

加味防風通聖散이 수은의 피하 주입으로 중독된 마우스의 간 및 신기능에 미치는 영향

양준형 · 홍승욱

동국대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

The Effects of *Kami-bangpungdongseong-san* Extracts on the Mouse Liver and Kidney Toxicated by Mercuric Chloride Subcutaneous Injection

Joon-Hyoung Yang · Seong-Ug Hong

Objective : For this study, mice on mercurial toxication were given mercuric subcutaneous injection to their abdomen factitiously. After delivering *Kami-bangpungdongseong-san*(KBT) extracts to the mice by oral administration, we observed changes from liver and kidney of mice.

Method : The BALB/c mice were distributed into three groups: No treated group(Normal group), Mercuric chloride subcutaneous injection group(Control group), *Kami-bangpungdongseong-san*-treated group (Sample group). KBT Extracts were delivered orally in 7 days. We observed involution of liver, necrosis of liver and cell plate loss of liver, lipid peroxidation CYP1A1 expression. We observed involution of proximal convoluted tubules, hypertrophy of Bowman's capsule, periodic acid-Schiff(PAS)'s positive reaction of proximal convoluted tubules, heat shock protein(HSP)700's positive reaction in glomerulus. For the charting the results, image analysis was taken. The result of image analysis was verified significance by Sigmaplot 2000(P < 0,05).

Result : The mice' liver on mercurial toxication were relieved involution of liver, necrosis of liver, and cell plate loss of liver and also declined lipid peroxidation and CYP1A1 expression. The mice' kidney on mercurial toxication were relieved involution of proximal convoluted tubules, hypertrophy of Bowman's capsule and increasing PAS's positive reaction of proximal convoluted tubules. On the other hand it was declined HSP700's positive reaction in glomerulus.

Conclusion : According to the result of study, we think that we can expect to the effect of KBT extracts' therapeutic action to tissue injuries of the mice' liver and kidney on acute mercurial toxication.

Key words : *Kamibangpungdongseong-san* Extracts, Acute mercurial toxication, Liver, Kidney, Mercuric chloride

I. 서 론

수은은 인체에 누적될 경우 치명적인 피해를 주는 중금속으로, 수은이 흡수되면 주로 신장과 간에 축적되고, 수은 중독은 만성신경계 질환으로 진행하여 운동장애, 언어장애, 난청, 마비 등이 발생한다. 대부분의 수은은 호흡기를 통하여 흡수되어 중독되지만 때로는 경구 또는 피부를 통해서도 체내로 흡수된다¹⁾. 하지만 피부를 통하여 흡수되는 양은 소량으로 알려져 있다²⁾.

한의학에서 水銀은 염화수은 결정체를 輕粉 또는 汞粉이라고도 하고, 性은 寒하고 味는 辛하며 매우 有毒한 약재였던 것으로 기록되어 있다. 攻毒殺蟲의 효능과 止痒시키는 효능을 지니므로 外科의 疥癬과 梅毒을 치료하는데 사용하기도 하였다³⁾. 하지만 過用하면 수은이 살에 들어가 온갖 뼈마디가 오그라들고, 특히 다리가 마르고 힘이 없어져 쓰러지는 痿躄證이 발생한다고 하였으며, 수은에 중독되면 술, 돼지고기, 무쇠를 우린 물 등을 복용하기도 하였다⁴⁾.

防風通聖散은 中毒物이 쌓여져 있는 것을 皮膚, 泌尿器, 消化器를 통하여 배설하고 해독하는 효과가 있어 인체 내의 食毒, 水毒, 風毒 및 熱毒을 제거하여 淨血하는 목적으로 사용할 수 있는데⁵⁾ 수은의 배설과정에 착안하여 수은중독에 瀉熱通便⁶⁾하는 방풍통성산의 효능을 응용할 수 있을 것으로 판단하였다.

이에 저자는 피부를 통하여 수은의 침윤성 중독 증상을 야기한 후 방풍통성산의 치료 효과를 관찰하고자 하였다. 여기에 선행 연구를 통해 신장에서 중금속 배출효과가 밝혀진 土茯苓⁷⁾과 중금속 오염된 간의 회복효과가 보고된 金銀花⁸⁾와 혈액

내 항산화 효과가 규명된 黃芪⁹⁾와 혈관 내의 염증을 가라앉히는 효과가 보고된 香附子¹⁰⁾를 가미하고, 수은이 피부를 통하여 침윤되었을 때 모세 혈관 내 적혈구에 대한 침윤을 보호하기 위해서 손상된 혈구의 회복 효과가 연구된 川芎¹¹⁾, 當歸¹²⁾, 赤芍藥¹³⁾을 증량하여 가미방풍통성산을 구성하였다.

이후 수은을 피하 주입하여 독성을 일으킨 생쥐에게 가미방풍통성산 추출물을 투여하여 간과 신장의 변화를 조사하여 수은 중독의 치료와 관련한 실험적 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

태령 6주된 BALB/c계 수컷 생쥐(오리엔트, 대한민국)를 무균 사육장치 내에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중 20 g된 생쥐를 선별하여 사용하였다.

2) 추출물의 제조

가미방풍통성산 (*Kami-bangpungdongseong-san*, KBT)은 (주)한의원통에서 구입한 약제를 사용하였다(Table 1). KBT 2첩을 증류수 500 ml에 넣고 2시간 동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50 ml로 감압 농축한 후 수득률 16%의 동결 건조한 것을 사용하였다.

2. 방법

1) 실험군의 분류

정상군(Normal group), 염화수은 피부 주입군(Control group, 대조군), 염화수은 피부 주입 후 가미방풍통성산 추출물 투여군(Sample group, 실험군)으로 나누었으며, 각 군에 각 10마리씩을 배정하였다.

교신저자 : 홍승욱, 경기도 고양시 일산구 식사동 814 동국대 일산한방병원 한방안이비인후피부과 (Tel: 031-961-9085, Fax: 031-961-9009, E-mail: heenthsu@duih.org)

• 접수 2010/06/10 • 수정 2010/07/31 • 채택 2010/08/07

Table 1. The Amount and Composition of KBT Extract

Herbal Name	Scientific Name	Dose (g)
滑石	<i>Talcum</i>	6.8
甘草	<i>Glycyrrhizae radix</i>	4.8
川芎	<i>Cnidii rhizoma</i>	4.0
當歸	<i>Angelicae gigantis radix</i>	4.0
赤芍藥	<i>Paeoniae radix rubra</i>	4.0
白朮	<i>Attractylodis macrocephalae rhizoma</i>	4.0
石膏	<i>Gypsum fibrosum</i>	2.8
黃芩	<i>Scutellariae radix</i>	2.8
桔梗	<i>Platycodi radix</i>	2.8
防風	<i>Ledeboyriellae radix</i>	1.8
大黃	<i>Rhei radix et rhizoma</i>	1.8
麻黃	<i>Ephedrae herba</i>	1.8
薄荷	<i>Menthae herba</i>	1.8
蓮翹	<i>Forsythiae fructus</i>	1.8
芒硝	<i>Natrii sulfas</i>	1.8
荊芥	<i>Schizonepetae herba</i>	1.4
梔子	<i>Gardeniae fructus</i>	1.4
生薑	<i>Zingiberis rhizoma recens</i>	4.0
土茯苓	<i>Smilax rhizoma</i>	28.0
香附子	<i>Cyperi rhizoma</i>	4.0
黃芪	<i>Astragali radix</i>	4.0
金銀花	<i>Lonicrae flos</i>	2.0
	Total Amount	91.6

Abbreviation : KBT, *Kami-bangpungtongseong-san*

2) 수은중독 유발

생쥐 복부의 피부를 면도한 후에 염화수은 (sigma, USA) 1 mg/kg을 피하에 주입하였다.

3) 추출물의 투여

염화수은 피부 주입 후 7일 동안 실험군에 250 mg/kg량으로 추출물을 구강 투여하였다.

4) 조직 표본 제작

염화수은 피부 주입 후 7일째에 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse 와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin, NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 피부, 간 그리고 신장을 적출한 후 실온에서 24시간 동안 10% NBF에 고정하였다. 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 µm 두께의 연속절편으로 제작되었다. 일반적인 형태변화를 관찰하기 위해 연속절편을 hematoxylin과 eosin에 염색한 후 광학현미경(BX50, Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 한편 지방 염색을 위한 냉동절편 제작은 NBF에 고정한 후 10% formol-calcium에 1주일 동안 oxidation 처리하였다. 30% sucrose 용액에서 cryo-protection 한 후 냉동절편기(Microm, Germany)로 10 µm 두께의 냉동절편을 제작하였다.

5) 간 손상 관찰

① 지질 과산화 관찰을 위한 조직화학

간 조직 내 지방의 분포는 Sudan black B 염색을 통해 관찰하였다. 냉동절편을 absolute propylene glycol로 10분간 탈수한 후 Sudan black B 용액에 10분간 염색하고, 85% propylene glycol로 3분간 탈색한 후 증류수에 수세하고 nuclear fast red로 1분간 대조 염색하였다. 대조 염색 후 증류수로 3회 수세한 다음 glycerin jelly로 봉입한 후 관찰하였다.

② CYP1A1 관찰을 위한 면역조직화학

간 조직 내 CYP1A1의 분포 변화를 조사하기 위해 항CYP1A1항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K (20 µg/ml)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에서 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 rabbit anti-mouse CYP1A1(1:100, Santa Cruz Biotech,

USA)에 4℃ humidified chamber에서 7일 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(1:100, DAKO, USA)에 4℃ humidified chamber에서 5일 동안 link 하였고, 그런 다음 avidin biotin complex kit (Vector Lab, USA.)에 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB, Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색을 하였다.

6) 신장 손상 관찰

① 근위 곱슬세관 손상 관찰을 위한 조직화학

근위 곱슬세관(proximal convoluted tubule)의 붓털모양 가장자리 변화를 조사하기 위해서 PAS(periodic acid-Schiff) reaction stain을 실시하였다. 우선 periodic acid에서 5분간 반응시킨 후 Schiff reagent에서 15분 동안 처리하였다. 그런 다음 sulfurous rinse에서 각 2분씩 3회 세척한 후 Hematoxylin에서 1분 동안 대조염색을 하였다.

② 열 충격 단백질 관찰을 위한 면역조직화학

사구체내 손상 스트레스를 조사하기 위해 스트레스에 대한 완충적 물질인 열 충격 단백질(heat shock protein, HSP)의 하나인 HSP70 분포 변화를 mouse anti mouse HSP70(1:100, Santa Cruz Biotech)을 이용한 면역조직화학적 염색 후 관찰하였다.

7) 영상분석과 통계처리

조직화학과 면역조직화학 결과의 수치화를 위해 Optimas 5.2(Optima Co., USA)를 이용한 영상분석을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma plot 2000(SPSS INC, USA)을 통해 P < 0.05 로 유의성을 검증하였다.

III. 결 과

1. 간 손상 완화

1) 간 조직 손상 완화

대조군의 중심정맥(central vein) 주변부에서 액포화(vacuolation)가 증가된 세포질이 다수 발견되었고, 퇴화(degeneration) 되거나 괴사(necrosis) 상태인 간세포의 출현 증가와 간세포(hepatic plate)의 유실이 관찰되었다. 이런 간 조직 손상은 간삼주체(portal triad) 주변부까지 확대된 양상으로 관찰되었다. 이에 반해 실험군의 중심정맥 주변부에서 액포화된 세포질은 감소하였고, 간세포의 퇴화와 괴사는 대조군에 비해 그 출현이 줄어들었다(Table II, Fig. 1-A).

Table II. The Morphological Changes of Mercuric Chloride-evoked Hepatic Damages in Mice by KBT

Objective	Group		
	Normal	Control	Sample
Degeneration	-	+++	+
Necrosis	-	+++	++
Hepatic plate	-	++	+

(n=10)

Abbreviations : -, no lesion; +, mild (25% or less); ++, moderate (25-50%); +++, severe (50-75%); +++++, extensive (75% or more)

Normal group : No treated mice

Control group : Mercuric chloride exposed mice

Sample group : KBT-treated mice after mercuric chloride exposure

2) 지질 과산화 감소

간 세포질 내 lipid blot의 분포는 정상군(118±16/100,000 particles)에 비해 대조군(1062±47/100,000 particles)이 증가한 반면 실험군(459±22/ 100,000 particles)에서는 대조군에 비

해 유의성(P < 0.05) 있게 감소하였다. 이러한 lipid blot의 분포변화는 중심정맥 주변에서 잘 관찰되었다(Table III, Fig. 1-B).

3) CYP1A1 감소

간 세포질 내 CYP1A1 양성반응은 중심정맥 주변의 세포질에서 강한 양성반응 양상을 보였고 영상분석 결과 정상군(148±15/100,000 particles)에 비해 대조군(1971±73/100,000 particles)이 증가한 반면, 실험군(461±19/ 100,000 particles)에서는 대조군보다는 낮은 증가를 보여서 유의성(P < 0.05) 있는 감소 경향을 보였다(Table III, Fig. 1-C).

Table III. The Image Analysis of Hepatic Lipid Blot & CYP1A1 in KBT-treated Mice after mercuric chloride exposure

Objective	Group		
	Normal	Control	Sample
Lipid blot	148±15	1062±47	459±22*
CYP1A1	118±16	1971±73	461±19*

(n=10)

(Image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-130)

Normal group : No treated mice

Control group : Mercuric chloride exposed mice

Sample group : KBT-treated mice after mercuric chloride exposure

*, P < 0.05 compared with Control group.

2. 신장 손상 완화

1) 신장 조직 손상 완화

대조군의 근위 곱슬세관 손상이 다수 발견되었고, 일부 콩팥소체 요세관극(urinary pole) 주변 보우만주머니 외벽의 단층편평상피세포가 비후되어 단층입방상피세포 형태로 관찰되었다. 이에 반해 실험군의 근위 곱슬세관의 손상과 보우만주머니의 손상은 적게 나타났다(Fig. 2-A).

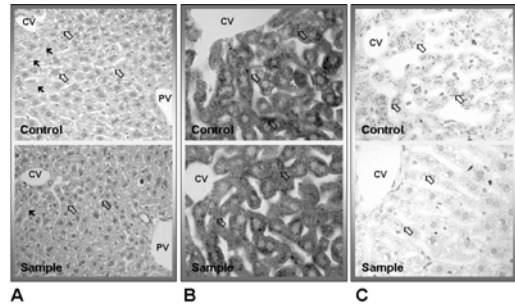


Fig. 1. The cure effect of KBT for mercuric chloride exposed hepatic damages

- A. Mitigative effects (Hematoxylin & eosin, ×200). The degeneration (arrow) and necrosis (vacant arrow) in Sample were decreased than Control.
- B. Decrease of Lipid blot (vacant arrow, sudan Black B stain, ×400)
- C. Decrease of CYP1A1 positive reacted hepatic cell (vacant arrow, CYP1A1 immunohistochemistry, ×400)

Abbreviations : CV, central vein; PV, portal vein

Normal group : No treated mice

Control group : Mercuric chloride exposed mice

Sample group : KBT treated mice after mercuric chloride exposure

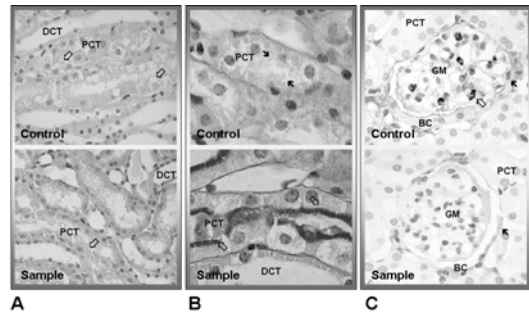


Fig. 2. The cure effect of KBT for mercuric chloride exposed renal damages

- A. Mitigative effects (Hematoxylin & eosin, ×200). The necrosis of PCT (vacant arrow) in Sample were decreased than Control.
- B. Increase of PAS-positive reaction in PCT (vacant arrow, sudan Black B stain, ×400).
- C. Decrease of HSP70 positive reacted glomerulus (vacant arrow, HSP70 immunohistochemistry, ×400).

Abbreviations : PCT, proximal convoluted tubule; DCT, distal convoluted tubule; GM, glomerulus

Normal group : No treated mice

Control group : Mercuric chloride exposed mice

Sample group : KBT-treated mice after mercuric chloride exposure

2) 근위 곱슬세관 손상 감소

근위 곱슬세관의 붓털모양 가장자리에 관찰되는 PAS 양성반응이 정상군에 비해 대조군에서는 크게 감소한 반면, 실험군에서는 대조군에 비해 증가된 양상으로 관찰되었다(Fig. 2-B).

3) HSP70 감소

스트레스에 대한 완충적 물질인 HSP70의 반응은 손상된 사구체의 문어발 세포의 핵 주변 세포질에서 강한 양성반응을 보였는데, 영상분석 결과 정상군(120±21/100,000 particles)에 비해 대조군(1546±72/100,000 particles)에서 증가된 양상으로 관찰되었으며 실험군(495±15/100,000 particles)은 대조군에 비해 유의성(P < 0.05) 있는 감소 경향을 보였다(Table IV, Fig. 2-C).

Table IV. The Image Analysis of Renal HSP70 in KBT-treated Mice after Burn Elicitation

Objective	Group		
	Normal	Control	Sample
HSP70	120±21	1546±72	495±15*

(n=10)

(Image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-130)

Abbreviation : HSP70, heat shock protein 70

Normal group : No treated mice

Control group : Mercuric chloride exposed mice

Sample group : KBT-treated mice after mercuric chloride exposure

*, P < 0.05 compared with Control group.

IV. 고 찰

수은은 고대부터 각종 질병의 치료에 사용되어져 왔다. 하지만 수은은 직접적 또는 간접적으로 인체에 흡수 및 축적되어 수은 중독 및 여러 질환을 유발시킨다. 서양에서는 연금술을 행하는 과정

에서 중요 금속으로 사용되고, 동양에서는 불로장생의 영약으로 인식되어 많은 중독과 폐해를 일으키는 중금속 중의 하나였다. 1577년 프랑스의 Jean Fernel이 최초의 수은 중독 증상을 기록하였으며¹⁴⁾, 1665년 유고슬라비아에서는 직업병의 법적 관리 물질이 된 최초의 유해 물질이다¹⁵⁾. 1700년대 이후 산업용, 공업용으로 전반적으로 사용되면서 산업발달에 따른 환경오염에 의하여 수은 중독에 관한 폐해가 지적되기에 이르렀고, 산업 폐수로 인한 오염된 어패류의 섭취로 사회적인 문제가 되었다¹⁶⁾. 이러한 수은 관련 화합물들의 생태계 순환을 통해 노출된 농산물 및 해산물의 섭취로 인한 수은 중독이 심각한 사회문제로 제기되자 수은의 사용을 금지하거나 제재하고 있는 실정이다¹⁷⁾. 한의학에서 수은은 경분(HgCl₂)의 경우는 신중하게 소량 내복하게 하였고, 수은(Hg)의 형태로는 不可入服하라 하였다. 둘 다 鎮心, 安神, 除風, 殺蟲, 解毒, 下死胎하는 효능이 있어 癩疥, 嘔吐, 難產, 面癩, 反胃, 白禿瘡, 死胎, 小兒驚熱, 惡瘡, 天行熱病, 痔瘻 등에 쓰는데 有毒하여 사용에 신중을 기하라 하였고 근래에는 내복으로 사용하지는 않고 연고제로 외용한다^{18,19)}.

수은 원소는 위장관으로의 흡수는 잘 안 되지만 증기 상태로 폐를 통하여 잘 흡수되며, 흡입한 수은의 80-100%가 폐포를 통하여 혈액 내로 흡수된다. 무기수은염은 위장관과 피부를 통하여 흡수된다. 수은염은 처음에는 신장에 축적되나, 간, 적혈구, 골수, 비장, 폐, 장관과 피부로 분배된다. 유기수은은 장관과 피부를 통하여 쉽게 흡수된다. 유기수은 역시 신장과 중추신경계에 축적된다. 배설은 모두 대변이나 소변을 통해 이루어진다¹⁾. 이런 배설과정에 착안하여 瀉熱通便⁶⁾하는 방풍통성산의 효능을 응용할 수 있었다.

수은 중독의 증상은 수은증기의 급격한 흡입을 통해 중추신경계로 들어가서 진전과 과흥분 상태를 나타내며, 급성 또는 만성 수은 중독은 비가역

적인 신경후유증을 남게 할 수 있다¹⁷⁾. 수은 중독의 초기 증상으로는 권태, 식욕결핍, 체중감소, 위장관 불편감 등이 있고, 노출이 증가하면 특징적인 기도진전이 나타나며, 수은 중독성 과민병인 수줍음, 기억상실, 불면증, 흥분상태, 심하면 섬망을 동반하게 된다. 만성 무기수은 중독은 신경계 증상을 진행시켜 과다 타액분비, 치아 흔들림, 치은염과 구각염을 일으킨다²⁾. 수은염을 섭취한 경우 처음 치료는 구토를 유발시키거나 위세정을 하여 위장으로 부터 수은을 제거하는데 polythiol 레진을 사용하여 결합시켜 배출시키거나, 소변이나 혈중 수은 농도가 올라갔을 때는 착화물로 디머카프를 및 경구용 착화물인 페니실라민과 succimer를 사용한다¹⁾.

환경부는 환경성 질환의 원인규명과 환경보건 관련 기초자료 확보를 위해 2005년 3월부터 보건복지부 질병관리본부의 조사와 연계하여 실시한 국민 혈중 중금속 농도조사 결과²⁰⁾를 발표하였다. 조사결과, 혈중 수은의 평균 수준은 4.34 $\mu\text{g}/\text{L}$ 로 나타났으며, 이를 외국의 수준과 비교하면, 독일 인체모니터링 위원회(CHBM)가 권고한 일반인 중 건강 피해 위험성이 없는 노출 수준(HBM 1)인 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 에 근접하는 수치이다. 외국의 국민건강영양조사 결과와 비교 시 미국 0.82 $\mu\text{g}/\text{L}$, 독일 0.58 $\mu\text{g}/\text{L}$ 보다 상당히 높은 수준이며 환경부는 수은의 체내축적 원인에 대한 종합분석을 실시하였다.

수은의 위해성에 관한 가장 큰 논란은 치과용 아말감에 관한 논쟁이다. 아말감에 대한 각종 연구 결과를 토대로 스웨덴에서는 세계보건기구(WHO)에서 1991년에 수행한 무기수은에 대한 조사에 대해서 재검토를 실시한 결과 아말감으로부터의 체내 수은 흡수가 어패류의 섭취로 인한 흡수로부터 얻어지는 양보다 4배 가까이 높다는 결론을 내렸다²¹⁾. 수은의 위해성에 관련된 두 번째 논란은 백신과 의약품에 함유된 치메로살(Thimerosal) 성분인데 치메로살은 에틸수은이 49.6-57.7% 함유된

곰팡이 발육 억제제이다. 비경구 또는 국소적으로 사용할 경우 심각한 부작용이 보고되었다. 과민반응, 알레르기, 결막염을 일으키며 심할 경우 사망에 이르게 된다. 치메로살은 국소 살균 소독제로도 사용된다. 0.1% 농도로 콘택트렌즈 용액에 보존제로 사용되며, 백신의 보존제, 여러 의약품들에 대한 보존제로 0.001%에서 0.02%까지 사용된다²²⁾. FDA는 1999년부터 백신 제조과정에서 치메로살을 제거하거나 줄이도록 권고하고 있으나²³⁾ 국내에서는 여전히 치메로살이 들어있는 백신제제가 사용되고 있다²⁴⁾. 수은은 피부를 통한 흡수로도 중독을 발생시킨다. 과거 매독의 치료에 Colloid 상의 금속수은연고, 건선 등의 피부병에 무기수은제가 사용되어 치료효과를 얻는 한편, 수은중독에 의한 중독증상을 병발한 예가 있다²⁵⁾.

이를 종합하여 볼 때 수은은 어패류의 섭취 등 위장관을 통한 흡수뿐만 아니라 깨진 형광등이나 수은 전지 같은 수은 함유 제품, 각종 백신과 의약품의 보존제, 연고, 화장품 등을 통하여 피부와 피하를 통한 흡수가 이루어질 수 있음을 추정할 수 있었으며 본 저자는 이로 인한 중독 증상과 손상, 치료에 대한 연구가 이루어져야 한다고 사료되어 본 실험에 임하게 되었다.

한의학에서 水銀은 性寒, 味辛, 有毒³⁾하며 安心 鎮神하고 除風한다⁴⁾. 許浚의 《東醫寶鑑》⁴⁾에 약재로 사용 시 外用으로 소량을 도포하여 疥癬, 癩癧, 癩瘍, 白禿 등 惡瘡를 치료하는데 사용하였으나, 內服 때에는 墮胎하고 下死胎하므로 주의를 요하였다. 일명 汞이라고 하고 朱砂에서 추출하며 금, 은, 구리, 주석의 독을 없애는데 사용하였다. 水銀이 귀에 들어가면 腦를 모두 侵蝕하고 살에 들어가면 온갖 뼈마디가 오그라든다고 하였으며 水銀을 지나치게 먹으면 다리가 마르고 힘이 없어져 쓰러지는 痿躄瘓이 발생한다고 하여 현대 수은 중독 증상²⁾의 일부에 대하여 기록하고 있다. 수은 중독의 자가 치료법으로는 술을 마시거나 돼지고

기를 먹거나 무쇠를 담가서 우린 물을 마시면 풀린다고 하였다⁵⁾. 과거에 수은을 사용할 때에는 의용으로 피부의 이를 없애는 데 사용하거나 혈거나 끓는 각종 피부질환에 이용한 것으로 보인다³⁾. 따라서 피부에 수은을 도포하는 과정에서瘡瘍으로 인해 노출된 혈관이나 피부를 통해서 흡수되어 수은 중독에 이행되었을 수도 있었을 것으로 추측된다.

지금까지 수은 중독의 치료에 있어서 처방으로는 수은제제의 남용으로 인하여 발생한 중독을 치료하는 仙遺糧湯과 해독제로 알려져 온 紫金錠 및 甘豆湯의 수은중독에 대한 완화 내지 중화작용을 관찰하기 위하여 HgCl₂ 로 중독시킨 家兔에 상기 약물들을 각각 투여하면서 혈청중의 각종성분함량, 전해질 및 활성도에 미치는 영향을 조사한 연구²⁶⁾가 있었으며, 加味防風通聖散에 대해서도 마우스의 피부 손상에 미치는 영향을 조사한 연구²⁷⁾가 있었다. 단방으로는 土茯苓 전탕액을 농도별로 수은과 함께 생쥐에게 섭취시킨 후 간장과 신장의 수은 농도를 측정 한 연구⁷⁾가 있었으며, 수은을 구강으로 투여하여 중독된 생쥐에게 蒲公英 열수추출물을 섭취시켜 혈청과 간조직에 대한 손상 회복을 관찰한 연구²⁸⁾가 있었으나 전체적인 유의성을 나타내지는 못했다. 이상의 기존 연구를 살펴보면 加味防風通聖散을 수은 중독의 치료에 사용하기도 하였으나 간과 신장의 조직 변화에 대하여 살펴보는 않았으며 간이신장의 손상 회복을 살펴본 연구에서는 加味防風通聖散을 치료제로 이용하지 않았다.

防風通聖散은 劉의 《宣明方論》²⁹⁾에 첫 기록을 보였으며, 일체의 風熱과 飢飽勞役의 內外諸邪에 손상되어 氣血이 鬱하고 表裏와 三焦가 모두 實한 증에 消風解表, 清熱, 攻下의 효능으로 清熱解表하고 攻下清熱하는 방법으로 치료하기 위해 입방되었다⁶⁾.

구성 약물을 살펴보면 滑石, 甘草, 石膏, 黃芩,

桔梗, 防風, 川芎, 當歸, 赤芍藥, 大黃, 麻黃, 薄荷, 連翹, 芒硝, 荊芥, 白朮, 梔子, 生薑으로 구성되어 있다. 이들 약물들에 대해 살펴보면 防風, 荊芥, 麻黃, 薄荷는 輕浮升散하므로 風熱이 上部에서 散하게 하는데 邪客肌表하여 憎寒壯熱하면 防風, 麻黃으로 消風解表하고, 風熱上衝하여 頭目不清하고 目赤睛痛하면 荊芥, 薄荷로 消散風熱한다. 그리고 大黃, 芒硝는 破結通遊하며 梔子, 滑石은 降火利水하여 風熱이 大小便을 따라 下部로 排泄되게 하는데 네 가지 약물 共히 風熱이 壅滯腸中하여 大便秘結하고 小便赤澀한데 瀉熱通便하고 清熱利濕한다. 川芎, 當歸, 赤芍藥으로는 和血하는데, 風熱이 侵及血分하여 瘡瘍腫毒하고 丹斑隱疹한데 和血祛風한다. 따라서 본 연구의 처방에서는 血分으로 들어온 水銀毒으로부터 혈관과 혈구를 보호하는데 중점을 두어 세 가지 약재를 원처방의 용량에서 1錢으로 증량하였다. 또한 桔梗, 石膏는 清肺瀉火하고 특히 桔梗은 肺經에 入하여 宣肺利咽, 祛痰排膿한다. 黃芩은 中上焦의 火를 다스리고 連翹는 清熱解毒, 氣聚血凝을 散解하며 甘草는 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥한다³⁰⁻³²⁾.

이상의 약물구성과 효능을 살펴보면 風熱의 擁盛으로 인한 諸症에 瀉熱通便하는 처방인 防風通聖散에 輕粉毒을 풀어주며 瘡癰에 사용하는 土茯苓, 金銀花와 補氣하는 黃芪, 行氣하는 香附子를 가미하여 구성한 加味防風通聖散이 피부를 통하여 흡수된 수은 중독 증상에 효과가 있을 것이라 사료되어 실험에 임하게 되었다.

염화수은은 1 mg/kg을 마우스의 피하에 주입하였는데 신³³⁾의 연구 등에서 5 mg/kg을 주입한 것과 비교하여 비교적 저용량을 노출시켰다. 식품의약품안전청 국립독성연구원 독성연구부에 따르면³⁴⁾ 염화수은 투여에 의한 독성발현 반응성을 비교한 결과, 투여용량과 투여기간에 비례하여 조직의 손상이 나타난다. 염화 수은의 경구 투여시에도 가미방풍통성산의 독성 반응 억제 효과가 있는지, 그리고

농도에 따른 치료 효과의 차이가 있는지에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 사료된다.

염화수은에 노출된 대조군의 간에서는 중심정맥(central vein) 주변부에서 액포화(vacuolation)가 증가된 세포질이 다수 발견되었고, 퇴화(degeneration)되거나 괴사(necrosis) 상태인 간세포의 출현 증가와 간세포(hepatic plate)의 유실이 관찰되었다. 이런 간 조직 손상은 간삼조체(portal triad) 주변부까지 확대된 양상으로 관찰되었다. 이에 반해 실험군의 중심정맥 주변부에서 액포화된 세포질은 감소하였고, 간세포의 퇴화와 괴사는 대조군에 비해 그 출현이 줄어들었다.

염화수은에 노출된 생쥐 간에서는 과도한 지질 과산화가 관찰되었는데, 염화수은은 세포 내 mitochondria의 기능을 저해하고, 세포 대사과정을 억제하며, 세포막 인지질 분해로 인한 지질 과산화의 결과로 예상된다. 간 조직 세포의 손상은 생체막 구성 성분인 polyunsaturated fatty의 과산화 한 가지 요인으로 지적되고 있는데, 지질의 과산화는 생체 외적인 요인이나 내적인 요인(oxygen free radical generating system)에 의해서 생성된 oxygen free radical (O_2 , $O_2\cdot OH$, H_2O_2)들 때문에 야기되며, 세포의 성분이나 기질, 특히 불포화지방산이 다량 존재하는 생체막에 작용하여 연쇄적인 과산화적 손상을 입힌다³⁵). 지질 과산화는 세포막의 투과성을 향진시킬 뿐만 아니라 전반적인 세포독성을 일으켜 노화현상과 이에 따른 여러 가지 질환의 병리 현상을 초래하는 것으로 알려져 있으며 해독기구의 작용도 무독화 된다고 보고되었다³⁶). 간 세포질 내 lipid blot의 분포는 정상군에 비해 대조군이 급격하게 증가한 반면 실험군에서는 대조군에 비해 낮은 증가를 보였다. 실험군은 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 이러한 lipid blot의 분포변화는 중심정맥 주변에서 잘 관찰되었다.

또한 약물과 환경성 carcinogen 등의 다양한

xenobiotics의 biotransformation에 관여하는 cytochrome P450은 다양한 isozyme이 존재하며, 특히 cytochrome P450 (CYP) 1A1은 염화수은에 의해 유도되는데, 열 충격 단백질(heat shock protein, HSP)90과 결합된 AhR(aryl hydrocarbon receptor)에 HSP90과 치환 결합하여 핵 내로 전이한 다음 ARnt(AR nuclear translocator)와 hetero dimer를 형성한 후 XRE(Xenobiotic response element)에 결합하여 CYP1A1의 전사를 촉진한다³⁷). 그 결과 본 실험에서 CYP1A1 양성반응이 염화수은에 노출된 생쥐의 간세포에서 증가된 양상으로 관찰되었다. 영상분석 결과 대조군은 정상군에 비해 15배 이상 증가하였는데, 실험군은 대조군에 비해 유의성 있는 감소 경향을 보였다.

신장은 염화수은의 체류기간이 다른 장기에 비해 길기 때문에 염화수은 영향의 주요 대상기관으로 주목되고 있다³⁸). 본 실험에서도 대조군의 근위 곱슬세관의 붓털모양 가장자리의 손상이 두드러지게 관찰되었다. 일부 콩팥소체 요세관극(urinary pole) 주변 보우만주머니 외벽의 단층편평상피세포가 비후되어 단층입방상피세포 형태로 관찰되었다. 이에 반해 실험군의 근위 곱슬세관의 손상과 보우만주머니의 손상은 적게 나타났다.

근위 곱슬세관의 붓털모양 가장자리에 관찰되는 적아구 활성화도에 대한 PAS(periodic acid-Schiff) 양성반응이 정상군에 비해 대조군에서는 감소한 반면, 실험군에서는 대조군에 비해 증가된 양상으로 관찰되었다.

또한 염화수은은 사구체의 손상에도 영향을 끼칠 것으로 예상되었는데, HSP70 양성반응이 증가한 것으로 나타났다. 여러 가지 스트레스로부터 항상성을 유지하기 위해 스트레스 단백질의 합성 증가를 유도하는 열 충격 단백질 (HSP)군이 대량 합성된다³⁹). 특히 HSP 70은 72,000 mol의 질량을 가지고 있으며 HSP72, 73, GRP(glucose regulated protein)75, 78 등이 이 단백질 군에 속하며 대부

분의 생물체에서 발견되는 스트레스 저항 단백질으로써 허혈, 열, 저혈당, 바이러스 감염, 경련, 중금속 오염 등 다양한 형태의 스트레스 상황에서 농도가 증가하는 것으로 세포내 변성된 단백질은 열성단백질 인자를 자극하여 HSP70유전자의 전사를 유도하여 HSP70을 생성한다⁴⁰⁻⁴²⁾. HSP70은 원핵과 진핵세포의 세포질에서 생성되어 핵과 세포질에서 모두 분포하며 다양한 스트레스 상황에서는 그 위치가 세포질에서 핵, 특히 핵소체에 축적되며 회복기에 들어서면 다시 세포질로 돌아간다⁴³⁾. 이와 같이 HSP70은 세포상해에 저항이 있는 지역에서 주로 발견되어, HSP70의 방어기전으로써의 역할을 하는 것으로 사료된다. HSP70의 양성반응은 손상된 사구체의 문어발 세포의 핵 주변 세포질에서 강한 양성반응을 보였으며, 정상군에 비해 대조군에서 증가된 양상으로 관찰되었다. 영상분석 결과 대조군은 정상군에 비해 과도하게 증가하였는데, 실험군은 대조군에 비해 유의성 있는 감소 경향을 보였다.

이상의 결과로 볼 때 중금속인 수은이 폐나 소화기가 아닌 피부를 통하여 침윤되어 중독을 일으킨 경우에도 피부, 간 및 신장 조직에 전반적이고 광범위한 손상을 일으킬 수 있음을 알 수 있었으며, 가미방풍통성산은 혈구에 수은이 결합하여 각 조직을 침윤하고 괴사시키는 것을 억제하며 혈액과 조직 세포 내의 수은을 해독하고 배설시키는 효과가 있음을 알 수 있다. 이러한 가미방풍통성산의 효과는 오염된 환경으로 인하여 체내 수은 함유량이 높은 일부 현대인들의 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 이 실험에서는 수은의 급성 중독 증상을 발현시켜 1주 만에 실험을 마쳤으나 추후 소량의 만성적인 수은 중독 증상에 대한 연구가 추가적으로 이루어지기를 기대하며, 본 연구를 바탕으로 하여 수은 외의 각종 중금속 및 오염 물질의 해독에 대한 연구로 확산되어 만성적인 중금속 중독의 치료에 많은 진전이 있기를 기

대한다.

V. 결 론

가미방풍통성산 투여가 수은의 피부 침윤성 중독 증상을 발생시킨 생쥐에 대한 피부 및 장기 손상의 치료에 미치는 영향을 조사하기 위해 행해진 본 연구는, BALB/c계 생쥐의 복부에 인위적으로 염화수은을 피하 주입한 후 가미방풍통성산 추출물을 구강투여 한 다음 간 및 신장에서 일어나는 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 수은에 중독된 간의 손상으로 인한 조직의 퇴화, 괴사, 간세포관 소실이 완화되었고, 지질 과산화화 감소하였으며, CYP1A1 발현이 감소하였다.
2. 수은 중독이 유발된 생쥐의 신장 조직에서 근위 곱슬세관 퇴화, 보우만주머니 비대가 완화되었고, 근위 곱슬세관의 붓털모양 가장자리의 PAS 양성반응이 증가하였으며, 사구체 내 HSP70 양성반응이 감소하였다.

참고 문헌

1. 해리슨 번역 편찬위원회. 해리슨내과학. 서울: 도서출판 정담. 2007:2660-1.
2. 윤임중. 중금속 중독증 수은중독 편. 노동. 1978;57:57-9, 69-71.
3. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 서울:영림사. 1998(訂正 4판발행):121-3, 127-8, 131-2, 136-7, 142-4, 160-1, 167-8, 178-9, 195-6, 199-201, 242-4, 244-5, 316-7, 409-10, 460-1, 536-7, 540-1, 578-80, 710-1.
4. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:남산당. 2002:207, 218, 233, 238, 239, 285, 286, 308, 352, 359,

- 362, 364, 367, 374, 375, 416, 420, 425, 432, 527, 536, 556, 558, 569, 653.
5. 육창수, 정남일, 임효중. 현대방약합편. 서울: 계축문화사. 1999:176-7, 607-8.
 6. 한의과대학 방제학교수 공편저. 방제학. 서울: 영림사. 1999(개정증보판):263-64.
 7. 최광돈, 이기남. 토복령을 이용한 Rats의 수은 중독 해독에 관한 연구. 원광한의학회지. 1997;7(1):147-54.
 8. 백승화, 유일수, 이종섭, 한두석. 한국산 생약 으로부터 해독물질의 개발(제2보) 흰쥐 간장내 의 카드뮴 축적에 미치는 금은화 추출물의 영향. 한국독성학회. 1995;11(2):223-7.
 9. 민진아, 이수천. 운동과 황기 추출물 투여가 혈중 에너지기질 및 항산화 방어기전에 미치는 영향. 한국체육학회지 자연과학편. 2007;46(4):525-33.
 10. 이영선, 한옥경, 신상우, 박중현. 향부자. 열수 추출물의 Nitric oxid 생성 및 iNOS 유전자 발현에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2003;17(3): 771-6.
 11. 백일성, 박치상, 박창국. 천궁의 허혈성 뇌손상 억제작용 및 신경세포 보호효과. 대한본초학회지. 2003;18(4):37-46.
 12. 원무호, 황인구, 이현용, 박영식. 당귀의 뇌허혈에 의한 신경세포사 억제 및 그 기전. 한국산학연 논문집. 2004;4(1):205-16.
 13. 홍유성, 황우준. 적작약 약침이 백서의 항혈전 효과에 미치는 영향. 한국전통의학지. 1998;8(2):213-26.
 14. Fassett DW. Metal in the environment. NewYork:Academic press. 1980:81.
 15. WHO. Environmental Health Criteria. Geneva. 1976.
 16. Bakir F, Damluji S, Amin-zaki L, Murtadha M, Khalidi A, Al-Rawis N, Tikriti S, Dhahir H, Clarkson T, Smith J, Doherty R. Methyl-mercury poisoning in Iraq. An interuniversity report. Science. 1973;181:230-40.
 17. Friberg L. Studies on the accumulation, metabolism and excretion of inorganic mercury Hg-203 after prolonged subcutaneous administration to rats. Acta Pharmacol 12. 1956:411-27.
 18. 서울대학교 천연물과학연구소 문헌정보학연구소, 장백식. 동양의약과학대전 I. 학술편수관. 2003:26, 259.
 19. 황도연. 신증방약합편. 영림사. 2002:635.
 20. 환경부 환경정책실 환경보전정책과. 국민 혈중 중금속 농도 조사결과. 2006:4-8.
 21. P. Herrström, Benkt Högstedt, Nicolas Holthuis, Andrejs Schütz, Lennart Rastam, Allergic disease, immunoglobulins, exposure to mercury and dental amalgam in Swedish adolescents. International Archives of Occupational and Environmental Health. 1997;69(5):339-42.
 22. Anonymous. Topical antiseptics and antibiotics. Med Lett Drug. 1977;2:120-1.
 23. Ball LK, Ball R, Pratt RD. An assessment of thimerosal use in childhood vaccines. Pediatrics. 2001;5:1-16.
 24. 국립환경과학원 환경역학과. 백신별 수은 함량과 국가 필수 예방접종표를 바탕으로 일생동안 축적될 수 있는 수은의 양 보고. 2007.
 25. 손동현. 수은의 과하고 수은중독의 병태 증상 치료. 첨단환경기술. 2002;9:108-15.
 26. 신정식, 채병윤. 선유량탕·자금정·감두탕이 HgCl₂ 중독 가토의 신 및 간손상에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1988;11(1):77-97.
 27. 양준형, 홍승욱. 가미방풍통선산이 수은 중독

- 된 마우스의 피부 손상에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지. 2010;23(1):1-7.
28. 정민주, 윤중식, 허진, 노영복, 최영복, 김종세, 이현화. 흰 민들레 (*Taraxacum coreanum*) 추출물이 급성 수은 중독된 생쥐의 간에 미치는 효과. 한국현미경학회지. 2008;38(1):1-10.
29. 劉完素. 宣明方論. 서울:여강출판사. 1988;卷十二:76.
30. 汪詡庵. 醫方集解. 서울:행림출판사. 1959:59.
31. 약품식물학연구회. 신약품식물학. 서울:학창사. 1997:282-3, 355-6, 371-2, 379-80.
32. 韓國生藥學教授協議會 編著. 本草學. 서울:아카데미서적. 2004:207-9, 439-41, 735-40.
33. 신인철, 고현철. Biphenyldimethyl dicarboxylate (DDB) 가 염화 제 2 수은 - 유발 간독성 흰 쥐에서의 지질 과산화와 Oxygen Free Radical 제거효소 활성도에 미치는 영향. 응용약물학회지. 1995;3(3):223-8.
34. 김형섭, 김용순, 임채형, 광승준, 조영래, 강미선, 오재호, 조완섭, 한범석, 김승희, 강태석, 염영나. 염화수은의 신장독성 지표 반응성 비교연구. Journal of Alternatives to Animal Experiments. 2007;1(2):31-40.
35. Toppel AL. Lipid peroxidation damage to cell components. Fed. Rroc. 1973;32:1870-4.
36. Llesuy SF, Arnaiz SL. Hepatotoxicity of Mitoxantrone and doxorubicin. Toxicology. 63:187-98.
37. Sutter TR, Greenlee VF. Classification of membrane of the Ah gene battery. Chemosphere. 1992;25:223-6.
38. Emanuelli T, Rocha JB, Pereira ME, Porciuncula LO, Morsch VM, Martins AF, Souza DO. Effect of mercuric chloride intoxication and dimercaprol treatment on delta-aminolevulinatase dehydratase from brain, liver and kidney of adult mice. Pharmacol Toxicol. 1996;79(3):136-43.
39. De Maio A. The heat-shock response. New Horiz. 1995;2:198-207.
40. Gonzalez MF, Shiraishi K, Hisanaga K, Sagar SM, Mandabach M, Sharp FR. Heat shock protein as markers of neuronal injury. Mol. Brain Res. 1989;6:93-100.
41. Vass K, Beger ML, Nowak TS, Jr Lassmann H. Induction of stress protein HSP70 in nerve cell after status epilepticus in the rat. Neurosci Lett. 1989;100:259-64.
42. Bergstedt K, Hu BR, Weiloch T. Initiation of protein synthesis and heat shock protein-72 expression in the rat brain following severe insulin induced hypoglycemia. Acta Neuropathol. 1989;86:259-64.
43. Valazquez JM, Lindquist SH. Hsp 70 - Nuclear concentration during enviromental stress and cytoplasmic stroage during recovery. Cell. 1984;36:62-5.