

당뇨 유발쥐에서 인동초의 섭취가 혈청지질과 혈당 및 항산화효소계에 미치는 영향

방미애 · 조영자 · 김현아
목포대학교 생활과학대학 식품영양학과
(2002년 5월 20일 접수)

Effect of Indongcho(*L. japonica Thunb*) on Glucose and Lipid metabolism and Antioxidative Enzyme System in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Bang Mi-Ae, Cho Young-Ja, and Kim Hyeon-A
Department of Food & Nutrition, Mokpo National University
(Received May 20, 2002)

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of dietary Indongcho(*L. japonica Thunb*) powder on blood glucose, serum lipid levels and antioxidative enzymes in normal and streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats. Four groups of rats(3-week-old inbred Sprague-Dawley male rats) were normal rats fed control diet(NC), diabetic rats fed control diet(DC), normal rats fed Indongcho powder diet(NI), and diabetic rats fed Indongcho powder diet(DI). Diabetes was induced by single injection of streptozotocin(60mg/kg B.W., i.p.). The animals were fed ad libium each of the experimental diet for 5 weeks. Food and water intakes were determined everyday. Blood glucose and serum total cholesterol levels were determined every week. After 5 weeks the animals were sacrificed and activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products were determined in their liver and kidney homogenates. We also determined serum concentrations of total lipid(TL), total cholesterol(TC), triglycerides(TG) and HDL-cholesterol(HDL-C). Blood sugar and water intake were higher in diabetic group(DC and DI group) than normal group(NC and NI group) and were not significantly decreased by dietary Indongcho intake. Body weight gain and FER(feed efficiency ratio) were reduced by STZ treatment. But, Final body weight was recovered by Indongcho-contained diet. LHR(LDL-cholesterol/HDL-cholesterol) of the DI group was significantly lower than the other experimental groups(NC, NI and DC groups). The hepatic glucose 6-phosphatase(G6Pase) activity of the groups fed Indongcho diet(NI and DI group) was lower than the groups fed control diet(NC and DC group) and the G6Pase activity of NI group was recovered to the normal levels($p < 0.05$). However, The glutathione peroxidase(GPx) and glutathione reductase(GR) activities in liver and G6Pase activity in kidney were not statistically different between the control and diabetic control groups. Renal GST activity of the DI group was recovered by Indongcho intake. In conclusion, these results confirm oxidative stress in the liver and kidney of rats with STZ diabetes and antioxidative effect of Indongcho.

Key Words : Diabetic rats, *L. japonica Thunb*, hypoglycemia, G6Pase, GST

I. 서론

최근 우리나라의 질병 양상은 식생활과 생활습관의 변화에 따라, 급성 감염성 질환에서, 만성 퇴행성 질환으로 변화하고 있다¹⁾. 이중, 인슐린의 분비부족이나 인슐린에 대한 저항성의 증가로 인해 발병되는 당뇨병의 경우, 오래 지속되어 여러 합병증을 유발되며, 그 종류로는 신증, 신경변증, 망막증의 미세혈관 합병증과 대혈관 합병증인 동맥경화, 고혈압, 심근경색 등이 있다²⁾. 역학조사에 의하며 심혈관 질환은 당뇨병 환자의 주요 사망원인이며 그 발생 위험율도 정상인 보다 약 4배 이상 높은 것으로 보고되었다³⁾.

당뇨환자의 혈액과 조직에서 지질과산화물이 증가되고 superoxide dismutase(SOD) 활성도가 감소하며, 생체의 다양한 항산화물질(glutathione, 비타민 C, 비타민 E)이 당뇨증세를 완화시켰다는 보고를⁴⁾ 고려할 때 당뇨병합병증과 산화적 스트레스 사이에는 상호 연관성이 있는 것으로 생각되어지고 있다. 또한, 인슐린을 생성, 분비하는 β -cell을 파괴시키는 인자로 free radicals (H_2O_2 , O_2^- , HO^-) 및 nitric oxide등이 보고되고 있다⁵⁾. 최근 체장 부분절제술을 이용하여 만성 고혈당을 유도한 실험에서 항산화효소(heme oxygenase-1, glutathione peroxidase(GPx))와 antiapoptotic gene (A20)의 mRNA 발현 증가가 체장의 β -cell의 생존에 관여한다는 보고가 있으나⁶⁾, 직접적인 항산화효소 활성도에 대한 연구는 미비한 상태이다.

당뇨에 대한 식품영양학적 연구는 주로 단백질, 지방 및 탄수화물 등의 거대영양소에만 초점이 맞추어져 왔으나, 최근에 들어 비타민 C, 피리독신(B_6), 티아민(B_1) 크로미늄 및 셀레늄 등의 미량영양소가 당뇨 관리에 중요한 것으로 보고되고 있으며⁴⁾ 이러한 연구의 일환으로 리보플라빈이나 니코틴아마이드 같은 미량영양소와 당뇨와의 관계를 규명하는 연구도 진행되었다^{7,8)}. 이런 연구와 더불어 최근에는 phytochemical이 포함된 식물성식품을 이용하여 질병을 예방하고 치료하고자 하는 「식품기능성규명」에 대한 연구가 활발히 시도되고 있는 실정이다.

사철푸른 떨기나무에 속하는 인동초(*L. japonica Thunb* 일명: 금은화)는 면역 부활작용, 소염작용, 진통작용, 이뇨작용, 및 항 바이러스작용 등의 다양한 약리작용이 있는 것으로 전해지고 있으나⁹⁾ 대부분이 과학적으로 검증되지 않은 실정이다. 인동초는 플라보노이드, 탄닌, 알칼로이드, 루테올린, 이노시톨, 사포닌, 로니세린 및 루테올린 성분이 함유되어 있어 폐경, 비경, 해열, 해독 효과가 있으며 이중 루테올린은 평활근에 작용하여 진경작용, 이뇨작용을 보이는 것으로 알려져

있다¹⁰⁾.

이와 같이 다양한 약리작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있어 인동초(*L. japonica Thunb*)는 유용한 식품 기능성 재료로서 개발이 기대되나, 항균작용에 대한 연구를 제외하고는 식품으로서의 기초자료가 적고 생리활성에 대한 연구가 미비한 상태이다. 그러므로 본 연구에서는 인동초를 당뇨쥐에 섭취시켜 지질과 혈당에 미치는 효과를 조사하고, 더 나아가 당뇨병증의 발생기전으로 생각되는 항 산화효소계 활성을 측정하여 기능성 식품으로서의 생리활성을 규명하고자 한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

생후 3주령의 Sprague-Dawley종 수컷 35마리를 삼육

<Table 1> Composition of diet (g/100g diet)

Component	Control diet	Experimental diet
Corn starch	54.7	54.7
Casein	20.0	20.0
α -Cellulose	5.0	5.0
Mineral mixture ¹	4.0	4.0
Vitamin mixture ²	1.0	1.0
DL-methioine	0.3	0.3
Corn oil	15.0	15.0
Indongcho powder	-	5.0

¹ AIN 76 Mineral mixture. Nutritional Biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland, Ohio Composition of mineral mixture, g/kg mixture ; Calcium phosphate didasic 500.00g, Sodium chloride 74.00g, Potassium citrate monohydrate 220.00g, Potassium sulfate 52.00g, Magnesium oxide 24.00g, Manganous carbonate(43-48% Mn) 3.50g, Ferric citrate(16-17% Fe) 6.00g, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.06g, Cupric carbonate(53-55% Cu) 0.30g, Potassium iodate 0.01g, Sodium selenite 0.01g, Chromium sulfate 0.55g, Sucrose, finely powdered 118.0g.

² Nutritional Biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland, Ohio Vitamin mixture is composed of, Vit. A acetate(500,000 IU/g) 1.8g, Vit.D conc.(850,000 IU/g) 0.125g, α -Tocopherol (250 IU/g) 22.0g, Ascorbic acid 45.0g, Inositol 5.9g, Choline chloride 75.0g, Menadione 2.25g, P-Aminobenzoic acid 5.0g, Niacin 4.25g, Riboflavin 1.0g, Pyridoxine hydrochloride 1.0g, Calcium pantothenic acid 3.0g, Biotin 0.02g, Folic acid 0.09g, Vit.B₁₂ 0.00135g, and Dextrose to 1kg

실험동물센터에서 구입하여 고형사료를 먹이면서 사육 환경에 적응시킨 후, 4개의 실험군으로 나누어 실험을 실시하였다. 모든 영양소를 고루 함유한 실험식이 대조식으로, 인동초 분말가루(5%, w/w)를 첨가하여 인동초식으로 사용하였다(Table 1). 2개의 식이군을 각각 정상군과 당뇨를 유도한 당뇨군으로 분리하였으며 당뇨군의 분리는 각 군당 평균 혈당이 비슷하도록 하였다. 식이는 자유롭게 먹이고 매일 신선한 것으로 공급하였으며 물은 자유롭게 섭취시켰다. 동물 사육실은 온도, 습도, 채광을 일정하게 유지하여 5주간 사육하였다.

2. 실험 방법

1) 당뇨유도

실험동물을 16시간 절식시킨후 당뇨군은 streptozotocin (Sigma Chemical Co., USA)이 60mg/kg(B.W., ip.)이 되도록 0.01M citric acid buffer(pH4.5)에 용해하여 1회 복강 주사하여 당뇨를 유도하였다. 대조군은 동량의 citric acid buffer 용액을 주사하였다. 당뇨유발 여부의 확인은 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈당계로 혈당을 측정하여 비공복 혈당이 250mg/dl이상인 동물을 당뇨가 유발된 것으로 판정하였다.

2) 체중, 식이 섭취량 및 수분 섭취량

매주 같은 시간(오전 10:00)에 체중을 측정하고 매일 식이 섭취량과 수분 섭취량을 급여량과 잔여량의 차이로 측정하였다

3) 시료 수집 및 전 처리

당뇨 유발 5주 후 실험동물을 18시간 절식시킨 후 단두하여 희생시키고 경동맥에서 혈액을 모아 3000rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 분석 전까지 -70°C 냉동고에 보관하였다. 간과 신장조직을 ice cold homogenizing media (154mM KCl, 50mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, pH 7.4)에 넣고 4°C에서 glass teflon homogenizer로 균질화 한 다음 4°C, 12,000×g에서 20분간 고속원심분리기로 원심분리 한 후 상층 액을 취해 다시 4°C 105,000×g에서 초고속 원심분리기로 60분간 원심 분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획으로 각각 분리하여 사용하였다.

4) 혈청 지질

혈청 총 콜레스테롤, 총지질, 중성지방은 Bucolo 방법에 준한 효소 kit, HDL-콜레스테롤은 효소법에 의한 kit(아산제약)로 각각 측정하고 이들 측정치로부터

LDL-콜레스테롤치를 구하였다.

5) 혈당

실험 시작 일주 후부터 꼬리 정맥에서 채혈한 후 혈당은 Glucose oxidase법을 이용한 혈당계(Medisense 2)로 매주 측정하였고 총 콜레스테롤은 격주로 효소법²³⁾을 이용한 kit로(아산제약) 측정하였다.

6) 생화학 분석

(1) 간과 신장의 microsome분획 분석

Baginski등의 방법으로 glucose 6-phosphatase의 활성도를 측정하였고¹¹⁾, Buege와 Aust(1978)의 방법에 따라 지질과산화물함량을 각각 측정하였다¹²⁾.

(2) 간과 신장의 cytosol분획 분석

Habig등(1974)의 방법으로 glutathione S-transferase (GST)의 활성도를¹³⁾, Tappel (1978)의 방법으로 glutathione peroxidase(GPx) 활성도를 측정하였으며¹⁴⁾, glutathione reductase(GR) 활성도는 Carlberg과 Mannervick(1985)의 방법을 이용하여 각각 측정하였다¹⁵⁾.

(3) 단백질 함량 측정

Lowry등(1951)의 방법으로 bovine serum albumin을 표준용액으로 사용하여 측정하였다¹⁶⁾.

3. 통계처리

실험 결과는 SPSS 통계 package를 이용하여 평균치와 표준오차를 구하였다. 각 실험군간 즉, 대조군(NC), 대조당뇨군(DI), 인동초대조군(NI) 및 인동초당뇨군(DI)간의 유의성은 one-way ANOVA test 후, Duncan's multiple range test에 의해서 P<0.05 수준에서 검증하였다.

III. 실험결과 및 고찰

1. 체중 및 식이섭취량, 수분섭취량

체중, 평균식이섭취량 및 수분섭취량의 변화는 <Table 2>와 같다. 당뇨유발 1주후부터 정상군에 비해 당뇨군의 체중이 유의적으로 감소되었으나, 실험 종료시 인동초당뇨군(DI)의 체중의 감소가 완화되었다. 실험군의 평균 식이섭취량과 주별 식이섭취량변화의 경우, 당뇨에 의해서 증가하지 않았으나(Table 2), 식이효율(FER: feed efficiency ratio)은 당뇨에 의해 유의적으로 감소하였다(Table 3). 평균 수분섭취량과 주당 수분

<Table 2> Effects of dietary Indongcho powder on body weight, food intake and water intake in experimental rats.

Groups		No.of animal	Final body weight(g)	Body Weight gain (g/5weeks)	Food intake (g/day)	Water intake (ml/day)	FER ³⁾
Normal	NC	8	375.69 ± 6.80 ^a	78.97 ± 13.45 ^a	17.79 ± 0.59	20.94 ± 1.04 ^b	4.33 ± 0.55 ^a
	NI	9	385.28 ± 18.59 ^a	70.03 ± 19.44 ^a	20.17 ± 0.71	25.33 ± 2.72 ^b	3.52 ± 0.96 ^a
Diabetes	DN	8	218.38 ± 9.95 ^c	-31.06 ± 8.66 ^b	21.82 ± 2.71	114.52 ± 6.87 ^a	-1.77 ± 0.47 ^b
	DI	10	220.65 ± 7.40 ^{bc}	-39.76 ± 6.68 ^b	22.05 ± 1.23	111.16 ± 8.76 ^a	-1.88 ± 0.30 ^b

1) Values are Mean ± S.E.

2) Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

3) FER: Feed efficiency ratio.

4) NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

<Table 3> Effect of Indongcho powder supplementation on food intake in the normal and diabetic rats.

Groups		1 st week	2 nd week	3 rd week	4 th week	5 th week
Normal	NC ³⁾	22.18 ± 0.54 ¹⁾	19.16 ± 0.89 ^{b2)}	16.49 ± 0.80	15.83 ± 0.66 ^b	15.26 ± 0.82
	NI	17.87 ± 2.10	20.16 ± 0.78 ^{ab}	19.87 ± 1.20	20.98 ± 1.35 ^{ab}	18.20 ± 1.37
Diabetes	DC	20.42 ± 1.07	22.34 ± 1.84 ^{ab}	20.49 ± 3.22	21.56 ± 2.66 ^{ab}	24.29 ± 5.70
	DI	20.53 ± 1.54	23.46 ± 1.19 ^a	22.56 ± 1.87	27.24 ± 2.66 ^a	27.25 ± 4.97

1) Values are Mean ± S.E.

2) Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

3) NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

<Table 4> Effect of Indongcho powder supplementation on water intake in the normal and diabetic rats.

Groups		1 st week	2 nd week	3 rd week	4 th week	5 th week
Normal	NC ³⁾	22.98 ± 3.32 ^{1)b2)}	21.61 ± 1.44 ^c	18.23 ± 1.35 ^b	22.87 ± 1.38 ^b	19.00 ± 1.59 ^b
	NI	26.12 ± 5.37 ^b	25.10 ± 2.13 ^c	26.07 ± 5.40 ^b	26.23 ± 2.82 ^b	23.13 ± 3.53 ^b
Diabetes	DC	111.91 ± 6.62 ^a	134.12 ± 5.53 ^a	106.38 ± 12.59 ^a	123.97 ± 11.65 ^a	96.23 ± 11.61 ^a
	DI	103.67 ± 11.16 ^a	114.75 ± 7.25 ^b	100.55 ± 10.25 ^a	126.34 ± 11.63 ^a	110.50 ± 15.45 ^a

1) Values are Mean ± S.E.

2) Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

3) NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

섭취량은 당뇨군에서 증가하였으나, 정상군과 당뇨군 (Table 4).
에서 인동초 섭취에 의한 변화는 관찰 할 수 없었다

2. 콜레스테롤 및 혈당의 변화

실험기간동안 정상군과 당뇨병군의 콜레스테롤변화는 (Table 5)와 같다. 실험 1주 째 인동초 섭취는 모든 실험군의 콜레스테롤농도를 감소시키는 경향을 보였으나, 실험 5주째 인동초당뇨군(DI)에서 콜레스테롤농도가 높은 경향을 보였다. 실험전기간동안, 주당 혈당변화는 당뇨병군에서 유의적으로 높았고, 인동초 섭취에 의한 혈당감소 효과는 관찰 할 수 없었다(Table 6).

3. 지질대사에 미치는 영향

혈청 총 지질과 중성지질은 당뇨병군이 정상군에 비해 유의적으로 높았고, 당뇨병군에서 인동초섭취에 의한 유의적인 변화는 없었다. HDL-콜레스테롤농도는 당뇨병군이 식이에 관계없이 정상군에 비해 높았으며, 정상군에서는 인동초 섭취에 의해 감소하였고 당뇨병군에서는 인동초 섭취에 의해 증가하는 경향을 보였다(Table

7). 일반적으로, 인슐린 비의존성 당뇨병(noninsulin-dependent diabetes mellitus: NIDDM)에서는 지질대사의 비정상적으로 중성지방의 증가 및 HDL-콜레스테롤이 감소된다는 보고 등이 있다^{17,18}. 그러나 이와는 상반되게 최근 민들레추출물을 이용한 당뇨병동물실험에서 당뇨병군의 HDL-콜레스테롤농도가 증가했다는 보고가¹⁹ 본 실험과 일치하였다. 본 연구에서 당뇨병군의 다른 혈청지질이 정상군에 비해 높다는 것을 고려한다면, HDL-콜레스테롤 농도상승만으로 지질대사에 미치는 영향을 간단히 설명하기에는 부족하다고 사료된다. 따라서 혈청지질농도가 당뇨합병증의 일종인 심혈관계 질환에 미치는 관련성을 조사하기 위하여 HDL-콜레스테롤/총콜레스테롤 비율(HTR), LDL-콜레스테롤/HDL-콜레스테롤 비율(LHR) 및 동맥경화지수(AI: Atherogenic index)를 구하였다. 그 결과, 당뇨병군에서 인동초의 섭취에 의해 HTR은 증가하는 경향을, AI는 감소하는 경향을 보였으며, LHR은 유의적으로 감소하였다(Table 7). 일반적으로 LHR의 수치가 낮을수록

<Table 5> Effect of Indongcho powder supplementation on serum cholesterol concentration in the normal and diabetic rats.

Groups		1 st week	3 rd week	5 th week
Normal	NC ³⁾	170.59 ± 15.55 ^{1)ab2)}	95.35 ± 19.59 ^b	96.62 ± 7.23 ^b
	NI	108.88 ± 11.20 ^b	117.51 ± 12.60 ^{ab}	97.64 ± 8.63 ^b
Diabetes	DC	231.46 ± 48.08 ^a	164.37 ± 22.06 ^a	127.52 ± 11.24 ^{ab}
	DI	163.24 ± 11.99 ^{ab}	152.53 ± 14.08 ^a	155.38 ± 23.22 ^a

1) Values are Mean ± S.E.

2) Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

3) NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

<Table 6> The effect of Indongcho powder supplementation on non fasting blood sugar levels in the normal and diabetic rats.

Groups		2 nd week	3 rd week	4 th week	5 th week
Normal	NC ³⁾	102.88 ± 8.71 ^{1)ab2)}	79.13 ± 2.21 ^b	90.38 ± 4.07 ^b	99.75 ± 5.48 ^b
	NI	92.67 ± 6.66 ^b	85.33 ± 4.16 ^b	85.22 ± 4.16 ^b	98.11 ± 5.39 ^b
Diabetes	DC	294.50 ± 24.68 ^a	259.38 ± 30.81 ^a	325.50 ± 37.00 ^a	346.38 ± 23.56 ^a
	DI	294.0 ± 27.49 ^a	304.22 ± 7.33 ^a	324.00 ± 7.33 ^a	355.10 ± 24.96 ^a

1) Values are Mean ± S.E.

2) Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

3) NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

<Table 7> Levels of serum triglyceride, total lipid, total cholesterol, HDL-cholesterol, HTR, LHR and atherogenic index in experimental rats.

Groups		Total lipid (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	HTR ³⁾	LHR ⁴⁾	AI ⁵⁾
normal	NC ⁶⁾	174.64 ± 16.90 ^{1) b2)}	81.97 ± 8.74 ^b	96.62 ± 7.29	54.57 ± 5.18 ^{ab}	0.56 ± 0.03	2.49 ± 0.10 ^a	0.80 ± 0.08
	NI	219.66 ± 21.85 ^b	126.93 ± 18.66 ^b	96.28 ± 10.80	47.64 ± 5.43 ^c	0.49 ± 0.02	2.45 ± 0.14 ^a	1.03 ± 0.10
diabetes	DC	409.62 ± 78.84 ^a	225.24 ± 28.31 ^{ab}	131.21 ± 12.39	60.03 ± 2.79 ^{ab}	0.47 ± 0.03	2.43 ± 0.13 ^a	1.17 ± 0.13
	DI	523.76 ± 73.84 ^a	364.69 ± 86.58 ^a	130.93 ± 15.72	79.95 ± 15.08 ^a	0.60 ± 0.07	1.89 ± 0.22 ^b	0.86 ± 0.26

1) Values are Mean ± SE

2) Values within the same row with different alphabets are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

3) HTR: HDL-cholesterol/Total cholesterol ratio.

4) LHR: LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio.

5) AI: Atherogenic index: (Total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

6) NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

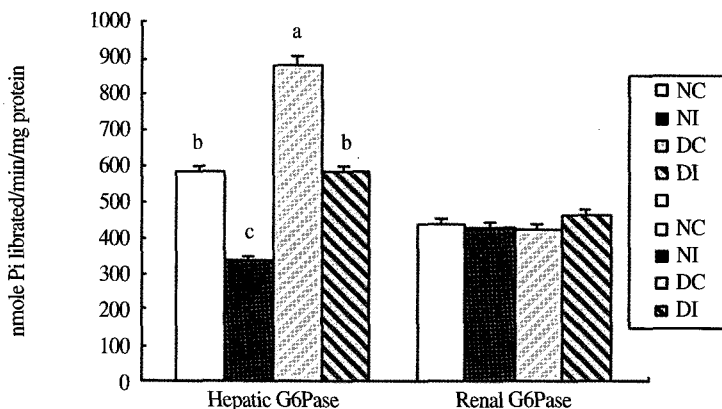
심혈관질환의 발생율이 감소하는 것으로 알려져 있는 것으로 보아 인동초의 섭취는 당뇨쥐의 지질대사에 긍정적인 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

4. 항산화 효소계에 미치는 영향

1) Glucose 6-phosphatase(G6Pase)활성도

모든 실험군에서 인동초섭취는 간 G6Pase 활성을 저하시켰으며(p<0.05) 신장G6Pase 활성은 유의적인 차

이가 없었다(Fig. 1). 당뇨동물에서 고혈당 현상과 함께 혈장의 protein kinase 활성도와 insulin농도는 감소하였으나, G6Pase 활성도는 증가하였다고 보고되었다²⁰⁾. 당뇨동물에서 간의 G6Pase 발현이 증가한다는 많은 보고²¹⁾ 이와 관련하여 G6Pase 발현유도는 포도당내성 손상과 고 인슐린혈증의 원인이 되며²²⁾ G6Pase의 mRNA증가는 혈당증가와 높은 상관(p<0.001)을 나타낸다는 보고²³⁾ 등을 고려한다면, 당뇨상태에서는 G6Pase활성증가 억제가 요구되는 것으로 사료된다. 본



<Fig. 1> Effect of Indongcho powder supplementation on glucose 6-Phosphatase(G6Pase) activity in the normal and diabetic rats.

Values are Mean ± S.E.

Values within the same row with different alphabets are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

실험에서는 인동초섭취가 G6Pase활성억제효과를 나타냄으로서 인동초의 항당뇨 작용의 가능성을 암시할 수 있다. 그러나 본 연구에서 연구기간동안 당뇨쥐에 대한 인동초의 혈당 강하 효과를 관찰 할 수 없었던 바, 인동초 섭취 기간, 섭취량과 관련하여 더 많은 연구가 이루어져야 한다고 사료된다.

2) 지질과산화물(Malondialdehyde: MDA)함량

지질과산화물 (Malondialdehyde: MDA)의 경우 인동초 섭취나, 당뇨발생에 의해 간과 신장의 MDA함량의 증가는 나타내지 않았다(Fig. 2). 일반적으로 당뇨 발생 시 산화적 스트레스의 증가로 인하여 조직내의 지질과산화물이 증가하며, 신장²⁴⁾ 및 간의 조직에서 MDA함량 각각 증가했다는 보고 등이²⁵⁾ 있다. 또, 당뇨유도 연령이 어릴수록 MDA함량의 증가폭이 크다고 보고²⁶⁾ 되고있다. 그러나, 본 실험에서는 당뇨에 의한 지질과산화물의 증가는 유의적 차이는 보이지 않았다. 또한 유의적인 차이는 없으나 정상군에서 인동초의 섭취는 MDA함량을 감소시키는 경향을 당뇨군에서는 오히려 증가시키는 경향을 보여 이에 대한 연구가 더 이루어져야 할 것으로 사료된다.

3) Glutathione S-transferase(GST)활성도

간의 GST활성은 인동초의 섭취에 의해 모든 실험군에서 유의적으로 감소하였으나, 신장의 경우 당뇨유도에 의해서 GST활성이 증가하였으나, 인동초섭취에

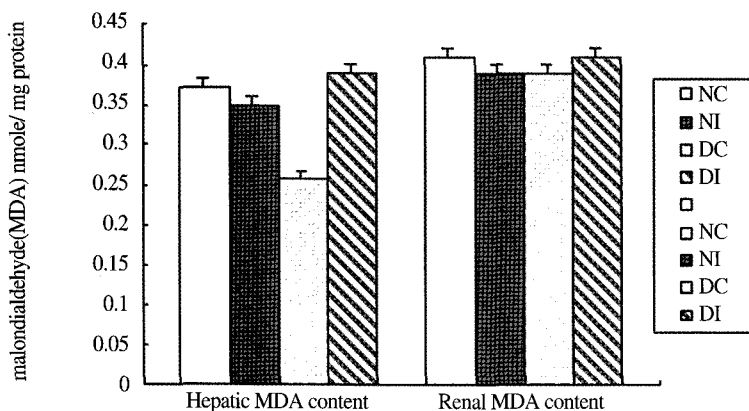
의해 정상의 수준으로 회복하였다(Fig. 3).

제 2단계 해독효소인 cytosolic GST는 STZ의해 유도되며²⁷⁾ 그 외 chlorozotocin과 diethylnitrosome과 같은 nitroso-compound로 유도된다. 생쥐를 이용한 STZ유도 당뇨실험에서 간의 GST활성도가 증가되었다는 보고가²⁸⁾ 있다. 본 실험의 경우 당뇨대조군인 대조당뇨군(DC)에서 GST활성이 증가하였다. 그러나 당뇨에 의해 증가된 GST활성도는 인동초섭취에 의해 저하됨으로써 인동초의 섭취가 당뇨시 혈당에 대한 산화적 반응에 대한 방어기전을 제공할 수 있음을 시사한다.

4) Glutathione Peroxidase(GPx)활성도

간의 GPx활성은 유의적인 차이가 없었으나, 신장의 경우 당뇨에 의해 GPx의 활성이 유의적으로 증가하였고, 인동초 섭취에 의한 GPx 활성의 감소는 관찰 할 수 없었다(Fig. 4).

당뇨상태에서 GPx활성도의 경우, 당뇨발생초기(72시간)에는 GPx는 변화가 없이 superoxide dismutase(SOD)가 증가하였고, 만성 당뇨시에는 SOD의 변화 없이 GPx활성이 감소하였다는 보고²⁹⁾, 나이가 증가할수록 활성이 감소한다는 보고와²⁶⁾ 유의적 차이 없었다는 보고 및 alloxan유도 당뇨쥐에서 GPx활성도의 감소는 혈당증가와 높은 상관관계를 보인다는 보고 등³⁰⁾ 일치된 견해가 없는 실정이다. 본 연구에서 당뇨대조군(DC)에서 GPx의 활성이 증가하였는데, 이는 손상된 신장조직을 보상하고자 GPx활성 증가한다는 보고와



<Fig. 2> Effect of Indongcho powder supplementation on malondialdehyde (MDA) content in the normal and diabetic rats.

Values are Mean ± S.E.

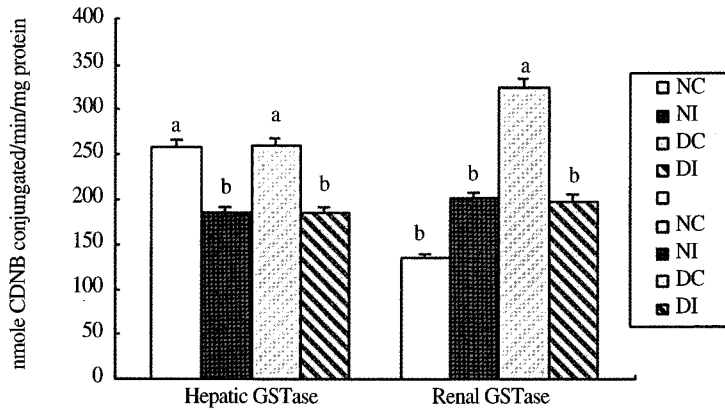
Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.



<Fig. 3> Effect of Indongcho powder supplementation on glutathione S-transferase(GST) activity in the normal and diabetic rats.

Values are Mean ± S.E.

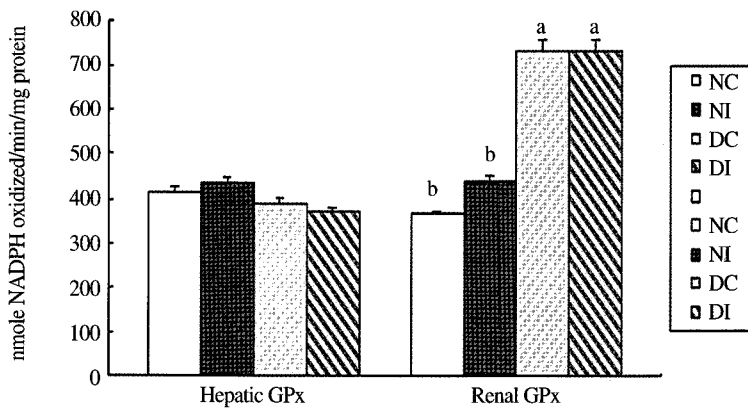
Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.



<Fig. 4> Effect of Indongcho powder supplementation on glutathione peroxidase(GPx) activity in the normal and diabetic rats.

Values are Mean ± S.E.

Values within the same row with different alphabets are significantly(p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test(a>b>c).

NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

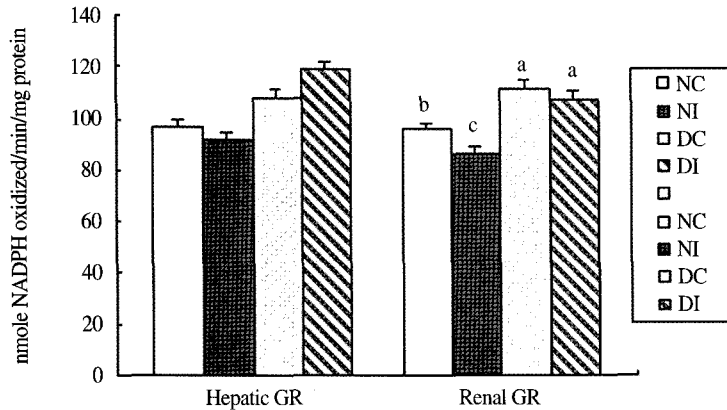
DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

ISDBB(insulin-dependent spontaneously diabetic BB Wistar rats)에서 신장의 GPx활성도가 증가했다는 보고와³¹⁾ 일치하였다. 그러나 당뇨 의해 증가된 GPx활성도는 인동초 섭취에 의해 저하되지 않았다.

5) Glutathione Reductase(GR)활성도

간의 GR의 활성도는 유의적인 차이가 없었으나 신

장의 경우 정상군에서 인동초의 섭취에 의해 GR활성이 유의적으로 감소한 반면, 당뇨군인 대조당뇨군(DC)과 인동초당뇨군(DI)에서 모두 증가하였다. 이는 당뇨 쥐인 ISDBB에서 췌장의 SOD와 심장의 CAT활성의 증가와 함께 GR의 활성도 증가했다는 보고와³¹⁾ 일치한 결과이다.



<Fig. 5> The effect of Indongcho powder supplementation on glutathione reductase (GR) activity in the normal and diabetic rats.

Values are Mean ± S.E.

Values within the same row with different alphabets are significantly ($p < 0.05$) among the group by Duncan's multiple range test ($a > b > c$).

NC: Normal rats fed control diet.

NI: Normal rats fed Indongcho powder diet.

DC: Diabetic rats fed control diet.

DI: Diabetic rats fed Indongcho powder diet.

IV. 요약 및 결론

사철푸른 떨기나무에 속하는 식용 식물인 인동초(*L. japonica* Thunb 일명: 금은화)가 당뇨백서의 당질과 지질대사 및 항산화효소계에 미치는 영향을 규명하기 위하여 S.D.계 백서에 5% 인동초 분말을 급여하여 5주간 실험 사육한 후 혈청의 포도당 및 지질농도와 주요장기의 항산화효소의 활성도를 관찰하였다.

- 1) 인동초 당뇨군(DI)에서 인동초섭취는 당뇨에 의한 체중감소현상을 완화시키는 경향을 보였다.
- 2) 당뇨군의 혈당 농도는 실험 전기간동안 고혈당을 나타내었고, 인동초에 의한 혈당강화효과는 보이지 않았다.
- 3) 혈청지질의 농도는 당뇨군에서 높았으나, LHR (LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio)가 인동초 섭취에 의해 유의적으로 낮아($p < 0.05$), 심혈관계와 관련된 당뇨합병증의 억제 가능성을 제시하였다.
- 4) 일반적으로 당뇨시 증가하는 간의 G6Pase활성도는 정상군과 당뇨군에서 인동초의 섭취에 의해 각각 감소하였다.
- 5) 대조당뇨군(DC)에서 증가된 신장의 GST활성도는 인동초 섭취에 의해 정상으로 회복되었다.
- 6) 신장의 GPx활성도의 경우, 당뇨유발에 의해 유의적으로 증가하였으나, 인동초 섭취에 의한 변화는 없었다.
- 7) 정상군에서 신장의 GR활성도는 인동초의 섭취에 의해 감소하였다.

따라서 5주간의 인동초의 섭취로 당뇨쥐의 고혈당이 강해지는 것은 관찰하지 못하였으나, 당뇨에 의한

산화적 스트레스로 인해 증가한 항산화 효소 활성도가 인동초 섭취로 인해 정상 수준으로 저하됨으로써 인동초의 섭취가 당뇨시 산화적 반응에 대한 방어기전을 제공할 수 있음을 유추할 수 있었다. 또한 LHR 저하로 심혈관계와 관련되는 당뇨합병증의 억제 가능성을 제시하였다.

감사의 글

This study was supported by Foundation from Food Industrial Technology Research Center, Mokpo National University.

■ 참고문헌

- 1) 백희영, 김교정, 김영옥, 김정순, 문현경, 오세영, 이순영, 이심열, 정효지, Dwyer J., 한국인의 건강영양 조사의 필요성, in: 한국인의 건강영양조사, 서울대학교 출판부, 1997
- 2) Stevens MJ, Feldman EL, Greene DA. The etiology of diabetic neuropathy: The combined roles of metabolic and vascular defects. *Diabetic Med* 12: 1566-579, 1995
- 3) Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595-1607, 1988
- 4) Vitamins, 1997년 겨울호, 한국비타민 정보센터, 1997
- 5) Adeghate E, Parvez SH. Nitric oxide and neuronal and pancreatic beta cell death. *Toxicology* 16; 153(1-3): 143-

- 56, 2000
- 6) Laybutt DR, Kaneto H, Hasenkamp W, Grey S, Jonas JC, Sgroi DC, Groff A, Ferran C, Bonner-Weir S, Sharma A, Weir GC. Increased Expression of Antioxidant and Antiapoptotic Genes in Islets That May Contribute to [beta]-Cell Survival During Chronic Hyperglycemia. *Diabetes* Feb; 51(2): 413-423, 2002
 - 7) Reddi AS. Riboflavin nutritional status and flavoprotein enzymes in streptozotocin-diabetic rats. *Biochim Biophys Acta* 3; 882(1): 71-6, 1986
 - 8) Melo SS, Arantes MR, Meirelles MS, Jordao AA Jr, Vannucchi H., Lipid peroxidation in nicotinamide-deficient and nicotinamide-supplemented rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol Mar*; 37(1): 33-9, 2000
 - 9) 정진섭, 김재가: 원색천연약물대사전 상권 p112남산당(1984)
 - 10) 한국생약학교수협의회 본초학(1995), 207-209 사단법인 대학약사회, 서울
 - 11) Baginski E.S., Foa P.P. and Zak B., Glucose 6-phosphatase In *Methods of Enzymemetic Analysis* Vol. 2. Academic Press, New York, pp876-880, 1983
 - 12) Buege J.A. and Aust S.D."In Sidney F. and Lester P.(eds.), *Methods in Enzymology* Vol. 52, Academic Press, New York, pp302-310, 1978
 - 13) Habig W.H., Pabst M.J. and Jakoby W.B., Glutathione S-transferase, *J.Biol. Chem.* 249: 7130-7139, 1974
 - 14) Tappel AL Glutathione peroxidase and hydroperoxides, In *Methods in enzymology*(Fleisher S & Packer L ed) 52: 506-513, 1978
 - 15) Carlberg I. and Mannervick B., Glutathione reductase, In *Methods in enzymology*(Fleisher S & Packer L ed) 113: 484-499, 1985
 - 16) Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.T., Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951
 - 17) Goldbergy RB, Lipid disorders in diabetes, *Diabetes Care* 4: 561-572, 1981
 - 18) West KM, Ahuja MMS, Bennett PH, et al. The role of circulating glucose and triglyceride concentration and their interaction with other "risk factor" as determinants of arterial disease in nine diabetic population samples from WHO multinational study. *Diabetes Care* 6: 361-369, 1983
 - 19) Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, Jang MK, Kim MJ, Park YB. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of Dandelion water extract. *Clin Chim Acta* 317(1-2): 109-117, 2002
 - 20) Ghosh R, Mukherjee B, Chatterjee M. A novel effect of selenium on streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes Res* 25(4): 165-71, 1994
 - 21) Argaud, D., Zhang, Q., Pan, W., Maitra, S., Pilkis, S. J., and Lange, A. J. *Diabetes* 45, 1563-1571, 1996
 - 22) Trinh, K. Y., O' Doherty, R. M., Anderson, P., Lange, A. J., and Newgard, C. B. Perturbation of Fuel Homeostasis Caused by Overexpression of the Glucose-6-phosphatase Catalytic Subunit in Liver of Normal Rats]. *Biol. Chem.* 273, 31615-31620, 1998
 - 23) Liu Z, Barrett EJ, Dalkin AC, Zwart AD, Chou JY Effect of acute diabetes on the rat hepatic glucose-6-phosphatase activity and its messenger RNA level. *Biochem Biophys Res Commun* 30; 205(1) 680-686, 1994
 - 24) Kedziora-Kornatowska K, Luciak M. Effect of aminoguanidine on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the diabetic kidney *iochem Mol Biol Int Oct*; 46(3): 577-83, 1998
 - 25) Celik S, Baydas G, Yilmaz O. Influence of vitamin E on the levels of fatty acids and MDA in some tissues of diabetic rats. *Cell Biochem Funct.* 20(1): 67-71, 2002
 - 26) Kinalski M, Sledziewski A, Telejko B, Zarzycki W, Kinalska I.Lipid peroxidation and scavenging enzyme activity in streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol* 37(4): 179-8, 2000
 - 27) Rouer E, Mahu JL, Dansette P, Leroux JP. UDP-glucuronosyltransferase, epoxide hydrolase and glutathione S-transferase activities in the liver of diabetic mice. *Biochim Biophys Acta* 676(2): 274-7, 1981
 - 28) Agius C, Gidari AS. Effect of streptozotocin on the glutathione S-transferases of mouse liver cytosol. *Biochem Pharmacol* 15; 34(6): 811-9, 1985
 - 29) Ramanathan M, Jaiswal AK, Bhattacharya SK. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the brain of streptozotocin induced diabetic rats. *Indian J Exp Biol.* 37(2): 182-3, 1999
 - 30) Hermenegildo C, Raya A, Roma J, Romero FJ. Decreased glutathione peroxidase activity in sciatic nerve of alloxan-induced diabetic mice and its correlation with blood glucose levels. *Neurochem Res.* 18(8): 893-6, 1993
 - 31) Wobaieb SA, Godin DV. Alterations in tissue antioxidant systems in the spontaneously diabetic (BB Wistar) rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1987 Nov; 65(11): 2191-5, 1987