

메밀급여가 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 췌장 소화효소 활성에 미치는 영향

이정선[†] · 이명헌* · 손흥수** · 맹영선***

한림대학교 자연과학연구소, *한국식품개발연구원
안산공업전문대학 식품영양학과, *한림대학교 한국영양연구소

Effects of Buckwheat on the Activities of Pancreatic Digestive Enzymes in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Jung-Sun Lee[†], Myung-Heon Lee*, Heung-Soo Son** and Young-Sun Mang***

Institute of Natural Science, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

**Korea Food Research Institute, Sunghwan 463-420, Korea*

***Dept. of Food Engineering, Ansan Technical College, Ansan 425-701, Korea*

****Korea Nutrition Institute, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea*

Abstract

This study was undertaken in order to elucidate the effects of raw, roast and steamed buckwheat on fecal protein, pancreas weight, the activities of α -amylase, chymotrypsin and lipase of the pancreas, and α -amylase, chymotrypsin and trypsin activities of the feces in streptozotocin-induced diabetic rats. Fecal proteins of raw, roast and steamed buckwheat diabetic groups were increased up to 99%, 91%, 103%, respectively compared to those of the diabetic control group. Feeding of buckwheat diet increased pancreas weight, especially raw buckwheat diabetic group ($p < 0.05$). Pancreatic chymo-trypsin activity was decreased in buckwheat diabetic groups compared to diabetic control group, whereas any significant difference was observed in α -amylase and lipase activities. Fecal chymotrypsin activity was significantly increased in all buckwheat diabetic groups. Fecal trypsin activity was increased in roast buckwheat diabetic groups compared to diabetic control group and fecal α -amylase activity in buckwheat diabetic group was not significantly different. These results suggest that feeding of buckwheat diet enhances the impaired exocrine pancreatic function of diabetic rat.

Key words: buckwheat, diabetic rat, pancreatic digestive enzymes, pancreas, feces

서 론

췌장은 하나의 기관으로써 내분비기능(endocrine function)을 하는 islets와 외분비기능(exocrine function)을 담당하는 acinar cell로 이루어져 있다. Islets에서는 혈당조절 호르몬인 인슐린이 분비되고 acinar cell에서는 α -amylase, trypsinogen, chymotrypsinogen, lipase 등이 분비되며 인슐린 공급이 감소되면 이들 소화효소의 합성 및 분비에 이상을 초래하게 된다(1). Alloxan이나 streptozotocin(STZ)에 의해 유도된 당뇨쥐의 경우 췌장조직의 α -amylase 활성은 현저히 감소되고(2-5) trypsinogen(5,6), chymotrypsinogen(7), lipase(5,6) 활성은 증가되는데, 이러한 효소활성의 변화는 효소를 합성하는 mRNA 수준의 변화 때문인 것으로 보고되

었다(1,6). 그러나 당뇨쥐에 인슐린을 투여하면 췌장조직의 α -amylase 활성은 증가되고 trypsinogen, chymotrypsinogen, lipase 활성은 감소되어 소화효소의 균형을 회복하는 것으로 보고되고 있다(6,8,9).

한편, 낱콩을 실험동물에 섭취시켰을 경우 실험동물의 성장은 저하되고 변중 질소 배설량의 증가와 더불어 췌장의 비대현상(hypertrophy)이 나타나게 되는데(10-15), 이는 낱콩에 함유되어 있는 trypsin inhibitor 때문인 것으로 알려져 있다. 이러한 trypsin inhibitor는 췌장에 조직학적인 변화 뿐만 아니라(14,15) 생화학적 변화를 초래하여 단백질 소화효소의 분비를 촉진시키는 것으로 보고되고 있다(10,13,16). Ikeda와 Kusano는(17,18) 메밀 또한 trypsin inhibitor 활성이 높은 것으로 보고하였으며 본 실험에 사용한 메밀도 trypsin

[†]To whom all correspondence should be addressed

inhibitor를 함유하고 있는 것으로 확인되었다(19,20). 최근에는 trypsin inhibitor가 trypsin 뿐만 아니라 chymotrypsin 활성도 억제시키는 것으로 보고되어 protein inhibitor로 알려지고 있다(21,22).

한편, 필자들은 전보(20)에서 낱메밀, 볶은메밀, 찐메밀로 처리한 메밀을 실험식이에 50%(w/w) 혼합한 식이로 STZ 유발 당뇨쥐를 2주간 사육시켰을 때 당뇨메밀군은 정상대조군 및 당뇨대조군에 비해 혈당 및 혈중 지질 농도는 유효하게 감소되었고, 변 중 질소 배설량은 높았으며 체장의 무게 또한 증가하는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 protein inhibitor를 함유하고 있는 50% 메밀식이의 장기적인 섭취가 퇴행적으로 변화되는 당뇨쥐의 체장에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위하여 체장 소화효소 및 체장에서 분비된 변 중 소화효소의 활성을 측정하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물 사육

실험동물은 숫컷의 Sprague-Dawley계(270~340g) 쥐를 한림대학교 실험동물부로부터 분양받아 일정한 조건(온도: 20~22°C, 습도: 50%, 명암: 12시간 주기 조명) 하에서 안정시킨 후 stainless steel cage에서 한 마리씩 사육하였다. 실험쥐의 당뇨유발은 0.01M citrate buffer(pH 4.5)에 streptozotocin을 용해시킨 후 이 용액을 1회 복강주사(60mg/kg BW)하였고, 당뇨확인 은 뇨당 측정용 strip(Boehringer Mannheim, Germany)을 이용하였으며 뇨당 농도가 300mg 이상인 것만을 당

뇨병이 유발된 것으로 간주하였다.

실험동물은 정상대조군(Normal control; n=10), 당뇨대조군(Diabetic control; n=11), 당뇨낱메밀군(Diabetic raw buckwheat; n=10), 당뇨볶은메밀군(Diabetic roast buckwheat; n=13), 당뇨찐메밀군(Diabetic steamed buckwheat; n=12)으로 나누어 2주간 사육하였다. 물과 사료는 자유로이 섭취시켰으며, 사료 섭취량은 매일 일정한 시간에, 체중은 2일 간격으로 측정하였다.

식이조제

본 실험에 사용한 메밀은 경기도 가평군에서 수확된 것을 구입하였으며 이들 메밀시료는 낱메밀, 볶은메밀, 찐메밀로 나누어 처리한 후 각각 분쇄하여 실험식이에 50%(w/w)가 되도록 혼합하였다. 본 실험의 식이성분 조성은 Table 1과 같았고, 메밀의 일반성분은 Table 2와 같으며, 시료의 처리조건 및 일반성분 분석

Table 2. Proximate composition, total dietary fiber and trypsin inhibitor of buckwheats

	Raw	Roast	Steamed
	Buckwheat		
Moisture(%)	14.70±0.05 ¹⁾	2.24±0.01	8.54±0.02
Crude protein(%)	10.94±0.03	13.32±0.19	11.47±0.50
Crude fat(%)	2.70±0.04	3.11±0.09	2.94±0.12
Crude ash(%)	1.76±0.01	2.25±0.02	2.03±0.11
TAC ²⁾ (%)	66.20±0.56	76.69±1.11	76.46±3.29
TDF ³⁾ (%)	3.64±0.03	3.44±0.02	3.64±0.03
TI ⁴⁾ (mg/g)	0.58±0.04	0.21±0.03	0.19±0.01

¹⁾Mean±S.D., ²⁾Total available carbohydrate

³⁾Total dietary fiber, ⁴⁾Trypsin inhibitor

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Normal & diabetic control	Diabetic		
		Raw buckwheat	Roast buckwheat	Steamed buckwheat
Casein	20.0	14.5	13.3	14.3
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.2
Sucrose	50.0	24.5	26.1	25.1
Corn starch	15.0	0.0	0.0	0.0
Fiber	5.0	3.2	3.3	3.2
Corn oil	5.0	3.7	3.5	3.5
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
AIN-mineral mix ¹⁾	3.5	2.6	2.4	2.5
AIN-vitamin mix ²⁾	1.0	1.0	1.0	1.0
Buckwheat	0.0	50.0	50.0	50.0

¹⁾AIN-76 Vitamin mix(g/kg mix): thiamin·HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine·HCl 0.7, nicotinic acid 3, D-calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, D-biotin 0.02, cyanocobalamin 0.001, retinyl palmitate 0.8(250,000IU/g), DL-alpha-tocopheryl acetate 20(250IU/g), cholecalciferol(400,000IU/g) 0.005, menaquinone 0.005, sucrose 972.9

²⁾AIN-76 Mineral mix(g/kg mix): CaHPO₄ 500, NaCl 74, K citrate monohydrate 220, K₂SO₄ 52, MgO 24, Mn carbohydrate 3.5, Fe citrate 6.0, Zn carbonate 1.6, Cu carbonate 0.3, KIO₃ 0.01, Na₂SeO₃·5H₂O 0.01, CrK(SO₄)₂·12H₂O, 0.55, sucrose 118

방법은 전보(20)와 같다.

시료의 수집

변은 2주간의 사육 기간이 끝난 다음날 metabolic cage에서 24시간 동안 수집하였으며, 변 채취 후 12시간 동안 절식시키고 ether로 가볍게 마취한 후 도살하였다. 실험쥐에서 떼어낸 췌장은 지방을 제거하고 filter paper로 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다. 변은 이물질을 제거하고 개체당 중량을 평량한 후 혼합하여 그 일부는 수분 함량 및 건조 중량 측정에 이용하였으며 나머지는 소화효소의 활성측정에 사용하였다. 소화효소의 활성측정에 사용할 췌장과 변은 분식 전까지 -70°C 냉동고에 보관하였으며, 변의 소화효소 활성 측정은 시료 수집 후 2주일 이전에 실시하였다.

변의 건조 중량, 수분 함량 및 질소 함량 측정

변의 건조 중량 및 수분 함량은 105°C dry oven에서 측정하였으며, 질소 함량은 micro-kjeldahl 방법으로 측정하였다.

췌장의 소화효소 활성측정

췌장의 α -amylase 효소액은 Tovar 등의 방법(3)에 따라 추출하였으며, α -amylase의 활성은 Bernfeld 방법(23)에 의하여 측정하였다. α -Amylase unit는 pH 6.9, 온도 20°C에서 3분간 반응시켰을 때 생성되는 maltose의 mg으로 하였으며, 기질 첨가시 반응한 시료용액의 흡광도에서 시료자체의 흡광도를 빼주었다. 췌장의 chymotrypsinogen은 Gorrill과 Thomas의 방법(24)에 따라 추출하였으며, Green과 Lyman의 방법(25)에 의하여 chymotrypsinogen을 chymotrypsin으로 활성화하였다. Chymotrypsin의 활성은 N-benzoyl-DL-tyrosine-p-nitroanilide를 기질로 이용하는 Rick의 방법(26)으로 측정하였으며, pH 7.8, 온도 37°C에서 1분

간 반응시켰을 때 410nm에서 0.001의 흡광도 변화를 1 unit로 정의하였다. 췌장의 lipase 활성은 olive oil을 기질로 이용하는 turbidometric방법(27)으로 측정하였고, pH 7.7 실온에서 3분간 반응시켰을 때 340nm 파장에서 농도에 따라 조제한 lipase 표준용액(Sigma No. L-3126, 44U/mg soild)의 흡광도 변화에 따라 시료의 lipase 활성 unit를 정의하였다.

변중의 소화효소 활성측정

변의 α -amylase 추출은 췌장에서와 같은 방법으로 하였으며, trypsin과 chymotrypsin은 생리식염수로 추출하였다. 변 중 α -amylase와 chymotrypsin의 활성은 췌장에서와 같은 방법으로 측정하였으며, trypsin 활성은 N-benzoyl-DL-arginin-p-nitroanilide를 기질로 이용한 Erlanger 등의 방법(28)을 이용하였고, trypsin 활성은 pH 8.2, 온도 37°C에서 1분간 반응시켰을 때 410nm에서 0.001의 흡광도 변화를 1 unit로 정의하였다. 변에서의 lipase 활성은 측정되지 않았다.

자료의 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SAS computer program(29)을 이용하여 평균과 표준오차를 구하였으며, 각 실험군들간의 실험결과는 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 행하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량, 체중변화량 및 사료효율

실험기간 중 실험동물의 식이 섭취량, 사료 효율 및 체중 변화량은 Table 3과 같다.

식이 섭취량을 정상군 보다 당뇨병군에서 유의적으로 많았으며 이는 당뇨병으로 인한 다식 현상으로 생

Table 3. Food intake, weight change and FER of experimental rats

Group	Number of animal	Diet intake(g/day)	Weight change(g)	FER ²⁾
Normal control	10	19.8±1.1 ^{a1)}	+30.5±13.1 ^a	0.12±0.03 ^a
Diabetic control	11	38.6±1.8 ^b	-48.4±9.5 ^b	-0.09±0.02 ^b
Diabetic buckwheat				
Raw buckwheat	10	37.4±1.2 ^b	-37.6±11.5 ^b	-0.06±0.02 ^b
Roast buckwheat	13	38.7±1.6 ^b	-39.7±7.3 ^b	-0.08±0.01 ^b
Steamed buckwheat	12	35.7±1.8 ^b	-51.9±10.6 ^b	-0.11±0.02 ^b

¹⁾Mean±S.E.

²⁾Food efficiency ratio: Body weight gain(g/week) divided by food intake(g/week)

Values within the same column with different alphabets are significantly different(p<0.05) among groups by Duncan's multiple range test

Table 4. The wet weight, dry weight, water contents and protein contents of feces, and pancreatic weight of experimental rats

Groups	Fecal wet wt (g/24h)	Fecal dry wt (g/24h)	Fecal water (%)	Fecal protein, dry wt (%)	Pancreatic wet wt (g)
Normal control	1.2±0.2 ^{a1)}	0.9±0.1 ^a	28.8±2.6 ^a	12.2±0.7 ^{a3)}	0.99±0.05 ^{ab}
Diabetic control	5.5±1.0 ^b	2.7±0.3 ^b	48.5±5.3 ^b	11.4±1.1 ^a	0.92±0.03 ^a
Diabetic buckwheat					
Raw buckwheat	6.8±1.1 ^b	3.7±0.6 ^b	45.2±4.6 ^b	22.7±2.1 ^b	1.14±0.05 ^c
Roast buckwheat	7.0±1.0 ^b	3.3±0.3 ^b	48.7±4.2 ^b	21.8±1.1 ^b	1.06±0.04 ^{bc}
Steamed buckwheat	6.4±0.7 ^b	3.4±0.3 ^b	45.7±4.6 ^b	23.1±1.2 ^b	1.05±0.04 ^{abc}

¹⁾Mean±S.E

Values within the same column with different alphabets are significantly different ($p < 0.05$) among groups by Duncan's multiple range test

각된다. 한편 당뇨대조군과 당뇨메밀군들간의 식이 섭취량은 유의적인 차이가 없었다. 체중은 정상대조군이 실험 초기에 비해 실험기간이 끝난 후 30.5g 증가한데 반하여 모든 당뇨군들의 경우에는 감소하였다. 2주간의 실험기간이 끝난 후 당뇨군들의 체중 감소는 당뇨전 메밀군이 51.9g으로 가장 컸고, 당뇨날메밀군이 37.6g으로 가장 적었다. 따라서 식이 효율도 정상대조군에 비해서 모든 당뇨군에서 현저히 낮았으며, 메밀섭취군 중 당뇨전메밀군에서 낮은 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 아니었다. 이와 같이 당뇨쥐에 비해 정상쥐의 식이 섭취량이 많음에도 불구하고 실험 기간 중에 계속적인 체중의 감소가 일어나는 것은 당뇨에 의한 체내대사의 퇴행적인 변화 때문인 것으로 보여진다.

배변량, 변의 건조 중량, 수분 함량, 질소 함량 및 췌장의 무게

2주간의 사육이 끝난 후 24시간 동안 수집된 실험동물의 배변량, 변의 건조 중량, 수분 함량, 질소 함량 및 췌장 무게는 Table 4와 같다.

실험동물의 배변량, 변의 건조 중량 및 수분 함량은 정상대조군 보다 모든 당뇨군들에서 유의적으로 높았으나, 당뇨대조군과 당뇨메밀군들 사이에는 유의적인 차이가 없었다. 배변량, 변의 건조 중량 및 수분 함량이 정상대조군 보다 모든 당뇨군들에서 유의적으로 높은 것은 당뇨쥐의 경우 당뇨현상으로 인하여 정상쥐 보다 식이 및 물의 섭취량이 유의적으로 많았기 때문인 것으로 생각된다. 변중 질소 함량은 정상대조군과 당뇨대조군에서는 각각 12.2%와 11.4%로 유사한 수준이었으며, 당뇨날메밀군, 당뇨볶은메밀군, 당뇨전메밀군에서는 각각 22.7%, 21.8%, 23.1%로 정상대조군 및 당뇨대조군에 비하여 유의적으로 높게 나타났다. 메밀은 단백질 함량이 다른 곡류에 비해 많이 함유되어 있고, 영양적으로 우수한 아미노산 조성을 가지고 있으면,

다른 곡류에는 부족한 필수아미노산인 lysine의 함량이 높아 질이 좋은 식품이지만(30) 여러 동물실험 결과, 단백질의 소화 및 흡수가 좋지 않은 것으로 보고되기도 하였다(31,32). 본 실험에서 변중 질소 함량이 높게 나타난 것은 메밀에 함유된 단백질의 소화·흡수가 저하되었거나, 시료 중의 protein inhibitor가 trypsin 및 chymotrypsin과 결합하므로 효소-inhibitor 복합체를 형성하였기 때문인 것으로 생각할 수 있다.

췌장 무게는 정상대조군 및 당뇨대조군에 비하여 당뇨메밀군들에서 높게 나타났으며 당뇨날메밀군, 당뇨볶은메밀군, 당뇨전메밀군은 당뇨대조군 보다 각각 24%, 15%, 14% 증가되었다. 한편, 열처리에 의해 단백질 저해제가 60% 이상 파괴된 볶은메밀과 전메밀 섭취군의 췌장무게는 비슷하게 나타났다. 췌장무게 및 췌장의 단백질, DNA, RNA 함량을 증가시키는 호르몬으로는 gastrin, secretin, cholecystokinin(CCK) 등이 있으며(33), 쥐의 경우 trypsin inhibitor 또한 CCK의 분비를 자극하여 췌장무게 및 췌장세포 증식을 증가시키는 것으로 보고되고 있다(10). 이러한 췌장무게의 증가가 췌장의 생화학적 변화를 수반하는 것으로 보고되고 있으므로(10,13) 췌장조직의 소화효소 및 췌장에서 분비되어 변으로 배설되는 소화효소 활성을 측정하였다.

췌장의 소화효소 활성

정상대조군, 당뇨대조군 및 당뇨메밀군들의 췌장 소화효소 활성은 Table 5와 같다.

당뇨대조군의 α -amylase 활성은 정상대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 이러한 결과는 당뇨쥐의 췌장 α -amylase 활성이 감소되었다는 다른 연구결과들과 일치하는 것이었다(2-5). 당뇨날메밀군, 당뇨볶은메밀군 및 당뇨전메밀군의 α -amylase 활성은 당뇨대조군의 18.8U에 비하여 각각 11%, 10%, 6% 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다. 일반

Table 5. Pancreatic enzyme activities of the experimental rats (U/g of pancreas)

Groups	α -Amylase	Chymotrypsin	Lipase
Normal control	271.9 \pm 9.2 ^{a1)}	31238 \pm 3098 ^{bc}	1406 \pm 15 ^{NS}
Diabetic control	18.8 \pm 3.4 ^b	51619 \pm 7259 ^a	1489 \pm 44
Diabetic buckwheat			
Raw buckwheat	47.6 \pm 12.3 ^b	50708 \pm 11817 ^a	1248 \pm 314
Roast buckwheat	46.5 \pm 9.2 ^b	47060 \pm 3707 ^{ab}	1443 \pm 171
Steamed buckwheat	35.8 \pm 13.5	28236 \pm 4280 ^c	1227 \pm 169

¹⁾Mean \pm S.E.

^{NS}Not significant among groups at the 0.05 level according to Duncan's multiple range test

Values within the same column with different alphabets are significantly different(p<0.05) among the groups by Duncan's multiple range test

적으로 당뇨 상태에서는 췌장 외분비조직(exocrine acini)의 α -amylase mRNA 감소에 의하여 α -amylase 함성은 감소되며(1), 당뇨쥐에 insulin을 투여하면 췌장 α -amylase의 분비는 다시 증가되는 것으로 알려져 있다(8). 당뇨쥐의 췌장 α -amylase 활성은 정상상태에 비해서 현저하게 감소되어 전분의 소화에 영향을 미칠 것으로 생각되나 실제로 당뇨쥐의 전분 소화율은 정상쥐와 커다란 차이를 나타내지 않는다(3), 이것은 당뇨쥐의 이하선에서 분비되는 α -amylase가 위장 및 소장에서 활성을 잃지 않고 전분 가수분해에 참여하여 정상 상태에서 보다 더욱 중요한 역할을 담당할 뿐만 아니라(3,4) 소장의 brush border 효소인 sucrase-isomaltase의 활성도 증가되기 때문인 것으로 보고되었다(34). 한편 trypsin inhibitor는 췌장의 α -amylase 활성에 영향을 미치지 않는다는 결과(21)와 α -amylase 활성을 감소시킨다(16,35)는 상반된 연구결과가 보고되기도 하였다.

췌장의 chymotrypsin 활성은 당뇨대조군에서는 51619 U로 정상대조군에 비하여 65% 증가되었고, 당뇨날메밀군, 당뇨볶은메밀군 및 당뇨전메밀군에서는 당뇨대조군 보다 각각 2%, 9%, 45% 감소하였으며, 이와 같은 결과는 당뇨쥐의 췌장 조직의 chymotrypsin 활성이 증가하였다는 보고(7)와 유사하였다. 당뇨메밀군들의 chymotrypsin 활성은 메밀의 조리방법에 따라 상당한 차이를 나타냈으며, 특히 당뇨전메밀군의 chymotrypsin 활성은 정상대조군과 비슷한 수준으로 나타났다.

췌장의 lipase 활성은 정상대조군이 1406U, 당뇨대조군이 1489U로 두 군간에 유의적인 차이는 없었으며, 당뇨날메밀군, 당뇨볶은메밀군 및 당뇨전메밀군은 당뇨대조군 보다 각각 16%, 3%, 18% 감소하였으나 실험군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 정상대조군에 비하여 당뇨대조군의 lipase 활성이 105% 증가되었다는 Duan 등의 보고(6)와는 차이가 있었으며, 본 실험에서는 메밀섭취가 췌장의 lipase

활성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Yoshiko와 Fujita(14)은 실험쥐의 췌장을 현미경으로 조직학적인 관찰을 한 결과, trypsin inhibitor는 췌장의 acinar cell 뿐만 아니라 β -cell의 분열을 증가시켜 췌장 islets을 증대시키므로 인슐린의 분비가 증가될 것으로 보고하였다. 그러나 trypsin inhibitor가 췌장의 insulin 분비량에 영향을 미친다는 보고들은 상반된 견해를 갖고 있으며 Temler 등(36)은 trypsin inhibitor를 섭취시키거나 CCK를 투여할 경우 췌장의 내분비세포(islets) 보다는 외분비세포(acini)에서 더욱 커다란 영향을 받는다고 보고하였다.

췌장의 소화효소는 식이를 섭취하면 즉시 반응하여 분비되는데(37), 본 실험에서는 당뇨쥐에게 실험기간 동안 식이를 섭취시키고 12시간 절식시킨 후 도살하여 췌장조직 내의 효소 활성을 보았기 때문에 식이성분에 대한 췌장 효소분비의 즉각적인 반응은 확인할 수 없었다.

한편, Nitsan과 Liener(35)은 실험기간 동안 식이에 적응된 외분비 변화를 확인하기 위해서 식이를 공급하는 동안 변으로 배설된 소화효소 활성을 측정하는 것이 장기간의 식이에 의한 효소의 합성과 분비를 더욱 잘 반영할 수 있다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서는 2주간의 실험기간 동안 식이에 적응된 췌장 외분비기능의 변화를 확인하기 위하여 변에서의 소화효소 활성을 측정하였다.

변의 소화효소 활성

2주간의 사육이 끝난 후 메밀식이를 섭취시키면서 24시간 동안 수집한 정상대조군, 당뇨대조군 및 당뇨메밀군들의 변의 소화효소 활성은 Table 6과 같다.

변의 α -amylase 활성은 당뇨대조군이 30.2U로 정상대조군에 비하여 75% 감소하였으며, 당뇨볶은메밀군은 당뇨대조군에 비하여 21% 증가되었으나 당뇨대조군과 당뇨메밀군들 사이에 유의적인 차이는 없었다

Table 6. Fecal enzyme activities of experimental rats (U/g of dry weight)

Groups	α -Amylase	Chymotrypsin	Trypsin
Normal control	121.0 \pm 23.5 ^{a1)}	3451 \pm 681 ^{bc}	3536 \pm 1129 ^a
Diabetic control	30.2 \pm 12.8 ^b	1820 \pm 343 ^c	1183 \pm 302 ^c
Diabetic buckwheat			
Raw buckwheat	26.5 \pm 9.8 ^b	5474 \pm 118 ^{ab}	1469 \pm 161 ^{bc}
Roast buckwheat	55.6 \pm 19.0 ^b	8480 \pm 1071 ^a	2077 \pm 604 ^b
Steamed buckwheat	31.2 \pm 10.8 ^b	5646 \pm 1197 ^{ab}	1177 \pm 268 ^c

¹⁾Mean \pm S.E.

Values within the same column with different alphabets are significantly different($p < 0.05$) among groups by Duncan's multiple range test

본 실험의 결과에서 당뇨쥐의 췌장 α -amylase는 정상쥐와 비교하여 합성(Table 5)과 분비(Table 6)가 모두 감소되었다.

변의 chymotrypsin 활성은 정상대조군이 3451U인데 비하여 당뇨대조군은 1820U로 47% 유의하게 감소되었으며, 당뇨낱메밀군, 당뇨볶은메밀군, 당뇨찜메밀군은 당뇨대조군 보다 각각 59%, 146%, 64% 유의하게 증가된 것으로 나타났다. 당뇨메밀군들의 변 중 chymotrypsin 활성은 정상대조군과 당뇨대조군에 비하여 높은 것으로 나타났는데, 이는 메밀 중에 함유되어 있는 protein inhibitor에 의해 췌장에서 chymotrypsin의 분비가 증가되었기 때문인 것으로 사료된다. 한편, 낱콩에 함유되어 있는 protein inhibitor는 장관으로 분비된 trypsin 및 chymotrypsin과 결합하기 때문에 낱콩을 섭취한 직후에는 장내 단백질효소의 활성은 급격히 감소되지만, 소장내 단백질 활성이 감소되면 즉시 feedback mechanism에 의해 췌장은 trypsin 및 chymotrypsin의 합성을 촉진시켜 장관으로 분비하기 때문에 변 중 질소 배설량은 증가된다고 한다(21,25). Yajnik 등(38)의 보고에 의하면 당뇨환자의 췌장 lipase와 trypsin의 혈중 농도는 현저히 감소되더라도 혈 중 α -amylase 농도는 일정하게 유지되는 반면, chymotrypsin은 혈 중 lipase나 trypsin 보다 먼저 효소분비의 이상이 초래되어 변의 chymotrypsin 활성은 췌장 분비기능의 지표가 될 수 있다고 하였다.

변의 trypsin 활성은 정상대조군이 3537U이었으며 당뇨대조군은 1183U로 정상대조군에 비하여 65% 유의하게 감소되었고, 당뇨볶은메밀군은 당뇨대조군에 비해 76% 유의적으로 증가하였다.

필자들(22)은 낱메밀, 볶은메밀, 찜메밀에서 각각 일반성분 및 불용성 식이섬유를 제외하고 얻은 분자량 10,000 이상의 수용성분획과 불용성 분획을 이용하여 *in vitro*에서 casein 가수분해 실험을 실시한 결과, 이들 분획은 trypsin과 chymotrypsin에 의한 casein 가

수분해율을 60% 이상 억제하였으며, 이때 낱메밀이나 찜메밀 보다는 볶은메밀에 의한 억제율이 더욱 크게 나타났다. 앞의 실험과 본 실험에서 사용한 메밀은 같은 시료로써 두 실험 모두 trypsin과 chymotrypsin에 미치는 영향이 볶은메밀에서 크게 나타났으며, 췌장소화 효소의 분비에 미치는 메밀의 영향은 trypsin inhibitor 함량과는 비례적으로 일치하지 않았다.

본 실험에서는 당뇨메밀군들 중에서 당뇨찜메밀군이 당뇨대조군에 비하여 췌장의 chymotrypsin 합성을 감소시켜 정상 수준으로 나타났으며, 당뇨볶은메밀은 췌장에서 chymotrypsin과 trypsin 분비를 증가시켜 당뇨쥐의 췌장기능에 유익한 영향을 미치는 것으로 나타났다.

요 약

STZ 유발 당뇨쥐에 낱메밀, 볶은메밀, 찜메밀을 식이의 50%가 되도록 각각 혼합한 메밀식이를 급여하여 2주간 사육시킨 후 변의 단백질 함량, 췌장무게, 췌장의 α -amylase, chymotrypsin, lipase 활성 및 변의 α -amylase, chymotrypsin, trypsin 활성을 각각 측정하였다. 변중 단백질 함량은 당뇨대조군에 비하여 당뇨낱메밀군, 당뇨볶은메밀군, 당뇨찜메밀군에서 각각 99%, 91%, 103% 유의적으로 증가하였으며, 췌장 무게는 당뇨대조군과 비교하여 당뇨낱메밀군에서 24% 유의적으로 증가하였다. 췌장의 α -amylase 및 lipase 활성은 당뇨대조군과 당뇨메밀군들 사이에 유의적인 차이가 없었으나 chymotrypsin 활성은 당뇨찜메밀군에서 45% 유의적으로 감소하였다. 변의 α -amylase 활성은 당뇨대조군과 당뇨메밀군들 사이에 유의적인 차이가 없었으나, chymotrypsin 활성은 모든 당뇨메밀군들에서, trypsin 활성은 당뇨볶은메밀군에서 유의적으로 증가하였다.

문헌

- Williams, J. A. and Goldfine, I. D. : The insulin-pancreatic acinar axis. *Diabetes*, **34**, 980(1985)
- Kurahashi, M. and Inomata, K. : Amylase secretion by parotid glands and pancreas of diabetic rats during feeding. *Am. J. Physiol.*, **254**, G878(1988)
- Tovar, J., Duan, R. D., Albertsson, C. E. and Bjorck, I. : Starch digestibility in the diabetic rat. *Nutr. Res.*, **11**, 1329(1991)
- Tovar, J., Duan Kurahashi, M. and Inomata K. : Role of parotid amylase in starch digestion in the gastro-intestinal tracts of diabetic rats. *J. Dent. Res.*, **68**, 1366(1989)
- 손기호, 김석환, 최종원 : 고혈당 쥐의 췌장효소 활성에 미치는 nicotinamide의 영향. *한국영양학회지*, **21**, 117(1992)
- Duan, R. D., Poensgen, J., Wicker, C., Westron, B. and Charlotte, E. A. : Increase in pancreatic lipase and trypsin activity and their mRNA levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Dig. Dis. Sci.*, **34**, 1243(1989)
- Ben Abdeljlil, A., Palla, J. C. and Desnuelle, P. : Effect of insulin on pancreatic amylase and chymotrypsinogen. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **18**, 71(1965)
- Palla, J. C., Ben Abdeljlil, A. and Desnuelle, P. : Effect of insulin on the rats of biosynthesis of pancreatic enzyme. *Gut*, **9**, 254(1968)
- Henderson, J. R., Daniel, P. M. and Fraser, P. A. : The pancreas as a single organ: the influence of the endocrine upon the exocrine part of the gland. *Gut*, **22**, 158(1981)
- Struthers, B. J., Macdonald, J. R., Dahlgren, R. R. and Hopkins, D. T. : Effects on the monkey pig and rat pancreas of soy products with varying levels of trypsin inhibitor and comparison with the administration of cholecystokinin. *J. Nutr.*, **113**, 86(1983)
- Gertler, A. and Nitsan, Z. : The effect of trypsin inhibitors on pancreo-peptidase E, trypsin, chymotrypsin and amylase in the pancreas and intestinal tract of chicks receiving raw and heated soya-bean diets. *Br. J. Nutr.*, **24**, 893(1970)
- Kakade, M. L., Arnold, R. L., Liener, I. E. and Waibel, P. E. : Unavailability of cystine from trypsin inhibitors as a factor contributing to the poor nutritive value of navy beans. *J. Nutr.*, **99**, 34(1970)
- Struthers, B. J., Macdonald, J. R., Prescher, E. E. and Hopkins, D. T. : Influence of several plant and animal proteins on rat pancreas. *J. Nutr.*, **113**, 1503(1983)
- Yoshiko, Y. and Fujita, T. : Hypertrophy and hyperplasia in the endocrine and exocrine pancreas of rats fed soybean trypsin inhibitor or repeatedly injected with pancreozymin. *Arch. Histol. Jap.*, **39**, 67(1976)
- Rackis, J. J., McGee, J. E., Gumbmann, M. R. and Booth, A. N. : Effects of soy proteins containing trypsin inhibitors in long term feeding studies in rats. *J. Am. Oil. Chemists' Soc.*, **56**, 162(1979)
- Lyman, R. L. and Lepkovsky, S. : The effect of raw soybean meal and trypsin inhibitor diets on pancreatic enzyme secretion in the rat. *J. Nutr.*, **62**, 269(1957)
- Ikeda, K. and Kusano, T. : Isolation and some properties of a trypsin inhibitor from buckwheat grain. *Agri. Biol. Chem.*, **42**, 309(1978)
- Ikeda, K. and Kusano, T. : Purification and properties of the trypsin inhibitor from buckwheat seed. *Agri. Biol. Chem.*, **47**, 1481(1983)
- 홍혜정, 맹영선 : 메밀 트립신 저해제의 특성. *한림대학교 한국영양연구소 연구업적집*, **10**, 51(1993-1994)
- 이정선, 손홍수, 맹영선, 장유경, 주진순 : 메밀급여가 streptozotocin 유발 당뇨병쥐의 장기무게 및 당질과 지질 대사에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **27**, 819(1994)
- Holm, H., Jorgensen, A. and Hanssen, L. E. : Raw soy and purified proteinase inhibitors induce the appearance of inhibitor-resistant trypsin and chymotrypsin activities in wistar rat duodenal juice. *J. Nutr.*, **121**, 532(1991)
- 손홍수, 이정선, 라경수, 락제혁 : *In vitro*에서 메밀 다당분획이 casein 가수분해에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **27**, 866(1995)
- Bernfeld, P. : Amylases, α and β . In "Methods in enzymology" Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.(eds.), Academic Press, New York, Vol. 1, p.149(1955)
- Gorrill, A. D. L. and Thomas, J. W. : Trypsin, chymotrypsin and total proteolytic activity of pancreatic juice and intestinal contents from the bovine. *Anal. Biochem.*, **19**, 211(1967)
- Green, G. M. and Lyman, R. L. : Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion as a mechanism for trypsin inhibitor-induced hypersecretion in rats. *Pro. Soc. Exp. Bio. Med.*, **140**, 6(1972)
- Rick, W. : Chymotrypsin. In "Methods in enzymatic assay" Academic Press, New York, Vol. 2, p.1006(1974)
- Shihabi, Z. K. and Bishop, C. : Simplified turbidimetric assay for lipase activity. *Clin. Chem.*, **17**, 1150(1971)
- Erlanger, B. F., Kokowsky, N. and Cohen, W. : The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.*, **95**, 271(1961)
- 송문섭, 이영조, 조신섭, 김병철 : SAS를 이용한 통계자료분석, 자유아카데미(1993)
- Yeshajahu, P. and George, S. R. : Amino acid composition of buckwheat. *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 270(1972)
- Thacker, P. A., Anderson, D. M. and Bowland, J. P. : Nutritive value of common buckwheat as a supplement to cereal grains when fed to laboratory rats. *Can. J. Anim. Sci.*, **63**, 213(1983)
- Farrell, D. J. : A nutritional evaluation of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Anim. Feed Sci. Tech.*, **3**, 95(1978)
- Johnson, L. : Effects of gastrointestinal hormones on pancreatic growth. *Cancer*, **47**, 1640(1981)
- Olsen, W. A. and Korsmo, H. : The intestinal brush border membrane in diabetes. Studies of sucrase-isomaltase metabolism in rats with streptozotocin diabetes. *J. Clin. Invest.*, **60**, 181(1977)
- Nitsan, Z. and Liener, I. E. : Enzymic activities in the pancreas, digestive tract and feces of rats fed raw

- of heated soy flour. *J. Nutr.*, **106**, 300(1976)
36. Temler, R. S., Dormond, C. A., Simon, E. and Morel, B. : The effect of feeding soybean trypsin inhibitor and repeated injections of cholecystokinin on rat pancreas. *J. Nutr.*, **114**, 1083(1984)
37. Croom, W. J., Bull, L. S. and Taylor, I. L. : Regulation of pancreatic exocrine secretion in ruminants. A review. *J. Nutr.*, **122**, 191(1992)
38. Yajnik, C. S., Sahasrabudhe, R. R., Naik, S. S., Katrak, A., Shelgikar, K. M., Kanikar, S. V., Narayanan, V. A. and Dandona, P. : Exocrine pancreatic function (serum-immunoreactive trypsin, fecal chymotrypsin, and pancreatic isoamylase) in indian diabetes. *Pancreas*, **5**, 631(1990)

(1996년 7월 26일 접수)