

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

베타-글루칸 및 약제학적으로 허용되는 담체를 유효성분으로 포함하는 당뇨병성 신병증, 급성 신부전증 및 아급성 신부전증으로 구성된 군으로부터 선택되는 신장질환 치료용 약학적 조성물.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, 상기 베타-글루칸의 치료학적 유효용량은 50 내지 80 mg/kg/day인 것을 특징으로 하는 당뇨병성 신병증, 급성 신부전증 및 아급성 신부전증으로 구성된 군으로부터 선택되는 신장질환 치료용 약학적 조성물.

청구항 3.

제 2 항에 있어서, 상기 베타-글루칸의 치료학적 유효용량은 62.5 mg/kg/day인 것을 특징으로 하는 당뇨병성 신병증, 급성 신부전증 및 아급성 신부전증으로 구성된 군으로부터 선택되는 신장질환 치료용 약학적 조성물.

청구항 4.

삭제

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 신장 질환 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

만성 신부전(Chronic renal failure, CRF)은 점진적이고 진행성으로 신장 기능이 소실되는 것이다. 갑작스럽게 신장 기능이 소실되는 급성 신부전과는 달리, 만성 신부전은 비교적 점진적으로 신장 기능이 소실된다. 만성 신부전은 점진적인 신장 기능의 소실로 인한 모든 질환으로부터 유래되며, 미약한 기능장애로부터 심각한 신장 부전까지 범위가 넓다. 병의 진행이 지속되면 말기 신장질환(end-stage renal disease, ESRD)이 유발된다. 만성 신부전증의 초기에는 자각 증상이 없으며, 병의 진행이 매우 느리기 때문에, 신장의 기능이 정상에 비해 1/10까지 떨어질 때까지도 증상이 나타나지 않는다. CRF와 ESRD는 미국인 1000명중 2명 이상에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 당뇨병 및 고혈압이 만성 신부전과 ESRD의 주요한 원인으로 알려져 있다(Jacobsen, 2005; Nordfors et al., 2005).

급성 신부전(Acute renal failure, ARF)은 체내에 질소 부산물(예, BUN 및 크레아티닌)을 정상 상태로 유지시키게 하기에 충분한 신장의 기능이 급작스럽게 변화되는 질환으로 정의된다.

아급성 신부전(Subacute renal failure, SRF)은 만성 신부전과 급성 신부전 사이를 의미하며, 아급성 신부전은 급성 신부전의 특징뿐만 아니라 만성 신부전의 특징도 함께 가진다(Daeschner and Singer, 1973; Mills et al., 1981; Bal et al., 2000).

약물에 대한 노출, 이온화 방사선 및 환경의 프로-산화제 오염물이 자유 라디칼 형성을 유발하며, 자유 라디칼에 의해 시작되는 지질 과산화는 세포막에 매우 유독한 것으로 알려져 있으며, 여러 가지 질환과 관련이 있다. 산업 용매인 사염화탄소(CCl₄)는 간독성물질(hepatotoxin)로 잘 알려져 있다(Abraham et al., 1999; Guven et al., 2003; Szymonik-Lesiuk et al., 2003). 간이 사염화탄소의 대표적인 표적 기관이고 신장, 심장, 폐, 고환, 뇌 및 혈액 등의 다른 기관에서도 자유 라디칼을 형성하는 것이 밝혀져 있다(Ahmad et al., 1987; Ohta et al., 1997; Ozturk et al., 2003). 또한, 사염화탄소에 의해 급성 신부전 및 만성 신부전을 유발한다고 보고 되어 있다(Churchill et al., 1983; Perez et al., 1987). 사염화탄소-유발되는 신장 기능약화의 병리학적 기전은 완벽히 알려져 있지 않지만, 간 또는 신장의 직접적인 손상으로 인해 이들 장기의 기능이 현저히 저하될 가능성도 제기되었다(Ogawa et al., 1992; Rincon et al., 1999). 또한 사염화탄소는 여러 가지 조건에서 산화 스트레스를 유발하는 것으로 알려져 있어(Purucker et al., 1995; Abraham et al., 1999). 신장 독성 물질이며, 사염화탄소-유발된 신병증 동물 모델은 만성 신부전증 및/또는 급성 신부전증과 같은 신장 질환에 시험 물질이 효과가 있는지를 확인하는데 이용되고 있다(Dogukan et al., 2003, Tirkey et al., 2005).

당뇨병(diabetes mellitus)은 고혈당증과 당뇨로 특징되는 대사 질환의 비정형성 질환군 중 하나로서, 케토산증, 미네랄 및 질소의 부족 및 체중의 감소와 같은 합병증이 유발될 수도 있으며, 이러한 증상은 적절한 치료가 행해지지 않을 경우 혼수상태 및 사망을 유발하기도 한다. 일반적으로 당뇨병은 다음과 같이 두 종류로 나뉘어 진다: 인슐린 의존성 당뇨병(제1형: 소아-발병) 및 비-인슐린 의존성 당뇨병(제2형: 성인-발병). 제1형 당뇨병 환자는 체내 인슐린의 양이 절대적으로 결핍되어 있으나, 제2형 당뇨병 환자는 절식 상태에서 정상 이하 또는 정상 이상의 혈장 인슐린 농도를 갖고 있어, 포도당 투여에 대한 인슐린 반응이 약화될 수 있다. 일반적으로, 당뇨병 유형과는 상관없이 하기의 증상들이 당뇨병 환자에서 관찰된다: 고혈당증, 당뇨, 이뇨, 감소된 탄수화물 이용, 증가된 지방 및 단백질 이화작용, 체중 감소 및 거식증, 감염에 대한 저항의 감소, 양쪽성 백내장, 혼수상태 및 사망.

현재, 우수한 혈당 조절 효과가 있음에도 불구하고, 일부 환자에서는 당뇨병성 신병증, 고지혈증 및 간 손상 등의 합병증이 계속 진행되고 있기 때문에 추가적인 치료법이 필요하다. 따라서, 당뇨병성 신병증, 당뇨병성 간병증 및 당뇨병성 고지혈증을 감소시킬 수 있는 새로운 제제의 개발이 필요하다. 알록산 및 스트렙토조토신(STZ)은 B 세포, 인슐린-생산 췌장 내 분비 세포를 선택적으로 파괴시키는 당뇨병 유발 약물이다. 이러한 화학적 방법의 주요한 단점은 이러한 제제들 모두가 간 및 신장 손상 및 골수 억제를 포함하는 부작용을 일으킨다는 것이다. STZ는 알록산보다는 독성이 낮으며 인슐린종으로 일컫어지는 B 세포 종양을 치료하기 위해 임상적으로 사용되고 있다. 따라서, STZ-유도된 당뇨병 SD 쥐 모델은 당뇨병에 의한 합병증인 당뇨병성 신병증에 대한 시험 시료의 치료 효과를 확인하기 위한 동물 모델로서 사용되고 있다.

캡토프릴(captopril, 상품명으로는 Capoten)은 안지오텐신 전환 효소(ACE, angiotensin converting enzyme) 억제제이다. ACE는 체내에서 안지오텐신 II를 형성하는 중요한 효소로서, 안지오텐신 II는 체내에서 동맥수축을 유발하며, 이로 인해 혈압을 높인다. 캡토프릴과 같은 ACE 억제제는 안지오텐신 II의 형성을 억제시킴으로써 혈압을 낮추며, 따라서 동맥을 이완시킨다. 동맥의 이완은 혈압을 낮춰줄 뿐만 아니라 심장의 상실된 펌프 기능을 향상시키고 심장기능이 상실된 환자에서 심장 박출량을 향상시킨다. 또한, 캡토프릴이 당뇨병성 신병증을 가진 환자에게 유리한 작용을 할 수 있다는 사실은 일반적으로 받아들여지고 있으며, 당뇨병성 신병증 모델에 대한 기준 약물로서 선택되고 있다. 또한, 당뇨병성 신병증에서의 캡토프릴의 효과는 이미 공지되어 있다.

실리마린(Silymarin, 상품명으로는 Milk thistle)은 밀크 엉겅퀴(milk thistle)에 존재하는 플라보노이드이다. 밀크 엉겅퀴는 길거리를 포함한 다양한 곳에서 자생한다. 실리마린은 독성물질로부터 간(liver) 세포(및 체내 및 뇌에 있는 다른 세포)를 보호하는 강력한 항산화제이다. 실리마린은 간 세포 단백질의 합성을 촉진시키고 글루타치온의 산화를 감소시킨다. 밀크 엉겅퀴 또는 실리마린은 간과 연관된 수많은 질병, 특히 이 질병의 초기 단계에서 잠재적으로 유익한 작용을 한다. 실리마린은 간경화증 말기에는 작용하지 않는 경향이 있다. 초기의 연구에서 실리마린이 항암 작용도 할 수 있다고 알려져 있다. 또한, 실리마린이 당뇨병성 간병증을 가진 환자에서 유의한 작용을 할 수 있다는 사실은 널리 알려져 있으며, 이로 인해 당뇨병성 간병증 모델에 대한 기준 약물로서 선택되고 있다. 또한, 당뇨병성 간병증에 대한 실리마린의 효과는 이미 공지되어 있다.

하지만, 이러한 치료제들은 치료 효과가 낮을 뿐만 아니라 세포 독성의 문제점을 유발하므로, 이를 대체할 수 있는 새로운 신장질환 치료제의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

이에, 본 발명자들은 종래 신장 질환 치료제의 낮은 치료 효과 및 세포 독성의 문제점을 극복하기 위해 연구를 거듭한 결과, 베타-글루칸이 당뇨병성 신병증, 급성 신부전증 및 아급성 신부전증에 대해 기존의 치료제에 비해 높은 치료 효과를 보일 뿐만 아니라 세포 독성을 나타내지 않음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

따라서, 본 발명의 목적은 베타-글루칸을 유효성분으로 포함하는 신장질환 치료용 약학적 조성물을 제공하는데 있다.

발명의 구성

상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 베타-글루칸 및 약제학적으로 허용되는 담체를 유효성분으로 포함하는 신장질환 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

본 발명의 신장질환 치료용 약학적 조성물은 치료학적 유효성분으로서 베타-글루칸을 포함한다.

글루칸의 일종인 베타-글루칸은 제빵에서 사용되는 효모, 귀리 및 보리의 세포벽 및 메이테이크(maitake)와 같은 수많은 약용 버섯으로부터 분리된 섬유질-타입의 복합 당(폴리사카라이드)이다. 베타-글루칸의 일차적인 용도 두가지는 면역 시스템을 향상시키는 것과 혈중 콜레스테롤 레벨을 낮추는 것이다. 시험관 내 및 동물에서의 수많은 실험적 연구에서 베타-글루칸이 백혈구 세포를 활성화시키는 것으로 확인되었다. 사실, 1960년 이래로 베타-글루칸에 대한 수백개의 연구 논문이 발표되었다. 이러한 연구에서는 특히 베타-1,3-글루칸이 대식세포 및 호중구성 백혈구로 알려진 백혈구 세포를 활성화시키는데 매우 효과적임을 알려주고 있다. 이러한 세포들은 외부 침입에 대해 일차적으로 방어하는 면역 시스템의 한 방법을 제공한다. 베타-글루칸으로 활성화된 대식세포 또는 호중구성 백혈구는 중앙 세포를 인식하여 죽이며, 산화적 손상으로부터 유발되는 세포 찌꺼기를 제거하고, 손상된 조직의 회복 속도를 가속화하여 면역 시스템의 다른 부분을 추가적으로 활성화시킨다. 베타-글루칸은 귀리 시리얼의 콜레스테롤-강하 작용에 관여하는 중요한 인자이다. 다른 수용성-섬유질과 함께 베타-글루칸은 콜레스테롤과 결합하고, 이로 인해 대변에 있는 이러한 분자들을 제거하는 것은 혈중 콜레스테롤을 감소시키는데 매우 유용하다. 귀리 또는 효모로부터 유도된 베타-글루칸을 이용한 수많은 이중 맹검법에 의하면, 사용후 최소한 4주 뒤에 유의적인 감소가 나타나며, 전체 콜레스테롤에 대해 약 10% 감소 및 LDL에 대해 8%의 감소 및 HDL 콜레스테롤이 0 내지 16% 증가하는 결과를 나타내는 것으로 알려져 있다.

본 발명의 조성물은 베타-글루칸을 유효성분으로 포함함으로써, 당뇨병성 신병증 유발 동물 모델, 급성 신부전증 모델 및 아급성 신부전증 모델에서 대조군에 비해 현저히 증가된 체중을 나타내고, 혈중 BUN (blood urea nitrogen) 함량을 유의적으로 감소시키며, 신장 중량의 감소를 최소화시키고, 신병증에서 나타나는 신장 간질성 위축, 세뇨관 위축, 세포괴사 및 섬유화의 소견을 현저히 감소시키므로 신장질환에 대해 유효한 치료효과를 나타낸다.

따라서, 본 발명의 조성물의 유효성분인 베타-글루칸은 다양한 신장 질환에 대해 우수한 치료효과를 가진다. 상기 신장질환으로는 당뇨병성 신병증(Diabetic nephropathy), 만성 신부전증(Chronic Renal Failure), 급성 신부전증(Acute Renal Failure), 아급성 신부전증(Subacute Renal Failure) 또는 신장염 등이 있다. 본 발명의 바람직한 실시예에 따르면, 본 발명의 베타-글루칸은 당뇨병성 신병증, 급성 신부전증 및 아급성 신부전증에 대해 우수한 치료효과를 갖는다.

본 발명의 베타-글루칸은 임상투여시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품제제의 형태로 사용될 수 있다.

즉, 본 발명의 베타-글루칸은 실제 임상투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 베타-글루칸의 화합물에 적어도 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하게 된다. 상기 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜

(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기재로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입 등으로 투여할 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 베타-글루칸의 1일 투여량은 10 내지 80 mg/kg 이고, 바람직하기로는 30 내지 70 mg/kg, 가장 바람직하기로는 31.25 mg/kg이며, 하루 1 내지 3회 투여될 수 있다.

이하, 실시예에 의해 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

1. 실험물질 및 실험방법

(1) 실험동물 및 사육

(i) 당뇨병성 신병증 모델

100 마리의 암컷 SD계 랫트(6주령, SLC, JAPAN)를 8일 동안 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 상기 실험동물들은 20-25℃의 온도와 30-35%의 습도로 유지되는 사육장에서 폴리카보네이트 케이지에 세 마리씩 넣어 키웠다. 명암 주기를 12 시간 간격으로 유지하였고 사료(Samyang, Korea) 및 물은 자유롭게 공급하였다. 본 발명에서 사용한 모든 실험동물은 워싱턴 대학의 연구실에서 발행한 실험동물의 사육 및 사용에 관한 지침서(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals by Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Science, National Research Council, USA on 1996, Washington D.C)를 준수하였다.

당뇨병성 합병증인 신병증을 유발하기 위해, 88마리의 랫트에 스트렙토조토신(STZ)을 투여하였으며, 나머지 12마리의 랫트를 정상 매체 대조군(sham)으로 사용하였다. STZ를 투여하고 난 25일째에 시료를 처리하였으며, 그후 각 샘플을 하루에 한번씩 4주 동안 투여하였다. STZ 투여 21일 후의 체중, 혈중 BUN 및 크레아틴 레벨을 기준으로 실험동물을 선정하여, 5 또는 6마리로 구성된 9 그룹으로 나누어 본 실험에 사용하였다.

(ii) 급성 신부전 모델 및 아급성 신부전 모델

56마리의 암컷 SD계 랫트(6주령, Samkako Bio, KOREA)를 13일 동안 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물의 사육은 상기 당뇨병성 합병증인 신병증 모델의 실험동물과 동일하게 사육하였다. 급성 신부전 모델의 경우, 48마리의 랫트에 급성 신부전을 유발하는 약물인 시스플라틴(CDDP)을 투여하였으며, 나머지 8마리의 랫트를 정상 매체 대조군(sham)으로 사용하였다. 아급성 신부전 모델의 경우, 48마리의 랫트에 아급성 신부전을 유발하는 약물인 사염화탄소(CCl₄)를 투여하였으며, 나머지 8마리의 랫트를 정상 매체 대조군(sham)으로 사용하였다.

(2) 시험 시료의 투여

(i) 당뇨병성 신병증 모델

2.5% 베타-글루칸(β -베타-글루칸, Glucan Corp. Ltd., Korea)은 갈색-점성이 있으나 균질한 용액이다. 베타-글루칸은 빛을 차단하고 변질을 막을 수 있도록 4℃ 냉장고에서 보관하였다. 4주 동안 스트렙토조토신(Sigma, USA)(이하 "STZ"라 약칭함)을 투여하고 난 25일 후에 베타-글루칸을 증류수로 희석하여 3 ml 주사기에 부착된 존데(sonde)를 이용해 62.5 또는 125 mg/kg 농도로 강제 경구투여하였다.

또한, 질병의 유발 정도에 따른 베타-글루칸의 효과의 변화 가능성을 검증하기 위해 당뇨병성 신병증의 상태를 심각(HC), 보통(매체 대조군, vehicle control) 및 경미(LC)의 그룹으로 세분하고 당뇨병성 신병증 모델임을 나타내기 위해 각 그룹의 명칭앞에 N을 표기하였다. 심각한(HG) 및 경미한(LG) 상태는 베타-글루칸을 각각 62.5 mg/kg 농도로 투여한 그룹이다.

당뇨병성 신병증 치료제로 알려져 있는 캡토프릴(Captopril, Sigma, USA)을 비교군으로 투여하였으며, 증류수에 희석한 용액의 상태로 100 mg/kg 농도로 투여하였다. 캡토프릴을 포함한 모든 시험 시료는 표 1에서 보는 바와 같이 5 ml/kg의 용량으로 투여하였다.

대조군과 처리군에는, 50 mM 사이트레이트 버퍼에 용해되어 있는 STZ를 60 mg/kg/ml의 용량으로 1회 복강내 투여하였으며, 동량의 매개체를 정상 매체 투여군(Sham)에 투여하였다.

STZ를 투여하고 난 뒤 25일째에 시작하여 4주 동안 시험 시료를 투여하였다. 각각의 동물에 대해, 최근의 체중을 기초로 하여 실제 처리된 용량을 계산하였다. 혈액 채취 전, STZ의 투여시점, 최초-투여 및 마지막 투여 시점에 동물들을 최소한 12시간이상 절식시켰다(물은 제한하지 않았다).

[표 1]

당뇨병성 신병증 동물모델에 사용한 시험 시료, 그룹 및 실험 스케줄

그룹	투여량	동물수	그룹명	매개체	투여경로	스케줄
정상 매체 대조군	5 ml/kg	6	N-G0	주사용 증류수	구강	4주동안 하루에 한번
STZ 투여군	매체 대조군	5 ml/kg	6	N-G1		
	캡토프릴	100 mg/kg/5 ml	6	N-G2		
	베타-글루칸	62.5 mg/kg/5 ml	6	N-G3		
	베타-글루칸	125 mg/kg/5 ml	6	N-G4		
	심한 매체 대조군	5 ml/kg	5	N-HC		
	베타-글루칸	62.5 mg/kg/5 ml	5	N-HG		
	경미한 매체 대조군	5 ml/kg	5	N-LC		
베타-글루칸	62.5 mg/kg/5 ml	5	N-LG			

상기 표 1에서 HG 및 LG는 62.5 mg/kg의 베타-글루칸 투여한 그룹임.

(ii) 급성 신부전증 모델

시스플라틴을 투여하기전 28일부터 32일간 매일 베타-글루칸을 31.25, 62.5 및 125 mg/kg의 농도로 각각 경구 투여하였다. 비교군에는 캡토프릴(CAPT) 100 mg/kg 및 로사탄(LOSA) 20 mg/kg을 각각 동일한 방법으로 경구투여하였다. 상기 실험물질을 28일간 투여한 다음, CCDP 5 mg/kg을 식염수에 용해시켜 5 ml/kg의 농도로 단회 복강 주사하여 급성 신부전증 (ARF)을 유발시켰다. 모든 실험 동물은 CCDP 투여 5일 후 희생시킨 후 체중 및 신장 중량, 혈중 BUN 및 크레아틴 함량의 변화, 신장의 조직학적 변화를 관찰하였다.

급성 신부전증 동물모델에 사용한 시험 시료, 그룹 및 실험 스케줄은 하기 표 2에 나타낸 바와 같다.

[표 2]

그룹	투여량	동물수	그룹명
정상 매체 대조군	5 ml/kg	8	Sham

시스플라틴 투여군	매체 대조군	5 ml/kg	8	Control
	캡토프릴	100 mg/kg	8	CAPT
	베타-글루칸	31.25 mg/kg	8	ARF-G31.25
	베타-글루칸	62.5 mg/kg	8	ARF-G31.25
	베타-글루칸	125 mg/kg	8	ARF-G31.25
	로사탄	20 mg/kg	8	LOSA

(iii) 아급성 신부전 모델

아질산나트륨을 투여하기전 42일간 매일 베타-글루칸을 31.25, 62.5 및 125 mg/kg의 농도로 각각 경구 투여하였다. 비교군에는 캡토프릴(CAPT) 100 mg/kg 및 실리마린(SILY) 25 mg/kg을 각각 동일한 방법으로 경구투여하였다. 상기 실험물질을 42일간 투여한 다음, 사염화탄소(Duksan Chemical, Korea)를 올리브 오일에 용해시켜 0.15mg/kg을 6주 동안 매주 3회씩 투여하여 아급성 신부전(SRT)을 유발시켰다. 모든 실험 동물은 최종 희생 후 신장 중량, 혈중 BUN 및 크레아틴 함량의 변화 및 신장의 조직학적 변화를 관찰하였다.

아급성 신부전 동물모델에 사용한 시험 시료, 그룹 및 실험 스케줄은 하기 표 3에 나타낸 바와 같다.

[표 3]

그룹		투여량	동물수	그룹명
정상 매체 대조군		0.15 mg/kg	8	Sham
사염화탄소 투여군	매체 대조군	0.15 mg/kg	8	Control
	캡토프릴	100 mg/kg	8	CAPT
	베타-글루칸	31.25 mg/kg	8	SRF-G31.25
	베타-글루칸	62.5 mg/kg	8	SRF-G31.25
	베타-글루칸	125 mg/kg	8	SRF-G31.25
	실리마린	25 mg/kg	8	SILY

(3) 체중 측정

시험 시료의 투여에 의한 체중 변화를 확인하기 위해, 당뇨병성 신병증 모델의 경우, STZ 투여 시점, 시험 시료의 최초 투여 시점, 시험 시료를 투여하고 난 7, 14, 21, 27 및 28일째에 자동 전자 체중계(Sartorius Co., Ltd., USA)를 이용해 체중을 측정하였다. 급성 신부전증 모델의 경우, 시스플라틴 투여 하루전, 투여후 7, 14, 21, 28 및 31째 체중을 측정하였다. 아급성 신부전증 모델의 경우, 사염화탄소 투여 하루전, 투여후 7, 14, 21, 28, 35 및 41일째 체중을 측정하였다. STZ 투여 시점, 시험 시료의 최초 투여 시점, 시험 시료의 투여가 끝나는 시점에 혈액을 채취할 때에는 사료 섭취에 의한 오류를 줄이기 위해 밤새 약 12시간 동안 식수는 공급하면서 절식시켰다. 또한, 측정된 체중을 다음의 기간으로 계산하였다:

<당뇨병성 신병증 모델>

체중변화 I : STZ 유도 기간 동안(STZ를 투여하기 전부터 투여하고 난 25일 뒤까지)

체중변화 II : 관찰 기간 동안(시험 시료를 투여한 0일부터 28일까지).

<급성 신부전증 모델>

체중변화 I : 시스플라틴 유도 기간 이전(시스플라틴을 투여하기 전인 시험 시료 투여기간)

체중변화 II : 시스플라틴 유도 기간 이후(시험 시료를 투여한 28일부터 32일까지).

<아급성 신부전증 모델>

체중변화 : 모든 실험 기간 동안의 체중 변화(0일 - 42일).

(4) 신장 이상 증상 항목 관찰

① 혈중 요소 질소(BUN) 레벨의 측정

혈중 BUN 레벨을 검출하기 위해, STZ를 투여하기 1일전, 투여후 21일 및 투여후 28일째 희생시킬 때 안와정맥총(orbital plexus)로부터 혈액을 채취하였으며, 채취한 혈액으로부터 일반적인 혈청 분리방법을 이용해 혈청을 분리하였다. 자동화된 혈액 분석기(Toshiba 200 FR, Japan)를 이용해 혈중 BUN 레벨을 측정하였다. 또한, 다음과 같은 수학적식에 따라 유도 기간 중(정상 베이스 라인 및 STZ 투여후 21일 째 사이) 및 투여 기간 중(STZ를 투여한 후 21일 및 희생 시점 사이)의 변화를 계산함으로써 그룹 형성의 초반에서 나타나는 개별적인 차이로 인해 발생하는 오류를 감소시켰다.

<당뇨병성 신병증 모델>

[수학식 1]

$$\text{혈중 BUN 레벨의 변화 I(mg/dl)} = [\text{혈중 레벨}_{\text{STZ 투여후 21일째}} - \text{혈중 레벨}_{\text{STZ 투여 1일전}}]$$

$$\text{혈중 BUN 레벨의 변화 II(mg/dl)} = [\text{혈중 레벨}_{\text{희생시}} - \text{혈중 레벨}_{\text{STZ 투여후 21일째}}]$$

<급성 신부전증 모델>

[수학식 2]

$$\text{혈중 BUN 레벨의 변화 I(mg/dl)} = [\text{혈중 레벨}_{\text{시험시료 투여후 28일째}} - \text{혈중 레벨}_{\text{시험시료 투여 1일전}}]$$

$$\text{혈중 BUN 레벨의 변화 II(mg/dl)} = [\text{혈중 레벨}_{\text{희생시}} - \text{혈중 레벨}_{\text{시험시료 투여후 28일째}}]$$

<아급성 신부전증 모델>

[수학식 3]

$$\text{혈중 BUN 또는 크레아티닌 레벨의 변화(mg/dl)} = [\text{혈중 레벨}_{\text{희생시}} - \text{혈중 레벨}_{\text{시험시료 투여전 1일째}}]$$

② 신장 무게 측정

왼쪽 신장(n=6)의 절대 무게를 측정하고 난 뒤 희생된 시점에서 모든 실험 동물의 상대적 조직 무게(체중의 %)를 계산하였다. 절대 무게는 희생시킨 시점의 체중을 이용해 계산하였으며 상대 무게(%)는 하기 수학적식에 따라 계산하였다.

[수학식 4]

$$\text{신장의 상대 무게} = (\text{절대 신장 무게}_{\text{왼쪽 n=6}}) / (\text{희생시점의 체중}_{\text{개별}}) \times 100$$

③ 조직 형태학적 분석

신장 조직의 무게를 측정하고 난 뒤에, 남은 신장을 샘플로 사용하였다. 신장을 10% 중화 완충된 포르말린에 고정시켰다. 파라핀에 임베딩(embedding)시킨 뒤 3-4 μm의 섹션을 준비하였고, 헤마톡실린과 에오신(H&E)으로 염색하여 조직의 형태를 광학현미경 관찰하였다.

신장 조직에서 관찰한 신장 실질의 변성 부위 퍼센트는 자동 영상 분석기(analySIS Image Processing; SIS, Germany)를 이용해 신장의 1 영역에 대한 퍼센트(%/신장 실질 200 μm²)로 계산하였다.

신장 조직에서 관찰한 변성 세관의 개수(위축성 변화를 보이고 괴사성 세관 세포를 가지는 것을 포함)는 자동 영상 분석기를 이용해 100개의 전체 세관 중에 포함된 개수(N/100 세관)로 계산하였다.

신장 조직에서 관찰한 변성 사구체의 개수(위축성 변화와 혈관확장을 보이는 것을 포함)는 자동 영상 분석기를 이용해 100개의 전체 사구체 중에 포함된 개수(N/100 사구체)로 계산하였다.

2. 실험 결과

(1) 베타-글루칸의 효과

① 체중의 변화

(i) 당뇨병성 신병증 모델

STZ의 투여 및 시험 시료를 투여하고 난 뒤의 체중 변화를 하기 표 4에 나타내었다. STZ의 투여로 인한 당뇨병성 신병증의 유도 기간 동안 모든 STZ 투여군에서 정상 매체 투여군에 비해 체중이 유의적으로(p<0.01 또는 p<0.05) 감소하는 것으로 확인되었다. 그러나, STZ 유도된 당뇨병성 신병증의 유도 기간 동안 모든 시험 시료 투여 그룹에서는 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군과 비교하여 의미있거나 유의적인 체중 변화가 관찰되지 않았다. 비록 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군과 비교하여 시험 시료 투여 그룹에서는 약간의 체중 증가가 관찰되었으나, 62.5 mg/kg의 베타-글루칸 투여 그룹을 제외한 모든 투여 그룹에서 유의적인 체중 변화가 관찰되지 않았으며, 상기 투여용량의 베타-글루칸 투여 그룹에서는 매체 대조군과 비교하여 유의적인(p<0.05) 체중 증가가 관찰되었다. 또한, N-HG 및 N-LG 그룹은 각각 N-HC 및 N-LC 그룹과 비교하였을 때 의미있는 체중 변화가 관찰되지 않았다.

따라서, 캅토프릴은 당뇨병성 신병증에 따른 체중 변화에 어떠한 영향도 미치지 않지만, 베타-글루칸은 당뇨병성 신병증에 의해 유도된 체중 변화를 억제하는데 매우 유의적인 작용을 할 수 있음을 알 수 있었다.

[표 4]

STZ 투여후 및 시험 시료 투여후의 체중 변화(g)

그룹	STZ 투여시	시험시료 투여시	시험시료 투여후 주수				희생시 4)
			1 주	2 주	3 주	4 주	
N-G0	171.67± 7.12	223.00± 11.90	234.17± 13.57	241.50± 20.70	247.83± 14.61	253.17± 9.91	236.83± 9.68
N-G1	169.33± 4.55	184.67± 10.50*	190.83± 13.11*	193.67± 17.15*	194.50± 21.91*	190.83± 26.87*	165.50± 22.54*
N-G2	168.50± 6.69	182.67± 17.40*	194.50± 19.10*	194.50± 22.46*	196.83± 28.49*	188.00± 35.97*	167.67± 33.04*
N-G3	165.33± 8.02	180.50± 16.50*	199.33± 22.92*	203.83± 22.57*	210.17± 18.23*	210.33± 17.68*	179.67± 16.48*
N-G4	168.33± 7.45	181.50± 12.57*	188.00± 16.96*	192.67± 19.53*	196.83± 22.36*	204.50± 17.71*	175.33± 14.21*
N-HC	165.20± 8.84	173.80± 8.58*	180.40± 8.65*	176.20± 19.45*	184.40± 14.96*	186.80± 13.72*	162.60± 14.17*
N-HG	163.80± 7.53	171.40± 12.58*	176.40± 20.19*	177.40± 20.92*	179.00± 23.44*	184.80± 23.59*	162.80± 17.92*
N-LC	169.40± 10.04	200.80± 7.95**	219.60± 9.76	225.40± 7.44	225.80± 7.98**	232.60± 6.66*	201.20± 6.14*
N-LG	169.40± 6.80	196.40± 5.59*	208.00± 12.81**	220.00± 13.91	227.60± 10.16**	231.00± 16.08	209.60± 17.33**

그룹	체중변화 I	체중변화 II
N-G0	51.33±7.69	30.17±5.38
N-G1 [PCA] ²⁾	15.33±10.97* [-70.13]	6.17±20.61** [-79.56]
N-G2 [PCB] ³⁾	14.17±17.81* [-7.61]	5.33±40.44 [-13.51]
N-G3 [PCB]	15.17±11.87* [-1.09]	29.83±9.17**# [383.78]
N-G4 [PCB]	13.17±15.60* [-14.13]	23.00±5.76 [272.97]
N-HC [PCA]	8.60±8.56* [-83.25]	13.00±10.22** [-56.91]
N-HG [PCB]	7.60±15.57* [-11.63]	13.40±19.35 [3.08]
N-LC [PCA]	31.40±14.48** [-38.83]	31.80±9.60 [5.41]
N-LG [PCB]	27.00±9.11* [-14.01]	34.60±15.81 [8.81]

상기 표에서, n=5 또는 6; 체중(g)은 평균 ±표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 1에 나타낸 바와 동일; ¹⁾밤새 절식시킨 후; 체중변화 I: STZ를 투여하기 전부터 투여후 25일 동안의 체중변화; 체중변화 II: 0일부터 희생시까지의 기간 동안의 체중변화; ²⁾PCA, 정상 매체 대조군(N-G0)에 대한 퍼센트(%) 변화; ³⁾PCB, 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군(N-G1, N-HC 또는 N-LC)에 대한 퍼센트(%) 변화; *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.05, MW 테스트에 의한 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(ii) 급성 신부전증 모델

시스플라틴의 투여 및 시험 시료를 투여하고 난 뒤의 체중 변화를 하기 표 5에 나타내었다. 시스플라틴의 투여로 인한 급성 신부전증의 유도 기간 동안 모든 시스플라틴 투여군에서 매체 투여군에 비해 체중이 유의적으로(p<0.05) 감소하는 것으로 확인되었으나 정상군에 비해서는 유의성이 인정되지 않았다. 시스플라틴 투여후 증체량은 매체 대조군에서 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 증체량의 감소가 인정되었으나, 모든 베타-글루칸 투여군에서는 매체 대조군에 비해 투여 용량의존적으로 유의성 있게(p<0.05) 증가되었다. 또한 CAPT 및 LOSA 투여군에서도 유의성은 인정되지 않았으나, 이 기간 동안의 증체량이 매체 대조군에 비해 현저히 증가되었다.

따라서, CAPT 및 LOSA는 급성 신부전에 따른 체중 변화에 미약한 영향을 미치지 않지만, 베타-글루칸은 급성 신부전에 의해 유도된 체중 변화를 억제하는데 매우 유의적인 작용을 할 수 있음을 알 수 있었다.

[표 5]

체중	1 일		시험시료 투여 후 일			
	투여시 2)	투여시 2)	7 일	14 일	21 일	27 일
Sham	181.63±8.26	164.38±7.19	202.13±15.16	215.75±16.18	233.88±25.16	241.13±24.09
Control	182.50±10.42	166.75±7.80	206.75±12.43	221.75±12.34	240.63±14.38	249.13±22.97
CAPT	183.38±6.95	165.50±6.48	203.25±6.67	216.50±11.11	228.38±11.54	229.63±15.64
G31.25	179.75±6.14	162.75±5.85	200.50±13.38	218.50±14.30	232.50±14.85	237.88±13.23
G62.5	180.25±6.25	162.63±5.45	197.25±10.25	217.13±10.83	236.50±15.57	239.88±13.04
G125	178.75±6.84	164.00±5.18	198.00±10.80#	211.88±9.33	228.88±9.33	239.25±8.48
LOSA	178.25±7.27	162.25±5.60	198.38±7.91	213.25±9.81	226.25±9.47#	236.50±11.48

시스플라틴 투여 후 일					체중
투여시 2)	1 일	4 일	5 일 3)		
226.75±22.26	243.13±25.78	251.38±24.20	231.50±25.40	Sham	
234.13±20.36	235.63±26.11	223.50±24.14	212.88±22.25	Control	
222.50±11.06	222.13±13.35	222.38±16.66**	209.75±15.25	CAPT	
224.38±13.62	227.88±15.92	230.88±21.96	215.00±20.07	G31.25	
227.88±12.80	231.38±12.24	232.88±15.96	219.63±12.73	G62.5	
224.75±6.09	227.63±7.01	230.88±6.45**	217.63±10.95	G125	
223.50±9.06	225.50±8.70	222.00±10.86*	207.75±8.15**	LOSA	

변화	체중변화 I	체중변화 II
Sham	76.75±19.62	4.75±6.39
Control [PC-S] ⁴⁾	82.38±16.58 [7.33]	-21.25±11.37* [-547.37]
CAPT [PC-C] ⁵⁾	64.13±11.15# [-22.15]	-12.75±10.32* [41.00]
G31.25 [PC-C]	75.13±10.23 [-8.80]	-9.38±9.55# [56.88]
G62.5 [PC-C]	77.25±9.21 [-6.22]	-8.25±10.07# [62.18]
G125 [PC-C]	75.25±6.58 [-8.65]	-7.13±11.89# [67.47]
LOSA [PC-C]	74.25±10.67 [-9.86]	-15.75±3.54* [26.88]

상기 표에서, n=8; 체중(g)은 평균 ±표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 2에 나타낸 바와 동일; ¹⁾밤새 절식시킨 후 시험 시료 최초 투여 시점; ²⁾밤새 절식시킨 후 시스플라틴 투여 시점; ³⁾밤새 절식시킨 후 희생 시점; ⁴⁾PC-S, 정상 매체 대조군 (Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ⁵⁾PC-C, 정상 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; 체중변화 I(시스플라틴 투여전)=시험 시료 투여 동안의 체중(시험시료 투여 0일 내지 27일); 체중변화 II(시스플라틴 투여후)=시스플라틴 투여 후의 체중(시험 시료 투여 28일 내지 32일); *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; # p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(iii) 아급성 신부전증 모델

사염화탄소의 투여 및 시험 시료를 투여하고 난 뒤의 체중 변화를 하기 표 6에 나타내었다. 매체 대조군에서는 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 체중의 감소가 사염화탄소의 투여 7일 후부터 인정되었다. 실험 전 기간 동안의 증체량 역시 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 감소를 나타내었다. 한편, 모든 사염화탄소 투여군에서는 베타-글루칸 125 mg/kgm 투여군에서 매체 대조군에 비해 다소 증가된 체중 및 증체량이 인정된 이외에 의미있는 변화는 인정되지 않았다.

사염화탄소 투여기간 동안의 증체량은 매체 대조군의 경우 정상군에 비해 38.08%의 변화를 나타내었으나, 캅토프릴, 베타-글루칸 31.25, 62.5 및 125 mg/kg 투여군, 실리마린 투여군에서는 매체 대조군에 비해 각각 -1.63, 0.61, 1.43, 15.27 및 -3.05%의 변화를 나타내었다.

따라서, 캅토프릴 및 실리마린은 아급성 신부전에 따른 체중 변화에 미약한 영향을 미치지 않지만, 베타-글루칸은 아급성 신부전에 의해 유도된 체중 변화를 억제하는데 매우 유의적인 작용을 할 수 있음을 알 수 있었다.

[표 6]

체중	-1 일	투여시 4	시험시료 투여후 일			
			7 일	14 일	21 일	28 일
Sham	182.13±11.84	163.50±10.50	212.63±11.96	228.63±13.35	249.75±14.62	265.00±14.73
Control	180.25±7.19	163.25±6.54	200.50±6.32*	210.75±10.25**	227.50±17.12**	228.75±17.19*
CAPT	180.88±6.69	163.13±5.84	199.00±8.67**	209.13±6.88*	224.25±7.09*	227.75±7.17*
G31.25	184.25±6.20	166.25±6.41	207.88±11.14	220.13±9.55	232.50±10.43	233.88±12.29*
G62.5	179.00±9.97	162.00±11.11	198.00±18.56	211.25±18.35**	227.75±21.55**	228.13±25.05**
G125	180.50±7.87	163.25±7.03	205.25±12.07	228.63±13.35	233.75±12.33*	239.88±13.95*
SILY	180.75±10.08	163.63±8.21	204.50±8.35	210.75±10.25**	229.50±17.96**	228.38±13.32*

	시험시료 투여후 일		희생시 2)	증체량 3)
	35 days	41 days		
Sham	271.63±11.77	280.50±14.57	262.63±14.85	99.13±15.16
Control [PC-S] ⁴⁾	235.88±15.83*	242.38±15.82*	224.63±14.07*	61.38±11.83* [-38.08]
CAPT [PC-C] ⁵⁾	233.50±7.31*	239.63±6.52*	223.50±5.10*	60.38±7.17* [-1.63]
G31.25 [PC-C]	242.00±11.78*	247.38±14.71*	228.00±13.26*	61.75±14.36* [0.61]
G62.5 [PC-C]	236.38±25.40**	241.88±23.86*	224.25±22.81*	62.25±12.59* [1.43]
G125 [PC-C]	246.63±15.27*	251.13±17.88*	234.00±14.41*	70.75±15.14* [15.27]
SILY [PC-C]	240.88±22.31**	239.63±15.97*	223.13±14.88*	59.50±12.19* [-3.05]

상기 표에서, n=8; 체중(g)은 평균 ±표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 3에 나타낸 바와 동일; ¹⁾밤새 절식시킨 후 시험 시료 최초 투여 시점; ²⁾밤새 절식시킨 후 희생 시점; ³⁾체중변화(g)=실험 기간 동안의 체중(0일-42일); ⁴⁾PC-S, 정상 매체 대조군(Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ⁵⁾PC-C, 정상 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 대조군과 비교했을 때의 유의성.

② 혈중 BUN 레벨의 변화

(i) 당뇨병성 신병증 모델

STZ의 투여 및 시험 시료 투여하고 난 뒤의 혈중 BUN 레벨 변화를 하기 표 7에 나타내었다. BUN은 신장의 상태를 측정하는 주요한 기준 지표 중의 하나로 널리 알려져 있다. 정상 매체 대조군에 비교해 모든 실험 그룹에서 STZ-유도된 당뇨병성 신병증의 유도 기간 동안 혈중 BUN 레벨의 유의적인 증가가 관찰되었다. 또한, 희생시의 매체 대조군의 혈중 BUN 레벨은 정상 매체 대조군과 비교하여 유의적으로 증가하였다(223.50%). 그러나, 희생시의 모든 투여군의 혈중 BUN 레벨은 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하였다. STZ를 투여한지 21일째와 희생시(시험시료를 투여한지 28일째) 사이의 베타-글루칸 투여 그룹의 혈중 BUN 레벨의 변화는 당뇨병성 신병증 유발매체 대조군에 비교하여 유의적이었으며, 투여 농도 의존적으로 감소하였다. 또한, 베타-글루칸 투여 그룹은 심한 신병증 유발 실험군 및 경미한 신병증 유발 실험군에서도(N-HG 및 N-LG) 각각의 매체 대조군(N-HC 및 N-LC)에 비해 혈중 BUN 레벨이 유의적으로 감소하였다.

베타-글루칸 투여기간 동안의 혈중 BUN 함량의 변화량

(i) 매체 대조군 vs 캡토프릴 투여군, 베타-글루칸 62.5 및 125 mg/kg 투여군: -55.35%, -59.99% 및 -94.72%

(ii) N-HC vs N-HG : -45.96%

(iii) N-LC vs N-LG : -105.65%

표 7의 결과에 따르면, 모든 시험 시료 투여 그룹은 유의적인 혈중 BUN 레벨 감소를 보인다. 따라서, 베타-글루칸은 병증의 심각도와 상관없이 당뇨병성 신병증에 의해 유도되는 혈중 BUN 레벨의 변화를 억제하는데 있어서 상대적으로 유리한 효과를 나타냄을 알 수 있다. 또한, 캡토프릴을 투여한 그룹에 비해 베타-글루칸을 투여한 그룹에서 더욱 유의적인 효과가 관찰되었다.

[표 7]

STZ 투여후 및 시험 시료 투여후의 혈중 BUN 레벨 변화(mg/dl)

그룹	베이스 라인(STZ 투여전)	STZ 투여후 21일째	시험시료 투여후 28일째(희생)
N-G0	18.20±0.76	19.68±0.81	23.12±1.58
N-G1 [PCA] ¹⁾	18.00±1.15 [-1.10]	48.92±11.66* [148.52]	74.78±11.36* [223.50]
N-G2 [PCB] ²⁾	18.53±1.22 [2.98]	49.18±15.98* [0.55]	60.22±4.16** [-19.48]
N-G3 [PCB]	18.02±3.18 [0.09]	47.97±13.87* [-1.94]	58.32±12.41* [-22.02]
N-G4 [PCB]	18.30±1.39 [1.67]	56.50±16.67* [15.50]	57.87±5.14*** [-22.62]
N-HC [PCA]	18.82±2.11 [3.41]	58.96±18.47* [199.54]	83.24±12.18* [260.09]
N-HG [PCB]	18.86±1.97 [0.21]	48.00±6.44* [-18.59]	61.12±8.81*** [-26.57]
N-LC [PCA]	18.14±2.13 [-0.33]	27.28±3.95* [38.59]	43.22±4.95* [86.96]
N-LG [PCB]	18.34±2.24 [1.10]	30.78±3.96* [12.83]	29.88±9.38# [-30.87]

그룹	BUN 레벨변화 I	BUN 레벨변화 II
N-G0	1.48±1.21	3.43±2.31
N-G1 [PCA]	30.92±12.73* [1984.27]	25.87±14.60* [653.40]
N-G2 [PCB]	30.65±16.66* [-0.84]	11.03±14.73*** [-57.35]
N-G3 [PCB]	29.95±14.01* [-3.13]	10.35±8.12*** [-59.99]
N-G4 [PCB]	38.20±16.31* [23.56]	1.37±13.13*** [-94.72]
N-HC [PCA]	40.14±19.73* [2606.07]	24.28±17.53** [607.18]
N-HG [PCB]	29.14±7.36* [-27.40]	13.12±6.05** [-45.96]
N-LC [PCA]	9.14±3.25* [516.18]	15.94±8.49* [364.27]
N-LG [PCB]	12.44±3.08* [36.11]	-0.90±9.75# [-105.65]

상기 표에서, n=6; BUN 레벨(mg/dl)은 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 1에 나타낸 바와 동일; ¹⁾PCA, 정상 매체 대조군(N-G0)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PCB, 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군(N-G1, N-HC 또는 N-LC)에 대한

퍼센트(%) 변화; BUN 레벨변화 I: STZ를 투여하기 전부터 투여후 21일 동안의 변화; BUN 레벨변화 II: 0일부터 희생시 까지의 기간 동안의 변화; *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.01 및 ##p<0.05, MW 테스트에 의한 당뇨병성 신병증 유발매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(ii) 급성 신부전증 모델

시험 시료 투여 기간 동안(시스플라틴 투여 전 28일)의 혈중 BUN 함량의 변화는 매체 대조군의 경우 정상군과 매우 유사한 변화량을 나타내었다. 한편 이 기간 동안 매체 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.05) 변화는 베타-글루칸 125 mg/kg 및 LOSA 투여군에 국한되어 관찰되었으나, 모든 시험 시료 투여군에서는 현저한 혈중 BUN 함량의 감소가 인정되었다. 시스플라틴 투여 후 혈중 BUN 함량의 변화는 매체 대조군의 경우 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 증가를 나타내었으나, 모든 약물 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 혈중 BUN 함량의 감소가 인정되었다.

[표 8]

혈중 BUN	베이스라인 (시스플라틴 투여전)	시험 시료 투여후 28일	시스플라틴 투여후 5일 (희생)
Sham	16.91±1.99	20.24±1.81	19.93±1.87
Control [PC-S] ¹⁾	16.89±1.53 [-0.15]	20.10±1.53 [-0.68]	205.98±98.27* [933.75]
CAPT [PC-C] ²⁾	17.05±2.72 [0.96]	18.24±1.18**## [-9.27]	94.53±59.63*# [-54.11]
G31.25 [PC-C]	16.83±1.97 [-0.37]	18.33±1.68**## [-8.83]	72.66±56.77# [-64.72]
G62.5 [PC-C]	17.00±2.30 [0.67]		66.20±50.54**## [-67.86]
G125 [PC-C]	16.86±1.53 [-0.15]	17.38±1.47*# [-13.56]	63.11±32.39*# [-69.36]
LOSA [PC]	16.88±2.16 [-0.07]	17.25±1.45*# [-14.18]	77.34±48.68*# [-62.45]

변화	변화 I	변화 II
Sham	3.33±1.75	-0.31±2.40
Control [PC-S]	3.21±1.69 [-3.38]	185.88±98.15* [59581.00]
CAPT [PC-C]	1.19±1.94** [-63.94]	76.29±59.17*## [-58.96]
G31.25 [PC-C]	1.50±2.66 [-53.31]	54.34±57.79**## [-70.77]
G62.5 [PC-C]	1.24±3.19 [-61.48]	47.96±50.52*# [-74.20]
G125 [PC-C]	0.51±1.95*## [-84.05]	45.74±32.62*# [-75.39]
LOSA [PC]	0.38±2.89**## [-88.33]	60.09±48.59*# [-67.67]

상기 표에서, n=8; BUN 레벨(mg/dl)은 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 2에 나타낸 바와 동일; ¹⁾PC-S, 정상 매체 대조군(Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PC-C, 정상 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; 변화 I(시스플라틴 투여전)=[혈중 레벨_{시험 시료 투여후 28일} - 혈중 레벨_{시험 시료 투여전 1일}]; 변화 II(시스플라틴 투여후)=[혈중 레벨_{희생시} - 혈중 레벨_{시험 시료 투여후 28일}]; *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성 ; #p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(iii) 아급성 신부전증 모델

매체 대조군에서는 사염화탄소 투여 후 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 혈중 BUN 함량의 증가를 나타내었으며, 사염화탄소 투여 전후의 혈중 BUN 변화량 역시 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 현저한 증가를 나타내었다. 한편, 이러한 모든 시험 물질 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 혈중 BUN 함량의 감소가 인정되었으며, 사염화탄소 투여 전후의 혈중 BUN 변화량 역시 유의성은 일부 실험군에 국한되었으나, 모든 약물 투여군에서 매체 대조군에 비해 현저한 감소가 인정되었다. 베타-글루칸 투여군에서는 투여 용량 의존적인 혈중 BUN 함량의 감소가 인정되었다.

[표 9]

혈중 BUN	베이스 라인 (시험시료 투여전) (A)	시험시료 및 사염화탄소 투여 후 42일 (B)	변화 (B-A)
Sham	18.39±2.76	20.43±2.22	2.04±1.86
Control [PC-S] ¹⁾	17.96±2.64 [-2.31]	31.38±4.07* [53.61]	13.41±5.57* [558.28]
CAPT [PC-C] ²⁾	18.28±1.13 [1.74]	23.88±2.38**# [-23.90]	5.60±1.88*# [-58.25]
G31.25 [PC-C]	18.23±1.76 [1.46]	26.81±2.65*## [-14.54]	8.59±2.31* [-35.97]
G62.5 [PC-C]	18.06±1.65 [0.56]	25.79±2.13*## [-17.81]	7.73±1.76*## [-42.40]
G125 [PC-C]	18.11±2.11 [0.84]	26.00±1.84*# [-17.13]	7.89±1.70*## [-41.19]
SILY [PC]	17.95±1.97 [-0.07]	26.68±2.35*## [-14.98]	8.73±2.73* [-34.95]

상기 표에서, n=8; BUN 레벨(mg/dl)은 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 3에 나타낸 바와 동일; ¹⁾PC-S, 정상 매체 대조군(Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PC-C, 정상 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; 변화=[혈중 레벨_{희생시} - 혈중 레벨_{시험시료 투여전 1일}]; *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 대조군과 비교했을 때의 유의성.

③ 혈중 크레아티닌 레벨의 변화

(i) 급성 신부전증 모델

시험 시료 투여 기간 동안(시스플라틴 투여 전 28일)의 혈중 크레아티닌 함량의 변화는 매체 대조군의 경우 정상군과 매우 유사한 변화량을 나타내었다. 한편, 이 기간 동안 매체 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.05) 변화는 베타-글루칸 125 mg/kg 및 LOSA 투여군에 국한되어 관찰되었으나, 모든 시험 시료 투여군에서 현저한 혈중 크레아티닌 함량의 감소가 인정되었다. 시스플라틴 투여 후 혈중 시스플라틴 함량의 변화는 매체 대조군의 경우 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 증가를 나타내었으나, 모든 약물 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 혈중 크레아티닌 함량의 감소가 인정되었다.

[표 10]

혈중 크레아티닌	베이스 라인 (사염화탄소 투여전)	시험 시료 투여후 28	사염화탄소 투여후 5일 (희생)
Sham	0.55±0.05	0.63±0.05	0.66±0.06
Control [PC-S] ¹⁾	0.57±0.03 [2.71]	0.65±0.05 [3.37]	3.76±2.41* [469.70]
CAPT [PC-C] ²⁾	0.58±0.04 [2.20]	0.62±0.02 [-4.80]	1.65±0.83*# [-56.08]
G31.25 [PC-C]	0.56±0.05 [-2.42]	0.61±0.04## [-6.14]	1.46±0.72*# [-61.17]
G62.5 [PC-C]	0.56±0.03 [-1.10]	0.59±0.03## [-10.17]	1.30±0.64*# [-65.53]
G125 [PC-C]	0.56±0.03 [-0.88]	0.58±0.03*## [-11.52]	1.19±0.39*# [-68.38]
LOSA [PC]	0.57±0.03 [0.66]	0.60±0.03## [-14.18]	1.60±0.98*# [-57.41]

변화	변화 I	변화 II
Sham	0.08±0.04	0.03±0.06
Control [PC-S]	0.08±0.07 [8.20]	3.11±2.39* [10262.50]
CAPT [PC-C]	0.04±0.05 [-53.03]	1.03±0.85*## [-66.83]
G31.25 [PC-C]	0.06±0.05 [-31.82]	0.85±0.74*# [-72.70]
G62.5 [PC-C]	0.02±0.04* [-72.73]	0.71±0.63*# [-77.12]
G125 [PC-C]	0.01±0.04*## [-84.85]	0.61±0.41*# [-80.30]
LOSA [PC]	0.03±0.05*## [-69.70]	1.00±0.97*# [-67.71]

상기 표에서, n=8; 크레아티닌 레벨(mg/dl)은 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 2에 나타낸 바와 동일; ¹⁾PC-S, 정상 매체 대조군(Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PC-C, 정상 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; 변화 I(시스플라틴

투여전)=[혈중 레벨_{시험시료 투여후 28일} - 혈중 레벨_{시험시료 투여전 1일}]; 변화 II(시스플라틴 투여후)=[혈중 레벨_{회생시} - 혈중 레벨_{시험시료 투여후 28일}]; *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성 ; #p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(ii) 아급성 신부전증 모델

매체 대조군에서는 사염화탄소 투여 후 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 혈중 크레아티닌 함량의 증가를 나타내었으며, 사염화탄소 투여 전후의 혈중 크레아티닌 변화량 역시 정상군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 현저한 증가를 나타내었다. 한편, 이러한 모든 시험 시료 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 혈중 크레아티닌 함량의 감소가 인정되었으며, 사염화탄소 투여 전후의 혈중 크레아티닌 변화량 역시 모든 약물 투여군에서 매체 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 감소가 인정되었다. 베타-글루칸 투여군에서는 투여 용량 의존적인 혈중 크레아티닌 함량의 감소가 인정되었다.

[표 11]

혈중 크레아티닌	베이스라인 (시험시료 투여전) (A)	시험시료 및 사염화탄소 투여 후 42일 (B)	변화 (B-A)
Sham	0.58±0.04	0.63±0.06	0.06±0.08
Control [PC-S] ¹⁾	0.58±0.03 [0.87]	0.81±0.12* [28.21]	0.23±0.11* [308.89]
CAPT [PC-C] ²⁾	0.58±0.03 [0.00]	0.63±0.04# [-22.92]	0.04±0.06# [-80.98]
G31.25 [PC-C]	0.58±0.02 [-1.29]	0.67±0.07### [-17.69]	0.09±0.08### [-59.24]
G62.5 [PC-C]	0.59±0.05 [0.64]	0.65±0.04# [-20.62]	0.06±0.03# [-74.46]
G125 [PC-C]	0.58±0.02 [0.21]	0.62±0.05# [-24.15]	0.03±0.05# [-85.87]
SILY [PC]	0.57±0.03 [-1.72]	0.62±0.05# [-23.69]	0.05±0.03# [-79.35]

상기 표에서, n=8; BUN 레벨(mg/dl)은 평균 ±표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 3에 나타난 바와 동일; ¹⁾PC-S, 정상 매체 대조군(Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PC-C, 정상 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; 변화=[혈중 레벨_{회생시} - 혈중 레벨_{시험시료 투여전 1일}]; *p<0.01 및 **p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성 ; #p<0.05, MW 테스트에 의한 정상 대조군과 비교했을 때의 유의성.

③ 신장 무게의 변화

(i) 당뇨병성 신병증 모델

STZ의 투여 및 시험 시료 투여하고 난 뒤의 절대적 및 상대적 신장 무게 변화를 하기 표 12에 나타내었다. STZ-유도된 신병증에서는 일반적으로 신장 무게가 증가되어 있으며, 이러한 증가의 억제 는 약물 효과의 기준 지표로 간주되었다. 회생시에, 정상 매체 대조군에 비해 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군에서는 절대 및 상대 신장 무게의 유의적인 증가가 관찰되었다(절대: 64.59%, 상대: 139.04%). 그러나, 갑토프릴 투여그룹에서는 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군에 비해 절대 및 상대 신장 무게가 유의적으로 감소하였다. 베타-글루칸 투여 그룹에서는 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군에 비해 절대 및 상대 신장 무게가 감소하였지만, 유의성은 인정되지 않았으며, 경미한 신병증 유발 실험군에 국한하여 유의성 있는 절대 및 상대 신장 무게의 감소가 인정되었다.

(a) 신장 절대 무게의 변화량

(i) 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군 vs 갑토프릴 투여군, 베타-글루칸 62.5 및 125 mg/kg 투여군: -16.70%, -4.84% 및 -6.84%

(ii) N-HC vs N-HG : -2.27%

(iii) N-LC vs N-LG : -17.97%

(b) 신장 상대 무게의 변화량

(i) 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군 vs 갑토프릴 투여군, 베타-글루칸 62.5 및 125 mg/kg 투여군: -17.42%, -12.60% 및 -13.15%

(ii) N-HC vs N-HG : -1.61%

(iii) N-LC vs N-LG : -20.51%

[표 12]

그룹	절대신장무게변화 (g)	상대신장무게변화 (%)
N-G0	0.674±0.041	0.285±0.017
N-G1 [PCA] ¹⁾	1.109±0.073* [64.59]	0.680±0.099* [139.04]
N-G2 [PCB] ²⁾	0.923±0.131* ^{###} [-16.70]	0.562±0.081* ^{###} [-17.42]
N-G3 [PCB]	1.055±0.104* [-4.84]	0.594±0.107* [-12.60]
N-G4 [PCB]	1.033±0.056* [-6.84]	0.591±0.036* [-13.15]
N-HC [PCA]	0.935±0.042* [38.86]	0.577±0.036* [102.91]
N-HG [PCB]	0.914±0.120* [-2.27]	0.568±0.109* [-1.61]
N-LC [PCA]	1.053±0.066* [56.32]	0.524±0.045* [84.22]
N-LG [PCB]	0.864±0.087* [#] [-17.97]	0.417±0.073* ^{###} [-20.51]

상기 표에서, n=5 또는 6; 신장 무게 변화(g 또는 %)는 평균 ±표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 1에 나타낸 바와 동일; ¹⁾PCA, 정상 매체 대조군(N-G0)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PCB, 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군(N-G1, N-HC 또는 N-LC)에 대한 퍼센트(%) 변화; *p<0.01, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.01 및 ^{###}p<0.05, MW 테스트에 의한 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(ii) 급성 신부전증 모델

시스플라틴의 투여 및 시험 시료 투여하고 난 뒤의 절대적 및 상대적 신장 무게 변화를 하기 표 13에 나타내었다.

정상군에 비해 매체 대조군에서는 유의성 있는(p<0.01) 절대 및 상대 신장 중량의 증가가 인정되었으나, 모든 베타-글루칸 투여군에서는 매체 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 현저한 신장 중량치의 감소가 각각 인정되었다. 한편 시스플라틴 투여에 의해 유발되는 신장 중량의 증가에 대한 감소 효과가 CAPT 및 LOSA 투여군보다 베타-글루칸 투여군에서 더 우수한 것으로 관찰되었다.

[표 13]

신장무게	절대 무게 (g)	상대 무게 (%)
Sham	0.649±0.092	0.283±0.045
Control [PC-S] ¹⁾	0.953±0.111* [46.75]	0.453±0.080* [60.10]
CAPT [PC-C] ²⁾	0.846±0.097* [-10.88]	0.408±0.064* [-9.96]
G31.25 [PC-C]	0.818±0.096* ^{###} [-14.16]	0.384±0.066* [-15.10]
G62.5 [PC-C]	0.795±0.081* ^{###} [-16.52]	0.362±0.028* ^{###} [-20.08]
G125 [PC-C]	0.783±0.140* ^{###} [-17.82]	0.361±0.069* ^{###} [-20.24]
LOSA [PC-C]	0.848±0.095* ^{###} [-11.05]	0.408±0.045* [-9.82]

상기 표에서, n=8; 신장 무게 변화(g 또는 %)는 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 2에 나타낸 바와 동일; 상대 신장 무게(%)=[(절대 신장무게)/희생시의 체중 x 100]; ¹⁾PC-S, 정상 매체 대조군(Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PC-C, 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; *p<0.01 및 **p<0.01, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.01 및 ^{###}p<0.05, MW 테스트에 의한 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(iii) 아급성 신부전증 모델

사염화탄소의 투여 및 시험 시료 투여하고 난 뒤의 절대적 및 상대적 신장 무게 변화를 하기 표 14에 나타내었다.

정상군과 유사한 절대 신장 중량치가 매체 대조군에서 인정되었으나, 유의성 있는(p<0.01) 상대 신장 중량의 증가가 인정되었다. 한편, 모든 베타-글루칸 투여군에서는 매체 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 유의성 있는(p<0.01) 상대 신장 중량치의 감소가 각각 인정되었다. 한편 CAPT 및 LOSA 투여군에서는 매체 대조군에 비해 다소 감소된 신장 중량치가 인정되었으나, 유의성은 인정되지 않았다.

[표 14]

신장 무게	절대 무게 (g)	상대 무게(%)
Sham	0.790±0.061	0.301±0.027
Control [PC-S] ¹⁾	0.775±0.068 [-1.88]	0.345±0.025* [14.56]
CAPT [PC-C] ²⁾	0.744±0.072 [-4.03]	0.333±0.026** [-3.73]
G31.25 [PC-C]	0.707±0.062** [-8.87]	0.310±0.025### [-10.19]
G62.5 [PC-C]	0.683±0.040*# [-11.88]	0.307±0.032### [-11.12]
G125 [PC-C]	0.697±0.052**### [-10.13]	0.299±0.031### [-13.44]
SILY [PC-C]	0.732±0.048 [-5.53]	0.330±0.031 [-4.59]

상기 표에서, n=8; 신장 무게 변화(g 또는 %)는 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 3에 나타낸 바와 동일; 상대 신장 무게(%)=[(절대 신장무게)/희생시의 체중 x 100]; ¹⁾PC-S, 정상 매체 대조군(Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PC-C, 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; *p<0.01 및 **p<0.01, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.01 및 ###p<0.05, MW 테스트에 의한 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

④ 신장 조직의 형태학적 변화

(i) 당뇨병성 신병증 모델

STZ의 투여 및 시험 시료 투여하고 난 뒤의 신장의 조직형태학적 지수 변화를 표 15에 나타내고, 신장 조직의 조직병리학적 분석결과는 도 1 및 도 2에 나타내었다. 전형적인 STZ 유발성 신병증, 즉 신장 간질성 위축 및 세뇨관 위축 및 세포괴사와 함께 일부 섬유화 소견이 인정되었으나, 이러한 당뇨병성 신병증 소견은 모든 약물 투여군에서 현저히 감소하는 것으로 관찰되었다(도 1). 또한, 이러한 조직병리학적 소견은 심한 신병증 유발 실험군 및 경미한 유발 실험군에서도 각각의 매체 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 한편 심한 신병증 유발군(H-HC)에서는 현저한 모세혈관확장성 사구체 위축 소견이 인정되었으나, 베타-글루칸 투여군(H-HG)에서는 이러한 사구체 위축이 현저히 감소되었다(도 2).

(a) 신장 변성부위 비율의 변화:

정상군에서는 별 다른 변성부위가 인정되지 않은 반면, 매체 대조군에서 현저한 변성부위 비율의 증가가 인정되었다. 한편 모든 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는 신장 변성부위 비율의 감소를 나타내었다.

(i) 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군 vs 갑토프릴 투여군, 베타-글루칸 62.5 및 125 mg/kg 투여군: -32.22, -24.90 및 -33.33%.

(ii) N-HC vs N-HG: -35.93%.

(iii) N-LC vs N-LG: -43.06%.

(b) 변성 세뇨관의 수적 변화:

변성 세뇨관의 수는 매체 대조군에서 정상군에 비해 유의성 있는 현저한 증가(1206.45%)를 나타낸 반면, 모든 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다.

(i) 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군 vs 갑토프릴 투여군, 베타-글루칸 62.5 및 125 mg/kg 투여군: -40.09, -35.80 및 -41.48%.

(ii) N-HC vs N-HG: -38.26%.

(iii) N-LC vs N-LG: -43.03%.

(c) 변성 사구체의 수적 변화:

변성 사구체는 심한 신병증 유발군에 국한되어 관찰되었으며, 그 수는 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군(N-HC)에서 정상군에 비해 유의성 있는 증가(1478.46%)를 나타낸 반면 베타-글루칸 투여군(N-HG)에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다(-67.25%).

[표 15]

신장의 조직형태학적 지수 변화

그룹	신장 실질에 있는 변성부위의 퍼센트 (%/1mm ²)	신장 실질에 있는 변성세관의 개수 (N/100 세관)
N-G0	검출되지 않음	5.17±4.02
N-G1 [PCA] ¹⁾	59.25±12.21 [계산되지 않음]	67.50±14.82* [1206.45]
N-G2 [PCB] ²⁾	40.16±11.05 ^{###} [-32.22]	40.17±10.40* [#] [-40.49]
N-G3 [PCB]	44.50±7.73 ^{###} [-24.90]	43.33±11.91* ^{###} [-35.80]
N-G4 [PCB]	39.50±11.50 ^{###} [-33.33]	39.50±15.60* ^{###} [-41.48]
N-HC [PCA]	64.48±14.37 [계산되지 않음]	69.00±17.61* [1235.48]
N-HG [PCB]	41.31±8.01 ^{###} [-35.93]	42.60±15.13* [#] [-38.26]
N-LC [PCA]	32.39±7.87 [계산되지 않음]	33.00±10.07* [538.71]
N-LG [PCB]	18.25±8.57 ^{###} [-43.66]	18.80±7.82* ^{###} [-43.03]

그룹	신장 실질에 있는 변성 사구체의 개수 (N/100 사구체)
N-G0	2.17±3.43
N-HC [PCA]	34.20±11.30 [1478.46]
N-HG [PCB]	11.20±1.48 [-67.25]

상기 표에서, n=5 또는 6; 신장조직의 변성 부위(%/1mm²)는 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 1에 나타낸 바와 동일; ¹⁾PCA, 정상 매체 대조군(N-G0)에 대한 퍼센트(%) 변화; ²⁾PCB, 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군(N-G1, N-HC 또는 N-LC)에 대한 퍼센트(%) 변화; *p<0.01, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; #p<0.01 및 ###p<0.05, MW 테스트에 의한 당뇨병성 신병증 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

이상의 결과를 종합해 보면 베타-글루칸은 당뇨병성 신병증을 위시한 신병증에 매우 유효할 것으로 생각되며, 특히 질병의 정도에 상관없이 효과를 나타낼 것으로 판단된다. 또한, 갑토프릴 투여군에 비해 유사하거나 더 좋은 효과가 인정되어 베타-글루칸의 당뇨병성 신병증에 대한 유효농도는 62.5 mg/kg 이하인 것이 바람직하다.

(ii) 급성 신부전증 모델

시스플라틴의 투여 및 시험 시료 투여하고 난 뒤의 신장의 조직형태학적 지수 변화를 표 16에 나타내고, 신장 조직의 조직 병리학적 분석결과는 도 3a 및 도 3b에 나타내었다.

세뇨관 상피 괴사 및 탈락을 포함한 국소 변성을 특징으로 전형적인 시스플라틴 유발 급성 신부전증의 조직 소견이 모든 시스플라틴 투여군에서 인정되었으나, 이러한 조직병리학적 신병증 소견은 모든 약물 투여군에서 현저히 감소되는 것으로

관찰되었다. 또한, 신장 실질의 변성 비율이 매체 대조군에서 정상군에 비해 유의성 있게($p < 0.01$) 증가된 반면, 모든 시험 시료 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 변성 부위의 감소가 조직형태학적으로 인정되었다. 이러한 변화는 베타-글루칸 투여군의 경우 투여용량 의존적인 변화를 나타내었다(표 16 및 도 3a, 3b).

[표 16]

조직형태학 ¹⁾	변성 부위
Sham	1.73±1.60
Control [PC-S] ²⁾	78.92±8.56* [4461.63]
CAPT [PC-C] ³⁾	56.76±10.36*# [-28.07]
G31.25 [PC-C]	54.79±10.93*# [-30.57]
G62.5 [PC-C]	40.50±12.92*# [-48.68]
G125 [PC-C]	33.73±5.77*# [-57.26]
LOSA [PC]	63.80±10.24*## [-19.16]

상기 표에서, n=8; 신장조직의 변성 부위(%/1mm²)는 평균 ±표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 2에 나타낸 바와 동일; ¹⁾ 모든 조직형태학은 자동화 이미지 분석기를 이용해 변성 부위(실질의 %/200μm²)로 나타냄; ²⁾PC-S, 정상 매체 대조군 (Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ³⁾PC-C, 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; * $p < 0.01$, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; # $p < 0.01$ 및 ## $p < 0.05$, MW 테스트에 의한 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

(iii) 아급성 신부전증 모델

사염화탄소의 투여 및 시험 시료 투여하고 난 뒤의 신장의 조직형태학적 지수 변화를 표 17에 나타내고, 신장 조직의 조직 병리학적 분석결과를 도 4에 나타내었다.

세뇨관에서는 별 다른 이상 소견이 인정되지 않았으나, 사구체 세포 증가 및 모세혈관 확장성 사구체 위축을 특징으로 하는 신부전증의 조직소견이 모든 사염화탄소 투여군에서 인정되었으나, 이러한 조직병리학적 신병증 소견은 모든 약물 투여군에서 현저히 감소되는 것으로 관찰되었다. 또한, 이러한 변성 사구체의 수가 매체 대조군에서 정상군에 비해 유의성 있게($p < 0.01$) 증가된 반면, 모든 시험 시료 투여군에서는 매체 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 변성 사구체의 감소가 조직형태학적으로 인정되었다. 이러한 변화는 베타-글루칸 투여군의 경우 투여용량 의존적인 변화를 나타내었다(표 17 및 도 4)

[표 17]

조직형태학적 ¹⁾	변성 사구체의 수
Sham	2.00±1.31
Control [PC-S] ²⁾	77.38±10.61* [3768.75]
CAPT [PC-C] ³⁾	45.75±12.54*# [-40.87]
G31.25 [PC-C]	50.88±11.99*# [-34.25]
G62.5 [PC-C]	43.13±11.64*# [-44.24]
G125 [PC-C]	29.13±14.07*# [-62.32]
SILY [PC]	47.13±12.32*# [-39.10]

상기 표에서, n=8; 신장조직의 변성 부위(%/1mm²)는 평균 ± 표준편차로 나타냄; 그룹 명칭은 표 3에 나타낸 바와 동일; ¹⁾ 모든 조직형태학은 자동화 이미지 분석기를 이용해 변성 사구체(사구체의 N/100)로 나타냄; ²⁾PC-S, 정상 매체 대조군 (Sham)에 대한 퍼센트(%) 변화; ³⁾PC-C, 매체 대조군에 대한 퍼센트(%) 변화; * $p < 0.01$, MW 테스트에 의한 정상 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성; # $p < 0.01$ 및 ## $p < 0.05$, MW 테스트에 의한 매체 대조군과 비교했을 때의 유의성.

당뇨병 신병증, 급성 신부전증 및 아급성 신부전증에 대한 치료 효과가 뛰어난 본 발명의 베타-글루칸을 유효성분으로 하는 약학적 조성물은 비경구 및 경구로 투여될 수 있으며, 하기에 비경구용 제형으로 주사제, 경구용 제형으로 시럽제 및 정제로 제조하였다.

<제제예 1> 주사액제의 제조방법

유효성분 10 mg을 함유하는 주사액제는 다음과 같은 방법으로 제조하였다.

베타-글루칸 1 g, 염화나트륨 0.6 g 및 아스코르브산 0.1 g을 증류수에 용해시켜서 100 ml을 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30 분간 가열하여 멸균시켰다.

상기 주사액제의 구성성분은 다음과 같다.

- 베타-글루칸..... 1 g
- 염화나트륨..... 0.6 g
- 아스코르브산..... 0.1 g
- 증류수..... 정량

<제제예 2> 시럽제의 제조방법

본 발명의 베타-글루칸의 산부가염 및 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분 2%(중량/부피)로 함유하는 시럽은 다음과 같은 방법으로 제조한다.

베타-글루칸의 산부가염, 사카린, 당을 온수 80 g에 용해시켰다. 이 용액을 냉각시킨 후, 여기에 글리세린, 사카린, 향미료, 에탄올, 소르브산 및 증류수로 이루어진 용액을 제조하여 혼합하였다. 이 혼합물에 물을 첨가하여 100 ml가 되게 하였다.

상기 시럽제의 구성성분은 다음과 같다.

- 베타-글루칸의 산부가염..... 2 g
- 사카린 0.8 g
- 당 25.4 g
- 글리세린..... 8.0 g
- 향미료 0.04 g
- 에탄올 4.0 g
- 소르브산 0.4 g
- 증류수 정량

<제제예 3> 정제의 제조방법

유효성분 15 mg이 함유된 정제는 다음과 같은 방법으로 제조한다.

베타-글루칸 250 g을 락토오스 175.9 g, 감자전분 180 g 및 콜로이드성 규산 32 g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160 g, 활석 50 g 및 스테아린산 마그네슘 5 g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

상기 정제의 구성성분은 다음과 같다.

베타-글루칸	250 g
락토오스	175.9 g
감자전분	180 g
콜로이드성 규산	32 g
10% 젤라틴 용액	
감자전분	160 g
활석	50 g
스테아르산 마그네슘	5 g

발명의 효과

이상에서 상세히 설명한 바와 같이, 본 발명은 베타-글루칸을 유효성분으로 포함하는 신장 질환 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 당뇨병에 의한 합병증인 당뇨병성 신병증 및 급성 또는 아급성 신부전증에 대해 치료효과가 뛰어나다.

이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예의 하나일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

도 1은 정상 대조군(a), 당뇨병성 신병증 유발 매체 대조군(b), 캅토프릴 100 mg/kg 투여군(c), 베타-글루칸 62.5 mg/kg 투여군(d) 및 베타-글루칸 125 mg/kg 투여군의 희생시점에서 당뇨병성 신병증 정도 변화를 확인한 신장 조직의 H&E 염색 사진이다. 스케일바 = 200 μ m

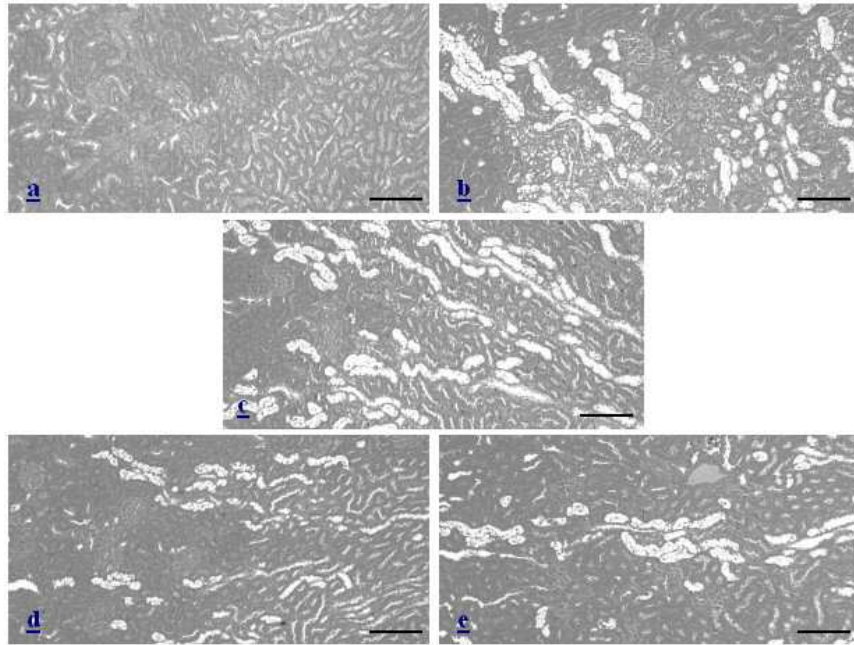
도 2는 N-HC (a, b 및 c), N-HG (d), N-LC (e) 및 N-LG (f) 그룹의 희생시점에서 당뇨병성 신병증 정도 변화를 확인한 신장 조직의 H&E 염색 사진이다. 스케일바 = 200 μ m

도 3a 및 3b는 정상 대조군(1), 급성 신부전증 유발 매체 대조군(2), 캅토프릴 투여군(3), 로사탄 투여군(4), 베타-글루칸 31.25 mg/kg 투여군(5), 베타-글루칸 62.5 mg/kg 투여군(6) 및 베타-글루칸 125 mg/kg 투여군(7)의 희생시점에서 신장의 조직병리학적 변화를 확인한 신장 조직의 H&E 염색 사진이다. 스케일바 = 100 μ m

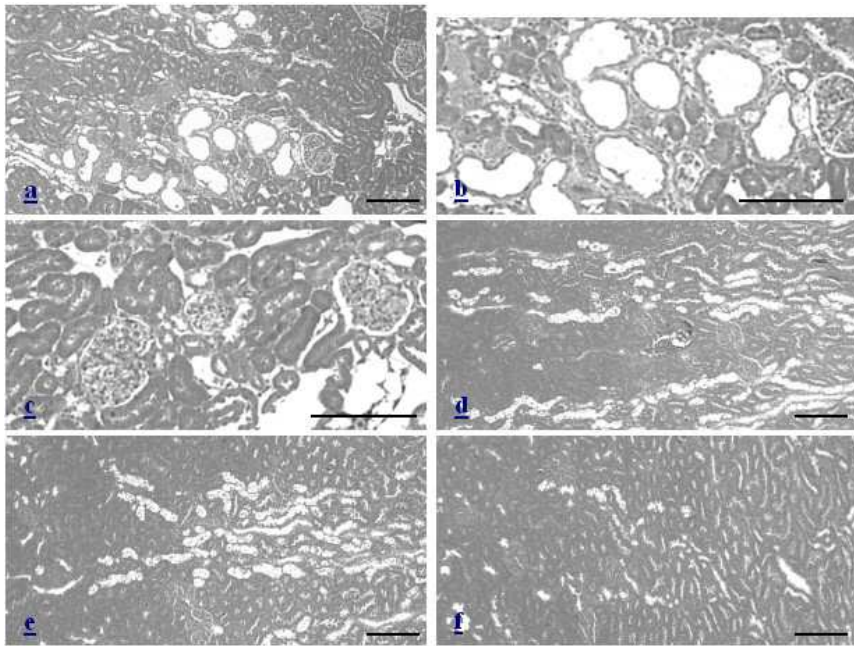
도 4는 정상 대조군(1), 아급성 신부전증 유발 매체 대조군(2), 캅토프릴 투여군(3), 실리마린 투여군(4), 베타-글루칸 31.25 mg/kg 투여군(5), 베타-글루칸 62.5 mg/kg 투여군(6) 및 베타-글루칸 125 mg/kg 투여군(7)의 희생시점에서 신장, 특히 사구체의 조직병리학적 변화를 확인한 신장 조직의 H&E 염색 사진이다. 스케일바 = 100 μ m

도면

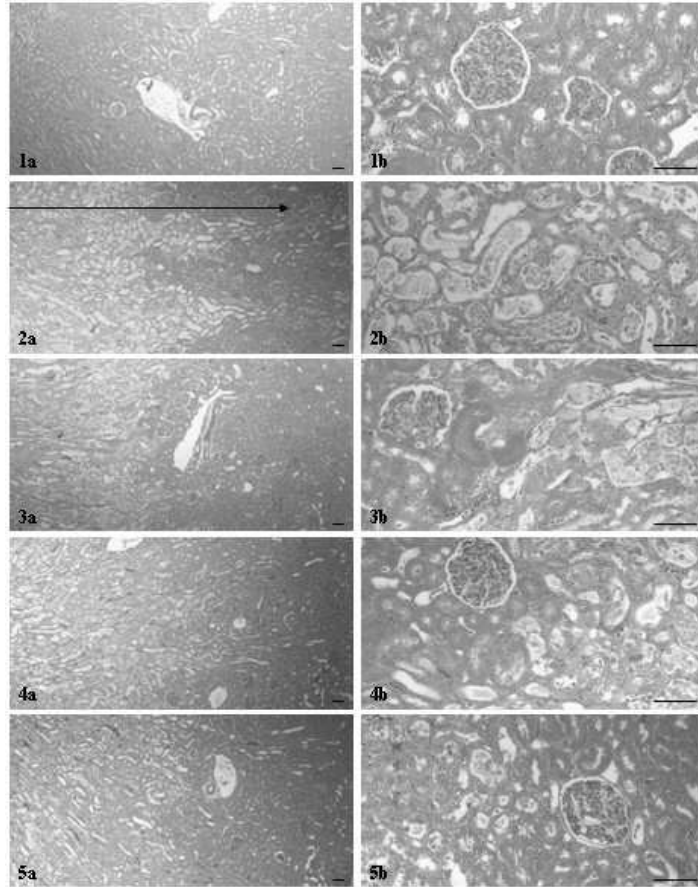
도면1



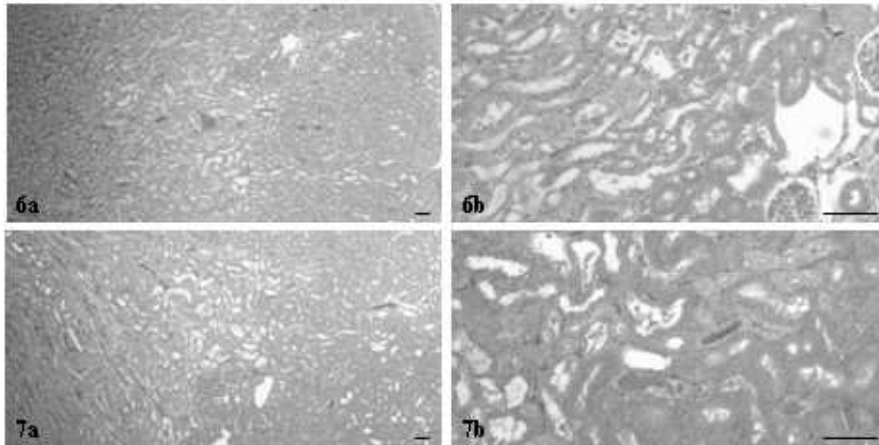
도면2



도면3a



도면3b



도면4

