

목단피 약침이 고지혈증과 동맥경화에 미치는 영향에 대한 실험적 연구

안영상¹.안택원².강희정³.이용흠⁴.임윤경¹

대전대학교 한의과대학 ¹경락경혈학교실, ²사상체질의학교실, ³대요메디(주)
⁴연세대학교 보건과학대학 의공학과 한의공학연구소,

The Effect of Herbal-acupuncture with Moutan Cortex Radicis Extract

Young-sang An¹, Taek-Won Ahn², Hee-Jung Kang³, Yong-Heum Lee⁴, Yun-Kyoung Yim¹

¹Dept. of Meridian & Acupoint, ²Dept. of Sasang Constitutional Medicine,
College of Oriental Medicine, Daejeon University,

³Daeyomedi Co., Ltd. ⁴Dept. of Biomedical Engineering, College of Health Science, Yonsei University

Abstract

Objective & Methods : The present study was to investigate the effect of Moutan Cortex Radicis Herbal-acupuncture (MCR-HA) at GB34 (Yangleungchean) on hyperlipidemia and arteriosclerosis induced by high fat diet in rats.

Results : 1. Moutan Cortex Radicis herbal-acupuncture infusion solution (MCR-HAS) increased DPPH radical scavenging activity and HMG-CoA reductase inhibition rate in rat liver cells. 2. MCR-HA at GB34 decreased serum total cholesterol level, and increased serum phospholipid/total cholesterol in rats with high fat diet. 3. MCR-HA at GB34 decreased atherogenic index in rats with high fat diet. 4. MCR-HA at GB34 increased hepatic catalase activity in rats with high fat diet.

Conclusion : These results suggested that Moutan Cortex Radicis herbal-acupuncture at GB34 has therapeutic effects on hyperlipidemia and related complications in rats with high fat diet.

Key words : Hyperlipidemia, Arteriosclerosis, Herbal-acupuncture, Moutan Cortex Radicis, GB34 (Yangleungchean)

I. 서 론

고지혈증이란 콜레스테롤, 인지질, 중성지방, 유리지방산 등 혈청지질 가운데 어느 하나의 혈청농도가 높은 상태로 죽상동맥경화의 위험성을 높이는 중요한 원인이다.¹⁾

혈중 총 콜레스테롤치는 심혈관질환의 발생률과 정비례 관계에 있으며, 최근 우리나라

라도 질환별 사망자통계에서 고지혈증, 고혈압 등 뇌혈관 질환과 심장 질환의 사망자가 악성 신생물에 의한 사망자 다음으로 집계되고 있다.^{2,3)}

韓醫學에서 지질은, 정상적인 상황에서는 영양물질이나, 과다한 경우 痰濁의 병이 된다고 보았으며, 고지혈증은 正虛邪實에 속하는데 正虛의 중점은 肝脾腎에 있고, 邪實은 痰濁, 濕濁과 瘀血이 주가 된다고 하였다.⁴⁾

약침요법은 경락학설의 원리에 의거하여 藥物을 선택해서, 유관한 혈위 및 압통점 등

· 교신저자: 임윤경, 대전광역시 동구 용운동 대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실, Tel. 042-280-2610, Fax. 042-280-2641, E-mail : docwindy@dju.ac.kr
· 투고 : 2009/02/28 심사 : 2009/03/13 채택 : 2009/03/22

양성반응점에 약물을 주입하여, 자침과 약물의 작용을 병용하여 생체의 기능을 조절하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료하는 방법이다⁵⁾.

양릉천은 足少陽膽經에 속한다. 少陽經은 三陽經의 樞로 精이 氣로 化하는 것을 조절하여, 太陰濕土의 陽化의 속도를 조절하는 역할을 한다⁶⁾. 그 중에서도 양릉천은 膽經의 合穴로 活血, 疏經, 祛濕의 효능이 있어 痰濁, 濕濁 및 瘀血로 인한 고지혈증의 치료에 활용할 수 있을 것으로 사료된다⁵⁾.

한약의 고지혈증 치료에 대한 연구로는 경구복용을 이용한 연구로 丹蔘飲⁷⁾, 心腦通⁸⁾, 降脂延壽丹⁸⁾, 清心調氣湯⁸⁾, 清神導痰湯⁹⁾, 除濕順氣湯¹⁰⁾, 清上鑷痛湯¹¹⁾, 지골피¹²⁾, 택사¹³⁾, 해당근¹⁴⁾, 상백피¹⁵⁾, 갈근¹⁶⁾, 작약¹⁷⁾, 시호¹⁷⁾, 조구등¹⁷⁾이 있었고, 약침연구로는 홍삼¹⁸⁾, 울금¹⁹⁾, 당귀미²⁰⁾약침을 이용한 연구가 있었다.

이에 저자는 흰쥐에 고콜레스테롤식이로 고지혈증을 유발하고, 血滯와 血熱에 유효하다고 알려진²¹⁾ 목단피로 약침액을 제조하여 活血, 祛濕의 효능이 있는 양릉천에 약침시술한 후, 혈청, 뇨, 간내효소 및 조직학적 분석을 통해 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물 및 사료

동물은 6주령의 수컷 흰쥐(200±20g)을

(주)중앙실험동물로부터 공급받아, 실험 적응기간 동안에는 일반 고형사료(Pellet, Samyang, Korea)를 공급하며 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 이후 실험기간동안에는 실험군에 따라 일반 고형사료 혹은 고콜레스테롤 식이 사료로 조제된 사료 modified Atherogenic diet #100353 (Dyets INC. P A, USA)을 매일 일정한 시간에 물과 함께 공급하였으며, 실험실 환경은 실온(22±2 ℃)과 습도 20~60%를 유지하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 목단피(Moutan Cortex Radicis, MCR.)는 대전대학교 부속 대전한방병원에서 엄선한 중국산을 사용하였다.

3) 시약 및 기기

(1) 시약

시약명	제조사	제조국
Phosphate buffer saline(PBS)	CAMBREX	
RPMI1640 medium		
OCT compound	Tissue-Tak	
3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5 di phenyl tetrazolium bromide(MT T)		
Trypan blue		
DTT		
NADPH		USA
HMG-CoA	Sigma	
DMSO		
Alloxan		
Oil red O		
Harris hematoxylin		
Propylene glycol		
Sucrose		
Gum-acacia		

(2) 기기

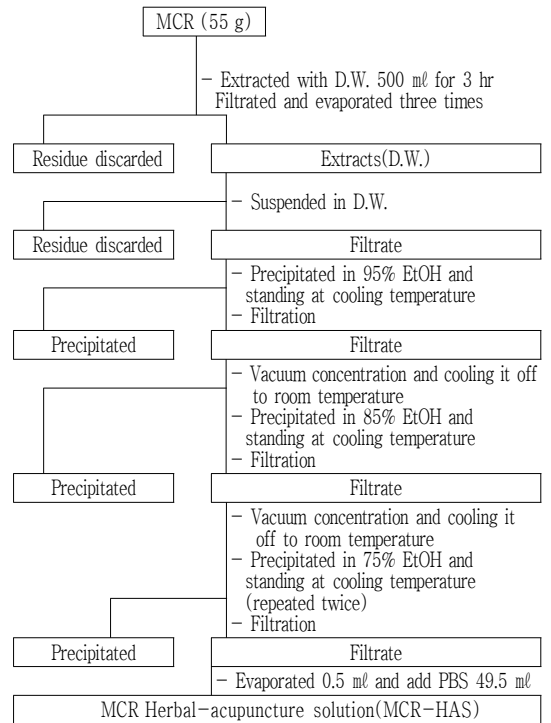
기 기 명	제조사	제조국
Rotary evaporator	Eyela	Japan
Camera	Nikon	
Scale	Munhaw	
Syringe	Korea vaccine Co.	
Centrifuge	Hanil	Korea
Ice maker	Vision science	
Furnace	Daewoong	
ELISA reader	TECAN	Canada
Cryotome	Thermo Shandon	U.K.

2. 방법

1) 약침액의 제조

분쇄기를 이용해서 목단피 55 g을 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500 ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축 하였다. 농축액에 95% ethyl alcohol 30 ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30 ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30 ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 단계를 2회 반복하였다. 여과액중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고,

남은 농축액이 20 ml가 되게 하였다. 목단피 55 g으로부터 얻은 목단피 약침액을 감압농축하여 수분을 모두 제거한 후의 분말 수율은 2.86 g이었다(수득율 5.2%). 1 N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4℃에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filtering을 실시하였다. 여과된 농축액을 PBS로 희석하여 1% 약침액을 검액으로 사용하였다(Scheme 1).



Scheme 1. Manufacturing procedure of Herbal acupuncture Solution.

2) 약침액의 세포독성 검사

정상 흰쥐의 간세포 1×10^5 cell/well에 5%, 1%, 0.5%의 목단피 약침액을 처리한 후 MTT assay를 이용하여, 세포 생존률을 측정하였다.

(1) 간 세포분리 및 배양

6주령 수컷 흰쥐의 간 조직을 사용하였다. 흰쥐를 ethyl ether를 이용하여 마취 시킨 후, 대동맥 혈관에 Hanks' balanced salt solution(이하 HBSS : Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 투여하며 복부쪽 혈관을 절단시켜 동물의 혈액을 모두 배출시켰다. 조직을 잘게 잘라서 RPMI 1640 media(10% FBS)와 collagenase type IV(300 u/ml)를 넣고 실온에서 90분간 incubation을 하였다. 이때 20분에 한 번씩 흔들며 줌으로써 간세포가 잘 분리되도록 하였다. HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 사용하여 간 조직을 mesh에서 갈아주었다. 얻어진 간조직액을 원심 분리하여 획득한 간 실질 세포로 MTT assay를 실시하였다.

(2) MTT assay

분화된 간세포의 viability를 trypan blue를 이용하여 확인한 뒤, 96 well plate에 세포를 1×10^5 cells/well으로 분주하고, RPMI 1640 media에 5% FBS와 antibiotics를 첨가한 complete media에 목단피 약침액을 농도별로 처리하고, 72시간 동안 세포 배양을 실시하였다. 72시간 후에, MTT solution(5 mg/ml, Cat No. 135038, Sigma, USA)을 각 well에 20 μ l씩 분주하고 5시간 동안 37°C에서 incubation을 실시하였다. 5시간 후, 각 well에 있는 medium을 100 μ l씩 버리고, s

olubilizing solution을 100 μ l씩 분주한 뒤 pipetting을 강하게 하여 well에 dark blue crystals가 침전하는 정도를 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 optical densities(O.D.)로 확인하였다.

3) 약침액의 DPPH 소거능 측정

1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl(DPPH, Sigma, USA) 80 mg을 에탄올 50ml과 멸균 증류수를 50 ml을 첨가하여 녹인 후 96 well에 180 μ l씩 분주하고, 농도별 목단피 약침액을 첨가 하여 30분 동안 실온에서 방치하였다. 그 후에 517 nm로 O.D.를 측정하고, activity로 환산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{control O.D.} - \text{sample O.D.})}{\text{control O.D.}} \times 100$$

4) 약침액의 cholesterol 생합성 저해활성 검사

(1) HMG-CoA reductase 추출 및 분리

흰쥐에게 7일간 modified Atherogenic diet #100353 (Dyet INC., PA, USA)를 섭취하게 하였다. 사육이 끝난 흰쥐의 간을 HBSS를 이용하여 적출한 뒤, 무게를 측정하였다. 적출한 간은 rat liver 1 g당 ice cold buffer A 2 ml을 첨가하였다. Sonic dismembrator (Fisher Sci., USA)를 이용하여 균질화하고, 15,000 \times g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액은 다시 100,000 \times g에서 75분간 초원심분리하여 상등액을 버리고, 얻어진 microsome pellet은 buffer A(50 mM EDTA)를 rat liver 1 g당 1 ml씩 첨가하여 세척하고 100000

×g에서 60분간 원심분리하였다. 다음, 상등액은 버리고 -20℃에서 2시간 이상 보관하고 micrososome pellet을 실온에서 해동시킨 후 buffer B를 3 ml/1.5 g rat liver를 가하여 균질화하였다. Buffer B를 7 ml/1.5 g rat liver 첨가하고 상온에서 15~30분간 방치하였다. 100000 ×g, 20℃에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 취한 후, 효소원으로 사용하기 전까지 -70℃에서 보관하였다.

(2) HMG-CoA reductase 활성 측정

1 ml cuvette에 5%, 1%, 2.5%, 0.1%의 목단피 약침액 또는 대조군으로 사용한 DMSO를 20 μl 첨가하고, 0.5 mM phosphate buffer(pH 7.0)와 20 mM DTT 100 μl를 분주하고, 3 mM NADPH 100 μl, 효소원 100 μl를 첨가하였다. 37℃에서 10분간 preincubation을 실시한다. 3 mM HMG-CoA 100 μl를 가하여 효소 반응 시작과 동시에 340 nm에서 5분간 흡광도 변화를 확인하였다. HMG-CoA reductase 의 억제 활성은 다음식에 의하여 계산하였다.

$$\text{HMG-CoA reductase inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Reactants} - \text{sample blank}}{\text{Control} - \text{Control blank}}\right) \times 100$$

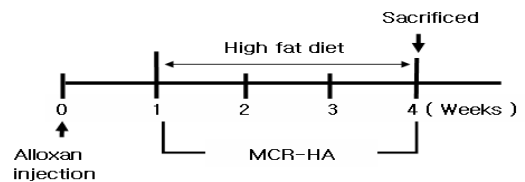
5) 실험동물 모델

흰쥐에 alloxan(150 mg/kg)을 복강투여하고 일주일 뒤 혈액 내에 총콜레스테롤 수치가 180~220 mg/dl로 증가된 것을 확인한 후, 고콜레스테롤 식이 사료로 조제된 saro modified Atherogenic diet #100353 (Dyets INC. PA, USA)를 4주간 매일 일정시간에 공급하여, 자유식으로 섭취하게 하여, 고콜

레스테롤을 유발하였다. 사료의 조성은 Table 1과 같다. 실험기간 중 사료는 4℃에서 보관하였다.

Table 1. Composition experimental diet

General diet		Atherogenic diet	
Ingredients	(g)	Ingredients	(g)
		Purina mouse Chow	750.00
		Casein	75.00
		Cocoa Butter	75.00
Moisture	113.80	Dextrose	25.00
Crude Protein	221.20	Dextrin	16.25
Crude Fat	63.30	Cellulose	12.50
Crude Ash	68.50	Sucrose	16.25
Crude fiber	30.40	Mineral Mix	8.75
Nitrogen Free extract	502.80	Sodium cholate	5.00
		Vitamin Mix	2.50
		Choline chloride	1.25
Cholesterol	0.03	Cholesterol	12.50
Total	1000	Total	1000



Scheme 2. Hyperlipidemia experimental animal model

6) 취혈

骨度分寸法에 의거하여 흰쥐의 좌우측 뒷다리에서 종아리의 가쪽, head of the fibula 앞 아래의 오목한 곳에 위치⁵⁾ 양릉천(YangLeungChean ; GB34) 상응 부위를 매 시술마다 좌우 교대로 취하였다.

7) 실험군 분류 및 처치

흰쥐 8마리씩을 한 군으로 하여 정상군(normal), 대조군(control), HG군(hand grasping; data not shown), NP군(needle prick), saline군(saline injection), 목단피약침군(MCR-HA)의 6군으로 나누었다.

정상군은 실험기간동안 일반 사료를 섭취하였으며, 정상군 이외의 모든 실험군의 실험동물은 고콜레스테롤 식이 사료를 섭취하였다. 대조군은 고콜레스테롤 식이 사료 섭취 이외에 아무런 처치도 하지 않았다. HG군은 약침처치시와 같이 흰쥐를 잡았다 놓는 동작만 하고, 이외의 처치는 하지 않았다. NP군은 양릉천(GB34) 상응부위에 26 gauge 주사기를 0.5 cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. Saline군은 양릉천(GB34) 상응부위에 saline 0.2 ml를 주입하였다. 목단피약침군은 양릉천(GB34) 상응부위에 1%의 목단피약침액 0.2 ml를 주입하였다. N.P., saline 주입, 목단피 약침 처치는 모두 alloxan 투여 1주 후부터 4주간 주 3회, 실험동물의 후지에서 양릉천(GB34) 상응부위를 매 시술시마다 좌우 교대로 취하여 시술하였다.

8) 고지혈증 평가

(1) 몸무게, 간무게 및 liver index 측정

실험 종료 시까지 1주일 간격으로 각 실험군의 실험동물의 몸무게를 측정하여 기록하였다. Liver index는 실험 종료시 동물의 몸무게와 간 무게를 측정하여 몸무게에 대한 간무게의 백분율로 계산하였다.

$$\text{liver index} = \frac{\text{liver weight (g)}}{\text{Wistar rat weight (g)}} \times 100$$

(2) 혈청 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취하고, 심장 채혈 법으로 혈액을 채취하였다. 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, 혈청 중의 total cholesterol은 COD-POD 방법을 이용하여 검사하였으며, free cholesterol은 효소법을 이용하였다. HDL cholesterol은 직접측정법을 사용하였으며, ALP는 비색법으로 AST는 Kinetic UV법을 사용하여 검사하였다.

(3) 동맥경화지수

동맥경화지수 (Atherosclerosis index)는 혈청에서 측정된 total cholesterol과 HDL cholesterol의 값을 이용하여 다음과 같이 계산하였다²²⁾.

$$\text{Atherosclerosis index(AI)} = \frac{(\text{total cholesterol} - \text{HDL cholesterol})}{\text{HDL cholesterol}}$$

(4) 간 내 효소 분석

① HMG-CoA reductase 추출 및 분리

실험이 끝난 후, HMG-CoA가 가장 높은 시간인 밤 12시에 각 실험군의 흰쥐의 간을 HBSS를 이용하여 적출한 뒤, 무게를 측정하였다. 적출한 간은 rat liver 1 g당 ice cold buffer A(50 mM phosphate buffer, pH 7.0 0.2 M sucrose, 2 mM DTT) 2 ml을 첨가하였다. Sonic dismembrator(Fisher Sci., USA)를 이용하여 균질화하고, 15,000 ×g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액은 다시 100,000 ×g에서 75분간 초원심분리하여 상등액을 버리고, 얻어진 microsome pellet은 bu

ffer A(50 mM EDTA)를 rat liver 1 g당 1 ml씩 첨가하여 세척하고 100,000 ×g에서 60분간 원심분리하였다. 다음, 상등액은 버리고 -20 °C에서 2시간 이상 보관하고 microsome pellet을 실온에서 해동시킨 후 buffer B(50 mM phosphate buffer, pH 7.0 0.1 M sucrose, 2 mM DTT, 50 mM KCl, 30 mM EDTA)를 3 ml/1.5 g rat liver를 가하여 균질화하였다. Buffer B를 7 ml/1.5 g rat liver 첨가하고 상온에서 15~30분간 방치하였다. 100000 ×g, 20 °C에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 취한 후, 효소원으로 사용하기 전까지 -70 °C에서 보관하였다.

② HMG-CoA reductase 활성 측정

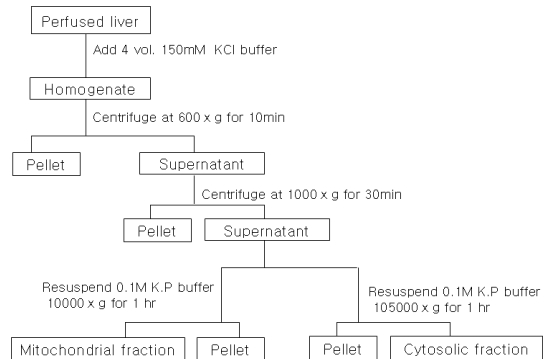
1 ml cuvette에 0.5 mM phosphate buffer(pH 7.0)와 20 mM DTT 100 μl를 분주하고, 3 mM NADPH 100 μl, 효소원 100 μl를 첨가하였다. 37°C에서 10분간 preincubation을 실시하였다. 3 mM HMG-CoA 100 μl를 가하여 효소 반응 시작과 동시에 340 nm에서 5분간격의 흡광도 변화를 확인하였다. HMG-CoA reductase의 억제 활성은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{HMG-CoA reductase activity (\%)} = \frac{\text{Sample O.D.}}{\text{Blank O.D.}} \times 100$$

③ 간 조직의 분획

적출한 간 조직의 일부를 취하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal등의 방법²³⁾에 의해 간 조직 1g에 4배의 150 mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 조직을 600 ×g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직

등을 제거한 후, 상등액을 1000 ×g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 두 개로 나눠 10,000 ×g에서 1시간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었으며, 105,000 ×g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction을 얻었다. microsomal fraction은 glutathion의 함량과 MDA의 함량 및 Catalase의 활성을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과를 측정하였다. Microsomal fraction sample은 실험 전까지 -80°C에서 보관하였으며, cytosolic fraction은 -20 °C에서 보관하였다(Scheme 3).



Scheme 3. Preparation of mitochondrial, microsomal and cytosolic fractions.

④ Superoxide dismutase (SOD) activity

SOD activity는 SOD assay kit(Dojindo, Japan)을 이용하였다. 간 분획으로 얻은 sample중에서 20000 rpm으로 얻은 sample을 사용하였으며, sample solution을 96 well plate에 각 well과 blank 2에 20 μl씩 분주하였다. Blank 1과 blank 3에 D.W.를 분주한 뒤, WST working solution을 200 μl/well으로 모든 well에 첨가하였다. blank 2과 blank 3 well에 dilution buffer를 20 μl씩 분주

하였고, enzyme working solution을 각 sample well과 blank 1 에 20 $\mu\text{l}/\text{well}$ 으로 분주하였다. 20분 동안 37°C에서 incubating을 실시하고 450 nm에서 흡광도를 측정하고 SOD activity를 환산하였다.

SOD activity (inhibition rate %)

$$= \frac{(\text{blank1} - \text{blank3}) - (\text{sample} - \text{blank2})}{\text{blank1} - \text{blank3}} \times 100$$

⑤ Glutathione

조직 내 glutathione함량은 kit(Dojindo, Japan)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

⑥ Catalase

Catalase assay kit(Oxford Biomedical Research, USA) 를 이용하여 측정하였으며, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(5) 간의 조직학적 검사

실험 종료 후, 각 군의 실험동물의 간 조직을 절취하여, 10%의 formalin에 고정한다. 조직검사 전, gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4 °C에서 조직을 침수한다. 침수가 끝난 조직은 액체질소를 이용하여 급속 동결하여 냉동조직절편기(Cryostat Cryocut Microtome)를 사용하여 10 μm 의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시킨다. 100% propylene glycol 용액에서 10분간 처리하여 완전 탈수를 한다. 60°C oven에 있는 Sudan black B 용액에서 10분간 염색을 시행한다. 이어 85% propylene glycol 용액에서 5분간 감별한다. 증류수로 여러 번 세척한 후, Nuclear fast red 용액

으로 1분간 핵 염색을 실시한 다음 증류수로 여러 번 세척한 후 수용성 봉입제로 봉입한다. 봉입을 끝낸 조직사진은 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰한 후, digital camera(DXM 1200F, Nikon, Japan)를 이용하여 사진을 촬영하고, ACT-1 program(Nickon, Japan)을 이용하여 분석하였다.

(6) 동맥의 조직학적 검사

실험 종료 후, 각 군의 실험동물의 동맥을 절취하여, 10%의 formalin에 고정한다. 조직검사 전, gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4°C에서 조직을 침수한다. 침수가 끝난 조직은 액체질소를 이용하여 급속 동결하여 냉동조직절편기(Cryostat Cryocut Microtome)를 사용하여 10 μm 의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시킨다. 100% propylene glycol 용액에서 5분간 처리하여 완전 탈수를 한다. 60°C oven에 있는 oil red O 용액에서 7분간 염색을 시행한다. 이어 85% propylene glycol 용액에서 3분간 감별한다. 증류수로 여러번 세척한 후, 1%로 희석된 Harris' hematoxylin 용액으로 1분간 감별 염색한 다음 증류수로 여러 번 세척한 후 수용성 봉입제로 봉입한다. 봉입을 끝낸 조직사진은 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰한 후, digital camera(DXM 1200F, Nikon, Japan)를 이용하여 사진을 촬영하고, ACT-1 program(Nickon, Japan)을 이용하여 분석하였다.

9) 통계처리

본 실험의 결과는 각 실험군에서 얻은 데이터의 평균과 표준편차로 나타내었다. 통계분석은 SPSS (14.0 KO) 통계프로그램을 사용하여 군간 평균 비교를 하였다. 데이터 분석결과, HG(hand grasping)는 본 실험결과에 영향을 미치지 않은 것으로 인정되어, H G군의 데이터는 본 논문의 실험성적에 나타내지 않았다. 정상군(normal)과 대조군(control)의 평균비교는 대응 t-test를 사용하였으며, 대조군(control), NP군(needle prick), saline군(saline injection), 목단피약침군(MCR-HA)간의 평균비교는 ANOVA test를 사용하였고, 사후검정은 Scheffe's test를 이용하였다. 각 실험군의 결과값을 비교하여 신뢰도 95%이상(p<0.05)일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 성 적

1. 목단피 약침액의 세포독성

정상 흰쥐의 간세포에 목단피 약침액을 여러 가지 농도로 처리한 후 세포 생존률을 측정하였다. Control군에 비하여 0.5% MCR-HAS에서는 188.30±25.17, 1 % MCR-HAS에서는 249.19±14.38%, 5 % MCR-HAS에서는 484.56±54.16%로 약침액의 농도가 증가할수록 세포생존률이 증가하였다.(Fig. 1)

2. 목단피 약침액의 DPPH 소거능

목단피 약침액을 0.1%, 1%, 2.5%, 5%의 농도로 희석한 후 DPPH 소거능을 측정한 결과, 0.1 % MCR-HAS에서는 3.90±2.00, 1

% MCR-HAS에서는 9.15±1.18%, 2.5 % MCR-HAS에서는 23.79% 그리고 5 % MCR-HAS에서는 30.75%으로 모든 농도에서 DPPH 소거능을 나타내었다. 목단피 약침액의 DPPH 소거능은 약침액의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 증가하였다(Fig. 2).

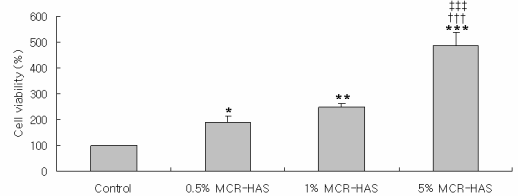


Fig. 1. Cell viability rate with various concentrations of MCR-HAS

Liver cells from normal wistar male rats were prepared and cultured with various concentration of MCR-HAS. The cell survival rates were measured by MTT assay. Values represent the means ± SD of 3 independent experiments.

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 compared to control by ANOVA test.

††† : p<0.001 compared to 0.5% MCR-HAS by ANOVA test.

‡‡‡ : p<0.001 compared to 0.5% MCR-HAS by ANOVA test.

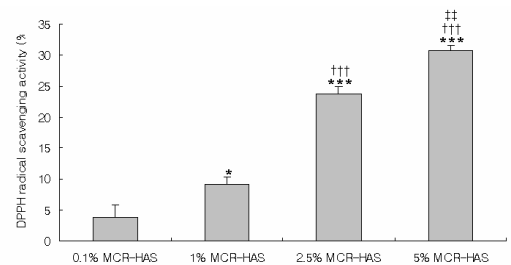


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of various concentrations of MCR-HAS

The antioxidative activity of various concentrations of MCR herbal acupuncture solution was measured by a DPPH radical scavenging assay. Values represent the means ± SD of 3 independent experiments.

*: p<0.01 ***: p<0.001 compared to 5% MCR-HAS by ANOVA test.

††: p<0.001 compared to 2.5% MCR-HAS by ANOVA test.

‡‡: p<0.05 compared to 1% MCR-HAS by ANOVA test.

3. 목단피 약침액의 HMG-CoA reductase 저해활성

고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 간에서 HMG-CoA reductase를 분리하여 0.1%, 1%, 2.5%, 5%의 목단피 약침액을 처리한 결과, control군에 비하여 0.1 % MCR-HAS에서는 188.88 ± 4.53 , 1 % MCR-HAS에서는 $2185.78 \pm 3.25\%$, 2.5 % MCR-HAS에서는 $184.73 \pm 2.56\%$ 그리고 5% MCR-HAS에서는 $188.88 \pm 0.28\%$ 로 약침액의 모든 농도에서 HMG-CoA reductase의 저해 활성이 유의하게 증가되었다(Fig. 3)

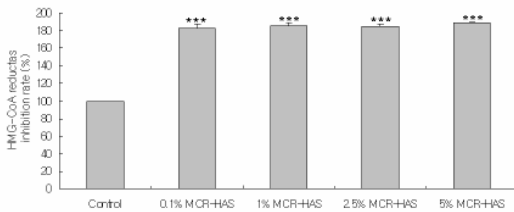


Fig. 3. Hepatic HMG-CoA reductase inhibition rate of various concentrations of MCR-HAS

HMG-CoA reductase inhibition activity of various concentrations of MCR herbal acupuncture solution was evaluated in rat liver fed with high fat diet.

***: $p < 0.001$ compared to Control by ANOVA test.

4. 몸무게 및 간무게

1) 몸무게

실험동물에 alloxan을 복강투여하고 고콜레스테롤을 4주간 섭취하게 하면서 매주 몸무게를 측정하였다. Normal군은 실험을 수행하기 전 $280.45 \pm 2.45g$ 에서 실험 종료 시점에는 $314.63 \pm 18.06g$ 으로 증가되었다. Control군에서 실험을 수행하기 전은 normal군

과 유사한 $288.41 \pm 3.53g$ 이었으나, 실험 종료 후에는 $371.25 \pm 10.33g$ 으로 증가되었으며, normal군에 비하여 약간 높은 몸무게를 나타내었다. N.P.군에서 control군에 비하여 다소 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 4).

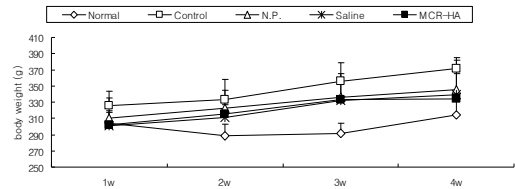


Fig. 4. Effect of MCR-HA at GB34 on body weight in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Animals were weighted weekly during the experimental period. Values represent the mean \pm SD (n=8).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

2) 간 무게

실험종료후 실험동물의 간을 적출하여 무게를 측정하였다. Normal군의 간무게는 $7.84 \pm 0.79g$ 이었으며, control군은 $16.05 \pm 2.8g$ 으로 normal군에 비하여 유의하게 증가하였다. N.P.군, saline군, 및 MCR-HA군의 간무게는 control군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 5).

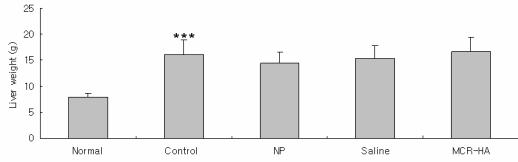


Fig. 5. Effect of MCR-HA at GB34 on liver weight in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Livers were removed and weighed right after the animals were sacrificed. Values represent the mean \pm SD (n=8).

Normal : Normal wistar rats
 Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet
 N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34
 Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34
 MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34
 ***: p<0.001 compared to normal group by t-test.

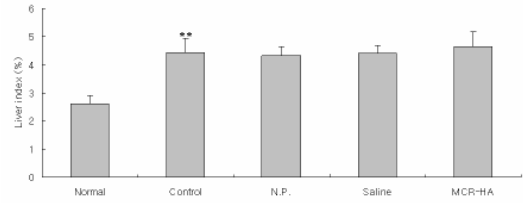


Fig. 6. Effect of MCR-HA at GB34 on the liver index in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Liver index was represented as the percentage of liver weight in total body weight. Values represent the mean \pm SD (n=8).

Normal : Normal wistar rats
 Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet
 N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34
 Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34
 MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34
 **: p<0.01 compared to normal group by t-test

3) Liver index

실험종료후 실험동물의 몸무게에 대한 간 무게의 비율을 계산하였다. Normal군의 liver index는 2.61 ± 0.28 이었으며, control군의 liver index는 4.42 ± 0.52 으로 normal군에 비하여 유의하게 증가하였다. N.P.군, saline군 및 MCR-HA군의 liver index는 control군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 6).

5. 혈청 분석

1) 지질성분

각 실험동물의 혈청에서 지질성분인 total cholesterol, HDL-cholesterol, 및 phospholipid의 양을 측정하였다(Table 2).

Table 2. Effect of MCR-HA at GB34 on various components in serum of rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	N.P.	Saline	MCR-HA
Total cholesterol (mg/dl)	59.20 \pm 7.69	214.40 \pm 23.00	105.60 \pm 9.79	130.60 \pm 38.10	117.60 \pm 29.36
HDL-cholesterol (mg/dl)	40.60 \pm 5.50	84.20 \pm 5.11	67.92 \pm 6.74	66.72 \pm 8.75	57.22 \pm 9.01
Phospholipid (mg/dl)	95.60 \pm 6.47	137.20 \pm 15.32	118.80 \pm 7.95	121.80 \pm 9.78	111.80 \pm 14.72

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and the levels of various components in serum were analysed. Data were expressed as mean \pm SD (n=5)

Normal : Normal wistar rats
 Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet
 N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34
 Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34
 MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

(1) Total cholesterol

실험동물의 혈중 total cholesterol level을 측정된 결과, control군에서 혈중 total cholesterol이 214.40±23.00 mg/dl로 normal군에 비하여 유의하게 증가하였으며, N.P.군은 105.60±9.79 mg/dl, saline군은 130.60±38.10 mg/dl, MCR-HA군은 117.60±29.36 mg/dl로 control군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 7).

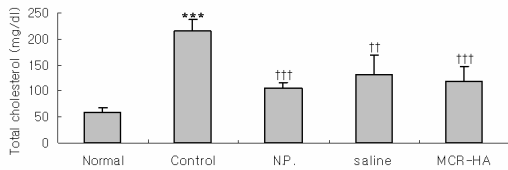


Fig. 7. Effect of MCR-HA at GB34 on serum total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and serum total cholesterol level was analysed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

- Normal : Normal wistar rats
- Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet
- N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34
- Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34
- MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34
- ***: p<0.001 compared to normal group by t-test.
- ††: p<0.01, †††: p<0.001 compared to control group by ANOVA test.

(2) HDL/total cholesterol

실험동물의 혈청에서 total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비를 측정된 결과, control군은 0.39±0.03으로 normal군에 비하여 유의하게 감소하였다. N.P.군은 0.64±0.04, saline군은 0.62±0.03으로 control군에 비

하여 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 증가하였다. MCR-HA군은 0.5±0.09으로 control군에 비하여 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 8).

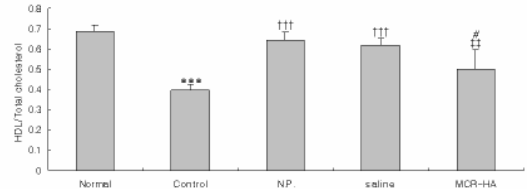


Fig. 8. Effect of MCR-HA at GB34 on serum HDL/total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and the ratio of HDL-cholesterol to total cholesterol in serum was analysed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

- Normal : Normal wistar rats
- Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet
- N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34
- Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34
- MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34
- ***: p<0.001 compared to normal group by t-test.
- †††: p<0.001 compared to control group by ANOVA test.
- ††: p<0.05 compared to NP group by ANOVA test.
- #: p<0.05 compared to saline group by ANOVA test.

(3) 동맥 경화 지수 (atherogenic index; AI)

혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과, control군은 동맥경화지수가 1.54±0.19으로 normal군에 비하여 유의하게 증가하였다. N.P.군은 0.56±0.09, saline군은 0.62±0.09 그리고MCR-HA군에서는 1.05±0.38으로 control군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다(Fig. 9).

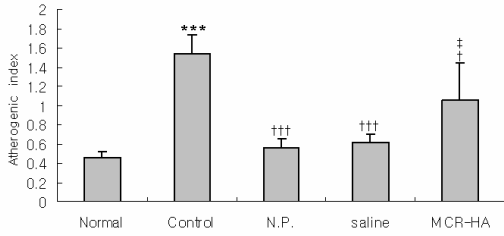


Fig. 9. Effect of MCR-HA at GB34 on atherogenic index in rats with hyperlipidemia

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and serum cholesterol levels were analysed. Atherogenic index was calculated as follows.

Atherogenic index = (total cholesterol - HDL cholesterol) / HDL cholesterol.

Data were expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline (0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR (1%, 0.2 ml) at GB34

***: p<0.05 compared to normal group by t-test.

†††: p<0.01, †: p<0.05 compared to control group by ANOVA test.

‡: p<0.05 compared to N.P. group by ANOVA test.

(4) Phospholipid/total cholesterol

실험동물의 혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비를 측정한 결과, control 군은 0.64±0.07으로 normal군에 비하여 유의하게 감소하였으며, N.P.군은 1.13±0.09, saline군은 0.98±0.22, MCR-HA군에서는 0.98±0.15으로 control군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 10).

2) 효소 활성

각 실험동물의 혈청으로부터 ALP, AST 및 LDH 농도를 측정하였다(Table 3).

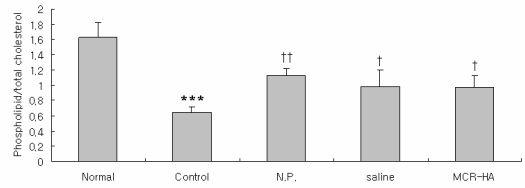


Fig. 10. Effect of MCR-HA at GB34 on serum phospholipid/total cholesterol in rats with hyperlipidemia

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and the ratio of serum phospholipid/total cholesterol was evaluated. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline (0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR (1%, 0.2 ml) at GB34

***: p<0.001 compared to normal group by t-test.

†: p<0.05, ††: p<0.01 compared to control group by ANOVA test.

Table 3. Effect of MCR-HA at GB34 on various enzymes in serum of rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	N.P.	Saline	MCR
ALP(IU/L)	353.6 ±76.40	322.6 ±16.68	306.6 ±34.43	340.4 ±39.54	376.6 ±71.68
AST(IU/L)	344.2 ±81.30	367.6 ±110.19	347.6 ±65.85	426.8 ±51.18	465.4 ±118.48
LDH(IU/L)	1908 ±167.22	2206.8 ±199.68	2372 ±125.11	2120.4 ±276.26	2120.4 ±103.82

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and various serum enzyme levels were analysed.

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline (0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR (1%, 0.2 ml) at GB34

(1) Alkaline phosphatase

실험동물의 혈중 ALP level을 측정한 결과, normal군은 353.6±76.4IU/L, control군은 322.6±16.68IU/L, N.P.군은 306.6±34.43IU/L, saline군은 340.4±39.54IU/L, 그리고 MCR-HA군에서 376.6±71.68IU/L로 혈중 ALP level에 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 11).

(2) AST

실험동물의 혈중 AST level을 측정한 결과, normal군은 344.2±81.3IU/L, control군은 367.6±110.19IU/L, N.P.군은 347.6±65.85IU/L, saline군은 426.8±51.18IU/L, 그리고 MCR-HA군에서는 465.4±118.48IU/L로 혈중 AST level에 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig 12).

(3) LDH

실험동물의 혈중 LDH level을 측정한 결과, normal군은 1908.8±167.22IU/L, control군은 2206.6±199.68IU/L, N.P.군은 2372±125.11IU/L, saline군은 2120.4±276.26IU/L, 그리고 MCR-HA군은 2310±110.25IU/L로 혈중 LDH 농도에 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 13).

Fig. 11. Effect of MCR-HA at GB34 on serum ALP level in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and serum ALP level was analysed. Data were

expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

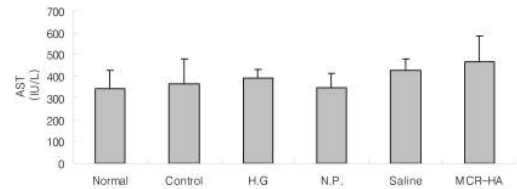


Fig. 12. Effect of MCR-HA at GB34 on serum AST level in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and serum AST level was analysed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

Fig. 13. Effect of MCR-HA at GB34 on serum LDH level in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Blood samples were taken from rat heart and serum LDH level was analysed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

6. 간 내 효소 분석

분획한 간 조직으로부터 HMG-CoA reductase activity, SOD activity, glutathione 농도, catalase activity를 측정하였다(Table 4).

Table 4. Effect of MCR-HA at GB34 on various hepatic enzymes in rats with hyperlipidemia

Parameter	Normal	Control	N.P.	Saline	MCR-HA
HMG-CoA reductase activity (%)	54.32 ± 5.69	91.12 ± 5.69	79.01 ± 8.55	94.44 ± 1.85	77.78 ± 7.41
Glutathione Conc.(umol/l)	155.19 ± 15.42	118.93 ± 10.42	132.13 ± 14.11	112.39 ± 8.36	166.67 ± 6.09
Catalase activity (U/ml)	176.26 ± 0.09	126.02 ± 3.01	138.21 ± 4.63	128.88 ± 0.89	158.75 ± 1.55

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Rat liver was removed and the activities of various hepatic enzymes were analyzed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

1) HMG-CoA reductase activity

실험동물의 간에서 HMG-CoA reductase activity를 측정한 결과, control군은 54.32±5.66으로 normal군에 비하여 유의하게 증가하였다. N.P.군은 79.01±8.55 그리고 MCR-HA군에서는 77.78±7.41으로 control군에 비하여 간내 HMG-CoA reductase activity가 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 14).

2) GSH

실험동물의 간에서 GSH level을 측정한 결과, normal군의 GSH 농도는 155.19±15.42 umol/L으로 control군의 118.93±10.48umol/L에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다.

MCR-HA군은 166.67±6.09umol/L으로 control군, N.P.군 및 saline군에 비하여 GSH 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 15).

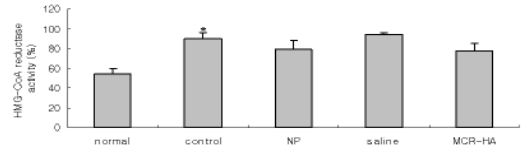


Fig. 14. Effect of MCR-HA at GB34 on hepatic HMG-CoA reductase activity in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Rat liver was removed and hepatic HMG-CoA reductase activity was analyzed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

*: p<0.05 compared to normal group by t-test.

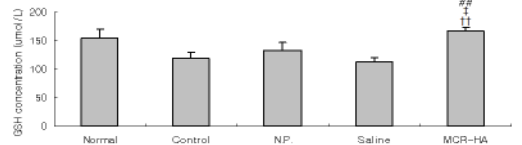


Figure 15. Effect of MCR-HA at GB34 on hepatic glutathione level in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Rat liver was removed and hepatic GSH level was analyzed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

††: p<0.01 compared to control group by ANOVA test.

‡: p<0.05 compared to NP by ANOVA test.

##: p<0.01 compared to saline by ANOVA test.

3) Catalase

실험동물의 간에서 catalase activity를 측정 한 결과, control군은 126.02 ± 3.01 U/ml로 normal군의 172.26 ± 0.09 U/ml에 비하여 유의하게 감소하였다. MCR-HA군의 간내 catalase activity는 158.75 ± 1.55 U/ml로 control군, NP군 및 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다 (Fig. 16).

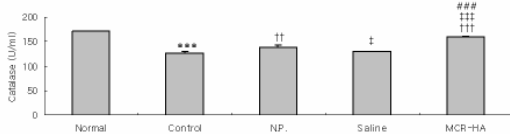


Figure 16. Effect of MCR-HA at GB34 on hepatic catalase level in rats with hyperlipidemia.

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Rat liver was removed and hepatic catalase level was analyzed. Data were expressed as mean ± SD (n=5).

- Normal : Normal wistar rats
- Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet
- N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34
- Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34
- MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34
- ***: $p < 0.001$ compared to Normal group by ANOVA test.
- †††: $p < 0.001$, ††: $p < 0.01$ compared to control group by ANOVA test.
- †††: $p < 0.001$, ‡: $p < 0.05$ compared to NP by ANOVA test.
- ###: $p < 0.0-1$ compared to saline by ANOVA test.

7. 조직학적 분석

1) 간조직

실험동물의 간조직을 Sudan black B(SB) 염색으로 염색하여 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났다. M

CR-HA군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 17).

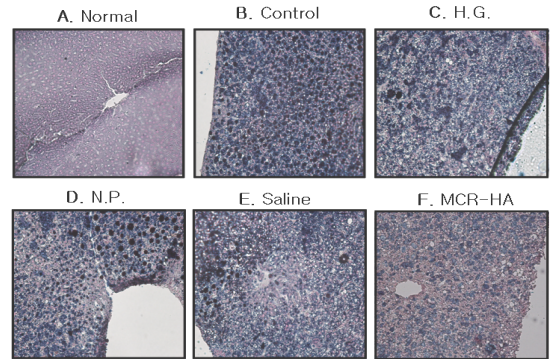


Figure 17. Histological analysis of liver in rats with hyperlipidemia (SBB stain) ×200

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. Rat liver was removed, sliced and embedded in OCT compound, and 10 μm sections were stained with Sudan block B-propylene glycol for the detection of fat and lipid(× 200).

- Normal : Normal wistar rats
- Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet
- N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34
- Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34
- MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

2) 대동맥

실험동물의 대동맥 절편을 oil red O 염색으로 염색하여 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였다. MCR-HA군에서는 붉은색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 18).

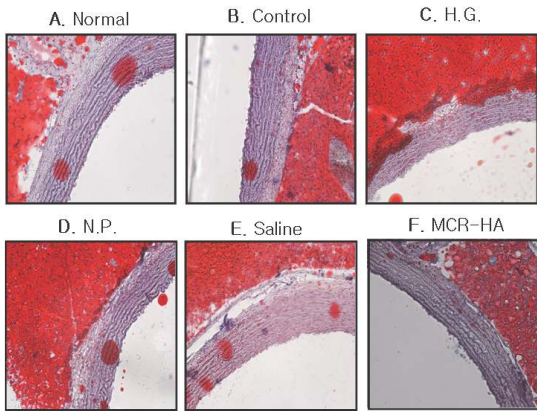


Figure 18. Histological analysis of aorta in rats with hyperlipidemia (Oil red O stain) x200

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and method. After the animals were sacrificed, the aorta was removed, sliced and embedded in OCT compound, and 10 μ m sections were stained with oil red O for the detection of fat and lipid(\times 200).

Normal : Normal wistar rats

Control : hyperlipidemia induced with alloxan (150 mg/kg) challenge and high fat diet

N.P. : hyperlipidemia and single needle prick at GB34

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB34

MCR-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with MCR(1%, 0.2 ml) at GB34

IV. 고 찰

고지혈증은 혈청 중 cholesterol, phospholipid, free fatty acid 등의 지질이 혈액내에 과도하게 증가되어 있는 상태를 말하는 것으로 고콜레스테롤혈증이나 중성지방이 많은 고중성지방증을 지칭한다²⁴⁾.

고지혈증의 종류에는 혈청지질의 합성이나 분해과정에 있어서 유전적인 결함이 있는 경우에 발생하는 원발성 고지혈증과 지방함유량이 많은 음식물을 섭취하거나 당뇨병, 갑상선기능저하증, 신증후군, 알코올, 비만 및 기타 약물과용 등에 의하여 지질성분이 이차적으로 혈청내에 증가되어 발생하는

속발성 고지혈증이 있다²⁵⁾.

고지혈증의 발생병리로는 소장에서 중성지질의 흡수증가, 간장에서 중성지방의 합성증가, LDL의 합성 및 분비증가, HDL의 합성감소, 말초조직에서의 중성지방 제거 감소 등의 원인으로 발생한다^{7,26)}.

고콜레스테롤 혈증은 죽상경화의 가장 위험한 인자로 이미 널리 알려져 있고²⁷⁾, 또한 동맥경화를 유발함으로써 관상동맥의 경화로 인한 협심증, 심근경색 등 허혈성 심질환이나 뇌동맥의 경화로 인한 뇌혈관질환의 발병가능성을 높이는 요인으로 인식되고 있다²⁸⁾.

현재 고지혈증의 치료약으로는 Colestipol, Probucol, Nicotinic acid 등의 혈장 콜레스테롤 저하제들과 Gemfrozil, Clofibrate 등의 중성지방 저하제들이 사용되고 있으나²⁹⁾ 위장증상, 간기능장애, 근육병증 자궁내막암 등의 약물 부작용에 대한 우려가 높아지고 있다³⁰⁾.

韓醫學에 고지혈증이란 병명은 없으나, 《靈樞 五癰津液別編》⁴⁾에서 “五穀之津液, 和合而爲膏者”라 하여 우리가 섭취하는 五穀의 津液에서 膏가 만들어진다고 보았고, 또한 張景岳은 “痰涎皆本血氣 若失化失其正則臟腑病 津液敗, 而氣血則成痰涎”이라 하여 氣血의 병리적 산물인 痰濁이 血脈에 壅滯不暢하여 血瘀에 이르게 되어 痰과 瘀가 互結하여 膠着脈道되어 마침내 脈痺가 되면서 中風 등의 病을 발생할 수 있다고 하였다. 이러한 언급들로부터 痰濁, 瘀血 등과 動脈硬化와의 관련성을 유추해 볼 수 있다^{32,33)}.

약침요법은 經穴 또는 壓通點에 藥針液을

주입하는 新針療法の 일종으로, 경락의 작용과 약물의 작용에 근거하여 환자의 질병에 상응하는 경혈과 약물을 선택하고, 약침액을 경혈내에 주입하여 경혈과 약물이 질병에 대해 종합적인 작용을 발휘하게 하여 질병을 치료하는 방법이다. 약물의 흡수가 빠르고, 경구투여가 불가능한 경우와 환처에 시술할 수 있는 등의 장점이 있다³⁴⁾.

약침의 제조방법으로는 水alcohol法, alcohol水法, 液-液菜取法, 酸alkali法, 金屬鹽沈澱法, 水蒸氣蒸溜法 등이 있으며, 본 실험에서는 가장 보편적인 방법인 水alcohol法을 이용하였다³⁴⁾.

陽陵泉은 足少陽膽經의 合土穴이며 下合穴이고 八會穴 중 筋會로, 半身不隨, 痺不仁, 麻木 등을 主治한다고 하였다³⁴⁾. 舒筋活絡, 清熱利濕, 活血散寒의 效能이 있어, 瘀血, 痰飲으로 인해 발생하는 고지혈증을 비롯한 심혈관질환의 치료에 활용할 수 있을 것으로 사료되어 본 실험의 藥鍼처치 부위로 選穴되었다³⁴⁾.

牧丹皮는 미나리아재비과 식물인 목단의 뿌리껍질로, 性味는 맵고 쓰며 서늘한 성질을 갖고 있다³⁵⁾. 성분으로는 paeonol, paeonoside, paeonolide, paeoniflorin을 함유하고 있으며, 약리작용으로는 중추신경에 작용하여 진정, 최면, 진통, 해열작용을 하며, 혈압을 낮추고 항근작용이 있고, 약한 독성을 가지고 있다. 肝經, 心經, 腎經에 들어가 熱을 내리고 血分에서 熱邪를 제거하며 혈액순환을 조절하고 어혈을 없애는 효능이 있다³⁵⁾.

이에 저자는 목단피 약침이 고지혈증 및 동맥경화에 미치는 영향을 알아보기 위하여,

고콜레스롤 식이로 고지혈증을 유발한 흰쥐의 양릉천에 목단피약침을 시술한 후에 실험동물의 혈청, 뇨, 간내효소 및 조직학적 분석을 시행하였다.

본 실험에서 정상 흰쥐의 간세포에 목단피 약침액을 여러 가지 농도로 처리한 후 세포 생존률을 측정된 결과 control에 비하여 목단피 약침액의 농도에 의존적으로 세포 생존률이 증가하였다(Fig. 1).

DPPH를 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성을 기대할 수 있으며, 항산화 능력은 조직의 산화적 손상을 감소시킴으로써 항고지혈능과 관련이 있다는 보고가 있다^{36,37)}. 본 실험에서 목단피 약침액을 여러 가지 농도로 희석한 후 DPPH 소거능을 측정된 결과, 모든 농도에서 DPPH 소거능을 나타내었다(Fig. 2).

HMG-CoA reductase는 cholesterol 대사를 조절하는 주요 효소로서, HMG-CoA reductase 활성억제는 고cholesterol혈증과 동맥경화를 예방·치료하는데 유용한 것으로 보고 있다³⁸⁾. 고콜레스롤을 섭취한 흰쥐의 간에서 HMG-CoA reductase를 분리하여 여러 가지 농도의 목단피 약침액을 처리한 결과, 모든 농도에서 HMG-CoA reductase의 저해 활성이 control에 비하여 유의하게 증가되었다(Fig. 3).

이상, DPPH소거능과 HMG-CoA reductase 활성억제능 검사결과로부터 목단피 약침액이 항고지혈 및 항동맥경화 작용이 있을 것으로 추정하고 본 실험을 시행하였다.

고지혈증을 유발하기 위하여 흰쥐에 alloxan을 복강투여하고 고콜레스롤을 4주간 섭

취하게 하였다. 실험군은 normal군, control군, HG군, NP군, saline군, MCR-HA군의 6군으로 나누어 실험을 하였다. HG군은 손으로 쥐를 잡는 동작만 하였다. 본 연구에서 HG군과 control군간에 유의한 차이가 나타나지 않아 약침처치를 위하여 손으로 쥐를 잡는 동작은 실험에 의미있는 영향을 주지 않는 것으로 판단되어 본 논문의 실험결과에서는 HG군의 결과들을 제외하였다.

일부 보고에 의하면, 체중의 변화와 혈청 지질의 농도는 상호 관련이 있어, 체중감소군은 triglyceride, total cholesterol, LDL cholesterol이 감소하는 경향을, 체중 증가군은 증가하는 경향을 보인다고 하였으나¹⁰⁾, 본 실험에서는 군간 체중변화에 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 4).

정상적인 간에서는 간중량의 5%가 지방이나³⁹⁾, 고콜레스테롤 식이로 간에 지질이 축적되면 간무게와 간비중이 증가할 것으로 추정되어 간의 무게와 간비중을 측정하였다. 실험결과 간무게와 liver index가 고콜레스테롤 식이에 의하여 유의하게 증가하였으나, 목단피 약침에 의한 변화는 나타나지 않았다(Fig. 5, Fig. 6).

혈중 cholesterol 수치를 1 mg/dl 줄일 때마다 심혈관 질환의 위험도는 2-3% 줄어든다는 보고가 있으며, 가족성 고지단백혈증, 당뇨병, 네프로제증후군, 급만성췌장염, 갑상선기능저하증, 동맥경화증, 지질대사장애 등에서 혈중 cholesterol이 증가하는 경향이 있다⁴⁰⁾. 본 실험에서 혈중 total cholesterol level을 측정한 결과, 고콜레스테롤 식이에 의해 증가된 혈중 total cholesterol이 목단피

약침에 의해 유의하게 감소하였다(Fig. 7).

HDL은 관상동맥경화의 주요 예방 인자로, 동맥에 있는 잉여 콜레스테롤을 간으로 역수송하기 때문에, total cholesterol 중에서 HDL의 비중이 높으면 그만큼 동맥경화의 위험성이 감소한다. HDL의 혈중 지표는 동맥경화성 질환예고의 중요한 지침이 된다고 알려져 있고, 관상동맥경화증, 비만, 고triglyceride 혈중 및 뇌경색 등에서 HDL이 저하한다는 것 역시 많은 논문을 통해서 보고된 바 있다^{41,42)}.

본 실험에서 실험동물의 혈청 total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비를 측정한 결과, 고콜레스테롤 식이에 의해 감소한 혈중 HDL/total cholesterol이 목단피 약침에 의해 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 8). 또한, 혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과, 고콜레스테롤 식이에 의해 증가한 동맥경화지수가 목단피 약침에 의해 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 8).

동맥경화지수는 총콜레스테롤, 중성지방, 인지질, LDL, HDL과 종합적으로 연동되어 있으며, 혈관질환의 중요위험인자 중의 하나이다²²⁾. 본 실험에서 동맥경화지수를 계산한 결과, normal군에 비하여 control군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였고, N.P.군, saline군 및 MCR-HA군에서는 control군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다(Fig. 9).

Phospholipid는 cholesterol등의 용해도를 높여서 동맥벽에 지질침착을 억제시키는 항

동맥경화인자의 하나로, phospholipid/total cholesterol 비의 감소는 동맥경화 촉진의 지표로 이용된다⁴³⁾. 본 실험에서 실험동물의 혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비를 측정한 결과, 고콜레스롤 식이에 의하여 유의하게 감소하였고, 목단피 약침에 의하여 유의하게 증가하였다(Fig. 10).

이상의 혈청분석 결과, MCR-HA한 군에서 control군에 비하여 total cholesterol이 유의하게 감소하였고, total Phospholipid/total cholesterol 비가 유의하게 증가하였다. 따라서 양릉천 목단피 약침이 고지혈증에서 혈중지방을 감소시키고 동맥경화를 억제하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

AST와 ALT는 간장이나 심장 등에서 다량 존재하여, 간세포가 상해되면 혈중으로 다량 逸脫하여 혈청농도가 현저하게 상승한다. 혈청 중 ALP의 증가는 주로 골질환, 간·담도질환, 임신, 악성종양 등에서 볼 수 있으며, 간세포 상해나 피사의 정도와 AST·ALT의 상승도 사이에는 상관성이 있는데, ALT와의 상관성이 AST보다 높다. LDH는 lactate와 pyruvate간의 가역성 산화 반응을 촉매 하는 효소로 심장이나 간질환이나 혈액 및 신장질환 등 각종 질환에서 그 활성이 상승 된다⁴³⁾.

본 실험에서 실험동물의 혈중 AST, ALP, LDH level을 측정한 결과, 모든 실험군에서 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 11-13).

실험동물의 간에서 HMG-CoA reductase activity, GSH level, catalase activity를 측정하였다.

HMG-CoA reductase activity는 normal 군에 비하여 control군에서 유의하게 증가하였으며, 양릉천 목단피 약침에 의해 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 14).

Glutathione은 세포 내 환원제로서 세포 내 수송과 저장, 세포 산화환원의 균형조절, 면역기능 및 세포증식 등에 매우 중요한 물질로 이물질 화합물의 탈독성을 위한 반응을 촉진하며 free radical을 포함한 항산화제를 위한 반응을 촉매한다⁴⁴⁾. GSH level은 normal군에 비하여 control군에서 GSH 농도가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. MCR-HA군에서는 control군에 비하여 GSH 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 15).

Catalase는 세포내에서 대사 산물인 H₂O₂를 인체에 무해한 H₂O와 O₂로 분해하는 세포방어 제 2항산화효소로 생체에 유해한 활성산소를 보다 효율적으로 제거하는 효소이다⁴⁵⁾. Catalase activity는 normal군에 비하여 control군에서 유의하게 감소하였고 MCR-HA군에서는 control군에 비하여 유의하게 증가하였다 (Fig. 16).

이상의 간 내 효소 분석 결과에서 HMG-CoA reductase activity와 GSH level에서는 유의한 결과를 나타내지 않았으나, 고콜레스롤 식이에 의해 감소한 간내 catalase activity는 양릉천 목단피 약침에 의해 유의하게 증가하였다. 산화스트레스에 대한 대처능력은 지질과산화물을 중심으로 한 지질대사 전반과 밀접한 관련이 있으며⁴⁴⁾, 허혈성심질환의 발생과 역의 상관관계를 보이는 것으로 알려져 있다⁴⁶⁾. 또한 항산화제의 섭취는 심혈관질환에 대한 효과적인 대처방안으로 제

시되고 있다⁴⁷⁾.

본 실험에서 양릉천 목단피 약침에 의한 간내 항산화능의 증가는, 혈중 총지질의 감소, phospholipid/total cholesterol 비 증가 등의 혈청분석결과와 함께, 양릉천 목단피약침이 지질의 산화와 관련된 혈중지질의 개선과 지질침착으로 인한 동맥경화를 예방하는 데 효과가 있음을 가리키는 것으로 사료된다.

실험동물의 간조직을 Sudan black B(SB B)로 염색하여 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타난 반면, MCR-HA군의 간조직에서는 control군에 비하여 감소한 것으로 간내 지질침착이 감소하였음을 알 수 있었다(Fig. 17).

실험동물의 대동맥 절편을 oil red O 염색으로 염색하여 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가한 반면, MCR-HA군에서는 control군에 비하여 감소하여, 대동맥의 지질침착이 감소하였음을 알 수 있었다(Fig. 18).

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 양릉천 목단피약침은 고콜레스테롤 식이로 고지혈증을 유발시킨 흰쥐에 대하여 혈중지질을 감소시키고 지질침착으로 인한 동맥경화를 억제하며 항산화 효과가 있는 것으로 사료되며, 향후 고지혈증 및 동맥경화에 대한 임상적인 활용이 기대된다.

N.P.군과 Saline군에서도 혈중 total cholesterol, 혈중 HDL/total cholesterol 비, 동맥경화지수와 phospholipid/total cholesterol

비의 증가 등을 보여 혈중지질 감소와 동맥경화 억제 및 산화 억제 등의 효과에서는 MCR-HA군과 비슷한 효과를 보였다. 그러나 GSH level과 catalase activity에서는 MCR-HA군이 더욱 유효한 효과를 나타내었다. 이것은 양릉천의 혈위적 특성이 혈중지질 감소와 동맥경화 억제 및 산화 억제 등의 효과에 유효한 작용을 하였음을 알수있으며 목단피의 간경으로 들어가 혈열을 제거하는 효능에 의하여 간 내 효소에 MCR-HA군이 더욱 효과적으로 작용하였다고 사료된다.

V. 결 론

양릉천 상용 부위에 시술한 목단피 약침이 고콜레스테롤 식이로 유발된 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 혈청, 간내 효소 분석 및 조직학적 분석을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 목단피 약침액은 간세포에서 유효한 DPPH 소거능과 HMG-CoA reductase 저해효능을 나타내었다.
2. 양릉천 목단피 약침은 고콜레스테롤 식이에 의하여 증가한 혈중 total cholesterol을 유의하게 감소시켰다.
3. 양릉천 목단피 약침은 고콜레스테롤 식이에 의하여 증가한 동맥경화지수를 유의하게 감소시켰다.
4. 양릉천 목단피 약침은 고콜레스테롤 식이에 의하여 감소한 혈중 phospholipid/total cholesterol 비를 유의하게 증가시켰다.

5. 양릉천 목단피 약침은 고콜레스롤 식이에 의하여 감소한 간내 catalase activity를 유의하게 증가시켰다.

이상의 결과, 양릉천 목단피 약침은 고콜레스롤 식이에 의한 흰쥐의 고지혈증과, 동맥경화 등의 고지혈증 합병증에 효과가 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- 전국의과대학교수 역. 오늘의 진단과 치료. 서울 : 도서출판 한우리. 1999 : 846-74, 132-4.
- 서울대학교의과대학 내과학교실. 임상내과학. 서울 : 고려의학, 2004 : 773, 1812.
- 2007 Annual Report on the cause of Death Statistics. National Statistics office Republic of Korea 2008 ; 8-9. Available from: URL : <http://www.nso.go.kr/>
- 鄭遇悅, 安圭錫. 韓方臨床病理學. 서울 : 永林社, 1998 : 545.
- 임윤경, 김태한, 정연탁. 대학 경락경혈학 실습. 대전 : 초락당, 2008 : 137-51, 488.
- 박찬국. 三陰三陽經脈의 發生과 機能. 대한한의학원전학회지. 1999 ; 12(2) : 165-74.
- 김병철, 이은주, 박치상, 박창국. 丹蔘飲이 高脂血症에 미치는 影響. 大韓韓方內科學會誌. 2000 ; 21(1) : 126-34.
- 김영석, 문상관, 고창남, 조기호, 배형섭, 이경섭 외. 心腦通, 降脂延壽丹 및 淸心 調氣湯의 高脂血症에 對한 實驗的 研究. 大韓韓方內科學會誌. 1998 ; 19(1) : 202-18.
- 이원구, 이용구, 남궁옥, 김동희. 淸神導痰湯이 食餌性 高脂血症 動物 病態에 미치는 影響. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2004 ; 13(2) : 109-23.
- 김정현. 除濕順氣湯이 高脂血症 病態 모델에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2006 ; 27(1): 16-26.
- 이은주, 강상렬, 권형수, 금현수, 강승준, 박치상, 박창국. 淸上鑷痛湯이 고지혈증에 미치는 영향. 大韓韓方內科學會誌. 2000 ; 21(3) : 409-16.
- 이성두, 박순달, 변준철. 地骨皮가 高脂肪食餌로 誘發된 白鼠의 高脂血症에 미치는 影響. 大韓韓方內科學會誌. 1998 ; 19(2) : 347-66.
- 최장선, 박순달, 변준철. 澤瀉가 白鼠의 高脂血症에 미치는 影響에 關한 研究. 大韓韓方內科學會誌. 1998 ; 19(2) : 392-410.
- 박희준, 남정환, 정현주, 이명선, 이경태, 정민화, 최종원. 고지방 식이로 유도된 비만 흰쥐에서 해당근에서 분리된 Euscaphic Acid 및 Tormentic Acid의 효과. 한국생약학회지. 2005 ; 36(4) : 324-31.
- 홍성희, 채희열, 김태명, 이남진, 김동규, 조정희 외. 고지혈증 토끼에서 상백피 에탄올추출물의 동맥경화 개선효과. 한국실험동물학회지. 2005 ; 21(3) : 273-9.
- 이정숙, 이경희, 정재홍. 갈근추출물이

- 고콜레스롤 이를 섭취한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 1999 ; 28(1) : 218-24.
17. 노환성, 고우영, 박건구, 조영환, 박형섭. 고지혈증 랫트를 이용한 시호, 작약, 조구등의 항고지혈 효과. 한국응용약물학회지. 1997 ; 5(1) : 43-7.
18. 김종덕, 김종인, 고희균, 이윤호, 강성길. 홍삼약침이 제2형 당뇨병 동물모델의 항고혈당 및 항고지질기전에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2008 ; 25(2) : 11-26.
19. 박원환. 마취유무에 따른 장문, 기문혈의 울금약침이 고지방성 식이로 인한 고지혈증 백서에 미치는 영향. 동의병리학회지. 1999 ; 13(1) : 92-103.
20. 문진영, 임종국. 간유, 기문혈의 애구 및 당귀미약침이 백서의 고지혈증에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1995 ; 12(2) : 119-34.
21. 張介賓. 경약전서. 1판. 서울 : 한미의학. 2006 : 2457-8.
22. EO Farombi., OO. Ige. Hypolipidemic and antioxidant effects of ethanolic extract from dried calyx of Hibiscus sabdariffa in alloxan-induced diabetic rats. Fundamental & Clinical Pharmacology. 2007 ; 21(6) : 601-9.
23. Bansal VS., Kanfer JN.. The phospholipid-N-methyltransferase of rat brain microsomes. Biochim Biophys Acta. 1985 ; 836(1) : 73-9.
24. 박영배. 고지혈증. Medical Post-graduates. 2003 ; 31 : 160-5.
25. 서울대학교 의과대학출판부 : 내분비학, 서울 : 서울대학교 의과대학. 2005 : 261.
26. 이은정, 조해림, 이대의, 정춘식, 김종훈, 김영식. 조직배양산삼 부정근 에탄올 추출물이 식이성 고지혈증에 고지혈증에 미치는 영향. 생약학회지. 2003 ; 34(2) : 179-84.
27. Martin MJ., Hulley SB., Browner WS., Kuller LH., Wentworth D.. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361,662 men. Lancet. 1986 ; 2(8513) : 933-6.
28. Arthur C., Guyton. 의학 생리학. 서울 : 정담. 2002 : 916-9.
29. Joel GH., Lee EI, Perry BM, Raymon WR, Alfred GG. Goodman and Gillman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics. New York : McGraw-Hill. 1995 : 882-94.
30. 해리슨 번역 편찬위원회. 해리슨내과학. 서울 : 정담. 1997 : 1196-202.
31. 楊維傑. 黃帝內經靈樞譯釋. 서울 : 일중사. 1991 : 296, 397, 416, 611-2.
32. 전국한의과대학 심계내과학교실. 東醫心系內科學. 서울 : 書苑堂. 2001 : 209-14.
33. 채우석. 한의학개론. 서울 : 대성문화사. 1997 : 219.
34. 임윤경, 김준표, 김태한. 대학 경락경혈학 각론. 대전 : 초락당. 2008 : 784-8, 2783-6.
35. 김창민, 신민교, 이경순, 안덕균 역. 중약대사전. 서울 : 도서출판 정담. 1999 :

- 1311-7.
36. 이경민, 서정철, 한상원. 黃耆藥鍼液의 NO, DPPH 消去 및 IL-4 抑制效果. 대한 침구학회지. 2003 ; 20(2) : 184-94.
37. 임현정, 조금호, 조여원. 고지혈증 환자에서 의학영양치료와 병행하여 섭취한 기능성차(상엽, 구기자, 국화, 대추, 참깨, 나복자)의 혈중 지질 농도 저하 및 항산화 효과. 한국식품영양과학회지. 2005 ; 34(1) : 42-56.
38. Bocan TM., Mueller SB., Brown EQ., Lee P., Bocan MJ., Rea T., Pape ME.. HMG-CoA reductase and ACAT inhibitors act synergistically to lower plasma cholesterol and limit atherosclerotic lesion development in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis*. 1998 ; 139(1) : 21-30.
39. 전국한의과대학 간계내과학 교수 공저. 간계내과학. 서울 : 동양의학연구원출판부. 2001 : 199-202.
40. 이귀녕, 권오현. 임상병리과일. 서울 : 의학문화사. 2003 : 196-200.
41. Berard AM., Foger B, Remaley A., Shamburek R., Vaisman BL., Talley G., Paigen B., Hoyt RF Jr., Marcovina S., Brewer HB jr., Santamarina-Fojo S.. High plasma HDL concentrations associated with enhanced atherosclerosis in transgenic mice overexpressing lecithin-cholesterol acyltransferase. *Nat Med*. 1997 ; 3(7) : 744-9.
42. Jurgens G., Taddei-Peters WC., Koltringer P., Petek W., Chen Q., Greilberger J., Macomber PF., Butman BT., Stead AG., Ransom JH.. Lipoprotein(a) serum concentration and apolipoprotein(a) phenotype correlate with severity and presence of ischemic cerebrovascular disease. *Stroke*. 1995 ; 26(10) : 1841-8.
43. 이삼열, 정윤섭, 권오녕, 손경순. 임상병리검사법. 서울 : 연세대학교 출판부. 2001 : 273-6, 281-3, 303-15.
44. Doba T, Burton GW, Ingold KU. Antioxidant and co-antioxidant activity of vitamin C. The effect of vitamin C, either alone or in the presence of vitamin E or a water-soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes. *Biochim Biophys Acta*. 1985 ; 835(2) : 298-303.
45. Kim, S. M., Cho, Y. S. and Sung, S. K.. The antioxidant and nitrite scavenging ability of waste resource (crop shell, sesame meal, korean tangrin peel) extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*. 2001 ; 30 : 589-93.
46. Gey KF, Puska P, Jordan P, Moser UK. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am J Clin Nutr.*. 1991 ; 53(1 Suppl) : 326S-334S.

47. 임재연, 김옥현, 김정희. 여자노인에서
항산화비타민 보충이 혈장지질개선에 미
치는 영향. 대한지역사회영양학회지.
2006 ; 11(1) : 133-42.