

Streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에 대한 白殭蠶의 혈당 및 당대사 효소활성에 관한 효과

정병무, 현민경, 신원용, 김미랑, 신현철*, 윤철호, 정지천

동국대학교 한의과 대학 내과학 교실, *대구한의대학교 한의과 대학 내과학 교실

Effects of *Bombycis corpus* on Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Byoung-Mu Jeong, Min-Kyung Hyun, Won-Yong Sin, Mi-Rang Kim, Hyeon-Cheol Shin*, Cheol-Ho Yoon, Ji-Cheon Jeong

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

*Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Objective : This study was undertaken to investigate how *Bombycis corpus* (BC) effects the development and progress of complications occurring in Diabetes Mellitus (DM).

Methods : Laboratory rats were separated into three groups; normal, rats with DM and treated with BC, and rats with DM and not treated. In this study DM was experimentally induced through injection of streptozotocin. The BC treated group was *given BC extract p.o. for 15 days. Then, The activities of glucose phosphatic enzymes and polyol pathway channels were observed.

Results : The blood glucose level greatly increased in the DM groups after injection of streptozotocin, but it significantly decreased in the BC treated group. Significantly enhanced levels of serum insulin levels were seen in the BC treated group, while suppressed levels were seen in the untreated DM group. Weight was recovered by the BC treated group, matching the normal group.

Decreased enzyme activity of aldose reductase, sorbitol dehydrogenase and glucose-6-phosphatase were seen in BC treated diabetic rats. Increased enzyme activity of the glucokinase and hexokinase were seen in BC treated diabetic rats.

Conclusions : This study suggests that BC normalized the blood glucose and serum insulin levels destabilized by DM. Because increased activity of glucose phosphatic enzymes, glucokinase and hexokinase, and decreased glucose-6-phosphatase activity, and suppression of polyol pathway enzymes, aldose reductase and sorbitol dehydrogenase, were all seen, these observations suggest that BC suppresses blood glucose levels and prevents complications due to DM.

Key Words: Diabetes Mellitus, *Bombycis corpus*, hexokinase, glucokinase, polyol pathway

1. 緒 論

당뇨병이란 인슐린의 결핍 혹은 저항성의 증가로 지속적인 고혈당이 나타나고, 탄수화물, 단백질 및 지

방대사의 이상이 초래되는 질환을 총칭하는 질환군으로 정의할 수 있다. 당뇨병의 유병율은 점차 증가하여 1971년도 1% 미만으로 추정¹ 되던 것이 1995년 일부 지역에서는 10.1%, 연평균 발생률은 2.5%로 보고²되고 있다.

당뇨병의 합병증도 발생양상이 변화하여 인슐린이 발견된 이후 급성 대사성 합병증 및 감염증의 빈도는 줄어들고 만성 합병증이 매우 중요한 위치를 점

· 접수 : 2004년 4월 29일 채택 : 2004년 5월 18일

· 교신저자 : 정병무, 경상북도 경주시 용강동 357번지 동국대학교 부속 경주한방병원 내과의국
(Tel : 054)770-1341, Fax : 054)770-1500, E-mail : mania@ur21.org)

하게 되었으며 유병율과 함께 점차 증가하는 경향을 보인다.

당뇨병의 만성 합병증은 발생기전이 불확실하지만 고혈당과 당뇨병 고유의 대사 이상이 중요한 원인으로 생각된다.

인체에서 포도당을 이용하는 대사과정은 hexokinase, glucokinase가 glucose를 glucose-6-phosphate로 인산화시키는 것이다. 그러나 이러한 인산화 과정 없이 포도당을 이용하는 경로가 있는데 전형적인 것이 aldose reductase에 의한 polyol 합성 경로이다. Aldose reductase는 포도당에 대한 친화력이 낮지만 당뇨병과 같은 고혈당 상태에서는 쉽게 활성화되어 당뇨병의 주요 합병증인 망막병증, 백내장, 신경병증에 관여한다¹. 또한 고혈당이 지속되면 oxidative stress가 증가 하는데 이는 췌장의 β -cell 파괴 과정과 밀접한 관련이 있다^{2,6}.

韓醫學에서 당뇨병은 消渴의 범주에 속하는데 陰盡虧損하여 燥熱內生하는 것이 基本 病機이다. 臨床上 上消, 中消, 下消로 분류하며 清熱, 生津, 止渴의 治法이 응용되는데^{7,8} 消渴이 치료되지 않고 오래되면 轉變하여 目無見 手足偏廢, 癰疽, 雀目, 內障瘡瘍⁹ 등이 발생한다고 하였다.

白蠶(Booby)은 누에가 白蠶菌에 감염되어 죽은 蠶體로서 性은 平하고 味는 鹹辛하고 無毒하다. 息風止癢, 疏散風熱, 化痰散結하여 風痰으로 인한 諸證을 치료하는데^{10,12} 本草綱目에는 消渴을 치료한다고 기술되었다¹¹.

당뇨병에 있어서 白蠶 또는 누에의 효과에 관한 연구는 모두 혈당 강하, 지질 대사, 또는 혈중 인슐린 농도 측정에 관한 연구이며¹³⁻¹⁹, 당뇨병의 발생이나 합병증과 밀접한 관계에 있는 당인산화 과정이나 polyol pathway와 관련된 연구는 없다.

따라서, 저자는 白蠶이 당대사와 관련하여 당뇨병 발생 억제와 합병증의 치료에 효과를 나타내는지 검토하고자 흰쥐의 혈중 인슐린, glucose 농도 및 간 조직중의 당인산화 과정과 polyol pathway와 관계 있는 효소활성에 미치는 영향을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

白蠶(*Bombycis corpus*)은 본 대학 부속 한방병원에서 최상품을 엄선하여 구입하였다.

2) 동물

동국대학교 한의과대학 동물사에서 일정한 온도와 습도가 유지되는 조건으로 사육한 체중 200 g 내외의 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였다.

3) 시약 및 기기

Ammonium molybdate, bovine serum albumin, EDTA sodium salt, glucose-6-phosphate, malate anhydride, nicotinamide adenine dinucleotide(NAD), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP), nicotinamide adenine dinucleotide reduced(NADH), triethanolamine, N-1 methyl nicotinamide(NMN), p-methylaminophenol sulfate, trichloroacetic acid, o-dianisidine, trisma base, DL-3-hydroxy-3methylglutaryl CoA, hexadecyltrimethyl ammonium bromide, 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) 등의 시약은 Sigma사로부터 구입하였으며 조제된 kit시약은 모두 Eiken사로부터 구입하여 사용하였고 기타 본 실험을 수행하는 중에 사용한 모든 시약은 시중에서 구입한 일급 내지는 특급품을 사용하였다.

2. 방법

1) 추출물의 조제

白蠶 200 g을 잘게 부수고 여기에 3배량의 95% methanol 용액을 가하여 60℃에서 중탕으로 24시간씩 3회 반복 추출하여 추출액을 얻었다. 이 methanol 추출액을 실온으로 냉각시켜 여지로 여과시키고 여액을 감압농축기를 사용하여 농축 건조시켜 시료 15.2 g(수율 7.6%)을 얻은 후 실험에 사용하였다.

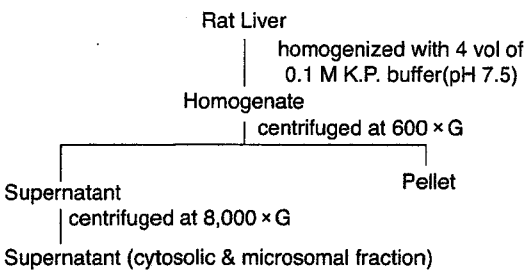
2) 당뇨병 유도 및 실험군 분류

실험동물은 아무런 처치도 하지않은 정상군, 당뇨병을 유발한 대조군, 당뇨병 유발후 白蠶 추출물을 투여한 실험군 등 세군으로 나누고, 각 군에 10마리씩 배정하였다. 당뇨병은 citrate buffer (pH 4.5)에 녹인

streptozotocin 용액 60 mg/kg을 복강내로 주사하여 유발하였으며, streptozotocin 투여 3일 후부터 urine strip으로 당뇨병을 확인하였다. 白蠶 蠶 추출물의 투여는 실험동물의 체중 kg 당 50 mg을 15일간 경구로 투여하였다. 실험동물은 도살 전 16시간 동안 물만 섭취케하고 절식시켰다.

3) 효소원의 조제

실험동물을 ether를 사용하여 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥을 통해서 혈액을 채취한 다음 간 조직을 적출하였다. 적출한 간 조직을 생리식염수에 씻은 다음 이물질 또는 생리식염수를 제거하였다. 간 조직 1 g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5, 이하 K.P. buffer로 약함)를 가하여 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하여 600 × G에서 10분간 원심분리하여 마쇄균질액을 얻었다. 한편 마쇄균질액을 다시 8,000 × G에서 20분간 원심분리하여 얻어진 상정액을 이용하여 glucokinase, aldose reductase hexokinase, glucose-6-phosphatase 및 sorbitol dehydrogenase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 한편, 채취한 혈액은 실온에서 약 1시간 정도 방치시켜 혈청을 분리시키고 이 혈청을 glucose 및 insulin 함량 측정 시료로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 0-4℃에서 행하였다 (Scheme 1).



Scheme. 1. Preparation of enzyme source

4) 효소활성 측정

① Glucokinase 활성 측정

Glucokinase 활성은 Walker 등의 방법²⁰을 약간 변경하여 측정하였다. 5 mM MgCl₂, 5 mM ATP, 0.2 U

glucose-6-phosphate dehydrogenase를 함유한 0.05 M sodium phosphate buffer (pH 7.0) 용액 일정량에 효소액과 기질로서 100 mM glucose와 0.1 mM glucose를 넣은 두가지 경우를 첨가시켜 25℃에서 10분간 반응시킨 다음 파장 340 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성도는 기질인 glucose 100 mM 농도의 흡광도에서 0.1 mM glucose 흡광도의 차이를 측정하여 활성도로 산정하였다.

② Hexokinase 활성 측정

Hexokinase 활성은 Walker 등의 방법²⁰을 약간 변경하여 측정하였다. 5 mM MgCl₂, 5 mM ATP, 0.2 U glucose-6-phosphate dehydrogenase를 함유한 0.05 M sodium phosphate buffer (pH 7.0) 용액 일정량에 효소액과 기질로서 0.1 mM glucose와 100 mM N-acetylglucosamine을 넣은 두가지 경우를 첨가시켜 25℃에서 10분간 반응시킨 다음 파장 340 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성도는 기질인 glucose 0.1 mM 농도의 흡광도에서 100 mM N-acetylglucosamine 흡광도의 차이를 측정하여 활성도로 산정하였다.

③ Glucose-6-phosphatase 활성 측정

Glucose-6-phosphatase 활성 측정은 Swanson 등의 방법²¹에 준하여 일정량의 0.1 M Tris-malate buffer (pH 6.5) 용액에 기질인 0.2 M glucose-6-phosphate 및 효소원을 첨가하여 30℃에서 20분간 반응시킨 다음 제단백시키고 원심분리하여 상정액을 취하였다. 이 상정액 일정량에 acetate buffer (pH 4.0), ammonium molybdate 용액 및 환원시약을 넣어서 발색시킨 다음 파장 680 nm에서 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성도는 단백질 1 mg이 1분당 생성시킨 phosphate의 양을 μmol 로 나타내었다.

④ Aldose reductase 활성 측정

Aldose reductase 활성측정은 Yamaoka 등의 방법²²을 약간 변경하여 일정량의 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.4) 용액에 2 mM NADPH와 200 mM DL-glyceraldehyde 및 효소원을 첨가하여 25℃에서 5분간 반응시키는 동안에 DL-glyceraldehyde를 환원시키는 데 소비된 NADH의 함량을 340 nm에서 측정하

여 그 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 산화시킨 NADH의 양을 nmol로 나타내었다.

⑤ Sorbitol dehydrogenase 활성 측정

Sorbitol dehydrogenase 활성 측정은 Hollmann 등의 방법²⁾에 준하여 일정량의 0.1 M triethanolamine buffer (pH 7.6) 용액에 기질인 105 mM D-fructose, 0.2 mM NADH 및 효소원을 첨가하여 25℃에서 5분간 반응시키는 동안에 D-fructose를 환원시키는데 소비된 NADH의 함량을 340 nm에서 측정하여 그 활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 산화시킨 NADH의 양을 nmol로 나타내었다.

5) 혈중 glucose 함량 측정

혈액중의 glucose 함량 측정은 Thomason 등의 방법²⁾에 따라 조제된 kit 시약을 이용하여 실시하였다. 혈청 일정량에 발색시약 3.0 ml를 가한 다음 잘 혼합한 후 37℃에서 일정시간 반응시켰다. 이 반응액을 파장 505 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 준하여 함량을 측정하였다.

6) 혈중 insulin 함량 측정

혈중 insulin 함량 측정은 mouse insulin assay kit(Japan)를 사용하여 정량하였다.

7) 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법²⁾에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 행하였다. 실험

결과와의 유의성 검증은 student t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

III. 결 과

1. 체중변화에 미치는 효과

정상군의 체중은 244.4±11.6 g이었으나 streptozotocin을 주입하여 당뇨병을 유도한 대조군은 163.1±11.4 g으로 감소되었다. 반면, streptozotocin 주입후 白殭蠶 추출물을 투여한 실험군에서는 200.9±11.2 g으로 대조군에 비해서 유의성 있게 증가되었다.(p<0.05, Fig. 1)

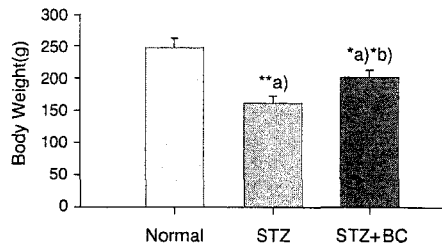


Fig. 1. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpis* on the body weight in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means±SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (*:p<0.05, **:p<0.01). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpis* extract-treated group.

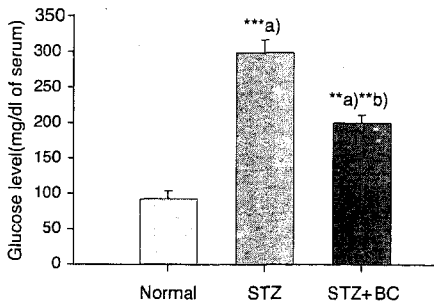


Fig. 2. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpis* on the blood glucose level in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means±SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (**:p<0.01, ***:p<0.001). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpis* extract-treated group.

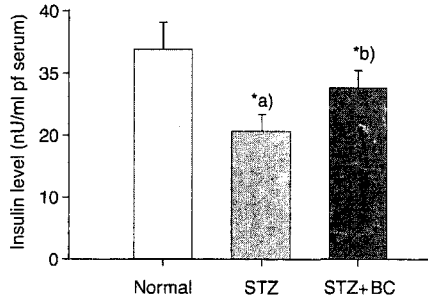


Fig. 3. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpis* on the blood insulin level in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means±SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (*:p<0.05). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpis* extract-treated group.

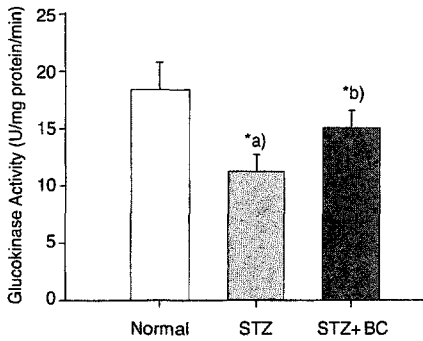


Fig. 4. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpis* on the hepatic glucokinase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means \pm SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (*:p<0.05). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpis* extract-treated group.

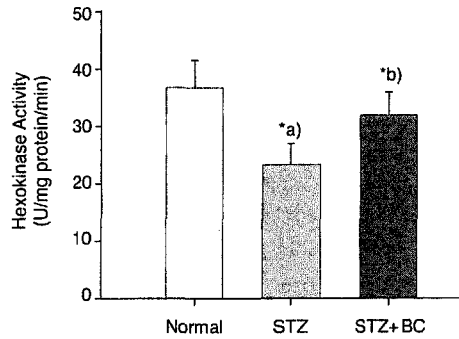


Fig. 5. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpis* on the hepatic hexokinase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means \pm SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (*:p<0.05). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpis* extract-treated group.

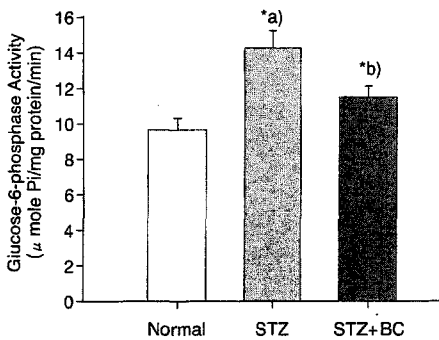


Fig. 6. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpis* on the hepatic glucose-6-phosphatase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means \pm SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (*:p<0.05). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpis* extract-treated group.

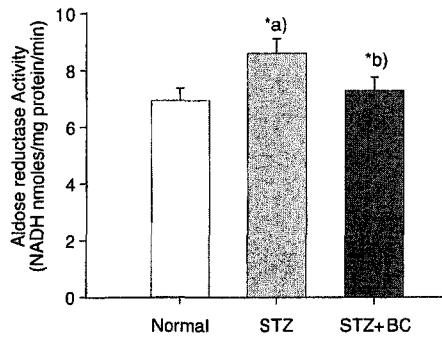


Fig. 7. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpis* on the hepatic aldose reductase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means \pm SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (*:p<0.05). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpis* extract-treated group.

2. 혈중 glucose 함량에 미치는 영향

정상군의 혈중 glucose 함량은 94.2 ± 9.1 mg/dl이고, 대조군은 295.4 ± 18.2 mg/dl로 증가되었다. 白殭蠶 추출물을 투여한 실험군에서는 197.1 ± 13.6 mg/dl로 대조군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.(p<0.01, Fig. 2)

3. 혈중 insulin 함량에 미치는 영향

정상군의 혈중 insulin 함량은 33.8 ± 4.2 nU/ml이고,

대조군은 20.2 ± 2.9 nU/ml로 감소되었다. 白殭蠶 추출물을 투여한 실험군에서는 27.3 ± 3.2 nU/ml로 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다.(p<0.05, Fig. 3)

4. 간 조직의 glucokinase 활성에 미치는 영향

정상군의 간 조직의 glucokinase 활성은 18.45 ± 2.11 U/mg protein/min이고, 대조군에서는 11.31 ± 1.77 U/mg protein/min로 감소되었다. 白殭蠶 추출물을 투여한

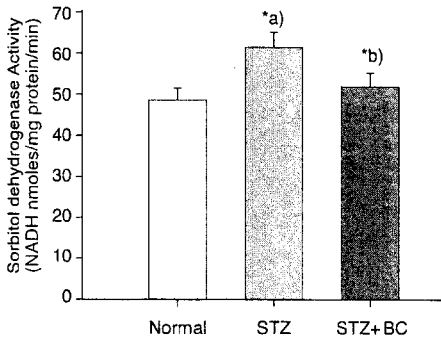


Fig. 8. Effect of the methanol extract of *Bombycis corpus* on the hepatic sorbitol dehydrogenase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are means \pm SE for 10 animals. a) Significantly different from normal, b) Significantly different from streptozotocin induced diabetic animals (*: $p < 0.05$). STZ: Streptozotocin-treated group, BC: *Bombycis corpus* extract-treated group.

실험군에서는 14.95 ± 1.62 U/mg protein/min로 유의성 있게 증가되었다. ($p < 0.05$, Fig. 4)

5. 간 조직의 hexokinase 활성에 미치는 영향

정상군의 간 조직의 hexokinase 활성은 36.57 ± 4.27 U/mg protein/min이고, 대조군에서는 23.43 ± 3.45 U/mg protein/min로 효소활성이 감소되었다. 白僵蠶 추출물을 투여한 실험군은 31.90 ± 3.83 U/mg protein/min로 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다. ($p < 0.05$, Fig. 5)

6. 간 조직의 glucose-6-phosphatase 활성에 미치는 영향

정상군의 간 조직의 glucose-6-phosphatase 활성은 9.56 ± 0.67 μ mol이고, 대조군에서는 14.23 ± 0.89 μ mol로 증가되었다. 白僵蠶 추출물을 투여한 실험군은 11.41 ± 0.71 μ mol로 대조군에 비하여 유의성 있게 억제되었다. ($p < 0.05$, Fig. 6)

7. 간 조직의 aldose reductase 활성에 미치는 영향

정상군의 간 조직의 aldose reductase 활성은 6.84 ± 0.51 nmol이고, 대조군에서는 8.59 ± 0.55 nmol로 증가되

었다. 白僵蠶 추출물을 투여한 실험군은 7.23 ± 0.52 nmol로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 억제되었다. ($p < 0.05$, Fig. 7)

8. 간 조직의 sorbitol dehydrogenase 활성에 미치는 영향

정상군의 간 조직의 sorbitol dehydrogenase 활성은 46.2 ± 3.52 nmol 이고, 대조군에서는 61.8 ± 4.43 nmol로 증가되었다. 白僵蠶 추출물을 투여한 실험군은 52.6 ± 4.18 nmol로 대조군에 비하여 유의성 있게 억제되었다. ($p < 0.05$, Fig. 8)

IV. 고 찰

당뇨병은 체내에서 insulin의 양이 절대적으로 부족하거나, 기능 이상으로 혈액중의 glucose 함량이 정상인보다 높아지는 만성 질환을 의미한다. 제 1형 당뇨병 및 제 2형 당뇨병으로 나누어지며 위험인자로 유전, 환경인자, 비만, 식생활 등이 있다.

당뇨병의 만성 합병증은 크게 미세혈관 합병증, 대혈관 합병증으로 나눌 수 있으며, 미세혈관합병증은 당뇨병성 망막병증과 신증, 신경병증으로, 대혈관병증은 죽상경화증, 관상동맥질환, 뇌혈관질환, 말초혈관질환 등으로 나타난다. 특히 실명, 만성신부전, 죽상경화성 심질환의 주요한 원인이 되고 있다²⁶. 당뇨병이 있는 사람은 당뇨병이 없는 사람에 비해 고혈압의 빈도는 2배, 심혈관질환으로 사망할 확률은 남자가 2.1배, 여자가 4.9배 높으며 비당뇨인에 비해 죽부절단 확률이 15배 높다. 또한, 전체 당뇨병 환자중 당뇨병성 망막증은 85%에서 발견되며, 전체 백내장 환자중 당뇨병 환자가 차지하는 비율은 10-14%, 전체 말기 신부전증 환자중 당뇨병 환자가 차지하는 비율은 30%로 만성합병증의 예방이 중요하다²⁷. 한편, 장기간에 걸친 당뇨병의 대표적인 연구인 DCCT²⁸와 UKPDS²⁹에 의하면 당뇨병에서 엄격한 혈당조절을 하면 당뇨병으로 인한 합병증의 발생을 줄이거나, 사망률을 감소시킬 수 있음이 확인되어 혈당조절이 매

우 중요하다.

당뇨병은 한의학에서 消渴의 범주에 속하는데 陰盡虧損하여 燥熱內生하는 것이 기본 病機이다. 病因으로는 過飲이나 膏粱珍味の 섭취가 지나쳐 濕熱이 內生하거나, 憂鬱 등으로 脾胃에 積熱이 發하거나, 易怒, 嗜酒 등으로 肝火가 鬱結, 腎水의 耗傷으로 陰虛潮熱 등으로 因하여 유발된다. 消渴은 三消로 구분하는데 上消는 渴而多飲을 主證으로 胃熱로 인하여 肺陰이 耗損된 所致로 治法은 “清熱瀉火, 生津止渴”이며, 中消는 消穀善飢가 主證으로 熱邪가 脾胃大腸을 薰蒸한 것으로 治法은 “清胃瀉火 養陰潤燥”, 下消는 小便頻數, 如脂膏한 것이 主證으로 熱邪로 인하여 腎陰이 손상된 所致로 治法은 “清熱生津, 滋陰補腎”이다. 만약 消渴이 치료되지 않고 오래되면 轉變하여 目無見, 手足偏廢, 癰疽, 雀目, 內障瘡瘍이¹⁰ 발생한다고 하여 당뇨병으로 인한 합병증을 인식하고 있다.

白僵蠶 또는 누에의 당뇨병에 대한 실험연구로는 김 등¹⁴의 혈당강하와 인슐린 농도상승에 대한 보고, 김¹⁵ 등의 혈당강하 및 비만과 고지혈증에 대한 효과, 조¹⁶ 등의 혈당, 지질의 강하, 혈중 인슐린 농도의 저하, 정¹⁷ 등의 혈당강하 및 α -glucosidase 효소 활성 억제, 이¹⁸는 혈당강하 및 인슐린 농도의 상승 및 내부장기의 중량에 대해, 권¹⁹ 등의 혈당강하와 혈중 인슐린 농도 상승과 지질저하에 관한 연구 등이 있지만, 당인산화 과정이나 polyol pathway와 관련된 효소 활성 측정 연구는 없다.

실험동물에 streptozotocin을 투여한 후 urine strip으로 검사를 하여 당뇨병 모델동물을 선정하였다. 항암제로 사용되는 streptozotocin은 췌장의 랑게르한스섬 β -세포를 파괴하여 insulin의 분비를 저하시키고 이로 인해서 혈당을 상승시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있다²⁰. 白僵蠶 추출물을 당뇨병 모델동물에 15일간 경구 투여하면서 체중의 변화를 관찰하였을 때 당뇨병군에서 현저하게 감소하다가 白僵蠶 투여로 유의성 있게 증가함을 관찰할 수 있었다. 또한, 혈액 중의 glucose 함량은 당뇨병 모델군에서 현저하게 증가하던 것이 白僵蠶 투여로 정상수준으로 회복되는 경향을 알 수 있었다. 이러한 현상은 白僵蠶을 이용

한 다른 실험결과와도 일치한다^{13,19}. 특히 이¹⁸, 권¹⁹ 등의 실험에 의하면 누에분말 투여량에 의존적인 혈당강하 효과를 나타냈었다.

그러나 이러한 白僵蠶의 혈당강하 효과에 대한 정확한 기전에는 논란이 있다. 김¹⁵ 등에 의하면 누에 추출물질의 혈당강하 작용은 인슐린의 분비에 의한 것이 아니라 소장, 대장, 소장, 대장에서 다당류가 단당류로 분해되는 과정에 관여하는 효소인 α -glycosidase에 경쟁적으로 결합하여 효소 활성을 억제함으로써 장내에서 당질의 소화와 흡수를 지연시켜 식후 급격한 혈당상승과 이에 따른 불필요한 인슐린 분비를 억제해 주는 것으로 설명하였다. 따라서, 실험결과에 의하면 인슐린 농도가 누에 분말 투여군에서 오히려 낮게 나타났으며 조¹⁶ 등의 실험에서도 같은 결과가 나타났다.

하지만 윤¹³ 등, 김¹⁴ 등, 이¹⁸의 실험에서는 오히려 白僵蠶 투여군에서 혈중 인슐린 농도가 유의하게 높게 나타났으며, 특히 이¹⁸의 실험에서는 농도의존적인 혈중 인슐린의 증가가 나타났다. 이¹⁸는 그 이유를 누에가 췌장의 파괴를 억제하면서 랑게르한스섬 β -cell에서의 인슐린 분비를 촉진시키는 것으로 설명하였다.

혈액중의 insulin 함량을 측정하였을 때 당뇨병 모델동물에서 현저하게 감소하던 혈중 insulin의 함량이 오히려 白僵蠶의 투여로 정상수준 가깝게 회복되어 윤¹³ 등, 김¹⁴ 등, 이¹⁸의 실험과 동일한 경향을 보였다. 따라서 白僵蠶이 췌장에서의 인슐린 분비를 촉진시킨 것으로 보여졌다. 그러나 白僵蠶이나 누에 투여시 혈당 저하에 대한 기전과 혈중 인슐린 농도의 변화에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Glucose는 세포내 이용의 첫 단계로 glucokinase 또는 hexokinase에 의해 glucose-6-phosphate로 된다. 이들 두 효소는 포도당을 기질로 사용하고 만들어지는 산물도 같아서 유사한 작용을 하지만 중요한 차이점은 hexokinase는 glucokinase에 비해 낮은 포도당 농도에서도 활성을 나타내며, glucose-6-phosphate에 의해 억제되는 것이다. Glucose-6-phosphatase는 과잉의 glucose-6-phosphate를 glucose로 전환시켜 에너지원으로 사용할 수 있도록 하는 효소이다²¹. 즉 glucokinase 또는 hexokinase의 작용과 glucose-6-phosphatase의 작

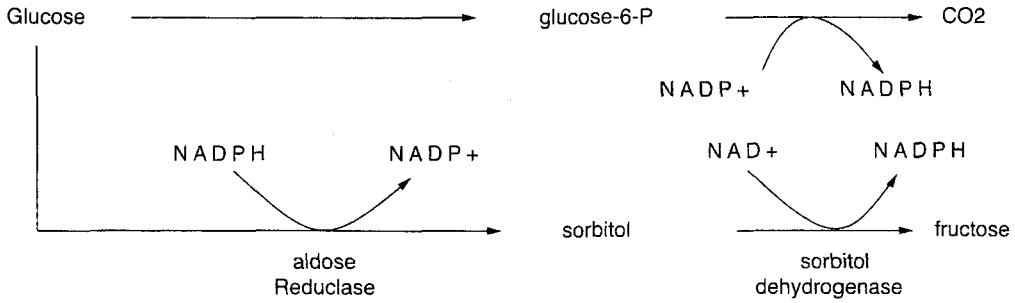


Fig. 9. Polyol pathway

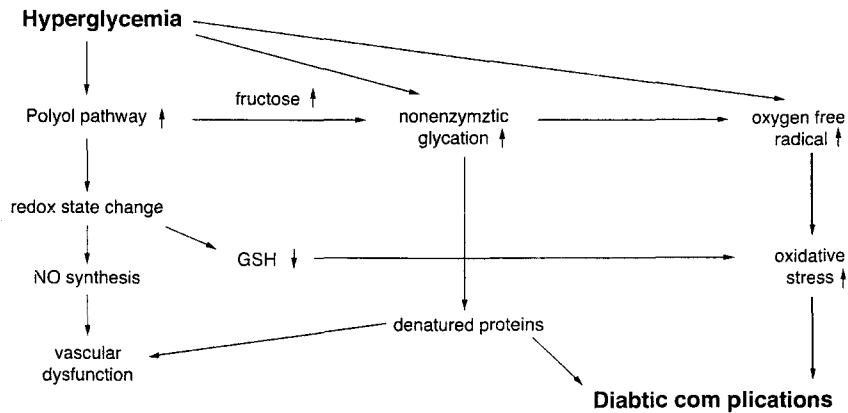


Fig. 10. Putative factors involved in the pathogenesis of diabetic complications

용은 서로 상반된 작용을 함으로서 체내에서 glucose 이용의 균형을 이루도록 하는 효소들이다.

Streptozotocin으로 유도한 당뇨병 모델군에 白蠟蠟을 투여하여 glucokinase 및 hexokinase 효소들의 활성변화를 관찰하였을 때, 당뇨병 모델동물에서는 현저하게 억제되었으나 白蠟蠟의 투여로 인해서 유의성 있게 증가됨을 관찰할 수 있었다. 또한, 당뇨병 모델에서는 유의성 있게 증가하던 glucose-6-phosphatase 활성이 白蠟蠟 투여로 인해 정상수준 가깝게 억제됨을 관찰할 수가 있었다. 이러한 성적으로 보아 白蠟蠟은 glucose 이용에 관여하는 주요 효소들의 활성을 정상적으로 조절시킴으로서 비정상적인 당대사 반응을 정상화시켜 주고 있음을 알 수 있었다.

고혈당 상태가 오랜 기간 지속되면 체내에서 당뇨병과 관련된 많은 합병증이 나타나는데 이러한 합병증의 발현과 밀접한 관련이 있는 당대사 과정이 polyol pathway이다. Polyol pathway는 aldose reductase 와 sorbitol dehydrogenase에 의해서 반응이 이루어지게 된다^{31,32}(Fig. 9).

Polyol pathway를 통해 sorbitol과 과당이 생기게 되면 세포외로의 유출이 어렵게 되어 세포내 삼투압이 올라가 결국 당뇨병 합병증으로 알려진 백내장, 망막병증, 신경병증이 진행하게 된다(Fig. 10). 또한, 고혈당이 지속되면 세포내에 환원형 glutathione의 농도가 감소되는데 환원형 glutathione을 보충하는데 관여하는 glutathione reductase 활성이 polyol pathway의 adose

reductase에 의한 NADPH 이용증가에 의해 제한을 받게 된다. 즉 polyol pathway가 가동되면 oxidative stress 현상이 나타나게 된다.

당뇨병 모델동물에 白蠟蠶을 일정기간 투여하면서 aldose reductase와 sorbitol dehydrogenase 활성변화를 관찰하였을 때, 이들 두 효소 모두 당뇨병 모델동물에서 유의성 있게 활성이 증가하였으나 白蠟蠶의 투여로 인해서 효소활성이 정상수준에 가깝게 억제되는 것을 알 수 있었다. 이는 白蠟蠶 추출물이 polyol pathway의 비정상적인 반응을 개선시켜 oxidative stress로 인한 췌장 조직의 손상을 억제시킬 수 있을 것으로 생각되어지며 이로 인해서 항당뇨 효과가 나타나는 것으로 유추할 수가 있다. 또한 polyol pathway를 개선시킴으로써 당뇨병 합병증 등을 예방할 수 있을 것으로 생각되어진다.

이상의 실험결과들을 종합하여 볼 때 白蠟蠶 추출물은 췌장의 베타세포 기능을 강화시키고 glucose 이용에 관여하는 glucokinase, hexokinase 및 glucose-6-phosphatase 활성을 조절하여 당뇨병의 발현을 억제시키는 것으로 생각되어지며, 또한 비정상적인 당대사 반응인 polyol pathway에도 관여하여 oxidative stress에 의해서 생길 수 있는 당뇨병 합병증의 발현을 억제시키고, 당뇨병 합병증에 대해서도 효과를 나타내 강한 항당뇨 효과를 나타내는 것으로 생각되어진다. 더욱이 이 등³⁾에 의하면 白蠟蠶은 신장조직에서 항산화 효과가 있으며 신장세포의 손상을 막아준다는 보고도 있다. 따라서 白蠟蠶의 혈당강하의 정확한 기전 및 혈중 인슐린 농도에 대한 작용과 당대사에 관여하는 효소 활성에 대한 구체적인 기전과 당뇨 합병증 억제 등과 관련된 구체적인 연구가 필요할 것으로 생각되어진다.

V. 결 론

흰쥐에 streptozotocin을 이용하여 당뇨병을 유발한 후 당뇨병과 그 합병증의 유발과 관련된 parameter를 관찰하여 白蠟蠶의 당뇨병 치료효과를 검토하였다.

Streptozotocin 주사후 유의성 있게 체중 감소와 혈

중 glucose 함량 증가가 있었지만 白蠟蠶 추출물의 투여후 체중과 혈중 glucose 함량이 정상수준 가깝게 회복되었다. 이는 streptozotocin에 의해 혈중 insulin 함량이 현저히 감소하였으나 白蠟蠶 추출물을 투여한 경우에 유의성 있게 증가($p<0.05$)된 것과 관련이 깊다. 또한 streptozotocin에 의해 유의성 있게 억제되던 간조직의 glucokinase 및 hexokinase 활성도 白蠟蠶 추출물의 투여로 인해서 현저하게 증가되었다($p<0.05$). 한편, streptozotocin에 의해 비정상적으로 증가하던 glucose-6-phosphatase, aldose reductase 및 sorbitol dehydrogenase 활성은 白蠟蠶 추출물의 투여로 인해서 현저하게 억제되었다($p<0.05$).

이상의 결과들을 종합하여 볼 때, 白蠟蠶추출물은 당인산화과정에 관여하는 효소들의 활성을 조절하여 당뇨병의 발생을 억제시키며, 또한 polyol pathway에도 관여하여 당뇨병 합병증의 발생을 억제하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 대한당뇨병학회. 당뇨병학. 2판. 서울: 고려의학; 1998, p. 1-5, 15-43, 149-69, 475-87, 609-16.
2. 김경식, 최춘호, 이도영, 김웅진. 우리나라 농촌 주민의 당뇨병에 관한 역학적 연구. 당뇨병 1972;1(1):17-24.
3. 신찬수, 김현규, 김원배, 박경수, 김성연, 조보연 등. 경기도 연천지역에서 당뇨병의 발생률. 당뇨병 1996;20(3):264-72.
4. 이문규, 정영환, 원암우, 이기업, 최수봉, 김성연 등. 당뇨병의 합병증에 대한 고찰. 당뇨병 1983;(1):77-84.
5. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. Diabetes 1999;48:1-9.
6. Helgason T, Jonasson MR. Evidence for a food additive as a cause of ketosis-prone diabetes. Lancet 1981;2:716-20.
7. 두호경. 동의신계내과학(하). 2판. 서울: 동양의학연구원; 1993, p. 1131-41.
8. 余永譜. 中醫治療內分泌代謝病. 浙江科學技術出版社; 1992, p. 239, 243.
9. 陳夢雷. 醫部全錄 6. 서울: 성보출판사; 1982, p. 1311-2.
10. 朱震亨. 丹溪心法. 서울: 대성문화사; 1982, p. 503-9.

11. 柳長華 主編. 明清名醫全書大成 李時珍醫學全書. 北京: 中國中醫藥出版社, 2003, p. 156, 1279-82.
12. 신민교. 원색임상본초학. 서울: 영림사; 1991, p. 663-4.
13. 윤수홍, 하헌. Streptozotocin으로 유발된 당뇨병에 대한 백강잠의 영향. 한국위생과학회지. 2000;6(1-2):11-22.
14. 金亨奎, 辛吉祚, 曹基湖, 金永錫, 裴亨燮, 李京燮. 繸絲, 白蠶繸絲 및 原蠶蛾의 抗糖尿 作用에 關한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1992;13(1):187-202.
15. 김미선, 조여원, 정성현, 구성자. 고탄수화물 식이 섭취 마우스에서 상엽 및 누에 추출물의 혈당강화 효과. 한국 영양학회지. 1998;31(2):117-25.
16. 조미란, 조여원, 정성현, 류재환. 인슐린 비의존형 (Type II) 당뇨병환자에서 누에분말 섭취가 혈당 및 혈중지질농도에 미치는 영향. 한국영양학회지. 1998;31(7):1139-50.
17. 정성현, 류정화, 김은주, 류강선. 누에와 혈당강화 활성. 경희약대 논문집. 1996;24:95-100.
18. 이희삼. 누에분말에 의한 Alloxan과 Streptozotocin 유발 고혈당 mouse의 혈당강화 효능에 관한 연구. 서울: 서울대학교; 1997.
19. 權寧哲, 金永錫, 裴亨燮. 蠶이 alloxan 투여 家兔의 血糖量에 미치는 영향. 경희대의대의대논문집. 1987;10:189-205.
20. Walker DG, Pary MJ. Glucokinase in liver, Methods in enzymology, Bergmayer ed., 1986, p. 380-89.
21. Swanson MA. Phosphatase of liver. I. Glucose-6-phosphatase, J Biol Chem. 1950;184(2):647-60.
22. Yamaoka T, Nishimura C, Yamashita K, Itakura M, Yamada T, Fujimoto J, et al. Acute onset of diabetic pathological changes in transgenic mice with human aldose reductase cDNA. Diabetologia. 1995;38(3):255-61.
23. Hollmann S. Hoppe-Seyler Thiefelder. Handbuch der physiol und path-chem. Analyse, Springer: Berlin-Heidelberg-New York; 1964, VIa:704.
24. Thompson RH. Colorimetric glucose oxidase method for blood glucose. Clin Chim Acta. 1966;13(1):133-5.
25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1):265-75.
26. 송민선, 유양숙, 김희승. 당뇨병 환자의 치료지시 이행군과 비이행군의 혈당과 만성 합병증 발생비교. 한국보건간호학회지. 2001;15(2):334-41.
27. 강성구. 당뇨병의 합병증. 대한당뇨병 학회. 1998;22(부록2);1-8.
28. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;329(14):977-86.
29. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): Prospective observational study. British Medical Journal(International edition). 2000;321(7258):405-12.
30. Schein P, Kahn R, Gorden P, Wells S, Devita VT. Streptozotocin for malignant insulinomas and carcinoid tumor. Report of eight cases and review of the literature. Arch Intern Med. 1973;132(4):555-61.
31. Pugliese G, Tilton RG, Williamson JR. Glucose-induced metabolic imbalances in the pathogenesis of diabetic vascular disease. Diabetes Metab Rev. 1991;7(1):35-59.
32. Stevens MJ, Dananberg J, Feldman EL, Lattimer SA, Kamijo M, Thomas TP, et al. The linked roles of nitric oxide, aldose reductase and, (Na+,K+)-ATPase in the slowing of nerve conduction in the streptozotocin diabetic rat. J Clin Invest. 1994;94(2):853-9.
33. 이무형, 윤철호, 정지천. 腎臟組織에서 白?蠶 抽出物의 抗酸化 作用에 關한 研究. 동국한의학연구소논문집. 1998;7(1):87-98.