

고콜레스테롤혈증 토끼에서 Curcumin 의 항동맥경화 효과

김태균 · 김승희 · 강석연 · 정기경 · 박용복* · 최명숙** · 이흥숙*** · 한형미#

국립독성연구소, *경북대학교 유전공학과, **경북대학교 식품영양학과, ***서울산업대학교 식품공학과

(Received November 2, 1999)

Anti-atherogenic Effects of Curcumin in Hypercholesterolemic Rabbits

Tae Gyun Kim, Seung Hee Kim, Soeg Youn Kang, Ki Kyung Jung, Yong Bok Park*,
Myung-Sook Choi**, Heum Sook Lee*** and Hyung-Mee Han#

National Institute of Toxicological Research, Seoul 122-704, Korea

*Department of Genetic Engineering,

**Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea,

***Department of Food Science and Technology, Seoul National Polytechnic University,
Seoul 139-743, Korea

Abstract — Curcumin, the yellow pigment in turmeric, curry and mustard, has anti-inflammatory and anti-carcinogenic activities. In this study, we investigated the hypocholesterolemic and anti-atherogenic effect of curcumin in rabbits. Hypercholesterolemia was induced by feeding high cholesterol diet to male rabbits for 30 days, and the animals were then fed high cholesterol diet containing 0.1% (w/w) or 0.5% (w/w) curcumin for additional 30 days. Supplementation of 0.1% curcumin tended to lower serum total cholesterol and low density lipoprotein (LDL)-cholesterol levels and inhibit serum lipid peroxidation. In the 0.5% curcumin-supplemented group, serum total cholesterol was significantly lowered by 11.7%, LDL-cholesterol by 12.8% and lipid peroxidation by 47.9% compared to the control group. Hepatic cholesterol and triglyceride contents were also significantly lowered by 50.6% and 37.4%, respectively compared to the control group. Lipid staining of the arteries isolated from the curcumin-treated rabbits showed that curcumin significantly decreased formation of fatty streaks and atheromatous plaques on the intima of the arteries. These results demonstrated that curcumin lowered serum cholesterol concentration, hepatic cholesterol and triglyceride contents, and accumulation of cholesterol in the artery. These cholesterol lowering effects of curcumin, together with its anti-oxidative and anti-inflammatory activities, may play some important roles in preventing atherosclerosis.

Keywords □ Curcumin, atherosclerosis, hypercholesterolemia, rabbit

순환기계 질환은 미국, 유럽뿐만 아니라 우리나라에서도 주요 사망원인으로 대두되고 있으며 특히 동맥경화성 질환인 허혈성 심질환(협심증, 심근경색증)과 뇌혈관 질환에 의한 사망률이 큰 폭으로 증가되고 있다.¹⁾ 현대인의 식생활 환경의 향상에 따른 과도한 영양섭취는 콜레스테롤을 과다 섭취하게 되고 신체내의 세포요구를 충족시키고 남게 된다. 이러한 과잉의 콜레스

테롤은 low-density lipoprotein (LDL, 저밀도 지단백질) 내에서 혈액속을 떠돌다가 변형된 형태로 바뀌어 혈관 내막에 흡착되어 거품세포(foam cell), 지방반(fatty streak), atheroma로 전환되는 원인이 되고 동맥혈관의 수축, 팽창능력을 떨어뜨려 관상동맥질환, 뇌졸중, 말초혈관 협착 및 고혈압 등을 일으키는 것으로 알려져 있다.^{2,3)}

80여년전 콜레스테롤이 동맥경화증을 유발하는 것이 발견된 이래,⁴⁾ 구미와 국내에서 수십만 명을 대상으로 한 연구에서 고콜레스테롤혈증과 혈중 LDL 콜레스테

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-380-1812 (팩스) 02-380-1811

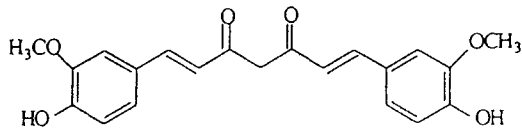


Fig. 1 - Structure of curcumin (diferuloylmethane).

롤의 농도 증가가 가장 중요한 동맥경화증의 발병요인이며, 고혈압, 흡연, 당뇨병, 비만 등이 동맥경화를 촉진하는 위험인자(risk factor)로 밝혀졌다.^{5,6)} 불과 20년 전만 하더라도 동맥경화증은 나이가 들면서 발생하는 퇴행성(degenerative) 과정이라고 생각했으나 수십 년에 걸친 역학조사에서 여러 위험인자들이 복합적으로 작용하여 동맥경화 병변을 만들며,⁷⁾ 많은 종류의 세포들과 이들이 분비하는 각종 성장인자와 cytokine들이 복잡한 과정으로 병변에 관여하는 것으로 밝혀졌다.³⁾ 동맥경화증의 예방 및 치료에 대한 연구는 고콜레스테롤혈증과 여러 위험인자들의 복잡한 반응에 의한 동맥경화로의 진행을 차단하는 것이 그 목적중 하나인데 현재의 의학 수준에서 모두 제거하지는 못하고 있다.

Curcumin(Fig. 1)은 강황(turmeric), 겨자, 카레가루에 포함되어 있는 노란색 색소성분으로서⁸⁾ 높은 항산화작용,^{9,10)} 항염증작용^{11,12)}과 항암작용¹³⁻¹⁵⁾이 있는 것으로 알려져 있다. 또한 curcumin의 혈중 콜레스테롤을 저하효과와 관련한 연구로는 고콜레스테롤 식이를 섭취시킨 랫드 및 실험적으로 당뇨병을 유발한 랫드에서 curcumin의 투여가 혈중 콜레스테롤의 양, 조직의 콜레스테롤 함량 등을 감소시킴이 보고되었다.^{16,17)}

일반적으로 동맥경화증 병태모델로는 토끼가 많이 사용되고 있는데 이는 토끼에서는 동맥경화를 일으키는 데 중요한 효소인 cholesteryl ester transfer protein(CETP)¹⁸⁾ 효소 활성도가 매우 높으며(사람의 2.8배),¹⁹⁾ 고콜레스테롤식이 투여시 단기간에 고콜레스테롤혈증과 동맥경화성 plaque의 형성을 동반한 동맥경화증이 유발되기 때문이다.²⁰⁾ 이에 본 연구에서는 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼를 사용하여 curcumin이 혈중 콜레스테롤 농도, 동맥 혈관벽, 혈장 및 조직의 지질 침착 정도에 미치는 영향에 대하여 시험하고자 하였다.

실험방법

시약 및 기기 - 식이용 콜레스테롤, sodium cholate

는 TEKLAD사(U.S.A.), lovastatin은 중외제약, ketamine hydrochloride는 유한양행의 제품을 사용하였으며, curcumin, triglyceride(TG) 측정 kit, 총콜레스테롤 측정 kit, high density lipoprotein(HDL)-콜레스테롤 측정 kit, alkaline phosphatase(ALP) 활성 측정 kit, thiobarbituric acid(TBA), malondialdehyde(MDA), trichloroacetic acid(TCA), tetramethoxypropane(TMP) 및 oil red O dye는 Sigma사(U.S.A.) 제품을 사용하였고, 그외 시약은 시판 특급 혹은 일급 시약을 사용하였다. Spectrophotometer는 Molecular Devices사(U.S.A.)의 SPECTRAMax 190 모델을 사용하였으며, polytron homogenizer는 Janke & Kunkel사(Germany)의 Ultra-turrax T25 모델을 사용하였다.

실험동물 - 토끼는 삼육실험동물농장(오산, 경기도)로부터 구입한 2.2~2.6 kg의 수컷 New Zealand White종을 사용하였다. 토끼 사료는 신촌사료(주)에서 육성용 펠릿사료를 구입하여 분쇄한 분말사료를 사용하였으며, 사육조건은 온도 23±1°C, 상대습도 55±5%, 명암교대 12시간으로 하였고, 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 충분히 공급하였다.

고콜레스테롤혈증 유발 - 수령된 토끼는 2주간의 순화기간동안 분말사료에 적응하게 하였고, 동맥경화증 유발을 위하여는 분말사료에 1%의 콜레스테롤, 0.3%의 sodium cholate를 섞은 고콜레스테롤 식이(high cholesterol diet; HCD)를 30일간 섭취시켰다.^{21,22)} 이후, 토끼를 12시간 절식시키고 귀정맥에서 채혈하여 혈중 콜레스테롤 농도가 1,000 mg/dl 이상으로 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼를 선별하여 실험에 사용하였다.

Curcumin 투여 - 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼는 혈중 콜레스테롤 농도를 기준으로 무작위로 군분리 후 분말사료에 curcumin을 섞어 투여하였다. Rao 등²³⁾은 흰쥐에서 0.1%와 0.5% curcumin을 콜레스테롤과 함께 식이에 투여하였을 때 혈액과 간의 콜레스테롤 함량을 낮추었다고 보고하였다. 본 실험에서도 0.1%(w/w) curcumin 투여군, 0.5%(w/w) 투여군으로 나누어 이후 30일 동안 투여하였으며, 시험기간중 매 10일마다 귀정맥에서 채혈하여 혈장을 분석하였다. 양성 대조군에는 콜레스테롤 저하제로 잘 알려져 있는 lovastatin을 사료 kg당 0.05g씩 섞어 투여하였다.

혈장지질분석 - TG는 glycerol oxidase를 이용한 효소법으로, 총콜레스테롤은 cholesterol oxidase를 이용

한 효소법으로, 그리고 HDL-콜레스테롤은 phosphotungstic acid-MgCl₂ 침전법²⁴⁾을 이용한 kit를 이용하여 정량하였으며, LDL-콜레스테롤은 Fridwald식²⁵⁾을 이용하여 계산하였다. ALP의 활성은 kinetic 방법²⁶⁾을 이용하여 측정하였다.

혈장 지질과산화 상태 측정 - 혈장 과산화물 측정에 있어서는 Gutteridge의 방법²⁷⁾을 적용하여 TBA 반응으로 형성되는 MDA를 정량하였다. 혈장 50 μ l에 5% TCA 용액 300 μ l와 60 mM TBA 100 μ l를 넣어 잘 혼합한 후, 80°C 수조에서 90분간 가열하였다. 이 반응액을 실온으로 식혀 500 \times g에서 15분간 원심분리한 다음 상층액을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. MDA 표준용액은 TMP를 가수분해하여 조제하였으며 이를 혈장과 동일한 조건에서 반응시켜 TBA-MDA chromophore 표준곡선을 얻고, 이 곡선으로부터 TBA 반응물질의 양을 MDA equivalent로 산출하였다.

조직지질 분석 - 실험종료 12시간 전에 모든 군의 토끼를 절식시킨 후 300 mg/kg ketamine hydrochloride를 복강내 주사하여 마취시킨 후 간과 심장조직을 적출하였다. 조직을 생리식염수로 씻어 혈액을 제거한 후 1g을 달아 10 ml의 완충액(0.1M Tris-HCl, pH 7.4, 1 mM EDTA, 0.01% sodium azide)에 넣어 polytron homogenizer를 사용하여 분쇄하였다. 분쇄된 조직균질액은 10배 용량의 chloroform/methanol 용액(2:1, v/v)에 넣어 조직내 전체 지질을 추출하였다. 2차 추출은 Folch 방법²⁸⁾을 사용하였으며, 추출된 지질은 질소 gas로 말린 다음 isopropyl alcohol에 다시 녹인 후 총콜레스테롤 농도와 TG 농도를 전술된 방법으로 측정하였다.

대동맥 지질침착 분석 - 실험 종료후 부검한 토끼의 대동맥(aorta)을 적출하여 생리식염수로 씻어 동맥주위의 지방질을 제거한 후 고정액(4% paraformaldehyde, 50 mM phosphate buffered saline(PBS), pH 7.4)에 24시간 고정시켰다. 고정된 동맥은 20% sucrose 용액에 침적시킨 후 보관액(30% glycerin, 30% ethylene glycol in 20 mM phosphate buffer pH 7.4)에 다시 침적시켰다. 침적된 동맥을 PBS로 씻은 후 동결절편기를 사용하여 16 μ m의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면처리된 슬라이드에 부착시켰다. 이 슬라이드에 PBS 용액을 가한 다음 무수 propylene glycol 용액에 2분간 행군 후 0.5% Oil

red O 용액에 1시간 동안 염색하였다. 이후 85% propylene glycol 용액에 1분간 감별시키고 증류수로 두 번 세척한 후 ploymount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.²⁹⁾

통계학적 분석 - 모든 시험결과는 mean \pm S.E로 표기하였으며, one way analysis of variance(ANOVA)를 사용하여 통계처리 하였고, 각군간의 차이를 비교할 경우에는 Bonferroni's modified t-test를 사용하여 P<0.05 혹은 P<0.01 수준에서 유의성을 검정하였다.³⁰⁾

실험결과

혈장분석 - 토끼에 고콜레스테롤 식이를 30일 동안 섭취시켰을 때 혈중 콜레스테롤 농도는 섭취전 평균이 54 mg/dl에서 급속히 증가하여 1244 mg/dl로 높아졌으며, TG의 농도도 60 mg/dl에서 138 mg/dl로 높아져 고콜레스테롤혈증이 유발되었다. 이후 curcumin을 첨가한 고콜레스테롤 식이를 30일 동안 섭취시키면서 10일마다 채혈하여 동맥경화성 변수들을 분석하였고, 실험종료 후 간과 심장의 지질 농도를 측정하였다. 실험기간 동안 각 실험군별 토끼의 체중 차이는 관찰되지 않았다(data not shown).

Table I에는 각 실험군별 토끼의 혈청 지질 및 과산화지질의 농도와 ALP 활성도변화를 제시하였다. 0.1% curcumin 투여군에서는 대조군과 비교하여 혈중 총콜레스테롤의 농도(대조군 : 1373 \pm 38 mg/dl, 0.1% curcumin 투여군 : 1276 \pm 44 mg/dl) 및 LDL-콜레스테롤 농도(대조군 : 1293 \pm 36 mg/dl, 0.1% curcumin 투여군 : 1190 \pm 40 mg/dl)가 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 없었다. 한편 TG의 농도는 대조군에 비해 조금 상승하였으나 이는 투여 10일 20일의 TG 농도와 각 측정치의 표준편차를 고려하였을 때 변화가 없는 것으로 판단되었다. ALP의 활성 역시 변화가 없었으며, 혈장 지질의 과산화 정도를 MDA 농도로 측정하였을 때 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 없었다 (대조군: 5.6 \pm 1.3 nmol/ml, 0.1% curcumin 투여군 : 3.2 \pm 0.5 nmol/ml).

0.5% curcumin 투여군에서는 대조군과 비교하여 혈중 총콜레스테롤 농도는 11.6% 유의하게 감소하였고 (대조군 : 1373 \pm 38 mg/dl, 0.5% curcumin 투여군 : 1213 \pm 44 mg/dl, P<0.05), LDL-콜레스테롤 농도는 12.8% 감소하였다(대조군 : 1293 \pm 36 mg/dl, 0.5%

Table I - Effect of curcumin on serum lipid and enzyme levels in hypercholesterolemic rabbits

Treatment	Days ^a	Total cholesterol (mg/dl)	LDL cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Alkaline phosphatase (U/L)	Malondialdehyde (nmol/ml)
HCD ^b (n=11)	0	1233 ± 69	1162 ± 66	47 ± 5	119 ± 18	73 ± 9	3.2 ± 0.3
	10	1342 ± 47	1241 ± 40	50 ± 5	255 ± 54	108 ± 16	3.4 ± 0.5
	20	1313 ± 65	1226 ± 62	48 ± 2	196 ± 23	77 ± 9	5.3 ± 0.8
	30	1373 ± 38	1293 ± 36	45 ± 1	172 ± 24	96 ± 13	5.6 ± 1.3
HCD + 0.1% curcumin (n=10)	0	1214 ± 61	1140 ± 60	44 ± 4	151 ± 17	66 ± 4	3.2 ± 0.2
	10	1292 ± 65	1200 ± 63	51 ± 4	200 ± 22	93 ± 12	3.6 ± 0.6
	20	1225 ± 53	1140 ± 51	45 ± 3	197 ± 29	75 ± 10	3.4 ± 0.3
	30	1276 ± 44	1190 ± 40	48 ± 2	193 ± 29	91 ± 9	3.2 ± 0.5
HCD + 0.5% curcumin (n=11)	0	1230 ± 60	1161 ± 58	40 ± 1	145 ± 17	64 ± 6	3.5 ± 0.3
	10	1368 ± 52	1279 ± 50	46 ± 6	216 ± 21	106 ± 20	3.3 ± 0.4
	20	1212 ± 66	1124 ± 64	46 ± 2	211 ± 24	80 ± 6	2.9 ± 0.1*
	30	1213 ± 44*	1127 ± 40**	46 ± 1	201 ± 22	101 ± 6	2.9 ± 0.1*
HCD + lovastatin (n=6)	0	1297 ± 80	1223 ± 75	48 ± 4	135 ± 22	66 ± 8	2.9 ± 0.2
	10	1253 ± 64	1170 ± 63	54 ± 6	141 ± 11	114 ± 24	3.2 ± 0.4
	20	985 ± 27**	912 ± 24**	54 ± 5	92 ± 6**	71 ± 12	4.1 ± 0.7
	30	972 ± 54**	903 ± 53**	52 ± 2*	85 ± 5*	97 ± 31	3.9 ± 0.7
Normal diet(n=3)	30	54 ± 8	26 ± 7	17 ± 5	55 ± 7	39 ± 7	2.1 ± 0.2

Values represent means ± S.E.

^aDays of sample treatment after feeding high cholesterol diet for 30 days.

^bHigh cholesterol diet

*Significantly different from the control group of the corresponding day at P<0.05

**Significantly different from the control group of the corresponding day at P<0.01

Table II - Tissue lipid levels (mg/g) in the wet tissues of hypercholesterolemic rabbits

Treatment	No. of Animals	Liver		Heart	
		Total-C ^b	TG ^c	Total-C	TG
HCD ^a	11	53.4 ± 6.6	20.6 ± 3.4	18.4 ± 1.9	12.6 ± 2.6
HCD+0.1% curcumin	10	56.7 ± 7.6	13.0 ± 1.3	20.2 ± 2.6	13.7 ± 8.0
HCD+0.5% curcumin	11	26.4 ± 1.8**	7.7 ± 1.9**	17.8 ± 1.3	8.4 ± 2.0
HCD+lovastatin	6	26.4 ± 2.8	10.4 ± 2.4	8.9 ± 2.0*	6.7 ± 2.0
Normal diet	3	23.5 ± 3.3	8.2 ± 3.1	8.7 ± 1.8	6.1 ± 2.5

Values represent means ± S.E.

^aHigh cholesterol diet, ^bTotal cholesterol, ^cTriglyceride

*Significantly different from the control group at P<0.05

**Significantly different from the control group at P<0.01

curcumin 투여군 : 1127 ± 40 mg/dl, P<0.01). TG의 농도와 ALP의 활성은 대조군에 비해 조금 증가하였으나 유의성은 없었고, 혈장 과산화지질의 농도는 유의한 감소를 보였다(대조군 : 5.6 ± 1.3 nmol/ml, 0.5% curcumin 투여군 : 2.9 ± 0.1 nmol/ml, P<0.05). 한편 양성대조군인 lovastatin 투여군에서는 강력한 혈중 지질 강하효과가 관찰되었다.

조직지질분석 - Table II는 실험종료후 적출한 간과 심장조직에서의 지질함량을 보여주고 있다. 0.1% curcumin 투여군에서는 간과 심장 조직의 총콜레스테롤 함량 변화는 관찰되지 않았고, TG 함량은 간에서

감소하는 경향을 나타내었으나 통계적으로 유의성은 없었다. 0.5% curcumin 투여군에서는 간에서 총콜레스테롤(대조군 : 53.4 ± 6.6 mg/g, 0.5% curcumin 투여군 : 26.4 ± 1.8 mg/g, P<0.01) 및 TG 함량(대조군 : 20.6 ± 3.4 mg/g, 0.5% curcumin 투여군 : 7.7 ± 1.9 mg/g, P<0.01)의 유의성 있는 감소가 관찰되었고, 심장조직에서는 총콜레스테롤 및 TG 함량이 감소되는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 없었다. 한편 양성대조군인 lovastatin 처치군에서는 심장조직에서 총콜레스테롤 함량의 유의성 있는 감소가 관찰되었으며, 간조직에서는 총콜레스테롤, TG 함량이 감소하는 경

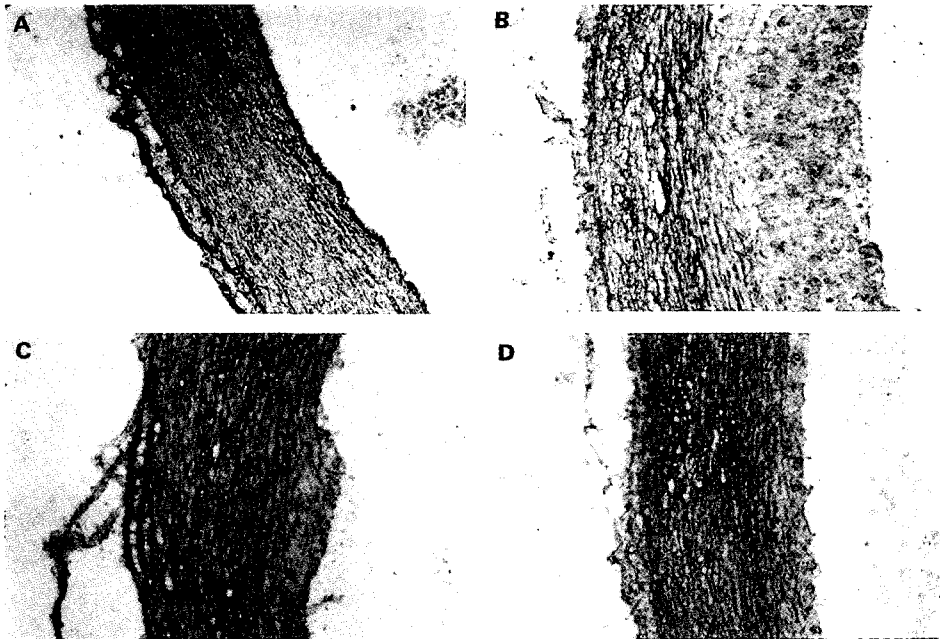


Fig. 2 – Lipid staining of the aorta of rabbits given normal diet (A), cholesterol diet for 60 days (B), cholesterol diet for 30 days followed by 0.1% curcumin treatment (C), or 0.5% curcumin treatment (D) for additional 30 days. Oil red O staining. $\times 100$.

Table III – Degree of lipid deposition in the aorta of rabbits fed with high cholesterol diet in the presence or the absence of curcumin

Treatment	No. of animals	Lipid deposition
HCD ^a	11	++++~+++++
HCD + 0.1% curcumin	10	++~+++
HCD + 0.5% curcumin	11	+~++
HCD + lovastatin	6	+~++
Normal diet	3	-

^aHigh cholesterol diet

-: no deposition, +: little deposition, ++: mild deposition, +++: moderate deposition, ++++: heavy deposition, ++++: very heavy deposition Legends of the figures.

향을 나타내었으나 유의성은 없었다.

대동맥 plaque 침착 – Fig. 2는 실험종료후 토끼의 대동맥을 분리하여 oil red O로 지질을 염색한 실험결과를 보여주고 있으며, Table III는 각 sample의 지질 침착 정도를 +(little deposition)~+++++(very heavy deposition)의 5등급으로 분류하여 판정한 결과를 나타내었다. Fig. 2의 panel A에 나타난 바와 같이 정상적인 식이를 공급한 토끼의 동맥내벽에는 지질 plaque의 침착이 전혀 관찰되지 않았으나, 고콜레스테롤 식이 투여군에서는 동맥내벽에 지질 plaque이 동맥의 혈관벽 두께 이상으로 침착되었다(panel B). 0.1%

curcumin 투여군(panel C) 및 0.5% curcumin 투여군(panel D)에서는 침착된 지질의 두께가 현저하게 감소하였으며 지방반과 아테롬 플라크의 형성도 현저히 줄어들었다.

고 찰

향신료는 예로부터 식품의 맛과 향을 증가시키기 위한 첨가제로 유용하게 사용되어 왔을 뿐만 아니라 다양한 생리적, 약리적인 특성을 나타내고 있음이 알려져 있다.^{31,32} 특히 겨자, 카레가루 등에 포함되어 있는 노란 색 색소성분인 curcumin⁸⁾은(Fig. 1) 높은 항산화,^{9,10} 항염증,^{12,33} 혈압강하,³⁴ 혈전방지,³⁵ 화학적 암예방(chemoprevention),³⁶ 항암¹³⁻¹⁵ 등의 다양한 작용이 보고되어 있다. 이와 같은 작용 이외에도 curcumin은 지질대사에 관여하는 것으로도 알려져 있는데, 이와 관련하여 Subbarao 등³¹⁾은 curcumin을 흰쥐에 고콜레스테롤 식이와 함께 투여하였을 때 혈청과 간의 콜레스테롤 함량이 감소되었고, 그 기전은 curcumin이 분변을 통한 콜레스테롤과 담즙산의 배출을 증가시키는 것임을 밝혔다. 또한, 실험적으로 유도된 당뇨병 흰쥐에서 나타나는 고콜레스테롤혈증 및 고지혈증 현상이

0.5% curcumin의 투여로 유의하게 경감되었고,¹⁶⁾ 이 당뇨병 흰쥐에 1% 콜레스테롤 식이와 함께 0.5% curcumin을 투여하였을 때는 혈중 콜레스테롤 농도 강하작용 뿐만 아니라 당뇨병에 의한 전반적인 대사이상 증상도 호전되었음이 보고된 바 있다.¹⁷⁾

현재까지 curcumin의 콜레스테롤 저하효과 연구에는 주로 흰쥐가 사용되었는데, 생쥐, 흰쥐와 같은 설치류는 콜레스테롤에 대한 흡수도가 낮고 대사가 매우 빠르게 일어나므로 콜레스테롤 투여 자체만으로는 고콜레스테롤혈증을 유발하기가 매우 어려운 것이 문제점이었다.^{37,38)} 이와 같은 어려움을 극복하기 위하여 연구자들은 여러 종류의 성분을 추가하여 만든 식이 처방을 사용하거나,^{39,40)} 혹은 지질대사 및 동맥경화 발병기전과 연관된 유전자를 마우스에 형질전환시킨 질환모델 동물을 사용하고 있으나,⁴¹⁾ 이러한 설치류를 사용한 동물모델에서의 지질대사는 사람의 그것과 많이 상이하므로 적절한 모델이라고 할 수 없다. 일반적으로 동맥경화증 연구에는 토끼가 많이 사용되고 있는데 이는 고콜레스테롤 식이를 섭취시키면 단기간에 고콜레스테롤혈증과 동맥경화성 plaque의 형성이 유도되기 때문이다.²⁰⁾ 따라서 본 연구에서는 토끼에 고콜레스테롤 식이를 섭취시켜 고 콜레스테롤 혈증을 유발한 동맥경화 동물모델을 이용하여 curcumin의 콜레스테롤 저하작용과 항동맥경화 효능을 살펴보았다.

Subbarao 등³¹⁾은 흰쥐에 고콜레스테롤 식이와 0.5% curcumin을 투여한 시험에서 혈액과 간의 콜레스테롤 농도가 각각 50%, 33% 강하되는 효과를 나타내었다고 보고하였다. 본 연구에서는 토끼에 0.5% curcumin을 투여하였을 때 혈중 총콜레스테롤 농도는 12% 정도 감소되어 그 강하효과가 흰쥐에서 보다 작았으며 (Table I), 간조직의 콜레스테롤 함량은 약 50% 정도 감소된 것으로 나타났다 (Table II). 이러한 결과는 토끼와 흰쥐 중간에 지질대사효소의 분포와 대사속도의 차이에서 기인한 것이라 사료된다.^{18,20,37)} 한편, 콜레스테롤 생합성의 rate limiting enzyme인 HMG Co-A reductase의 강력한 억제제인 lovastatin⁴²⁾을 0.3% 콜레스테롤 식이를 섭취시킨 토끼에 10 mg/day의 용량으로 투여하였을 때 항동맥경화 효과가 보고되었다.⁴³⁾ 본 연구에서는 토끼가 하루에 섭취하는 사료의 평균 중량을 200 g으로 계산하여 대조군에 lovastatin을 50 mg/kg(diet)으로 투여하였고 그 결과, 강력한 콜레스테롤 저하효과와 항동맥경화 효과를 나타내었다.

고콜레스테롤혈증이 동맥경화증의 직접적인 원인으로 작용하며, 그 중에서도 특히 혈중에서 과량으로 존재하는 LDL이 간이나 기타 조직의 세포내로 유입되지 못하고 장기간 혈액속에서 순환하게 되면 산화 등의 손상을 받게 되어 동맥경화증의 발병을 가속시키게 된다.^{3,44)} 즉, 산화적 손상을 받은 LDL의 증가는 염증과 면역반응을 유발하게 되고, 이 과정에서 생성되는 활성산소종(reactive oxygen species)은 지방, 단백질, DNA 등의 분자와 반응하여 이들의 변성을 일으킨다.⁴⁵⁾ 따라서 혈액내 과산화 지질의 농도는 동맥경화증 진행 정도의 한 지표가 될 수 있으며,⁴⁶⁾ 혈액내 지질의 과산화 반응을 차단함으로써 동맥경화 병변으로의 진행을 억제할 수가 있다. Ramirez 등⁴⁷⁾은 동맥경화증 유발 토끼에 curcumin이 포함된 강황(tumeric) 추출물을 투여하였을 때 LDL 내의 과산화지질 농도와 혈중 콜레스테롤의 농도를 낮추는 효과를 나타내었다고 보고하였다. 본 연구결과에서는 0.1%, 0.5% curcumin을 직접 투여하였을 때 혈중 과산화지질의 농도가 각각 43%, 45% 감소하였음이 관찰되었다. 이와 같은 curcumin의 지질산화 억제효과는 동맥경화증으로의 진행을 저해하는데 어떠한 역할을 할 것으로 생각되며, 실제로 본 연구에서 관찰된 curcumin에 의한 동맥 내벽의 지질침착 감소효과에도 이러한 curcumin의 항산화 작용이 관련이 있을 것으로 사료된다.

Alkaline phosphatase(ALP) 효소는 간이나 신장 등의 기능에 이상이 있을 시 혈중에 이 효소가 증가된다고 보고되었으며,^{48,49)} 본 연구에서는 고콜레스테롤혈증 유발과 curcumin의 투여가 실험동물의 간 등의 기능에 미치는 영향을 알아보기 위한 지표로 이 효소의 활성을 측정하였으나 유의한 변화를 관찰할 수 없었다.

본 연구에서 가장 주목되는 결과는 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼에 curcumin을 30일 동안 투여하였을 때 대동맥 내벽에 지질 침착에 의한 지방반과 동맥경화성 plaque의 형성이 현저히 감소된 현상이다 (Fig. 2). Curcumin은 소화기관을 통한 흡수율이 낮아 경구로 투여할 경우 흡수가 거의 되지 않는 것으로 보고된 바 있으나,⁵⁰⁾ 본 연구에서 curcumin 투여시 혈중 지질과산화물의 농도가 현저히 감소되었는데 이는 흡수된 소량의 curcumin이 그 작용을 나타낸 것으로 생각된다. 이와 같이 소화기관을 통해 지속적으로 소량 흡수된 curcumin은 콜레스테롤과 LDL 등의 지단백질의 변형을 막고 지속적인 동맥내벽의 손상에 따른 염증

및 면역반응을 억제하여 동맥경화성 plaque 형성을 차단하리라고 사료된다. 실제로 curcumin에 의한 혈중 콜레스테롤 저하효과(12%, Table I) 보다 대동맥벽의 지질침착 감소효과(Fig. 2)가 월등히 높은 것은 이러한 curcumin의 항산화 및 항염증 작용이 동맥경화성 plaque 형성 감소에 기여했음을 시사한다.

본 연구에서는 식품에 존재하는 색소성분인 curcumin이 토끼를 사용한 동맥경화 질환모델에서 항동맥경화 효과를 보였다. 이러한 결과는 동맥경화증 예방을 위한 식생활 습관 유도 및 예방약물로 개발하기 위한 기초자료로 활용할 수 있으리라 생각되며, 이를 위하여는 curcumin의 항동맥경화 관련 기전을 정확하게 밝히기 위한 심도 있는 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

문 헌

- 1) 송영득 : 고콜레스테롤증 환자의 임상적 접근, 한국지질학회지, **6**, 163 (1996).
- 2) Witztum, J. L. and Steinberg, D. : Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J. Clin. Invest.* **88**, 1785 (1991).
- 3) Ross, R. : The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s. *Nature*, **362**, 801 (1993).
- 4) Hoeg, J. M. and Klimov, A. N. : Cholesterol and atherosclerosis: The new is the old rediscovered. *Am. J. Cardiol.* **72**, 1071 (1993).
- 5) Naito, H. K. : The 18th annual NACB symposium. Atherogenesis: Current topics on etiology and risk factors. *Clin. Chem.* **41**(1), 132 (1995).
- 6) 고지혈증 치료지침 제정위원회 : 고지혈증 치료지침 (1996).
- 7) Wong, N. D., Cupples, L. A., Ostfeld, A. M., Levy, D. and Dannel, W. B. : Risk factors for long-term coronary prognosis after initial myocardial infarction: The Framingham Study. *Am. J. Epidemiol.* **130**, 469 (1989).
- 8) Ammon, H. P. and Wahl, M. A. : Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med.* **57**, 1 (1991).
- 9) Sharma, O. P. : Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochem. Pharmacol.* **25**, 1811 (1976).
- 10) Rajakumar, D. V. and Rao, M. N. : Antioxidant properties of dehydrozingerone and curcumin in rat brain homogenates. *Mol. Cell Biochem.* **140**, 73 (1994).
- 11) Mukhopadhyay, A., Basu, N., Ghatak, N. and Gujral, P. K. : Anti-inflammatory and irritant activities of curcumin analogues in rats. *Agents Actions*, **12**(4), 508 (1982).
- 12) Satoskar, R. R., Shah, S. J. and Shenoy, S. G. : Evaluation of anti-inflammatory property of curcumin (diferuloylmethane) in patients with postoperative inflammation. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **24**, 651 (1986).
- 13) Ruby, A. J., Kuttan, G., Babu, K. D., Rajasekharan, K. N. and Kuttan, R. : Anti-tumor and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Lett.* **94**, 79 (1995).
- 14) Huang, M., Newmark, H. L. and Frenkel, K. : Inhibitory effects of curcumin on tumorigenesis in mice. *J. Cell Biochem. Suppl.* **27**, 26 (1997).
- 15) Conney, A. H., Lou, Y. R., Xie, J. G., Osawa, T., Newmark, H. L., Liu, Y., Chang, R. L. and Huang, M. T. : Some perspectives on dietary inhibition of carcinogenesis: Studies with curcumin and tea. *Proc. Soc. Biol. Med.* **216**, 234 (1997).
- 16) Babu, P. S. and Srinivasan, K. : Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of tumeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. *Mol. Cell Biochem.* **166**, 169, (1997).
- 17) Babu, P. S. and Srinivasan, K. : Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat. *Mol. Cell Biochem.* **152**, 13 (1995).
- 18) Tall, A. R. : Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J. Lipid Res.* **34**, 1255 (1993).
- 19) Ha, Y. C. and Barter, P. J. : Differences in plasma cholesteryl ester transfer activity in sixteen vertebrate species. *Comp. Biochem. Physiol.* **71B**, 265 (1982).
- 20) Vesselinovitch, D. : Animal models and the study of atherosclerosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **112**, 1011 (1988).
- 21) Manning, P. J., Ringler, D. H. and Newcomer, C. E. : The Biology of the Laboratory Rabbits 2nd ed., *Academic Press, San Diego*, p. 368 (1994).
- 22) Kritchevsky, D. : Role of cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis. *Am. J. Clin. Nutr.* **23**(8),

- 1105 (1970).
- 23) Rao, D. S., Sekhara, N., Satyanarayana, M. N. and Srinivasan, M. : Effect of curcumin on serum and liver cholesterol levels in the rat. *J. Nut.* **100**, 1307 (1970).
 - 24) Assmann, G., Schriewer, H., Sohmitz, G. and Hagege, E. D. : Quantification of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl₂. *Clin. Chem.* **28**, 2026 (1983).
 - 25) Friedewald, W. T., Levy, R. I. and Fredrickson, D. S. : Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* **18**(6), 499 (1972).
 - 26) Bowers, G. N. Jr. and McComb, R. B. : A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. *Clin. Chem.* **12**, 70 (1966).
 - 27) Gutteridge, J. M. C. and Tickner, T. R. : The characterization of TBA reactivity in human plasma and urine. *Anal. Biochem.* **91**, 250 (1978).
 - 28) Folch, J., Lees, M. and Slona, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497 (1952).
 - 29) Luna, L. G. : Manual of histological staining methods of the AFIP Kiemen, p. 140 (1968).
 - 30) Sylvan, W., Christine, L. and Joseph, L. : Some statistical methods useful in circulation research. *Circ. Res.* **47**, 1 (1980).
 - 31) Subbarao, D., Chandrasekhara, N., Satyanarayana, M. N. and Srinivasan, M. : Effect of curcumin on serum and liver cholesterols in the rat. *J. Nut.* **100**, 1307 (1970).
 - 32) Carson, J. F. : Chemistry and biological properties of onion and garlic. *Food Rev. Internat.* **3**, 71 (1987).
 - 33) Abe, Y., Hashimoto, S. and Horie, T. : Curcumin inhibition of inflammatory cytokine production by human peripheral blood monocytes and alveolar macrophages. *Pharmacol. Res.* **39**, 41 (1999).
 - 34) Rao, T. S., Basu, N., Seth, S. D. and Siddiqui, H. H. : Some aspects of pharmacological profile of sodium curcumin. *Ind. J. Physiol. Pharmacol.* **28**, 211 (1984).
 - 35) Kosuge, T., Ishida, H. and Yamazaki, H. : Studies on active substances in the herbs used for oketsu ("stagnant blood") in Chinese medicine. III. On the anticoagulative principles in *curcumae rhizoma*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **33**, 1499 (1985).
 - 36) Kawamori, T., Lubet, R., Steele, V. E., Kelloff, G. J., Kaskey, R. B., Rao, C. V. and Reddy, B. S. : Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Res.* **59**, 597 (1999).
 - 37) Choi, J. S. and Young, H. S. : Search for naturally occurring hypolipidemic principles. *Life Sci.* **3**, 79 (1993).
 - 38) Keys, A. : Serum cholesterol responses to dietary cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* **40**, 321 (1984).
 - 39) Sugiyama, Y., Ohishi, A. and Muramatsu, K. : Comparison between the plasma cholesterol elevating effects of caffeine and methionine in rats on a high cholesterol diet. *Agric. Biol. Chem.* **53**, 3101 (1989).
 - 40) Nishina, P. M., Verstuyft, J. and Paigen, B. : Synthetic low and high fat diets for the study of atherosclerosis in the mouse. *J. Lipid Res.* **31**, 859 (1990).
 - 41) Breslow, J. L. : Transgenic mouse models of lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90**, 8314 (1993).
 - 42) Grundy, S. M. and Bilheimer, D. W. : Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl Co A reductase by mevinolin in familial hypercholesterolemia in heterozygotes: Effects on cholesterol balance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **81**, 2538 (1984).
 - 43) Zhu, B. Q., Sievers, R. E., Sun, Y. P., Isenberg, W. M. and Parmley, W. W. : Effect of lovastatin on suppression and regression of atherosclerosis in lipid-fed rabbits. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **19**(2), 246 (1992).
 - 44) Witztum, J. L. and Steinberg, D. : Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J. Clin. Invest.* **88**, 1785 (1991).
 - 45) Shalini, V. K. and Srinivas, L. : Lipid peroxide induced DNA damage: protection by turmeric (*Curcuma longa*). *Mol. Cell Biochem.* **77**(1), 3 (1987).
 - 46) Yla-Herttuala, S. : Oxidized LDL and atherogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **874**, 134 (1999).

- 47) Ramirez-Tortosa, M. C., Mesa, M. D., Aguilera, M. C., Quiles, J. L., Baro, L., Ramirez-Tortosa, C. L., Martinez-Victoria, E. and Gil, A. : Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **147**(2), 371 (1999).
- 48) Schlaeger, R., Haux, P. and Kattermann, R. : Studies on the mechanism of the increase in serum alkaline phosphatase activity in cholestasis: significance of the hepatic bile acid concentration for the leakage of alkaline phosphatase from rat liver. *Enzyme*, **28**, 3 (1982).
- 49) Leibovitch, I., Ben-Chaim, J., Ramon, J. and Goldwasser, B. : Increased serum alkaline phosphatase activity: a possible indicator of renal damage. *J. Clin. Lab. Anal.* **5**, 406 (1991).
- 50) Wahlstrom, B. and Blennow, G. : A study on the fate of curcumin in the rat. *Acta. Pharmacol. Toxicol.* **43**(2), 86 (1978).