

YK-209 뽕잎이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐 간조직에서의 HMG-CoA Reductase 활성과 지질조성에 미치는 영향

홍정희 · 박모라* · 이순재†

대구가톨릭대학교 식품영양학과
*상주대학교 식품영양학과

Effects of YK-209 Mulberry Leaves on HMG-CoA Reductase and Lipid Composition of Liver in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Jung Hee Hong, Mo Ra Park* and Soon Jae Rhee†

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

*Dept. of Food Science and Nutrition, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of YK-209 mulberry leaves on HMG-CoA reductase activity and lipid composition of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned as a normal group and four STZ-induced diabetic groups according to the level of dietary mulberry leaves supplement. The experimental diets were fed *ad libitum*, so that diabetes was experimentally induced by intravenous injection of STZ 55 mg/kg of body weight after feeding for 3 weeks. Animals were sacrificed on the 9th day of diabetic states. The levels of serum triglyceride, total-cholesterol and LDL-cholesterol in DM group were higher than mulberry leaves supplemented groups and normal group, but those of the mulberry leaves supplemented groups were significantly decreased to normal level. In contrast, the levels of serum HDL-cholesterol in DM group was significantly reduced than that of normal group, but mulberry leaves supplemented groups were increased to normal level. Atherogenic index in DM group was higher about 3 fold than the normal group but the DM-0.1Y and DM-0.2Y groups were maintained the normal level. Contents of total lipid and triglyceride of liver in DM group were significantly lower than that of normal group, but the mulberry leaves supplemented groups increased than that of DM group. The contents of hepatic cholesterol in DM group was 160% higher than that of normal group, but the mulberry leaves supplementation groups maintained the normal level. The activity of hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A (HMG-CoA) reductase in DM group was 43% lower than that of normal group, but had no significant difference between DM-0.1Y, DM-0.2Y and normal groups. In conclusion, YK-209 mulberry leaves has improving effect of the lipid metabolism in STZ-induced diabetic rats through hepatic HMG-CoA reductase activity, and the change of lipids contents in serum and liver.

Key words: YK-209 mulberry leaves, diabetes mellitus, cholesterol, HMG-CoA reductase

서 론

당뇨병 환자에서는 약 20~70% 정도가 고지혈증을 수반하고(1), 이에 적절한 치료와 관리가 이루어지지 않으면 말초신경증, 심장질환 및 동맥경화증을 비롯한 혈관성 장애와 같은 합병증을 동반하는 심각한 질환이다. 당뇨병 환자들에게서 고지혈증 유병률이 높은 이유는 인슐린 분비와 기능 저하로 세포내 포도당 이용률이 현저히 감소하면서 세포내 에너지원으로 지방을 이용하기 위해서 유리지방산이 지방조직에서 과도하게 유리되어 간에서 중성지방의 생합성을 촉진하게 되어 very low density lipoprotein(VLDL)형태로 분비가 촉진되기 때문이다(2,3). 또 당뇨로 인한 high density lipoprotein(HDL)의

구조변화와 HDL의 apolipoprotein A-I 당화로 HDL의 콜레스테롤이 cholesterol ester transfer에 의해 VLDL, low density lipoprotein(LDL) 등으로 이동되기 때문이다(4). 따라서 당뇨병 환자에서는 합병증 유발을 예방하기 위하여 고혈당과 비정상적인 지질대사를 개선, 유지시켜줌으로서 어느 정도 합병증 병발위험을 낮출 수 있다. 그러므로 인체에 부작용이 없으면서 이러한 기능이 우수한 천연 유래 항당뇨 물질의 개발이 필요하다. 최근 잠상물질이 혈액내 포도당과 콜레스테롤을 감소시킨다는 보고들(5-7)이 제시되면서 고지혈증을 동반하고 있는 당뇨병 환자들에게서 잠상물질 이용에 대한 관심이 주목되고 있다(1).

뽕나무(*Morus alba L.*)의 잎은 중국의 전통생약으로 당뇨

†Corresponding author. E-mail: sjrhee@cataegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3523. Fax: 82-53-850-3504

병을 예방치료하며 갈증을 해소시키는 것으로 알려져 있다(8). 뽕잎에 존재하는 성분은 크게 휘발성 성분과 비휘발성 성분으로 나눌 수 있으며 휘발성 성분으로는 guaiacol, eugenol, methyl salicylate, benzaldehyde 및 phenylacetaldehyde(9) 등이며 비휘발성 성분은 플라보노이드가 주류를 이루어 그 함량이 매우 높고 종류 또한 다양하다. 뽕잎의 기능성 성분 중에는 특히 모세혈관 강화작용과 수축작용을 나타내고 순환계 질환 치료제, 고혈압 치료제 및 보조인자 등의 주성분인 rutin과 혈압강하 물질로서 작용하는 γ -aminobutyric acid(GABA) 성분이 풍부하다(10).

지금까지 뽕잎의 생리활성에 대한 연구로는 당뇨병에서 α -glucosidase 활성억제에 대한 혈당강하 효과나(11-13) 혈압강화(14), 혈액 유동성 향상, 중금속의 흡착과 해독효과, 암 발생 억제, 노화억제(14) 및 항산화 효과(14-17) 등의 여러 가지 효능이 밝혀지고 있다. 특히 뽕나무류에는 플라보노이드 계열의 화합물이 다량으로 함유되어 있어 생체내 지질과산화 억제, 혈중 중성지방과 콜레스테롤 수준, 동맥경화증 및 고지혈증 등의 성인병에 대한 예방 효과가 있을 것으로 기대된다(18-20). 이와같이 뽕잎의 혈당강하 효과나 고콜레스테롤 및 고지혈증에 대한 연구가 계속되고 있으나 당뇨병에서 지질대사의 구체적인 연구는 아직까지 미비하다.

그러므로 본 연구에서는 잠사곤충부에서 잎 이용을 목적으로 용천뽕(Y)과 개량뽕(K)을 교배하여 새로이 육종된 YK-209 뽕잎의 당뇨병에서의 지질대사 개선 효과를 입증하고자 흰쥐를 대상으로 YK-209 뽕잎을 첨가한 식이로 일정기간 사육한 후 당뇨를 유발시켜 혈액 및 간장에서 YK-209 뽕잎의 지질대사 개선능을 관찰하였다.

재료 및 방법

뽕잎 시료 제조

본 실험에 사용한 뽕잎은 YK-209 품종으로 영천 양잠농협 협동조합에서 재배한 것을 5월에 채취하여 흐르는 물에 3번 정도 수세한 후 열풍 건조기로 수분 함량이 5~7%까지 건조하여 200 mesh 정도로 분말화하여 이용하였다.

시료의 플라보노이드 성분 분석

뽕잎의 항산화성분인 flavonoid 함량 측정은 Yun과 Lee(21)의 방법을 약간 변형하여 다음과 같이 실시하였다. 200 mesh 이하로 마쇄한 후 뽕잎 시료 1 g을 80% 메탄올 100 mL로 상온에서 12시간동안 2회 반복 추출하여 syringe filter로 여과한 다음 이를 농축하여 80% 메탄올 10 mL로 용해한 후 2 mL를 취하여 CH₂Cl₂ 및 BuOH 로 각각 2회 분획하였다. 분획한 상층에 Na₂SO₄를 첨가한 후 농축하여 사용하였다. 이를 80% 메탄올 4mL로 용해한 후 syringe filter(0.45 μ M)로 여과하여 Sep-pak C₁₈ cartridges(1×3 cm, Waters, USA)에 통과시켜 HPLC로 측정하였다. HPLC 조건으로 column은 C₁₈ column(4.6 mm×250 mm), flow rate은 1.0 mL/min, detection

은 350 nM, 이동상으로는 2.5% AcOH:MeOH:CH₃CN(70:10:20, v/v/v)의 혼합용매를 사용하였다.

동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 100 g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료(삼양 Co.)로 일주일간 예비 사육한 후, 난괴법(randomized complete block design)에 의해 정상군과 당뇨군으로 나눈 후 당뇨군을 다시 Table 1과 같이 식이내에 조제한 뽕잎의 농도별로 나누어 각 군마다 10 마리씩 5군으로 나누어 4주간 사육하였다. 기본 실험 식이 조성은 Table 1과 같다. 실험기간중 식이는 4°C에서 보관하였고 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취하게 하였다. 이때 사육실의 온도는 22±1°C였고, 습도는 50±10%이었다. 당뇨

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Groups		Diabetic groups ⁹⁾			
	Normal	DM	DM-0.1Y	DM-0.2Y	DM-0.4Y	
Starch ¹⁾	698	698	697	696	694	
Casein ²⁾	150	150	150	150	150	
DL-methionine ³⁾	2	2	2	2	2	
Mineral mixture ⁴⁾	40	40	40	40	40	
Vitamin mixture ⁵⁾	10	10	10	10	10	
Corn oil ⁶⁾	50	50	50	50	50	
Cellulose ⁷⁾	50	50	50	50	50	
Mulberry leaves ⁸⁾	-	-	1	2	4	
Total (g)	1000	1000	1000	1000	1000	

¹⁾Pung Jin Chemical Co. (Seoul, Korea).
²⁾Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board (Wellington, N.Z.).
³⁾Sigma Chemical Co. (St. Louis, Missouri, USA).
⁴⁾Mineral Mix, AIN-76 (g/kg mixture): calcium phosphate, di-basic (CaHPO₄ · 2H₂O) 500, sodium chloride (NaCl) 74, potassium citrate, monohydrate (K₃C₆H₅O₇ · H₂O) 220, potassium sulfate (K₂SO₄) 52, magnesium oxide (MgO) 24, manganese carbonate (45~48% Mn) 3.5, ferric citrate (16~17% Fe) 6, zinc carbonate (70% ZnO) 1.6, cupric carbonate (53~55% Cu) 0.3, potassium iodate (KIO₃) 0.01, sodium selenite (Na₂SeO₃ · 5H₂O) 0.01, chromium potassium sulfate [CrK(SO₄)₂ · 12H₂O] 0.55, filled up to 1,000 with sucrose, Harlan TEKLAD Co.
⁵⁾Vitamin mixture (g/kg mixture): p-aminobenzoic acid 11.0132, ascorbic acid, coated (97.5%) 101.6604, biotin 0.0441, vitamin B₁₂ (0.1% trituration in mannitol) 2.9736, calcium pantothenate 6.6079, choline dihydrogen citrate 349.6916, folic acid 0.1982, inositol 11.0132, menadione 4.9559, niacin 9.9119, pyridoxine HCl 2.2026, riboflavin 2.2026, thiamin HCl 2.2026, dry vitamin A palmitate (500,000 U/g) 3.9648, dry vitamin D₃ (500,000 U/g) 0.4405, dry vitamin E acetate (500 U/g) 24.2291, corn starch, Harlan TEKLAD Co.
⁶⁾Dong Bang Oil Co. (Seoul, Korea).
⁷⁾Sigma Chemical Co. CMC (sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber), (St. Louis, Missouri, USA).
⁸⁾YK-209 mulberry leaves powder.
⁹⁾DM group: injection of streptozotocin+no supplementation YK-209 mulberry leaves.
 DM-0.1Y group: injection of streptozotocin+0.1% YK-209 mulberry leaves.
 DM-0.2Y group: injection of streptozotocin+0.2% YK-209 mulberry leaves.
 DM-0.4Y group: injection of streptozotocin+0.4% YK-209 mulberry leaves.

유발은 실험동물에 streptozotocin 55 mg/kg BW을 신선한 0.1 M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사하여 유발시켰으며 당뇨유발후 9일째에 혈당농도가 300 mg/dL 이상인 동물만 희생하여 본 실험에 사용하였다.

체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이효율

체중 증가량 및 식이 섭취량은 전 실험기간 동안 매일 일정 시간에 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 전 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

장기 채취

사육 종료 후 실험동물을 12시간 이상 절식시킨 후 실험동물을 가벼운 에테르 마취하에서 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하여 실온에서 30분간 방치한 후 1,500×g에서 20분간 원심 분리하여 분석시까지 -80°C에서 냉동 보관하였다. 간장은 적출하여 차가운 생리식염수로 씻어내어 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C에 보관하였다.

혈청의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤의 함량과 동맥경화지수 (atherogenic index, A.I.) 측정

혈청내 중성지방 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit(Asan Co., Korea)을 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 혈청 중성지방 농도를 계산하였다.

혈청내 총콜레스테롤 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit (Asan Co., Korea)을 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 혈청 콜레스테롤 농도를 계산하였다. HDL-콜레스테롤 측정을 위하여 2% dextran sulfate와 1 M MgCl₂ 침전액(1 : 1)을 가하여 그 상층액을 시료로 표준효소법에 의한 kit(Asan Co., Korea)을 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. LDL-콜레스테롤은 Friedwald식(22) {Total cholesterol - (HDL cholesterol + TG/5)}에 의하여 계산하고, atherogenic index는 {Total cholesterol - (HDL cholesterol)/ HDL cholesterol}식(23)으로 산출하였다.

간조직 중의 지질 조성 분석

간조직의 총지질은 Folch 등(24)의 방법에 의해 추출하여 정량하였고, 간조직 지질의 정량에서는 Sale 등(25)의 수정된 방법으로 중성지방과 콜레스테롤 측정용 효소시액에 유화제로서 0.5% triton X-100와 3mM sodium cholate를 혼합하여 발색시 일어나는 탁도(turbidity)를 제거하여 간조직의 triglyceride와 cholesterol 농도를 550 nm와 500 nm에서 각각 흡광도를 측정하였다.

간조직 microsomal HMG-CoA reductase 활성 측정

간조직을 Hulcher와 Oleson(26)의 방법을 수정 보완한 방법에 따라 HMG-CoA reductase 활성을 측정하였다. 즉 150 μmole HMG-CoA와 2 mM NADPH를 500 μg microsome protein과 잘 섞은 후 0.1 M triethanolamine, 0.02 M EDTA (pH 7.4) 완충용액으로 1 mL를 채우고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 그 다음 0.01 M sodium arsenite 20 μL를 넣고 상온에서 1분이상 반응시킨 후 100 μL의 2 M citrate (pH 3.5), 3% Na-tungstate 완충용액을 넣고 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응물을 25,000×g에서 10분간 4°C에서 원심분리한 다음 상층액 1 mL를 새로운 tube에 옮겼다. 여기에 200 μL의 2 M tris (pH 10.6)와 100 μL 2 M tris(pH 8.0)를 섞어 pH를 8.0으로 조절하고 50 μL의 0.4 M sodium, arsenite를 섞어 실온에서 3~4분간 반응시킨 후 분광광도계용 cubette에 옮겼다. 마지막으로 20 μL의 3 mM 5,5-dithiobis 2-nitrobenzoic acid(DTNB), 0.1 M triethanolamine, 0.2 M EDTA(pH 7.4) 완충용액을 넣고 잘 섞은 후 412 nm에서 4분간 흡광도를 측정하였다. 효소 활성도는 nmoles/min/mg(nmoles CoA-SH formed/min/mg microsomal protein)으로 환산하여 나타내었다. HMG-CoA reductase에 의해 HMG-CoA mevalonate와 반응하여 생성된 CoA-SH가 DTNB와 반응하여 para-nitrothiophenolate을 형성하고, 이 이온이 arsenite와 반응하여 노란 색깔을 띄게 된다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계 처리는 각 실험군별로 표준차이가 있는가를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며 분산분석 결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다. 각 지표간의 상관관계는 SAS program을 이용하여 correlation coefficient를 구하여 분석하였다.

결 과

뽕잎시료의 flavonoid 함량

본 연구에 사용된 시료인 YK-209 뽕잎의 flavonoid 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. YK-209 뽕잎의 건물중의 rutin 함량은 4.19 mg/g, iso-quercitrin 2.01 mg/g, kaempferol-3-O-rutinose 1.63 mg/g, astragalinal의 함량은 0.36 mg/g 이었으며 총 flavonoid 함량은 8.19 mg/g 이었다.

체중 증가, 식이 섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이효율은 Table 3과 같고 체중변화는 Fig. 1과 같다. 체중 증가량은 STZ를 투여하기 전까지는 정상군과 각 실험군간의 유의적

Table 2. Quantification of rutin, iso-quercitrin, kaempferol-3-O-rutinose, astragalinal and total flavonoid content in YK-209 of mulberry leaves by HPLC (mg/g dry weight)

Mulberry leaves	Rutin	Iso-quercitrin	Kaempferol-3-O-rutinose	Astragalinal	Total flavonoid
YK-209	4.19	2.01	1.63	0.36	8.19
Cheongil	1.80	1.14	2.63	0.31	5.88

Table 3. Effects of YK-209 mulberry leaves on body weight gains, food intake and food efficiency ratio (FER) in streptozotocin-induced diabetic rats

Groups ¹⁾	Body weight gains	Food intake	FER ⁴⁾
	(g)	(g/day)	
	During 3 weeks before STZ injection		
Normal	105 ± 14.9 ^{2)NS}	577 ± 19.6 ^{NS}	0.19 ± 0.00 ^{NS}
DM	112 ± 2.62	564 ± 9.18	0.20 ± 0.01
DM-0.1Y	101 ± 4.75	544 ± 16.6	0.19 ± 0.01
DM-0.2Y	107 ± 1.08	522 ± 8.44	0.21 ± 0.01
DM-0.4Y	104 ± 2.06	524 ± 6.42	0.20 ± 0.01
	During 9 days after STZ injection		
Normal	24.6 ± 13.0 ³⁾	114 ± 3.29 ^u	0.33 ± 0.24 ^a
DM	-67.2 ± 5.85 ^b	165 ± 15.34 ^b	-0.71 ± 0.13 ^b
DM-0.1Y	-60.2 ± 4.72 ^b	139 ± 10.33 ^b	-0.49 ± 0.14 ^b
DM-0.2Y	-62.1 ± 4.87 ^b	134 ± 9.30 ^b	-0.46 ± 0.09 ^b
DM-0.4Y	-62.2 ± 7.78 ^b	139 ± 10.6 ^b	-0.64 ± 0.07 ^b

¹⁾DM: injection of streptozotocin+YK-209 mulberry leaves free diet. DM-0.1Y: injection of streptozotocin+0.1% YK-209 mulberry leaves powder. DM-0.2Y: injection of streptozotocin+0.2% YK-209 mulberry leaves powder. DM-0.4Y: injection of streptozotocin+0.4% YK-209 mulberry leaves powder.

²⁾All values are mean ± SE (n=10).

³⁾Values within a column with different superscripts are significantly different each groups at p<0.05 by Tukey's test.

⁴⁾FER: Food efficiency ratio.

Intravenous injection of streptozotocin (55 mg/kg of body weight) in 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.3) via tail vein.

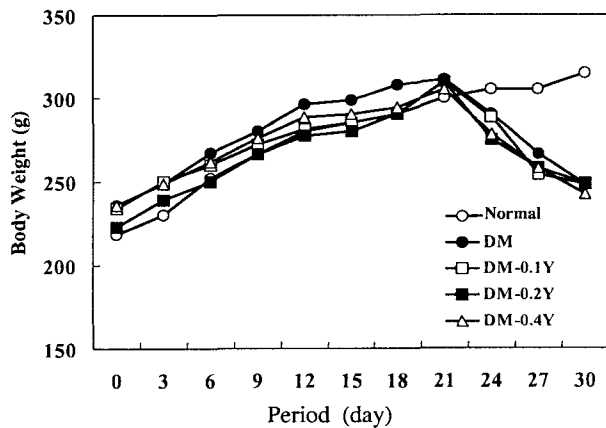


Fig. 1. Changes in body weight in rat fed different experimental diets for 3 weeks and 9 days after streptozotocin injection. Intravenous injection of streptozotocin (55 mg/kg of body weight) in 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.3) via tail vein.

DM: injection of streptozotocin+YK-209 mulberry leaves free diet. DM-0.1Y group: injection of streptozotocin+0.1% YK-209 mulberry leaves powder. DM-0.2Y group: injection of streptozotocin+0.2% YK-209 mulberry leaves powder. DM-0.4Y group: injection of streptozotocin+0.4% YK-209 mulberry leaves powder.

인 차이는 없었으나 STZ를 투여한 후에는 당뇨 유발군들은 현저하게 감소되었으며, 실험군간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 식이섭취량은 당뇨군에서 높았고 식이효율은 STZ 투여 전에는 정상군과 실험군들간에 차이가 없었으나 STZ 투여후에는 정상군에 비해 모든 당뇨군이 현저하게 감소되었

으며 당뇨군간에는 유의적인 차이가 없었다.

혈청의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량과 동맥경화지수(atherogenic index, A.I.)

혈청 중성지방 함량 (Table 4)는 정상군에 비해 뿌잎 비공급 당뇨군인 DM군에서 105% 증가되었으며 뿌잎 0.1% 및 0.2%를 공급한 DM-0.1Y군과 DM-0.2Y군에서는 정상군 수준이었다. DM-0.4Y군은 DM군에 비해서는 20% 감소되었으나 정상군보다는 높았다. 총 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 DM군은 30% 증가되었으며, DM-0.1Y군은 정상군 수준이었다. DM-0.2Y군과 DM-0.4Y군은 정상군에 비해 각각 15% 및 18% 유의적으로 증가되었으나 DM군과 비교했을 때 각각 38% 및 49%씩 감소되었다. LDL-콜레스테롤도 총콜레스테롤과 유사한 경향이였다. 반면에 HDL-콜레스테롤은 정상군보다 모든 실험군에서 감소되었다. 동맥경화의 발생지표인 동맥경화지수(atherogenic index)는 정상군이 0.95인데 비해 DM군이 2.88로서 203%까지 증가되었으며 DM-0.1Y군은 1.39로 정상군 수준이었다. DM-0.2Y군과 DM-0.4Y군은 DM군에 비해서는 49%, 40%씩 유의적으로 저하되었다.

간조직의 총지질, 중성지방 및 콜레스테롤 함량

간조직의 총 지질, 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정 결과는 Fig. 2와 같다. 간조직의 총 지방 함량 및 중성지방 함량은 정상군에 비해 DM군이 유의적(p<0.05)으로 감소되었으나 DM군에 비해 각 뿌잎공급군에서 유의적(p<0.05)으로 증가되었으며 뿌잎공급군간의 유의적인 차이는 없었다. 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 DM군이 160% 증가되었으나 DM군에 비해 뿌잎 공급군인 DM-0.1Y, DM-0.2Y 및 DM-0.4Y군에서는 정상군 수준이었다.

간조직의 microsomal HMG-CoA reductase의 활성

콜레스테롤 생합성의 율속 효소로 알려진 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl CoA reductase(HMG-CoA reductase) 활성은 (Table 5) 정상군에 비해 DM군이 43% 감소되었으며 DM-0.1Y군과 DM-0.2Y군은 DM군에 비해 각각 30%와 42%씩 증가되어 정상군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. DM-0.4Y군은 정상군에 비해 34% 감소된 경향을 보였으며 DM군에 비해 9% 증가되었다.

고 찰

뿌잎에는 플라보노이드계열의 화합물이 포함되어 있기 때문에 콜레스테롤 대사를 개선시키는 작용이 있을 것으로 예측하고 체내 식이내 뿌잎의 첨가 함량에 따른 당뇨쥐 혈청 및 간장 조직에서의 지질대사에 미치는 영향을 관찰하였다. 본 실험에 사용된 5월산 YK-209 뿌잎 시료중의 flavonoid 함량을 조사한 결과 rutin 함량은 4.19 mg/g 으로, 뿌잎의 평균

Table 4. Effects of YK-209 mulberry leaves on serum levels of triglyceride(TG), Total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and atherogenic index in streptozotocin-induced diabetic rats (mg/dL)

Groups	TG	Total cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol	AI ³⁾
Normal	71.21 ± 8.86 ^{1)a2)}	69.11 ± 4.35 ^a	35.51 ± 0.33 ^a	19.36 ± 0.62 ^a	0.95 ± 0.29 ^a
DM	146.11 ± 8.36 ^b	90.16 ± 2.70 ^b	25.39 ± 1.86 ^b	45.95 ± 2.35 ^b	2.88 ± 0.21 ^b
DM-0.1Y	67.37 ± 2.61 ^a	73.77 ± 2.82 ^{ac}	30.75 ± 3.73 ^{ab}	24.55 ± 2.32 ^c	1.24 ± 0.25 ^a
DM-0.2Y	75.95 ± 12.16 ^a	79.57 ± 3.90 ^c	32.24 ± 1.96 ^a	32.14 ± 3.98 ^{cd}	1.47 ± 0.11 ^{ac}
DM-0.4Y	117.3 ± 14.60 ^c	81.29 ± 4.20 ^c	33.78 ± 6.48 ^{ab}	35.26 ± 3.38 ^d	1.74 ± 0.11 ^c

¹⁾All values are mean ± SE (n=10).

²⁾Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

³⁾AI: atherogenic index.

The experimental conditions are same as Table 1.

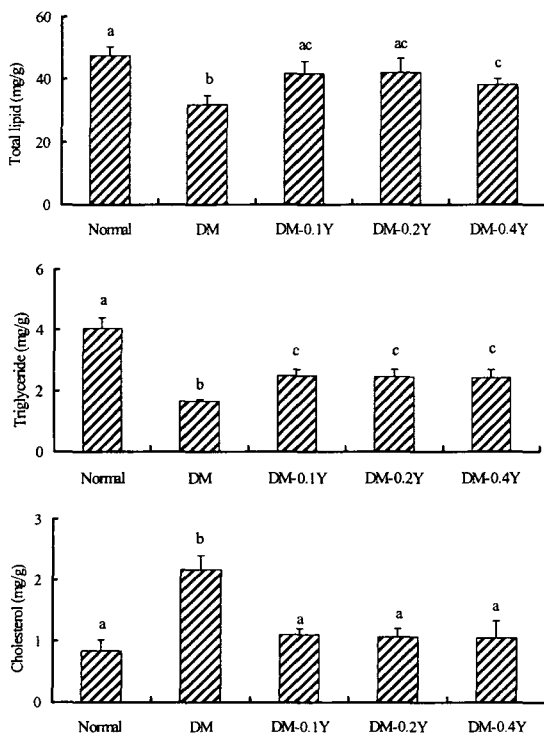


Fig. 2. Effects of YK-209 mulberry leaves on hepatic total lipid, triglyceride and cholesterol in streptozotocin-induced diabetic rats.

All values are mean ± SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Turkey's test.

The experimental conditions are the same as Table 1.

Table 5. Effects of YK-209 mulberry leaves on hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase activity in streptozotocin-induced diabetic rats

Groups	HMG-CoA reductase (nmol/mg protein/min)
Normal	1.09 ± 0.12 ^{1)a2)}
DM	0.62 ± 0.04 ^b (56.9%)
DM-0.1Y	0.95 ± 0.14 ^{ac} (87.2%)
DM-0.2Y	1.08 ± 0.24 ^{ac} (99.1%)
DM-0.4Y	0.72 ± 0.10 ^{bc} (66.1%)

¹⁾All values are mean ± SE (n=10).

²⁾Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

The experimental conditions are same as Table 1.

rutin 함량이 건물 중의 약 0.29%에 비해 훨씬 많은 함량이다 (27). Flavonoid 성분인 rutin은 모세혈관 강화작용과 수축작용, 순환계질환 치료제 및 고혈압 치료제 등의 주성분이며 방사선 치료에서 오는 부작용을 줄이는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(28). Rutin이 많이 함유되어 있어 기능성 식품원료로 이용되고 있는 메밀의 rutin 함량은 0.04%~0.12%로 보고(29) 된 바에 비해 뽕잎의 rutin 함량은 4.19 mg/g이므로 다른 어떤 식용식물에 비하여도 많은 편이므로 뽕잎의 이용도 다양화 개발 연구와 관계하여 높은 관심의 대상이 되고있다. 뽕잎의 이노작용 성분으로 알려진 iso-quercitrin 함량은 2.01 mg/g, kaempferol-3-O-rutinose는 1.63 mg/g, astragaln 함량은 0.36 mg/g 및 총 flavonoid 함량은 8.19 mg/g이었다. 본 연구에서 뿐만 아니라 Yun과 Lee(27)의 연구에서도 나타났듯이 다른 품종의 flavonoid 보다 그 함량이 높은 편이므로 YK-209 뽕잎은 잎 이용에 적합한 품종이다.

본 실험에서 체중 증가량을 관찰한 결과 정상군은 전 실험 기간 동안 계속적인 증가를 보인 반면 STZ 유발 당뇨군들은 STZ 주사후 현저한 체중감소를 보였으며, 당뇨군들간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. STZ 투여에 따른 인슐린 생성 부족으로 당뇨가 유발되면 에너지 대사에 이상이 발생하게 되고 체중이 감소한다고 한다(30). 타 연구(31,32)에 의하면 STZ 유발 당뇨 흰쥐의 체중감소 현상은 물질과 용질 교환이 가능한 모세혈관의 최대 표면적이 상대적으로 감소되어 나타난 골격근의 위축이라고 보고하였으며, 이와 같이 STZ로 인한 당뇨에서의 체중감소는 alloxan으로 유도된 당뇨와는 달리 체중회복이 쉽지 않다고 보고하였다.

식이섭취량은 당뇨 유발전에는 식이군간에 차이가 없었으나 당뇨 유발 후는 DM군에서 유의적으로 증가되었으며 이는 STZ-유발 당뇨군에서 식이섭취량이 증가한다는 Lau과 Failla (33)의 보고와 일치하는 것이다. 당뇨 유발 후 식이 섭취량은 실험군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 이것은 당뇨 증상인 다식의 결과를 알 수 있다. 식이효율(FER)은 정상군과 당뇨실험군간에 유의적인 차이를 보였다. 이와 같이 정상군에 비해 당뇨군의 식이섭취량이 많음에도 불구하고 계속적인 체중감소가 나타난 것은 당뇨에 의한 체내 대사의 퇴행적인 변화 때문인 것으로 그 결과 식이효율이 감소된 것으로 볼 수 있다 (34).

당뇨쥐의 혈중 중성 지질 함량은 정상군에 비해 105% 증가되었으나 YK 209 팥잎을 투여한 DM-0.1Y군과 DM-0.2Y군에서는 정상군 수준이었다. 이러한 결과는 STZ 유발 당뇨군에서 중성 지질 값이 현저히 증가되는 것은 혈장으로부터 말초 조직으로의 중성지방 제거의 감소에 기인한다는 Steiner 등(35)의 보고와 일치하였다. 그러나 팥잎가루 식이에서 혈청 중성지질의 수준이 유의적으로 낮아진 것은 STZ에 의해 야기되는 지질대사의 불균형을 팥잎의 생리활성 성분인 quercetin, kaempferol, chlorogenic acid, arthocarpesin, caffeic acid 등 polyphenol계 화합물이 어느 정도 조절하여 주는 것으로 생각되며 이것은 건강한 성인을 대상으로 한 실험 및 동물실험에서도 팥잎 분말 및 용매 추출물의 투여로 혈중 중성지질 농도가 감소하였다는 보고(36)에 의해 뒷받침되어진다. 당뇨 동물에서의 혈중 총 콜레스테롤의 증가는 VLDL의 합성과 VLDL의 대사산물인 LDL의 생성 증가가 혈중 콜레스테롤을 높이는 원인중의 하나로 보고있다(37). 본 연구에서 혈청 총 콜레스테롤과 LDL-cholesterol 수준은 정상군에 비해 DM군에서는 증가되었고 YK-209 팥잎을 투여함으로써 유의적으로 감소되었는데, 이것은 팥잎 추출물의 투여가 고콜레스테롤 식이를 투여한 쥐의 혈청 콜레스테롤을 저하시킨다는 Kim 등(36)의 보고와도 같은 경향이였다. HDL-cholesterol은 정상군에 비해 당뇨군 모두에서 감소되었으나 YK-209 팥잎의 투여로 DM군에 비해 대체로 증가되는 경향이였다. 따라서 동맥경화 발병의 지표인 동맥경화지수는 정상군에 비해 DM군에서 203%까지 현저히 증가되었으나 DM-0.1Y군은 46%, DM-0.2Y군은 55%, DM-0.4Y군은 83% 증가를 보였으나 DM군에 비해서는 유의적으로 감소되었다. 당뇨병에서 증가되어진 동맥경화지수가 팥잎을 투여함으로써 감소되는 것은 혈중 HDL cholesterol의 증가 및 LDL-cholesterol감소의 결과로 본다.

간조직 중의 총지방과 중성지방 함량을 관찰한 결과 정상군에 비해 DM군에서는 유의적으로 감소되었으며 팥잎을 투여함으로써 증가되었다. 이러한 결과는 Kim 등(38)의 연구에서 당뇨쥐에게 대두올리고당을 투여한 결과 고혈당 및 인슐린 분비와 기능을 개선시켜 세포내 포도당 이용률을 증가시킴으로써 간조직의 lipolysis를 감소시키는데 기여하였다고 서술하였듯이, 팥잎도 이와같은 기능으로 간에서의 유리지방산의 유리를 감소시켜 간조직의 중성지방 함량을 개선시키고 혈중으로의 VLDL 분비 축진을 감소시킴으로써 혈중의 중성지방 함량을 감소시킨 것으로 사료된다.

그러나 간조직 중의 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 당뇨군에서는 160% 증가되었으며 DM군에 비해 DM-0.1Y군, DM-0.2Y군 및 DM-0.4Y군 등 팥잎 공급군들은 정상군 수준이었다. 당뇨군 간조직에서의 콜레스테롤 수치가 증가되는 것은 Lim과 Kim(39) 및 Choi 등(40)의 보고에서처럼 STZ 투여로 인한 인슐린 분비가 저하되면서 정상적인 당대사가 원활히 일어나지 않아 acetyl CoA 축적으로 인한 지방합성이 증가하여 간장내 지질이 축적되고 심한 변성이 일어나는 것으로 알려

져 있다. 일반적으로 혈당이 잘 조절되지 않은 당뇨 상태에서는 콜레스테롤 합성 율속 효소로서 세포내 콜레스테롤 합성의 초기단계를 조절하여 조직의 콜레스테롤 합성량을 조절하는 간장의 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl CoA(HMG-CoA) reductase 활성이 감소되고(41-44), 장의 HMG-CoA reductase는 활성이 증가되는데, 이로 인해 장내의 콜레스테롤 이동이 증가되어 고콜레스테롤혈증이 나타나고 흔히 당뇨에서 수반되는 합병증으로 혈장내 cholesterol과 중성지방 농도의 증가로 고지혈증이 된다(41,45). Edwards 등(46)은 세포수준에서 혈중 LDL-cholesterol은 HMG-CoA reductase활성을 억제하나, 혈중 HDL-cholesterol은 HMG-CoA reductase 활성의 상승을 가져온다고 보고하였다. 본 실험에서의 콜레스테롤 합성을 조절하는 간조직중의 HMG-CoA reductase의 활성 변화는 정상군에 비해 DM군이 43% 감소되었으나 DM-0.1Y군과 DM-0.2Y군은 정상군과 비슷한 수준으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 DM군에서의 혈중 LDL-cholesterol 수치는 증가되었으나 팥잎을 공급한 군에서는 LDL-cholesterol 수치가 DM군에 비해 유의적으로 감소하였으므로, HMG-CoA reductase 활성은 LDL-cholesterol과의 역의 상관관계가 나타나고, 항상성 기작에 의하여 당뇨시 증가되어진 간중의 콜레스테롤은 이들 간조직의 콜레스테롤 합성 율속효소인 HMG-CoA reductase를 되먹임 저해한다고 사료된다(47).

이상의 결과에서 YK-209 팥잎이 STZ 유발 당뇨쥐의 콜레스테롤대사에 미치는 효과를 관찰해 보았을 때 체내의 콜레스테롤대사 관련 효소인 간조직 중의 HMG-CoA reductase 활성의 조절 및 혈청과 간조직 중의 콜레스테롤 수준을 개선시켰으며 특히 YK-209 팥잎의 농도가 0.2%일 때 가장 효과적으로 이용할 수 있음이 입증되었다.

요 약

본 연구는 YK-209 팥잎이 STZ 유발 당뇨 간조직 중의 콜레스테롤대사에 미치는 영향을 규명하기 위해 수행되었다. 실험 동물은 100±10 g의 Sprague-Dawley종 수컷을 정상군(normal group)과 당뇨군으로 나누고 당뇨군은 다시 식이내 YK-209 팥잎 함량에 따라 각각 YK-209 팥잎을 공급하지 않은 당뇨군(DM group), 0.1% YK-209 팥잎 식이군(DM-0.1Y group), 0.2% YK-209 팥잎 식이군(DM-0.2Y group) 및 0.4% YK-209 팥잎 식이군(DM-0.4Y group)으로 나누어 자유섭식시켰다. 3주 후 STZ으로 당뇨를 유발한 후 9일째에 희생하여 혈액 및 간장에서의 콜레스테롤대사 개선능에 대해 관찰하였다. YK-209 팥잎중의 flavonoid 함량을 조사한 결과 rutin은 4.19 mg/g, iso-quercitrin은 2.01 mg/g, kaempferol-3-O-rutinose은 1.64 mg/g, 및 astragalins은 0.36 mg/g이었으며 총 flavonoid 함량은 8.19 mg/g 으로 청일 팥잎보다 그 함량들이 높았다. 혈청중의 중성지방 함량은 정상군에 비해 DM군이 105% 높았으나 YK-209 팥잎 공급군은 정상군 수준이었다.

총 콜레스테롤 함량과 LDL-cholesterol 함량은 정상군에 비해 DM군은 증가되었으며, YK-209 팽잎 공급군은 DM군에 비해 유의적으로 감소되었다. 반면 HDL-cholesterol 함량은 정상군에 비해 DM군에서 감소되었으나 YK-209 팽잎 공급군은 정상군 수준이었다. 동맥경화 지수(AI)는 DM군은 정상군에 비해 약 3배 정도 높았으나 DM-0.1Y군과 DM-0.2Y군은 정상군 수준이었다. 간조직 중의 총지질 함량과 중성지방함량은 정상군에 비해 DM군에서 감소되었으며 YK-209 팽잎을 공급한 군에서 DM군에 비해 증가되었다. 간조직의 콜레스테롤 함량은 DM군에서 정상군에 비해 160% 증가되었으나 YK-209 팽잎 공급군은 정상군 수준이었다. 간조직 중의 HMG-CoA reductase 활성은 정상군에 비해 DM군이 43% 감소되었으나 DM-0.1Y군과 DM-0.2Y군은 정상군 수준이었다. 결론적으로 YK-209 팽잎은 STZ유발 당뇨쥐의 간조직의 HMG-CoA reductase 활성의 조절 및 혈액과 간조직의 콜레스테롤 농도를 감소시키는 효과가 있음이 규명되었다.

감사의 글

이 논문은 2000년 농림부에서 시행한 현장애로기술개발사업 연구비 지원(과제번호: 20000065)에 의해 수행된 연구 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

- Ganda OP. 1985. *Pathogenesis of macrovascular disease including in the influence of lipid*. In *Joslin's Diabetes Mellitus*. 12th ed. Lea and Febiger, Philadelphia. p 217.
- Sheng J, Yuji M, Kenji M, Shinji K, Tadashi N, Katsuto T, Masharu K, Seichiro T. 1988. Increased activity of intestinal Acyl-Co A : cholesterol acyltransferase in rats with streptozotocin-induced diabetes and restoration by insulin supplement. *Diabetes* 37: 342-346.
- Feingold KR, Arthur M, Saleh A, Mounzer S, Carl G. 1990. Small intestinal fatty acid synthesis is increased in diabetic rats. *Endocrinology* 127: 2247-2252.
- Francois B. 1996. Non-insulin dependent diabetes and reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis* 124: 39S-42S.
- Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol induced hyperlipidemia in rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 27: 1217-1222.
- Cha JY, Kim DJ, Cho YS. 2001. Effect of stem bark extract from *Cudrania tricuspidata* on the concentrations of lipid and lipid peroxidation in rats fed a cholesterol diet. *Kor J Life Sci* 11: 328-334.
- Cho MR, Choue RW, Chung SH, Ryu JW. 1998. Effects of silkworm powder on blood glucose and lipid levels in NIDDM (Type II) patients. *Kor J Nutr* 31: 1139-1150.
- Li SZ. 1978. *Compendium of materia medica*. People's Medical Publishing House, Beijing. p 2067.
- Tang W, Eisenbrand G. 1992. *Chinese drugs of plant origin*. Springer-Verlag, Beijing. p 669-696.
- Courtiere A, Molard F, Reyband J. 1995. Differential effects of *in vitro* peroxidation on peripheral- and central-type benzodiazepine receptors. Protection by diverse antioxidants. *Biochem Pharmacol* 50: 1815-1822.
- Purusotam B, Shigetoshi K, Satoshi T, Mineo S, Tsuneo N. 1993. Two new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. *Chem Pharm Bull* 41: 1238-1243.
- Massayasu K, Fu-jun Chen, Noboru N, Ikuho K, Naoki A, Sakuji K. 1995. Anti hyperglycemic effect of N-containing sugars delivered from mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Traditional Medicine* 12: 214-219.
- Lee HS, Chung KS, Kim SY, Ryu KS, Lee WC. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan-induced hyperglycemic mice. *Korean J Seric Sci* 40: 38-42.
- Sung GB. 1998. Recent mulberry research trend and direction for the improvement. *Korean J Seric Sci* 40: 180-184.
- Shin DH. 1998. Antioxidative substances in mulberry leaves. *J Korean Oil Chemists Soc* 16(3): 27-31.
- Yun SJ, Lee WC. 1994. Characteristics of superoxide dismutase of mulberry leaf. *Korean J Breed* 26: 389-393.
- Yen GC, Wu SC, Duh PD. 1996. Extraction and identification of anti-oxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J Biol Chem* 261: 12879-12882.
- Fujimoto T, Nomura T. 1985. Components of root bark of *Cudrania tricuspidata* 3. Isolation and structure studies on the flavonoids. *Planta Med* 51: 190-196.
- Kim SH, Kim NJ, Choi JS, Park JC. 1993. Determination of flavonoids by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* bureau. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 22: 68-72.
- Chen F, Nakashima N, Kimura I, Kimura M, Asano N, Koya S. 1995. Potentiating effects on pilocarpine-induced saliva secretion by extracts and N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozotocin-diabetic mice. *Bio Pharm Bull* 18: 1676-1680.
- Yun SJ, Lee WC. 1995. Studies on the utilization of pharmacologically active constituents in mulberry: 1. varietal and seasonal variations of flavonol glycoside content in leaves. *RDA J Agr Sci* 37: 201-205.
- Friedwald WT, Levy RI, Fedreicson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without was of the preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-506.
- Fiordaliso M, Kok N, Desager JP, Goethals F, Deboyser D, Roberfoid M, Delzenne N. 1977. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 30: 163-167.
- Folch JM, Lees M, Stanley GHS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 26: 497-509.
- Sale FD, Marchesini S, Fishman PH, Berra B. 1984. *A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts*. Academic Press Inc., New York. p 347-350.
- Hulcher FH, Oleson WH. 1973. Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J Lipid Res* 14: 625-631.
- Yun SJ, Lee WC. 1995. Studies on the utilization of pharmacologically active constituents in mulberry 1. Varietal and seasonal variations of flavonol glycoside content in leaves. *RDA J Agr Sci* 37: 201-205.
- Markham KR. 1989. Flavones, flavonols and their glycosides. *Methods in Plant Biochemistry* 1: 197-235.
- Kim YS, Chung SH, Suh HJ, Chung ST, Cho JS. 1994. Rutin and mineral contents on improved kinds of Korean buckwheat

- at growing stage. *Korean J Food Sci Technol* 26: 759-763.
30. Forman S, Estilow ML, Vailenko P. 1996. STZ diabetes alters immunoreactive β -endorphin levels and pain perception after 8 wk in female rats. *Diabetes* 35: 1309-1313
 31. Pain VM, Garlick P. 1974. Effect of streptozotocin diabetes and insulin treatment on the rate of protein synthesis in tissues of the rat in vivo. *J Biol Chem* 249: 4510-4
 32. Sexton WS. 1994. Skeletal muscle vascular transport capacity diabetic rats. *Diabetes* 43: 225-231
 33. Lau AL, Failla ML. 1984. Urinary excretion of zinc, copper and iron in the streptozotocin-diabetic rat. *J Nutr* 114: 224-223
 34. Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. 1994. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. *J Kor Nutr* 27: 819-827.
 35. Steiner G, Chow A, Little JA. 1978. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N Eng G Med* 298: 1256-1273.
 36. Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol induced hyperlipidemia in rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 27: 1217-1222.
 37. Goldstein JL, Brown MS. 1997. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 46: 897-930.
 38. Kim MH, Kim HY, Kim WK, Kim JY, Kim SH. 2001. Effects of soy oligosaccharides on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 34: 3-13.
 39. Lim SJ, Kim YS. 1998. The effect of butanol fraction of *polygonatum odoratum* with vitamin E on blood glucose levels and lipid peroxidations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kore J Nutr* 31: 1385-1393.
 40. Choi JW, Sohn KH, Kim SH. 1991. The effects of nicotinamide on the serum lipid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 20: 306-311.
 41. O'Meara NMG, Devery RAM, Owens D, Collins PB, Johnson AH, Tomkin GH. 1990. Cholesterol metabolism in alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes* 39: 626-633.
 42. Lakshmanan MR, Nepokroeff CM, Ness GC, Dugan RE, Potter JW. 1973. Stimulation of insulin of rat liver hydroxymethylglutaryl CoA reductase and cholesterol synthesizing activities. *Biochem Biophys Res Commun* 50: 704-10.
 43. Huber J, Guder W, Latzin S, Hamprecht B. 1973. The influence of insulin and glucagon on HMG CoA reductase activity in rat liver. *Hoppe-Seylers Z Physiol Chem* 354: 795-798.
 44. Bhathena SJ, Avigan J, Schreiner ME. 1974. Effect of insulin on sterol and fatty acid synthesis and hydroxymethylglutaryl CoA reductase activity in mammalian cells grown in culture. *USA Proc Natl Acad Sci* 71: 2174-2178.
 45. Nakayama H, Nakagawa S. 1977. Influence of streptozotocin diabetes on intestinal 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in the rat. *Diabetes* 26: 439-444.
 46. Edwards PA, Lan SF, Fogelman AM. 1984. High density lipoproteins and lecithin dispersions increase the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by increasing the rate of synthesis and decreasing the rate of degradation of the enzyme. *J Biol Chem* 259: 8190-8194.
 47. Choi YS, Lee SY. 1992. Serum cholesterol and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 580-593.

(2002년 6월 27일 접수; 2002년 10월 10일 채택)