

Alloxan 處理 糖尿病 마우스의 胰臟 glucokinase 및 hexokinase에 對한 枇杷葉의 效果에 關한 研究

鄭昌煥 · 尹哲浩 · 鄭智天 · 金鐵虎

東國大學校 韓醫科大學 內科學教室 · 生化學教室

〈초록〉 Alloxan은 glucokinase 酵素가 基質인 glucose의 結合部位인 -SH基를 競爭的으로 阻害함으로써 glucose의 初期 磷酸化를 抑制하여 糖尿病을 誘導시키는 化學物質이다. 本 研究에서는 alloxan 處理 糖尿 마우스에 對하여 清涼生津, 解渴止嘔의 效能이 알려진 枇杷葉이 어떠한 效果가 있는지를 알아보고자 하였다. 實驗動物을 alloxan으로 處理하여 糖尿病을 誘發시킨 後 glucose의 磷酸化에 關與하는 glucokinase와 hexokinase의 活性을 살펴보았다. 그 結果, 枇杷葉은 糖尿病으로 因하여 增加된 glucose의 減少 效果와 insulin 分泌의 正常 回復能이 認定되었으며, glucokinase와 hexokinase를 活性化시키는 것으로 나타나 糖尿病에 效果가 있는 것으로 思料된다.

중심 낱말 : 枇杷葉, 糖尿病, alloxan, glucokinase, hexokinase

I. 緒 論

東洋 醫學에서 糖尿病은 消渴의 範疇에 屬하며¹⁾ 陰津虧損하여 燥熱內生하는 것을 基本 病因으로 하고²⁾ 臨床上 上消, 中消, 下消로 大別되나³⁾ 이 中 中消와 가장 類似하며⁴⁾ “清熱生津 止渴”의 治法이 應用된다. 現在까지 消渴의 治療에 活用되는 藥劑와 處方に 依한 實驗的 研究⁵⁻²⁰⁾는 많이 報告되었으나 대부분 血糖, insulin 및 血清中 酵素들의 變化 또는 胰臟 β-cell의 組織學的인 變化를 살펴보았을 뿐 insulin 分泌를 刺戟할 수 있는 glucose 磷酸化 酵素에 對한 研究는 거의 보이지 않는다. 그러나, 枇杷葉은 清涼生津, 解渴止嘔 等の 效能이 있어²¹⁻²³⁾ 消渴의 治療에 活用되어 왔으며²⁴⁾, alloxan에 依해 誘導된 糖尿病의 高血糖을 減少시키고 β-cell에서 insulin 分泌細胞의 數를 增加시키는 效能이 있다고 報告¹¹⁾

되고 있다.

Glucokinase는 胰臟 島細胞 (pancreatic islet β-cell)에서 代謝 過程에 必要한 glucose 磷酸化 酵素로 glucose를 glucose-6-phosphate (G-6-P)로 磷酸化시켜 glycogen을 合成시킴으로서 肝에서의 葡萄糖 合成에 關係한다.²⁴⁻²⁵⁾ 또한, 肝의 glucokinase는 insulin에 依해 活性度가 左右되고 胰臟의 glucokinase는 血糖에 依해 酵素 活性이 變化하여 glucokinase의 役割은 糖代謝와 insulin 分泌調節 因子임을 示唆하였다.²⁶⁾ 또한, hexokinase는 血中 糖을 組織內로 吸收하여 G-6-P로 바꾸어 주어 一定한 動的 平衡 狀態를 維持시켜 주는데, alloxan에 依해 誘導된 糖尿病 動物 모델에서는 glucokinase의 不活性化가 glucose를 初期에 磷酸化시키지 못해 決定的으로 糖尿病을 誘導하게 된다고 報告하고 있다.²⁷⁻²⁹⁾ 이는 alloxan에 依해 誘導된 實驗動物의 糖尿時 glucoki-

nase와 glucose의 結合部位인 -SH基가 alloxan에 의해 競爭的으로 阻害를 받아, glucokinase의 不活性化가 glucose를 初期 磷酸化시키지 못해 糖尿病을 誘導하는 것이다. 이와 類似한 것으로는 2-cyclohexene-1-one(CHX) 投與時 glucose 刺激에 對한 인슐린 分泌가 阻害되는데 이 때 CHX가 直接 glucokinase를 不活性化시키는 機作이 最近에 밝혀져 糖尿病 發生에 이 酵素의 代謝 異常이 가장 重要한 것으로 確認되었다.²⁾

이에 著者는 枇杷葉의 糖尿病 治療 機轉을 糾明하기 爲한 一環으로 alloxan으로 實驗的으로 糖尿病을 誘導한 마우스의 血糖, insulin 및 glucokinase와 hexokinase 活性에 미치는 影響을 觀察하였던 바 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 藥 材

枇杷葉은 東國大學校 附屬 慶州 韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였다.

2) 動 物

Male mice는 生後 3週째에 (體重 12-18 g) 韓國科學技術研究院 生命工學研究所 遺傳資源 센터 實驗動物 事業室에서 分讓받았다. 모든 마우스들은 10마리씩 마누어 플라스틱 cage에 收用하고 물과 食餌를 자유롭게 攝取할 수 있도록 充分히 供給하였다. 實驗期間 동안 飼育 環境은 室溫에서, 濕度는 60%, 明暗週期는 12時間 間隔으로 維持하였다.

3) 試 藥

모든 一般的인 試藥들은 主로 Sigma Co. 및 Wako Pure Chemicals Co.(Tokyo, Japan) 製品의 特級品을 購入하여 使用하였다. 免疫 및 活性 試藥은 日本의 Daiichi Co.와 Boehringer Man-

nheim Biochemicals Co.에서 購入하였다. Cytokine인 Interleukin-1β(IL-1β)는 東國大學校 韓醫科大學 生化學 教室에서 클로닝한 재조합 마우스 IL-1β를 使用하였다.

2. 方 法

1) 檢液의 調製

枇杷葉 500g을 蒸溜水로 抽出, 濾過하여 그 溶液을 凍結 乾燥한 後 粉末化시킨뒤 必要에 따라 蒸溜水에 녹여 檢液으로 使用하였다.

2) 糖尿病의 誘導 및 檢液의 投與

實驗 動物은 正常群, alloxan 處理 糖尿群(以下 對照群이라 함), alloxan 處理 糖尿 誘發 後 枇杷葉 處理群(以下 枇杷葉 處理群이라 함)으로 各 群에 20마리씩 配定하여 實驗에 使用하였다. 對照群과 枇杷葉 處理群은 5% alloxan monohydrate(Sigma, St Louis, MO, USA)를 마우스 1.0 mg/10g씩 腹腔內 3日間에 걸쳐 3回 注射하였다. 枇杷葉 處理群은 alloxan 注射 後 枇杷葉 濃縮液을 0.2mg/20g씩 1日 2回 2週間 經口로 投與 하였으며, 對照群은 蒸溜水를 2週間 經口 投與 하였다.

3) 試料 收集 및 前 處理

反復的으로 血糖을 測定하고자 할 때는 heparin 處理 毛細管으로 眼球下 靜脈에서 血液을 約 200μl 뽑아 使用하였다. 마우스들은 decapitation 方法으로 희생시킨 後 血液을 eppendorf tube에 받아 30分間 세워둔 後 microcentrifuge로 10分間 15000 rpm에서 遠心分離하였다. 血清은 바로 50μl씩 分注하여 保管하였고 血清 인슐린 分析時 使用하였다. 脾臟 組織은 摘出하여 차가운 食鹽水에 洗滌한 後 吸濕紙로 물기를 除去한 後 重量을 測定하였다. 脾臟 組織은 곧바로 10倍의 50 mM sodium phosphate 緩衝液(pH 7.0)을 加하여 Homogenizer로 均質化하고 4°C, 100,000×g에서 1時間 동안 超遠心分離하여 cytosol 分割을 얻었다. 이 中 一部를 冷凍 保管하거나 酵素 活性 測定과 蛋白質 含量 分析에 利用하

였다.

4) 血糖 및 血清 인슐린 定量

血糖은 Glucose oxidase法으로 測定하였고 인슐린은 mouse insulin assay kit(Daiichi radioisotope Labs, Tokyo, Japan, #20008)를 使用하거나 KIST 附設 生命工學 研究所와 청도製藥(株)에서 開發한 糖尿 自動 分析器機로 測定하였다.

5) Glucokinase와 hexokinase 活性 測定

Glucokinase와 hexokinase 活性 測定은 Walker 方法²³⁾을 若干 修正하여 測定하였다. 反應 緩衝液 {50 mM sodium phosphate 緩衝液(pH 7.0), 5 mM MgCl₂, 5 mM ATP, 0.2 unit Glucose-6-phosphate dehydrogenase} 1.0 ml에 (A) 100 mM Glucose, (B) 0.1 mM Glucose, (C) 100 mM N-acetylglucosamine 100 μ l씩과 組織 抽出物 100 μ l, 蒸溜水 300 μ l를 各各 넣어 反應시켰다. 反應後 分光 光度計를 使用하여 340 nm에서 分當 吸光度 變化를 測定한 다음 (A)-(B)glucokinase 活性, (B)-(C)hexokinase 活性으로 計算하였다. 同時에 보다 正確하게 하기 爲해서 D-[U-14C]glucose (1900-1920dpm/nmol)로부터 生成되는 D-[U-14C]glucose-6-phosphate를 測定하였다.²³⁾

6) 蛋白質의 定量

蛋白質의 定量은 Lowry 方法²⁴⁾을 使用하였으며 非活性度 測定에 使用하였다. 한편, 實驗 結

果의 有意性 檢定은 Student's t-test를 利用하여 相互比較하여 觀察하였으며, 檢定時 P값이 0.05 미만일 때를 統計적으로 有意하다고 보았다.²⁵⁾

III. 結 果

1. 體重, 血糖, 인슐린 分泌의 變化

5% alloxan monohydrate를 마우스의 體重 10 g當 1.0mg씩 腹腔內 3日間, 3회에 걸쳐 注射한 後 1日, 7日, 14日 3회에 걸쳐 正常群, 對照群 및 枇杷葉 處理群의 體重 變化를 觀察하였다. 그 結果 alloxan만 注射한 對照群의 體重 增加가 가장 甚하였으며 다음으로 枇杷葉 處理群에서 增加가 認定되었다. 그 中 1週日 後의 體重 變化를 Table 1에 나타냈다. 正常群의 體重在 13.4 g인데 反하여 alloxan만을 注射한 對照群은 22.1 g을 나타내어 甚한 體重 增加가 認定되었으며 alloxan 注射 後 枇杷葉 處理群은 17.4g으로 相當한 體重 減少 現狀을 보였다. 한편, 血清 glucose와 인슐린 濃도에서도 회복 效果를 보였는데 (Table 2, 3), 血清 인슐린의 量도 正常群이 26.4 nU/ml인 反面, alloxan만을 注射한 對照群은 72.8 nU/ml로 나타나 인슐린 分泌가 甚하게 나타났으며, alloxan 注射 後 枇杷葉 處理群에서는 48.7 nU/ml으로 나타나 인슐린의 分泌가 對照群에 比하여 抑制되는 것으로 나타났다.(Table 3)

Table 1. Body weight and diet intake levels of normal, control(alloxan-treated) and EF-treated diabetic mice

	Normal	Control	<i>Eriobotryae Folium</i>
Body weight(g)	13.4 ± 1.4	22.1 ± 3.2*	17.4 ± 2.5
Diet intake(g/day)	2.5 ± 0.52	3.6 ± 1.2	2.9 ± 0.7

Values are mean ± S.E. for 20 animals.

* : significantly different from normal mice at P<0.05 by t-test.

Table 2. Serum glucose levels of normal, control(alloxan-treated) and EF-treated diabetic mice

	Normal	Control	<i>Eriobotryae Folium</i>
Serum glucose (mg/l)			
feed	147.4 ± 18.2	235.2 ± 62.1	165.7 ± 19.4
fast	56.2 ± 6.5	190.4 ± 48.7*	120.4 ± 22.1

Values are mean ± S.E. for 20 animals.

* : significantly different from normal mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

Table 3. Plasma insulin levels of normal, control(alloxan-treated) and EF-treated diabetic mice

	Normal	Control	<i>Eriobotryae Folium</i>
Plasma insulin (nU/ml)			
feed	42.5 ± 6.7	102.5 ± 7.4	72.2 ± 6.2
fast	26.4 ± 3.2	72.8 ± 4.7*	48.7 ± 3.7#

Values are mean ± S.E. for 20 animals.

* : significantly different from normal mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

: significantly different from control mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

2. Glucose 注射 後 時間別 血糖과 인슐린 分泌 變化

正常群, 對照群 및 枇杷葉 處理群에 glucose를 腹腔內에 各 1g/ml 1回 注射한 後 10時間 동안의 血糖과 血清 인슐린 分泌 變化를 觀察하였다. 時間別 血糖의 變化를 살펴보면 正常群은 glucose 注射 0.5時間 後 3.88 mM/l로 最高値를 나타내다 漸次 減少하였으며, 對照群에서는 glucose 注射 0.5時間 뒤에 8.42 mM/l로 正常群에 比하여 相當히 높은 血糖値를 보인 後 漸次 減少하였다. 反面, 枇杷葉 處理群에서는 時間이 經過함에 따라 全體적으로 正常群보다는 높지만 alloxan만 注射한 對照群에 比해 越等히 그 數値가 낮게 減少하여 枇杷葉의 良好한 效果를 示唆하였다(Fig. 1).

한편, insulin 分泌는 正常群과 枇杷葉 處理群에서는 類似하게 glucose 注射 後 0.5時間帶에 인슐린 分泌가 各各 1,892.6 pM/l과 1,646.7 pM/l로 最高値를 나타내다 漸次 減少하였으나, allo-

xan만 注射한 對照群에서는 15時間 以後에서나 1,841.4pM/l로 最高値에 達하여 인슐린 分泌에 甚한 損傷을 있음을 示唆하였다(Fig. 2).

3. Glucose 注射 後 時間別 glucokinase 및 hexokinase 活性 變化

正常群, 對照群 및 枇杷葉 處理群에 glucose를 腹腔內에 各 1g/ml 1回 注射한 後 10時間 동안의 胰臟에서 glucokinase, hexokinase 活性 變動 등을 分析하였다.

Glucose 注射 後 時間에 따른 胰臟의 glucokinase와 hexokinase 活性은 큰 差異가 보였는데, alloxan만 注射한 對照群에서는 glucokinase와 hexokinase의 酵素 活性이 모두 正常群에 比해 越等히 低下되었다. 그러나, alloxan 注射 後 枇杷葉을 投與한 實驗群에서는 glucokinase와 hexokinase의 活性이 모두 對照群에 比하여 增加 되는 것으로 나타났다(Fig. 3, 4).

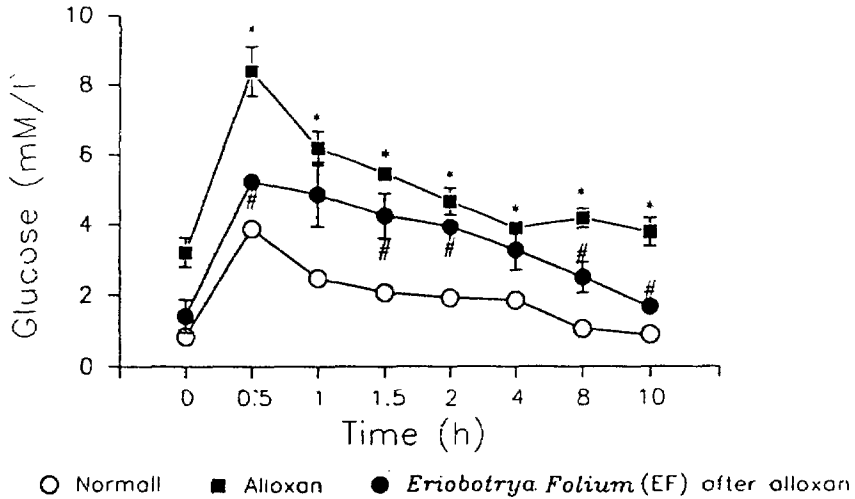


Fig. 1. Serum glucose levels in normal, alloxan and *Eriobotryae Folium*-treated mice.
 * : significantly different from normal mice at $P < 0.05$ by *t*-test.
 # : significantly different from alloxan mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

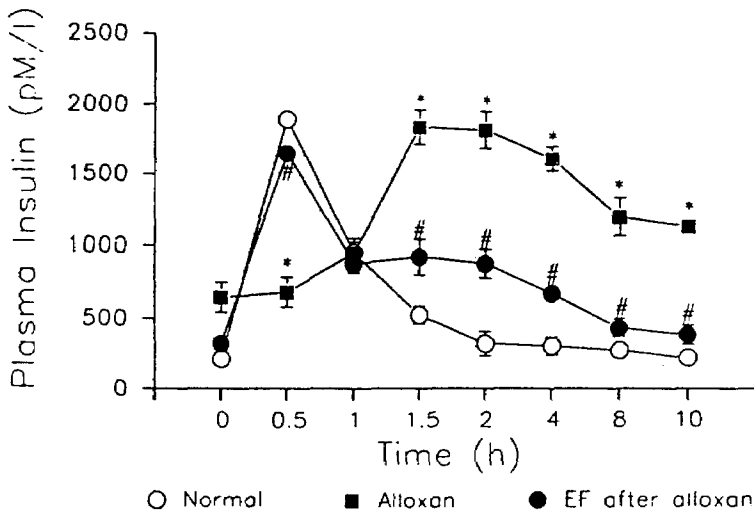


Fig. 2. Serum insulin levels in normal, alloxan and *Eriobotryae Folium*-treated mice. Values are mean \pm S.E. for 20 animals.
 * : significantly different from normal mice at $P < 0.05$ by *t*-test.
 # : significantly different from alloxan mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

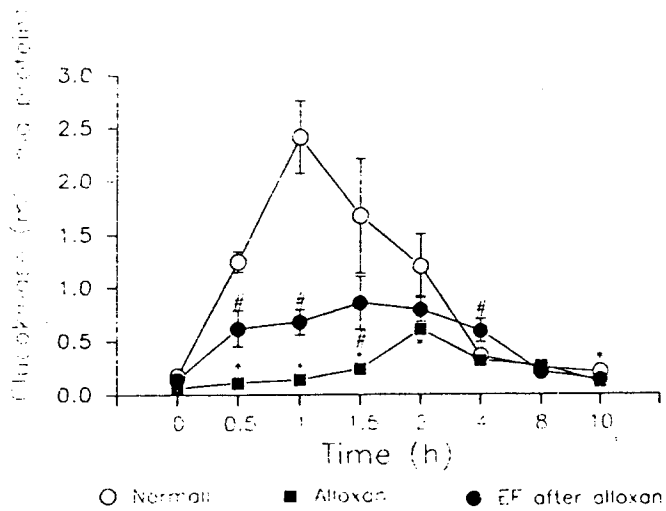


Fig. 3. Pancreatic glucokinase activities as parameters of glucose phosphorylation in glucose injection test.

Values are mean ± S.E. for 20 animals.

* : significantly different from normal mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

: significantly different from alloxan mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

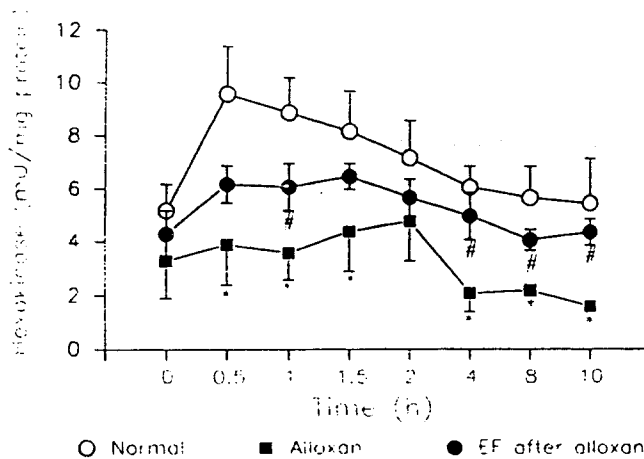


Fig. 4. Pancreatic hexokinase activities as parameters of glucose phosphorylation in glucose injection test.

Values are mean ± S.E. for 20 animals.

* : significantly different from normal mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

: significantly different from alloxan mice at $P < 0.05$ by *t*-test.

IV. 考 察

糖尿病은 糖質 代謝 異常을 特徵으로 하는 인슐린 作用 不全에 依해 高血糖과 尿糖을 나타내며 多飲, 多食, 多尿 等 3가지 症狀을 主要 特徵으로 한다.³⁰⁾ 糖尿病의 基本 糖質 物質인 glucose는 인슐린 分泌를 刺戟할 수 있는 가장 重要한 生理的 要素이며 glucose를 代謝하기 爲해서는 初期 反應 酵素로 glucose 磷酸化 酵素를 必要로 하고 있다. 즉, 인슐린 分泌를 刺戟하기 爲하여 脾臟 島細胞 (pancreatic islet β -cell)에서 代謝 過程에 必要한 glucokinase는 肝과 脾臟 島細胞의 解糖 過程 中の 核心 調節 酵素이다.^{27,29)} 東洋 醫學에서 糖尿病은 消渴의 症候와 類似한데¹²⁾ 陰津虧損하여 燥熱內生하는 것을 基本 病因으로 하며¹³⁾ 臨床上 肺燥, 胃熱, 腎虛의 主된 原因에 따라 上消, 中消, 下消로 分類된다.¹³⁾ 上消는 “多飲水而少食, 大小便如常”, 中消는 “多飲食而小便赤黃”, 下消는 “小便濁淋如膏淋之狀” 等으로 症狀를 表現¹⁴⁾하였으며, 各其 “清熱瀉火 生津止渴”, “清胃瀉火 養陰潤燥”, “清熱生津 滋陰補腎”의 治法을 活用하고 있다.⁹⁾

枇杷葉은 味苦 性涼하고 肺·胃經에 歸經하여 清涼生津, 解渴止嘔의 效能이 있어 肺熱·胃熱로 因한 咳嗽, 口渴, 呃逆 噯氣 等의 症狀를 治療하고^{21,22)} 生地黃飲子²³⁾에 入하는 等 消渴의 治療에도 活用되어 왔으며, 實驗的으로는 alloxan에 依해 誘導된 糖尿病에서 增加된 血糖을 減少시키고 脾臟 島細胞內的 insulin 分泌細胞의 數를 增加시키는 效能이 있다고 報告¹⁴⁾된 바 있다. 그러므로, glucose 磷酸化 酵素 活性에 影響을 주어 糖尿病 治療에 效果를 나타낼지를 檢討하고자 本 實驗을 試圖하였다.

먼저, 實驗 動物에 alloxan을 注射한 다음 1日, 7日, 14日의 各 實驗群의 特性을 살펴보았는데 14日의 各 實驗群의 特性은 alloxan 注射後 7日의 特徵과 別다른 變化가 없었다. 여기에서 注射後 7日의 特性을 살펴보면, 各 實驗群의 食餌 攝取量에 있어서 對照群의 食餌 攝取量이 正常群에 比하여 有意性 있게 增加되었으며,

枇杷葉 投與群에서는 對照群에 比하여 食餌 攝取가 減少하였으나 有意性은 없었다. 體重에 있어서는 正常群의 $13.4 \pm 1.4g$ 에 比하여 alloxan으로 糖尿가 誘發된 對照群은 1週日後 $22.1 \pm 3.2g$ 으로 有意性 있는 增加를 보였으며, alloxan 注射後 枇杷葉을 投與한 實驗群의 경우는 $17.4 \pm 2.5g$ 으로 減少하는 傾向을 보였다. 또한, 空腹時의 血清 中 glucose와 insulin 量이 對照群에서는 正常群에 比하여 모두 有意性 있는 增加를 나타내었으며, 枇杷葉 投與群에서는 糖尿病으로 增加된 insulin 量을 有意性 있게 減少시키는 것으로 나타나 糖尿病에 效果가 있음을 示唆하였다. 이러한 結果는 肥滿한 狀態에서는 인슐린이 過多 分泌된다는 것을³⁰⁾ 다시 立證한 것이며, 糖尿病이 있는 경우 肥滿의 發生 頻度가 正常人에 比하여 約 2倍정도 높으며, 體重이 標準보다 增加할수록 糖尿病의 頻度가 높다는 이³⁰⁾의 報告와 關聯시켜 볼 때 意味하는 바가 크다고 여겨진다.

또한, 인슐린 非依存型 糖尿病 (NIDDM) 患者가 肥滿인 경우 인슐린 抵抗을 더욱 增加시켜 糖尿病의 經過를 惡化시킬 수 있으며,³⁰⁾ 體重減少後 長·短期 罹患 NIDDM 患者의 空腹時 血糖이 有意性 있게 減少하고 短期 罹患 NIDDM 患者의 空腹 인슐린 濃度가 有意性 있게 減少한다는 報告³¹⁾를 想起할 때, 枇杷葉을 投與한 實驗群이 對照群에 比하여 體重과 食餌 攝取量이 減少한 것이 비록 有意性은 없었으나 枇杷葉이 食餌 攝取를 抑制시켜 體重 增加를 阻止하므로서 NIDDM의 經過를 어느 정도 抑制시킬 수 있다고 여겨진다.

枇杷葉이 血糖 上昇에 對하여 어떠한 作用을 나타내는 지를 檢討하기 爲하여 正常群, 對照群 및 枇杷葉 處理群에 glucose를 腹腔內 注射한 다음 時間別 血糖과 血清 인슐린 分泌 變化를 觀察하였다. 血糖은 正常群에서 glucose가 注射되자 마자 增加하여 30分後 最高值를 나타내다 注射後 1時間부터 正常值 水準으로 漸次 減少하였으며, 血清 인슐린도 glucose 注射後부터 分泌되기 始作하여 30分에 最高值를 나타낸 後

2時間内に 正常化하는 傾向을 보였다. 그러나, alloxan으로 糖尿가 誘發된 對照群은 基底値의 血糖 自體가 正常群보다 높았으며 注射 後 30 分에 最高値를 記錄한 後 漸次 減少하였으나 10 時間 以後에도 如前히 有意性 있게 血糖이 增加되어 있었다.

血清 中の 인슐린値는 糖負荷 以前에 이미 正常群보다 有意性 있게 높았으며, glucose 注射 後 1.5時間 以後에나 인슐린 分泌가 最高를 나타내어 初期 인슐린 分泌에 障害가 있음을 示唆하였고, 10時間 以後에도 如前히 糖負荷 以前보다 인슐린 分泌가 增加되어 있었다. 그 反面, 枇杷葉 投與群은 基底値의 血糖과 인슐린値 自體가 正常群과 비슷하며 glucose 注射 30分 後 血糖과 인슐린 値가 最高에 達한 後 時間이 經過함에 따라 全體적으로 正常群보다는 높지만 對照群에 比해 顯著하게 그 數値가 減少하는 것으로 나타나, 糖尿病으로 因하여 높아진 血糖을 正常化하는데 枇杷葉이 良好한 效果가 있음을 알 수 있었다.

Glucokinase는 glucose-6-phosphate(G-6-P) 生成 반응을 촉매하며 肝과 脾臟에서 UDP-glucose를 生成시켜 glycogen 生合成에 關與한다.⁴²⁾ UDP-glucose는 다시 UDP-glucose glycogen glycosyltransferase(glycogen synthase)에 의해 肝에서 正常的인 glycogen을 合成하며 이때 이 酵素 活性은 G-6-P에 依存的이며 當時 葡萄糖 磷酸化 酵素로 알려진 hexokinase 活性을 抑制하는 것으로 報告되었다.^{24,25)} 따라서 G-6-P의 生成과 glucokinase와의 相互 關係가 現在 많은 研究者들에게 關心의 對象이 되고 있다. Glucokinase는 肝과 脾臟에 特異하게 存在하며 肝의 glucokinase는 인슐린의 調節을 받아 葡萄糖 利用 및 glycogen 貯藏 等に 關與하고, 脾臟 glucokinase의 경우 血中內 葡萄糖의 濃度를 感知하여 인슐린 分泌를 調節하는 것으로 알려져 있어 NIDDM의 病因에 關聯되는 重要한 酵素로 認識되고 있다.^{43,44)} Alloxan에 의해 誘導된 實驗 動

物의 糖尿時 glucokinase와 glucose의 結合 部位인 -SH基가 alloxan에 의해 競爭적으로 沮害를 받아, glucokinase의 不活性化가 glucose를 初期 磷酸化시키지 못해 決定的으로 糖尿病을 誘導하게 된다고 報告되고 있다.^{27,29)} 또한, 2-cyclohexene-1-one(CHX) 投與時 glucose 刺戟에 對한 인슐린 分泌가 沮害되는데 이때 CHX가 直接 glucokinase를 不活性化시키는 기작이 最近에 밝혀져 糖尿病 發生에 이 酵素의 代謝 異常이 가장 重要한 것으로 確認되었다.³⁰⁾

앞서 나타난 枇杷葉의 血糖과 인슐린 分泌 低下 作用을 보다 仔細히 糾明하기 爲하여 glucose의 初期 磷酸化 酵素인 glucokinase와 hexokinase의 活性을 살펴 보았다. Glucose 注射 後 時間에 따른 脾臟의 glucokinase와 hexokinase 活性은 큰 差異를 보였는데, alloxan만 注射한 對照群에서는 glucokinase와 hexokinase의 酵素 活性이 모두 正常群에 比해 越等히 低下되었다. 이러한 結果는 alloxan이 이들 두 酵素의 活性을 顯著히 沮害함으로써 糖尿病을 誘發시키는 것으로 그 機作을 알게 되었다고 할 수 있다. 그러나, alloxan 注射 後 枇杷葉을 投與한 實驗群에서는 alloxan을 注射한 對照群에 比하여 glucokinase와 hexokinase의 活性이 모두 增加되는 것으로 나타나, 枇杷葉이 이들 두 酵素의 活性化에 相當한 效果를 나타내었다. Hexokinase와 glucokinase가 不活性化되면 glucose를 初期 磷酸化시키지 못해 決定的으로 糖尿病을 誘導하게 된다는 報告^{24,25,27,29)}를 생각할 때, 本 實驗에서 나타난 枇杷葉의 glucokinase와 hexokinase 活性化 效果는 糖尿病을 治療하는데 效果가 있으리라고 여겨진다.

以上の 結果를 綜合하면, 枇杷葉은 alloxan으로 誘發된 糖尿病 마우스에서 glucose 磷酸化 酵素인 glucokinase와 hexokinase의 活性을 增加시키는 效果가 있는 것으로 나타나 枇杷葉이 糖尿病의 治療에 效果가 있을 것으로 여겨진다.

V. 結 論

枇杷葉이 糖尿病의 治療에 效果가 있는지를 알아 보기 爲하여 alloxan으로 處理하여 實驗的으로 糖尿病을 誘發한 後 glucose의 初期 磷酸化에 關與하는 glucokinase와 hexokinase의 活性을 살펴본 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. alloxan 注射에 依해 體重과 空腹時의 glucose 및 insulin 分泌가 增加되었으나, 枇杷葉 投與에 依해 空腹時의 insulin 分泌가 有意性 있게 減少하였으며 體重과 空腹時의 glucose는 有意性은 없었으나 對照群에 比하여 減少하였다.

2. Alloxan 注射에 依해 血清中 glucose值가 正常群에 比하여 顯著하게 增加되었으나 枇杷葉 投與에 依해 顯著히 減少되었다. Insulin 值의 上昇과 分泌 遲延도 枇杷葉 投與群에서는 正常群과 類似한 傾向을 보였다.

3. Glucokinase와 hexokinase의 活性은 alloxan 注射에 依해 顯著히 減少되었으나, 枇杷葉 投與에 依해 有意性 있게 上昇되었다.

以上の 結果로, 枇杷葉은 alloxan으로 誘發된 糖尿病에서 glucose 磷酸化 酵素인 glucokinase와 hexokinase의 活性을 增加시키는 것으로 나타나 糖尿病의 治療에 效果가 있는 것으로 여겨진다.

VI. 參 考 文 獻

- 1) 方藥中 : 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, pp.477, 1986
- 2) 柴瑞燾 : 基層中醫學習園地, 消渴, 山西中醫, (1), 56, 1993
- 3) 余永譜 : 中醫治療內分泌代謝病, 浙江科學技術出版社, pp.239,243, 1992
- 4) 杜鎬京 : 東醫腎系學研究, 東醫腎系研究會, p.430, 1994
- 5) 姜庭鎬 : 活血潤燥生津飲이 alloxan投與 白鼠에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院 學位 論文集 第 5集, pp.255-277, 1982
- 6) 郭桂豪 : 六味地黃湯加山藥이 alloxan 糖尿 白鼠의 血糖 및 血清 變化에 미치는 影響, 大田大學校 大學院 碩士 學位 論文, 1992
- 7) 權寧哲 : 薑이 alloxan投與 家兔의 血糖量에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 博士 學位 論文, 1986
- 8) 金勳宅 : 六味地黃湯이 alloxan投與 흰쥐의 糖尿病 및 腎障礙에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 博士 學位 論文, 1988
- 9) 金完熙 : 消渴에 應用되는 白虎湯이 alloxan 糖尿에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 博士 學位 論文, 1978
- 10) 金雄時 : 水蓼, 白蓼 및 紅蓼水鉞이 alloxan 糖尿病 흰쥐에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 碩士 學位 論文, 1989
- 11) 金熙哲 : 枇杷葉이 糖尿 흰쥐의 脾臟 內分泌 細胞에 미치는 影響에 關한 研究, 東國大學校 大學院 碩士 學位 論文, 1992
- 12) 盧宗植 : 鹿茸, 人蔘, 鴨石草 水鉞의 糖尿病에 對한 效果 및 免疫機能에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 博士 學位 論文, 1988
- 13) 朴振成 : 人蔘茯苓散이 alloxan 投與 白鼠의 Juxtglomerular cell에 미치는 影響, 東國大學校 大學院 碩士 學位 論文, 1991
- 14) 孫洛源 : alloxan糖尿에 白虎湯이 미치는 影響에 對한 免疫組織化學의 研究, 慶熙大學校 大學院 博士 學位 論文, 1990
- 15) 申載鏞 : 生脈散 薔薇根의 alloxan投與 白鼠의 血糖量에 미치는 影響, 醫林, 158 : 12, 1983
- 16) 吳政錫 : 玉泉散이 alloxan投與 白鼠 血清의 代謝 基質에 미치는 影響, 東國大學校 大學院 碩士 學位 論文, 1990
- 17) 李惠貞 : alloxan 糖尿病 家兔에 대한 人蔘 水鉞의 效果 및 Horseradish peroxidase의 軸突逆輸性에 關한 研究, 慶熙大學校 大學院 博士 學位 論文, 1986
- 18) 田成珠 : 枸杞子 抽出物이 家兔의 實驗的 肝臟障礙 및 alloxan 負荷 糖尿病에 미치는 影響, 朝鮮大學校 大學院 碩士 學位 論文,

- 1985
- 19) 黃敬淑 : 五味子 抽出物이 alloxan 負荷家兔의 血清成分에 미치는 影響, 朝鮮大學校 大學院 碩士 學位 論文, 1986
 - 20) 黃承贊 : 흰쥐의 alloxan 糖尿에 白虎湯 및 人蔘白虎湯이 미치는 影響에 關한 研究, 大邱 韓醫科大學 大學院 博士 學位 論文, 1991
 - 21) 李尚仁 : 本草學, 修書院, pp.340-341, 1981
 - 22) 高學敏 : 中草學, 中國醫學技術出版社, pp. 275-276, 1989
 - 23) 許 浚 : 東醫寶鑑, 南山堂, p.508, 1989
 - 24) Sharma, C., Manjeshwar, R., Weinhouse, S. : *Effects of diet and insulin on glucos-adenosine triphosphate phosphotransferases of rat liver*, *J. Biol. Chem.*, 238, 3841-3845, 1963
 - 25) Walker, D., Rao. S. : *The role of glucokinase in the phosphorylation of glucose by rat liver*, *Biochem. J.*, 190, 360, 1964
 - 26) Bedoya, F. J., Wilson, J. M., Ghosh, A. K., Finegold, D., Matschinsky, F. M. : *The glucokinase glucose sensor in Human pancreatic islet tissue*, *Diabetes*, 35, 61-67, 1986
 - 27) Lenzen, S., Penten, U. : *Glucokinase in pancreatic β -cell and its inhibition by alloxan*, *Acta. Endocrinol.*, 115, 21-29, 1987
 - 28) Lenzen, S., Tiedge, M., Penten, U. : *Glibenclamide induced glucokinase in rat pancreatic islets and liver*, *Biol. Pharmacol.*, 35(16), 2841-2843, 1986
 - 29) Meglasson, M. D., Burch, P. T., Berner, P. K., Najaf, H., Marchisky, F. M. : *Identification of glucokinase as the alloxan-sensitive glucose sensor of the pancreatic B-cell*, *Diabetes*, 35, 1163-1173, 1986
 - 30) Lenzen, S., Freytag, S., Penten, U. : *Inhibition of glucokinase by alloxan through interaction with SH groups in the sugar-binding site of the enzyme*, *Molecular. Pharmacol.*, 34, 395-400, 1988
 - 31) Walker, D. G., Parry, M. J. : *Glucokinase in liver*, *Methods in enzymology*, Bergmayer ed., pp.380-389, 1986
 - 32) Stanley, J. C., Dohm, G. L., McManus, B. S., Newsholm, E. A. : *Biochem. J.* 224, 667-671, 1984
 - 33) Waddell, I.D., Burchell, A. : *Biochemical J.* 255, 471-476, 1988
 - 34) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J., : *Protein measurement with the Folin phenol reagent*, *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275, 1951
 - 35) Zar, J. H. : *Biostatistical Analysis*, N. J. Prentice Hall, Inc., p.96, 1984
 - 36) 杜鎬京 : 東醫腎系學(下), 東洋醫學研究院, pp.1142, 1158, 1993
 - 37) 虞 搏 : 醫學正傳, 成輔社, p.277, 1986
 - 38) Karam, J. H., Grodsky, G. M., Forsham, P. H. : *Excessive insulin response to glucose in obese subjects as measured by immunochemical assay*, *Diabetes*, 12, 197, 1963
 - 39) 이광우, 손호형, 강성구, 방병기, 박두호, 민병석, 송혜향 : 한국인 18,201명에서 당뇨병과 관련질환에 관한 역학적 연구, 당뇨병, 8(1), 5-14, 1984
 - 40) Sins, E. A. H. : *Why, oh why can't they just lose weight? In : Mckee G.ed Special Report : Obesity & Other Eating Disorders Nutrition & MD*, 1978
 - 41) 박유경, 이종호, 윤지영, 박은주, 정운석, 이현, 현철, 허갑범 : 체중과다 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 체중감소가 당질 및 지질 대사에 미치는 영향, 당뇨병, 18(1), 31-39, 1994
 - 42) Munch-Peterson, A., Kalckar, H.M., Cutdo, E., Smith, E. E. B. : *Nature*. 172, 1036, 1953
 - 43) Matschinsky, F. M. : *Glucokinase gene structure : Functional implications of molecular genetic studies*, *Diabetes*, 39, 523-527, 1990
 - 44) Permutt, M. A., Chiu, K. C., Tanizawa, Y.

: *Perspective in diabetes Glucokinase and NIDDM : A candidate gene that paid off.*
Diabetes., 41, 1367-1372, 1992

=Abstract=

Effect of *Eriobotryae folium* extract on glucokinase and hexokinase activities of alloxan-induced diabetes mellitus mice

Chang-Hwan Jeong · Cheol-Ho Yoon, Ji-Cheon Jeong* · Cheorl-Ho Kim**

Dept. of Intenal Medicine* · Dept. of Biochemistry & Molecular Biology**
College of Orient Medicine, Dongguk University

We have investigated the *in vivo*. effect of an aqueous extract from *Eriobotryae folium* on glucokinase and hexokinase activities of diabetes mellitus induced by alloxan. After 1 week of alloxan injection, the levels of serum glucose and insulin secretion were dramatically increased, however, the insulin secretion was decreased with administration of *Eriobotryae folium*. Alloxan injection allowed the serum glucose level increased and the level was decreased by *Eriobotryae folium* administration. Furthermore, it was observed that *Eriobotryae folium* was effective in recovering the levels of insulin secretion. Enzyme activities of the glucokinase and hexokinase were decreased by alloxan treatment. In contrast, *Eriobotryae folium* administration to the mice allowed proportional increasing. These results suggested that *Eriobotryae folium* is highly effective in treatment of diabetes mellitus induced by alloxan.

Key Word : *Eriobotryae folium*, diabetes mellitus, alloxan, glucokinase, hexokinase