대한한의학회지 : 제 20권 2호
K.O.M.S. Vol. 20. No. 2. 1999

원저

桑白皮湯과 搜風順氣丸이 db/db Mice의 糖代謝에 미치는 影響

이성현* · 안세영* · 두호경*

ABSTRACT

A Study on the Effect of Sangbaegpitang & Supungsungiwhan on the Glucose Metabolism of db/db Mice

Sung-Hyun Lee*, Se-Young Ahn*, Ho-Kyung Doo*

* Department of 6th Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

In this study, body weight, levels of glucose, insulin and triglyceride in blood and glucosidase activity of the small intestine were investigated to determine the effect of Sangbaegpitang and Supungsungiwhan on the glucose metabolism of db/db mice. The GLUT4 mRNA of muscle tissue and the Acetyl CoA Carboxylase and the activation rate of GLUT2 mRNA of liver tissue were measured by the reverse transcription-polymerase chain reaction method and by the vitro transcription.

The results were obtained as follows:

1. In the Sangbaegpitang administration group,

(1) The level of triglyceride was decreased significantly and the glucosidase activity of the small intestine was inhibited remarkably.

(2) The amounts of the GLUT4 mRNA in muscle tissue and Acetyl CoA Carboxylase mRNA in liver tissue were increased significantly.

(3) Though glucose level in both fasting and non-fasting, were decreased and the insulin level in blood was increased, the results showed no statistical significance.

2. In the Supungsungiwhan administration group,

(1) The levels of glucose and triglyceride were decreased significantly in the blood of non-fasting animals.

(2) The glucosidase activity of small intestine was inhibited markedly and the amounts of GLUT4 mRNA of muscle tissue and GLUT2 mRNA of liver tissue were increased significantly.

(3) The glucose levels in the fasting group were reduced, while insulin level was increased but showed no statistical significance.

Based on the above results, our conclusions are as follows:

* 경희대학교 한의과대학 신계내과학 교실

접수: 99. 6. 8 최종수정: 99. 9. 15 연락처: 안영민 T. 02-958-9151

Sangbaegpitang & Supungsungiwhan are thought to be capable of inhibiting the activity of glucosidase, the enzyme which influences carbohydrate metabolism in the small intestine of db/db mice(the experimental diabetic model) and delaying the absorption of carbohydrate, thus proving effective on inhibiting the increase of non-fasting glucose level effectively. Futhermore, Sangbaegpitang and Supungsungiwhan are thought to be capable of preventing the composition of free fatty acids by restoring the production of GLUT4 mRNA of muscle tissues and GLUT2 mRNA of liver tissues.

Those results suggests that above prescriptions can be applied to non-insulin dependent diabetes mellitus in order to improve insulin resistance.

Key Word : Sangbaekpitang, Supungsungiwhan, Glucose transporter 2, Glucose transporter 4, Glucose metabolism

I. 緖 論

糖尿病은 高血糖 및 이에 隨伴되는 代謝障碍를 特徵으로 하는 insulin의 絶對的 또는 相對的 缺乏 및 組織에서의 作用低下나 抵抗에 起因하는 疾患群이다. 특히, 인슐린 非依存型 糖尿病(non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM)은 인슐린의 分泌 減少가 特徵인 인슐린 依存型 糖尿病(insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM)과는 달리 인슐린 抵抗性이 主要한 病態生理學的 特徵이다[1,2,3]. 인슐린 抵抗性은 遺傳的인 要因과 함께 末梢組織에서의 인슐린 感受性을 減少시키는 食餌形態나 肥滿, 運動習慣, 스트레스 等의 生活習慣과도 密接한 關聯이 있는 病理狀態로 筋肉組織과 脂肪組織에서의 組織 特異的 蛋白質인 葡萄糖輸送體(glucose transporter, GLUT)의 缺陷도 主要한 原因으로 報告되고 있다[1,2,3,4,5,6,7].

東洋醫學에서는 一般的으로 그 發現하는 多飮, 多食, 多尿, 體重減少 等 症狀의 類似함 때문에 消渴의 範疇로 認識하고 있다[2,3,].

糖尿病에 對한 東醫 方劑의 效能을 報告한 最近의 實驗論文으로 金[8]은 生津養血湯을, 金[9]은 加味地黃湯을, 洪[10]은 回春凉膈散을, 劉[11]는 淸心蓮子飮과 玉女煎을 各各 檢體로 하여 mouse의 血糖量에 미치는 影響을 硏究報告하였으나, 이들 實驗的 硏究가 대부분 인슐린依存型 糖尿病의 動物모델을 利用한 것으로 糖尿病患者의 大部分을 차지하는 인슐린非依存型 糖尿病에 對한 效能과 作用機轉에 對해서는 硏究가 微微한 實情이다.

이에 著者는 糖尿病에 對한 여러 가지 方劑 中 이미 血糖降下 效能이 立證된 桑白皮[18,27,67]를 君藥으로 立方된 桑白皮湯과 臨床에서 體重調節 效能과 인슐린 非依存型 糖尿病에 效能이 있다고 알려진 搜風順氣丸을 인슐린 非依存型 糖尿모델인 db/db mouse에 投與한 後 糖代謝에 미치는 影響을 觀察한 바 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗方法

1. 實驗動物 및 材料

1) 動 物

實驗動物은 恒溫·恒濕 動物飼育場에서 固形飼料(삼양유지 사료(주) 實驗動物用)와 물을 供給하면서 飼育한 7週齡의 雄性 C57BL/KsJ db/db mouse(Jackson Laboratory, USA)를 使用하였다.

2) 材 料

實驗에 使用한 藥材는 市中에서 購入, 精選하여 使用하였으며, 方劑는 東醫寶鑑[14] 消渴門에 記載된 桑白皮湯과 醫學入門[15] 風門에 記載된 搜風順氣丸으로 各 方劑의 構成藥物과 1貼 分量은 다음과 같다.

(1) 桑白皮湯

藥物名	生藥名	學名	重量(g)
桑白皮	Mori Cortex Radicis	Morus bombycis Koidzumi	7.500
白茯苓	Hoelen	Poria cocos Wolff	3.750
人蔘	Ginseng Radix	Panax schinseng Nees	3.750
麥門冬	Liriopis Tuber	Liriope muscari Bailey	3.750
乾葛	Puerariae Radix	Pueraria thunbergiana	3.750
山藥	Dioscoreae Radix	Dioscorea batatas Decaisne	3.750
桂皮	Cassiae Cortex	Cinnamomum cassia Blume	1.875
甘草	Glycyrrhizae Radix	Glycyrrhiza uralensis Fischer et. De Candolle	
Total Amount			31.875g

(2) 搜風順氣丸

藥物名	生藥名	學名	重量(g)
車前子	Plantaginis Semen	Plantago asiatica Decaisue	3.750
郁李仁	*Pruni japonicae Semen*	Prunus ishidoyana Nakai	3.750
檳榔	Arecae Semen	Arecacatechu Linne	3.750
麻子仁	*Cannabis Semen*	Cannabis Sativus Linne	3.750
菟絲子	Cuscutae Semen	Cuscuta australis R. Brown	3.750
牛膝	*Achyranthis Radix*	Achyranthes japonica Nakai	3.750
山藥	Dioscoreae Radix	Dioscorea batatas Decaisne	3.750
山茱萸	*Corni Fructus*	Cornus officinalis sieb. et Zucc.	3.750
枳殼	Ponciri Fructus	Poncirus trifoliata Rofinesque	1.875
防風	Ledebouriellae radix	Siler divaricatum Bentham et Hooker	1.875
獨活	Angelicae pubescensi Radix	Aralia continentalis Kitagawa	1.875
大黃	Rhei undulati Rhizoma	Rheum officinale Baillon	9.375
Total Amount			45g

2. 實驗方法

1) 檢體의 調製

上記 方劑를 各各 2貼 分量으로 調製하여 還流冷却器를 裝置하여 水浴上에서 蒸溜水(500㎖)로 3時間 동안 加熱하여 3回 反復抽出한 後, 濾過하여 얻은 濾液을 回轉濃縮器(rotary evaporator)를 使用하여 各 檢體 모두 60㎖가 되게 減壓 濃縮하였다.

2) 檢體投與

7週齡 雄性 C57BL/KsJ db/db mouse(Jackson Laboratory, USA)를 各各 7마리씩 4群으로 나누어 蒸溜水 投與群을 db/db對照群, 桑白皮湯과 搜風順氣丸 投與群을 各各 SBPT群, SPSGH群, 對照藥物 Acarbose 5㎎/㎏/day 投與群을 Acarbose群으로 設定하였고, 正常對照群(lean)으로 7週齡 雄性 C57BL/KsJ+/+ mouse에 檢體 溶解시 使用한 同量의 蒸溜水를 供給하였다. 檢體投與期間은 6週間으로 蒸溜水에 臨床用量의 10倍 該當되는 量을 一日分의 飮用水(150㎖)에 混合하여 投與하였다.

3) 試料採取 및 處理方法

每週 1回 空腹, 非空腹時의 血液中 葡萄糖濃度와 體重을 測定하였고 마지막 13週에는 空腹時의 血液을 採取하여 血液中 葡萄糖, 인슐린 濃度, 中性脂肪의 濃度를 測定하였으며, 脊椎 分離法으로 mouse를 犧牲시킨 後 小腸, 肝, 筋肉組織을 切除하였다. 空腹時의 體重 및 血液 採取는 13時間 切食시킨 後 午前 10時에 實施하였고, 非空腹時 體重 測定 및 血液 採取는 午後 2時에 實施하였다. 血液中 葡

葡萄糖 濃度 測定을 위한 血液은 痲醉 없이 眼窩靜脈을 通해 採取한 後 5000rpm에서 10分間 遠心分離하여 얻은 血淸을 使用하였다. 脊椎 分離法으로 mouse를 犧牲시킨 後 小腸과 肝을 分取하여 -70℃ 冷凍庫에 保管한 後 glycosidase 活性 測定을 위해 使用하였고, 組織으로의 葡萄糖 流入 活性 測定을 위한 橫膈膜 筋肉과 脂肪組織은 phosphate-buffered saline (PBS)에 保管한 後 使用하였다. RNA 分離를 위해서는 筋肉, 脂肪 및 肝組織을 -70℃ 冷凍庫에 保管한 後 使用하였다.

4) 生化學的 分析

(1) 血液中 葡萄糖 濃度 測定

血液中 葡萄糖濃度는 glucose-oxidation method로 測定하였다. 眼窩靜脈에서 얻은 血液 100㎕를 5000rpm에서 25分間 遠心分離한 뒤 上澄液 5㎕를 取하여 trinder試藥 1㎖를 加하고, 常溫에서 18分間 放置한 後 505㎚에서 吸光度를 測定 標準曲線을 利用하였다.

(2) 血液中 中性脂肪 濃度 測定

血液中 中性脂肪의 濃度는 Triglyceride-UV kit를 利用하여 測定하였다. Triglyceride(UV) reagent A(ATP 0.4mmol/L, lactate dehydrogenase 3000U/L, Lipase 3000U/L, NADH 0.27mmol/L, Phosphoenol pyruvate 0.5mmol/L, Pyruvate kinase 2000U/L buffer pH 7.2) 10㎖에 Triglyceride(UV) reagent B(Glycerol kinase 16000U/L) 0.25㎖을 混合하여 sample start reagent를 만들었다. Sample start reagent 1.0㎖에 各群 血漿 0.02㎖을 넣고 37℃에서 10分間 反應시킨 후 340㎚에서 吸光度를 測定하였다.

(3) 血液中 인슐린 濃度 測定

血液中 인슐린 濃度는 Insulin Radioimmunoassay kit(EIKEN CHEMIACAL CO, LTD)를 利用하여 測定하였다. 血液 中 인슐린 量을 測定하기 위해 헤파린 處理없이 mouse의 眼窩靜脈으로부터 血液을 取하고 遠心分離하여 血漿을 얻었다. 各 試驗管에 인슐린 標準液과 血漿 100㎕씩 넣고 ^{125}I-insulin 200㎕를 넣은 後 4℃ cold chamber에서 16時間 동안 incubation시킨 다음 second antibody 200㎕를 加하고 다시 4℃ cold chamber에서 30分間 遠心分離하고 上澄液을 吸引시켜 除去한 後 기벽에 남은 인슐린量을 γ-scintillation counter를 使用하여 測定하였다.

(4) 小腸의 glycosidase 活性 檢索[16]

13週齡 mouse에서 切除한 小腸을 얼음 위에서 生理食鹽水로 洗滌하고 十二指腸 部分을 除去한 後 같은 길이로 세 等分하여 各各 proximal, middle, distal로 酵素液을 기질과 反應시켜 glucosidase의 酵素活性을 測定하고 蛋白質量은 Bradford法 (Coomassie-Brilliant Blue G-250 dye, Bio-Rad)으로 測定하여 單位 蛋白質當 glucosidase의 specific activity를 計算하였다. 小腸의 glucosidase 酵素液 製造와 活性 測定은 아래의 方法으로 實施하였다.

① glucosidase 酵素液의 製造

13週齡 mouse의 切除 等分한 小腸을 生理食鹽水 洗滌 後 均質化 緩衝液 (0.5M NaCl, 0.5M KCl, 5mM EDTA, pH 7.0)을 加하여 polytron homogenizer를 利用하여 均質化한 뒤 20,000g에서 30分間 遠心分離하여 얻은 沈澱物에 다시 均質化 緩衝液을 加하여 遠心分離하였다. 마지막 얻은 沈澱物에 生理食鹽水를 加한 後 3,000rpm에서 40分間 遠心分離하여 얻은 上澄液을 酵素液으로 使用하였다.

② glucosidase 活性 檢索

50mM PIPES buffer(pH 6.8)에서 二糖類(sucrose)를 기질로 하여 酵素液과 함께 37℃에서 30分間 反應시켰다. 遊離된 D-glucose는 glucose-oxidation method (Trinder, Sigma)로 測定하였다.

(5) RT-PCR과 in vitro transcription에 의한 GLUT2 및 GLUT4의 mRNA量의 變化 檢索[5,17]

RT-PCR

組織으로부터 guanidine thiocyanate와 acid phenol extraction(TOTALLY RNA EXTRACTION kit, Ambion) 方法을 利用하여 RNA를 分離하고 DNase로 處理하여 genomic DNA를 除去한 後 reverse transcription system을 利用하여 cDNA를 合成하였다. 生成된 cDNA를

주형으로 하여 thermostable DNA polymerase 2unit, 1 X buffer, 200μM dNTPs, 12pmoles sense, non-sense primer(총 부피 50$\mu\ell$)를 使用하여 GLUT 2, 4 一部分을 增幅하였다.

GLUT2 upstream primer, 5'-TACCACCA GCATACACAACAC-3'와 downstream primer, 5'-TCTTTGCCCTGACTTCCTCTT-3'는 mouse liver-type transporter cDNA sequence9를 基礎로 디자인하였고, GLUT4 upstream primer, 5'-ACAGAAGGTGATTGAACAGAC-3'와 downstream primer, 5'-AACCGTCCAAG AATGAGTATC-3'는 muscle/adipose tissue-type transporter cDNA sequence10를 基礎로 디자인하여 生成되는 PCR product의 크기는 各各 561, 285 bp이었다.

PCR은 94℃에서 30초간 denaturation, 57℃ (GLUT2는 60℃)에서 30초간 annealing, 72℃에서 30초간 extension을 30회 反復하고 72℃에서 5分間 post-incubation하여 수행하였으며 1% 한천 겔 電氣泳動을 통해 確認하였다.

3. 統計處理

모든 實驗結果의 統計處理는 SAS 통계 program (SAS institute, 1990)을 利用하였으며, 結果는 平均과 標準誤差로 表示하였다. 搜風順氣丸과 桑白皮湯의 投與에 따른 影響을 檢證하기 爲해 two way-ANOVA로 分析하였다. 各 群間의 有意性은 general linear model (GLM)의 Duncan's multiple test에 의해 比較하였으며, $p<0.05$에서 有意性을 檢證하였다.

III. 實驗結果

1. 體重 變化의 觀察

6週間 檢體 投與 後 體重變化는 lean, db/db對照群, SBPT群, SPSGH群, Acarbose群에서 各各 3.23, 7.76, 10.20, 7.08, 8.30g 增加하였다. SBPT群은 db/db對照群에 比해 1일 食餌攝取量이 減少하였음에도 體重 增加傾向을 보였고, SPSGH群은 體重 減少 傾向을 보였지만 各 群間 有意的 차이는 觀察되지 않았다. 體重增加 樣相을 보면 db/db對照群이 lean正常群에 比해 7週에서 9週까지 급격히 體重이 增加된 後 維持되는 傾向을 보인 반면, SBPT, SPSGH, Acarbose群은 全實驗期間을 通해 漸進的으로 體重 增加 樣相을 보였으나 有意的인 體重減少가 觀察되지 않았다(Table 1).

Table 1. Effect of the SBPT, SPSGH and Acarbose on the non-fasting body weight in db/db mice

Group	Body weight (g)		
	Initinal weight	Final weight	Weight gain
Lean	23.89±0.34^{c}	27.11±0.14^{b}	3.23±0.46^{b}
db/db	44.18±0.43^{a}	51.94±1.04^{a}	7.76±0.87^{a}
SBPT	41.18±0.68^{b}	51.38±1.82^{a}	10.20±1.30^{a}
SPSGH	41.58±1.68^{b}	49.38±0.79^{a}	7.08±1.20^{a}
Acarbose	43.07±0.57^{ab}	51.37±0.52^{a}	8.30±0.54^{a}

Body weight was measured by weekly. Initial weight is the value of 7th week of birth. Final weight is the value of 13th week of birth. Values are mean±SE of 7 mice in each group. Different alphabet means different value significantly at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

2. 血液中 葡萄糖 濃度의 變化

空腹時 血糖의 경우 db/db對照群은 體重變化와 같이 7週齡에서 9週齡까지는 急激한 增加 樣相을, 9週齡에서 13週齡까지는 維持 傾向을 보였다. SBPT群과 SPSGH群에서는 檢體投與 2週째 血糖降下 效果를 보이기 始作하여 lean, db/db對照群, SBPT群, SPSGH群, Acarbose群에서 12週째 空腹時 血糖은 107.14, 464.00, 315.20, 344.75, 346.00㎎/dℓ로 Acarbose群에 비해 SBPT群, SPSGH群이 낮거나 비슷한 血糖降下效果를 나타내었다(Table 2).

Table 2. Effect of the extract of the SBPT, SPSGH and Acarbose on the fasting serum glucose level in db/db mice

Group	Fasting serum glucose level (mg/dl)	
	12th	13th
Lean	107.14±12.36^{b}	75.86±12.65^{c}
db/db	464.00±48.99^{a}	354.20±77.07^{ab}
SBPT	315.20±56.88^{a}	322.40±104.44^{a}
SPSGH	344.75±22.78^{a}	407.75±45.25^{ab}
Acarbose	346.00±43.11^{a}	227.00±23.34^{bc}

Fasting serum glucose level was measured on the 12th, 13th week of birth. Values are mean±SE of 7 mice in each group. Same alphabet in the same column(each week) doesn't mean different value significantly at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

非空腹時 血糖의 경우 lean群은 觀察期間中 130㎎/dℓ 水準에서 維持되었으나 db/db對照群은 急激하게 血糖이 增加하는 傾向을 보였다. 반면 SBPT群, SPSGH群, Acarbose群에서는 血糖 增加幅이 db/db群보다 鈍化된 경향을 보였으나 持續的인 有意性은 보이지 않았다. SBPT群에서는 db/db對照群에 비해 11.5週齡에 若干의 血糖減少가 觀察되었으나 有意性은 없었고, SPSGH群과 Acarbose群에서는 11.5週齡에 db/db對照群에 비해 有意한 血糖減少가 觀察되었다(Figure 1).

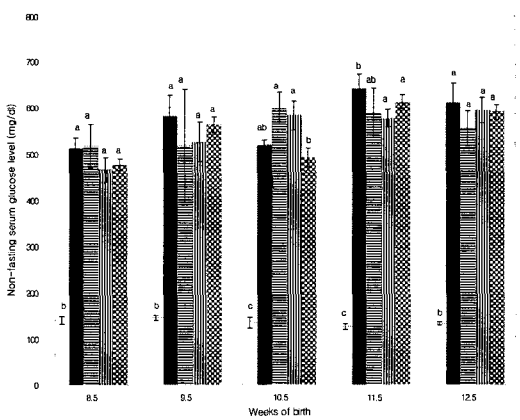

Figure 1. Effect of SBPT, SPSGH and Acarbose on the non-fasting serum glucose level in db/db mice.

□ ; Lean, ■ ; db/db, ▤ ; SBPT, ▥ ; SPSGH, ▦ ; Acarbose

Non-fasting serum glucose level was measured by weekly. Values are mean±SE of 7 mice in each group. Same alphabet in each week doesn't mean different value significantly at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

3. 血液中 中性脂肪 濃度의 變化

마지막 週에 血液中 中性脂肪 濃度를 測定해본 結果 lean, db/db對照群, SBPT群, SPSGH群, Acarbose群에서 各各 81±3.9, 249±43.4, 187±23.6, 120±24.8, 211.5±12.4㎎/dℓ로서 lean對照群에 比해 db/db對照群은 3倍以上 增加되었고, SBPT群과 SPSGH群은 db/db對照群에 比해 各各 24.9%와 51.8% 有意하게 減少함을 觀察하였다(Figure 2).

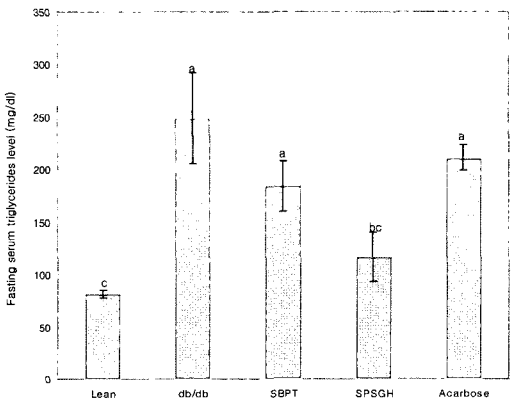

Figure 2. Effect of SBPT, SPSGH and Acarbose on the fasting serum triglycerides level in db/db mice.

Fasting serum triglycerides level was measured at 13th week of birth(at the completion of the experiment). Values are mean±SE of 7 mice in each group. Different alphabet means different value significantly at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

4. 血液中 인슐린 濃度의 變化

마지막 週에 空腹時 血液中 인슐린 濃度를 測定한 結果, db/db對照群은 lean對照群에 比해 6倍 정도 높은 인슐린 濃度를 나타내었고 SBPT群과 SPSGH群은 db/db對照群에 比하여 各各 40μU/mℓ와 30μU/mℓ 정도 높은 인슐린치를 나타낸 반면 Acarbose群은 db/db對照群과 거의 같은 水準의 인슐린치를 나타내었다(Figure 3).

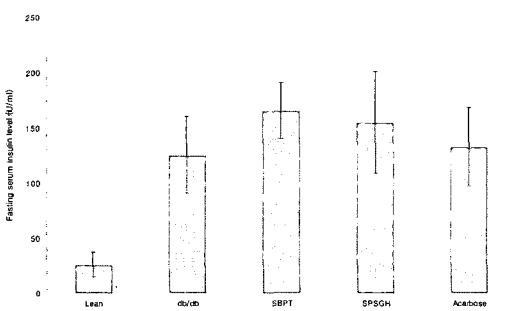

Figure 3. Effect of SBPT, SPSGH and Acarbose on the fasting serum insulin level in db/db mice.

Fasting serum insulin level was measured at 13th week of birth(at the completion of the experiment). Values are mean±SE of 7 mice in each group. Different alphabet means different value significantly at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

5. 小腸의 glucosidase 活性

小腸을 proximal, middle, distal의 세 部分으로 나누어 各 群에 二糖類 消化酵素인 glucosidase 活性을 比較해 보았다. Sucrase 活性은 db/db對照群이 lean對照群에 비해 全 部分 活性이 誘導되었고, 各 部分間 活性크기는 proximal> middle> distal의 順이었다. db/db對照群에 비해 SBPT群은 酵素活性이 全 部分에 걸쳐 減少하였고, SPSGH群은 proximal部分을 제외한 全 部分에서 減少하였으나 Acarbose群의 경우 distal部分만 除外하고 增加하는 傾向이 보였다. SBPT群의 경우 相對的으로 sucrase活性이 큰 proximal, middle에서 큰 폭으로 減少되었고 活性이 작은 distal部分에서는 약간 減少하였고, PSGH群에서는 相對的으로 活性이 큰 proximal 部分에서는 對照群에 比해 큰 幅으로 增加된 반면, acasbose 投與群은 proximal, middle 部分에서는 약간씩 增加하고 活性이 작은 distal 部分에서는 약간 減少하였다(Figure 4).

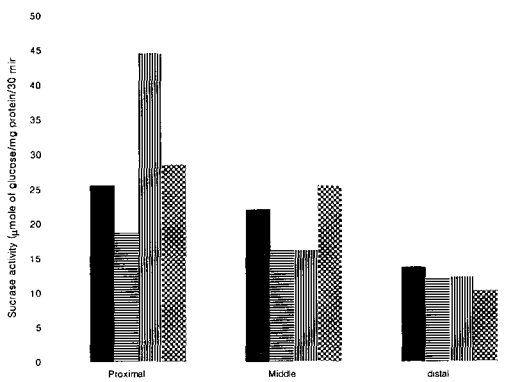

Figure 4. Effect of SBPT, SPSGH and Acarbose on the sucrase activity in db/db mice.
□ ; Lean, ■ ; db/db, ▤ ; SBPT, ▥ ; SPSGH, ▦ ; Acarbose
At the completion of the experiment, animals were overnight fasted and sacrified. Immediately the entire jejunoileum was removed and divided into three segments(proximal, middle, distal) of equal length. Sucrase activity was determined per mg protein in 30 minute.

6. 筋肉組織에서 GLUT4 mRNA 發顯에 對한 效果

GLUT4 mRNA量은 db/db對照群이 lean對照群에 比해 55.9% 減少하였으나, SBPT와 SPSGH 抽出物의 投與로 GLUT4 mRNA量이 顯著하게 增加하였는데, lean對照群 보다 db/db對照群에서 더욱 높은 數値를 나타내었다(Figure 5).

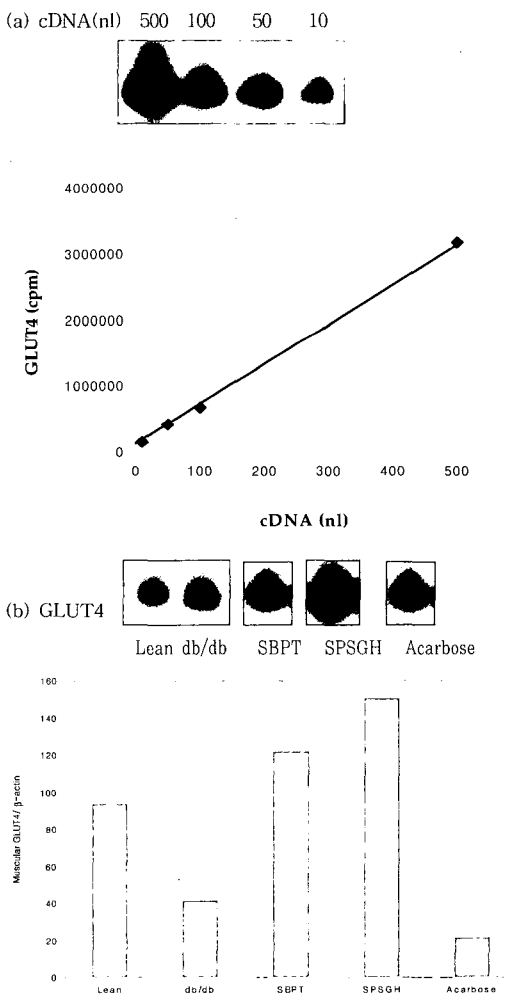

Figure 5. Effect of SBPT, SPSGH and Acarbose on GLUT4 mRNA expression in quardiceps muscle.
(a) Calibration curve of GLUT4 cDNA PCR products

(b) Effects of SBPT, SPSGH and Acarbose on GLUT4 mRNA expression normalized by β-actin

At the completion of the experiment, animals were sacrified. Immediately the muscle was removed and total RNA was extracted, then specific mRNA was analysed by RT-PCR and in vitro transcription. GLUT4 mRNA was expressed arbitary unit which is relative to internal control, β-actin.

7. 肝組織에서 GLUT2 發顯에 對한 效果

肝組織에서의 GLUT2 mRNA의 發顯은 db/db對照群이 lean 對照群에 比해 2.5倍 以上 增加하였으며 SBPT群은 db/db對照群보다 顯著하게 減少하였고, SPSGH群에서는 顯著하게 增加하였다(Figure 6).

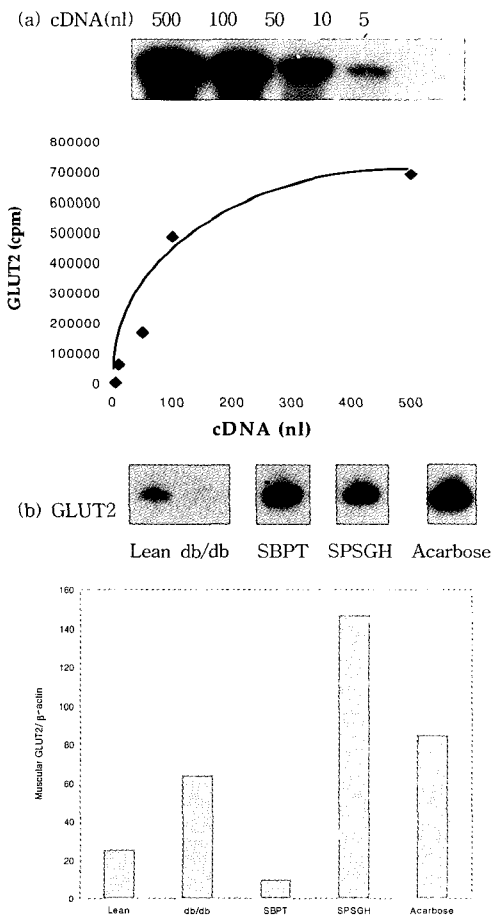

Figure 6. Effect of SBPT, SPSGH and Acarbose on GLUT2 mRNA expression in liver tissue.

(a) Calibration curve of GLUT2 cDNA PCR products
(b) Effects of SBPT, SPSGH and Acarbose on GLUT2 mRNA expression normalized by β-actin

At the completion of the experiment, animals were sacrified. Immediately the liver tissue was removed and total RNA was extracted, then specific mRNA was analysed by RT-PCR and in vitro transcription. GLUT2 mRNA was expressed arbitary unit which is relative to internal control, β-actin.

IV. 考 察

인슐린非依存型 糖尿病 患者들에서 보여지는 高血糖은 膵臟에서의 인슐린 分泌의 減少, 肝에서의 葡萄糖 放出의 增加 및 末梢組織에서의 인슐린抵抗性 等이 複合된 結果이다[1,2,3,18].

인슐린 抵抗性에 對한 初期 生理學的 適應은 β細胞 過多增殖에 의한 高인슐린血症이지만, 인슐린에 對한 末梢 組織의 抵抗性을 克服할만큼 充分한 인슐린을 分泌하지 못하am로서 高血糖과 高인슐린血症의 惡循環이 反復되어 결국 β細胞 壞死, 인슐린 缺乏症, 甚한 高血糖, 體重 減少 等을 招來하게 된다[1,2,18]. 이러한 인슐린 抵抗性은 遺傳的인 要因外에도 組織에서의 인슐린 感受性을 減少시키는 食餌形態나 運動習慣, 스트레스 等 生活習慣과도 密接한 關聯이 있는 病理狀態로 아직까지 發生機轉이 明確하게 밝혀지지 않았으며, 肥滿 또한 인슐린 抵抗性을 招來하는 主要因으로서 肥滿度가 增加될수록 인슐린刺戟에 대한 葡萄糖 利用이 減少하는 傾向을 나타낸다[1,2,18]. 지금까지 硏究된 바에 따르면 末梢 인슐린抵抗性은 葡萄糖 流入 및 利用의 80 % 以上을 擔當하는 筋肉組織과 脂肪組織에서 인슐린作用의 障碍로 因해 發生하는데 이는 葡萄糖 輸送體의 損傷과 關聯이 있는 것으로 思料된다[1,4,5,6,7].

自然 發生的 肥滿白鼠(db/dbmouse)는 染色體 4번에 存在하는 diabetes gene(db, leptin receptor gene)의 變異와 視床下部의 飽滿中樞의 異常으로 因해 多食, 漸進的인 肥滿, 인슐린抵抗性, 高렙틴血症, 高血糖 等 사람의 NIDDM과 類似한 臨床的 特徵을 가지므로 인슐린抵抗性과 糖尿病에 對한 遺傳的 分析

에 有用한 動物모델이다[1]. 特徵的으로 生後 8週齡 以後에는 空腹時 血液中 인슐린의 量이 漸進的으로 減少하는 傾向을 나타내다가 甚한 인슐린 缺乏症이 招來되는 것으로 보이며, 이는 이 時期 以後 空腹時 血糖의 漸進的인 增加 樣相과도 一致한다[1,19].

糖尿病은 東洋醫學的으로 볼 때 消渴의 範疇에 屬하며, 消渴理論은 黃帝內經[20]에 最初로 收錄된 以後 諸病源候論[21]에서 證候의 分類가 나타나기 始作하여 唐宋代에 와서 體系가 形成되었다[22].

消渴의 原因에 對하여 素問의 陰陽別論에서는 "二陽結謂之消"라고 하여 手足陽明經의 津液과 血液이 不足하게 되면 燥熱이 發生하여 消渴이 된다고 하였고[20], 靈樞의 五變篇과 本藏篇에서는 "五臟皆柔弱者 善病消癉" "心脆則善病消癉"이라고 하여 先天的 原因을 指摘하였다[23]. 巢[21]는 下焦虛熱로 腎이 燥하거나 數食甘味하여 消渴이 發生한다 하였고, 朱[24]는 三焦受病으로 三消가 發한다고 하였으며, 李[25]는 燥熱을, 張[26]은 腎水不足을 原因으로 主張하였다. 近年에 이르러 孫[27]은 肺熱 胃熱 腎虛를 消渴의 原因으로 보았고, 陳[28]은 飮食不節 情志不調 房室不節 熱病化燥를 原因으로 보았으며, 杜[2,3]는 消渴의 原因을 熱邪로 把握하였는데 具體的으로 過食 또는 膏粱珍味의 過多 攝取로 濕熱이 內生하거나, 憂思等으로 脾에 積熱이 發하거나, 易怒가 過極하거나 嗜酒하여 肝火가 鬱結되거나, 腎水 耗損으로 陰虛燥熱하거나, 陽火旺盛, 相火熾盛, 水化不交, 臟腑不和로 消渴이 發生한다고 하였다.

前述한 歷代醫家들이 主張한 消渴의 原因들은 單獨 或은 複合的으로 作用하여 津液을 消耗시키고 燥熱을 誘發한다. 이에 對해 李[25]는 "血中伏火…津液不足…燥熱爲病", 葉[29]은 "陰虧陽亢 津涸熱淫"이라 하여 消渴에 있어서 津虧와 燥熱의 重要性을 指摘한 바 있다. 津液의 虧損과 燥熱의 內生은 서로 密接한 因果關係에 놓여 있는데 津虧가 本이고, 燥熱은 標인 關係를 가지며 津液이 虛하면 燥熱은 더욱 盛해지고 燥熱이 盛하면 津液 또한 더욱 耗損된다[2,30]. "津液虧損"과 "燥熱熾盛"의 病機는 糖尿病의 東洋醫學的인 病理機轉과 符合하는 바 瀉肺燥熱하고 生津液하는 桑白皮湯과 手足陽明經의 燥熱을 淸腸潤燥하여 中風의 風秘·氣秘를 治하는 搜風順氣丸이 糖尿病에 有效할 것으로 思慮되어 本 實驗에 使用하였다.

桑白皮湯은 東醫寶鑑[14] 消渴門에 收載된 處方으로 總 8種의 藥物로 構成되어 있으며 瀉肺燥熱 生津止渴을 治療目標로 하고 있다. 그 構成藥物의 氣味와 效能을 살펴보면, 桑白皮는 甘寒하여 瀉肺熱平喘 行氣消腫하며, 白茯苓은 甘淡平하여 滲濕利水 益脾和胃하며, 人蔘은 甘微苦微溫하여 瀉火除煩 生津止渴하며, 麥門冬은 甘微苦微寒하여 潤肺淸心 瀉熱除煩하며, 乾葛은 辛甘平하여 解肌退熱 生津止渴하며, 山藥은 甘平하여 養陰益氣 淸肺除熱하며, 桂皮는 辛溫하여 補中益氣 益肺助陽하며, 甘草는 甘平하여 和中緩急 調和諸藥한다[31].

搜風順氣丸은 醫學入門[15] 雜病用藥賦 風門에 收載된 處方으로 總 12種의 藥物로 構成되어 있으며 疏風順氣 潤燥通幽를 治療目標로 하고 있다. 그 構成藥物의 氣味와 效能을 살펴보면, 車前子는 甘寒하여 行水洩熱 淸肺肝風熱하며, 郁李仁은 辛苦微酸平하여 破血泄氣 潤腸通陽하며, 麻子仁은 甘平하여 疏風潤燥 滋陰生津하며, 菟絲子는 辛甘平하여 强陰益精 溫而不燥하며, 牛膝은 苦酸平하여 活血通經 補益肝腎, 山藥은 甘平하여 養陰益氣 淸肺除熱하며, 山茱萸는 酸澁溫하여 補腎溫肝强陰助陽하며, 枳殼은 苦辛 微酸寒하여 破氣行痰 散結逐瘀하며, 防風은 辛甘微溫하여 洩肝瀉肺 解表疏散하며, 獨活은 辛苦溫하여 疏風去濕 通經絡하며, 大黃은 大苦大寒하여 破結通幽 祛瘀燥熱한다[31].

本 硏究에서는 桑白皮湯과 搜風順氣丸의 藥物 抽出物을 投與한 自然 發生的 肥滿 糖尿 mouse(db/db mouse)에서의 抗糖尿 效果와 活性 機轉을 觀察하였다.

db/db mouse는 特徵的으로 月齡에 따른 急激한 體重變化를 보이는데 生後 1個月 未滿부터 體重增加가 나타나기 始作하여, 生後

2~3個月에는 甚한 過多가 나타나고, 3個月 以後에서는 體重減少가 招來되는 樣相을 보인다.[1,19] 本 實驗에서도 db/db對照群은 lean 正常群에 比해 7週齡에서 9週齡까지 急激히 體重이 增加한 後 維持되는 傾向을 나타내었다. SBPT群과 SPSGH群 모두 全體 實驗期間을 通해 漸進的인 體重增加 樣相을 보여 db/db對照群과 差異를 보였는데, 이로써 이들 藥物이 db/dbmouse의 體重增加 樣相에 일정한 影響을 미치었음을 推論할 수 있다(Table 1).

空腹時 血糖은 SBPH群과 SPSGH群 모두 統計學的 有意性은 認定되지 않았으나 db/db 對照群에 比해 血糖의 增加가 抑制되는 傾向을 보였고(Table 2), 非空腹時 血糖은 SBPT群에서 9.5週齡과 11.5週齡에 db/db對照群에 比해 抑制되는 傾向을 보였으며, SPSGH群에서는 11.5週齡에 db/db對照群과 比較時 有意한 血糖減少가 觀察되었다(Figure 1).

인슐린非依存型 糖尿病에서 나타나는 脂質代謝 異常으로는 高脂血症, 특히 高中性脂肪血症이 가장 높은 頻度로 나타나며, 이러한 高脂血症은 粥狀硬化症의 主要 危險因子의 하나로 作用하여 虛血性 心疾患을 비롯한 糖尿病의 心血管系合併症의 發生에 影響을 미친다[1,32].

血中 中性脂肪濃度는 SBPT群과 SPSGH群이 db/db對照群에 比해 各各 24.9%와 51.8%로 有意하게 減少하였다. 이로써 桑白皮湯과 搜風順氣丸이 高脂肪血症을 改善시키는 作用이 卓越하다고 認定되며 그 活性機轉은 인슐린抵抗性이 抑制되어 나타난 것으로 推測된다(Figure 2).

一般的으로 db/dbmouse는 8~12週齡에는 甚한 高인슐린血症으로 因한 인슐린抵抗性을 보이다가 그 以後에는 血中 인슐린 濃度가 減少되어 生後 8個月 前後에는 甚한 인슐린 缺乏狀態에 到達한다[1,19].

試料를 採取한 13週齡의 時期는 甚한 高인슐린血症으로 因해 膵臟의 β細胞에 負擔을 주어 인슐린 分泌能이 減少하기 始作하는 時期이다. SBPT群과 SPSGH群에서 血中 인슐린 濃度의 增加는 이들 藥物의 投與가 食後 血糖을 減少시키는 傾向性이 있으며, 血中 中性脂肪 濃度를 크게 減少시키는 것으로 보아 膵臟機能을 部分的으로 回復시켜 인슐린分泌能을 增加시키고, 이러한 인슐린 分泌 促進作用을 通해 血中遊離脂肪酸 濃度와 體內 脂肪酸化를 減少시켜 末梢組織에서의 인슐린 抵抗性을 克服하기 위한 인슐린 分泌 過多狀態로 推測할 수 있다(Figure 3). 그러나, 이러한 作用機轉이 무엇인지에 대해서는 向後 자세한 硏究가 이루어져야 할 것으로 思慮된다.

인슐린非依存型 糖尿病의 가장 特徵的인 病態生理는 體內에 吸收된 葡萄糖에 對한 適切한 反應의 障碍와 同伴되는 食後 持續的 高인슐린血症이다. 炭水化物은 小腸의 絨毛에 存在하는 α-glucosidase에 의해 거의 대부분 單糖類인 葡萄糖으로 轉換되어 體內에 吸收되게 된다. 따라서 小腸에서 α-glucosidase를 抑制하여 炭水化物의 單糖類로의 轉換을 防止하면 食後 高血糖을 抑制할 수 있다[1,16]. Acarbose는 小腸 α-glucosidase와 膵臟 α-amylase의 强力한 抑制劑이며 lysosomal acid α-glucosidase에 대해서도 强力한 抑制作用을 가지는 것으로 報告되고 있다[1,33]. 또한 糖尿病 mouse에 投與하였을 때 小腸의 distal 部分에서 sucrase의 活性이 增加하였다고 報告되었고, 高炭水化物 食餌 섭취 mouse에서도 같은 結果가 報告되었다[34].

本 實驗에서는 db/db對照群은 lean群에 比해 酵素 活性이 全 部位에서 增加되어 있었고, Acarbose群에서는 旣存의 硏究結果와는 달리 proximal, middle 部分의 活性이 增加하고 distal 部分의 sucrase 活性이 減少하였다. SBPT群에서는 相對的으로 sucrase의 活性이 큰 proximal, middle 部分에서는 큰 폭으로 減少되었고 活性이 작은 distal 部分에서는 酵素活性이 약간 減少하였다. SPSGH群에서는 proximal 部分을 제외한 middle, distal 部分에서는 sucrase 活性이 對照群에 比해 큰 幅으로 增加된 반면 나머지 部分에서는 db/db對照群 보다 顯著하게 減少하였다(Figure 4). 이들 結果들을 通해 桑白皮湯과 搜風順氣丸

이 小腸의 proximal, middle, distal 部分 사이에 存在하는 α-glucosidase의 活性을 낮추어 二糖類의 分解를 抑制시켜 食後 高血糖을 調節할 수 있을 것으로 思料된다. 그러나 桑白皮湯과 搜風順氣丸과 같은 複合藥物로 構成된 方劑의 여러 成分들은 部分마다 活性을 다르게 調節할 수 있으므로 그 調節機轉과 消化酵素의 活性이 血糖의 調節에 미치는 影響에 대해서는 持續的인 深究가 있어야 할 것으로 思料된다.

인슐린非依存型 糖尿病 患者의 主要 病態生理學的 特徵은 末梢組織에서의 인슐린抵抗性으로 주로 筋肉組織에서의 인슐린反應 缺陷으로 因해 發生하는 것으로 알려진다. 體內에서 이러한 인슐린抵抗性을 일으키는 要因으로는 인슐린 受容體의 減少와 受容體 結合後 細胞內 缺陷을 들 수 있는데, 後者의 경우 葡萄糖 輸送體(glucose transporter) 數의 減少에 依한 葡萄糖 輸送의 障碍로 起因함이 밝혀진 바 있다[1,4,5,6,7]. 筋肉이나 脂肪組織에서 葡萄糖 輸送을 擔當하는 輸送體는 GLUT4로서 db/dbmouse나 streptozotocin(STZ) 誘導高血糖 mouse의 筋肉組織에서 GLUT4의 mRNA 및 蛋白質 含量이 減少함이 報告되었다[35]. 또한 db/db mouse에 human GLUT4를 overexpression시킨 mouse에서 血糖이 減少함을 報告하여 GLUT4의 增加가 인슐린 抵抗性을 改善시킬 수 있음이 確認되었다[6,36].

本 硏究에서는 桑白皮湯과 搜風順氣丸의 投與로 因한 筋肉組織의 GLUT4 mRNA 發顯의 變化를 살펴봄으로서 末梢 인슐린 抵抗性이 改善 或은 惡化되는지를 觀察하였다. db/db對照群은 lean對照群에 比해 GLUT4 mRNA量이 55.9% 減少하였으나, 桑白皮湯과 搜風順氣丸 投與群에서는 GLUT4 mRNA量이 顯著하게 增加하였으며, lean對照群 보다도 오히려 높은 數値를 나타내었다(Figure 5). 이러한 結果로부터 桑白皮湯과 搜風順氣丸은 GLUT4의 減少로 因해 인슐린 抵抗性이 發生 或은 惡化된 경우 GLUT4의 發顯을 正常水準 或은 그 以上으로 回復시킴으로서 인슐린抵抗性을 改善시킬 수 있을 것으로 思料되며, 向後 이 效果가 GLUT4 mRNA 發顯에 直接的으로 影響을 미치는지 아니면 다른 機轉으로 高血糖을 調節한 結果로 因한 間接的 結果인지에 對한 硏究 糾明이 必要할 것으로 思料된다.

筋肉組織과는 달리 肝組織에서의 葡萄糖 利用은 葡萄糖의 輸送보다는 glucokinase에 依해 調節되고, 반면 肝組織의 葡萄糖輸送體인 GLUT2는 葡萄糖의 流入과 遊離라는 두 役割을 擔當하는 輸送體이다. GLUT2 蛋白質이나 遺傳子에 缺陷이 생기면 膵臟 β細胞內로 葡萄糖의 流入이 안되어 β細胞에서 인슐린分泌가 일어나지 않게 되며, 인슐린의 減少로 因하여 肝細胞內로 葡萄糖이 流入되지 못하고 肝細胞內의 glucokinase의 反應速度가 減少되어 肝에서의 糖放出量이 增加하게 된다. 따라서 GLUT2 發顯의 減少는 糖尿病에서 β細胞의 機能異常과 聯關되어 있고 이로 因해 正常的인 糖 攝取의 異常과 함께 糖 認識에 異常이 招來되는 것으로 생각된다.

本 硏究의 結果 搜風順氣丸 投與群에서 GLUT2 增加로 因해 肝으로의 葡萄糖 流入이 對照群에 比해 顯著하게 增加되어 結果的으로 肝 組織內에서 糖新生에 抑制作用을 나타내어 葡萄糖의 遊離가 減少되어 空腹時 血糖을 減少시킨 것으로 推論할 수 있겠다(Figure 6).

以上의 實驗結果들을 綜合할 때 db/db mouse에서 SBPT群에서는 中性 脂肪의 濃度가 有意하게 減少하였으며, 小腸 glucosidase의 活性의 抑制와 筋肉組織의 GLUT4 mRNA量의 顯著한 增加, 肝組織에서 acetyl CoA carboxylase (ACC) mRNA量의 顯著한 增加가 觀察되었으며, 空腹時·非空腹時 血糖은 減少하였고, 血中 인슐린은 增加하는 傾向을 보였다. 이로써 桑白皮湯은 db/db mouse에서 인슐린 抵抗性의 克服과 이로 因한 高血糖 및 高脂血症의 調節에 좋은 影響을 미치는 것으로 思慮되며, 이러한 活性 機轉은 小腸에서 α-glucosidase의 作用을 沮害함으로써 食後 急激한 血糖增加를 抑制하고, 筋肉組織에서의 葡萄糖 輸送體인 GLUT4의 發顯

을 正常水準 或은 그 以上 水準으로 回復시킴으로서 인슐린 抵抗性을 改善한 것으로 推論할 수 있다.

또한, SPSGH群에서도 血液中 非空腹時 血糖과 中性 脂肪의 濃度가 有意하게 減少하였고, 小腸 glucosidase 活性의 抑制와 筋肉組織의 GLUT4 mRNA量의 顯著한 增加와 肝組織에서 GLUT2 mRNA量의 顯著한 增加가 觀察되었다. 空腹時 血糖은 減少하였고, 血中 인슐린은 增加하는 傾向을 보였다. 따라서, 搜風順氣丸은 db/db mouse에서 인슐린抵抗性의 克服과 이로 因한 高血糖 및 高脂血症 調節에 좋은 影響을 미치는 것으로 思慮되며, 이러한 活性機轉은 小腸에서 α-glucosidase 作用을 沮害함으로써 食後 急激한 血糖增加를 抑制하고, 筋肉과 肝組織에서의 葡萄糖 輸送體 (GLUT4와 GLUT2)의 發顯을 正常水準 或은 그 以上 水準으로 回復시킴으로서 인슐린 抵抗性을 改善한 것으로 推論할 수 있다.

V. 結 論

桑白皮湯과 搜風順氣丸이 db/db mouse의 糖代謝에 미치는 影響을 糾明하기 위하여 體重 變化 및 血中 葡萄糖, 인슐린과 中性脂肪 濃度, 小腸 glucosidase의 活性 등을 確認하고, 逆轉寫-重合酵素 連鎖反應(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)과 in vitro transcription을 利用하여 筋肉組織의 GLUT4 mRNA와 肝組織에서, GLUT2 mRNA의 發顯을 測定한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 桑白皮湯 投與群에서는 血中의 中性 脂肪의 濃度가 有意하게 減少하였고, 小腸의 glucosidase 活性이 顯著하게 抑制되었으며, 筋肉組織 GLUT4 mRNA 量의 顯著한 增加가 觀察되었다. 空腹時·非空腹時 血糖은 減少 傾向을, 血中 인슐린은 增加 傾向을 보였으나 統計學的 有意性은 認定되지 않았다.

2. 搜風順氣丸 投與群에서는 血中 非空腹時 血糖과 中性脂肪의 濃度가 有意하게 減少하였고, 小腸의 glucosidase 活性이 顯著하게 抑制되었으며, 筋肉組織 GLUT4 mRNA量과 肝組織 GLUT2 mRNA量의 顯著한 增加가 觀察되었다. 또한, 空腹時 血糖은 減少 傾向을, 血中 인슐린은 增加 傾向을 보였으나 統計學的 有意性은 認定되지 않았다.

以上의 實驗結果에서 桑白皮湯과 搜風順氣丸은 實驗的 糖尿모델인 db/db mouse의 小腸에서 炭水化物 消化에 關與하는 酵素인 glucosidase 活性을 抑制하여 炭水化物의 吸收를 遲延시킴으로써 食後 血糖增加를 效果的으로 抑制하고, 筋肉組織 GLUT4 mRNA와 GLUT2 mRNA의 發顯을 回復시킴으로서, 遊離脂肪酸의 合成을 抑制하여 인슐린 抵抗性을 改善하는 效能이 있는 것으로 觀察되어 인슐린 非依存型 糖尿病 治療에 좋은 影響을 미칠 것으로 思料된다.

參考文獻

1. 大韓糖尿病學會. 糖尿病學. 서울 : 圖書出版 高麗醫學, 1-3, 48-50, 71-4, 125-37, 139-40, 178-90, 197, 213-4, 217-8, 226-7, 240, 277-8, 292, 383-9, 399-401, 1992.
2. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울 : 東洋醫學硏究院, 841-50, 1131-46, 1173, 1993.
3. 杜鎬京. 東醫腎系學硏究. 서울 : 成輔社, 409-30, 1994.
4. 경난호 : 인슐린 비의존형 당뇨병의 병인과 GLUT2. 당뇨병 18 : 1-4, 1994.
5. 김성운, 양인명, 김진우 : 제 2형 당뇨병환자에서 PCR법으로 증폭된 소식자를 이용한 제한효소
6. 조용욱 : 당수송체. 당뇨병 18(3) : 200-9, 1994.
7. Zeil FH, Venkatesan, Davidson MB. Glucose transport is rate-limiting for skeletal muscle glucose metabolism in normal and STZ-induced diabetes rats. Diabetes 37 : 885-90, 1988.
8. 金信錫 : 高血糖 쥐의 膵臟 酵素活性에 미치는 生津養血湯의 影響. 大韓東洋醫學會誌 15 : 429-43, 1994.
9. 金聖泰, 曺東鉉, 杜鎬京 : 加味地黃湯이 Streptozotocin 投與 白鼠 血糖量에 미치는 영향. 경희한의대 논문집 15 : 397-410, 1992.
10. 洪鍾秀, 曺東鉉, 杜鎬京 : 回春凉膈散이

Streptozotocin 投與 白鼠의 血糖量에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集 14 : 397-412, 1991.
11. 劉東昊, 曺東鉉, 杜鎬京 : 淸心蓮子飮과 玉女煎이 Streptozotocin 投與로 誘發된 白鼠의 高血糖에 미치는 影響. 慶熙醫學 6 : 500-9, 1990.
12. 김윤영 : db/db mouse에서 상백피의 혈당강하활성 기전 연구. 경희대학교 대학원 식품영양학과 석사학위논문 1998.
13. Chen F, Nakashima N. Hypoglycemic Activity and Mechanism of Extracts from Mulberry Leaves(Folum Mori) and Cortex Mori Radicis in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. 藥學雜誌 115(6) : 476-82, 1995.
14. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 : 南山堂, 508, 1994.
15. 李梴. 懸吐醫學入門. 서울 : 翰成社, 473, 526, 1983.
16. Burns DM Touster O. Purification and Characterization of Glucosidase II, an Endoplasmic Reticulum Hydrolase Involved in Glyco-protein Biosynthesis. J of Biological Chemistry 257 : 9991-10000, 1982.
17. Gannon MC, Nuttall FQ. Effect of feeding, fasting, and diabetes on liver glycogen synthase activity, protein, and mRNA in rats. Diabetologia 40 : 758-63, 1997.
18. Reaven GM. Role of Insulin Resistance in Human Disease. Diabetes 37 : 1595-606, 1988.
19. Zhou YP, Berggren PO, Grill V. A Fatty Acid-Induced Decrease in Pyruvate Dehydrogenase Activity Is an Important Determinant of β-Cell Dysfunction in the obese Diabetic db/db Mouse. Diabetes 45 : 19-26, 1996.
20. 王琦. 黃帝內經素問今釋. 서울 : 成輔社, 43, 182, 223, 224, 1983.
21. 巢元方. 諸病源候論校釋(上). 北京 : 人民衛生出版社, 155-65, 1983.
22. 申載鏞 編著. 糖尿病과 消渴. 서울 : 成輔社, 16-36, 1991.
23. 洪元植 交合編纂. 精校黃帝內經靈樞. 서울 : 東洋醫學研究院出版部, 210-5, 1985.
24. 朱震亨 著 方廣 註. 丹溪心法附餘(下卷). 서울 : 大星文化社, 503-9, 1984.
25. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울 : 大星文化社, 164-5, 1983.
26. 張子和. 儒門事親. 臺北 : 旋風出版社, 中華民國 67年 : 22-9
27. 孫淑英 編譯. 問答式 韓方內科學. 서울 : 成輔社, 223-6, 1991.
28. 陳貴廷. 實用中西醫結合 診斷治療學. 서울 : 一中社, 669-76, 1991.
29. 葉天士. 臨證指南醫案. 北京 : 和夏出版社, 313-5, 1995.
30. 金完熙, 崔達永. 臟腑辨證論治. 서울 : 成輔社, 66-71, 1985.
31. 李尙仁·安德均·辛民敎. 漢藥臨床應用. 서울 : 成輔社, 50-1, 79-80, 171-2, 191-2, 201-2, 232-3, 328-9, 345-6, 356-7, 361-2, 388-9, 414-5, 429-30, 535-6, 1982.
32. Zierath JR, Karen L. High-Fat Feeding Impaires-Stimulated GLUT4 Recruitment via an Early Insulin- Signaling Defect. Diabetes 46 : 215-20, 1997.
33. Maury J, Issad T, Perdereau D, Gouhot B, Ferre P, Girad J. Effect of Acarbose on glucose homeostasis, lipogenesis and lipogenic enzyme gene expression in adipose tissue of weaned rats. Diabetologia 36 : 503-9, 1993.
34. 정성현, 최명현, 류정화 : 상엽수층의 혈당강하활성 및 유효성분연구. 경희대학교 대학원 석사학위논문 1996.
35. Garvey WT, Huecksteadt TP, Birnbaum MJ. Pretranslational suppression of an insulin-responsive glucose transporter in rats with diabetes mellitus. Science 245 : 60-3, 1989.
36. Rea S, James DE. Moving GLUT4, The Biogenesis and Trafficking of GLUT4 Storage Vesicles. Diabetes 46 : 1667-75, 1997.