大韓獸醫學會誌(2008) 第48卷 第4號
Korean J Vet Res(2008) 48(4) : 413~421

다래(*Actinidia arguta*) 열매의 열수 추출물, PG102의 4주 반복 경구투여에 대한 안전성 연구

홍은실[1] · 김미정[1] · 권은정[1] · 김리홍[2] · 김동현[2] · 어해관[1] · 박은진[1] · 김선영[2] · 김선희[1,*]
[1]헬릭서, [2]서울대학교 생명과학부
(게재승인: 2008년 12월 2일)

Subacute toxicological study of PG102, a water-soluble extract derived from *Actinidia arguta*, in SD rats

Eun-Sil Hong[1], Mi-Jeong Kim[1], Eun-Jung Kwon[1], Lihong Kim[2], Dong-Hyun Kim[2], Hae-Kwan Eo[1], Eun-Jin Park[1], Sunyoung Kim[2], Seon-Hee Kim[1]*

[1]*Biotechnology Incubating Center, Helixir Co., Seoul 151-742, Korea*
[2]*College of Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*
(Accepted: December 2, 2008)

Abstract : It was previously found that PG102, a water-soluble extract derived from *Actinidia arguta*, was able to modulate Th1/Th2 pathways and suppress IgE production resulting in dramatic amelioration of atopic dermatitis in NC/Nga mouse and hairless rat models. In order to evaluate the subacute toxicity of PG102, female and male SD rats were daily fed with various doses of PG102 for 4 weeks. Six week old SD rats were randomly divided into 4 groups and orally administrated with 100-, 300-, and 1,000-mg/kg of PG102 as well as the vehicle only. At the end of the study, no significant differences in the body and organ weights were observed between control and treated rats of both genders. Hematological and blood chemical analysis showed little differences between the animal groups. Neither gross abnormalities nor histopathological changes were found. PG102 produced little or no subacute toxicity and could be used as a safe nutraceutical for the treatment of individuals with allergic diseases including atopic dermatitis.

Keywords : *Actinidia arguta*, allergy, complete blood cell counts, PG102, toxicity.

서 론

다래(*Actinidia arguta*; hardy kiwi)는 우리나라 곳곳의 깊은 산골짜기나 산기슭의 마른 땅에서 자라며 다래나무과(*Actinidiaceae*)에 속하는 낙엽덩굴식물이다. 다래나무과에 속하는 식물의 속의 수는 3개이며, 그 중 다래나무속(Actinidia)에 속하는 종 수는 아시아에서 50-70종 [4], 전 세계적으로는 244종이 보고되어 있다 [9]. 국내에 자생하고 있는 것은 *Actinidia arguta*를 포함하여 개다래(*Actinidia polygama*), 쥐다래(*Actinidia. kolomikta*), 섬다래(*Actinidia rufa*)의 4종이 알려져 있다 [16].

다래나무의 열매는 미후도라 하여 번열, 소갈증, 황달, 소화불량의 치료에 쓰였으며, 뿌리는 미후도근이라 하여 급성 간염, 수종, 소화불량, 구토, 타발상, 관절통, 등의 치료에 쓰여왔다. 또한 잎은 미후리라 하여 식도암, 황달, 설사, 외상에 의한 출혈의 치료 등에 쓰였다 [1, 11].

다래(*Actinidia arguta*)의 성분은 이 식물의 부분에 따라 연구되어 있다. 다래 잎에서는 flavonol triglycoside계열의 quercetin 유도체와 kaempferol analog들이 분리 보

*Corresponding author: Seon-Hee Kim
Biotechnology Incubating Center, Helixir Co., Seoul 151-742, Korea
[Tel: +82-2-878-2930, Fax: +82-2-873-8022, E-mail: seonhee@helixir.co.kr]

고 되었다 [17]. 다래 열매에서는 monoterpenes과 esters가 분리되었고 꽃에서는 다량의 linalool 유도체가 분리된 바 있다 [12]. 다래 줄기의 메탄올 추출물에서 분리된 (+)-catechin과 (−)-epicatechin은 골수증식을 자극하는 것으로 알려졌다 [16].

한편, 다래나무의 약리 활성으로는 다래나무 줄기의 항암효과, 면역증강, 항산화 활성이 알려졌고 [8, 11], 다래 열매에서도 항염증 및 항산화 효과가 있다는 것이 세포주 시스템에서 발견되었다 [10]. Takano F [16] 등의 보고에 의하면, 다래는 5-fluorouracil의 골수 억압으로 인해 감소된 단핵구, 과립구, 림프구를 증가시킴으로서 골수보호 효과를 보여주었다. 이외에도 다래의 n-butyl alcohol 추출물이 위암 세포인 Eca-109 세포에서 apoptosis를 일으킴으로서 항암효과가 있음이 알려졌고 [18], 다래 열매에서 allergy를 유발하는 다래속의 allergen인 actinidin이 가열시 단백질구조가 변환되어 allergy 반응이 감소한다는 결과가 보고되었다 [3].

PG102는 식용다래(*Actinidia arguta*) 미성숙 열매의 열수추출물로 추출용매의 유해성이 전혀 없는 안전한 식용제품이다. 선행연구를 통해 PG102가 Th1/Th2 pathways를 조절하고 IgE 생산을 억제하여 각종 알레르기 질환을 치료할 수 있음을 보고한 바 있다 [13, 14]. 예를 들어 PG102는 오브알부민으로 감작시킨 아토피 마우스 모델 및 NC/Nga 마우스 등의 아토피 피부염 모델에서 IgE는 물론 Th2 사이토카인인 IL-4와 IL-5를 선택적으로 억제하는 등, 뚜렷한 면역개선 효능을 나타내었다. 이를 통하여 PG102가 IgE에 의해서 매개되는 아토피 피부염을 비롯한 다양한 알레르기 질환에 대해 예방 및 개선제로 사용될 수 있는 가능성을 발견하였다.

이번 연구에서는 PG102가 사람에서 임상적으로 사용되는 데에 필요한 안전성이 있는가를 조사하기 위해 식품의약품안전청과 국제적 표준에 맞는 독성시험법에 따라 설치류에서 4주 반복경구투여 독성시험을 실시하였다 [6, 7]. 독성시험 기준은 식품의약품 안전청 고시 제 2005-60호를 따라 수행하였으며, 비임상 시험에 대한 관리기준은 식품의약품 안전청 고시 제 2005-79호를 따랐다.

재료 및 방법

실험동물 및 사육조건

Sprague-Dawley계 5주령 암수 랫드를 서울대학교 실험동물 자원관리원(한국)으로부터 구입하였다. 일주일간의 순화기간을 거치면서 일반증상을 관찰하여 임상적으로 건강한 동물만을 군당 7마리씩 암수 각각 4그룹으로 분리하였다. 투여 개시 시점에서 수컷의 체중은 136.54 ± 3.52 g, 암컷의 체중은 107.84 ± 2.03 g이었으며 동물은 온도(23 ± 2°C), 상대 습도(60 ± 10%), 환기 (15-20 회/시간) 그리고 명암주기(조도 150-600 Lux, 조명시간 07:00-19:00)가 자동 조절되는 동물 사육실에서 사육되었다. 감마선 조사 (2 rad) 실험동물용 고형사료 (LabDiet, USA)와 살균 수도수를 자유 급식하였다. 이상의 SD rat에 대한 4주 반복 경구투여의 독성실험을 동일한 조건으로 2회 반복하였다.

시험물질의 제조

PG102는 선행논문에 기재된 방법에 따라 제조하였는바, 간단히 다음과 같이 기술한다 [13]. 원료(칠레산 다래) 100 g을 3차 증류수 1,000 ml에 넣고 100°C에서 1시간 동안 가열하여 추출하였다. 침전된 PG102에 또다시 3차 증류수 1,000 ml을 넣고 동일한 과정을 3번 반복하여 얻은 추출액을 합하여 total extract를 200 ml까지 70°C에서 농축시켰다. 농축액을 7 μm filter paper로 여과하고 100 ml로 2차 농축하여 −50°C까지 동결 후 동결건조(수율: 43~46%)하였으며 실험에 사용하기 전까지 −80°C에서 보관하였다. 헬릭서(Korea)의 품질관리법에 따라 분석은 지표물질인 quinic acid와 citric acid에 대한 HPLC 정량시험을 통하여 이루어졌으며 시험에 사용된 PG102 추출물의 quinic acid와 citric acid의 함량은 각각 2.1906%와 3.2361% 였다.

시험군의 구성 및 투여

생후 6주령 암수 랫드를 7마리씩 각각 4 그룹으로 나누고 3 그룹에는 PG102를 각각 100, 300, 1,000 mg/kg을 투여하였다. 투여용량은 선행연구의 유효용량 10~300 mg/kg에 따라 선정하였다. 각 용량의 PG102를 1 ml의 식용수에 녹이고 이를 매일 오전 1회 존데를 사용하여 PG102 투여군에 4주간 경구 투여하였으며, 나머지 1 그룹에는 용매인 식용수 1 ml을 주었다. 시험 동물은 성별에 따라 수컷은 M으로 암컷은 F로 표기하였고, 각 군은 PG102 투여용량에 따라 0, 100, 300, 1,000으로 구분하였다.

임상증상 관찰 및 체중 측정

시험기간 중 매일 동물의 행동, 보행이상, 폐사나 빈사상태 등을 살폈으며, 시험 중 폐사하는 동물이 발견되었을 경우 즉시 부검하여 사인을 규명하도록 하였다. 모든 시험 동물의 체중은 시험 개시 전 1회, 시험 개시 후 매주 1회씩 4주 동안 측정하였다.

혈액학적 검사 및 혈액 화학적 검사

부검전일 12시간 절식 시킨 상태에서 마취 시킨 후 개복하여 복대정맥으로 혈액을 채취하였다. 일부는 백

혈구수, 적혈구수, 혈색소량, 적혈구 용적, 평균 적혈구 용적, 평균 적혈구 혈색소량, 평균 적혈구 혈색소농도, 혈소판 그리고 호중구, 호산구, 호염기구, 림프구 및 단핵구의 백분율수치를 Hemavet 850FS(Oxford Science, USA) 기기를 이용하여 측정하였다. 그리고 일부는 응고시킨 다음 원심분리(3,000 rpm, 15min)해서 전혈로부터 혈청을 얻은 후 총 단백질, 알부민, 총 빌리루빈, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, 크레아틴 인산화효소, 칼슘, 인, 크레아틴, 혈중 요소질소, 콜레스테롤, 트리글리세라이드, 글루코오즈, sodium, potassum, chloride의 수치를 Integra 700 (Roche Diagnostics, USA) 기기를 사용하여 측정하였다 (분석대행: Neodin vetlab, Korea).

부검 및 육안검사

동물에 zoletil 20 mg/kg + xylazine 10 mg/kg을 복강 내에 주사(IP)하여 마취시킨 후, 채혈하여 방혈로 안락사를 하였다. 주요 장기에 대한 육안 검사를 통해 병변의 유무를 관찰한 후 장기를 적출하여 각 장기의 절대 중량을 측정한 다음, 체중에 대한 상대 중량을 계산하였다.

조직학적 검사

모든 장기의 중량을 측정한 다음 10% 중성포르말린용액에 고정시켰다. 이상 소견이 보이는 장기를 파라핀 포매(Leica EG1160 paraffin embedding station)하여 microtome으로 5 μm의 두께로 잘라 슬라이드에 고정하였다. H&E으로 염색한 조직은 광학현미경으로 관찰하였다.

통계처리

대조군과 PG102 투여군 간의 체중 및 장기무게의 변화, 혈액검사, 혈청 생화학검사에 대한 결과는 평균±표준편차로 표시하였고, One-way ANOVA로 분석한 후 Dunnett multiple comparison test로 대조군과 시험물질 투여군과의 통계적인 유의차를 분석하였다. 각 성별의 D.W. 투여군인 대조군의 평균값에 비교하여 각 농도의 시험물질인 PG102를 투여한 군 간의 평균값의 차이에 대해 비교유의차가 5% 미만 ($p < 0.05$)일 때 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

임상증상 및 사망동물

시험 기간 동안 대조군을 포함한 모든 PG102 투여군에서 사망한 동물은 없었다. 또한 모든 동물에서 시험물질 투여 후 대조물질 투여군에 비하여 특이할 만한 임상학적 이상은 관찰되지 않았다.

체중 및 장기 중량

PG102 투여군과 대조군의 매주간 체중변화율(%)과 실험 종료시점의 장기중량의 변화는 Table 1 과 2 및 3에 표시된 바와 같이 관찰되었다. 체중 변화에서는 실험 1-2주차에서 M-300군이 30.14 ± 3.20% 증가하여 대조군 M-0군의 27.12 ± 2.01% 증가와 비교하여 체중의 유의한 증가($p = 0.03$)를 나타내었으며, 또한 F-300군도 23.15 ± 3.59% 증가하여, 대조군 F-0군의 18.23 ± 3.67% 증가와 비교하여 체중의 변화가 유의한 증가($p = 0.02$)를 나타내었다. 나머지 시험물질 투여 군들에서는 대조군과 비교하여 차이가 거의 없었으며 매주간 고른 증가율을 보였다.

장기중량 측정 결과 저용량 수컷군인 M-100군에서 간

Table 1. Changes of body weight increasing rate (BMIR†, %)

Gender \ Time(week)		1	2	3	4	Total (0-4)
M	M-0	33.93 ± 2.50	27.12 ± 2.01	15.61 ± 1.02	4.46 ± 2.27	59.95 ± 1.71
	M-100	32.49 ± 1.33	25.79 ± 1.43	15.88 ± 1.29	5.55 ± 2.67	60.14 ± 2.27
	M-300	28.76 ± 3.46	30.14 ± 3.20*	15.55 ± 0.82	5.07 ± 2.42	60.02 ± 2.40
	M-1000	31.86 ± 1.79	27.82 ± 1.45	16.22 ± 0.98	5.29 ± 1.18	60.90 ± 1.64
F	F-0	29.42 ± 4.12	18.23 ± 3.67	10.13 ± 2.55	1.34 ± 1.76	48.62 ± 3.37
	F-100	30.07 ± 2.28	18.08 ± 2.42	10.64 ± 3.41	0.55 ± 1.80	49.38 ± 3.10
	F-300	28.67 ± 6.40	23.15 ± 3.59*	9.71 ± 3.06	0.69 ± 2.35	50.72 ± 3.02
	F-1000	30.68 ± 2.41	19.04 ± 3.08	10.62 ± 1.43	0.84 ± 2.14	50.07 ± 2.82

All values are expressed as mean ± SD.
*Significantly different from the control group, M-0 ($p < 0.05$) using Dunnett test.
†BWIR (body weight increasing rate) = (later week body weight-previous week body weight)/later week body weight × 100.

Table 2. Weights of internal organs in male rats

Items	M-0	M-100	M-300	M-1000
Absolute weight (g)				
Liver	11.13 ± 1.08	12.79 ± 1.32*	11.06 ± 0.96	11.37 ± 0.88
Kidneys	2.78 ± 0.24	2.95 ± 0.30	2.79 ± 0.26	2.77 ± 0.26
Spleen	0.72 ± 0.09	0.84 ± 0.08	0.84 ± 0.20	0.77 ± 0.10
Adrenal glands	0.055 ± 0.005	0.057 ± 0.007	0.052 ± 0.003	0.055 ± 0.011
Heart	1.176 ± 0.08	1.188 ± 0.20	1.079 ± 0.10	1.113 ± 0.07
Lung	1.183 ± 0.10	1.180 ± 0.11	1.171 ± 0.08	1.201 ± 0.07
Thymus	0.621 ± 0.08	0.709 ± 0.12	0.562 ± 0.07	0.634 ± 0.13
Salivary gland	0.56 ± 0.07	0.58 ± 0.05	0.55 ± 0.05	0.53 ± 0.04
Brain	1.83 ± 0.08	1.76 ± 0.04	1.85 ± 0.03	1.85 ± 0.10
Testes	3.01 ± 0.18	2.94 ± 0.28	2.98 ± 0.22	2.99 ± 0.39
Relative weight† (%)				
Liver	3.26 ± 0.21	3.61 ± 0.43	3.24 ± 0.18	3.25 ± 0.16
Kidneys	0.81 ± 0.06	0.83 ± 0.07	0.81 ± 0.04	0.79 ± 0.06
Spleen	0.21 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.24 ± 0.04	0.22 ± 0.02
Adrenal glands	0.016 ± 0.002	0.016 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.016 ± 0.003
Heart	0.344 ± 0.01	0.334 ± 0.05	0.316 ± 0.01	0.318 ± 0.02
Lung	0.346 ± 0.02	0.332 ± 0.02	0.343 ± 0.01	0.345 ± 0.02
Thymus	0.18 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.03
Salivary gland	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.01
Brain	0.53 ± 0.03	0.49 ± 0.02	0.54 ± 0.02	0.53 ± 0.03
Testes	0.88 ± 0.07	0.83 ± 0.10	0.87 ± 0.08	0.86 ± 0.13

All values are expressed as mean ± SD.
*Significantly different from the control group, M-0 ($p < 0.05$) using Dunnett test.
†Relative weight; organ weight/body weight × 100.

의 절대적 무게가 12.79 ± 1.32 g으로서 대조군인 M-0군의 간의 무게인 11.13 ± 1.08 g과 비교하여 유의한 수준의 증가를 보였다($p = 0.02$). 그러나 PG102를 보다 높은 용량으로 투여받은 M-300군과 M-1000군의 장기무게에는 대조군 M-0군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. 암컷군인 F-100군에서 심장의 상대적 무게가 0.333 ± 0.01 g으로 대조군인 F-0군의 0.358 ± 0.02 g 과 비교하여 유의한 감소($p = 0.04$)를 보였으나, F-300군과 F-1000군의 암컷 고용량군에서는 대조군에 비하여 유의한 수준의 증감이 관찰되지 않았다. F-1000군에서는 침샘의 상대적 무게가 0.17 ± 0.01 g으로 대조군인 F-0군의 0.19 ± 0.01 g 과 비교하여 유의한 감소($p = 0.01$)를 나타내었으나 심장을 비롯한 다른 장기의 무게에는 뚜렷한 변화가 관찰되지 않았다.

혈액학 및 혈액생화학

PG102 투여군과 대조군에서 채취한 혈액에 대한 혈액학적 검사결과는 Table 4와 5에 정리되어 있는 바와 같다. 평균 적혈구 용적 및 평균 적혈구 색소량과 평균 적혈구 색소농도를 포함하는 모든 혈액학적 검사항목에서 대조군과 시험물질 투여군 사이에 통계학적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다.

시험 동물의 혈청에 대한 혈액생화학적 검사 결과는 Table 6과 7에 정리되어 있는 바와 같다. 고용량군인 M-1000군에서는 크레아틴 인산화효소의 수치가 286.63 ± 116.43 IU/l 로서 대조군 M-0군의 498.29 ± 138.86 IU/l 과 비교하여 유의한 수준의 감소($p = 0.04$)를 보였다. 혈중 요소질소의 수치는 13.40 ± 2.38 mg/dl으로서, 대조군 10.80 ± 1.40 mg/dl과 비교하여 유의하게 증가하였다($p = 0.03$). 암컷의 고용량군인 F-1000군에서의 혈중 요소질

Table 3. Weights of internal organs in female rats

Items	F-0	F-100	F-300	F-1000
Absolute weight (g)				
Liver	6.96 ± 0.91	6.81 ± 0.58	6.68 ± 0.74	6.71 ± 0.45
Kidneys	1.85 ± 0.19	1.80 ± 0.21	1.77 ± 0.14	1.77 ± 0.14
Spleen	0.54 ± 0.05	0.49 ± 0.11	0.52 ± 0.05	0.53 ± 0.08
Adrenal glands	0.062 ± 0.009	0.059 ± 0.008	0.059 ± 0.006	0.062 ± 0.008
Heart	0.762 ± 0.06	0.716 ± 0.06	0.802 ± 0.08	0.750 ± 0.04
Lung	0.959 ± 0.06	0.929 ± 0.07	1.015 ± 0.10	0.997 ± 0.07
Thymus	0.50 ± 0.12	0.49 ± 0.13	0.54 ± 0.08	0.59 ± 0.12
Salivary gland	0.41 ± 0.03	0.37 ± 0.04	0.38 ± 0.03	0.37 ± 0.03
Brain	1.74 ± 0.05	1.72 ± 0.03	1.76 ± 0.08	1.78 ± 0.10
Ovaries	0.119 ± 0.02	0.114 ± 0.01	0.119 ± 0.01	0.123 ± 0.01
Relative weight† (%)				
Liver	3.26 ± 0.30	3.18 ± 0.25	3.13 ± 0.27	3.05 ± 0.16
Kidneys	0.87 ± 0.07	0.84 ± 0.06	0.81 ± 0.05	0.80 ± 0.05
Spleen	0.25 ± 0.02	0.22 ± 0.04	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.03
Adrenal glands	0.029 ± 0.004	0.027 ± 0.003	0.027 ± 0.001	0.028 ± 0.003
Heart	0.358 ± 0.02	0.333 ± 0.01*	0.375 ± 0.02	0.341 ± 0.01
Lung	0.451 ± 0.03	0.432 ± 0.01	0.475 ± 0.03	0.449 ± 0.02
Thymus	0.23 ± 0.05	0.22 ± 0.05	0.25 ± 0.03	0.27 ± 0.05
Salivary gland	0.19 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.01*
Brain	0.82 ± 0.05	0.80 ± 0.06	0.82 ± 0.05	0.81 ± 0.05
Ovaries	0.056 ± 0.011	0.053 ± 0.007	0.055 ± 0.006	0.056 ± 0.008

All values are expressed as mean ± SD.
*Significantly different from the control group, M-0 ($p < 0.05$) using Dunnett test.
†Relative weight; organ weight/body weight × 100.

Table 4. Complete blood cell count of male rats

Items*	M-0	M-100	M-300	M-1000
RBC ($\times 10^6$)	7.26 ± 0.54	7.33 ± 0.55	7.28 ± 0.43	7.28 ± 0.45
Hb (mg/ml)	14.61 ± 0.86	15.19 ± 0.80	14.74 ± 0.95	14.90 ± 0.68
PCV (%)	40.64 ± 2.79	42.10 ± 2.88	41.00 ± 3.02	42.36 ± 3.03
PLT ($\times 10^3$)	662.29 ± 229.35	685.33 ± 187.77	673.14 ± 75.87	643.43 ± 185.04
MCV (fl)	56.04 ± 1.53	57.49 ± 2.37	57.39 ± 0.90	58.26 ± 2.15
MCH (pg)	20.16 ± 0.53	20.76 ± 0.94	20.67 ± 1.07	20.54 ± 1.07
MCHC (mg/ml)	35.99 ± 0.91	36.11 ± 1.10	36.00 ± 1.53	35.25 ± 1.81
WBC ($\times 10^3$)	12.88 ± 5.64	12.73 ± 4.55	12.62 ± 2.94	13.94 ± 3.81
NE (%)	20.35 ± 2.50	16.26 ± 5.17	16.95 ± 3.54	16.69 ± 4.78
LY (%)	74.93 ± 2.93	79.01 ± 6.78	78.64 ± 4.16	79.12 ± 5.74
MO (%)	3.01 ± 0.59	3.65 ± 1.29	3.06 ± 1.04	2.97 ± 0.37
EO (%)	1.17 ± 0.76	0.69 ± 0.63	0.93 ± 0.49	0.80 ± 0.60
BA (%)	0.55 ± 0.29	0.38 ± 0.31	0.43 ± 0.31	0.42 ± 0.28

All values are expressed as mean ± SD.
*RBC; red blood cell, Hb; hemoglobin, PCV; packed cell volume, PLT; platelets, MCV; mean corpuscular volume, MCH; mean corpuscular hemoglobin, MCHC; mean corpuscular hemoglobin concentration, WBC; white blood cell, NE; neutrophils, LY; lymphocytes, MO; monocytes, EO; eosinophils, BA; basophils.

Table 5. Complete blood cell count of female rats

Items*	F-0	F-100	F-300	F-1000
RBC ($\times 10^6$)	7.55 ± 0.68	7.03 ± 0.62	7.27 ± 0.41	7.03 ± 0.53
Hb (mg/ml)	14.59 ± 1.13	13.86 ± 0.47	14.47 ± 0.64	13.56 ± 0.97
PCV (%)	42.93 ± 2.81	40.61 ± 3.10	40.91 ± 2.86	39.59 ± 3.64
PLT ($\times 10^3$)	754.86 ± 186.44	752.67 ± 111.51	743.00 ± 131.76	709.33 ± 71.58
MCV (fl)	57.01 ± 1.76	57.84 ± 2.46	56.29 ± 2.33	56.29 ± 2.97
MCH (pg)	19.36 ± 0.49	19.86 ± 2.13	19.93 ± 0.88	19.34 ± 1.40
MCHC (mg/ml)	33.96 ± 1.07	34.30 ± 3.22	35.43 ± 1.12	34.36 ± 2.12
WBC ($\times 10^3$)	12.72 ± 4.17	10.33 ± 3.91	11.72 ± 3.66	9.42 ± 3.71
NE (%)	14.74 ± 3.84	14.21 ± 4.78	13.23 ± 5.07	13.69 ± 4.31
LY (%)	81.28 ± 5.78	82.05 ± 5.88	84.42 ± 4.99	82.78 ± 5.92
MO (%)	2.10 ± 0.99	2.28 ± 0.77	2.10 ± 0.65	2.05 ± 0.85
EO (%)	1.26 ± 1.32	0.99 ± 0.56	0.94 ± 0.51	1.02 ± 1.33
BA (%)	0.42 ± 0.28	0.47 ± 0.28	0.44 ± 0.27	0.46 ± 0.53

All values are expressed as mean ± SD.
*RBC; red blood cell, Hb; hemoglobin, PCV; packed cell volume, PLT; platelets, MCV; mean corpuscular volume, MCH; mean corpuscular hemoglobin, MCHC; mean corpuscular hemoglobin concentration, WBC; white blood cell, NE; neutrophils, LY; lymphocytes, MO; monocytes, EO; eosinophils, BA; basophils.

Table 6. Analysis of serum chemistry in male rats

Items†	M-0	M-100	M-300	M-1000
ALB (g/dl)	3.81 ± 0.19	3.81 ± 0.19	3.78 ± 0.16	3.65 ± 0.15
ALP (IU/l)	174.43 ± 45.52	167.00 ± 26.76	182.00 ± 50.32	171.00 ± 31.39
ALT (IU/l)	35.43 ± 6.08	33.43 ± 5.88	36.50 ± 4.23	32.00 ± 2.35
AST (IU/l)	112.00 ± 24.19	93.57 ± 19.03	109.80 ± 18.67	91.67 ± 11.09
TBIL (mg/dl)	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
CA (mg/dl)	8.21 ± 0.15	8.76 ± 0.59	8.10 ± 0.50	8.44 ± 0.35
TC (mg/dl)	60.86 ± 13.32	63.86 ± 6.34	59.80 ± 7.40	60.13 ± 11.39
CPK (IU/l)	498.29 ± 138.86	405.14 ± 105.97	349.40 ± 94.63	286.63 ± 116.43*
CREA (mg/dl)	0.33 ± 0.05	0.31 ± 0.04	0.31 ± 0.01	0.30 ± 0.05
GLU (mg/dl)	129.57 ± 44.35	154.00 ± 20.20	154.33 ± 31.97	157.00 ± 33.60
P (mg/dl)	10.27 ± 0.45	11.57 ± 2.87	10.22 ± 0.97	10.84 ± 1.09
TP(g/dl)	5.69 ± 0.27	5.67 ± 0.26	5.48 ± 0.13	5.43 ± 0.11
BUN (mg/dl)	10.80 ± 1.40	11.91 ± 1.88	12.38 ± 1.32	13.40 ± 2.38*
TG (mg/dl)	72.00 ± 32.62	87.50 ± 30.96	64.67 ± 22.43	58.50 ± 10.71
Sodium (mEq/l)	141.16 ± 1.66	140.07 ± 1.55	141.13 ± 2.18	140.83 ± 1.53
Potassium (mEq/l)	4.59 ± 0.64	4.71 ± 0.36	4.38 ± 0.54	4.47 ± 0.28
Chloride (mEq/l)	101.56 ± 1.21	100.33 ± 1.43	100.47 ± 1.23	100.41 ± 1.50

All values are expressed as mean ± SD.
*Significantly different from the control group, M-0 ($p < 0.05$) using Dunnett test.
†ALB; albumin, ALP; alkaline phosphatase, ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase, TBIL; total bilirubin, CA; calcium, TC; total cholesterol, CPK; creatine phosphokinase, CREA; creatinine, GLU; glucose, P; phosphorous, TP; total protein, BUN; blood urea nitrogen, TG; triglyceride.

소의 수치는 13.70 ± 1.72 mg/dl으로서, 대조군 F-0군의 11.43 ± 1.50 mg/dl과 비교하여 유의한 증가($p = 0.02$)가 관찰되었다. 랫드의 정상적인 혈중 요소질소의 범위는 10~18.9 mg/dl [15]으로서, 두 경우 모두 정상적인 범위 내의 변화였다. 이 외의 혈액 생화학적 지표는 암수 모든 투여군에서 대조군의 수치와 유사하였다.

Table 7. Analysis of serum chemistry in female rats.

Items†	F-0	F-100	F-300	F-1000
ALB (g/dl)	4.02 ± 0.29	3.86 ± 0.13	3.89 ± 0.22	3.95 ± 0.23
ALP (IU/l)	106.33 ± 31.95	102.20 ± 16.71	116.43 ± 23.86	101.50 ± 15.95
ALT (IU/l)	22.67 ± 2.88	20.83 ± 3.25	22.00 ± 5.26	22.13 ± 3.52
AST (IU/l)	76.67 ± 15.04	78.40 ± 12.03	81.29 ± 16.92	80.75 ± 14.50
TBIL (mg/dl)	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.04	0.11 ± 0.04
CA (mg/dl)	8.47 ± 0.51	8.42 ± 0.44	8.41 ± 0.22	8.41 ± 0.35
TC (mg/dl)	76.83 ± 19.52	72.83 ± 7.78	66.00 ± 13.53	67.38 ± 18.49
CPK (IU/l)	181.00 ± 77.33	170.00 ± 48.46	169.33 ± 53.44	161.88 ± 90.50
CREA (mg/dl)	0.30 ± 0.00	0.36 ± 0.05	0.33 ± 0.05	0.34 ± 0.07
GLU (mg/dl)	130.67 ± 20.10	128.83 ± 33.42	124.71 ± 21.69	125.63 ± 21.00
P (mg/dl)	9.65 ± 1.43	9.44 ± 1.93	9.58 ± 1.09	9.43 ± 0.75
TP(g/dl)	5.62 ± 0.43	5.48 ± 0.26	5.51 ± 0.25	5.61 ± 0.33
BUN (mg/dl)	11.43 ± 1.50	12.58 ± 0.70	13.35 ± 1.52	13.70 ± 1.72*
TG (mg/dl)	45.33 ± 25.48	44.00 ± 22.93	43.29 ± 19.25	38.17 ± 9.37
Sodium (mEq/l)	139.28 ± 1.78	139.82 ± 1.41	139.91 ± 0.68	138.68 ± 1.42
Potassium (mEq/l)	4.38 ± 0.35	4.26 ± 1.08	4.21 ± 0.45	4.28 ± 0.34
Chloride (mEq/l)	101.78 ± 1.38	101.62 ± 1.45	102.29 ± 1.24	102.11 ± 1.58

All values are expressed as mean ± SD.
*Significantly different from the control group, M-0 ($p < 0.05$) using Dunnett test.
†ALB; albumin, ALP; alkaline phosphatase, ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase, TBIL; total bilirubin, CA; calcium, TC; total cholesterol, CPK; creatine phosphokinase, CREA; creatinine, GLU; glucose, P; phosphorous, TP; total protein, BUN; blood urea nitrogen, TG; triglyceride.

조직학적 검사

시험물질 투여에 의한 육안적 이상 소견이 있는 개체는 관찰되지 않았다. 또한 시험물질 투여에 의한 변화라고 인정되는 조직학적 소견은 없었다.

고 찰

본 시험은 항 알레르기 효과를 갖는 식용다래추출물 PG102의 안전성 실험의 일환으로서, 랫드에서 4주간의 아급성 경구독성을 조사하기 위해 식품의약품안전청이나 국제적 표준에 맞는 독성시험법에 따라 수행한 안정성 평가시험이다. 다래는 한국 식품의약품 안전청에 식품가원료로 등재되어 있으며, 일반 식품뿐 아니라 한의학 처방으로도 오랜 기간 이용되어 왔다. PG102는 식용다래의 열수추출물로 추출용매의 유해성이 전혀 없는 안전한 식용제품이며, 본 연구를 통하여 이를 증명하고자 하였다.

PG102는 본 연구진이 이미 다양한 선행연구결과를 통해 보고한 바 있듯이, 생쥐, 랫드, 비글견 등의 동물모델에서 알레르기 질병의 주된 병인인 IgE의 생산을 저해하며, Th2로 치우친 면역불균형을 해소하여 아토피성 피부염, 천식, 식품알레르기, 알레르기성 비염 등의 알레르기 질환을 예방 혹은 치료할 수 있는 신물질이다 [13, 14]. 여러 질환모델에서 증세개선 및 치료 효과를 보인 PG102는 이번의 랫드에서 4주의 경구 투여에서도 섭취로 인한 이상 징후를 전혀 보이지 않았다. 선행 연구를 통해 PG102를 랫드와 생쥐 아토피성 피부염 모델에 적용한 바 있으며 이 때에 PG102를 10~300 mg/kg의 농도로 1~8 주간 경구투여하여 모든 농도군에서 유효성을 확인하였고, 이 후 임상에서의 유효용량을 10~300 mg/kg로 결정하였다. 본 연구에서는 정상 암수 랫드에 일반적인 유효 투여용량보다 3배 이상의 고용량의 PG102를 4주간 투여하여 그 안전성을 확인한 것이다.

체중변화 및 장기중량 변화는 화학물질이나 의약품 등의 독성시험에 있어서 필수적인 항목으로서 의약품과 화학물질의 독성을 판단하는데 매우 중요한 바탕이 된다 [5]. 체중 변화의 추이를 조사한 결과, 1-2주차에 랫드의 중간 용량군인 M-300, F-300군의 몸무게 증가율이

대조군 M-0, F-0군에의 비해 유의한 증가를 보였지만 4주간의 총변화율과 연관지어 유의성을 갖지 않으며, 용량 의존적인 경향도 보이지 않았다. 따라서 M-300, F-300군에서 몸무게 증가율은 일시적인 것으로 PG102에 의한 영향으로 보기 어렵다.

PG102를 4주간 투여 후 모든 시험 동물로부터 각 장기를 적출하여 장기중량을 측정한 결과 M-100군에서 간의 절대적 무게가 대조군 M-0군과 비교하여 증가하였다. 그러나 이러한 결과는 용량 의존적이지 않고 간의 병리조직학적 소견, 임상증상이나 혈액검사와 비교하여 연계성이 없어 개체별 차이에 기인한 변화로 보인다. 또한 F-100군과 F-1000군에서 나타난 심장과 침샘의 상대적 무게 감소도 용량 의존적이거나 다른 검사와의 연계성이 없는 것으로 보아 PG102의 독성에 의한 감소라 판단하기는 어렵다 [2].

평균 적혈구 용적 및 평균 적혈구 색소량과 평균 적혈구 색소농도를 포함하는 모든 혈액학적 검사항목 항목에서 대조군과 시험물질 투여군 사이에 유의성 있는 변화는 발견되지 않았다.

혈액학적 분석과 더불어 실시한 혈액생화학적 검사에서 일부 용량의 일부 지표가 대조군에 비교하여 유의적인 차이를 보였다. 수컷 랫드의 고용량군인 M-1000군에서는 크레아틴 인산화효소의 수치가 대조군 M-0군과 비교하여 감소하였다. 크레아틴 인산화효소의 감소는 육체적 피로 및 무기력 또는, 총 근육량의 감소와 연관되어 나타난다 [15]. 암수 랫드 고용량군 F-1000군과 M-1000군에서 신부전(renal failure)과 관련된 지표로 알려진 혈중요소질소도 각각 대조군 F-0군과 M-0군의 혈중요소질소수치와 비교하여 증가경향이 관찰되었지만 정상범위내의 변화였다 [15]. 일부 동물에서 나타난 소폭의 혈중 요소질소의 변화양상이 임상적 이상반응을 초래하지는 않을 것으로 사료된다.

결 론

본 연구팀은 선행연구를 통해 다래(*Actinidia arguta*; hardy kiwi)에서 추출한 항 알레르기 소재인 PG102가 각종 동물모델에서 알레르기 반응 유발에 관여하는 IgE는 물론 IL-4와 IL-5 등의 Th2 사이토카인들을 선택적으로 억제하여 각종 알레르기 질환에서 예방 및 치료효과를 나타내다는 것을 보고한 바 있다.

본 연구는 PG102의 임상적 사용을 위한 안전성을 과학적으로 명확하게 조사하기 위해 실시되었다. Sprague-Dawley계 6주령 암수 랫드에 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg 용량으로 4주간 경구 투여하였다. 그리고 체중변화, 일반증상 변화, 장기중량, 혈액학적 검사, 혈액 생화학적 검사 및 조직학적 검사를 실시하여 PG102의 독성을 평가하였다.

PG102의 랫드에 대한 4주간의 아급성 독성시험에서 일반증상, 체중변화, 장기 중량측정, 혈액학적 검사, 혈액 생화학적 검사, 조직학적 검사를 실시하였으며, 결과에서 서술한 바와 같이 안전성의 문제를 야기할 수 있는 특이적 이상반응은 나타나지 않았다. 즉, PG102의 고용량 반복 경구투여시에 독성반응이 나타나지 않았으며, 임상학적, 생화학적으로 안전한 물질로 판정되었다. 따라서 PG102는 항 알레르기 효과가 있는 안전한 건강기능식품(nutraceutical)이 될 수 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국 보건복지부의 바이오 산업화 기술개발 사업(A06-00043820), 한국교육과학기술부의 21C 프론티어개발사업(PF03211-00), KOSEF의 SRC 프로그램(R11-2005-009-06003-0) 의 지원으로 수행하였습니다. 연구 기술적인 측면에서의 김충원, 최진용, 최종현, 이두석, 김주완, 박경철 님의 도움과 연구 관리측면에서의 양현정, 유춘심 님의 도움에 감사드립니다.

참고문헌

1. **김창민, 신민교, 안덕균, 이경순.** 중약대사전. 4권. pp. 1895-1899, 도서출판 정담, 서울, 1998.
2. **최창열, 최희인.** 한국흑염소에서의 혈장칼슘농도에 따른 심전도상의 변화. 한국임상수의학회지 1990, **7**, 371-380.
3. **Chen L, Lucas JS, Hourihane JO, Lindemann J, Taylor SL, Goodman RE.** Evaluation of IgE binding to proteins of hardy (*Actinidia arguta*), gold (*Actinidia chinensis*) and green (*Actinidia deliciosa*) kiwifruits and processed hardy kiwifruit concentrate, using sera of individuals with food allergies to green kiwifruit. Food Chem Toxicol 2006, **44**, 1100-1107.
4. **Ferguson AR.** The need for characterisation and evaluation of germplasm: kiwifruit as an example. Euphytica 2007, **154**, 371-382.
5. **Hwang SY, Kwon W, Chai HY, Cho YM, Lee NJ, Ryu JM, Sin JS, Kim TM, Cho JH, Jang JY, Park JH, Kang JK, Kim YB.** Four-week repeated-dose toxicity study on Mori folium. Kor J Lab Ani Sci 2004, **20**, 274-282.
6. **Hwang SY, Sin JS, Kwon W, Chai HY, Cho JH, Lee NJ, Park JB, Ryu KS, Yun CY, Kang JK, Kim YB.** Repeated-dose toxicity study for the extract of Cricket,

Gryllus bimaculatus, in rats. Kor J Lab Ani Sci 2004, **20**, 194-199.

7. **Kang BH, Kim YB, Lee HS, Kim YH, Im WJ, Ha CS.** Background data on hematology, blood biochemistry and organ weights for 2 weeks and 4 weeks repeated-dose toxicity studies using Sprague-Dawley (SD) rats. Kor J Lab Ani Sci 2004, **20**, 134-140.
8. **Kim YK, Kang HJ, Lee KT, Choi JG, Chung SH.** Anti-inflammation Activity of *Actinidia polygama*. Arch Pharm Res 2003, **26**, 1061-1066.
9. **Liang CF, Chen YC, Wang YS.** *Actinidiaceae* (excluding *Sladenia*). Fl Reipubl Popularis Sin 1984, **49**, 195-301, 309-334.
10. **Lim HW, Kang SJ, Park M, Yoon JH, Han BH, Choi SE, Lee MW.** Anti-oxidative and nitric oxide production inhibitory activities of phenolic compounds from the fruits of *Actinidia arguta*. Nat Prod Sci 2006, **12**, 221-225.
11. **Lim HW, Shim JG, Choi HK, Lee MW.** Phenolic Compounds from Barks of *Actinidia arguta* Planchon Growing in Korea and its Anti-Oxidative and Nitric Oxide Production Inhibitory Activities. Kor J Pharmacog 2005, **36**, 245-251.
12. **Marich AJ, Young H, Allen JM, Wang MY, Fielder S, McNeilage MA, Macrae EA.** *Actinidia arguta*: volatile compounds in fruit and flower. Phytochemistry 2003, **63**, 285-301.
13. **Park EJ, Kim B, Eo H, Park K, Kim Y, Lee HJ, Son M, Chang YS, Cho SH, Kim S, Jin M.** Control of IgE and selective T(H)1 and T(H)2 cytokines by PG102 isolated from *Actinidia arguta*. J Allergy Clin Immunol 2005, **116**, 1151-1157.
14. **Park EJ, Park KC, Eo H, Seo J, Son M, Kim KH, Chang YS, Cho SH, Min KU, Jin M, Kim S.** Suppression of spontaneous dermatitis in NC/Nga murine model by PG102 isolated from *Actinidia arguta*. J Invest Dermatol 2007, **127**, 1154-1160.
15. **Stockham SL, Scott MA.** Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. pp. 277-336, Iowa State Press, Ames, 2002.
16. **Takano F, Tanaka T, Tsukamoto E, Yahagi N, Fushiya S.** Isolation of (+)-catechin and (−)-epicatechin from *Actinidia arguta* as bone marrow cell proliferation promoting compounds. Planta Med 2003, **69**, 321-326.
17. **Webby RF.** A flavonol triglycoside from *Actinidia arguta* var. giraldii. Phytochemistry 1991, **30**, 2443-2444.
18. **Zhang L, Guo HL, tian L, Cao SF, Du CH.** Study of inhibitory effect of extracts from *Actinidia arguta* on human carcinoma of esophagus cells. Zhong Yao Cai 2007, **30**, 564-566.