

원저

양릉천 갈근 약침이 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향

송왕기 · 강재희 · 이현

대전대학교 한의과대학원 침구학교실

Abstract

The Effect of *Puerariae Radix* Herbal-acupuncture at GB₃₄(*Yangleungcheon*) on Hyperlipidemia in Rats

Song Wang-gi, Kang Jae-hui and Lee Hyun

Dept. of Oriental Medicine Graduate school of Daejeon University

Objectives & Methods : The purpose of this study is to observe the effects of *Puerariae Radix* Herbal-acupuncture at GB₃₄(*Yangleungcheon*) on hyperlipidemia in rats. The author made several items to compare body-weight of the rats, weight of its liver, serum, enzymes in liver as well as the histological changes in each group.

Results : 1. In the *Puerariae Radix* herbal-acupuncture group, there was a significant improvement of the levels of total cholesterol, HDL-cholesterol, atherosclerosis index and phospholipid in serum as compared with the control group but there was no significant difference as compared with the NP or saline group.

2. There was a significant improvement of HMG-CoA reductase activity and catalase level in *Puerariae Radix* herbal-acupuncture group as compare with the control group, the NP group and the saline group.

3. The pathohistological changes of liver and aorta was suppressed in the *Puerariae Radix* herbal-acupuncture group than the control group.

Conclusions : From the above results, it is suggested that *Puerariae Radix* herbal-acupuncture at GB₃₄ has a therapeutic effect on hyperlipidemia.

Key words : Hyperlipidemia, *Puerariae Radix*, Herbal-acupuncture, GB₃₄, *Yangleungcheon*

· 접수 : 2009. 7. 13. · 수정 : 2009. 8. 3. · 채택 : 2009. 8. 6.
· 교신저자 : 이현, 충남 천안시 두정동 621 대전대학교 부속천안한방병원 침구과
Tel. 041-521-7580 E-mail : ih2000@dju.kr

I. 서론

혈청지질이 정상보다 증가된 경우 고지혈증이라 하는데 최근 식생활의 다양화 및 서구화로 고칼로리 음식, 동물성 식품의 섭취가 증가됨에 따라 발병률이 계속 증가하고 있다^{1,2)}. 고지혈증이 사회적으로 문제가 되는 것은 동맥에 죽상경화를 일으켜 혈전을 생성하여 혈관을 폐쇄시킴으로써 동맥경화, 뇌경색, 심근경색, 지방간 및 췌장염을 일으켜 사망의 직접적인 원인이 된다는 점이다³⁾.

한의학에서 고지혈증 및 동맥경화증은 주로 심장과 간의 기능 실조로 인한 心悸·中風·眩暈·心忪 및 肝陽上亢 등의 범주에서 다루어지고 있으며, 주요인을 痰飲·瘀血 및 火熱 등으로 인식하고 있다^{4,5)}.

고지혈증에 관한 한의학적 연구로는 지골피⁶⁾, 택사⁷⁾와 같은 단미 및 청상건통탕⁸⁾, 단삼음⁹⁾, 순기활혈탕¹⁰⁾, 청신도담탕¹¹⁾, 제습순기탕¹²⁾과 같은 처방을 위주로 보고되었고 약침을 이용한 연구는 미흡한 실정이다.

갈근은 콩과에 속한 多年生 藤本人 薯의 뿌리를 건조한 것으로 약성이 平 無毒하고 미는 甘辛하여 脾胃 陽明經의 要藥으로¹³⁾ 解肌退熱, 發散透表하여 혈압강하, 관상동맥확장, 혈소판응집억제 등의 약리작용이 있고¹⁴⁾ 알콜대사와 간질환에 유의한 효능이 있다고 알려져^{15,16)} 고지혈증에 일정부분 효과가 있을 것으로 생각되었다.

이에 저자는 갈근 약침이 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 고콜레스테롤 식이로 흰쥐에 고지혈증을 유발하고 양릉천 상응부위에 갈근 약침을 시술한 후 체중, 간무게, 혈청 성분, 간내 효소, 간 및 대동맥의 조직학적 변화 등 고지혈증과 관련된 지표들을 분석하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물 및 사료

동물은 6주령의 수컷 흰쥐(200±20)g을 (주)중앙실험동물로부터 공급받아, 실험 적응기간 동안에는 일

반 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료)를 공급하며 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 이후 실험기간 동안에는 실험군에 따라 일반 고형사료 혹은 고콜레스테롤 식이 사료로 조제된 사료 modified atherogenic diet No. 100353(Dyets INC. PA, USA)을 매일 일정한 시간에 물과 함께 공급하였으며, 실험실 환경은 실온(22±2℃)과 습도 20-60%를 유지하였다.

본 실험은 2008년 도입된 동물보호법 제13조에 따른 3Rs 원칙을(replacement, reduction, refinement) 따르며, 윤리적인 실험을 수행하기 위하여 노력하였다. 동물 실험의 윤리적 진행을 수행하기 위하여 동물을 사용하기 전 실험계획과 수행요령 및 주의사항을 사전에 교육받았다.

2) 약재

본 실험에 사용된 갈근(*Puerariae Radix*, PR)은 대전대학교 부속대전한방병원에서 구입하여 이용하였다.

2. 방법

1) 약침액의 제조

분쇄기를 이용해서 갈근 55g을 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축 하였다. 농축액에 95% ethyl alcohol 30ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20ml가 되게 하였다. 갈근 55g에서 얻은 갈근 약침액을 감압농축하여 수분을 모두 날렸을 때 분말 수율은 3.85g(수득율 7%)이었다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4℃에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filtering을 실시하였다. 여과된 농축액에 PBS를 첨가하고 1%로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

2) 실험동물 모델^{17,18)}

흰쥐에 alloxan(150mg/kg)을 복강투여하고 일주일 뒤 혈액 내에 총콜레스테롤 수치가 180-220mg/dl로 증가된 것을 확인한 후, 고콜레스테롤 식이 사료로 조제된 사료 modified Atherogenic diet No. 100353 (Dyets INC. PA, USA)를 4주간 매일 일정시간에 공급하여, 자유식으로 섭취하게 하여, 고콜레스테롤증을 유발하였다. 실험기간 중 사료는 4℃에서 보관하였다.

3) 취혈

骨度分寸法에 의거하여 흰쥐의 좌우측 뒷다리에서 인체의 양릉천(Yangleungcheon ; GB₃₄)에 상응하는 부위를 매 시술마다 좌우 교대로 취하였다.

4) 실험군 분류 및 처치

흰쥐 8마리씩을 한 군으로 하여 정상군(normal), 대조군(control), HG군(hand grasping; data not shown), NP(needle prick)군, saline(saline injection)군, 갈근 약침군(PR-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 26gauge 주사기를 0.5cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. saline군은 양릉천(GB₃₄) 상응부위에 saline 0.2ml를 주입하였다. PR-HA군은 양릉천(GB₃₄) 상응부위에 1%의 PR 약침액 0.2ml를 주입하였다. NP, saline 주입, PR 약침 처치는 모두 alloxan 투여 1주 이후부터 4주간 주 3회 시행하였다. NP, saline 주입, PR 약침 시술은 실험동물의 후지에서 양릉천(GB₃₄) 상응부위를 매 시술마다 좌우 교대로 취하여 시술하였다.

5) 고지혈증 평가

(1) 몸무게, 간무게 및 liver index 측정

실험 종료 시까지 1주일 간격으로 각 실험군의 실험동물 몸무게를 측정하여 기록하였다. liver index는 실험 종료 시, 실험동물의 몸무게와 간무게를 측정하여 몸무게에 대한 간무게의 백분율로 계산하였다.

$$\text{Liver index} = \frac{\text{Liver weight(g)}}{\text{Wister rat weight(g)}} \times 100$$

(2) 혈청분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취하고, 심장 채혈 법으로 혈액을 채취하였다. 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, (주)Reference laboratory (DaeJeon, Korea)에 의뢰하여 혈청 중의 total cholesterol, free cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, phospholipid, AST, LDH, ALP를 측정하였다.

(3) 동맥경화지수 판정

Atherosclerosis index는 혈청에서 측정된 total cholesterol과 HDL cholesterol의 값을 이용하여 계산하였다.

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

(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 1g당 ice cold buffer A(50mM phosphate buffer, pH 7.0with 0.2M sucrose, 2mM DTT) 2ml를 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 buffer A(with 50mM EDTA)를 rat liver 1g당 1ml씩 첨가하여 세척하고 100,000×g에서 60분간 원심분리하였다. 다음, 상등액은 버리고 -20℃에서 2시간 이상 보관하고 microsome pellet을 실온에서 해동시킨 후 buffer B(50mM phosphate buffer, pH 7.0 with 0.1M sucrose, 2mM DTT, 50mM KCl, 30mM EDTA)를 3 ml/1.5g rat liver를 가하여 균질화하였다. Buffer B를 7ml/1.5g rat liver 첨가하고 상온에서 15-30분간 방치하였다. 100,000×g, 20℃에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 취한 후, 효소원으로 사용하기 전까지 -70℃에서 보관하였다.

② HMG-CoA reductase 활성 측정

1ml cuvette에 0.5mM phosphate buffer(pH 7.0)와 20mM DTT 100 μ l를 분주하고, 3mM NADPH 100 μ l, 효소원 100 μ l를 첨가하였다. 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 preincubation을 실시하였다. 3mM HMG-CoA 100 μ l를 가하여 효소 반응 시작과 동시에 340nm에서 5분간 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 간조직의 분획

적출한 간 조직의 일부를 취하여 여지로 혈액 및 미물질을 제거하고 Bansal 등의 방법¹⁹⁾에 의해 간조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화 하였다. 균질화한 조직을 600 \times g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후, 상등액을 1,000 \times g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 두 개로 나눠 10,000 \times g에서 1시간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었으며, 105,000 \times g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction을 얻었다. Microsomal fraction은 MDA의 함량 및 Catalase의 활성을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과를 측정하였다. Microsomal fraction sample은 실험 전까지 -80 $^{\circ}$ C에서 보관하였으며, cytosolic fraction은 -20 $^{\circ}$ C에서 보관하였다.

④ Catalase

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

(5) 간의 조직학적 검사

실험 종료 후, 각 군의 실험동물의 간조직을 절취하여, 10%의 formalin에 고정하였다. 조직검사 전, gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4 $^{\circ}$ C에서 조직을 침수하였다. 침수가 끝난 조직은 액체질소를 이용하여 급속 동결하여 냉동조직절편기(cryostat cryocut microtome)를 사용하여 10 μ m의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시킨다. 100% propylene glycol 용액에서 10분간 처리하여 완전 탈수를 한다. 60 $^{\circ}$ C oven에 있는 Sudan black B 용액에서 10분간 염색을 시행한다. 이어 85% propylene glycol 용액에

서 5분간 감별한다. 증류수로 여러 번 세척한 후, Nuclear fast red 용액으로 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(Nikon, Japan)을 이용하여 분석하였다.

(6) 대동맥의 조직학적 검사

실험 종료 후, 각 군의 실험동물의 대동맥을 절취하여, 10%의 formalin에 고정하였다. 조직검사 전, gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4 $^{\circ}$ C에서 조직을 침수하였다. 침수가 끝난 조직은 액체질소를 이용하여 급속 동결하여 냉동조직절편기(cryostat cryocut microtome)를 사용하여 10 μ m의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시켰다. 100% propylene glycol 용액에서 5분간 처리하여 완전 탈수를 하였다. 60 $^{\circ}$ C oven에 있는 oil red O 용액에서 7분간 염색을 시행하였다. 이어 85% propylene glycol 용액에서 3분간 감별하였다. 증류수로 여러번 세척한 후, 1%로 희석된 Harris' hematoxylin 용액으로 1분간 감별 염색한 다음 증류수로 여러 번 세척한 후 수용성 봉입제로 봉입하였다. 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(Nikon, Japan)을 이용하여 분석하였다.

6) 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 Control군과 유의한 차이를 나타내지 않아, HG군의 데이터는 본 논문의 실험성적에 나타내지 않았다. 정상군과 대조군 평균비교는 paired t-test를 사용하였으며, 대조군, NP군, saline군, 갈근 약침군 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. 고지혈증 평가

1) 몸무게

실험동물에 alloxan을 복강투여하고 고콜레스테롤 식을 4주간 섭취하게 하면서 매주 몸무게를 측정하였다. Normal군에 비하여 control군에서 약간 높은 몸무게를 나타내었으며, PB-HA군에서 control군에 비하여 다소 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 1).

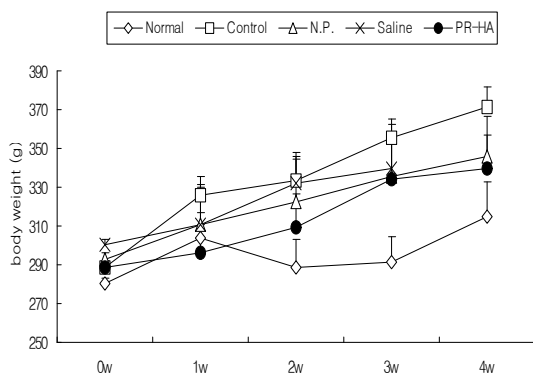


Fig. 1. Effect of PR-HA at GB₃₄ on body weight in rats with hyperlipidemia

2) 간무게

실험종료 후, 실험동물의 간을 적출하여 무게를 측정하였다. Normal군에 비하여 control군에서 간 무게가 유의하게 증가하였다. NP군, saline군, 및 PR-HA군의 간 무게는 control군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2).

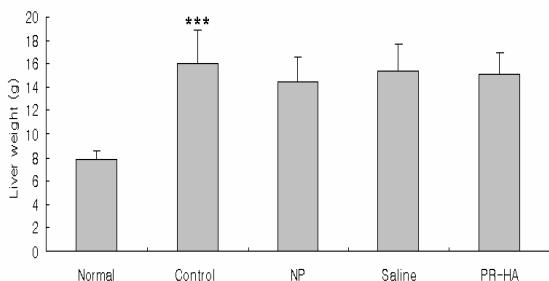


Fig. 2. Effect of PR-HA at GB₃₄ on liver weight in rats with hyperlipidemia.

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

3) Liver index

실험종료 후 실험동물의 몸무게에 대한 간 무게의 비율을 계산하였다. Normal군에 비하여 control군에서 liver index가 유의하게 증가하였다. NP군, saline군, 및 PR-HA군의 liver index는 control에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 3).

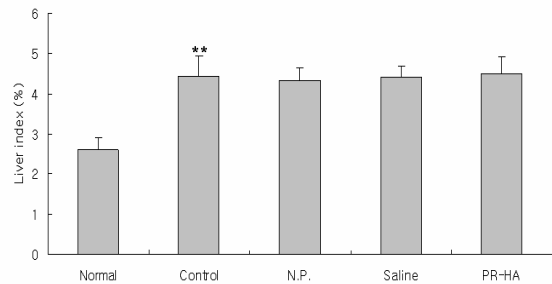


Fig. 3. Effect of PR-HA at GB₃₄ on the liver index in rats with hyperlipidemia

** : $p < 0.01$ compared to normal group by t-test.

2. 혈청분석

1) 지질성분

(1) Total cholesterol

실험동물의 혈중 total cholesterol level을 측정하고, normal군에 비하여 control군에서 혈중 total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군, 및 PR-HA군에서 control군에 비하여 혈중 total cholesterol이 유의하게 감소하였다(Fig. 4).

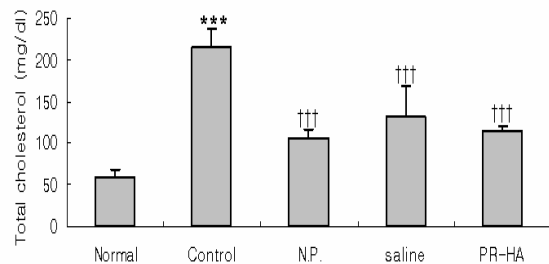


Fig. 4. Effect of PR-HA at GB₃₄ on serum total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

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

††† : $p < 0.001$ compared to control group by ANOVA test.

(2) HDL-cholesterol/total cholesterol

실험동물의 혈청에서 total cholesterol에 대한 HDL-

cholesterol의 비를 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 HDL-cholesterol/total cholesterol이 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군 및 PR-HA군에서 control군에 비하여 혈중 HDL-cholesterol/ total cholesterol이 유의하게 증가하였다(Fig. 5).

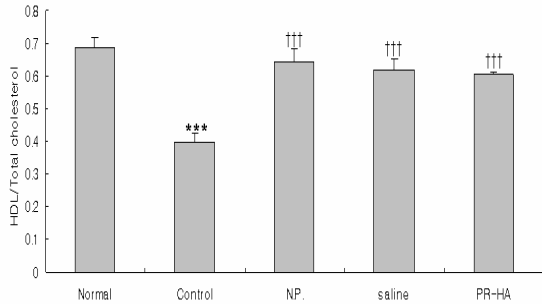


Fig. 5. Effect of PR-HA at GB₃₄ on serum HDL/total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by t-test.
††† : $p < 0.001$ compared to control group by ANOVA test.

(3) 동맥경화지수(atherogenic index; AI)

혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과, normal군에 비하여 control군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였다. NP군, saline군 및 PR-HA군에서는 control군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

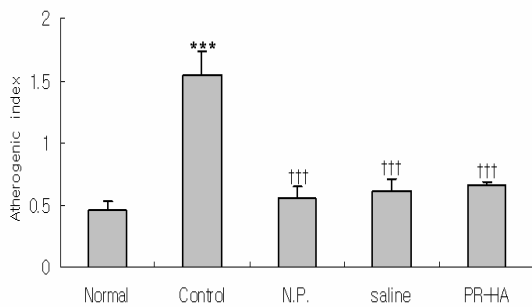


Fig. 6. Effect of PR-HA at GB₃₄ on atherogenic index in rats with hyperlipidemia

*** : $p < 0.05$ compared to normal group by t-test.
††† : $p < 0.05$ compared to control group by ANOVA test.

(4) LDL-cholesterol

실험동물의 혈중 LDL-cholesterol level을 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 LDL-

cholesterol이 유의하게 증가하였다. NP군에서는 control군에 비하여 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 감소하였고, saline군 및 PR-HA군에서는 NP군에 비하여 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 증가하였다(Fig. 7).

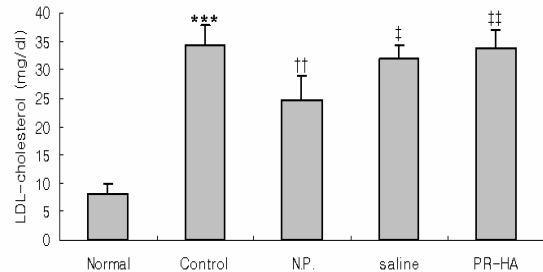


Fig. 7. Effect of PR-HA at GB₃₄ on serum LDL-cholesterol level in rats with hyperlipidemia

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by t-test.
†† : $p < 0.01$ compared to control group by ANOVA test.
‡ : $p < 0.01$. † : $p < 0.05$ compared to NP group by ANOVA test.

(5) Phospholipid/total cholesterol

실험동물의 혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비를 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군, PR-HA군에서는 control군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 8).

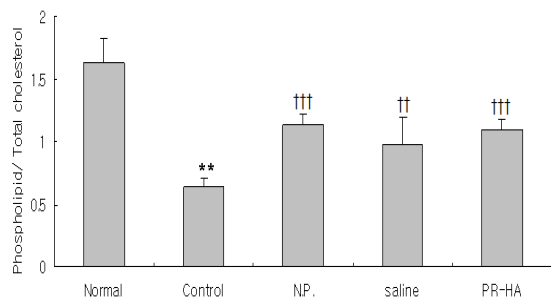


Fig. 8. Effect of PR-HA at GB₃₄ on serum phospholipid/total cholesterol in rats with hyperlipidemia

*** : $p < 0.001$ compared to normal group by t-test.
††† : $p < 0.001$. †† : $p < 0.01$, compared to control group by ANOVA test.

(6) Free cholesterol

실험동물의 혈중 free cholesterol level을 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 free cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군에서 control군

에 비하여 혈중 free cholesterol이 유의하게 감소하였다(Fig. 9).

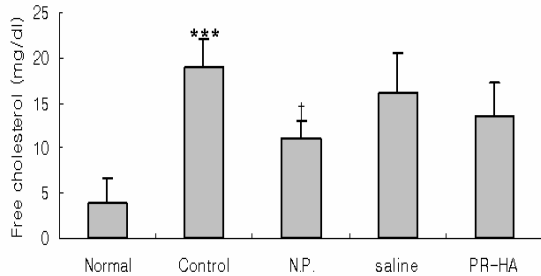


Fig. 9. Effect of PR-HA at GB₃₄ on serum free cholesterol level in rats with hyperlipidemia

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

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

2. 간 내 효소 분석

1) HMG-CoA reductase activity

실험동물의 간에서 HMG-CoA reductase activity를 측정할 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 증가하였다. PR-HA군에서는 control군, NP군 및 saline군에 비하여 간 내 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 감소하였다(Fig. 10).

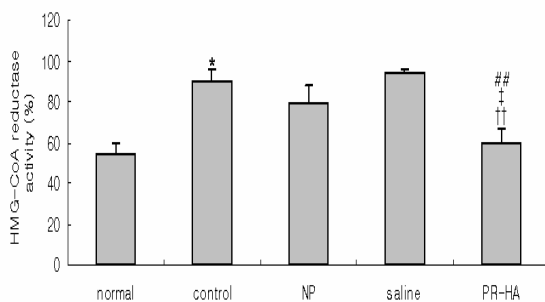


Fig. 10. Effect of PR-HA at GB₃₄ on hepatic HMG-CoA reductase activity in rats with hyperlipidemia

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

†† : $p < 0.01$ 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.

2) Catalase

실험동물의 간에서 catalase level을 측정할 결과, normal군에 비하여 control군에서 catalase 농도가 유의하게 감소하였다. PR-HA군에서 control군, saline

군에 비하여 catalase 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 11).

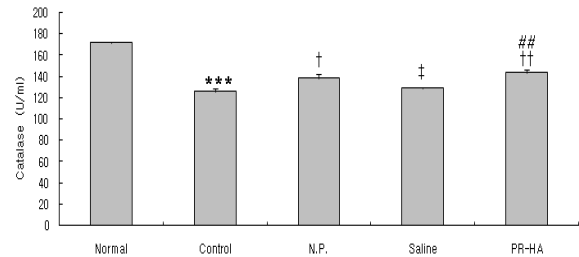


Fig. 11. Effect of PR-HA at GB₃₄ on hepatic catalase level in rats with hyperlipidemia

*** : $p < 0.001$ 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 NP by ANOVA test.

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

4. 조직학적 분석

1) 간조직

실험동물의 간조직을 Sudan black B(SBB) 염색으로 염색하여 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났다. PR-HA군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 12).

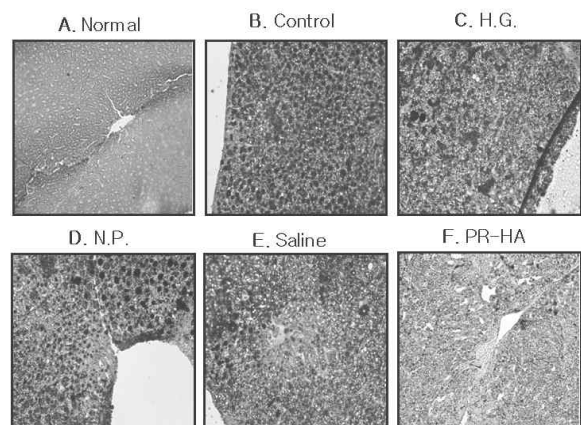


Fig. 12. Histological analysis of liver in rats with hyperlipidemia(SBB stain)×200

2) 대동맥

실험동물의 대동맥 절편을 oil red O 염색으로 염색하여 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였다.

PR-HA군에서는 붉은색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 13).

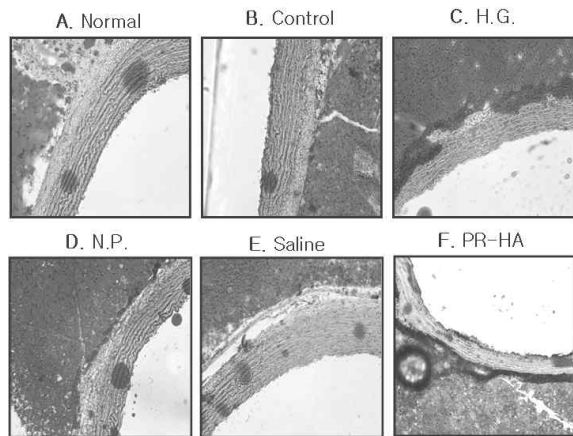


Fig. 13. Histological analysis of aorta in rats with hyperlipidemia(Oil red O stain)×200

IV. 고찰

우리나라에서 뇌졸중과 관상동맥질환을 포함한 심혈관계질환은 암과 함께 주요 사망원인으로 일반적으로 흡연, 고혈압, 고지혈증이 관상동맥질환의 3대 위험요인으로 알려져 있으며²⁰⁾, 고지혈증을 조기에 치료함으로써 동맥경화증, 나아가서 관상동맥질환을 예방할 수 있다²¹⁾.

고지혈증은 혈청 중 triglyceride, cholesterol, phospholipid, free fatty acid 등의 지질이 혈액 내에 과도하게 증가되어 있는 상태를 말하는 것으로²⁾, 혈중 콜레스테롤이 240mg/dl 이상인 고콜레스테롤혈증이나 중성지방이 많은 고중성지방증을 지칭하며, 지질의 농도가 비정상적으로 상승된 상태를 말한다²²⁾.

고지혈증은 크게 혈청지질의 합성이나 분해과정에 있어서 유전적인 결함이 있는 경우에 발생하는 원발성 고지혈증과 지방함유량이 많은 음식을 섭취하거나 당뇨병, 갑상선기능저하증, 신증후군, 알코올, 비만 및 기타 약물과용 등에 의하여 지질성분이 이차적으로 혈청내에 증가되어 발생하는 속발성 고지혈증이 있다²³⁾. 고지혈증 치료는 식이요법이 기본이 되며, 중증의 경우에는 약물치료 등을 병행하여야 한다. 심혈관 질환의 다른 위험인자가 없는 35세 미만의 남자나 폐경 전 여자의 경우 LDL-cholesterol의 농도가 190mg/dl을 넘어 220mg/dl까지 되더라도 약물 요법은 가

급적 연기하며 식이요법과 운동 등을 최대한 권장하도록 한다. 3-6개월간의 식이요법, 운동, 금연 등의 비약물요법에도 불구하고 LDL-cholesterol의 농도가 190mg/dl 이상이거나, 심혈관 질환의 위험인자가 2가지 이상이면서 LDL-cholesterol의 농도가 160mg/dl 이상인 경우 약물요법을 고려해야 한다²⁴⁾.

한의학에서 고지혈증은 주로 頭痛, 痺證, 胸悶, 心悸, 中風, 眩暈, 心忡, 胸痛 및 肝陽上亢 등의 범주로 痰濁, 火熱, 氣滯血瘀, 脾胃濕熱 등의 實證性 病因과 肝腎陰虛, 脾腎虧虛 등의 虛證性 病因에 기인하는 것으로 인식되고 있고, 치료법으로는 利氣祛痰을 주 치료법으로 利濕化痰, 活血化痰, 清熱利濕, 健脾益腎 등이 응용되고 있다^{4,5,25,26)}.

양릉천(GB₃₄)은 筋會, 陽之陵泉이라고도 하며, 八會穴 중 筋會穴이고, 足少陽膽經의 合土穴로서 穴性은 舒筋脈, 疎經絡濕滯, 活血通脈, 清肝濕熱, 強健腰腿로 膝關節痛, 半身不隨, 痺不仁, 胸脇脹滿, 癲癩 등이 있다²⁷⁻²⁹⁾. 여러 가지 혈성 중에 주된 活血通脈하고 清肝濕熱하는 작용으로 미루어 볼때 양릉천 혈이 瘀血, 痰飲으로 인해 발생한다고 여겨지는 고지혈증 및 동맥경화증의 치료에 유의한 작용이 있으리라 생각되어 선혈하게 되었다.

약침요법은 기존의 침법과 한약을 결합하여 발전시킨 신침요법의 일종으로 한약제제를 경혈의 자극수단으로 사용하는 것을 말한다²⁹⁾. 즉 순수 한약제에서 정제, 추출하여 경혈에 극소량의 약물을 주입함으로써 침의 작용과 한약의 작용을 병행하여 치료를 보다 극대화시키기 위한 방법²⁹⁾, 현재 한의학 임상에서 다양한 종류의 약침이 활용되고 있으며 그 치료의 유효성이나 효과 기전에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있다. 특히 갈근은 해열, 혈압강하, 관상동맥확장, 혈소판응집억제 등의 약리작용이 있고 알콜대사와 간질환에 유의한 효능이 있어¹³⁻¹⁶⁾, 고지혈증 예방이나 치료에 유의한 작용을 할 것으로 사료되었다.

이에 저자는 갈근 약침이 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 Nishina 등¹⁷⁾의 방법으로 고콜레스테롤 식이로 흰쥐에 고지혈증을 유발하고 양릉천에 갈근 약침을 시술한 후 체중, 간무게, 혈청 성분, 간 내 효소, 간 및 대동맥의 조직학적 변화 등 고지혈증과 관련한 지표들을 분석하였다.

고지혈증 평가를 위해 몸무게와 간무게를 측정하였다(Fig. 1-3). 실험기간 동안 매주 몸무게의 변화를 측정한 결과 고콜레스테롤 식이로 인한 체중증가가 control군에서 나타났으며 갈근 약침군에서 control군

에 비하여 다소 낮아 갈근 약침군의 체중감소 효과가 관찰되었으나 실험 종료 후 살피본 간 무게와 몸 무게에 대한 간 무게의 비율인 liver index에서는 실험군에서 대조군에 비해 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

혈청분석을 통하여 고지혈증에 관계되는 지질 성분과 효소들을 측정하였는데 혈중 total cholesterol level 측정결과 갈근 약침군 및 NP군, saline군에서 모두 control군에 비하여 유의하게 감소하였고(Fig. 4), total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비율도 갈근 약침군 및 NP군, saline군에서 control군에 비하여 유의하게 증가하였으며(Fig. 5), 혈중 total cholesterol과 HDL-cholesterol 수치를 이용한 동맥경화지수(AI)에서도 갈근 약침군 및 NP군, saline군에서 control군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig. 6). 또한 혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비도 갈근 약침군 및 NP군, saline군에서 모두 control군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 8). 혈중 total cholesterol은 체내 지질 대사 이상의 지표로서 남녀노소 인종에 관계없이 혈중 콜레스테롤 수치가 높으면 죽상경화증에 의한 허혈성 심질환의 발병이 증가한다고 알려져 있고³⁰⁾, 혈관 내의 콜레스테롤을 제거하는 기능을 가진 HDL은 동맥경화를 예방하는 유익한 콜레스테롤로 혈관에 부착된 콜레스테롤을 간장으로 운반하여 소화시키게 되는데 혈액 중의 HDL-cholesterol 수치가 높을수록 동맥경화나 심장질환이 될 위험성이 낮은 것으로 보고되고 있다^{31,32)}. 동맥경화지수(AI)는 total cholesterol 수치에서 HDL-cholesterol 수치를 뺀 값을 HDL-cholesterol 수치로 나눈 값으로 total cholesterol 수치가 낮을수록 또 HDL-cholesterol 수치가 높을수록 지수가 낮아지게 된다^{33,34)}. 또한 혈청 phospholipid는 각종의 지질대사이상에 의해 증감하지만 cholesterol과 평행해서 변동하는 경우가 많고 동맥경화증에 있어서의 phospholipid의 역할은 cholesterol 등의 용해도를 높여서 동맥벽에 지질침착을 억제시키는 항동맥경화인자의 하나이므로 total phospholipid/total cholesterol 비율의 감소는 동맥경화 촉진의 지표로 이용된다³⁵⁾. 실험결과 갈근 약침에서 유의하게 혈중 콜레스테롤 수치를 저하시키고, HDL-cholesterol을 증가시키며, phospholipid를 감소시키는 작용이 관찰되었으나, NP군 및 saline군과는 유의한 차이를 보이지 않아 갈근 약침액만의 작용으로 이해하기는 어렵고 活血通脈하고 淸肝濕熱하는 양릉천 혈의 경혈자극이 주로 영향을 미친 것으로 사료되었다.

혈중 LDL-cholesterol level의 경우는 NP군만이

control군 및 saline군, 갈근 약침군에 비해 유의하게 감소하였고 갈근 약침군에서는 유의한 변화가 없었다(Fig. 7). 혈중 free cholesterol level도 NP군에서 control군에 비해 유의하게 감소하였고 갈근 약침군에서는 유의한 변화가 없었다(Fig. 9). 혈중 LDL-cholesterol의 증가는 고지혈증과 깊은 관계가 있는데 LDL-cholesterol이 동맥벽의 내피에서 산화되어 순환 중의 monocytes를 동맥벽으로 유도함으로써 동맥경화를 일으키고 산화된 LDL-cholesterol은 macrophages를 foam cell화 하여 혈관에 경화를 가져오며 smooth muscle cell을 분화시켜 세포의 이상 증식을 통해 동맥경화의 원인이 되기도 한다³²⁾. 실험결과 양릉천 단순 자침시에 LDL-cholesterol과 free cholesterol을 유의하게 감소시키는 것으로 나타났으며, 갈근 약침은 LDL-cholesterol과 free cholesterol 감소에 별다른 영향을 주지 못하는 것으로 나타났다. 이상의 고지혈증과 관련된 혈청 지질 성분 분석을 통하여 갈근 약침의 고지혈증 관련 지표의 개선 작용이 일부 관찰되었으나 NP군 및 saline군과 비교해 유의성이 없었고 LDL-cholesterol의 경우 양릉천 단순 자침시에만 유의하게 감소되어 갈근 약침액의 작용보다는 양릉천 경혈의 자극으로 인한 작용으로 판단된다.

분획한 간조직으로부터 간 내 효소인 HMG-CoA reductase activity 및 catalase 농도를 측정하였다. HMG-CoA reductase는 생체 내에서 콜레스테롤의 합성을 조절하는데 중요한 역할을 하는 효소로 콜레스테롤을 합성하는 과정에서 HMG-CoA를 mevalonate로 변환하는 역할을 하여 혈액 내에서 콜레스테롤 수치를 높게 만들어서 HMG-CoA reductase 활성의 억제제는 고콜레스테롤혈증과 동맥경화를 예방 치료하는데 유용한 것으로 보고된 바 있다. 임상에서 콜레스테롤의 수치를 낮추기 위해서 HMG-CoA reductase의 체내 생산을 억제하는 약을 투여하기도 한다^{34,36,37)}. 또한 catalase는 H₂O₂를 무독성 H₂O로 환원시키거나 methanol, ethanol, formic acid 및 phenol과 같은 hydrogen donor의 산화에 관여하는 효소로서 지방산화에 의해 생성된 유리기를 제거하며, 다수의 H₂O₂ 생성 효소들과 복합체를 형성하여 peroxisome에 주로 분포하고 H₂O₂ 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 알려져 있다^{38,39)}.

HMG-CoA reductase activity의 측정결과 정상군에 비해 대조군에서 유의하게 증가되었고 갈근 약침군에서 대조군에 비해 유의하게 감소되었으며 NP군, saline군에 비해서도 유의하게 감소하여 갈근 약침이

흰쥐에서 고콜레스테롤 식이로 증가된 HMG-CoA reductase 활성을 억제하여 콜레스테롤 합성을 저하시키는 작용이 관찰되었다(Fig. 10). Catalase 농도 측정결과도 갈근 약침군이 대조군 및 saline군에 비해 유의하게 증가하여 갈근 약침이 흰쥐에서 항산화 작용을 하는 catalase를 증가시키는 작용이 관찰되었다(Fig. 11).

실험동물의 간과 대동맥의 조직학적 분석 결과 간 조직에서 정상군에 비하여 대조군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났으나 갈근 약침군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 12). 대동맥 절편을 관찰한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였으나 갈근 약침군에서는 붉은색의 착색이 대조군에 비하여 감소하여(Fig. 13), 갈근 약침이 고지혈증이 유발된 흰쥐에서 간조직 손상 억제 효과와 동맥경화 억제 효과가 있음을 확인 할 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 양릉천 갈근 약침이 고콜레스테롤 식이로 유발된 흰쥐의 고지혈증 관련 지표들을 유의하게 회복시켰는데, 이중 total cholesterol 및 HDL-cholesterol과 같은 혈청지질성분 호전의 경우는 NP군이나 saline군과 유의한 차이가 없어서 갈근 약침의 온전한 역할보다는 양릉천 경혈 자극이 일정부분 효과를 나타낸 것으로 생각된다. HMG-CoA reductase activity 억제에 있어서는 대조군 및 NP군이나 saline군에 비해서도 유의한 효과를 내는 것으로 보아 갈근 약침액 자체 작용으로 인한 것으로 생각되며, 이는 갈근 약침액이 HMG-CoA reductase 억제를 통하여 콜레스테롤 합성을 저하시켜 항고지혈증 작용을 나타낸 것으로 판단된다. 이로써 고지혈증에 갈근 약침이 유효한 치료법이 될 수 있을 것으로 사료되며 추후 갈근 약침의 임상 응용에 관한 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다.

V. 결 론

양릉천에 시술한 갈근 약침이 고콜레스테롤 식이로 유발된 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 몸무게, 간무게, 혈청, 간 내 효소 분석 및 조직학적 분석을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 갈근 약침군에서 대조군에 비해 혈청내 total cholesterol, HDL-cholesterol, 동맥경화지수(AI) 및 phospholipid가 유의하게 개선되었으나 NP군 및 saline군에 비해 유의한 차이는 없었다.
2. 갈근 약침군에서 대조군 및 NP군, saline군에 비해 간 내 HMG-CoA reductase activity 및 catalase가 유의하게 개선되었다.
3. 갈근 약침군에서 조직학적 검사상 대조군에 비해 간과 대동맥조직의 병리적 변화가 억제되었다.

이상의 결과들을 종합해 볼 때 갈근 약침이 HMG-CoA reductase 억제를 통하여 콜레스테롤 합성을 저하시켜 고지혈증에 유효한 치료법이 될 수 있을 것으로 사료되며 추후 임상적인 연구가 필요하리라 생각된다.

VI. 참고문헌

1. 의학교육연수원 편저. 가정의학. 서울 : 서울대학교출판부. 2003 : 259-62, 302-3.
2. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과진료지침. 서울 : 고려의학. 2002 : 309.
3. 진국환의과대학교수 역. 오늘의 진단과 치료. 서울 : 도서출판 하우리, 1999 : 846-74.
4. 진국환의과대학 심계내과학교실. 東醫心系內科學. 서울 : 書苑堂. 2001 : 209-14.
5. 진국환의과대학 간계내과학교수. 간계내과학. 서울 : 동양의학연구원 출판부, 1995 : 214-5.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 이기서, 강탁림, 남궁옥, 김동희. 順氣活血湯이 高脂血症에 미치는 影響. 대전대학교 한의학연구소

- 논문집. 2001 ; 13(2) : 97-108.
11. 이원구, 이용구, 남궁욱, 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.
 12. 김정현. 除濕順氣湯이 高脂血症 病態 모델에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2003 ; 27(1) : 16-26.
 13. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 서울 : 영림사. 1994 : 148-9.
 14. 김호철. 한약약리학. 파주 : 집문당. 2001 : 92-4.
 15. 김지훈, 김명정, 김성곤, 박제민, 정영인. 정상 성인에서 갈근의 장기투여가 혈중 알콜 농도에 미치는 영향. 신경정신의학. 1997 ; 36(5) : 861-9.
 16. 송우섭, 장준혁, 김경호, 윤종화, 김갑성. 갈근수침이 Ethanol 투여로 유발된 흰쥐의 간손상에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1998 ; 15 : 279-88.
 17. Nishina PM, Verstuyft J, Paigen B. Synthetic low and high fat diets for the study of atherosclerosis in the mouse. J Lipid Res 1990 ; 31 : 859-69.
 18. 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 : 601-9.
 19. Bansal VS, Kanfer JN. The phospholipid-N-methyltransferase of rat brain microsomes. Biochim Biophys Acta. 1985 ; 836(1) : 73-9.
 20. 박정의. 관상동맥경화증 위험인자의 역할연구. 한국지질학회지. 1997 ; 7 : 101-8.
 21. 최운정, 김현영, 조성일, 조홍근, 양봉민. 고지혈증에 대한 지식과 치료법들에 대한 실천용의도에 관한 연구. 한국지질 동맥경화학회지. 2003 ; 13(2) : 385-95.
 22. 서순규. 成人病·老人病學. 서울 : 高麗醫學. 1992 : 27, 38-53.
 23. 서울대학교 의과대학. 내분비학. 서울 : 서울대학교 출판부. 2005 : 261.
 24. 신현호. 고지혈증의 약물요법. 한국지질학회 제1차 동맥경화와 고지혈증 Workshop. 1994 : 41-9.
 25. 陳貴廷. 실용중서의결합진단치료학. 북경 : 중국과학기술훈출판사. 1993 : 210-6, 363-7.
 26. 최문범, 김순희. 도인이 가토의 고지혈증에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1995 ; 10(1) : 1-11.
 27. 김정제. 최신침구학. 서울 : 정보사. 1995 : 211-3.
 28. 전국한의과대학 침구경혈학교실. 침구학(하). 파주 : 집문당. 1988 : 648-9, 1457-67.
 29. 안점우, 유윤조, 김정연. 족삼리와 양릉천의 침, 전침과 경혈단위 전침기구 자극이 혈중 Gastrin 농도에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2004 ; 21(3) : 179-91.
 30. Martin MJ. Serum cholesterol, blood pressure and mortality: implications from a cohort of 361662 men. Lancet. 1986 ; 2 : 933-9.
 31. 김한수. 백하수오 추출액이 고지혈증 및 Streptozotocin 유발 당뇨병성 흰쥐의 혈청 지질성분 및 효소활성에 미치는 영향. 한국가정의학과학회지. 2004 ; 7(2) : 1-11.
 32. Christopher KG, Joseph IW. Atherosclerosis: The road ahead. Cell. 2001 ; 104 : 503-16.
 33. Constantin M, Bromont C, Fickat R, Massingham R. Studies on the activity of bepridil as a scavenger of free radicals. Biochem Pharmacol. 1990 ; 40(7) : 1615-22.
 34. Gillies PJ, Rathgeb KA, Perri MA, Robinson CS. Regulation of acyl-CoA : cholesterol acyltransferase activity in normal and atherosclerotic rabbit aortas : role of a cholesterol substrate pool. Exp Mol Patho. 1986 ; 44(3) : 329-39.
 35. 이삼열, 정윤섭, 권오녕, 손경순. 임상병리검사법. 서울 : 연세대학교 출판부. 2001 : 273-6, 281-3, 303-15.
 36. 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 : 21-30.
 37. Lee DH, Lee JW, Jeong JH, Lee JS. Production of an antihyperlipemial HMG-CoA reductase inhibitor from Bacillus cereus D-3. Kor J Microbiol Biotechnol. 2006 ; 34(1) : 52-7.
 38. Johansson LH, Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue sample. Anal Biochem. 1988 ; 174 : 331-6.
 39. Gutteridge JMC, Beard APC, GJ Quinlan. 1983

Superoxide-dependent lipid peroxidation. Problem with the use of catalase as a specific probe for

Fenton-derived hydroxyl radicals, *Biochem. Biophys Res Commun.* 1983 ; 117 : 901-7.