

Cytokine interleukin-1 β 로 誘發된 糖尿病 마우스의 胰臟 glucokinase 및 hexokinase 活性에 對한 五倍子의 效果에 關한 研究

최형일 · 정지천 · 김철호*

동국대학교 한의과대학 내과학교실 · 생화학교실*

【초록】 Glucokinase와 hexokinase는 간과 췌장에서 인슐린에 의해 혈당이용을 증대시키며 혈당농도를 감지하여 인슐린 분비를 조절하는 효소로서 인슐린비의존성당뇨병(NIDDM)의 병인과 밀접한 관계가 있는 효소이다. Cytokine의 일종인 interleukin-1 β (IL-1 β)는 췌장 도세포에서의 인슐린 분비와 β -cell에 대한 세포 독성을 효과적으로 조절하여 장기간 노출시키면 인슐린 분비와 생합성을 저해하며 β -cell을 파괴하여 β -cell의 기능적, 구조적 손상을 초래하여 IDDM을 유발한다. 본 연구에서는 당뇨병 치료의 전통한방약제로서 사용되고 있는 五倍子추출물의 효과를 해명하기 위하여 IL-1 β 유발 실험적 당뇨마우스의 glucokinase와 hexokinase의 활성을 검토한 결과, IL-1 β 주사에 의해 체중과 공복시의 glucose 및 insulin 분비가 증가되었으나, 五倍子투여로 공복시의 insulin분비가 감소하였으며 체중과 공복시의 혈당은 유의성은 없었으나 대조군에 비하여 감소하였다. 그러나, 혈당수치가 정상군에 비하여 현저하게 증가되었으나 五倍子투여로 현저히 감소하였으며 Insulin치의 상승과 분비지연도 五倍子투여군에서는 정상군과 유사한 경향을 보였다. 한편, 혈중glucokinase와 hexokinase의 활성은 IL-1 β 주사에 의해 현저히 감소되었으나, 五倍子 투여로 유의성 있게 상승되었다. 이상의 결과로, 五倍子は IL-1 β 로 유발된 실험적 당뇨병에서 포도당인산화 효소인 glucokinase와 hexokinase의 활성을 증가시키는 것으로 나타났다.

중심단말 : Interleukin-1 β , 오배자, 당뇨병

1. 緒 論

한의학에서 당뇨병은 消渴의 범주에 속하며 (25,31) 飲食不節, 情志失調, 稟賦不足, 房勞過多 및 過服溫燥藥物 등이 주요 발병 원인으로 (25), 陰津虧損하여 燥熱内生하는 것을 기본病理로 들 수 있다(25,26). 임상상 上消, 中消, 下消로 大別되나(25,26) 이 중 中消와 가장 유사하며(2) 滋陰補腎, 清熱生津, 活血化瘀, 益氣

健脾 등의 治法이 응용된다(26). 현재까지 消渴의 치료에 활용되는 약제와 처방에 대한 실험적 연구(5-20)는 많이 보고되었으나 대부분 혈당, insulin 및 혈청 중 효소들의 변화 또는 췌장 β -cell의 조직학적인 변화를 살펴보았을 뿐 인슐린 분비를 자극할 수 있는 glucose 인산화 효소에 대한 연구는 거의 보이지 않는다. 五倍子は 性寒 味酸(4,24,27)하여 無毒(30)하고 肺·腎·大腸經(4,24,27)에 入하며 斂肺降火(4,24,27,

30), 生津止渴(24)의 효능이 있어 單用으로 渴欲飲水不止를 치료하는데 이용된다(29).

당대사와 인슐린 분비조절에 관여하는 효소(32)인 glucokinase는 췌장의 β -cell에서 대사 과정에 필요한 glucose 인산화 효소로, glucose를 glucose-6-phosphate (G-6-P)로 인산화시켜 glycogen을 합성시킴으로서 肝에서의 포도당 합성에 관계한다(51,56). 또한, 췌장의 glucokinase는 혈당에 의해 효소 활성이 변화하며, hexokinase는 혈중 당을 조직내로 흡수하여 G-6-P로 바꾸어 주어 일정한 동적 평형 상태를 유지시켜 준다(1). Alloxan에 의해 유도된 당뇨병 동물 모델에서는 glucokinase의 불활성화가 glucose를 초기에 인산화시키지 못해 결정적으로 당뇨병을 유도하게 된다고 보고하고 있다(36,37,42). 한편, cytokine의 일종인 interleukin- 1β (IL- 1β)는 염증 질환시 췌장의 β -cell에 손상을 주어 인슐린 의존형 당뇨병을 동시에 유발시키는데(40), IL- 1β 의 과잉 발현이 췌장에서의 glucose 산화에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(50).

이에 저자는 五倍子の 당뇨병 치료 기전을 구명하기 위한 일환으로 실험동물에 IL- 1β 로 당뇨병을 유발시킨 후 혈당, insulin 및 glucokinase와 hexokinase 활성에 미치는 영향을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗

1. 재 료

1) 약 재

五倍子(Rhois Galla)는 동국대학교 부속 경주 한방병원에서 구입한 후 精選하여 사용하였다.

2) 동물

Male mice는 생후 3주째에 (체중 12-18 g) 한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전자원 센터 실험동물 사업실에서 분양 받았다. 모든 마우스들은 10마리씩 나누어 플라스틱 cage에

수용하고 물과 식이를 자유롭게 섭취할 수 있도록 충분히 공급하였다. 실험기간 동안 사육 환경은 실온에서, 습도는 60%, 명암주기는 12시간 간격으로 유지하였다.

3) 시약

모든 일반적인 시약들은 주로 Sigma Co. 및 Wako Pure Chemicals Co. (Tokyo, Japan) 제품의 특급품을 구입하여 사용하였다. 면역 및 활성 시약은 일본의 Daiichi Co.(Tokyo, Japan)와 Boehringer Mannheim Biochemicals Co.(Mannheim Germany)에서 구입하였다. Cytokine인 Interleukin- 1β (IL- 1β)는 동국대학교 한의과대학 생화학 교실에서 클로닝한 재조합 마우스 IL- 1β 를 사용하였다.

2. 방 법

1) 검액의 조제

五倍子 500 g을 증류수로 추출, 여과하여 그 용액을 동결 건조한 후 분말화시킨뒤 필요에 따라 증류수에 녹여 검액으로 사용하였다.

2) 당뇨병의 유도 및 검액의 투여

실험 동물은 정상군, IL- 1β 처리 당뇨군 (이하 대조군이라 함), IL- 1β 처리 당뇨유발 후 오배자 처리군 (이하 오배자 처리군이라 함)으로 각 군에 20마리씩 배정하여 실험에 사용하였다. 대조군과 오배자 처리군은 IL- 1β (50 μ g/마리)를 마우스 복강내 3일간에 걸쳐 3회 주사하였다. 오배자 처리군은 IL- 1β 주사 후 오배자 농축액을 0.2 mg/20 g씩 1일 2회 2주간 경구로 투여하였으며, 대조군은 증류수를 2주간 경구 투여하였다.

3) 시료 수집 및 前 처리

반복적으로 혈당을 측정하고자 할 때는 heparin 처리 모세관으로 眼球下 정맥에서 혈액을 약 200 μ l 뽑아 사용하였다. 마우스들은 decapitation 방법으로 희생시킨 후 혈액을 eppendorf tube에 받아 30분간 세워둔 후 microcentrifuge로 10분간 15000 rpm에서 원심 분리하였다. 혈청은 바로 50 μ l씩 分注하여 보관하였고 혈청 인슐린 분석시 사용하였다. 췌장

조직은 적출하여 차가운 식염수에 세척한 후 흡습지로 물기를 제거한 후 중량을 측정하였다. 췌장 조직은 곧바로 10배의 50 mM sodium phosphate 완충액(pH 7.0)을 가하여 Homogenizer로 균질화하고 4°C, 100,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획을 얻었다. 이 중 일부를 냉동 보관하거나 효소 활성 측정과 단백질 함량 분석에 이용하였다.

4) 혈당 및 혈청 인슐린 정량

혈당은 Glucose oxidase법으로 측정하였고 인슐린은 mouse insulin assay kit (Daiichi radioisotope Labs, Tokyo, Japan, #20008)을 사용하거나 KIST 부설 생명공학 연구소와 청도 제약(주)에서 개발한 당뇨 자동 분석기기로 측정하였다.

5) Glucokinase와 hexokinase 활성 측정

Glucokinase와 hexokinase 활성 측정은 Walker 방법(57)을 약간 수정하여 측정하였다. 반응 완충용액 (50 mM sodium phosphate 완충액(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 조직 추출물 100 μ l, 증류수 300 μ l를 각각 넣어 반응시켰다. 반응후 분광 광도계를 사용하여 340 nm에서 분당 흡광도 변화를

측정한 다음 (A)-(B)=glucokinase 활성, (B)-(C)=hexokinase 활성으로 계산하였다. 동시에 보다 정확하게 하기 위해서 D-[U-¹⁴C] glucose (1900-1920 dpm/nmol)로부터 생성되는 D-[U-¹⁴C]glucose-6-phosphate 양을 측정하였다(54,55).

6) 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry 방법(38)을 사용하였으며 비활성도 측정에 사용하였다. 한편, 실험 결과의 유의성 검정은 Student's t-test를 이용하여 상호비교하여 관찰하였으며, 검정시 P값이 0.05 미만일 때를 통계적으로 유의하다고 보았다(58).

III. 結果 및 考察

1. 체중, 혈당, 인슐린 분비의 변화

IL-1 β (50 μ g/마리)를 마우스 복강내 3일간에 걸쳐 3회 주사하고 1일, 7일, 14일 3회에 걸쳐 정상군, 대조군 및 오배자 처리군의 체중 변화를 관찰하였다. 그 결과 IL-1 β 를 주사한 대조군의 체중 증가가 가장 심하였으며 다음으로 오배자 처리군에서 증가가 인정되었다. 그 중 1주일 후의 체중 변화를 표 1에 나타냈다. 정상군의 체중이 13.4 g인데 반하여 alloxan만을 주사한 대조군은 22.1 g을 나타내어 심한 체중 증가가 인정되었으며 alloxan 주사 후 오배자 처

Table 1. General characteristics of control diabetic mice

	Normal	Control	Rhois Galla
Body weight(g)	13.1±1.4	22.1±3.2*	16.1±2.2
Diet intake(g/day)	2.5±0.52	3.6±1.2	3.0±0.6
Serum glucose (mg/l)			
feed	144.4±18.2	235.2±62.1	178.3±12.7
fast	56.2±6.5	190.4±48.7*	134.5±17.5#
Plasma insulin (nU/ml)			
feed	42.5±6.7	102.5±7.4	76.1±5.9
fast	26.4±3.2	72.8±4.7*	43.2±6.1

Values are mean \pm 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.

리군은 17.4 g으로 상당한 체중 감소 현상을 보였다. 한편, 혈청 인슐린의 양도 정상군이 26.4 nU/ml인데 비하여, IL-1 β 를 주사한 대조군은 72.8 nU/ml로 나타나 인슐린 분비가 심하게 나타났다으며, IL-1 β 주사 후 오배자 처리군에서는 48.7 nU/ml으로 나타나 인슐린의 분비가 대조군에 비하여 억제되는 것으로 나타났다.

2. Interleukin-1 β 이 췌장 glucokinase 및 hexokinase 활성변화에 미치는 영향

Cytokine인 IL-1 β 에 의하여 췌장 β -cell이 손상을 받아 나타나는 IDDM에 오배자가 어떠한 작용을 하는지 살펴보았다. IL-1 β 를 주사한 대조군에서는 정상군에 비하여 췌장내에서의 glucokinase 활성이 현저히 저하되는 새로운 사실이 발견되었다. 이 결과는 IL-1 β 에 의하여 당뇨병이 유발되는 기작이 바로 glucokinase 저해를 통한 glucose 전환 과정의 초기 반응손상 때문으로 해석되며 alloxan과 똑 같은 결과임을 시사하였다. 그러나, IL-1 β 를 주사한 후 오배자 추출물을 투여한 실험군에서는 glucokinase의 활성이 거의 정상치 이상으로 유지되고 있는 것을 알 수 있었다. 즉, Interleukin-1 β (IL-1 β)이 췌장에서의 glucose 대사에 어떠한 영향이 있는지를 알아보기 위하여 마우스에 IL-1 β 처리를 한 후 glucose를 복강내에 각 1g/ml 1회 주사한 다음 48시간 동안 췌장에서의 glucokinase와 hexokinase 활성변동은 큰 것을 시사하였다 (Fig. 1). 앞서 나타난 오배자의 혈당 및 인슐린 분비 저하 작용을 보다 자세히 규명하기 위하여 glucose의 초기 인산화 효소인 glucokinase와 hexokinase의 활성을 살펴 보았다. Glucose 주사 후 시간에 따른 췌장의 glucokinase와 hexokinase 활성은 큰 차이를 보였는데, IL-1 β 만 주사한 대조군에서는 glucokinase와 hexokinase의 효소 활성이 모두 정상군에 비해 월등히 저하되었다.

한편, hexokinase 활성 또한 IL-1 β 를 주사한 대조군에서는 현저하게 정상군에 비하여 효소 활성이 감소되었다. 그러나, IL-1 β 처리 후 오배자를 투여한 실험군에서는 대조군에 비해 현

저하게 hexokinase의 활성이 증가되는 것으로 나타났다 (Fig. 2). 즉, hexokinase 활성도 IL-1 β 처리에 의해 저해를 받아 glucokinase와 마찬가지로 현저히 저하되는 특성을 보였으나, 오배자 투여로 정상치에 가깝게 유의성 있게 증가되었다. 그러므로, 오배자는 IL-1 β 으로 인해 손상된 췌장 β -cell에 대하여 glucokinase 및 hexokinase 활성을 증가시키는 작용을 나타내어 IDDM에도 효과가 있을 것으로 여겨진다.

Cytokine은 인슐린 의존형 당뇨병(IDDM)에 동반되는 β -cell의 기능적, 구조적 손상을 중재하는 항원 특이성 당단백으로 췌장 도세포를 침윤한 탐식 세포에서 분비된다(40). Cytokine의 일종인 interleukin-1 β (IL-1 β)는 췌장 도세포에서의 인슐린 분비와 β -cell에 대한 세포 독성을 효과적으로 조절하여 최근에 많은 연구의 대상이 되고 있다(39,40,49). 췌장 도세포를 IL-1 β 에 짧게(1시간 정도) 노출시키면 인슐린 분비를 상승시키지만, 길게(48시간 정도) 노출시키면 인슐린 분비와 생합성을 저해하며(33,53,

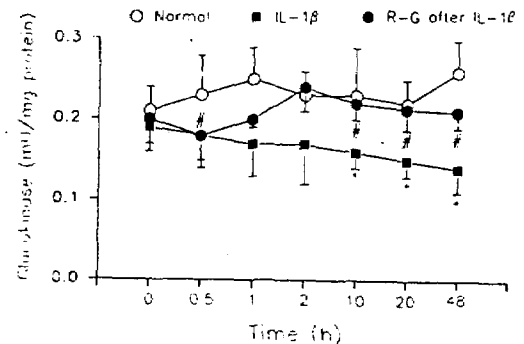


Fig. 1. Effects of IL-1 β on the glucokinase activity in pancreatic cells. Glycolytic enzyme activity was assayed in pancreatic tissues as described in experimental section and was calculated by least squares regression analysis.

Results are means \pm S.E. for 20 animals. *: significantly different from normal mice at P<0.05 by t-test. #: significantly different from IL-1 β mice at P<0.05 by t-test

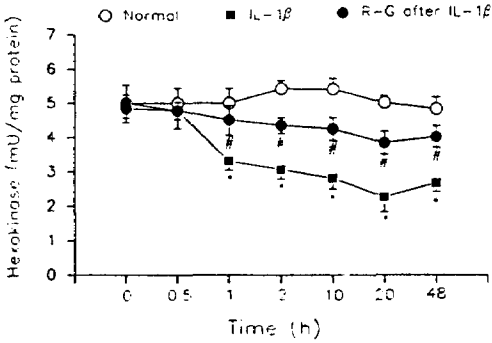


Fig. 2. Effects of IL-1 β on the hexokinase activity in pancreatic cells. Glycolytic enzyme activity was assayed in pancreatic tissues as described in experimental section and was calculated by least squares regression analysis. Results are means \pm S.E. for 20 animals. *: significantly different from normal mice at P<0.05 by t-test. #: significantly different from IL-1 β mice at P<0.05 by t-test

59) 더 오랫동안 노출시키면 β -cell을 파괴하게 되고 사멸시키게 된다(50). 결국, 탄식 세포에서 분비되는 IL-1 β 가 과잉 발현되면 β -cell의 기능적, 구조적 손상을 초래하여 췌장의 glucose 산화에 영향을 주어 IDDM을 유발하는데, 이는 IL-1 β 가 β 세포의 미토콘드리아 기능을 저해함을 알 수 있다(53,59). 그런데, 췌장 세포는 여러 가지 세포 형태가 혼재된 군집이므로 IL-1 β 가 각 세포의 대사 상태에 각기 다르게 효과를 줄 수 있음을 시사한다.

당뇨병은 糖質 대사 이상을 특징으로 하는 인슐린 작용 부전에 의해 고혈당과 요당을 나타내며 多飲, 多食, 多尿 등 3가지 증상을 주요 특징으로 한다(1). 당뇨병의 기본 당질 물질인 glucose는 인슐린 분비를 자극할 수 있는 가장 중요한 생리적 요소이며 glucose를 대사하기 위해서는 초기 반응 효소로 glucose 인산화 효소를 필요로 하고 있다. 즉, 인슐린 분비를 자극하기 위하여 췌장 島細胞 (pancreatic islet β -cell)에서 대사 과정에 필요한 glucokinase는

간과 췌장 도세포의 解糖 과정 중의 핵심 조절 효소이다(36,37,42).

한의학에서 당뇨병은 消渴의 증후와 유사한데(25,31) 飲食不節, 情志失調, 稟賦不足, 房勞過多 및 過服溫燥藥物 등이 주요 발병 원인으로, 陰津虧損하여 燥熱內生하는 것이 기본 病理이다(25). 임상상 肺燥, 胃熱, 腎虛의 주된 病因에 따라 上消, 中消, 下消로 분류되며(25,26) 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” 등의 증상이 특징으로(28), 각기 “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(26).

五倍子は 性寒 味酸(4,24,27)하여 無毒(30)하고 肺·腎·大腸經에 入하여 斂汗止血, 瀉腸止瀉, 瀉精縮尿 등의 효능으로 기능성 자궁출혈, 월경과다, 久瀉脫肛, 遺精遺尿 등에 활용(4,24, 7)되며 특히, 斂肺降火(4,24,27,30) 및 生津止渴(24)의 효능으로 渴欲飲水不止를 치료하는데 활용(29)되어 왔으므로, 이러한 오배자가 glucose 인산화 효소 활성에 영향을 주어 당뇨병 치료 효과가 나타나는 지를 검토하고자 본 실험을 시도하였다.

먼저, 실험 동물에 IL-1 β 를 주사한 다음 1일, 7일, 14일의 각 실험군의 특성을 살펴보았는데 14일의 각 실험군의 특성은 IL-1 β 주사후 7일의 특징과 별다른 변화가 없었다. 여기에서 주사 후 7일의 특성을 살펴보면, 각 실험군의 식이 섭취량에 있어서 대조군의 식이 섭취량이 정상군에 비하여 유의성 있게 증가되었으며, 오배자 투여군에서는 대조군에 비하여 식이 섭취가 감소하였으나 유의성은 없었다. 체중에 있어서는 정상군의 13.4 \pm 1.4 g에 비하여 IL-1 β 으로 당뇨가 유발된 대조군은 1주일 후 22.1 \pm 3.2 g으로 유의성 있는 증가를 보였으며, IL-1 β 주사 후 오배자를 투여한 실험군의 경우는 16.1 \pm 2.2 g으로 감소하는 경향을 보였다. 또한, 공복시의 혈청 중 glucose와 insulin 양이 대조군에서는 정상군에 비하여 모두 유의성 있는 증가를 나타내었으며, 오배자 투여군에서는 당뇨병으로 증가된 insulin 양을 유의성 있게 감소시키는 것

으로 나타나 당뇨병에 효과가 있음을 시사하였다. 이러한 결과는 비만한 상태에서는 인슐린이 과다 분비된다는 것을(34) 다시 입증한 것이며, 당뇨병이 있는 경우 비만의 발생 빈도가 정상인에 비하여 약 2배정도 높으며, 체중이 표준보다 증가할 수록 당뇨병의 빈도가 높다는 이(23)의 보고와 관련시켜 볼 때 의미하는 바가 크다고 여겨진다.

또한, 인슐린 비의존형 당뇨병 (NIDDM) 환자는 비만한 경우 인슐린 저항을 더욱 증가시켜 당뇨병의 경과를 악화시킬 수 있으며(52), 체중감소 후 장·단기 이환 NIDDM 환자의 공복시 혈당이 유의성있게 감소하고 단기 이환 NIDDM 환자의 공복 인슐린 농도가 유의성있게 감소한다고 보고되었다(22). 오배자 처리군이 대조군에 비하여 유의성은 없었으나 체중과 식이 섭취량이 감소된 것으로 나타났는데, 오배자가 식이 섭취를 억제시켜 체중 증가를 저지하므로써 NIDDM의 경과를 어느 정도 억제시킬 수 있다고 여겨진다. 오배자가 혈당 상승에 대하여 어떠한 작용을 나타내는 지를 검토하기 위하여 정상군, 대조군 및 오배자 처리군에 glucose를 복강내 주사한 다음 시간별 혈당과 혈청 인슐린 분비 변화를 관찰하였다. 혈당은 정상군에서 glucose가 주사되자마자 증가하여 30분 후 최고치를 나타내다 주사 후 1시간부터 점차 감소하기 시작하여 정상치 수준으로 회복되었으며, 혈청 인슐린도 glucose 주사 후부터 분비되기 시작하여 30분에 최고치를 나타낸 후 점차 정상화하는 경향을 보였다. 그러나, alloxan으로 당뇨가 유발된 대조군은 基底値의 혈당 자체가 정상군보다 유의성 있게 높았으며 주사 후 30분에 최고치를 기록한 후 점차 감소하였으나 10시간 이후에도 여전히 유의성 있게 혈당이 증가되어 있었다. 혈청 중의 인슐린치는 糖負荷 이전에 이미 정상군보다 유의성 있게 높았으며, glucose 주사 후 1.5시간 이후에나 인슐린 분비가 최고를 나타내어 초기 인슐린 분비에 심각한 장애가 있음을 시사하였고, 10시간 이후에도 여전히 당부하 이전보다 인슐린 분비가 약 2배 정도 증가되어 있었다. 그 반면,

오배자 투여군은 기저치의 혈당과 인슐린치 자체가 대조군보다 현저히 낮았으며 glucose 주사 30분 후 혈당과 인슐린치가 최고에 달한 후 시간이 경과함에 따라 전체적으로 정상군보다는 높지만 대조군에 비해 현저하게 그 수치가 감소하는 것으로 나타나, 당뇨병으로 인하여 높아진 혈당을 정상화하는데 오배자가 양호한 효과가 있음을 알 수 있었다.

Glucokinase는 1963년 간에서 포도당 합성에 관련된 glucose 인산화 효소로 발견(51,56)되어 G-6-P 생성 연구에 많은 기여를 하게 되었다. 이 효소는 간과 췌장에서 UDP-glucose를 생성시켜 간의 glycogen 생합성 전구체로 이용되는데 관여한다(46). UDP-glucose는 다시 UDP-glucose glycogen glycosyltransferase (glycogen synthase)에 의해 간에서 정상적인 glycogen을 합성하며 이때 이 효소 활성은 G-6-P에 의존적이며 당시 포도당 인산화 효소로 알려진 hexokinase 활성을 억제하는 것으로 보고되었다(51,56). 따라서 G-6-P의 생성과 glucokinase와의 상호 관계가 현재 많은 연구자들에게 관심의 대상이 되고 있다.

Glucokinase는 간과 췌장에 특이하게 존재하는데 간의 glucokinase는 인슐린의 조절을 받아 포도당 이용 및 glycogen 저장 등에 관여하고 췌장 glucokinase의 경우 혈중내 포도당의 농도를 감지하여 인슐린 분비를 조절하는 것으로 알려져 있어 NIDDM의 병인에 관련되는 중요한 효소로 인식되고 있다(41,48). 이 효소의 Km은 약 5.7 mM로서 포도당에 대한 친화력이 다른 포도당 인산화 효소, 즉 hexokinase의 Km 100 mM보다 훨씬 낮아 공복시나 식이 섭취 후와 같은 생리적인 당농도 변화에 효소 활성도 차이가 급격하게 변화한다(43,44,47). 췌장 glucokinase는 생성물 저해를 받지 않고 실험동물의 식이 상태를 민감하게 반영하는 특징으로 미루어 보아 glucokinase가 glucose receptor 역할을 하고 있을 것으로 추정되고 있다(45). 또한, glucose 이외의 당류는 기질로 사용치 않는 매우 특이적인 기질 특이성을 갖고 있다. 즉, α -glucose와 β -glucose의 anomeric form에

대한 다른 친화성을 갖고 있어 NIDDM 환자의 췌장은 β -glucose 자극에 정상적으로 반응을 하지만 α -glucose에 대해서는 정상인보다 효소 활성이 약한 것으로 알려져 있다(47).

이상의 결과를 종합하면, 오배자는 IL-1 β 으로 유발된 당뇨병 마우스에서 glucose 인산화 효소인 glucokinase와 hexokinase의 활성을 증가시켜 당뇨병의 치료에 효과가 있을 것으로 여겨지며, IL-1 β 의 glucokinase에 대한 작용 기전을 분자 수준에서 해명해야 할 것으로 사료된다.

V. 結論

五倍子의 당뇨병 치료 기전을 구명하기 위한 일환으로 IL-1 β 로 처리하여 실험적으로 당뇨병을 유발한 후 glucose의 초기 인산화에 관여하는 glucokinase와 hexokinase의 활성을 살펴본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. IL-1 β 주사에 의해 체중과 공복시의 glucose 및 insulin 분비가 증가되었으나, 五倍子 투여에 의해 공복시의 insulin 분비가 유의성 있게 감소하였으며 체중과 공복시의 glucose는 유의성은 없었으나 대조군에 비하여 감소하였다.
2. IL-1 β 주사에 의해 혈청 중 glucose치가 정상군에 비하여 현저하게 증가되었으나 五倍子 투여에 의해 현저히 감소되었다. Insulin 치의 상승과 분비 지연도 五倍子 투여군에서는 정상군과 유사한 경향을 보였다.
3. Glucokinase와 hexokinase의 활성은 IL-1 β 주사에 의해 현저히 감소되었으나, 五倍子 투여에 의해 유의성 있게 상승되었다.
4. IL-1 β 는 glucokinase와 hexokinase의 활성을 저해하였으며, 五倍子 투여군은 IL-1 β 주사로 저하된 glucokinase의 활성을 거의 정상 수준으로 회복시켰으며 hexokinase의 활성도 유의성 있게 증가시켰다.

이상의 결과로, 五倍子는 IL-1 β 로 유발된 당뇨병에서 glucose 인산화 효소인 glucokinase와 hexokinase의 활성을 증가시키는 것으로 나타

나 당뇨병의 치료에 효과가 있는 것으로 여겨진다.

VI. 參考文獻

1. 杜鎬京 : 東醫腎系學(下), 東洋醫學研究院, pp.1142,1158, 1993.
2. 杜鎬京 : 東醫腎系學研究, 東醫腎系研究會, p.430, 1994.
3. 安弼潯 : 保健社會白書, 보건사회부, pp.87-88, 1992.
4. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 成輔社, p.400, 1986.
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 : 蠶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. 金勁宅 : 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 睪臟 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, 鴨跖草 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 水鍼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: 鱉甲의 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. 민현기: 한국인 당뇨병의 임상적 특징, 당뇨병, 16(3):163-174, 1992.
22. 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.
23. 이광우, 손호형, 강성구, 방병기, 박두호, 민병석, 송혜향: 한국인 18,201명에서 당뇨병과 관련질환에 관한 역학적 연구, 당뇨병 8(1):5-14, 1984.
24. 高學放: 中藥學(第3分冊), 中醫古籍出版社, p.97, 1986.
25. 方藥中 主編: 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, pp.477, 1986.
26. 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.
27. 成都中醫學院 主編: 常用中藥學, 上海科學技術出版社, p.487, 1982.
28. 虞搏: 醫學正傳, 成輔社, p.277, 1986.
29. 危亦林: 世醫得效方, 醫聖堂, pp.221, 1990.
30. 李時珍: 本草綱目(下冊), 人民衛生出版社, p.2236, 1982.
31. 柴瑞葵: 基層中醫學習園地, 消渴, 山西中醫, (1):56, 1993.
32. 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.
33. Waddell, I.D., Burchell, A.: Biochemical J. 255:471-476, 1988.
34. 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.
35. 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.
36. Lenzen, S., Penten, U.: Glucokinase in pancreatic β -cell and its inhibition by alloxan, Acta. Endocrinol., 115:21-29, 1987.
37. Lenzen, S., Tiedge, M., Penten, U.: Glibenclamide induced glucokinase in rat pancreatic islets and liver, Biol. Pharmacol., 35(16):2841-2843, 1986.
38. 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.
39. Walker, D., Rao, S.: The role of glucokinase in the phosphorylation of glucose by rat liver, Biochem. J., 190:360, 1964.
40. Mandrup-Poulsen T., Bendtzan K., Nielsen,

- J. H., Bendixen, G., Nerup, J. : Cytokines cause functional and structural damage to isolated islets of Langerhans, *Allergy*, 40:424-429 (1985)
41. Matschinsky, F. M. : Glucokinase gene structure : Functional implications of molecular genetic studies. *Diabetes.*, 39: 523-527 (1990)
42. Meglasson, M. D., Burch, P. T., Berner, P. K., Najafh, H., Marchisky, F. M. : Identification of glucokinase as the alloxan-sensitive glucose sensor of the pancreatic β -cell, *Diabetes*, 35:1163-1173, 1986.
43. Meglasson, M. D., Marchisky, F. M. : New perspectives on pancreatic islet glucokinase, *Am. J. Physiol.*, 246(Endocrinol Metab. 9):E1-E13, 1984.
44. Meglasson, M. D., Marchisky, F. M. : Purification of the putative islet cell glucose sensor GK from isolated pancreatic isles and insulimoa tissue, *J. Biol. Chem.*, 259:343-346, 1984.
45. Meglasson, M. D., Marchisky, F. M. : Purification of the putative islet cell glucose sensor GK from isolated pancreatic isles and insulimoa tissue., *J. Biol. Chem.* 259:343-346 (1984)
46. Munch-Peterson, A., Kalckar, H.M., Cutdo, E., Smith, E. E. B. : *Nature*. 172:1036, (1953)
47. Niki, A., Niki, H., Kunoh, Y. : Insulin release by glucose anomers in a rat model of non-insulin-dependent diabetes, *Diabetologia*, 31:65-67 (1988)
48. 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)
49. Walker, D. G., Parry, M. J. : Glucokinase in liver, *Methods in enzymology*, Bergmayer ed., pp. 380-389, 1986.
50. Sandler, S., Anderson, A., Hellerström, C.: Inhibitory effects of interleukin-1 on insulin secretion, insulin biosynthesis and oxidase metabolism of isolated rat pancreatic islets. *Endocrinology*, 121:1424-1431, 1987.
51. 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.
52. 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.
53. Zar, J. H. : *Biostatistical Analysis*, N. J. Prentice Hall, Inc., p.96, 1984.
54. Stanley, J. C., Dohm, G. L., McManus, B. S., Newsholm, E. A. : *Biochem. J.* 224:667-671, 1984.

= Abstract =

Effect of Rhois Galla extract on pancreatic glucokinase and hexokinase activities of interleukin-1 β -induced diabetes mellitus mice

Hyung-Il Choi · Ji-Cheon Jeong · Cheorl-Ho Kim*

Department of Internal Medicine · Department of Biochemistry and Molecular Biology,
College of Oriental Medicine, Dongguk University*

We investigated the *in vivo* effect of an aqueous extract from Rhois Galla (R-G) on glucokinase and hexokinase activities of diabetes mellitus induced by interleukin-1 β (IL-1 β). 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 R-G. IL-1 β injection allowed the serum glucose level increased and the level was decreased by R-G administration. Furthermore, we could observe that R-G was effective in recovering the levels of insulin secretion. Enzyme activities of the glucokinase and hexokinase were decreased by IL-1 β treatment. In contrast, R-G administration to the mice allowed proportion increasing. Seemingly, when IL-1 β was injected to the mice, enzyme activities of the glucokinase and hexokinase were decreased. But, R-G stimulated induction of enzyme activities of the glucokinase and hexokinase as high as normal group. These results suggested that R-G is highly effective in treatment of diabetes mellitus.

Key Words : Interleukin, Rhois Galls extract, diabetes mice, Glucose metabolism