를 가한 후에 200 μl의 chloramine-T를 가하고 10 분간 반응시켰다. 그 후에 1.0 ml의 Ehrlich's reagent solution (p-dimethyl aminobenzaldehyde)을 가하여 발색시켜서 558nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

### 8. MDA 측정

Okawa 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 200 μl의 간 또는 신장 조직 균질액과 200 μl의 일정 농도로 희석한 표준물질(tetramethoxy-propane)에 200 μl의 0.2% SDS, 800 μl의 20% acetic acid, 600 μl의 0.8% thiobarbiturate를 가하고 3차 증류수 200 μl를 넣어서 2.0 ml로 만들었다. 95℃에서 반응시킨 후에 냉각시켜서 butanol 2.0 ml를 가하고 원심분리하여 얻은 상층액의 흡광도를 532nm에서 측정하여 계산하였다.

### 9. RT-PCR 방법을 이용한 collagen α1(III)와 α1(IV) mRNA의 발현 관찰

Total RNA는 TRIzol 시약을 이용하여 신장조직으로부터 추출하여 사용하였다. 2 μg의 mRNA에 random hexamer, dNTP, DEPC를 넣고 5x buffer, DTT, RNase inhibitor를 가하여 역전사시켰다. 이러한 혼합액에 α1(III)와 α1(IV)의 primer (Table 1)와 5 μl의 10x PCR buffer, 1.5 μl의 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.0 μl의 10 mM

dNTP, 35  $\mu$ l의 DEPC H<sub>2</sub>O, 0.5  $\mu$ l의 Taq. polymerase를 가하여 총 용량을 50  $\mu$ l로 만들었다. 그 후에 94°C에서 5분간, 94°C 또는 72°C, 52°C 또는 58°C의 순환과정을 30~35회 수행 한 다음에 72°C에서 45 초간 반응시켰다(Eppendorf, Master cycler gradient, USA). 다시 92°C에서 5 분간 반응시키고 4°C에 보관하였다. 증폭된 시료의 cDNA를 0.2% agarose gel에서 size marker로 50 bp DNA ladder를 사용하여 전기영동시켜서 UV transilluminator로 band의 intensity를 관찰하여 유전자 발현을 관찰하였다.

**Table 1. The sense and antisense of rat collagen  $\alpha$ 1(III) and collagen  $\alpha$ 1(IV)**

Primer	Sequence (5'~3')
Collagen III S	5'-CCCGGGTACCCTATGGCAATCCTGATCTTCCTGA-3'
Collagen III AS	5'-CGCGAAGCTTCATGGCCTTGCGTGTGGAAG-3'
Collagen IV S	5'-GCAGGTGTGCGGTTTGTGAAG-3'
Collagen IV AS	5'-GTGGAACCTCCGTCGCCCTCGA-3'

S: sense, AS: antisense

10. 간조직의 형태학적 관찰

간섬유화(경화)에 의한 속발성 신장 장애 유도를 확인하기 위하여 간조직을 Masson's trichrome 방법으로 염색하여 collagen 섬유다발, 세포의 염증과 괴사, 지방적, 격벽형성(septum formation) 등의 정도를 광학 현미경으로 관찰하였다.

11. 통계처리

Student's t-test를 사용하여 median  $\pm$  standard deviation과 p-value를 구하여 유의성을 검증하였다.

실험 결과

1. 일반적인 관찰

CCl<sub>4</sub>를 투여한 AC군과 AC-HV군에서 4주간의 관찰 기간 동안에 AC군에서만 치사율이 13%로 나타났다.

2. 체중과 신장의 무게 변화

정상군에 비해서 CCl<sub>4</sub>를 투여한 AC군과 AC-HV군에서 17.4%, 9.0%의 체중 감소가 나타났다. 신장 무게와 신장/체중 비는 AC군과 AC-HV군에서 정상군보다 높았고 (Table 2), AC군의 신장/체중의 비는 AC-HV군보다 유의성 있게 높았다(p<0.05).

**Table 2. The weight of kidney and ratio of kidney/body weight in different group**

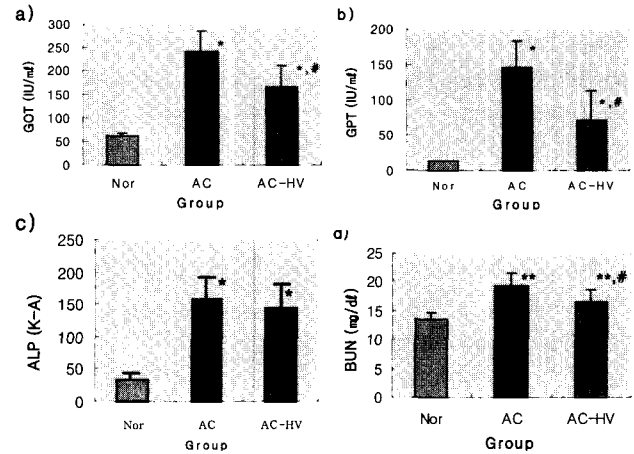
Group	Body weight (g)	Kidney weight (g)	Ratio of Kw/Bw (%)	n
Normal	200.0 $\pm$ 8.6	1.36 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.03	8
AC	167.3 $\pm$ 19.4	1.62 $\pm$ 0.19	0.97 $\pm$ 0.17	10
AC-HV	180.1 $\pm$ 10.3	1.52 $\pm$ 0.15	0.91 $\pm$ 0.20 <sup>#</sup>	12

#: p<0.05, significantly different from AC group, AC: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. treated rats, AC-HV: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. + Hovenia dulcis treated rats, n: number of animal

3. 혈청생화학적 변화

혈청 중 AST, ALT, ALP, BUN 수치는 AC군과 AC-HV군에서 정상군보다 유의성 있게 증가하였다(Fig. 1a-d, p<0.005). AC

군과 비교했을 때 AC-HV군에서 AST와 ALT의 수치는 유의성 있게 낮았다(p<0.05). 신 기능과 단백질의 지표인 ALP는 17.8% 낮았고, BUN은 25.8% 유의성 있게 낮게 나타났다(Fig. 1c, d, p<0.01).



**Fig. 1. The values of clinical biochemical parameters in sera of rats** a: aspartate aminotransferase, b: alanin aminotransferase, c: alkaline phosphatase, d: blood urea nitrogen, \*: p<0.005, significantly different from normal group, \*\*: p<0.01, significantly different from normal group, #: p<0.005 significantly different from AC group, Nor: normal group, AC: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. treated rats, AC-HV: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. + Hovenia dulcis treated rats

4. 간과 신장 조직 중 hydroxyproline (hyp)량의 변화

신장 조직 중 hyp 양은 대조군에 비해 AC군과 AC-HV군에서 각각 11.5%, 5.5% 낮았고, AC군과 비교했을 때 AC-HV군에서 5.3%가 높게 나타났다(Table. 3). AC-HV군의 간조직중 hyp 양은 AC군보다 101.2% 유의성 있게 낮았다(Table. 3, p<0.005)

**Table 3. The content of hydroxyproline in liver tissue and kidney tissue of rats**

Group	Hyp liver( $\mu$ g/g)	Hyp kidney( $\mu$ g/g)	n
Normal	997.30 $\pm$ 87.03	915.2 $\pm$ 102.7	6
AC	2201.6 $\pm$ 16.02 <sup>#</sup>	826.2 $\pm$ 57.6	10
AC-HV	1094.3 $\pm$ 186.7 <sup>#</sup>	870.4 $\pm$ 74.3	12

\*: p<0.05, significantly different from normal group, #: p<0.005, significantly different from AC group, AC: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. treated rats, AC-HV: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. + Hovenia dulcis treated rats

5. 간과 신장 조직 중 MDA 농도변화

신장조직중 지질과산화 산물인 MDA의 농도를 정상군과 비교했을 때 AC군에서 유의성 있게 높게 나타난 반면에 AC-HV군에서는 큰 차이가 없었다(Table. 4, p<0.005). 그리고 AC-HV군에서는 AC군보다 15.8% 유의적으로 낮았다(Table. 4, p<0.01). 간조직중 MDA 농도는 AC-HV군에서 AC군보다 21.3% 유의성 있게 낮게 나타났다(Table. 4, p<0.01)

**Table 4. The concentration of MDA content in liver tissue and kidney tissue of rats**

Group	MDA in liver (nmol/g)	MDA in kidney (nmol/g)	n
Normal	97.9 $\pm$ 29.3	162.7 $\pm$ 11.6	6
AC	131.3 $\pm$ 18.2	181.4 $\pm$ 24.4	10
AC-HV	108.2 $\pm$ 14.0 <sup>#</sup>	156.6 $\pm$ 14.7 <sup>#</sup>	12

\*: p<0.05, significantly different from normal group, #: p<0.01, significantly different from AC group, AC: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. treated rats, AC-HV: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. + Hovenia dulcis treated rats

6. 신장 조직중 collagen α1(III), collagen α1(IV) mRNA 발현의 변화

AC군에서는 신장조직 중 collagen α1(III) mRNA가 정상군과 AC-HV군에 비해 뚜렷하게 적게 발현되었다(Fig. 2a). 그리고 collagen α1(IV) mRNA는 AC-HV군에서는 정상군과 유사하게 발현되었고, AC군 보다는 뚜렷하게 발현이 증가되었다(Fig. 2b).

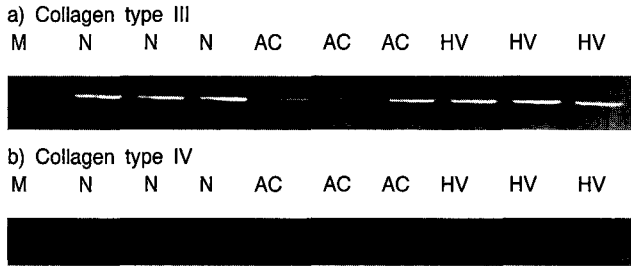


Fig. 2. The expression of collagen α1(III) and α1(IV) mRNA in normal, AC and AC-HV group rat M: 50 bp ladder, N: normal rat, AC: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. treated rats, HV: CCl<sub>4</sub>-thiopental sod. + Hovenia dulcis treated rats

7. 간조직의 형태학적 변화

Masson's trichrome 방법으로 염색한 AC군 간조직에서 과도한 지방적, 세포의 괴사와 stroma와 portal triads에 분포한 두껍고 많은 collagen 섬유다발, 격벽 형성이 관찰됨으로서 간경화가 확실하게 유도된 것이 관찰되었다(Fig. 3a). AC-HV군 간조직에서는 AC군 조직과 비교했을 때 약한 collagen 섬유 다발과 격벽 형성이 경미하였다(Fig. 3b).

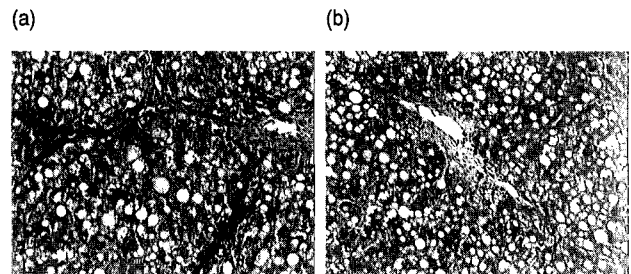


Fig. 3. The histological change of liver tissue in CCl<sub>4</sub> and CCl<sub>4</sub>+HV treated rat by Masson's trichrome staining(x 160). a: CCl<sub>4</sub> treated rat b: CCl<sub>4</sub>+HV treated rat

고찰

헛개나무는 옛부터 酒解毒 작용이 뛰어나다고 기록되어 있고<sup>3)</sup>, 최근의 연구에서 당뇨병 개선, 숙취제거, 간기능 개선, 항산화, 항균력 등에 대한 관심이 증대되고 있으나 신장질환과 관련된 기록이나 연구보고는 거의 없는 실정이다.

신부전은 신장 섬유화, 사구체염, 급만성 신우염 등과 지속적인 간질화에 의해 이차적으로 발생할 수 있으며, 특히 간경변 환자에서 신 기능 장애가 동반된다고 보고되어 있다<sup>4,14,15)</sup>. 따라서 본 연구에서는 간 질환에 효능이 있는 枳椇木皮를 CCl<sub>4</sub> 혼합액을 투여하여 신부전을 유도한 랫드에서 지질과산화와 신기능 장애 개선 효과를 검색하고자 혈청 생화학적 지표, 지질과산화 지표, collagen 합성(축적) 지표와 collagen mRNA 발현을 관찰하였다.

신부전의 유도를 위한 전제 조건인 간섬유화(경화) 확인 결과에서 CCl<sub>4</sub> 혼합액만을 투여한군(AC군)에서 정상군과 비교했을 때 랫드의 치사율이 13%이었고, 체중감소가 20.0%로 나타났을 뿐만 아니라 혈청중 AST, ALT, BUN, ALP의 수치가 유의적으로 높게 나타났으며(p<0.005), 간조직중 collagen과 MDA 양이 120.7%, 34.1% 유의성 있게 높게 나타났다(Table 3, 4, P<0.005). Masson's trichrome으로 염색한 간조직에서 stroma와 portal triads에 두꺼운 collagen 섬유다발의 분포, central portal septum 형성과 수많은 지방적 등의 형태학적 변화가 관찰됨으로서 간섬유화(경화)의 유도가 확인 되었다(Fig. 3, 4, p<0.005). 그리고 AC군과 비교했을 때 AC-HV군에서는 4 주간의 관찰기간 동안에 사망한 동물은 없었고, 5%의 체중 감소, 간조직의 형태학적 변화가 약간 경미하였으며 AST, ALT, BUN의 수치가 유의성 있게 낮았고(p<0.05~0.005), collagen 양과 MDA의 수치 역시 101.2%, 21.3% 유의성 있게 낮게 나타남으로서(Table. 3, 4, p<0.01~005), 枳椇木皮가 간섬유화(경화)가 유도된 동물에서 간기능 개선, 항산화와 항섬유화 효과가 확실하게 있다고 사료된다.

간경화에 의한 속발성 신부전과 관련하여 AC군의 신장 조직중 MDA의 수치는 정상군보다 유의성 있게 증가하였는데, 이는 담도결찰, gentamycin 투여 또는 CCl<sub>4</sub>로 과도한 지질과산화에 의해서 신장 손상이 유도될 때 MDA의 수치가 증가된다는 보고와 일치하고<sup>16-18)</sup>, 또한 단백질뇨와 고질소혈증의 혈청생화학적 지표인 ALP와 BUN이 유의성 있게 증가함으로서 간섬유화(경화)뿐만 아니라 지질과산화에 의한 신부전 또는 신기능 장애가 유도되고, 또한 신기능 개선 효과의 검색 연구에 사용될 수 있는 가능성이 확인되었다(Fig. 1c, d, p<0.005). AC-HV군에서 ALP와 BUN의 수치가 AC군보다 17.8%와 25.8% 낮았고(Fig. 1.c, d), 지질과산화 지표인 MDA 역시 15.8% 낮은 것으로 관찰되었다(Table 4). 이러한 결과로부터 枳椇木皮는 지질과산화를 억제시켜서 신장을 보호하고, 단백질뇨와 고지혈증을 개선시킴으로서 항산화 작용과 신기능 개선작용이 있다고 사료된다.

또한 혈액을 여과하고 통과시키는 기능이 있는 신장은 nephron, 사구체, 근위세뇨관, 원위세뇨관 등으로 구성되어 있고, 다량의 interstitial collagen과 basement membrane collagen이 분포되어 있으며, 특히 basement membrane collagen인 type IV는 기저막에 존재하는 것으로 알려져 있다. Collagen 유전자 발현의 연구에서 Uchio 등은 신장 섬유화를 유도한 ICR 마우스에서 collagen I, III, IV mRNA의 증가와 인슐린 비의존성 당뇨병에 의한 신부전에서 collagen 양의 증가를 보고하였다<sup>8,19)</sup>. 본 연구에서는 정상군과 비교했을 때 AC군의 신장에서 MDA 양은 증가하였으나, 총 collagen 양을 반영하는 hyp 양이 정상군 보다 AC군에서 11.5% 낮게 나타났을 뿐 아니라 collagen α1(III)과 α1(IV) mRNA가 정상군에서 보다 적게 발현되었다(Fig. 2). 이는 CCl<sub>4</sub>에 의한 신장 손상은 지질과산화에 의한 세포막의 파괴와 조직 손상과 함께 많은 모세혈관을 구성하는 interstitial collagen과 basement membrane collagen의 합성이 오히려 감소시키는 것으로 생각할 수 있으며, 간에서와는 달리 신장에서는 collagen

합성 증가와 축적에 기인하는 섬유화는 유도되지 않는 것으로 사료된다. 이를 뒷받침하는 것으로 NIDDM(non insuline dependent diabetes mellitus)에 기인하는 신장 장애 (mephropathy) 환자에서 기저막 collagen인 type IV와 당단백인 laminin의 배설이 증가한다는 보고가 있다<sup>19)</sup>. AC-HV군의 신장에서 MDA 양은 AC군보다 유의성 있게 낮고(p<0.01), hyp 양이 정상군보다 5.5% 낮았으나(AC군보다는 5.3% 높고) collagen α1(III)과 α1(IV) mRNA의 발현은 정상군과 비슷하고 AC군보다 뚜렷하게 많이 발현되었다. 따라서 枳椇木皮가 collagen을 합성하는 세포들을 지질과산화로부터 보호함으로써 신장에서 기저막을 구성하는 collagen type IV와 모세혈관을 구성하는 fibrous collagen인 type III의 합성을 증가시켜서 신기능 개선 효과를 나타낸다고 사료된다.

## 결 론

CCl<sub>4</sub>는 혈청중 AST, ALT의 수치를 증가시키고 간조직중 collagen과 MDA 양을 증가시킬 뿐만 아니라 조직에서 두꺼운 collagen 섬유 다발, 지방적 생성과 격벽 형성 등의 형태학적 변화를 초래함으로써 간섬유화(경화)를 유발시키고 신장 조직중 MDA양의 증가, collagen 양과 collagen α1(III)과 α1(IV) mRNA의 발현 감소, 혈청중 ALP, BUN 수치를 증가시켜서 단백질과 고질소혈증, 구조 단백질 collagen 양의 손실 및 과도한 지질과산화로 인한 신기능 장애를 초래한다.

枳椇木皮는 간조직중 hyp와 MDA 양을 감소시키고 혈청중 AST, ALT를 유의적으로 감소시키며(p<0.01~0.005), 또한 조직의 형태학적 변화를 약화시키므로 신기능 개선, 항산화와 항섬유화 효과가 있을 뿐만 아니라 신장 조직에서 지질과산화 지표인 MDA와 ALP, BUN의 수치를 감소시킴으로서 사구체 여과율 저하에 의한 단백질과 고질소혈증을 개선시키고, 지질과산화를 억제하며, collagen 감소의 억제와 collagen α1(III)과 α1(IV) mRNA의 발현 증가시켜서 항산화와 신기능 개선 작용이 있다고 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 원광대학교 한의학전문대학원 BK 사업비와 2003년 교비 연구비에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 中藥大辭典 편집위원회, 中藥大辭典 정답 서울 pp. 3937- 3339, 2001.
2. 이시진, 본초강목, 인민위생출판사, 북경, pp. 1845-1846, 1982.
3. 신동훈, 조명래, 枳椇子에 對한 文獻考察 및 最近 研究 動向. 대한본초학회지 17(1):81-91, 2002.
4. Epstein, M., Berk, D.P., Hollenberg, N.K., Adams, D.F., Chalmers, T.C., Abrams, H.L., Merrill, J.P., Renal failure in the patient with cirrhosis: The role of active

- casoconstriction. Amer J Med 49:175-185, 1970.
5. Tsai, L.Y., Lee, K.T., Liu, T.Z., Evidence for accelerated generation of hydroxyl radicals in experimental obstructive jaundices of rats. Free Radic Biol Med 24:732-737, 1998.
6. Bedossa, P., Houblum, K., Trautwein, C., Holstege, A., Chojkier, M., Stimulation of collagen gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: A link to tissue fibrosis? Hepatology 19:1262-1271, 1994.
7. Abraham, P., Wilfred, G., Cathrine, S.P, Oxidative damage to the lipids and proteins of the lungs, testis and kidney of rats during carbon tetrachloride intoxication. Clinica Chimica Acta 289:177-179, 1999.
8. Uchio, K., Manabe, N., Yamaguchi-Yamada, M., Goto, Y., Yamamoto, Y., Ogura, A., Miyamoto, H., Changes in the localization of type I, III and IV collagen mRNAs in the kidneys of hereditary nephritic (ICGN) mice with renal fibrosis. J Vet Med Sci 66(2):123-128, 2004.
9. Ji, Y., Chen, S., Zhang, K., Wang W., Effects of Hovenia dulcis THUNB on blood sugar and hepatic glycogen in diabetic mice. Zhong Yao Cai 25:190-191, 2002.
10. 김종대, 이현용, 안철, 김민희, 홍유리, 헛개나무 추출물의 생리 활성에 관한 연구. 강원대학교 농업과학연구 11:1-11, 2000.
11. Hase, K., Ohsugi, M., Xiong, Q., Basnet, P., Kadota, S., Namba, T., Hepatoprotective effect of Hovenia dulcis THUNB on experimental liver injuries induced by carbon tetrachloride or D-galactosamine/lipopoly saccharide. Biol Pharm Bull 20:381-385, 1997.
12. Jamall, I.S., Dinelli, V.N., A single method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue, Anal Biochem 112(1):70-75, 1981.
13. Ohkawa, H., Ohshi, N., Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 95(2):351-358, 1979.
14. 최윤정, 최돈하, 이학주, 이성숙, 수목추출물의 생리활성에 관한 연구, 헛개나무 목부의 항균활성 물질. 목재공학 31:1-9, 2003.
15. 김영길, 이상호, 권혁일, 황백, 이현용, 안상욱, 김민희, 이병익, 헛개나무와 오리나무 추출물의 간해독작용 및 체내 알콜 분해능 비교. 한국약용작물학회지 7:263-268, 1999.
16. Orellana, M., Rodrigo, R., Thielemann, L., Guajardo, V., Bile duct ligation and oxidative stress in the rat: effects in liver and kidney. National Library of Medicine 126(2): 105-111, 2000.
17. Abdel-Naim, A. B., Abdel-Wahab, M. H., Attia, F. F. , Protective effects of vitamin E and Probuocol against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Pharmacological Research. 40:183-187, 1999.
18. Dogukan, A., Akpolat, N., Celiker, H., Ilhan, N., Halil Bahcecioglu, I., Gunal, AI., Protective effect of

interferon-alpha on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity. *J. Nephrol.* 16(1);81-84, 2003.

19. Banu, N., Hara, H., Okamura, M., Egusa, G., Yamakido, M., Urinary excretion of type IV collagen and laminin in

the evaluation of nephropathy in NIDDM: Comparison with urinary albumin and markers of tubular dysfunction and/or damage. *Diabetes Research and Clinical Practice* 29(1):57-67, 1995.