

## 90% 췌장 절제 백서에서 등굴레뿌리의 물추출물이 인슐린 저항성에 미치는 영향

박선민\* · 안승희 · 최미경 · 최수란 · 최수봉<sup>1</sup>

호서대학교 자연대학교 식품영양학과

<sup>1</sup>건국대학교 의과대학 내과

### The Effects of Water Extract of *Polygonatum Odoratum* (Mill) Druce on Insulin Resistance in 90% Pancreatectomized Rats

Sun-Min Park\*, Seung-Hee Ahn, Mi-Kyung Choi, Soo-Ran Choi and Soo-Bong Choi<sup>1</sup>

Food and Nutrition, Hoseo University, Sechul-Ri, Asan-Si, ChungNam-Do, 336-795, Korea

<sup>1</sup>Internal Medicine, KonKuk University, Kyohyun-Dong, Chungjoo-Si, ChungBuk-Do, 380-062, Korea

We determined whether the supplementation of *Polygonatum Odoratum* (Mill) Druce (POD) extract had a good effect on insulin resistance in peripheral tissues of 90% pancreatectomized (Px) and sham-operated (Sham) male Sprague Dawley rats. Px and Sham rats were divided into two groups; one group daily consumed 0.3 g of POD extracts per 1 kg body weight for two months, and the other group had a placebo. All rats freely consumed a 40% fat diet. At the end of the experiment, a euglycemic hyperinsulinemic (EH) clamp was performed in a fasted, awake, and unstressed state to determine insulin resistance. At EH clamp, body weights were higher in Sham rats than Px rats, and serum glucose levels of baseline were affected by diabetic status and POD administration. Serum insulin concentrations were higher in Sham rats than Px rats, and POD administration decreased them in Sham rats compared to P. Glucose disposal rates in peripheral tissues increased with POD in both Px (n = 10) and Sham (n = 10) rats. But glycogen deposits in soleus muscle increased with POD administration in Px and Sham rats, and total glycogen synthase activity and fraction velocity were higher in POD groups. Triglyceride contents in quadriceps muscles decreased with POD in Px rats. In conclusions, POD improves insulin resistance by enhancing glucose utilization with increasing glycogen deposit and decreasing triglyceride contents in muscles.

**Key words:** Polygonatum Odoratum (Mill) Druce, insulin resistance, glycogen synthase activity, triglycerides

### 서론

우리나라에서도 경제성장과 수입 자율화에 따라 식생활과 생활습관이 서구화되면서 제2형 당뇨병을 비롯한 비만, 고혈압, 심혈관계질환과 같은 인슐린 저항성과 관련이 있는 질병의 유발이 급증하고 있다<sup>(1)</sup>. 이러한 질병이 발생하면 많은 환자들이 민간요법에 의존하는데 이들은 과학적 그리고 의학적으로 입증되지 않은 것이 대부분이다. 우리나라에서 동의보감에 나오는 한약재나 민간요법에서 사용되어지던 것 중에서 약제로서 허가받은 혈당강하제 및 인슐린 민감성 약제

는 아직 없다. 누에분말이 혈당강하에 효과가 있는 것으로 알려졌지만 어떠한 작용 메카니즘에 의해 혈당강하효과가 나타나는지에 대한 연구가 많지 않고<sup>(2)</sup>, 또한 누에분말이 제2형 당뇨병의 가능한 원인인 인슐린 저항성에 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구도 없다. 하나의 한약재나 천연물이 약제로 사용되기 위해서는 그것이 어떤 기전에 의해서 혈당을 감소시키거나 당뇨병을 호전시키는 지를 밝히는 것이 필요하다. 그러나 아직까지 우리나라에서 민간 요법으로 사용되고 있는 당뇨병 약제의 경우 이러한 연구가 수행된 것은 없었다.

전통적으로 민간요법 및 한약에서 당뇨병 치료에 효과가 있다고 알려진 천연물을 살펴보면, 하늘타리뿌리, 등굴레뿌리, 구기자, 결명자 및 참마가 혈당강하 효과가 있는 것으로 보고되고 있다<sup>(3-5)</sup>. 임숙자 등의 연구에서 스트렙토조토신(streptozotocin)을 투여하여 당뇨병을 유발시킨 백서에게 하늘타리뿌리의 hexan 추출물의 분획층(subfraction) A와 C가 혈당을 감소시킨다고 보고하였다<sup>(3)</sup>. 그러나 제2형 당뇨병에

\*Corresponding author : Sun-Min Park, Department of Food and Nutrition, Hoseo University, Sechul-Ri, Asan-Si, ChungNam-Do 336-795, Korea  
Tel: 82-41-540-5345  
Fax: 82-41-548-0670  
E-mail: smpark@office.hoseo.ac.kr

효과적인 한약재를 찾기 위해서는 혈당 변화와 함께 이 질병의 가능한 원인인 인슐린 저항성과 인슐린 분비능을 호전시키는 지에 대한 여부를 조사하는 것이 중요하겠다.

또한 우리나라에서 이제까지 주로 많이 당뇨 모델로 사용하는 동물이 스트렙토조토신을 과량 투여하여 췌장의 베타세포( $\beta$ -cell)를 선택적으로 파괴시킨 쥐로서 이러한 당뇨병 모델은 사람의 제1형 당뇨병과 유사한 인슐린 부족형 당뇨병이다. 우리나라 당뇨병의 99%를 차지하는 당뇨병은 제2형 당뇨병으로<sup>(6)</sup> 제1형 당뇨병과는 병태 생리학적 그리고 대사적으로 상당한 차이가 있으므로 당뇨병 치료제를 개발하는 연구에서는 제1형 당뇨병과 유사한 당뇨병 동물모델을 사용하는 것은 적절하지 않다. 또한 스트렙토조토신은 유리 라디칼을 생성하여 췌장의 베타세포를 파괴시키는 것이므로<sup>(7)</sup> 대부분의 항산화제는 췌장의 베타세포의 파괴를 방지할 수 있으므로 당뇨병 유발을 방지할 수 있다<sup>(8)</sup>. 그렇지만 이러한 항산화제가 제2형 당뇨병에서는 효과적으로 인슐린 저항성을 감소시키거나 췌장의 베타 세포의 사멸을 방지하거나 신생을 촉진시켜 혈당을 강하시킨다는 보고는 거의 없다. 그러므로 당뇨병의 치료제를 개발하는 연구에서는 스트렙토조토신을 사용하는 것은 부적절한 것으로 여겨지므로 본 연구에서는 제2형 당뇨병의 특성을 잘 나타내는 것으로 알려진 췌장의 90%를 제거한 (Px) 백서를 대상으로 동굴레뿌리(*Polygonatum Odoratum* (Mill) Druce, POD)의 물 추출물이 인슐린 저항성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 동굴레 뿌리 추출물 제조

POD는 경동시장에서 5 kg을 한번에 구입하여 분쇄기로 잘게 부순 후 500 g 당 3 L의 물을 넣고 80°C에서 12시간 동안 열수 추출하였다. 추출한 후 여과하고 회전식 증발 농축기 (Buchi, Germany)로 용매를 증발시키고 남은 것을 냉동 건조기에 넣어 완전히 건조시켰다. 건조된 것은 밀봉시켜 -20°C 냉동고에 사용할 때까지 보관하였다.

### 실험동물의 사육

생후 6개월 정도된 체중  $338 \pm 35$  g의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 구입하고 3~4일 간의 적응 후 30마리는 Hosokawa 등<sup>(9)</sup>이 이용한 방법을 사용해서 췌장의 90%를 제거하였다. 실험동물에게 50 mg/kg 체중의 케타민을 근육 주사하여 마취시킨 후 복부를 절제하여 조심스럽게 췌장의 담관(common bile duct)에서 십이지장의 처음 부분까지의 약 2 mm의 부분의 췌장만을 남기고 나머지 췌장의 부분은 모두 절제한 후 소독한 실로 봉합하여 경한 당뇨 증세를 가진 실험동물을 만들었다. 수술 후 2주 동안 고형사료로 사육하였고, 그 동안 수술 경과가 좋지 않은 동물과 혈당이 9.4 mmol/L 미만인 실험동물은 실험 대상에서 제외하고 남은 동물을 체중에 따른 난괴법(Randomized complete block design)에 의해서 한 군에 10 마리씩 두 군으로 나누었다. 정상 대조군으로는 sham 수술을 한 (Sham) 백서를 사용하였는데 이들은 췌장을 절제하는 것과 같은 방법으로 복부를 열고 췌장을 제거하는 대신 췌장을 만지기만 하고 봉합하였다. Px 백서와 Sham 백서는

각각 다시 한 군에 10 마리씩 두 군으로 나누었다.

모든 군의 식이는 공통적으로 40% 지방 식이를 공급하였고, 탄수화물, 단백질과 지방의 구성비는 각각 열량비로 40%, 20%, 40%로 배합하였다. 탄수화물은 옥수수 전분으로, 단백질은 카제인으로 그리고 불포화 지방은 옥수수 기름으로 공급하였다. 무기질은 AIN 무기질 혼합물의 구성비를 이용하고 비타민은 AIN, 비타민 혼합물의 구성비를 이용하였다<sup>(10)</sup>. Px 백서와 Sham 백서는 수술 2 주 후부터 40% 지방식이를 8 주 동안 자유 급식하고, 식이 섭취량을 측정하여 POD 군에게 POD 물 추출물을 식이 섭취량에 따라 Px와 Sham 백서의 체중 1 kg 당 0.3 g의 POD를 섭취할 수 있도록 식이에 섞어 주었다. 대조군인 위약군(placebo group, P)은 같은 양의 전분을 식이에 섞어 주었다. 사육기간 동안 1 주일에 한번씩 15~18 시간 동안 금식시킨 후 오전 11시에 꼬리 끝으로부터 혈액을 채취하여 혈당과 체중을 측정하였다. 사육실 온도는  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도는  $65 \pm 5\%$ 를 유지하고 광주기와 암주기를 12 시간이 되도록 빛을 조절하였다.

### Euglycemic hyperinsulinemic (EH) clamp study

실험동물을 희생시키는 전에 EH clamp 방법에 의해서 인슐린 저항성을 측정하기 위하여 실험식이를 공급한지 7 주째 되었을 때 케타민으로 근육 주사하여 마취시킨 후 왼쪽 경동맥(carotid artery)과 오른쪽 경정맥(jugular vein)에 도관(catheter)을 삽입하였다<sup>(11)</sup>. 수술 후 백서에게 사료와 물을 정상적으로 공급하였고, 1 주일 후에는 체중이 수술 전보다 증가하기 시작하며 수술로부터 완전히 회복하였다. 수술 7 일째 되는 날에 약 15~18 시간 금식시킨 후 인슐린 저항성을 측정하였다.

오른쪽의 경정맥에 삽입한 도관으로 포도당과 인슐린을 주입하고, 왼쪽의 경동맥에서는 혈액을 채취하는데 이용하여 주입한 인슐린 농도에서 처리되는 포도당 속도(glucose disposal rate)를 결정하여 인슐린 저항성을 계산하였다. 실험동물의 한배에서 나온 백서의 심장 천공(heart puncture)으로 얻은 혈액을 헤파린 처리한 생리 식염수로 1:1(v:v)로 희석한 용액에 인슐린을 섞어 12 mU/kg/min 속도로 인슐린을 지속적으로 주입하였다. 이와 동시에 25% 포도당 용액을 정맥으로 주입하여 혈당이 5.0~5.6 mmol/L로 정상혈당(euglycemia)으로 일정한 상태(steady-state)를 유지할 때의 포도당 주입속도로부터 포도당 처리 속도를 결정하였다. 포도당 처리 속도는 혈당을 5.0~5.6 mmol/L로 유지하는 포도당 주입속도에 주입하는 용액의 포도당 농도를 곱하고 백서의 체중으로 나누어서 분당 단위 체중 당 처리되는 포도당 양으로 계산하였고 단위는 mg/kg 체중/분이다<sup>(12,13)</sup>.

채취한 혈액은 원심분리로 혈청을 분리한 후 혈당 분석기(Glucose Analyzer, Beckman Instruments, Fullerton, CA)로 혈당을 측정하였다. 혈청 인슐린 농도는 EH clamp 중 시작전, 90분과 120분에 측정하였다. 혈청내 인슐린 농도는 백서 인슐린 RIA kit(Linco Research Inc., St. Charles, USA)을 이용하여 radioimmunoassay 측정하였다<sup>(14)</sup>.

EH clamp가 끝나자마자 바로 렘폰(20 mg/kg)을 정맥으로 주입하고, 간, 골격 근육인 soleus와 quadriceps 근육, 지방 조직을 분리하여 액체 질소에 넣어 즉각 동결시켜 생화학적 실험을 할 때까지  $-70^\circ\text{C}$ 에 보관하였다가 분석에 이용하였다.

**생화학적 분석**

간과 soleus와 quadriceps 근육의 글리코겐 함량은 일정량의 조직을 균질화시킨 직후에 포도당 농도를 측정하고, 거기에 glucoamylase를 첨가하여 배양시킨 후 포도당 농도를 측정하여, 간과 근육에 글리코겐으로 저장된 글리코겐의 함량을 결정하였다<sup>(15)</sup>. 근육에 함유된 중성지방의 함량은 일정량의 근육에 클로로포름 : 메탄올(2:1, v:v)을 넣어 균질기로 균질화시킨 후 진탕하여 근육으로부터 지방을 추출하였다. 여기에 0.9% 식염수 용액을 넣어 중성지방이 함유되어 있는 클로로포름 층을 분리하였다. 이층에 함유되어 있는 중성지방 함량은 영동계약 키트(kits)를 이용하여 500 nm에서 비색 정량하였다<sup>(16)</sup>. Glycogen synthase 활성은 Thomas *et al.*<sup>(17)</sup>의 방법을 변형하여 측정하였다<sup>(15)</sup>. Glycogen synthase 활성은 10.0 mM glucose 6-phosphate(G-6-P)를 첨가하였을 때와 첨가하지 않고 0.3 mM UDPG-[<sup>3</sup>H]-glucose를 근육 세포와 배양하였을 때 근육의 글리코겐에 존재하는 [<sup>3</sup>H]-glucose의 양을 측정하여 결정하여 Glycogen synthase 활성을 nmol/mg 단백질/분으로 계산하였다. 10 mM G-6-P 농도에서의 glycogen synthase 활성은 glycogen synthase의 최대 활성이고, G-6-P 없이 측정된 glycogen synthase 활성은 G-6-P 비의존적 형태의 활성이다. 또한 glycogen synthase의 fractional velocity(FV)는 10 mM G-6-P가 존재할 때와 존재하지 않을 때의 glycogen synthase의 활성의 비로 계산하였다. FV는 glycogen synthase가 비활성화 된 상태에서 활성화되는 정도를 나타내는 것으로 이 값이 높을수록 효과적으로 glycogen synthase 활성화 되는 것을 의미한다.

**통계적 처리**

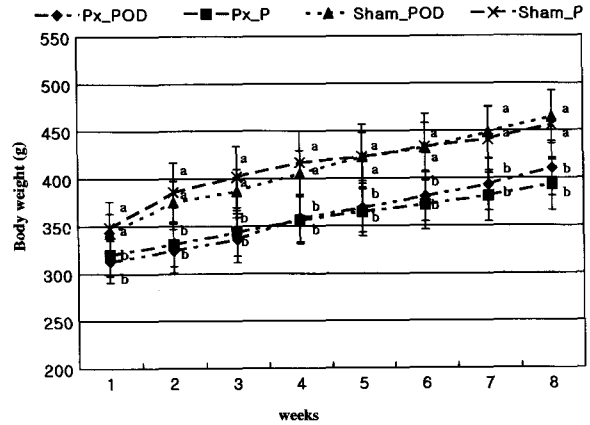
Px와 Sham 백서에게 POD 또는 P를 8주 동안 공급한 후 측정된 다양한 변수의 수치를 각 군별로 평균과 표준 편차를 계산하였다. 8 주를 사육한 후 Px와 Sham 백서에서 당뇨병의 효과와 POD의 효과를 SAS 프로그램을 이용하여<sup>(18)</sup> two-way analysis of variance(ANOVA)로 유의성을 검증하였다. 각 군의 평균값 사이의 차이는 Tukey 방법으로 군들 사이의 차이를 비교하였다. Px 백서와 Sham 백서에서 각각 POD의 효과를 검증할 경우에는 두 군간의 t-test를 하였다. 모든 통계 처리의 유의성 검증은  $\alpha = 0.05$ 로 정하였다.

**결과 및 고찰**

**체중과 혈당 변화**

췌장 절제 수술과 Sham 수술을 한지 2 주 후에 실험 식이를 공급하기 시작하였는데 이때 Px 백서와 Sham 백서의 체중은 차이가 있어 Sham 백서의 체중이 Px 백서에 비해 통계적으로 유의하게 높았다( $P < 0.05$ , Fig. 1). 전 실험기간 동안 POD군과 P군의 체중은 차이가 없었다.

POD와 P를 투여하기 전에 Px 백서의 혈당은  $9.9 \pm 0.6$  mmol/L이었고, 정상군의 혈당은  $6.4 \pm 0.5$  mmol/L이었다. 전 실험기간 동안 매주 채취한 꼬리피로 측정된 혈당은 Px군이 Sham군에 비해 통계적으로 유의하게 높았다(Fig. 2). 전 실험 기간동안 POD군의 혈당이 P군에 비해 낮은 경향을 보였고, 실험식이를 공급한지 3주, 5주, 그리고 6주에는 POD군



**Fig. 1. Changes of body weight in four different groups during experimental periods.**

<sup>a,b,c</sup>Values on the same week with different superscripts (a, b, c) were significantly different at  $\alpha = 0.05$ .

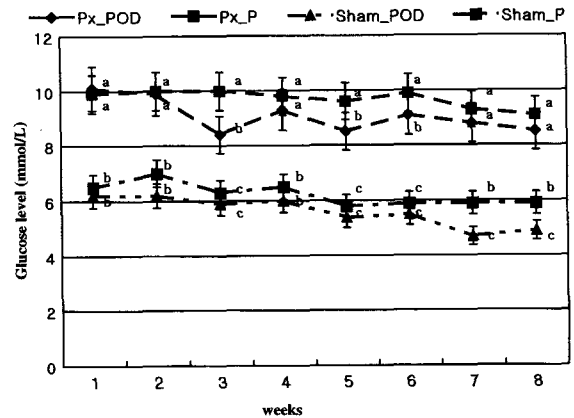
After overnight fasting, body weights were weekly measured at the assigned time.

Px\_POD: 90% pancreatectomized (Px) rats administered with Polygonatum Odoratum (Mill) Druce (POD) (n=10)

Px\_P: Px rats administered with placebo (n=9)

Sham\_POD: Sham operated rats administered with POD (n=10)

Sham\_P: Sham operated rats administered with placebo (n=10)



**Fig. 2. Changes of serum glucose levels in four different groups during experimental periods.**

<sup>a,b,c</sup>Values on the same week with different superscripts (a, b, c) were significantly different at  $\alpha = 0.05$ .

After overnight fasting, serum glucose levels were weekly measured at the assigned time.

Px\_POD: 90% pancreatectomized (Px) rats administered with Polygonatum Odoratum (Mill) Druce (POD) (n=10)

Px\_P: Px rats administered with placebo (n=9)

Sham\_POD: Sham operated rats administered with POD (n=10)

Sham\_P: Sham operated rats administered with placebo (n=10)

의 혈당이 P군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다( $P < 0.05$ ).

본 연구에서 사용한 제2형 당뇨병 동물모델은 90% 췌장 절제한 백서를 사용하였는데 이것은 수술적으로 전체 췌장의 90%를 절제한 것으로 췌장의 베타세포와 알파세포가 같은 비율로 제거되고 남은 10%는 정상적으로 췌장의 기능을 하므로 혈중의 글루카곤 대 인슐린 비가 정상과 비슷하게 유지되어 있어 사람의 제2형 당뇨병의 병태 생리와 비슷한 증

**Table 1. Serum glucose and insulin concentrations, and glucose disposable rates at euglycemic hyperinsulinemic clamp at the end of the experimental study**

	Px rats		Sham rats	
	POD (n=10)	P (n=9)	POD (n=10)	P (n=10)
Serum glucose levels at baseline (mmol/L)	8.7 ± 1.4 <sup>1)bc</sup>	9.8 ± 1.2 <sup>a</sup>	5.9 ± 1.3 <sup>c</sup>	6.4 ± 1.1 <sup>(2)</sup>
Serum insulin levels at baseline (pmol/L)	253.2 ± 58.4 <sup>c</sup>	248.8 ± 64.4 <sup>c</sup>	342.8 ± 45.6 <sup>b</sup>	396.8 ± 53.2 <sup>(a3)</sup>
Serum glucose levels at steady-state (mmol/L)	5.6 ± 0.4	5.6 ± 0.4	5.7 ± 0.3	5.7 ± 0.2
Serum insulin levels at steady-state (pmol/L)	1713 ± 140	1745 ± 138	1750 ± 167	1788 ± 185
Glucose disposable rate (mg/kg of body weight/minute)	36.0 ± 10.6 <sup>b</sup>	29.2 ± 6.8 <sup>c</sup>	53.9 ± 7.7 <sup>a</sup>	38.7 ± 13.6 <sup>(b4)</sup>

<sup>1)</sup>Mean+Standard Deviation

<sup>2)a,b,c</sup>Values on the same row with different superscripts (a, b, c) were significantly different at  $\alpha=0.001$ .

<sup>3)a,b,c</sup>Values on the same row with different superscripts (a, b, c) were significantly different at  $\alpha=0.05$ .

<sup>4)a,b,c</sup>Values on the same row with different superscripts (a, b, c, d) were significantly different at  $\alpha=0.01$ .

Px: Pancreatetomized; Sham: Sham-operated

POD: Administration of Polygonatum Odoratum (Mill) Druce (POD);

P: Administration of placebo

세를 가진 경한 당뇨병을 나타낸다고 보고되었다<sup>(11,19)</sup>. Bonner-Weir등에 따르면 췌장 절제를 하면 췌장의 베타 세포 양 (mass)가 감소하고, 포도당의 자극은 베타 세포의 기능을 비정상적으로 만들어 혈당을 높인다. 그러나 담관과 십이지장 사이에 남아 있는 췌장의 베타 세포의 인슐린 함량은 정상이라고 보고하였다<sup>(20)</sup>. Px 백서는 혈당이 지속적으로 혈당이 정상보다 높은 상태를 유지하는 제2형 당뇨병과 거의 유사한 혈당의 변이를 나타낸다<sup>(21,22)</sup>. 또한 Px 백서는 인슐린 분비가 정상에 비해 낮지만 공복의 혈당을 극복할 수 있는 정도는 되어 공복에는 현저한 고혈당을 나타내지 않지만, 식후에는 인슐린 부족이 심하여 혈당이 현저하게 높아지고 인슐린 저항성이 나타나는 제2형 당뇨병의 증세를 나타낸다<sup>(20)</sup>.

한편 Rossetti 등의 연구에서 90% 췌장을 제거한 백서의 공복 혈당은 약 6.6 mmol/L이었고 식사 후 혈당은 15.8 mmol/L 정도로 공복 혈당은 Sham 백서와 거의 차이가 없었다고 보고하였다<sup>(19)</sup>. 본 연구 결과에서는 공복혈당이 췌장 절제 수술한 지 2주 후에 혈당이 9.4 mmol/L이하인 백서는 실험 대상에서 제거하여 혈당이 약 9.8 mmol/L로 Rossetti의 결과보다 높았다<sup>(19)</sup>. 또한 여러 연구에서 보고한 것을 토대로 본 연구에서는 인슐린 저항성이 존재할 때 POD의 투여 효과를 조사하기 위해서 고지방 식이를 공급하였다<sup>(23,24)</sup>.

### 인슐린 저항성

Table 1에 각각의 정해진 식이를 공급한 후 백서의 체내 포도당 제거 속도를 측정하기 위해서 EH clamp를 하였을 때 EH clamp 직전과 인슐린을 12 mU/kg 체중/분으로 계속적으로 공급하면서 25% 포도당 용액을 공급하여 혈당을 5.6 mmol/L로 유지하였을 때 측정된 공복 혈청 포도당 농도, 혈청 인슐린 농도와 포도당 제거 속도를 주었다. 실험식이를 공급한지 8주째 EH clamp 방법으로 각 백서의 포도당 제거 속도를 측정하여 인슐린 저항성을 결정하였다. EH clamp를 하기 전에 기초 공복 혈당은 POD 투여와 당뇨에 의한 통계적인 유의성의 차이를 나타내었다( $P=0.001$ ). 즉, Px 백서의 공복 기초 혈당은 POD군( $n=10$ )이 P군( $n=9$ )에 비해 낮았고, Px 백서의 기초 혈당은 Sham 백서에 비해 높았다(Table 1). 기초 혈청 인슐린 농도는 Px 백서가 Sham 백서에 비해

낮았고, Sham 백서에서는 P를 투여( $n=10$ ) 하였을 때에 비해 POD 투여를 하였을 때( $n=10$ ) 기초 혈청 인슐린 농도가 낮았지만, Px 백서에서는 POD에 의한 효과가 없었다( $P<0.05$ ). 포도당 제거 속도는 Px와 Sham 백서에서 모두 P를 공급하였을 때에 비해 POD를 공급하였을 때 증가하였다( $P<0.01$ ).

본 연구의 기초 인슐린 농도는 Rossetti의 결과인<sup>(19)</sup> 공복 인슐린 농도는 375 pmol/L로 sham 수술을 한 백서나 췌장을 제거한 쥐에서 유사하였던 것과 비교하였을 때 Sham 백서의 공복 인슐린 농도는 유사하였지만 Px 백서의 공복 혈청 인슐린 농도는 낮았다. 이렇게 결과에 차이가 있었던 것은 두 연구에 실험동물의 나이가 차이가 있었고 식이에 차이에 의한 것으로 여겨진다. 본 연구에 사용한 쥐는 생후 6개월 정도 된 약 338 g 정도이었고, Rossetti의 연구에서는<sup>(19)</sup> 생후 4주 정도된 80~100 g의 쥐를 사용하였다. 어린 쥐에서는 췌장을 제거 수술 이후에 시간이 지나면서 췌장의 베타 세포가 ductal 상피 세포에서부터 분화하여 생성되어 췌장 세포가 증가하여 성장함에 따라 당뇨 증세가 완화될 수 있어 본 연구에서는 이러한 나이가 많아짐에 따라 당뇨가 회복되는 것을 배제하기 위하여 생후 6개월이 된 백서를 사용하였다<sup>(25)</sup>.

인슐린 저항성을 객관적으로 측정할 수 있는 실험인 EH clamp를 하기 전에 경동맥과 경정맥에 도관을 삽입하는 수술을 하고 1주일 후에 EH clamp를 하였는데 그 이유는 인슐린 저항성은 수술적 스트레스에 의해서 큰 영향을 받으므로<sup>(26,27)</sup> 수술적 스트레스에서 완전히 회복한 후에 EH clamp를 하기 위한 것이다. 본 연구에서는 POD 물 추출물이 인슐린 저항성에 미치는 영향을 조사하기 위해서 인슐린 저항성을 유발하는 것으로 알려진 고지방 식이를 공급하였다. 많은 연구에서 과다의 동물성 지방뿐만 아니라 고불포화지방의 섭취도 인슐린 저항성을 일으킨다는 보고를 하였고, 그 이전에 대해서도 여러가지 연구 결과의 발표가 있지만 확실하게 밝혀진 것은 없었다<sup>(13,24,28)</sup>. 가능한 기전이 세포에서의 포도당 이용률 감소에 의한 것이므로 근육에서의 포도당 이동 (uptake), 포도당의 에너지 원으로 이용, 그리고 포도당의 저장에 대한 연구가 이루어지고 있다. 본 연구에서도 근육에서의 포도당의 저장, 중성지방으로의 전환에 대해서 조사하였다.

**Table 2. Glycogen and triglyceride contents in soleus and quadriceps muscles(unit: mg/g of tissue)**

	Px rats		Sham rats	
	POD (n=10)	P (n=9)	POD (n=10)	P (n=10)
Glycogen contents in liver	28.1 ± 8.2 <sup>1)</sup>	26.7 ± 7.1	30.1 ± 7.9	25.1 ± 5.6
Glycogen contents in soleus muscles	3.5 ± 2.2 <sup>b</sup>	2.9 ± 1.5 <sup>c</sup>	4.8 ± 1.8 <sup>a</sup>	3.2 ± 2.2 <sup>b2)</sup>
Glycogen contents in quadriceps muscles	3.2 ± 1.4 <sup>a</sup>	2.8 ± 1.7 <sup>b</sup>	3.8 ± 1.9 <sup>a</sup>	3.4 ± 1.3 <sup>b2)</sup>
Triglyceride contents in soleus muscles	48.6 ± 35.0	61.5 ± 34.5	34.3 ± 41.8	53.5 ± 46.3
Triglyceride contents in quadriceps muscles	49.4 ± 18.1 <sup>c</sup>	104.2 ± 37.9 <sup>a</sup>	51.7 ± 23.5 <sup>c</sup>	80.7 ± 20.6 <sup>b2)</sup>

<sup>1)</sup>Mean+Standard Deviation<sup>2)a,b,c</sup>Values on the same row with different superscripts (a, b, c) were significantly different at  $\alpha=0.05$ .

Px: Pancreatetomized; Sham : Sham-operated

POD: Administration of Polygonatum Odoratum (Mill) Druce (POD); P: Administration of placebo

**Table 3. Glycogen synthase activities in soleus and quadriceps muscles**

	Px rats		Sham rats	
	POD (n=10)	P (n=9)	POD (n=10)	P (n=10)
Glycogen synthase activity with 10 mM G-6-P in soleus muscles (nmol/mg of protein/ minute)	35.3 ± 6.2 <sup>1)ab</sup>	27.5 ± 8.4 <sup>b</sup>	39.5 ± 7.9 <sup>a</sup>	34.7 ± 9.8 <sup>a2)</sup>
Glycogen synthase activity with 10 mM G-6-P in quadriceps muscles (nmol/mg of protein/ minute)	33.7 ± 6.5	29.8 ± 9.2	36.8 ± 10.8	30.2 ± 8.3
Fraction velocity <sup>3)</sup> in soleus muscles	11.4 ± 2.5 <sup>b</sup>	8.6 ± 1.9 <sup>c</sup>	13.6 ± 1.8 <sup>a</sup>	10.3 ± 2.1 <sup>b2)</sup>
Fraction velocity in quadriceps muscles	10.7 ± 1.9 <sup>a</sup>	8.8 ± 2.2 <sup>b</sup>	12.6 ± 1.7 <sup>a</sup>	11.8 ± 2.3 <sup>a2)</sup>

<sup>1)</sup>Mean+Standard Deviation<sup>2)a,b,c</sup>Values on the same row with different superscripts (a, b, c) were significantly different at  $\alpha=0.05$ .<sup>3)</sup>The ratio of glycogen synthase activity with 10 mM G-6-P and glycogen synthase without G-6-P

Px: Pancreatetomized; Sham : Sham-operated

POD: Administration of Polygonatum Odoratum (Mill) Druce (POD); P: Administration of placebo

각군에서 체내 포도당 제거 속도에 영향을 미치는 요인인 근육 조직의 글리코겐 양(Table 2), 중성지방 양(Table 2) 그리고 glycogen synthase 활성(Table 3)을 조사하였다. 간 조직의 글리코겐의 양은 Px 백서가 Sham 백서에 비해 낮은 경향이 있었지만 통계적인 유의성은 없었고, POD의 섭취에 따른 차이도 없었다. 근육의 글리코겐 양은 당뇨와 POD 섭취에 따른 차이를 나타내어 soleus 근육의 글리코겐 양은 Px 백서에 비해 Sham 백서에서 통계적으로 유의하게 높았고, Px 백서와 Sham 백서에서 모두 POD를 섭취하였을 때 글리코겐 축적이 증가하였다( $P<0.05$ ). Quadriceps 근육의 글리코겐 축적양은 P를 공급받은 Px 백서가 다른 군에 비해 가장 낮았다. Px 백서에서 soleus와 quadriceps 근육의 중성지방 축적량이 Sham 백서에 비해 높았는데, P에 비해 POD를 공급하였을 때 중성지방의 축적량이 낮아졌다. 이러한 차이는 quadriceps 근육에서만 통계적으로 유의한 차이를 나타내었고 ( $P<0.05$ ), soleus 근육에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. Px 백서에서 P를 섭취하였을 때 soleus 근육의 총 glycogen synthase activity가 다른 군에 비해 낮았다. Total glycogen synthase 활성은 quadriceps 근육에서는 당뇨와 POD 공급에 따른 차이가 없었다. Soleus 근육에서 glycogen synthase의 G-6-P를 첨가하지 않았을 때와 10.0 mM G-6-P 농도에서의 fraction velocity는 Px와 Sham 백서에서 모두 P를 공급하였을 때 보다 POD를 공급하였을 때 높았고, Sham 백서가 Px 백서에 비해 높았다( $P<0.05$ ). Quadriceps 근육에서 fraction velocity는 soleus 근육과 마찬가지로 경향을 나타내었으나, Px

백서에서만 POD의 섭취에 의한 차이를 나타내었다.

인슐린 저항성의 원인은 아직까지 알려지지 않았지만, 가능한 기전은 중의 하나는 근육과 지방 세포에서 인슐린 작용력이 감소하는 말초조직에서의 인슐린 저항성으로 인한 것이다<sup>(29,30)</sup>. 인슐린 작용력의 감소는 근육세포의 세포막에 존재하는 포도당을 세포내로 이동시키는 GLUT4의 활성의 감소, 세포내의 포도당이 이용되는 과정에 중요한 hexokinase 그리고 포도당의 저장에 관여하는 glycogen synthase의 활성에 감소하는 것과 관련이 있다는 보고가 많다<sup>(23,29,30)</sup>. 본 연구의 결과에서도 POD를 공급하였을 때 glycogen synthase 활성이 증가하고 특히 fraction velocity가 증가하는 것을 보여주었다. 하지만 아직까지 인슐린의 작용력이 감소하는 이유가 확실하게 밝혀지지 않는 것이다.

## 요 약

현재까지 인슐린의 작용력을 향상시키는 약으로 시판되고 있는 것은 thiazolidinediones이 있고 그외에도 몇가지 종류의 물질에 대해서 그 효과를 조사하고 있다. 본 연구에서는 당뇨병의 치료에 효과가 있다고 알려진 한약재로부터 추출한 POD의 인슐린 저항성에 미치는 영향을 조사하였다. 체중이 338 ± 35 g 인 Sprague Dawley 백서를 두군으로 나누어 한군은 sham 수술을 하여 정상군으로, 다른 한군은 90% 췌장적제술을 하여 당뇨군(Px)으로 정하였다. Px 백서는 90% 췌장제거 수술을 한 후 2 주동안 혈당을 측정하여 공복 혈당

이 9.4 mmol/L 이상인 백서를 선택하였다. Sham 백서와 당뇨 백서는 다시 각각 2군으로 나누어 한군은(n = 10) 하루에 POD을 0.3 g/kg 체중의 용량으로 식이에 섞어 공급하였고, 다른 한군은(n = 10) 위약(P)을 8 주 동안 투여하였다. 식이는 40% 지방 식이를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 7 주 체 되었을 때 인슐린 저항성을 측정하기 위해 경동맥과 경정맥에 도관을 삽입하였고, 8주째에 15~18시간 금식후 EH clamp 실험을 실시하였다. POD와 P를 투여하기 전에 Px 백서의 혈당은  $9.9 \pm 0.6$  mmol/L이었고, 정상군의 혈당은  $6.4 \pm 0.5$  mmol/L이었다. EH clamp를 할 때 체중은 Px 백서에 비해 Sham 백서에서 높았으며, 혈당은 POD 투여와 당뇨에 의한 차이가 있었다. Px 백서가 Sham 백서에 비해 기초 인슐린 농도가 낮았고, Sham 백서에서는 POD군이 P군에 비해 낮았다. 체내 포도당 제거 속도는 Sham+POD군이  $53.9 \pm 7.7$ , Sham+P군이  $38.7 \pm 13.6$ , Px+POD군이  $36.0 \pm 10.6$ , Px+P군이  $29.2 \pm 6.8$  mg/kg 체중/min이었다. 체내 포도당 제거속도는 POD군이 P군에 비해 높았고, Px군이 Sham군에 비해 낮았다( $P < 0.01$ ). Soleus 근육의 글리코겐 양은 POD군에서 P군에 비해 높았다. Px 백서에서는 soleus와 quadriceps 근육의 글리코겐 양은 정상군에 비해 낮았다. Soleus 근육의 glycogen synthase의 활성은 P군에 비해 POD군에서 높았고( $P < 0.05$ ), Px 백서가 Sham 백서에 비해 낮았다( $P < 0.05$ ). Px 백서의 quadriceps 근육내 중성지방 축적량이 Sham 백서에 비해 높았는데, P에 비해 POD를 공급하였을 때 중성지방의 축적량이 낮아졌다. 결론적으로 POD은 당뇨와 정상 백서에서 인슐린 저항성을 감소시킴을 알 수 있었고 이러한 인슐린 저항성의 감소 현상은 근육에서의 glycogen synthase 활성과 관련이 있을 것으로 생각되었다.

## 감사의 글

본 연구는 한국 과학재단에서 지원하는 우수여성과학자 도약 지원연구비 지원에 의하여 수행되었기에 감사를 드립니다.

## 문 헌

1. Korean Medical Insurance Association. 1992 Annuals for Medical Insurance Statistics. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea (1993)
2. Jung, S.H., Kim, S.H. and Rhee, K.S. Effects of silk-worm extracts on intestinal  $\alpha$ -amylase in mice fed high carbohydrate diets. *Kr. Soc. Sericultural Sci.* 39:86-92 (1997)
3. Iim, S.J. and Choi, S.S. The effect of Trichosanthes Kirilowii Max. subfractions on the insulin activity in Streptozotocin induced diabetic rats and their acute toxicity. *Kr. J. Nutr.* 30:25-31 (1997)
4. Kim, M.H., Park, M.H. and Kim, G.H. Effects of mushroom protein bound polysaccharides on blood glucose levels and energy metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. *Kr. J. Nutr.* 30:743-750 (1997)
5. Lee, J.S., Lee, G.S. and Shin, H.K. Effects of chicory extract on the serum glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kr. J. Nutri.* 30:781-788 (1991)
6. Min, H.K. Clinical characteristics of Korean Diabetic patients. *Kr. Diabetes* 16:163-170 (1992)
7. Kakkar, R., Mantha, S.V., Radhi, J., Prasad, K. and Kalra, J. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin. Sci. (Colch)* 94:623-632 (1998)
8. Nishizono, S., Hayami, T., Ikeda, I. and Imaizumi, K. Protection against the diabetogenic effect of feeding tert-butylhydroquinone to rats prior to the administration of streptozotocin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64:1153-1158 (2000)
9. Hosokawa, Y.A., Hosokawa, H., Chen, C. and Leahy, J.L. Mechanism of impaired glucose-potentiated insulin-secretion in diabetic 90 percent pancreatectomy rats-Study using glucagon-like peptide-1(7-37). *J. Clin. Invest.* 97:180-186 (1996)
10. Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc committee on standard for nutritional studies. *J. Nutr.* 107:1340-1348 (1977)
11. Waynforth, H.B. and Flecknell, P.A. Experimental and surgical technique in the rat. 2nd ed. Academic Press, New York, USA (1994)
12. Rossetti, L., Farrace, S., Choi, S.B., Giacari, A., Sloan, L., Frontoni, S. and Katz MS. Multiple metabolic effects of CGRP in conscious rats: role of glycogen synthase and phosphorylase. *Am. J. Physiol.* 264:E1-E10 (1993)
13. Storlien, L.H., Jenkins, A.B., Chisholm, D.J., Pascoe, W.S., Khouri, S. and Kraegen, E.W. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and w-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes* 40:280-289 (1991)
14. Morgan, C.R. and Lazarow, A. Immunoassay of insulin: Two antibody system. Plasma insulin levels in normal, sub-diabetic and diabetic rats. *Diabetes* 12:115-120 (1963)
15. Frontoni, S., Choi, S.B., Banduch, D. and Rossetti, L. In vivo insulin resistance induced by amylin primarily through inhibition of insulin-stimulated glycogen synthesis in skeletal muscle. *Diabetes* 40:568-573 (1991)
16. Hopp, J.F. and Palmer, W.K. Effect of glucose and insulin on triacylglycerol metabolism in isolated normal and diabetic skeletal muscle. *Metabolism* 40:223-227 (1991)
17. Thomas, A.J., Schlender, K.K. and Larner, J. A rapid filter paper assay for UDP glucose-glycogen glucosyltransferase, including an improved biosynthesis of UDP-14C-glucose. *Anal. Biochem.* 25:486-489 (1968)
18. SAS Institute, Inc. Guide for personal computers. Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA (1985)
19. Rossetti, L., Shulman, G.I., Zawalich, W. and DeFronzo, R.A. Effect of chronic hyperglycemia on in vivo insulin secretion in partially pancreatectomized rats. *J. Clin. Invest.* 80:1037-1044. (1987)
20. Bonner-Weir, S., Trent, D.F. and Weir, G.C. Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. *J. Clin. Invest.* 71:1544-1553 (1983)
21. Orland, M.J., Chyn, R. and Permutt, M.A. Modulation of proinsulin messenger RNA after pancreatectomy in rats. *J. Clin. Invest.* 75:2047-2055 (1985)
22. Kaufmann, F. and Rodriguez, R.R. Subtotal pancreatectomy in five different rat strains: incidence and course of development of diabetes. *Diabetologia* 27:38-43 (1984)
23. Kraegen, E.W., Clark, P.W., Jenkins, A.B., Daley, E.A., Chisholm, D.J. and Storlien, L.H. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. *Diabetes* 40:1397-1403 (1991)
24. Choi, S.B. and Park, S. The effect of polyunsaturated fat and vitamin E intakes on insulin resistance in 90% pancreatectomized rats. *Kr. J. Med.* 56:489-499 (1999)
25. Xu, G., Stoffers, D.A., Habener, J.F. and Bonner-Weir, S. Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. *Diabetes* 48:2270-2276 (1999)
26. Choi, S.B. and Park, S. The effect of surgical stress on insulin resistance in rats. *J. Kr. Soc. Endocrinol.* 14:142-147 (1999)
27. Shah, J.H., Wongsurawat, N., Aran, P.P., Motto, G.S. and Bowser, E.N. A method for studying acute insulin secretion and glucose

- tolerance in unanesthetized and unrestrained rats. The effect of mild stress on carbohydrate metabolism. *Diabetes* 26:1-6 (1977)
28. Yam, D., Eliraz, A. and Berry, E.M. Diet and disease-the Israeli paradox: possible dangers of a high omega-6 polyunsaturated fatty acid diet. *Isr. J. Med. Sci.* 32:1134-1143 (1996)
29. Chalkley, S.M., Hettiarachchi, M., Chisholm, D.J. and Kraegen, E.W. Five-hour fatty acid elevation increases muscle lipids and impairs glycogen synthesis in the rat. *Metabolism* 47:1121-1126 (1998)
30. Sebokova, E., Klimes, I., Moss, R., Stolba, P., Wiersma, M.M. and Mitkova, A. Muscle GLUT 4 protein levels and impaired triglyceride metabolism in streptozotocin diabetic rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 683:218-227 (1993)
- 
- (2001년 5월 10일 접수)