

천궁의 열수추출액이 고지방식이에 의한 흰쥐의 혈장 중 효소활성과 호르몬 및 간장의 지방축적에 미치는 영향

성태수·손규목
창원전문대학 식품영양과

Effect of *Cnidi rhizoma* Boiling Extract Solution on Enzyme and Hormone of Plasma, and Liver in the Fatted Rats Induced by High Fat Dietary

Tae-Soo Sung, Gyu-Mok Son

Dept. of Food and Nutrition, Changwon Junior College, Changwon 641-210, Korea

Abstract

This study was carried out to evaluate the effect of *Cnidi rhizoma*(CR) water extract on fat accumulation in fatted rats induced by the oral high fat administration for six weeks. To accomplish this evaluation, the serum and liver tissue have been examined for enzyme activity, cortisol and insulin level. The change of liver tissue have been observed by the light microscope. GOT, GPT and LDH activities were lower than the control group. Insulin and cortisol were higher than the control group, due to the fat accumulation. The liver of the control group observed by the light microscope appeared to the fatty liver, but CR group showed some improvement of the fatty liver. Based on the above results, it was shown that it is possible to improve fat accumulation induced by high fat dietary through using the oral administration of *Cnidi rhizoma* water extract.

Key words : *Cnidi rhizoma*, GOT, GPT, cortisol, insulin

서 론

전보¹⁾에서는 고지방식이에 의한 비만유도 흰쥐에 천궁열수 추출액의 지방축적억제 효과를 규명하기 위하여 혈장, 간 및 지방조직중 지방성분들의 침착도를 분석하고 지방대사에 중요한 영향을 미치는 지단백질과 이들의 전기영동 패턴 분별중 담즙산과 중성스테로이드 배설량을 분석 보고한 바 있다. 본 연구에서는 전보¹⁾에 이어 혈장 중의 효소활성 및 호르몬 분비를 측정하였으며 광학현미경으로 간장의 조직을 관찰하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재 료

천궁(*Cnidi rhizoma*)은 1993년 9월 대구 약령시장에서 구입하였으며 세정후 실험재료로 사용하였다.

2. 검액의 조제

천궁 375 g을 세절하여 둥근플라스크에 넣고 3,000 ml의 증류수를 가하여 2시간 진탕한 후 여액을 회전 증발기를 이용하여 250 ml로 감압 농축한 후 rat 체중 100 g당 액기스 1 ml를 1일 2회 6주간 경구투여하였으며 대조군에는 동량의 생리식염수를 경구투여하였다.

Table 1. The composition of experimental diets(%)

Ingredients	Group		
	NOR	CON	CR
Casein	20.00	20.00	20.00
Sucrose	25.00	25.00	25.00
Starch	42.65	21.15	21.15
Corn oil	5.00	—	—
Hydrogenated palm oil	—	25.00	25.00
Cellulose	2.50	2.50	2.50
Mineral mixture*	3.50	3.50	3.50
Vitamin mixture*	1.00	1.00	1.00
Choline chloride	0.20	0.20	0.20
DL-methionine	0.15	0.15	0.15
Cholesterol	—	1.00	1.00
Sodium taurocholate	—	0.50	0.50
CR extract			1ml /100g

* : AIN - 76 TM, NOR : Normal, CON : Control, CR : *Cindi rhizoma*. 2 × 1ml /100g body weight /day

3. 실험동물 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley 종의 수컷(170~180g)을 체중에 따라 난괴법에 의해 7마리씩 3 군으로 다음과 같이 나누었다. 정상군은 정상식이군(이하 NOR군), 대조군은 고지방식이군(이하 CON군), 실험군은 고지방식이 + 천궁추출액(이하 CR군)이며 실험기간 동안 실험식사와 물은 제한없이 먹도록 하였다. 실험식사의 구성성분은 Table 1 과 같다²⁾.

4. 혈장 및 간장 채취

6 주간의 실험식이 급여 후에 16 시간 절식시키고 디에틸에테르로 마취시켜 개복하여 복부대동맥으로부터 혈액을 채취한 다음 간장을 적출하였다. 혈장을 얻기 위하여 채혈 즉시 혈액 100 ml에 ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) 1 mg이 함유된 원심관에 넣고 냉장조건 하에서 3,000 rpm, 10 분간 원심분리시켜 상정액의 혈장을 얻었다. 적출한 간장은 혈관속의 혈액을 제거하기 위하여 생리식염수로 세척하고 여과지로 수분을 제거한 후 조직검사를 위한 공식 재료로 사용하였다.

5. 혈장 중의 효소 측정

Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성도측정은 Reitman-Frankel법³⁾으로 측정하였다. GOT는 L-aspartic acid와 α -ketoglutaric acid의 아미노기 전이를 촉매하는 효소이고, GPT는 L-alanine과 α -ketoglutaric acid의 아미노기 전이를 촉매하는 효소로써 GOT와 GPT에 의해서 생성된 각각의 oxaloacetic acid와 pyruvic acid를 알칼리조건하에서 2,4-dinitrophenylhydrazine과 반응해서 생성된 2,4-dinitrophenylhydrazone의 흡광도를 505 nm에서 측정하였다. Lactic dehydrogenase (LDH)의 활성도측정은 formorzan생성법⁴⁾으로 측정하였다. LDH는 lactic acid를 탈수시켜 pyruvic acid를 생성한다. 이때 보조효소 NAD는 NADH로 환원되며, 생성된 NADH는 1-methoxy PMS 존재하에 nitrotetrazolium blue를 환원시켜 diformorzan을 생성한다. 이 diformorzan의 흡광도를 570 nm에서 측정하였다.

6. 호르몬 분석

Table 2. Effect of experimental diets on the weight of body and liver in rats fed with high fat-diet for 6 weeks

Group	Initial body Wt(g)	Final body Wt(g)	Weight gain (%)	Liver/body Wt(%)
NOR	167.18±2.31	249.64± 4.23	49.06	3.96
CON	163.23±2.53	289.19±10.00	77.16	4.32
CR	168.15±5.14	253.27±12.83	50.62	4.02

All values are means ± standard error of seven rats.

NOR : Normal group, CON : Control group, CR : *Cnidi rhizoma* extracts group

Table 3. Effect of experimental diets on plasma GOT activity, GPT activity and LDH activity in rats fed with high fat-diet for 6 weeks.

Group	GOT (Karman unit)	GPT (Karman unit)	Lactate Dehydrogenase (Wroblewski unit)
NOR	47.33±11.33	46.67±4.11	230.00±11.40
CON	53.00±9.78	50.50±3.80	265.83±29.65
CR	48.00±9.55	46.67±4.75	217.50±42.46

All values are means±standard error of seven rats.

NOR : Normal group, CON : Control group, CR : *Cnidi rhizoma* extracts group

혈장 중 코티졸⁵⁾과 인슐린⁶⁾ 함량은 radioimmunoassay법에 따라서 γ -counter로 측정하였다.

조군은 4.32 %로 높았으며 실험군은 4.02% 로 대조군보다 낮았다.

7. 간장의 형태학적 관찰

간장의 일반적인 조직학적 관찰을 위하여 개복 즉시 간장의 중엽에서 일부 간장조직을 절취하고 10 % 중성 포르말린 용액에 고정한 다음 수세, 탈수과정을 거친 후 paraffin 포매하였다. Paraffin block은 4~5 m 두께로 박절하여 H-E염색하고 광학현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가와 간장의 무게

Table 2 는 해당 식이로 6 주간 사육하면서 실험동물의 체중 증가율과 체중에 대한 간장의 무게를 중량 백분율로 표시한 것이다. 고지방식으로 6 주 동안 사육한 대조군은 77.16 %의 체중 증가를 보였으나 실험군의 체중증가는 50.62 %로 대조군에 비해 낮았다. 체중에 대한 간의 백분율은 정상군이 3.96 %인데 비해 대

2. 혈장 중 GOT, GPT 및 LDH의 활성도

실험군의 GOT 및 GPT 그리고 LDH의 활성도는 Table 3 과 같다. GOT와 GPT의 활성은 대조군이 53.00±9.78 unit와 50.50±3.80 unit로 정상군보다 높으며 실험군의 활성은 정상군과 비슷하였다. LDH 활성은 대조군이 265.83±29.65 unit로 정상군의 230.00±11.40 unit에 비하여 높았으며 실험군은 217.50±42.46 unit로 대조군에 비하여 22~25 % 낮았다. 이는 미만유도중 천공급여로 인한 간장기능 및 근육조직의 기능을 개선시켰으며 독성등은 없는 것으로 사료된다.

3. 인슐린과 코티졸 함량

Table 4 는 대조군과 실험군의 6 주간 사육한 후 혈장 중 인슐린과 코티졸함량을 분석한 결과이다. 인슐린 분비량은 정상군에 비해 대조군이 거의 3배나 분비량이 증가하였으며 실험군은 13.23±2.29 U/U/ml

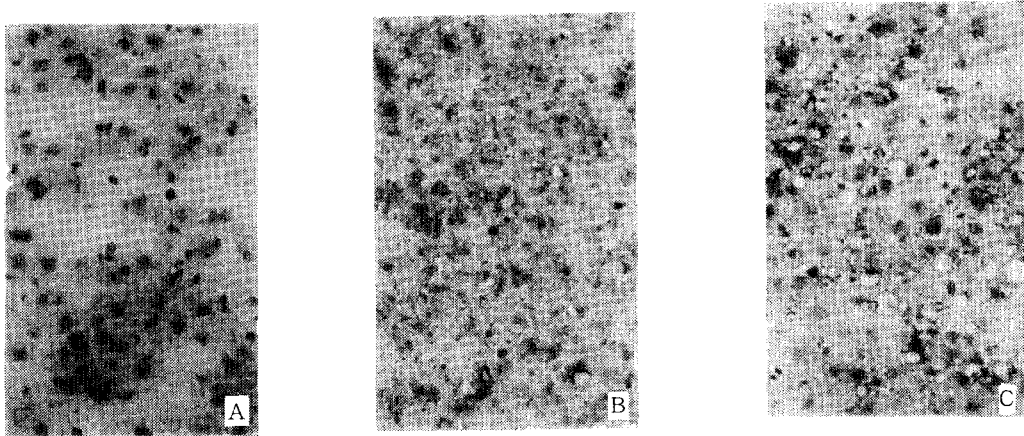


Fig. 1. Photographs of liver tissues of rats

- A. Liver of rat fed with normal diet for 6 weeks (×200)
- B. Liver of rat fed with high fat diet (control) for 6 weeks (×200)
- C. Liver of rat fed with high fat diet and administered with *Cnidi rhizoma* extracts solution for 6 weeks (×200)

Table 4. Effect of experimental diets on plasma insulin and cortisol level in rats fed with high fat-diet for 6 weeks.

Group	NOR	CON	CR
Insulin (U/U/ml)	6.68±0.79	19.02±4.02	13.23±2.29
Cortisol (g/dl)	0.45±0.07	0.57±0.03	0.48±0.04

All values are means±standard error of seven rats

NOR : Normal group

CON : Control group

CR : *Cnidi rhizoma* extracts group

로 정상군의 2배 정도이나 대조군보다는 낮았다. 이는 고지방하여 지질의 이동에 영향을 주는 인슐린의 함량이 높았으나 천궁의 투여로 인하여 감소하였다. 코티솔의 함량은 대조군이 정상군보다 함량이 높았으며 실험군은 대조군보다 낮으나 정상군보다 높았다. 지방간을 일으키는 보편적인 임상 예를 보면 지질이동에 영향을 주는 많은 호르몬들이 저장지질의 빠른 이동을 유발케 하기 때문인 것으로 추측된다. 이들 호르몬이 지방분해

과정을 자극해서 동시에 재에스테르화를 억제시키므로써 지방산이 지방조직으로부터 유리된다. 지방분해와 에스테르화는 동시에 일어나는 triglyceride의 분해산물인 글리세롤은 재이용되지 않기 때문에 지방조직대사의 최종산물로 간주되어 지방분해 지표로써 이용된다⁷⁾. 고지방식이로 인한 간의 지방축적은 지방조직으로부터 지방이동의 증가 즉 혈장 중 유리지방산 증가 때문이다. 이러한 사실은 고지방식이로 인해 증가된 코티솔의 농도와도 일치한다.

William⁸⁾은 gerbils를 대상으로 한 동물실험에서 혈장 중 인슐린 농도가 casein을 식이했을 때 보다 대두 단백질이 높게 나타남을 보고하였다. Vahouny 등⁹⁾은 casein을 식이한 흰쥐에서는 오히려 그 반대 결과를 얻었다. Floyd등¹⁰⁾은 인슐린 분비는 arginine, leucine 및 lysine 같은 아미노산의 자극에 의해서 뿐만 아니라 탄수화물들이 인슐린 분비를 자극하는 아미노산들의 작용에 영향을 줄 수 있기 때문이라고 하였다. 위의 결과로 미루어 볼때 천궁이 지방조직에서 지방분해와 합성을 유도하는 호르몬의 활성을 부분적으로 억제하는 경향을 나타내었고 이들은 지방의 흡수를

억제하고 근육에서는 지방이용에 상승작용과 비슷한 다른 메카니즘에 의해서 지방대사에 영향을 주는 것으로 추측된다.

4. 간장의 조직학적 형태

6 주간 사육한 후 간세포에서 지방침착에 미치는 영향을 알기 위해서 간조직을 관찰하였다. Fig. 1의 A는 정상군, B는 대조군, C는 천궁을 투여한 간조직을 $\times 200$ 으로 관찰한 그림이다. 정상군은 H-E염색 조건상 간세포의 지방축적과 퇴행성 변화 등 특기할 만한 병변을 볼 수 없이 정상구조를 보였다. 그러나 지방축적 유발군인 대조군의 간조직은 지방구가 선명하게 고밀도로 침착되어 있음을 관찰할 수 있었다. 한편 천궁 투여군은 지방침착도가 약간 감소되었다. Stuart¹¹⁾은 고콜레스테롤을 급여한 흰쥐에서 간 세포질에 지방공포 출현을 관찰하였고 Drevon 등¹²⁾도 지질을 투여한 guinea pig 에서 간의 현저한 콜레스테롤 축적, 간세포내 지방구 출현과 아울러 인지질의 증가를 보였다고 기술하였다.

요 약

Sprague-Dawley 흰쥐에 고지방식으로 6주간 식이 하면서 천궁 열수추출액을 경구투여하면서 실험군의 혈장 중 GOT, GPT 및 LDH 활성과 지방의 분해와 합성에 관여하는 코티졸과 인슐린의 함량을 측정하였다. 또한 지방침착억제효과를 광학현미경으로 관찰하였다. GOT, GPT 및 LDH의 활성은 정상군보다 높았으나 대조군보다 낮았으며 현미경 관찰을 통하여 지방간이 약간 개선되고 있음을 나타내어 천궁의 투여가 고지방식에 의한 비만유발의 개선효과의 경향을 나타내었다.

참고문헌

1. 성태수, 손규복, 배만중 : 천궁의 열수추출액이 고지방식에 의한 흰 쥐의 혈장, 간, 지방조직의 지질함량 및 변 steroids에 미치는 영향, 한국식품영양학회지, 7(2), 100(1994)
2. Saroj, T. and Das, B. R. : Studies in experimental hypercholesterolemia in rats IV, Effect of dietary cholesterol on plasma and hepatic proteins of adult rats maintains on high fat diets, *J. Lab. Clin. Med.*, 60(2), 284(1962)
3. Reitman, S. and Frankel, S. : Transaminase activity in human blood, *Am. J. Clin. Path.*, 28, 56(1957)
4. LDH-LQ : Iatron Lab., Tokyo, Japan
5. Reid, R. L. : β -Endorphin stimulates the secretion of insulin and glucagon in human, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52, 592(1981)
6. Cuillemin, R. : Radioimmunoassay for α -endorphin and β -endorphin, *Bioche. R Biophys. Res. Commun.*, 77, 361 (1977)
7. Nestel, P. J. : *Lipoprotein transport, newer methods of nutritional biochemistry*, Academic press, New York, Vol. 3, p. 243(1983)
8. William A. F. : Comparison of dietary casein or soy protein effects on plasma lipids and hormone concentration in the gerbil *Meriones unguiculatus*, *J. Nutr.*, 116, 1165 (1986)
9. Vahouny, G. V., Adomson, I., Chalcarz, W., Satchithanandam, S., Muesing, R., Klurfeld, D. M., Danghvi, A. and Kritchevsky, D. : Effects of casein and soy protein in hepatic and serum lipids and lipoprotein lipid distributions in the rats, *Atherosclerosis*, 56, 127 (1985)
10. Floyd, J. C., Fajams, S. S., Pek, S., Thiffault, C. A., Knoph, R. F and Conn, J. W. : Synergistic effect of essential amino acids and glucose upon insulin secretion in man, *Diabetes*, 19, 109 (1970)
11. Stuart, A. E. and Smith, I. I. : Histological effects of lipids on the liver and spleen of mice, *J. Pathol.*, 115, 63 (1975)
12. Drevon, C. A. and Hoving, J. : The effects

of cholesterol fat feeding on lipid levels and
morphological structure in liver, Kidney and
spleen in guinea pigs, *Acta. Path. Microbiol.*
Scand. Sect. A, **85**, (1977)

(1994년 4월 15일 수리)