

## 장기능개선제(KTG075)의 대장관내 점액(Mucus)분비에 미치는 영향

백순옥 · 이유희 · 김현경<sup>†</sup>

KT&G 중앙연구원

### Effect of an Improving Agent for the Intestinal Function, a Poly Herbal Formulation (KTG075) on Secretion of Mucus

Soon-Ok Baik, You-Hui Lee and Hyun-Kyung Kim<sup>†</sup>

KT&G Central Research Institute, Daejeon 305-805, Korea

#### Abstract

The maintenance of intestinal health is complex and relies on a delicate balance between the diet, the normal microflora and mucosa, including the digestive epithelium and overlying mucus layer. The colorectal mucosa is protected by a visco-elastic mucus gel formed by high molecular mass glycoproteins referred to as mucins. Abnormality of mucin have been identified with colorectal disease. Constipation increases with age, and is more common among women than men in all age groups, e.g. 10% of men and 20% of women in the USA. The aim of the present study was conducted to investigate that the effects of formulation KTG075 from edible plants on intestinal function on mucus secretion, were examined by loperamide-induced constipation method using Sprague Dawley male rats. Epithelial cells of colonic crypt contained more mucus in the KTG075 group compared with those of the control group and the thickness of the mucus layer stained with alcian blue was significantly thicker in KTG075 treated rats compared with in control rats. Mucus production of epithelial cells of crypt and mucus contents at fecal and mucosa surfaces were reduced by loperamide-induced constipation. These results indicates that a poly herbal formulation KTG075 accelerates evacuation and activated intestines.

**Key words:** constipation, KTG075, intestinal function, mucus

#### 서 론

최근 식생활과 생활양식이 서구식으로 바뀌면서 최근 변비, 궤양성 대장염, 대장암 등 대장질환에 걸려 고통 받고 있는 사람들이 늘고 있다. 통계청이 발표한 한국인의 사망원인에 따르면 1883년 이후 18년간 위암사망률은 81% 감소한 반면 대장암 사망률은 600% 계속 증가하고 있다는 보고 자료가 있다(1-3). 이에 관련된 질환 치료제 및 예방의학적 기능을 갖는 기능성 식품의 수요 증가가 예상되며, 또한 기능성식품 소재개발은 고부가가치 창출이 가능하며 시장은 국내외에서 지속적으로 성장 가능하다.

소화기관의 점액질은 물리적인 손상과 화학적인 자극으로부터 상피조직인 장내 표면을 보호하는 역할과 소화운동의 윤활제 역할을 한다. 장 점막(colonic mucosa)은 점액질(mucus)로 덮여있고 점액소(粘液素, mucin)는 점액질의(mucus) 물리적, 화학적 특성을 나타내는 데에 가장 중요한 역할을 하는 것으로 glycoprotein(protein: 20%, sugar: 80%), 아미노산의 30%부분에 다양한 종류 및 길이의 올리고당(1~20개)이 결합되어 있으며, 알칼리성에서 점액질의 액

이 된다. 그 화학적 본체는 당단백질의 일종이고 점액의 기원에 따라 여러 종류의 당단백질을 함유하고 있다(2,3).

변비 증상이 있을 경우에는 장점막에서 mucosal barrier의 기능이 감소한다고 보고되어 있는데, loperamide를 일정 기간 투여하면 대장관 내의 점액질의 두께가 얇아진다고 보고되어 있으며 그 결과 대장 내용물의 이동에 지장을 초래한다(4). 결과적으로 점액의 분비와 점액층의 형성이 제대로 이루어져야 하며 각종 장질환의 거의 대부분은 뮤신의 부족과 깊은 관계가 있다는 많은 보고가 있으며, 건강한 장기능을 유지하기 위해서는 점액의 분비와 점액층의 형성이 원활히 이루어져야 한다(4-7). 본 연구는 식물성 복합추출물인 장기능개선제(KTG075)의 장기능 개선 및 변비질환 개선 효과를 랫드의 대장관 내에서 점액분비 활성화 및 점액질(mucus)의 분비에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 실험동물 및 사육환경

대장관내 점액질 측정을 위한 실험동물은 평균체중 약

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: kimhk4@hotmail.com  
Phone: 82-42-866-5382, Fax: 82-42-866-5396

230 ± 20 g 정도의 Sprague Dawley계 수컷 랫드(대한바이오링크, 음성)를 1군당 8 내지 10마리를 사용하였으며, 장기 복용에 따른 약물 독성 실험을 측정하기 위해 ICR 마우스(25 ± 2 g, 중앙실험동물)와 Sprague Dawley 랫드(200 ± 20 g, 중앙실험동물)를 각각 10마리씩 9군으로 나누어 사용하였다. 이들 랫드는 사육 상자(polycarbonate cage)에 3마리씩 사육하였고, 실험기간 동안의 사육환경은 온도 24 ± 0.5°C, 상대습도 55 ± 5%, 인공조명(12시간 점등, 12시간 소등), 조도 150 ~ 300 Lux 하에서 사육하였으며 기초사료로 CRF-1(Charles River Japan Inc., Kanazawa, Japan)을 급여하였고 펠터를 이용하여 여과된 정제수를 자유로이 급이하였다.

#### 실험물질

식품 소재로 사용 가능한 9종의 천연자원 무, 차, 당근, 진피, 청피, 무화과, 양파, 오매, 살구 등의 개개의 재료들 표면에 존재하는 이 물질을 제거하기 위하여 세척하고 세척 후 건조한 다음 정제수(100°C, 2 hr) 및 주정(70°C, 2 hr)으로 추출하여 얻은 열수 추출액을 감압농축한 후 동결 건조하여 진공상태에서 보관하였다. 동결 건조한 시료를 필요에 따라 정제수에 녹여 일정한 농도(1.6 mg/mL, 3.2 mg/mL)의 시료 용액을 제조하였다.

#### 대장조직 채취 및 장내변의 수(number of feces pellets) 관찰

동물 모델로 평균체중 230 ± 20 g 정도의 수컷 랫드(대한바이오링크, 음성)를 대사케이지에서 3일간 순화 적응시키고, 4일째부터 변비를 유발시키기 위해 loperamide(Sigma, USA)를 사료 3 g당 1 mg 함유하는 사료를 공급하였다. Loperamide군에는 정제수만을 공급하였고, 시료투여군에는 정제수에 일정한 농도(1.6 mg/mL, 3.2 mg/mL)의 시료가 함유되도록 제조한 시료 용액을 공급하였다. 정상 대조군은 loperamide 및 시료를 투여하지 않았다. Loperamide 투여 8일째 되는 날에 랫드를 희생시켜 맹장부터 직장까지의 전 부위를 취하여 10% formaldehyde(phosphate buffered saline, pH 7.4)로 즉시 고정하여 대장관내에 있는 변의 개수를 관찰하였다(10-13).

#### 대장관 내 점액질의 두께 측정 및 점액질의 분비세포 활성도 관찰

대장은 조직처리 과정을 거친 후, 파라핀으로 embedding 하여 5 µm 두께로 절편을 제작한 후 alcian blue(pH 2.5)로 염색하여 광학현미경(×100, ×200)으로 점액질 층의 두께와 점액질 분비 세포를 관찰하였다. 점액질 두께의 측정은 각 조직샘플에서 점액질 층이 상대적으로 가장 두꺼운 부분 3곳을 측정하여 계산하였다(8-10).

#### 독성 실험

장기 복용시 장기능개선제(KTG075)의 독성을 확인하기 위하여 동물 실험을 실시하였다. ICR 마우스(25 ± 2 g, 중앙실험동물)와 SD 랫드(200 ± 20 g, 대한바이오링크)를 각각

10마리씩 9군으로 나눈 후, 장기능개선제인 KTG075를 각각 1000 및 5000 mg/kg의 용량으로 1, 2 또는 3개월 동안 식수에 공급하여 투여하였다.

#### 통계분석

실험결과 SAS program을 이용하여 통계처리하였으며, 모든 결과는 평균과 표준오차로 나타내었다. 실험군 간의 유의성은 Student's *t*-test를 적용하여 유의성 검정을 하였다.

## 결과 및 고찰

#### 대장 내의 변의 수(number of feces pellets) 관찰

Loperamide를 투여하여 변비를 유발시킨 랫드에 KTG075를 투여한 후 대장 내 변의 수(number of feces pellets)를 관찰한 결과, loperamide 단독 처리군에서는 변의 개수가 5.5개인데 반하여 KTG075 동시 처리군에서는 변의 개수가 1.8개로 KTG075를 투여한 동시 처리군의 변의 수가 loperamide 단독 처리군보다 68.2% 감소하였다는 사실을 확인할 수 있었다(Table 1, Fig. 1). 이와 같은 결과는 loperamide를 투여한 랫드에서 대장 운동성의 저하로 변비가 발생할 수 있는 인자중의 하나임을 시사하였고 식물복합추출물인 장기능개선제(KTG075)는 식이의 장통과 시간을 단축하는 작용이 기여하여 대장 내 변의 개수를 감소시킨다고 추측할 수 있었다.

#### 대장 내 점액질의 두께 측정

변비 증상이 있을 경우는 장점막에서 mucosa barrier의 기능이 감소한다는 보고가 있으며, loperamide는 배변시간 증가, 대장 연동 운동의 저하와 더불어 일정기간 연속적으로 투여하면 대장관내 점액질의 두께가 얇아져서 그 결과 대장 내용물의 이동에 지장을 초래하여 변비를 유발한다고 보고되어 있는데 그 증상이 사람에게서 일어나는 변비와 매우 유사하다고 보고되어 있다(4). Loperamide를 투여한 랫드의 대장 조직을 5 µm 두께의 파라핀 절편으로 만들어 alcian blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과, 정상 대조군은 랫드의 대장관 내에 분비되는 점액질의 두께가 17.2 µm로서, loperamide 유발군은 정상 대조군보다 대장관 내에 분비되는 점액질의 두께가 약 31%가 감소된 11.9 µm의 두께를 가진 반면에, KTG075 동시 처리군에서는 점액질의 두께가 17.4 µm로 정상적으로 회복되는 것이 조직검사서 관찰되었다(Table 2). 결과적으로 장기능개선제(KTG075)는 점액

**Table 1. The numer of fecal pellets formed in the rat colon**

Treatments	No. of fecal pellets	The ratio (%) <sup>1)</sup>
Loperamide alone	5.5 ± 0.5 <sup>2)</sup>	100
Loperamide + KTG075	1.8 ± 0.2*	31.8

<sup>1)</sup>The ratio was compared with those of the loperamide treated group.

<sup>2)</sup>Values are means ± SD.

\*p < 0.05.

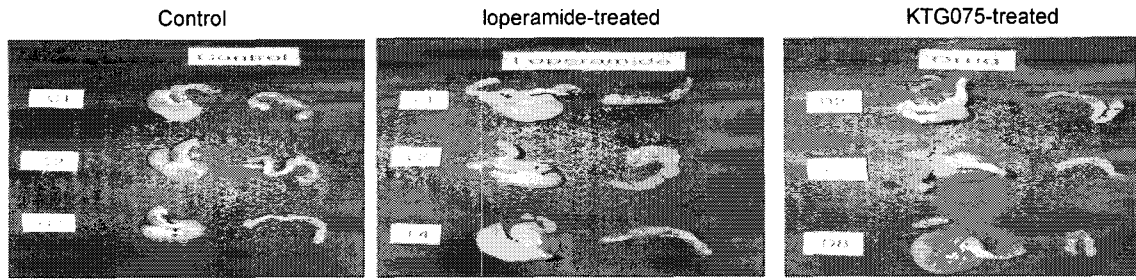


Fig. 1. The morphologies of rats colons from the experimental groups of normal, loperamide and KTG075-administrated rats.

Control: normal treatment, Loperamide-treated: loperamide only treatment, KTG075-treated: loperamide + KTG075 treatment.

Table 2. The thickness of mucus layer at the colon of normal, loperamide-treated and KTG075-treated rats

Treatments	Thickness of mucus layer (µm)	The ratios (%) of the thickness <sup>1)</sup>
Normal control	17.2±3.24 <sup>2)</sup>	100
Loperamide alone	11.9±2.49*	69.2
Loperamide+KTG075	17.4±5.55	101.2

<sup>1)</sup>The ratio was compared with those of the normal control.

<sup>2)</sup>Values are means±SD.

\*p<0.05.

질을 증가시켜 장관내 유험력이 유지되어 장관 운동을 증가시켜 장기능 개선 및 소화운동을 증가시켜 변비 증상을 완화시키는 것으로 판단되었다.

KTG075의 대장 내의 점액분비세포 활성도 관찰

KTG075의 대장 내 점액분비세포 활성도 및 두께변화를 관찰한 결과에서 살펴보면, KTG075의 대장 내의 점액질의 두께 변화를 관찰하는 loperamide 단독 처리군(E, F)은 점액질 층의 두께가 매우 얇아졌으며, KTG075 동시 처리군(G, H)은 점액질의 두께가 정상적으로 회복됨으로 KTG075 동시 처리군(G, H)은 loperamide 단독 처리군(E, F)보다 대장 관 내의 점액질 두께가 증가되어 매우 활성화 되어 있는 것

을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 또한 KTG075의 대장 내의 점액질의 분비 효과를 관찰한 결과에서도 loperamide 단독 처리군(A, B)은 점액분비세포(alcian blue 염색시 파란색으로 염색)가 현저하게 감소하였으나, KTG075 동시 처리군(C, D)은 진하게 염색된 점액분비세포가 증가됨으로 매우 활성화 되어 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 결론적으로 KTG075 동시 처리군은 loperamide 단독 처리군에 비해 랫드의 대장 내에서 뮤신의 합성 및 분비가 증가한다는 것을 조직검사에서 관찰할 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 보면, 식물복합추출물 장기능개선제 KTG075가 장기능개선 효과를 나타내는 기전중의 하나는 대장 내 뮤신의 분비를 촉진하여 점액질의 강화에 따른 것으로 사료된다.

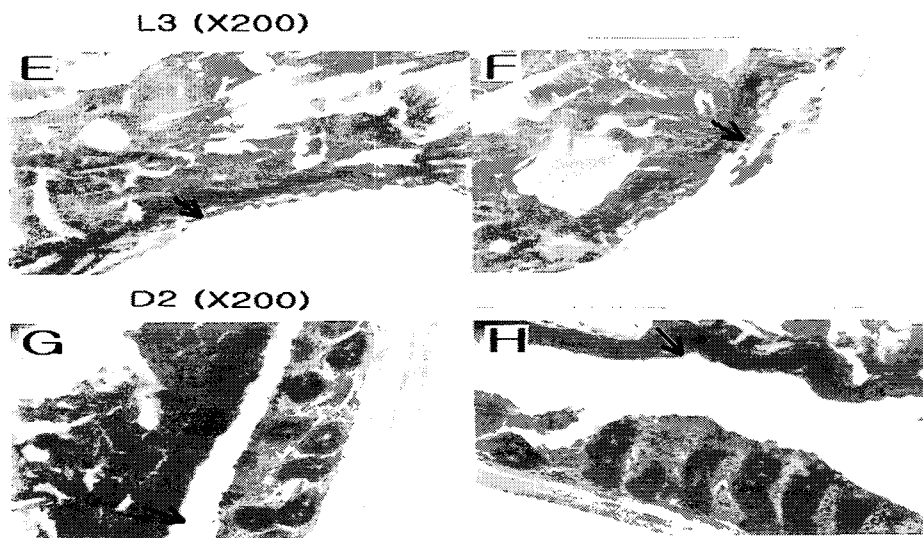


Fig. 2. The thickness of mucus layer at the colon of loperamide and KTG075 administrated rats (magnification, ×200). E, F: Loperamide only, G, H: Loperamide+KTG075, Arrow bar: Observed points.

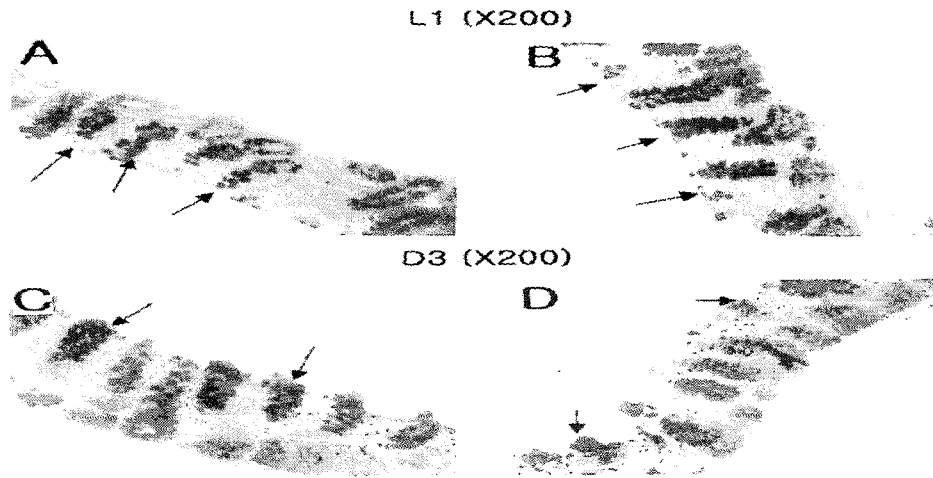


Fig. 3. Crypt epithelial cells secreted more mucin in the KTG075-treated group (C, D) than loperamide only group (A, B) in colon of the SD rats (magnification, ×200).

A, B: Loperamide only, C, D: Loperamide+KTG075.

Table 3. Serum biochemical analysis of rats which were treated with KTG075 for 3 months

Experimental period	Treatments	ALT	AST	CHOL	TBIL	UREA	CREA	TP	LDH
1 month	Control	52 ± 10 <sup>1)</sup>	99 ± 17	64 ± 8	0.2 ± 0.1	40 ± 9	0.5 ± 0.1	6.9 ± 1.2	206 ± 87
	KTG075	63 ± 18	98 ± 15	59 ± 3	0.2 ± 0.1	34 ± 5	0.5 ± 0.1	7.8 ± 0.4	163 ± 109
2 month	Control	74 ± 16	97 ± 19	76 ± 8	0.4 ± 0.1	40 ± 9	0.6 ± 0.1	8.9 ± 0.5	349 ± 134
	KTG075	76 ± 10	95 ± 12	66 ± 9*	0.4 ± 0.1	34 ± 5	0.6 ± 0.1	9.5 ± 0.4	332 ± 60
3 month	Control	83 ± 23	113 ± 16	74 ± 6	0.1 ± 0.1	51 ± 17	0.5 ± 0.1	6.5 ± 0.7	348 ± 125
	KTG075	73 ± 14	103 ± 15	54 ± 8*	0.2 ± 0.1	61 ± 15	0.5 ± 0.1	8.4 ± 0.7	262 ± 97

<sup>1)</sup>Values are means ± SD.

\*Significantly different from control at p < 0.05.

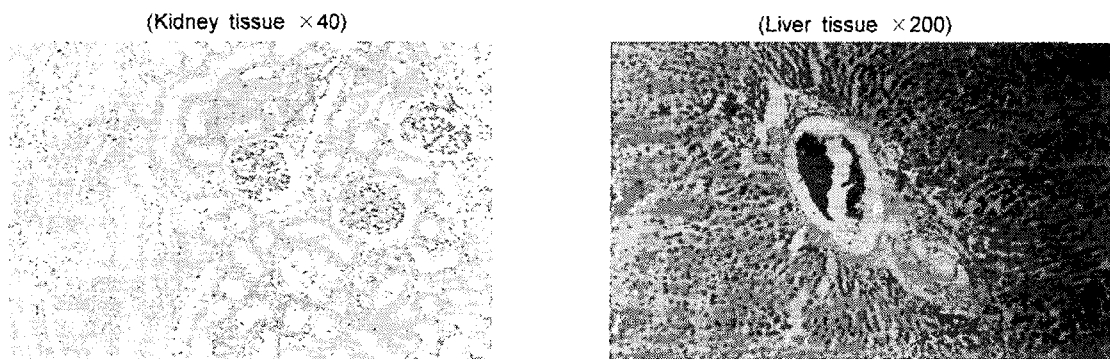


Fig. 4. Liver tissue of KTG075 administrated rats after 3 months in SD rats.

KTG075의 안정성 시험

KTG075를 장기 복용 시 안정성 여부를 관찰하기 위하여 랫드에 음료수로 3개월간 투여하면서 1개월 단위로 혈액 및 조직검사를 실시하여 독성의 유무를 관찰하였다. 실험결과 KTG075 투여군은 2, 3개월 투여군에서 대조군대비 혈중 콜레스테롤이 유의한 차이로 저하되는 결과를 보였으나, 다른 항목은 대조군 대비 유의차가 없어 특별한 독성이 없는 것으로 사료된다(Table 3). 또한 Fig. 4에서와 같이 3개월 투여 후 간의 조직에 손상이 없는 것으로 나타났다.

요 약

장의 건강을 유지하기 위해서는식이섬유, 장내세균총, 소화 상피세포와 점액질층(mucus layer)을 포함하는 점액질(mucosa)의 3대 요소가 상호보완 및 균형 관계가 중요하다. 특히 점액의 분비와 점액층의 형성이 제대로 이루어져야 하며 각종 장질환의 거의 대부분은 뮤신의 부족과 깊은 관계가 있다는 보고 자료를 참고하여 식물성 복합추출물인 장기능개선제 KTG075의 장기능 개선 효과 및 배변촉진 효과를

알아보기 위해 랫드의 대장 내 점액(mucin)의 분비에 미치는 영향을 조사하였다. Loperamide를 투여하여 변비를 유발시킨 랫드에 장기능개선제 KTG075를 투여한 후 대장 내 변의 수를 관찰한 결과, loperamide 단독 처리군보다 변의 수가 68.2% 감소하는 것이 관찰되었으며, 대장 내 점액질 층의 두께 측정시는 loperamide 단독 처리군은 정상 대조군에 비해 랫드의 대장 내에 분비되는 점액질의 두께가 약 31%가 감소하였으나, KTG075 동시 처리군에서는 점액질의 두께가 정상적으로 회복되는 것이 조직검사에서 관찰되었으며, Alcian blue 염색으로 점액질 두께 변화 관찰시는 loperamide 단독 처리군에서 현저히 감소되었고 KTG075 동시처리군에서는 점액질 층이 거의 정상수준으로 증가되었다. 결과적으로, loperamide 단독 처리군에서는 점액질(mucus)의 생성과 분비가 감소되나, 장기능개선제인 KTG075는 장 기능을 활성화시킴으로써 점액의 분비를 증가시켜 증가된 점액이 대장 내 유헌제로서 작용하여 장관 운동을 증가시켜 배변을 용이하게 하여 변비 또는 스트레스 등에 의해 저하된 장기능을 개선시키는 것으로 판단되었다.

#### 감사의 글

이 연구는 2000~2002년도 KT&G 중앙연구원 바이오연구개발(SS-107)에 의하여 연구비를 지원받아 수행하였으므로 이에 감사드립니다.

#### 문헌

1. Silberberg A, Meyer FA. 1982. Structure and function of

- mucus. *Adv Exp Med Biol* 144: 53-74.
2. Corfield AP, Carrol D, Myerscough N, Probert CSJ. 2001. Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease. *Front Biosci* 6: 1321-1327.
3. Corfield AP, Warren BF. 1996. Mucus glycoproteins and their role in colorectal disease. *J Pathol* 180: 8-17.
4. Cepinskas G. 1993. Adaptive cytoprotection in the small intestine: role of mucus. *Am J Physiol* 264: 921-927.
5. Kirjavainen PV, Ouwehand AC, Isolauri E, Salminen SJ. 1998. The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 167: 185-189.
6. Ouwehand AC, Isolauri E, Kirjavainen VK, Salminen SJ. 1999. Adhesion of four Bifidobacterium strains to human intestinal mucus from subjects in different age groups. *FEMS Microbiol Lett* 172: 61-64.
7. Tytgat KM, Buller HA, Opdam FJ, Kim YS, Einerhand AW, Dekker J. 1994. Biosynthesis of human colonic mucin: MUC2 is the prominent secretory mucin. *J Gastro* 107: 1352-1363.
8. Tytgat KMAJ, Vaa der waal JWG, Einerhand AWC, Buller HA, Dekker J. 1994. Quantitative analysis of MUC2 synthesis in ulcerative colitis. *Biochem Biophys Res Commun* 224: 397-405.
9. Strugala V. 2003. Colonic mucin: methods of measuring mucus thickness. *Proc Nutr Soc* 62: 237-243.
10. Loeschke K, Schmid T, Farack UM. 1989. Inhibition by loperamide of mucus secretion in the rat colon *in vivo*. *Eur J Pharmacol* 170: 41-46.
11. Shimotoyodome A, Meguro S, Hase T, Tokimitsu I, Sakata T. 2000. Decreased colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation. *Comp Biochem Physiol* 126: 203-211.
12. Shimotoyodome A, Meguro S, Hase T, Tokimitsu I, Sakata T. 2001. Sulfated polysaccharides, but not cellulose, increase colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation. *Digest Dis Sci* 46: 1482-1489.
13. Pretlow TP, O'Riordan MA, Ptetlow TG, Stellato TA. 1992. Aberrant crypt in human colonic mucosa: putative preneoplastic lesions. *J Cell Biochem* 16: 55-62.

(2004년 12월 2일 접수; 2005년 3월 3일 채택)