

사염화탄소를 처리한 생쥐에서 석류종자기름의 간보호 효과

김동희^{1,3}, 등영건^{1,3}, 이영미⁴, 윤양숙⁴,
권기록⁵, 박대복⁶, 박승규^{2,3}, 이규재^{2,3,*}
연세대학교 원주의과대학 ¹기초과학교실, ²기생충학교실,
³연세대학교 기초의학연구소, ⁴HDr 주식회사 바이오연구소,
⁵상지대학교 한의과대학 침구학교실, ⁶아이수 연구소

The Liver Protecting Effect of Pomegranate (*Punica granatum*) Seed Oil in Mice Treated with CCl₄

Dong-Heui Kim^{1,3}, Young-Kun Deung^{1,3}, Young-Mi Lee⁴, Yang-Suk Yoon⁴,
Ki-Rok Kwon⁵, Dae-Bok Park⁶, Seung-Kyu Park^{2,3} and Kyu-Jae Lee^{2,3,*}

¹Department of Basic Science, ²Department of Parasitology and

³Institute of Basic Medical Science, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju,
Gangwon 220-701, Korea

⁴Biotech Research Institute, HDr Co., Ltd., 1214-6, Heung Yang-ri, Socho-myun, Wonju,
Gangwon 220-836, Korea

⁵Department of Acupuncture, College of Oriental Medicine, Sangji University, Wonju,
Gangwon 220-702, Korea

⁶Isoo Research center, I-Soo Co., Ltd., Chungju, Chungchung buk-do, Korea

(Received August 10, 2006; Accepted September 21, 2006)

ABSTRACT

Recently, the pomegranate seed oil (PSO) has been reported to have various effects including anti-cancer effect. In this study, we examined the liver-protecting effect of the PSO on the hepatotoxicity induced by CCl₄ using the BALB/c mice. The PSO was made from dried seeds of black pomegranate (*Punica granatum*) by heating and squeezing. The experimental animals were divided into 3 groups; control group treated with olive oil only, experimental group 1 treated with CCl₄ only, and experimental group 2 treated with PSO and CCl₄. 24 hours after injection of CCl₄ into the peritoneal cavity, we collected the blood samples to measure the level of serological factors; aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total protein, albumin, total bilirubin, direct bilirubin and alkaline phosphatase. Simultaneously we observed the histological change of liver under the light and electron microscope.

As the result, AST and ALT showed 88.7 ± 14.9 IU/L and 22.0 ± 3.12 IU/L in the control group, 1963.7 ± 1212.9 IU/L and 4495.4 ± 2803.6 IU/L in the experimental group 1, and 432.2 ± 260.1 IU/L and 692.3 ± 433.1 IU/L in the experimental group 2. The experimental group 2 showed significant difference as compared with

* Correspondence should be addressed to Dr. Kyu-Jae Lee, Department of Parasitology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-701, Korea. Ph.: (033) 741-0331, FAX: (033) 731-6953, E-mail: medbio@yonsei.ac.kr

experimental group 1 ($P < 0.005$). In histological study, the experimental group 2 was recovered than experimental group 1 which had abnormal mitochondria, increase of lysosomes, and severe necrosis at the central vein zones. These results indicated that the PSO had the liver protecting effect. However, The further study on the relationship between ingredients of pomegranate seed and liver protecting effect is in need.

Key words : Protecting effect, Pomegranate, Seed oil, Liver, CCl_4

서 론

석류 (*Punica granatum*)는 석류과 (Punicaceae)에 속하는 낙엽활엽 교목으로 북미와 지중해 연안, 아시아의 서부지역에 주로 분포하고 있으며, 고혈압과 동맥경화 예방, 설사, 복통, 이질, 구내염, 장질환 및 구충 등 효과가 매우 광범위하여 예로부터 열매, 잎, 뿌리, 줄기, 꽃 및 씨앗 등을 치료 목적으로 사용되어 왔다. 지금까지 석류의 효과는 대부분 과육과 과피에서 확인되었고, 석류 과즙의 경우 관상동맥질환자의 심근허혈 개선 (Sumner Elliott-Eller et al., 2005), 항암 (Malik et al., 2005) 및 항산화기전에 의한 위점막 보호 (Ajaikumar et al., 2005) 등 다양한 임상효과가 보고 된 바 있다. 특히 석류껍질을 여러 종류의 용매로 주정하여 얻은 추출물은 뛰어난 항산화효과를 나타내며 (Singh et al., 2002), 석류씨 추출물 속에는 punicalic acid, estrogen, estradiol 및 β -sistosterol 등의 생리활성물질이 함유되어 있다 (Junko et al., 2004). 석류에서 발견되는 생리활성물질 (phytoestrogen)의 주성분은 isoflavones와 lignans 등의 페놀성 화합물로 (Aviram & Dornfeld, 2001), 천연의 성호르몬과 유사한 구조를 가지고 있으며, 암, 심장혈관질환, 골다공증 등의 만성질환에 대해서 예방효과가 있는 것으로 알려져 있다 (Goldfien & Monroe, 1997; Poyrazoglu et al., 2002). 또한 이들 페놀성 물질은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 항산화효과 등의 다양한 생리활성 기능을 나타낸다 (Takahara, 1985). Schubert et al. (1999)은 석류씨 기름과 석류주스의 polyphenol 성분과 지방산 화합물들이 녹차와 비슷한 항산화효과를 나타낸다고 보고하였고, Singh et al. (2002)은 석류껍질과 씨의 메탄올 추출물에서 뛰어난 항산화효과가 있음을 확인하였다.

사염화탄소는 지방성 퇴행 (fatty degeneration), 섬유

증 (fibrosis), 간세포 사멸 및 발암 등을 유발시키며, 독성물질이 간세포에 미치는 영향과 그 대사과정을 규명하는 데 대표물질로써 주로 사용되어 왔다. 사염화탄소는 cytochrom p450에 의해 활성화되어 CCl_3 를 만들며 CCl_3 는 산소와 반응하여 CCl_3OO 를 형성한다. 이 두 물질은 지방대사 과정에 관여하여 lipid peroxidation chain reaction을 일으키기도 하고 미토콘드리아나 DNA, 세포막과 같은 세포구조물에 영향을 미쳐 세포를 손상시키거나 죽인다 (Weddle, 1976; Tomasi, 1987; Haouzi et al., 2000). 또한 $TNF\alpha$ (tumor necrosis factor), NO (nitric oxide), $TGF\alpha$ (transforming growth factor) 등을 활성화시켜 세포괴사를 유도하거나 섬유화를 진행시키기도 한다 (Sato et al., 1999). 이와 같이 손상된 간세포는 IL6와 IL10의 상호작용에 의해 부분적으로 회복되기도 하고 항산화효소나 항산화제에 의해 독성작용이 억제되기도 한다 (Zhang et al., 2004).

석류씨에서 추출된 기름의 경우 항산화효과 (Wang et al., 2004), 피부와 대장에서 항암효과 (Hora et al., 2003; Kohno et al., 2004) 및 면역세포인 B세포 기능을 강화시키는 효과 (Yamasaki et al., 2006)가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 석류씨에서의 이러한 효과들은 시험관 실험을 통하여 확인된 것으로, 생체조직에서의 간보호 효과에 대한 연구는 아직 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 생쥐에 석류씨를 압착하여 얻어진 기름을 경구투여한 후 사염화탄소 (CCl_4)를 주입하여 간독성을 일으켜 생화학적, 조직학적 연구를 통하여 간보호 효과를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 석류씨는 이란산으로 주식회사

아이수 (한국)로부터 제공받았으며, 건조 후 가열 및 압착하여 기름을 추출하여 실험에 사용하였다.

2. 실험동물

실험동물은 체중이 26.02 ± 0.32 g인 5주령의 BALB/c 계열의 수컷 생쥐를 이용하였다. 실험동물은 대한바이오링크에서 공급받아 일주일간 기본식이와 물을 충분히 공급하면서 적응시켰다. 사육실 온도는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 유지하였고 12시간 간격으로 집등과 소등을 하였으며 사료는 실험동물전용 고형사료(삼양유지사료주식회사, 조단백질 22.1% 이상, 조지방 3.5% 이상, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하)를 공급하였다. 실험동물은 올리브유만을 복강에 투여한 대조군, 사염화탄소만을 투여한 실험군 1, 석류씨 기름과 사염화탄소를 처리한 실험군 2로 나누어 각 군 당 11마리씩 실험에 사용하였다.

3. 실험방법

사염화탄소의 투여량과 투여 후 도살 시기는 선행 실험을 통하여 결정하였고, 사염화탄소만을 투여하는 실험군 1의 경우, 적절한 용량으로 급성 간 손상을 유도하기 위하여 사염화탄소를 올리브 기름에 희석 (0.375%, v/v)하여 $25 \mu\text{l}/\text{kg}$ 을 복강 내로 1회 투여하였다. 사염화탄소를 투여하고 24시간 후에 도살하여 혈액과 간조직을 채취하였다. 실험군 2의 경우 석류씨 기름은 사염화탄소 투여 1일 전과 투여 당일의 오전과 오후에 한 번씩 모두 3회에 걸쳐 $50 \mu\text{l}$ 씩 존대를 이용하여 경구 투여하였으며, 세 번째 기름을 투여한 직후 사염화탄소를 투여하였다. 대조군은 올리브유만을 복강으로 투여하였다.

1) 혈청분석

생화학적 소견을 관찰하기 위해 실험동물을 에테르로 마취한 후 안와혈관총(orbital plexus)에서 혈액을 채취하여 헤파린이 처리되지 않은 원심분리관에 넣고 5분간 4,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 혈액자동분석기를 이용하여 aspartate amino transferase (AST, SGOT), alanine amino transferase (ALT, SGPT), alkaline phosphatase (ALP),

total protein, albumin, total bilirubin 및 direct bilirubin을 분석하였다.

2) 조직시료처리

조직학적인 검사는 광학현미경과 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 광학현미경용 시료는 적출한 간 조직을 10% 포르말린에 24시간 고정한 후 알코올로 탈수하고, 파라핀에 포매한 후 $3 \mu\text{m}$ 두께로 잘라 Hematoxylin-Eosin 염색을 하였다. 또한 세포의 미세구조 관찰을 위하여 간조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 조정된 2.5% glutaraldehyde로 4°C 에서 전고정 및 1% OsO_4 로 후고정하여, 통상적인 전자현미경 시료처리법에 따라 처리한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEM-1200EX II형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

4. 통계분석

모든 자료의 통계분석은 SPSS package를 이용하여 t-test를 실시하였다.

결 과

사염화탄소에 의해 유도된 간독성에 석류씨 기름이 미치는 영향을 관찰하기 위하여 생화학적 검사와 조직학적 검사를 통하여 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 혈청의 생화학적 관찰

혈청 내에 포함되어 있는 AST (IU/L)수치는 대조군에서 88.66 ± 14.80 , 사염화탄소 투여군인 실험군 1에서 1963.70 ± 1212.00 , 석류씨기름과 사염화탄소를 처리한 실험군 2에서 432.20 ± 260.10 으로 나타났으며, ALT (IU/L)수치는 대조군에서 22.00 ± 3.12 , 실험군 1에서 4495.40 ± 2803.60 , 실험군 2에서 692.30 ± 433.10 으로 나타났다. AST와 ALT의 수치는 실험군 2가 실험군 1에 비해 매우 낮게 나타났으나 ($p < 0.005$) 대조군에 비하여 증가하는 경향을 보였다. ALP (IU/L)는 대조군에서 222.30 ± 50.90 , 실험군 1에서 346.10 ± 99.80 , 실험군에서는 277.00 ± 60.70 으로, 대조군과 실험

Table 1. The serum level of protein and liver enzyme

Group	Total protein	Albumin	Total bilirubin	Direct bilirubin	AST (SGOT*)	ALT (SGPT*)	ALP*
Control	4.78±0.22	1.84±0.09	0.29±0.06	0.10±0.03	88.66±14.80	22.00±3.12	222.30±50.90
Exp 1	4.62±0.13	1.86±0.07	0.29±0.09	0.14±0.05	1963.70±1212.00	4495.40±2803.60	346.10±99.80
Exp 2	4.56±0.17	1.82±0.09	0.25±0.06	0.10±0.04	432.20±260.10	692.30±433.10	277.00±60.70

*Control (olive oil only), Exp 1 (CCl₄ only), Exp 2 (pomegranate seed oil+CCl₄), AST (aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), ALP (Alkaline phosphatase)

험군 1 사이에는 통계학적으로 유의성 있는 차이를 보였지만 ($p < 0.005$), 실험군 2의 경우 실험군 1에 비하여 감소하는 경향을 보였을 뿐 통계학적인 의의는 없었다. 또한 total bilirubin, direct bilirubin, total protein과 albumin은 모든 실험군 사이에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Table 1).

2. 조직학적 소견

광학현미경으로 간조직을 관찰한 결과 올리브기름만을 투여한 대조군의 간조직은 조직학적으로 정상적인 소견(normal histological appearance)을 보여주었다(Fig. 1). 투과전자현미경으로 관찰된 세포도 정상적인 형태로 관찰되었다(Fig. 4). 그러나 사염화탄소만을 처리한 실험군 1에서는 문맥을 제외한 중심정맥 주위에서 간조직의 심한 응고성 피사가 관찰되었고, 피사조직 가장자리 주위로 지방변성(fatty change)을 동반한 퇴행변화가 관찰되었다(Fig. 2). 전자현미경으로 관찰한 결과 지방적이 일부 증가된 것이 확인되었고 급중한 용해소체를 관찰할 수 있었다(Fig. 5). 특히 미토콘드리아의 형태는 거의 손상되어 있었으며, 섬유화에 따른 세포내 공간이 확장되어 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 6). 석류씨 기름과 사염화탄소를 함께 처리한 실험군 2의 간조직은 사염화탄소만 처리한 실험군 1과 비교하여 눈에 띄는 차이를 보여주었다. 실험군 2는 중심정맥 주위의 간실질 조직의 피사가 실험군 1에 비하여 현저히 줄어들었고, 간세포의 지방변성도 더 적게 관찰되었으며, 단핵세포(monocellular cells)의 조직침윤이 일부 관찰되었다(Fig. 3). 그러나 문맥정맥(portal vein)의 형태는 3군 모두에서 정상으로 관찰되었다. 전자현미경으로 관찰한 결과 세포내 지방적의 증가는 여전히 관찰할 수 있었으나 용해소체는 거의

관찰되지 않았고(Fig. 7), 사염화탄소를 처리한 군에 비해서 간세포내의 미토콘드리아는 잘 보존되어 있었다(Fig. 8).

고 찰

일반적으로 식물성 천연물들은 항산화효과를 나타내는 예들이 많으나 각각의 종류에 따라 유효물질의 종류가 다르고 생리활성도 다르게 나타나므로 유효성분의 확인과 동시에 효과에 대한 평가도 중요하다. 따라서 본 실험은 사염화탄소(CCl₄)로 유발된 생쥐 모델에서 석류씨 기름의 간보호 효과를 관찰하였다. 독성물질로 사용된 사염화탄소는 사람을 비롯한 동물에서 간손상을 일으키는 대표적 약물로 알려져 있다. 사염화탄소의 간독성 작용에 관한 기전은 명확히 규명되어 있지 않으나 알킬기를 지닌 간독성물질로 규정하는 화학적 세포 파괴설이 대체로 인정되고 있다(Kim & Yoon, 1998). 사염화탄소는 지방성 퇴행(fatty degeneration), 섬유증(fibrosis), 간세포 사멸 및 발암 등을 유발시키며, 독성물질이 간세포에 미치는 영향과 그 대사과정을 규명하는 데 대표물질로써 주로 사용되어 왔으며 사염화탄소의 간독성 작용은 높은 반응성을 가진 자유잔기(free radical)인 트리클로로메틸 자유잔기(trichloromethyl free radical, $\cdot\text{CCl}_3$)에 대한 p450 효소계에 의한 환원탈할로젠화(reductive dehalogenation)의 결과로 발생한다. 이 잔기는 빠르게 산소분자와 결합하여 트리클로로메틸 퍼옥시 자유잔기(trichloromethyl peroxy free radical, $\text{Cl}_3\text{COO}\cdot$)를 형성한다. 잔기에 의하여 불포화된 지방산으로부터 수소원자가 제거되면 탄소중양지질잔기(carbon-centered lipid radical)가 생성된다. 이러한 지질잔기(lipid radi-

cal)는 빠르게 산소분자와 결합하여 지질 퍼옥시 잔기 (lipid peroxy radical)를 형성하면서 지질 퍼옥시화 (lipid peroxidation) 과정을 시작한다 (Kim & Yoon, 1998). 자유잔기를 생성하는 이러한 산화적 스트레스는 현대인의 만성적인 알코올섭취 및 영양 불균형 식이에 의해서도 증가될 수 있다 (Lee et al., 2003).

본 실험을 통해 석류씨 기름의 급이가 사염화탄소로 유도되는 급성 간독성에 대해 현저한 혈청학적, 조직학적 손상을 완화시키는 효과가 있다는 것을 알 수 있었다. SGOT, SGPT는 혈액에서 간기능 상태를 알아볼 수 있는 지표로 간기능 저하시에 활성도가 증가한다 (Sher, 1977). 사염화탄소에 의한 간손상은 약물주입 후 5시간 후부터 조직학적인 변화가 나타나기 시작하며 (Zimmerman, 1968), 약물주입 24시간 후 혈중 ALT의 최대치를 보이다가 서서히 감소한다 (Mansour, 2000). 석류씨 기름을 급이한 군이 사염화탄소를 처리한 실험군 1에 비해 낮은 AST와 ALT를 보인 것은 사염화탄소 투여로 인한 간세포의 손상을 억제할 수 있음을 보여주는 것으로 생각된다. ALP는 신체 각 조직 중에 존재하며 간, 신장, 소장, 골, 태반 등에 비교적 고농도로 존재하여 담즙 정체시에 담즙으로 배설되며, 담즙으로의 배설장애와 담관 내압이 증가할 경우 간에서 생성이 증가하여 혈중 ALP가 증가한다 (Kim & Park, 1992). 본 실험에서는 대조군과 비교하여 실험군 1, 실험군 2 모두에서 ALP의 농도가 증가한 것으로 나타났으며 이것은 사염화탄소의 투여가 어떠한 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

간은 혈청내 단백질 합성의 주요기관으로 albumin과 기타 혈청 단백질의 이화작용에 관여하며 간질환시 혈청단백에 변화가 나타난다. 혈청단백의 50~70%를 차지하는 albumin은 체내단백질 대사에서 이상을 나타내는 좋은 지표로 사용되며, 사염화탄소 투여 이후 3일간 total protein과 albumin이 유의하게 감소하는 것으로 보고된 바 있다 (Kim & Park, 1992). 이는 사염화탄소의 대사분해산물인 트리클로로메틸 자유잔기가 소포체에 영향을 미쳐 비가역적인 단백질 합성 억제를 일으키기 때문인 것으로 알려져 있다 (Hodgson & Guthrie, 1982). 본 실험은 사염화탄소로 급성 간독성을 유발한 후 24시간 후에 혈액을 채취했기 때문에 사염화탄소로 인해 간 내에서 지속적으로 단백질 대

사의 감소를 초래할 만한 시간이 충분하지 않았을 것으로 생각되며, 간과 관련된 단백질의 변화는 대조군, 실험군 2 및 실험군 1 사이에 차이가 관찰되지 않았다.

광학현미경상으로 관찰한 결과 사염화탄소를 처리한 실험군 1에서는 문맥을 제외한 중심정맥 주위에서 간조직의 심한 응고성 피사가 관찰되었고, 피사조직 가장자리 주위로 지방변성을 동반한 퇴행변화를 확인할 수 있었다. 이에 비하여 석류씨 기름을 처리한 군에서 중심정맥 주위의 간실질 조직의 피사가 실험군 1에 비하여 현저히 줄어들었다. 또한 투과전자현미경상에서도 실험군 1과 실험군 2 모두에서 지방적은 증가하였으나 실험군 1에서는 용해소체가 급증하였고 미토콘드리아가 심하게 손상되어 있었던 반면에 실험군 2에서는 실험군 1에 비해서 미토콘드리아가 잘 보존되어 있는 등 개선된 효과를 보인 것으로 보아 석류씨 기름이 사염화탄소에 의한 간독성을 낮추는 기능을 하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Ajakumar KB, Asheef M, Babu BH, Padikkala J: The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanolic extract, *J Ethnopharmacol* 96 : 1-2, 2005.
- Aviram M, Dornfeld L: Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure, *Atherosclerosis* 158(1) : 195-198, 2001.
- Griendling KK, FitzGerald GA: Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: basic mechanism and *in vivo* monitoring of ROS, *Circulation* 108 : 1912-1916. 2003.
- Goldfien A, Monroe SE: In Basic & clinical endocrinology, 5th ed. (Greenspan FS and Strewler GJ eds), Appleton Lange company, London, 474-477, 1997.
- Haouzi D, Lekehal M, Moreau A, Moulis C, Feldmann G, Robin MA, Letteron P, Fau D, Pessayre D: Cytochrome p450-generated reactive metabolites cause mitochondrial permeability transition, caspase activation, and apoptosis in rat hepatocytes, *Hepatology* 32 : 303-311, 2000.
- Hodgson E, Guthrie FE: Introduction to Biochemical Toxicology. 2nd ed. Elsevier: 143-161, 1982.

- Hora JJ, Maydew ER, Lansky EP, Dwivedi C: Chemo-preventive effects of pomegranate seed oil on skin tumor development in CD1 mice, *J Med Food* 6(3) : 157-161, 2003.
- Junko MO, Yoko OH, Yamato H, Yoshimura H: Pomegranate extract improves a depressive state and bone properties in menopausal syndrome model ovariectomized mice, *J Ethnopharmacol* 92 : 93-101, 2004.
- Kohno H, Suzuki R, Yasui Y, Hosokawa M, Miyashita K, Tanaka T: Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats, *Cancer Sci* 95(6) : 481-486, 2004.
- Kim DY, Yoon SH: Hepatoprotective effects of Sosihotang on CCl₄ induced liver injury rats, *J Korean Soc Hygienic Sciences* 4(2) : 1-6, 1998. (Korean)
- Kim KS, Park JH: Effect of *Artemisia Iwayomogi* water extract on hepatic injury by carbon tetrachloride in rats II. Effect on serum ALP, LAP activities, total protein, bilirubin content and liver glycogen content, *Korean J Vet Res* 32(3) : 357-364, 1992. (Korean)
- Lee YJ, Lee HM, Park TS: Effects of uncooked powdered food on antioxidative system and serum mineral concentrations in rats fed unbalanced diet, *The Korean Nutrition Society* 36(9) : 898-907, 2003. (Korean)
- Malik A, Afaq F, Sarfaraz S, Adhami VM, Syed DN, Mukhtar H: Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer, *Proc Natl Acad Sci* 102(41) : 14813-14818, 2005.
- Mansour MA: Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice, *Life Science* 66(26) : 2583-2591, 2000.
- Poyrazoglu E, Gokmen V, Artik N: Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum* L.), 2002.
- Sato S, Dai W, Liu XL, Asano G: The protective effect of hepatocyte growth-promoting factor (pHGF) against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats: an ultrastructural study, *Med Electron Microsc* 32 : 184-192, 1999.
- Schubert SY, Lansky EP, Neeman: Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids, *J Ethnopharmacology* 66 : 11-17, 1999.
- Sher P: Diagnostic effectiveness of biochemical liver-function tests, as evaluated by discriminant function analysis, *Clin. Chem* 2(4) : 627-630, 1977.
- Singh RP, Chidambara KN, Jayaprakasha GK: Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models, *J Agric Food Chem* 50 : 81-86, 2002.
- Sumner Elliott-Eller M, Weidner G, Daubenmier JJ, Chew MH, Marlin R, Raisin CJ, Ornish D: Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease, *Am J Cardiol* 96(6) : 810-814, 2005.
- Takahara U: Inhibition of lipoxygenase-dependent lipid peroxidation by quercetin, *Phytochemistry* 24 : 1443-1446, 1985.
- Tomasi A, Albano E, Banni S, Botti B, Corongiu F, Dessi MA, Iannone A, Vannini V, Dianzani MU: Free-radical metabolism of carbon tetrachloride in rat liver mitochondria, *Biochem J* 246 : 313-317, 1987.
- Wang RF, Xie WD, Zhang Z, Xing DM, Dong Yi, Wnag W, Ma C, Du LJ: Bioactive compounds from the seeds of *Punica granatum* (Pomegranate), *J Nat Prod* 67 : 2096-2098, 2004.
- Weddle CC, Hornbrook KR, McCay PB: Lipid peroxidation and alteration of membrane lipids in isolated hepatocytes exposed to carbon tetrachloride, *J Biol Chem* 251(16) : 4973-4978, 1976.
- Yamasaki M, Kitagawa T, Koyanagi N, Chujo H, Maeda H, Junko KM, Imamura J, Tachibana H, Yamada K: Dietary effect of pomegranate seed oil on immune function and lipid metabolism in mice, *Nutrition* 22(1) : 54-59, 2006.
- Zang LJ, Yu JP, Li D, Huang YH, Chen ZX, Wnag XZ: Effects of cytokines on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats, *World J Gastroenterol* 10(1) : 77-81, 2004.
- Zimmerman HJ: The spectrum of hepatotoxicity, *Perspect Biol Med* 12 : 135-161, 1968.

< 국문초록 >

최근 석류씨 기름은 항암효과를 포함하여 다양한 효과가 있는 것으로 확인되고 있다. 본 연구는 BALB/c 생쥐에 석류씨 기름을 처리한 후 사염화탄소를 주사하여 석류씨 기름이 간 독성에 어떤 영향을 미치는지 확인하기

위하여 올리브 기름만을 처리한 대조군, 사염화탄소만을 처리한 실험군 1, 및 사염화탄소를 처리한 후 석류씨 기름을 구강투여한 실험군 2로 나누어 24시간 후 혈액을 채취하여 혈청내 AST (aspartate aminotransferase, SGOT), ALT (alanine aminotransferase, SGPT), total protein, albumin, total bilirubin, direct bilirubin 및 alkaline phosphatase의 함량을 측정하였고 광학현미경과 투과전자현미경으로 조직의 변화를 관찰하였다.

AST와 ALT는 대조군에서 각각 88.70 ± 14.90 및 22.00 ± 3.12 IU/L, 실험군 1에서 1963.70 ± 1212.90 및 4495.40 ± 2803.60 IU/L 그리고 실험군 2에서 $432.20 \pm$

260.10 및 692.30 ± 433.10 IU/L이었으며 실험군 2에서의 측정값은 실험군 1에 비해 유의한 차이를 보였다 ($P < 0.005$). 간조직을 관찰한 결과 사염화탄소를 처리한 실험군 1에서는 문맥을 제외한 중심정맥 주위에서 간조직의 심한 응고성 괴사가 관찰되었고, 괴사조직 가장자리 주위로 지방변성을 확인할 수 있었다. 이에 비하여 석류씨 기름을 처리한 군에서 중심정맥 주위의 간실질 조직의 괴사가 실험군 1에 비하여 현저히 줄어들었고, 간세포의 지방변성은 계속 관찰되었으나 용해소체의 감소와 미토콘드리아가 실험군 1에 비해서 보존되어 있는 것으로 보아 석류씨 기름이 간보호에 효과가 있는 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Light micrograph of liver tissue in control group treated with olive oil only. H-E stain ($\times 100$).
- Fig. 2.** Experimental group 1 treated with CCl_4 only. H-E stain ($\times 100$).
- Fig. 3.** Experimental group 2 treated with CCl_4 after administration of pomegranate seed oil. H-E stain ($\times 100$).
- Fig. 4.** Transmission electron micrograph of hepatocyte in control group treated with olive oil only (scale bar= $2\ \mu\text{m}$).
- Fig. 5.** Experimental group 1 treated with CCl_4 only (scale bar= $1\ \mu\text{m}$). L: Lipid droplet, Ly: Lysosome.
- Fig. 6.** Experimental group 1 treated with CCl_4 only (scale bar= $1\ \mu\text{m}$). Note the abnormal mitochondria (M).
- Fig. 7.** Experimental group 2 treated with CCl_4 after administration of pomegranate seed oil (scale bar= $1\ \mu\text{m}$). L: Lipid droplet.
- Fig. 8.** Experimental group 2 treated with CCl_4 after administration of pomegranate seed oil (scale bar= $500\ \text{nm}$). The mitochondrion (M) was preserved than that of experimental group 1.



