

형질전환 비만모델 수컷 hGHTg rats에서 輕身解脂丸이 혈중 항비만지표에 미치는 영향

정양삼, 총배금, 최승배¹, 김경철², 신순식

동의대학교 한의학연구소 및 한의과대학 방제학교실

1: 동의대학교 자연과학대학 정보통계학,

2: 동의대학교 한의학연구소 및 한의과대학 진단학교실

Abstract

The effects GeongshinhaeGihwan 1(GGT1) has on the hGHTg (human growth hormone transgenic) obese male rats' blood-antiobestic index

Yang Sam Jung, Pei Chin Tsung, Seung Bae Choi¹, Tsung Gyeong Cheol Kim²,
Soon Shik Shin

Research Institute of Oriental Medicine & Department of Formula-ology, College of Oriental Medicine, Dongeui University

1: Department of Computer Science and Statistics, Dongeui University

2: Research Institute of Oriental Medicine & Department of Diagnostics, College of Oriental Medicine, Dongeui University

교신저자 : 신순식

614-052, 부산광역시 부산진구 진리1로 100번지, 동의대학교 한의과대학 방제학교실

Tel : 051-850-7414, E-mail : ssshin@deu.ac.kr,

Corresponding Author: Soon Shik Shin, 100 Jilli 1(il)-lo, Busan jin-gu, Busan 614-052, Department of Prescriptionology, College of Oriental Medicine, Dongeui University.

Tel : 051-850-7414, E-mail : ssshin@deu.ac.kr

접수 : 2005/ 9/ 10 수정 : 2005/ 9/ 15 채택 : 2005/ 9/ 20

Objectives : To find out the effects GGT1, an antiobestic drug widely used in clinics, has on the blood-antiobestic index and the toxicity index using the data from the hGHTg obese male rats. We looked closely into both of the two indices because GGT1 antiobestic effect can happen not only by pharmacological action, but also by its toxicity. Also, we verified the difference in effect between GGT1 and reductil (sibutramine), which has been approved by the FDA of the United States.

Methods : After performing the experiments for 8 weeks on the hGHTg obese male rats divided into three groups: the control group, the GGT1 group, and the reductil (RD) group, we anesthetized the rats with Diethyl ether and took a 3ml blood sample from the heart. Then, after coagulating the blood in room temperature by using the plasma separator, we centrifuged it for 25 minutes in 3,000rpm using the high-speed refrigerated centrifuge. We kept the separated plasma in a deep freezer at -80°C, and repeatedly measured the antiobestic index and the toxicity index twice using the hematology biochemistry analyzer. Also, in order to judge the indirect toxicity index, we separated liver from kidney and observed them.

Results : When we looked at the results of the analysis of covariance on the measuring elements related to the antiobestic index (TC, HDL, LDL, TG, and GLU), there was no significant difference among the groups in all measuring elements. Also, the results of the analysis of covariance on the two groups (RD group and GGT1 group) showed that the p-values had no significant difference under the level of significance 0.05. When we looked at the result of the analysis of covariance on the measuring elements related to the toxicity index (GOT, GPT, GGT, CREA, UA, ALB, and TP), we could see that the p-values in GPT, ALB, and TP have a significant difference among the groups. Also, the results of the analysis of covariance about the measuring elements related to the toxicity index on both groups, RD group and GGT1 group, showed no significant difference in the p-values of all of the measuring elements in the two groups, RD and GGT1 group.

Conclusions : In conclusion, through this experiment, the safety of GGT1 has been approved, and although the verification on its medical effect has not been clearly approved, when we consider the fact that it belongs to the same group as reductil, an antiobestic drug approved by the FDA of the United States, we could indirectly verify that GGT1 has an antiobestic effect. We believe that when doing a sample design for a future experiment, it needs to be performed on a greater sample size based on the power analysis that needs to be performed primarily in experiments, and a more accurate verification is needed through more systematic experiment plans.

Key Word : GGT1 (GyeongshinhaeGihwan 1), reductil (sibutramine), hGHTg obese male rats, obesity, triglyceride, cholesterol

1. 緒 論

輕身解脂丸 (GyeongshinhaeGihwan 1, GGT¹)은 太陰人의 調理肺元湯¹⁾加減方으로 임상에서 항비만제로 다수 활용되고 있다. 그럼에도 불구하고 이 GGT1의 항비만 효과에 대한 실험적인 연구는 전무한 실정이다. 에너지섭취와 에너지소비의 불균형으로 에너지섭취가 에너지소비보다 크게 될 때 비만이라고 한다. 항비만효과를 입증하는 방법 중의 하나는 혈중 콜레스테롤, 중성지방 등 항비만지표와 독성지표를 측정하여 이를 분석하는 것이다²⁾. 이러한 방법을 이용하는 것은 혈중 항비만지표와 독성지표의 측정이 간단하면서도 중요한 항비만효과를 입증하는 지표가 되기 때문이다.

본 연구에서는 형질전환 비만모델 수컷 hGHTg (human growth hormone transgenic) 쥐를 이용하여 GGT1의 투여가 비만에 어떤 영향을 미치는 지에 대해서 알아보고, 미국 FDA에서 승인된 리덕틸과는 어떤 차별된 효과가 있는지를 검증하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시험물질

시험물질은 양약제제인 리덕틸 (reductil, sibutramine)과 한약제제인 GGT1을 사용하였고, 대조물질은 autoclaved water (멸

균수)를 사용하였다. 리덕틸은 동의의료원에서 처방을 받아 일반약국에서 구입하였고, GGT1은 『東醫壽世保元』의 調理肺元湯¹⁾을 加減한 처방으로 화림제약(한국)에서 구입한 뒤에 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선하고 분말하여 실험에 사용하였다. 투여량은 사람의 임상복용량을 기준으로 리덕틸 (10mg/kg 체중)과 GGT1 (3.2g/kg 체중)을 체중 kg당 용량별로 경구투여하였다.

Table 1. The composition of GGT1

Ingredient		%
麥門冬	<i>Liriope Tuber</i>	21.28
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	21.28
薏苡仁	<i>Coicis Semen</i>	21.28
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	10.64
蘿藦子	<i>Raphani Semen</i>	10.64
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	8.50
大黃	<i>Rhei Rhizoma</i>	3.19
海藻	<i>Sargassum</i>	3.19
Total amounts		100

2.2. 실험동물

공시동물로서는 사람성장호르몬 (human growth hormone, hGH)을 도입하여 생산된 형질전환 비만동물모델인 16주령의 수컷 쥐 (Wistar-imamichi rat strain) 12마리를 사용하였다. 각 그룹 당 4마리를 체중 범위에 따른 무작위법에 의하여 군 (group) 분리를 실시하여 실험에 사용하였다.

사육환경은 온도 $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 환기 횟수 15~17회/hour, 조도 150~300 lux, 그리고 조명은 12시간 명암 (점등: 06:00, 소등: 18:00)으로 조정하여 실험 기간동안 일정하게 SPF (specific pathogen free) 상태로 유지하였다. 고형사료 (Harlan, U.S.A.)와 물은 자유 급이, 급수시켰으며, 부검 및 채혈 전 12시간 절식시켰다.

2.3. 실험군 및 투여방법

군 (group)당 4마리 수컷 (male)을 공시하였으며, 리덕틸은 10mg/day/0.4ml/human 용량으로, GGT1은 3.2g/day/0.4ml/human의 용량으로 경구투여하였다 (Table 2). 대조군은 0.4ml의 autoclaved water를 경구투여하였으며, 실험군 (리덕틸, GGT1)은 각 군별 체중에 상응하게 약물을 0.4ml에 희석하여 경구투여하였다.

Table 2. Experimental groups.

Group	Number of Head	Sex	Dose (mg/kg BW)
Control	4	Male	0
Reductil	4	Male	0.008mg/0.4ml
GGT1	4	Male	22mg/0.4ml

2.4. 연구방법

혈액 채취는 Diethyl ether로 마취한 다음 심장에서 혈액 3ml을 채취하였으며, 혈장분리관 (VP3081R, MEDIGENE CO., LTD. Korea)을 이용하여 혈액을 실온에서 응고시킨 후, 냉장고속원심분리기 (HA-1000-3, Hanil, Korea)를 이용하여 3,000 rpm에서 25분간 원심분리하였다. 분리된 혈장은 deep freezer (-80°C)에 보관하고 혈액생화학분석기 (7020, Hitachi, Japan)를 사용하여 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase), GGT (gamma-glutamyl transferase), TC (total cholesterol), HDL (high density lipoprotein)-cholesterol, LDL (low density lipoprotein)-cholesterol, TG (triglyceride), GLU (glucose), CREA (creatinine), UA (uric acid), ALP (alkaline phosphatase), ALB (albumin), TP (total protein) 등을

각각 2회 반복 측정하였다. 또한, 간접적인 독성지표를 판단하기 위하여 간장과 신장을 떼어낸 뒤에 이들을 관찰하였다.

위의 측정요소들은 다음의 두 가지 지표로 구분할 수 있다. 첫째, 투여약물 (리덕틸, GGT1)이 개체 (쥐)에 대한 비만 치료제로서 적합한지에 대한 평가지표인 항비만지표로서 이와 관련된 측정요소는 TC, HDL, LDL, TG, GLU이다. 둘째, 유해성 여부를 평가하는 독성지표로서 이와 관련된 측정요소는 GOT, GPT, GGT, CREA, UA, ALB, TP이고, 이것들은 신장기능장애와 관련된 측정요소는 CREA, UA이고, 간장기능장애와 관련된 측정요소들은 GOT, GPT, GGT, ALB, TP이다.

본 실험은 식품의약품안전청이 발간한 『독성·약리·병리 시험 표준작업지침서』 (II)의 「혈중 중성지방, 콜레스테롤 측정법을 이용한 항비만물질 효력검색법」

2)에 따라 실험을 진행하였다.

3. 결과

2.5. 통계처리

주어진 자료의 분석을 위해서 다음의 분석 방법을 사용하여 분석하고, 그 결과를 제시하였다. 먼저 항비만지표와 독성지표를 구성하고 있는 각 측정요소들의 특성을 알아보기 위하여 탐색적 자료분석을 실시하고, 각 지표들의 측정요소들에 대한 그룹 간 (약물 투여군과 대조군) 사이의 유의차를 알아보는 데 있어서 초기체중이 분석결과에 영향을 줄 수 있기 때문에 초기체중을 공변량으로 하여 공분산분석을 실시하였다. 공분산분석을 하기 이전에 기본가정의 만족 여부를 확인하기 위하여 각 그룹별 측정요소에 대한 Shapiro-Wilk에 의한 정규성 검토와 공분산분석을 위한 가정인 기울기의 동일성 여부를 검토하였다. 만약 정규성 검토 결과 정규성 가정을 만족하지 않은 경우는 비모수적 분석방법인 크루스칼-왈리스 (Kruskal-Wallis) 검정법을 사용하였다 (이 경우 비모수적 분석방법의 사용제한으로 초기체중은 고려하지 않았다.). 또한 본 연구에서 사용된 모든 자료의 분석은 통계 전문분석패키지인 SPSS (statistical package for social science) 버전 12.0을 이용하였다.

3.1. 탐색적 자료분석

의학적인 견지에서 항비만지표 (TC, HDL, LDL, TG, GLU)와 독성지표 (GOT, GPT, GGT, CREA, UA, ALB, TP)의 측정요소들에 대하여 탐색적 자료분석을 실시하였다. 각 측정요소에 대한 기술통계량이 table 3에 주어져 있다. 항비만지표와 독성지표의 측정요소들에 대한 평균과 신뢰구간의 측면에서 GGT1군을 위주로 살펴보았다.

탐색적 자료분석의 견지에서 항비만지표와 관련된 측정요소들 TC, HDL, LDL, TG, GLU 중에서 TC, LDL에서 비만 효과가 있음을 보이고 있고, 나머지 측정요소에 대해서는 RD 또는 대조군이 비만 효과가 있는 것으로 나타났다. GGT1의 평균은 GLU만이 전체 평균의 95% 신뢰구간에서 벗어나고 있지만 대부분 포함되어 있음을 알 수 있다. 이 독성지표와 관련된 측정요소들 중에서 GGT1군의 평균이 전체 평균의 95% 신뢰구간을 벗어나고 있는 측정요소 (GPT, GGT)가 있기는 하지만 그 정도는 미미하며, 안전성과 관련되어 있는 측정요소들의 평균 수치들 모두는 안전성의 정상범위³⁾에 들어 있기 때문에 GGT1에 대한 안전성은 확보되었다고 할 수 있다.

Table 3. Description Statistics.

구분	최소값	최대값	평균				전체평균의 표준오차	전체평균의 95%신뢰구간	
			Con	RD	GGT1	전체		하한	상한
GOT	106	284	198.50	200.75	175.50	191.58	14.92	158.74	224.42
GPT	78	125	92.25	91.50	107.50	97.08	4.62	86.92	107.25
TC	152	405	215.25	266.00	202.50	227.92	17.98	188.34	267.50
TG	186	782	487.75	396.50	587.25	481.50	51.19	368.84	594.16
HDL	61	97	80.25	82.25	75.75	79.42	2.81	73.24	85.59
ALP	8	43	17.25	14.50	21.25	17.67	2.74	11.63	23.70
GGT	-4.2	6.2	-2.40	-0.83	-0.02	-1.08	0.85	-2.95	0.78
CREA	0.5	0.8	0.55	0.60	0.63	0.59	0.03	0.53	0.65
GLU	198	418	231.25	219.00	295.00	248.42	17.03	210.94	285.89
LDL	8	36	13.50	19.00	12.75	15.08	2.06	10.55	19.62
UA	1.1	3.2	2.23	1.78	2.20	2.07	0.19	1.65	2.48
ALB	3.5	5.1	3.95	3.95	4.38	4.09	0.13	3.80	4.38
TP	9	12	9.60	9.90	10.43	9.98	0.25	9.42	10.53

CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

3.2. 혈액생화학분석

모든 측정요소에 대해서 그룹 간 차이 유무를 검정하기 위해서 먼저 정규성 검토를 한 결과 CERA의 Con군 (p 값 : 0.024), UA의 RD군 (p 값 : 0.001)에서 정규성을 만족하지 않은 것으로 나타났기 때문에 이 두 측정요소에 대해서만은 비모수적 분석 방법인 크루스칼-왈리스 (Kruskal-Wallis) 방법을 사용하여 검정하였다. 따라서 CREA와 UA를 제외한 각 요소에 대해서 각 군 (Con, RD, GGT1)의 차이의 유의성 검정을 위하여 초기체중을 공변량으로 공분산분석 결과를 제시하고, CREA와 UA은 비모수적 분석방법인 크루스칼-왈리스 검정의 결과를 제시하였다. 그리고 각 측정요소에 제시되어 있는 그림은 각 군에 대한 분포를 보여주기 위한 것이다.

가) 혈중 AST (Aspartate aminotransferase: GOT) 측정

아스파르트산 아미노기 전달 효소 (AST)는 간장독성과 심장의 질환을 진단하는데 있어서 중요한 지표로 사용된다. 간장 조직파괴에 의해 관동맥이 지방질의 침착으로 폐쇄되면 국소적으로 심한 산소결핍이 되어 최종적으로는 심근조직이 국부적으로 변성하게 된다. 이 과정을 심근경색증 (myocardial infarction)이라고 부르며, 이와 같은 상해로 많은 효소 중에서도 아미노기 전달효소가 손상된 심근세포로부터 유래되어 혈장내의 AST 양을 증가시킨다. 본 실험에서 사람성장호르몬 (hGH)을 도입하여 생산된 비만모델인 Wistar-imamichi 형질전환 rat에 약물 (리덕틸, GGT1)을 1회/day 경구투여하였으며, 8주후 혈장 내 AST의 양을 측정한 결과이다. AST의 측

정 결과 GGT1군이 다른 군에 비하여 넓게 퍼져 있음을 볼 수 있다 (Fig. 1). 이에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정을 만족하고 (각 그

룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.903), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.761로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

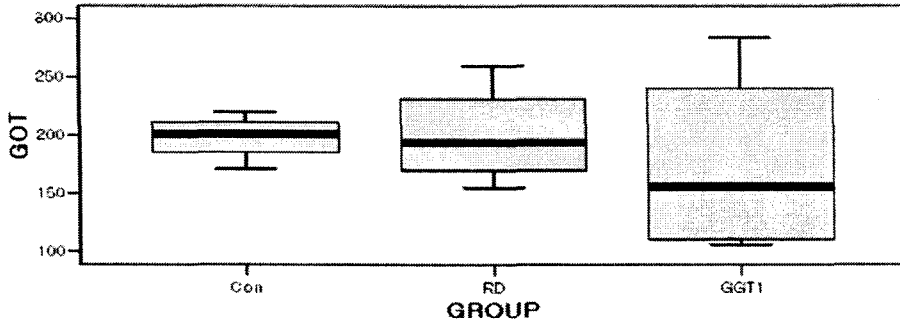


Fig. 1. Box-plot of GOT. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

나) 혈중 ALT (Alanine aminotransferase: GPT) 측정

알라닌 아미노기 전달효소 (ALT)는 전염성간염 (infectious hepatitis)에서 그 양이 증가되며, 간질환 때에는 AST의 활성도 또한 높아진다. 그러므로 심장과 간장의 질환을 임상에서 진단하는데 있어서 ALT와 AST는 매우 중요하다. 8주후 혈장 내 ALT의 양을 측정한 결과, 대조군과

RD군에 비해 GGT1군이 평균 수치상 높게 나타났음을 볼 수 있다 (Fig. 2). 이에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.821), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.030으로 그룹 간에는 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

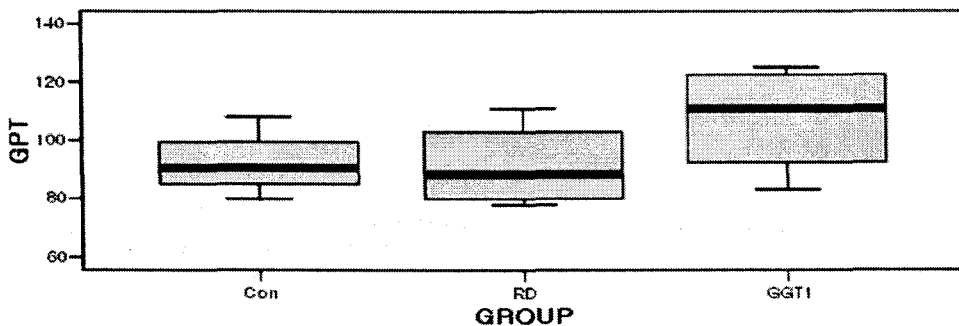


Fig. 2. Box-plot of GPT. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

다) 혈중 Gamma-glutamyl transferase (GGT) 측정

hepatobiliary system의 이상으로 이 효소가 증가하는데, 특히 폐쇄성 황달 (obstructive jaundice), hepatoma에서 현저히 증가한다. 알코올 중독자에서 활성이 증가하는 것으로 보아 alcohol-induced liver disease의 진단에도 사용되며, 항우울 증제 장기복용 환자의 경우에도 증가한다. 여러 조직에서 존재하나 신장, 췌장, 간장

에서 주로 일어난다. GGT에 대한 평균 수치는 세 군이 모두 비슷한 결과를 얻었음을 알 수 있다 (Fig. 3). 이에 대한 공분산 분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.287), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.784로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

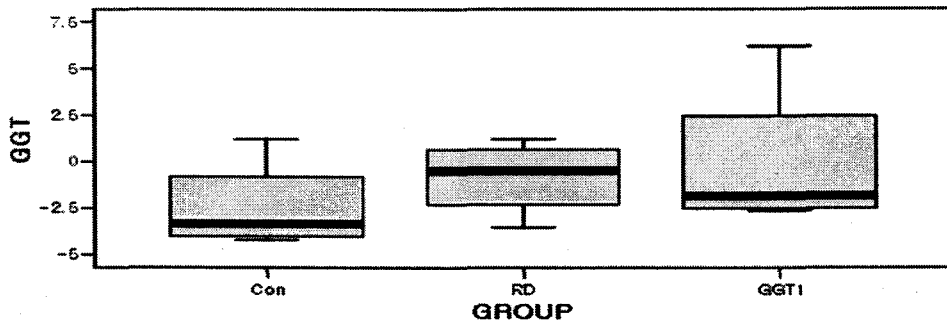


Fig. 3. Box-plot of GGT. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

라) 혈중 Total cholesterol (TC) 측정

혈장 내 total cholesterol은 비만원인의 근원효소로서 그 평균 수치는 세 군이 모두 비슷한 결과를 얻었음을 알 수 있다 (Fig. 4). 이에 대한 공분산분석 결과, (1)

각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.083), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.332로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

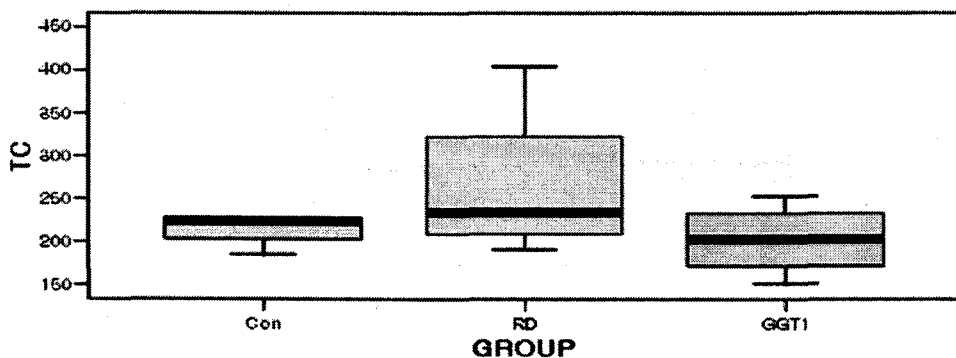


Fig. 4. Box-plot of TC. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

마) 혈중 Triglyceride (TG) 측정

혈장 내 triglyceride도 total cholesterol 과 마찬가지로 비만원인의 근원으로서, GGT1군에서 약간 증가하는 경향을 보였으나 (Fig. 5), 이에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정

을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호 작용에 대한 p값 : 0.622), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.360으로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

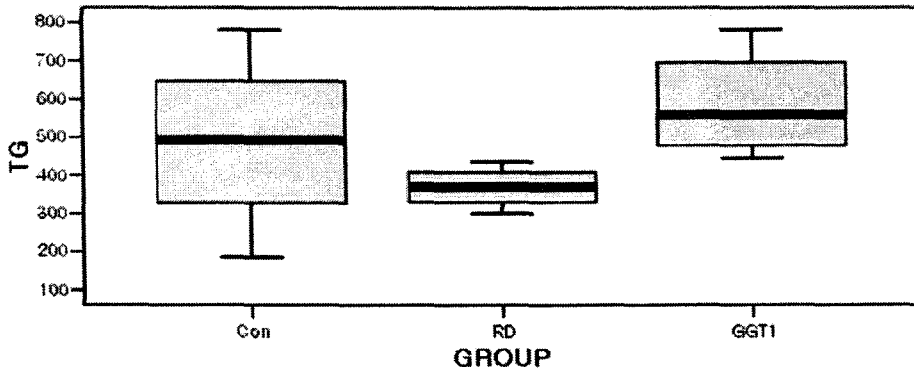


Fig. 5. Box-plot of TG. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

바) 혈중 HDL과 LDL 측정

혈장 내 HDL과 LDL의 측정결과 GGT1은 HDL에서 다른 군보다 낮은 평균 수치를 보이고 있고 (Fig. 6, 상), LDL에서는 다른 군과 평균 수치상 별 차이가 없는 것으로 보여 진다 (Fig 6, 하). HDL에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.198),

(2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.048로 그룹 간에는 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 그리고 LDL에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.092), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.436으로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

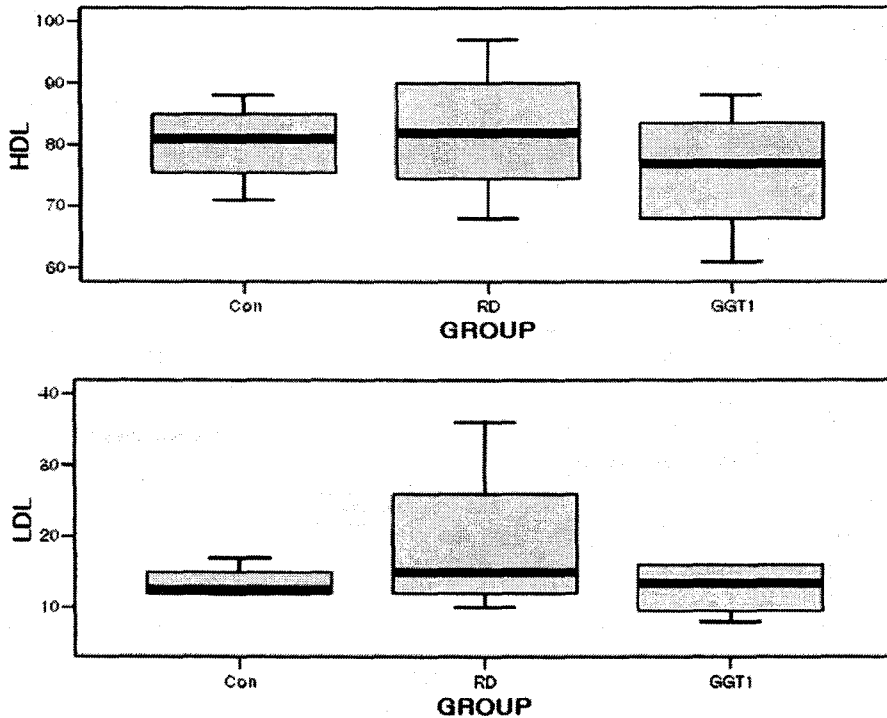


Fig. 6. upper : Box-plot of HDL-cholesterol, lower : Box-plot of LDL-cholesterol. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

사) 혈당 (Glucose) 측정

혈장 내 혈당의 양은 GGT1군에서 증가하는 경향을 보였고, glucose 농도가 정상 수치 (50~135mg/dl)에 비하여 증가한 이유는 외인성 유전자를 도입한 비만모델인 형질전환 랫드이기 때문으로 실험에 사용된 랫드에서의 glucose 농도는 정상 범위내의 수치로 추정된다. GLU의 측정결과 GGT1

군이 다른 군에 비하여 넓게 분포하고 있고, 평균 수치는 비슷하게 나타났다 (Fig. 7). 이에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.289), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.116으로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

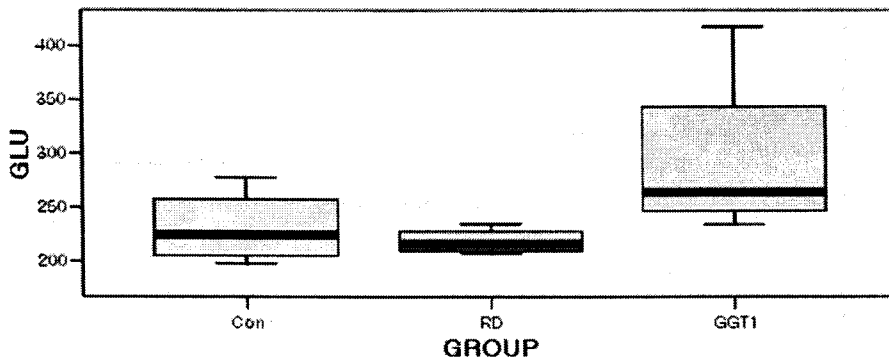


Fig. 7. Box-plot of GLU. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

아) 혈중 Creatinine (CREA) 측정

혈장 내 creatinine의 양에 대한 평균 수치는 RD에서 모든 개체에서 같은 수치 (0.60)가 얻어졌고, GGT1은 다른 군보다 넓게 퍼져 있음을 볼 수 있다 (Fig. 8). 이

에 대한 그룹 간 유의한 차이를 보기 위하여 비모수적인 검정방법인 크루스칼-왈리스 (Kruskal-Wallis) 검정을 실시하였다. 그 결과 p값이 0.528로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

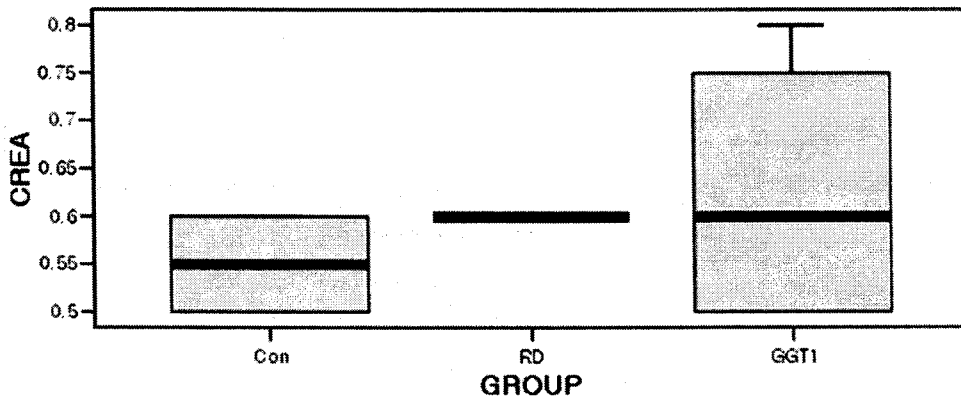


Fig. 8. Box-plot of CREA. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

자) 혈중 Uric acid (UA) 측정

혈장 내 uric acid의 평균수치는 RD군에서 다른 군에 비해서 낮은 수치를 보이고 있다 (Fig. 9). 그룹 간 유의한 차이를 보기 위하여 비모수적인 검정방법인 크루

스칼-왈리스 (Kruskal-Wallis) 검정을 실시하였다. 그 결과 p값이 0.382로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

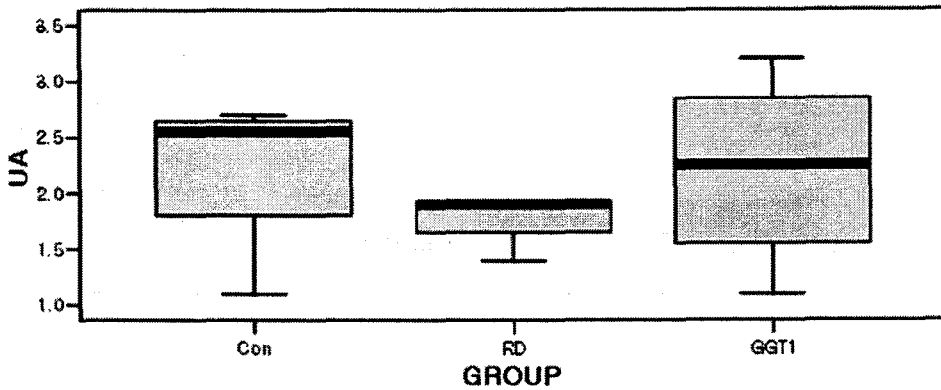


Fig. 9. Box-plot of UA. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

차) 혈중 알부민 (Albumin) 측정

혈장 내 알부민의 양은 GGT1이 다른 군보다 다소 높은 평균 수치를 보이고 있다 (Fig. 10.). 이에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성 가정

을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.515), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.015로 그룹 간에는 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

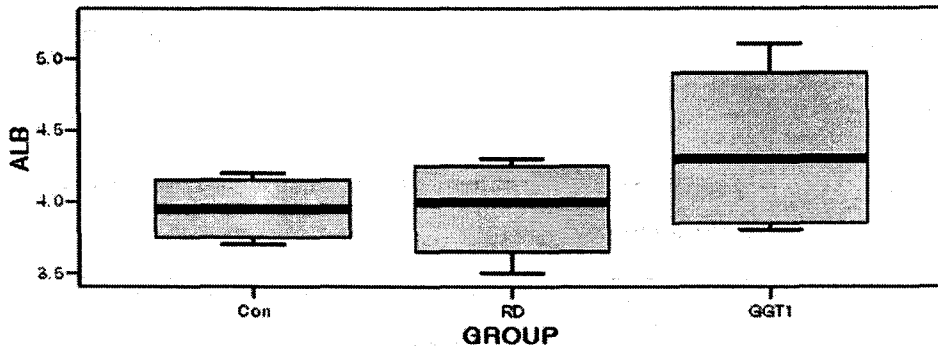


Fig. 10. Box-plot of ALB. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

카) 혈중 Total protein (TP) 측정

혈장 내 총 단백질의 양에 대한 평균 수치는 GGT1이 다른 군보다 전체적으로 넓게 퍼져 있고, 평균 수치는 다소 높게 나타났다 (Fig. 11). 이에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의 동일성

가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p값 : 0.709), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p값이 0.004로 그룹 간에는 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

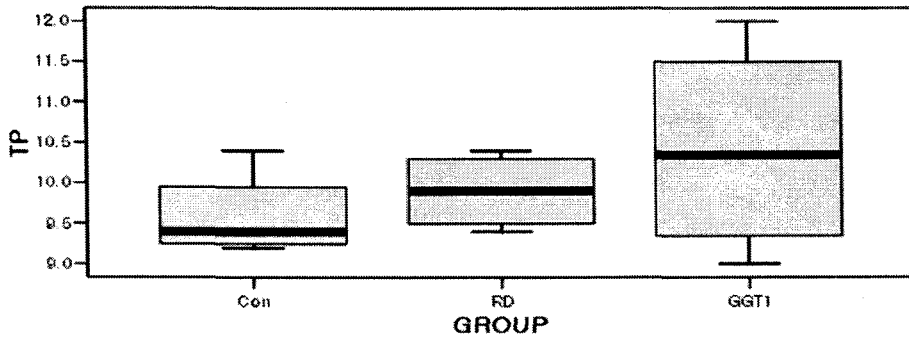


Fig. 11. Box-plot of TP. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

타) 혈중 alkaline phosphatase (ALP) 측정

혈장 내 총 알카린의 양에 대한 GGT1의 평균 수치는 다른 군과 별 차이가 없음을 볼 수 있다 (Fig. 12). 이에 대한 공분산분석 결과, (1) 각 그룹에 대한 기울기의

동일성 가정을 만족하고 (각 그룹과 공변량과의 교호작용에 대한 p 값 : 0.187), (2) 각 그룹 간의 차이검정 결과 p 값이 0.534로 그룹 간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

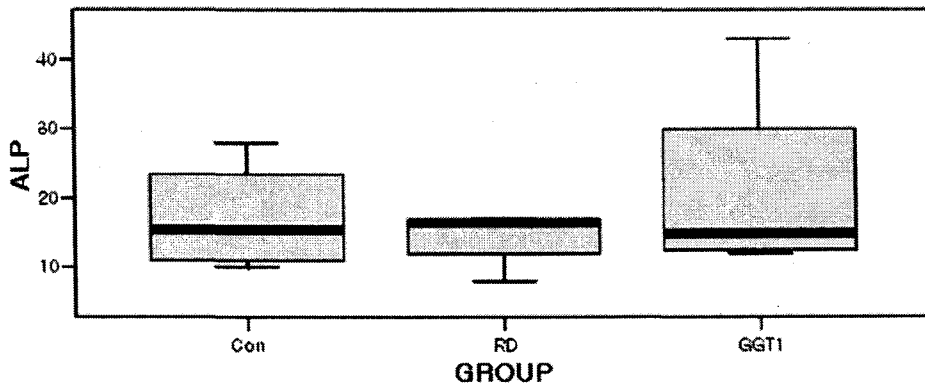


Fig. 12. Box-plot of ALP. CON, Control; RD, Reductil; GGT1, GyeongshinhaeGihwan 1

4. 고찰

형질전환 비만모델 수컷 hGHTg 쥐를 이용하여 GGT1의 투여가 혈중 항비만지표와 독성지표에 미치는 영향에 대해서 알

아보았다. GGT1의 항비만효과가 약리작용에 의한 경우도 있지만 이의 독성으로도 항비만효과가 생길 수 있기 때문에 두 지표를 모두 살펴보았다. 그리고 GGT1이 미국 FDA에서 승인된 리덕틸과는 어떤 차별된 효과가 있는지를 검증하였다.

혈장 중에 있는 각종 효소활성을 측정하는 가장 중요한 이유는 독성의 판단기준에 매우 중요한 지표이기 때문이다. 특히, 설치류에서 세포내 손상은 사람 조직에서의 손상 또는 생리적 변화와 유사한 경향을 나타내어 이의 예측에 중요한 지표가 된다. 조직파괴에 의해 ALP, GOT 등이 증가하며, 특히 GPT 효소가 간장손상에 의하여 증가한다. 따라서 간장과 신장의 독성평가로서 GOT, GPT, TC, GGT, HDL, LDL, TG, GLU, CREA, UA, ALB, TP 등을 측정하였다. 이러한 측정요소들을 항비만지표 (TC, HDL, LDL, TG, GLU)와 독성지표 (GOT, GPT, GGT, CREA, UA, ALB, TP)로 구분하여 항비만 효과와 독성에 대한 안전성 평가를 하였다.

탐색적 자료분석의 결과 항비만지표와 관련된 측정요소들 TC, HDL, LDL, TG, GLU 중에서 TC와 LDL에서 항비만 효과가 있음을 보이고 있고, 나머지 측정요소에 대해서는 RD 또는 대조군이 항비만 효과가 있는 것으로 나타났다. GGT1의 평균은 GLU만이 전체 평균의 95% 신뢰구간에서 벗어나고 있지만 대부분 포함되어 있음을 알 수 있다. 이것은 대부분의 측정요소들의 측정값들이 극단값을 포함하고 있지 않음을 의미한다. 독성지표와 관련된 측정요소들 중에서 GGT1군의 평균이 전체 평균의 95% 신뢰구간을 벗어나고 있는 측정요소 (GPT, GGT)가 있기는 하지만 그 정도는 미미하며, 안전성과 관련되어 있는 측정요소들의 평균 수치들 모두는 안전성의 정상범위³⁾에 들어 있기 때문에 GGT1에 대한 안전성은 확보되었다고 할 수 있다.

각 측정요소들에 대한 공분산분석과 크루스칼-왈리스 검정 결과를 토대로 항비만 효과와 독성에 대한 안전성 평가를 실시하였다. 각 측정요소들에 대해서 정규성 검정 결과 CREA와 UA의 측정요소들은 정규성을 만족하지 않았기 때문에 그룹간 차이 검정을 비모수적 분석방법인 크루스칼-왈리스 검정을 사용하였다. CREA와 UA를 제외한 각 측정요소에 대해서 각 그룹 (Con, RD, GGT1)의 차이 유의성 검정을 위하여 초기체중을 공변량으로 공분산분석을 실시하여 분석하였다.

항비만지표와 관련된 측정요소들 (TC, HDL, LDL, TG, GLU)에 대한 공분산분석 결과를 보면, 모든 측정요소에서 그룹간 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 두 그룹 (RD군과 GGT1)에 대한 공분산분석 결과 p값들이 각각 0.114, 0.358, 0.148, 0.051, 0.160으로 얻어져 유의수준 0.05하에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 이것은 RD가 미국 FDA가 승인한 비만치료 약물이라는 점을 감안할 때, GGT1군이 RD군과 차이가 없다는 것은 GGT1의 항비만 효과는 1차적으로 어느 정도 인정된다고 할 수 있다. 그러나 이러한 논리의 타당성을 입증하기 위해서는 항비만에 영향을 주는 다른 요인들을 고려하여야 할 것으로 판단된다.

독성지표와 관련된 측정요소들 (GOT, GPT, GGT, CREA, UA, ALB, TP)의 공분산분석 (또는 크루스칼-왈리스 검정) 결과를 보면, GPT, ALB, TP에서 p값들이 각각 0.030, 0.015, 0.004로 얻어져 그룹간 유의한 차이가 있음을 알 수 있었다. 그리고 독성지표와 관련된 측정요소들에 대한 RD군과 GGT1군 두 그룹에 대한 공분산분석 결과 p값들이 각각 0.596, 0.291,

0.830, 0.816, 0.237, 0.338, 0.540으로 얻어져 RD와 GGT1의 두 그룹에는 모든 측정요소에서 유의한 차이가 없는 결과를 보였다. 여기서 CREA와 UA에 대한 p값은 크루스칼-왈리스의 검정 결과이다. 이러한 결과 역시 RD가 미국 FDA가 승인한 비만치료 약물이라는 점을 감안할 때, GGT1군이 RD군과 차이가 없다는 것은 GGT1의 안전성에는 1차적으로 어느 정도 인정된다고 할 수 있다.

각 측정요소들에 대한 탐색적 자료분석의 결과와 공분산분석 및 크루스칼-왈리스 검정결과를 종합해 보면, 항비만지표와 관련해서 탐색적 자료분석에서는 항비만지표의 측정요소들 중에서 몇몇만이 GGT1의 항비만 효과가 있는 것으로 나타났고, 공분산분석에서는 RD와 같은 그룹에 속한다는 이유로 어느 정도 항비만효과가 있음을 시사하고 있다. 독성지표와 관련해서는 탐색적 자료분석의 결과와 공분산분석 결과뿐만 아니라 독성지표와 관련되어 있는 측정요소들의 평균 수치들 모두가 이귀녕과 권오현³⁾이 제시한 안전성의 정상범위에 들어 있기 때문에 GGT1에 대한 안전성은 인정된다고 할 수 있다.

결론적으로 본 연구에서 GGT1의 안전성은 입증되었고, 약효에 대한 검증에서 명확하게 입증은 되지 않았으나 미국 FDA에서 승인된 리덕틸과 같은 그룹에 있다는 점을 고려할 때, GGT1은 간접적으로 항비만 효과가 있음을 확인 할 수 있었다. 본 연구는 차후 표본설계 시 실험연구에서 선행되어야 하는 검정력분석 (power analysis)에 근거한 표본크기를 보다 더 늘려서 수행하고, 보다 체계적인 실험계획을 통하여 보다 정확한 검증이 필요하다고

생각한다.

5. 결론

형질전환 비만모델 수컷 hGHTg 쥐를 이용하여 GGT1의 투여가 혈중 항비만지표와 독성지표에 미치는 영향에 대해서 알아보았다. GGT1의 항비만효과가 약리작용 이외에도 이의 독성에 의해서 생길 수 있기 때문에 두 지표를 모두 살펴보았다. 그리고 GGT1이 미국 FDA에서 승인된 리덕틸과는 어떤 차별된 효과가 있는지를 검증하였다.

각 측정요소들에 대한 탐색적 자료분석의 결과와 공분산분석 및 크루스칼-왈리스 검정결과를 종합해 보면, 항비만지표와 관련해서 탐색적 자료분석에서는 항비만지표의 측정요소들 중에서 몇몇만이 GGT1의 항비만 효과가 있는 것으로 나타났고, 공분산분석에서 GGT1은 RD와 같은 그룹에 속하기 때문에 항비만효과가 있음을 시사하고 있다. 독성지표와 관련해서는 탐색적 자료분석의 결과와 공분산분석 결과뿐만 아니라 독성지표와 관련되어 있는 측정요소들의 평균 수치들 모두가 안전성의 정상범위에 들어 있어서 GGT1에 대한 안전성은 인정된다고 할 수 있다.

결론적으로 본 연구에서 GGT1의 안전성은 입증되었고, 약효에 대한 검증은 입증되지 않았으나 미국 FDA에서 승인된 리덕틸과 같은 그룹에 있다는 점을 고려할 때, GGT1은 간접적으로 항비만 효과가 있음을 확인 할 수 있었다. 본 연구는 차후 표본설계 시 실험연구에서 선행되어야 하는 검정력분석 (power analysis)에

근거한 표본크기를 보다 더 늘려서 수행하고, 보다 체계적인 실험계획을 통하여 보다 정확한 검증이 필요하다고 생각한다.

색인어

GGT1, 리덕틸, 형질전환 hGHTg 비만 수컷랫드, 비만, 중성지방, 콜레스테롤

參 考 文 獻

- 1) 李濟馬 著. 『東醫壽世保元』. 重版印刷. 서울: 행림출판, 1993: 123.
- 2) 국립독성연구소. 『독성·약리·병리 시험 표준작업지침서』(II). 서울: 식품의약품안전청, 1999: 348-350.
- 3) 이귀녕, 권오현.. 『임상병리과일』(제3판). 서울: 의학문화사, 2003.