

# 감국약침이 과산화지질을 급여한 흰쥐의 지질대사, 항산화 및 면역계에 미치는 영향

임윤택<sup>1</sup>, 이향숙<sup>1</sup>, 이준무<sup>1\*</sup>, 이은<sup>2</sup>

<sup>1</sup>상지대학교 한의학과 경락경혈학교실, <sup>2</sup>상지대학교 보건과학대학 제약공학과

Effects of gamgook(*Chrysanthemum indicum L.*) herbal-acupuncture on lipid lowering effect, anti-oxidative capacity and anti-inflammatory effect in rat fed high oxidized fat

Lim Yun Taek<sup>1</sup>, Lee Hyang Sook<sup>1</sup>, Lee Joon Moo<sup>1\*</sup>, Lee Eun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Sangji University  
<sup>2</sup>Dept. of Pharmaceutical Engineering, College of Health Sciences, Sangji University

## Abstract

**Objectives:** To investigate the effects of *Chrysanthemum indicum L.* pharmacopuncture on lipids, antioxidant capacity and anti-inflammation in rats fed high-fat diet.

**Methods:** Hyperlipidemic rats induced by high-fat diet were divided into 5 groups: no treatment control (normal, n=8), high-fat diet only control (control, n=8), high-fat diet and *Chrysanthemum indicum L.* pharmacopuncture at CV4 group (TI, n=8), high-fat diet and *Chrysanthemum indicum L.* pharmacopuncture at CV17 group (TII, n=8), and high-fat diet and *Chrysanthemum indicum L.* pharmacopuncture at EX-HN3 group (TIII, n=8). They were given pharmacopuncture accordingly every other day for two weeks followed by analyses of lowering lipids effects, oxidative capacity and anti-inflammatory effects.

**Results:** Compared with the control, pharmacopuncture groups showed significantly decreased plasma total cholesterol (TC), liver thiobarbituric acid reactive substance (TBARS), catalase, glutathione peroxidase, neutrophils, monocytes, plasma and liver IL-1 $\beta$ , and plasma and liver IL-6. In other parameters including plasma and liver triglyceride, liver TC, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, liver TBARS, supraoxide dismutase, total protein, albumin, blood cell analysis, plasma and liver TNF- $\alpha$ , and IL-10, there was no significant difference between control and pharmacopuncture groups. No clear acupoint-specificity was observed.

**Conclusions:** *Chrysanthemum indicum L.* pharmacopuncture may improve control of hyperlipidemia.

**Key words:** *Chrysanthemum indicum L.*, pharmacopuncture, oxidized fat, lipid lowering, anti-inflammatory, anti-oxidative

## 1. 서론

최근 들어 소화기계 암과 각종 염증 질환들이 증가하고 있으며, 이러한 질환들의 증가추세는 고지방 식품들의 증가와 밀접한 관계가 있다. 즉 고지방 식품들로 인한 고에너지 섭취는 비만증을 유발하고, 고지방 식품들을 가공하는 공정에서 발생하는 지질

관련이 증가하고 있으며, 이러한 질환들의 증가추세는 고지방 식품들의 증가와 밀접한 관계가 있다. 즉 고지방 식품들로 인한 고에너지 섭취는 비만증을 유발하고, 고지방 식품들을 가공하는 공정에서 발생하는 지질

· 교신저자: 이준무, 강원 원주시 우산동 660번지 상지대학교 한의과대학 경혈학교실, Tel. 033-730-0653, E-mail: jmlee@sangji.ac.kr

· 투고 : 2009/06/01 심사 : 2009/06/13 채택 : 2009/06/21

과산화물들은 체내 지질과산화물들의 축적량을 증가시켜 각종 질환을 일으키는 요인으로 작용한다. 생체 내에서 지질과산화물은 퇴행성과정을 유발하고, 생체막을 변화시키거나 파괴하여 암, 노화 등의 여러 질환들을 일으킬 수 있다고 보고되었다<sup>1-3)</sup>. 또한 최근의 연구에서 생체 내의 지방세포가 내분비 및 주변 분비와 자율분비계의 신호전달망을 이용하여 세포기능을 조절하는데 관여하며, 뇌하수체, 췌장, 간, 근육, 신장, 혈관내피 및 면역계통의 다양한 조직에도 영향을 준다는 것이 밝혀졌다<sup>4)</sup>. 특히 백색 지방세포에서 분비되는 leptin, tumornecrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 및 interleukin-6 (IL-6) 등의 cytokine들은 체내 에너지대사에 직접적으로 관여하며, 체내 지방세포의 축적이 과잉일 경우에 혈중 glucose가 조직으로 진입하는 것을 차단하여 당뇨병을 유발한다<sup>5)</sup>. 또한 TNF- $\alpha$ 와 IL-6는 전 염증성 cytokine으로 알려져 있으며, 체내 면역계에도 직접적으로 영향을 준다<sup>6-8)</sup>. 따라서 고지방 식품들로 인한 지방 및 과산화지질의 과량섭취는 체내의 지질대사, 항산화계 및 면역계에 문제를 야기할 것으로 사료되며, 최근 들어 발병빈도가 높아지고 있는 각종 소화기계의 암과 염증성 질환들은 고지방식품과 지질과산화물들을 많이 섭취하는 현대인들의 식생활과 무관하지 않다.

한편 한방에서는 高粱厚味 嗜食肥甘 體肥多痰이라 하였으며, 肥滿의 원인을 脾胃濕困, 肝脾不調, 代謝失常 등이라 하였다. 肥滿이 오래 持續되면 腎에도 影響을 주어 脾

腎이 모두 虛하게 된다고 하였다<sup>9)</sup>. 이러한 질환들은 水濕津液이 脾胃의 虛弱으로 인하여 體內에 停聚 하여 生한 痰과 유사하다고 하였고<sup>9)</sup>, 頭暈, 心荒, 肢麻, 胸悶, 胸痛 등의 증상으로 인해 痰證, 心悸, 眩暈, 頭痛, 胸痺, 眞心通, 中風 등의 範疇에서 임상적 해석을 하고 다양한 치료법을 제시했다<sup>10-12)</sup>. 이들 중 흔히 응용되는 치료법은 痰濁과 瘀血을 重視하여 化痰祛瘀를 주요치법으로 하여, 약물처방은 防風通聖散<sup>13)</sup>, 清雲火痰湯<sup>14)</sup>, 涼隔散<sup>15)</sup>, 生肝湯<sup>16)</sup>, 清心湯<sup>17)</sup>, 清上瀉火湯<sup>18)</sup>, 清肝湯<sup>19)</sup>, 加味疎風湯 및 疎風湯<sup>20)</sup> 등이며, 艾灸요법으로는 『黃帝內經』<sup>21)</sup> <素問·異法方宜論>에서 “北方者, 天地所閉藏之域也, 其地高陵居風寒泌冽, 其樂野處而乳食, 藏寒生萬病, 其治宜灸, ..... 亦從北方來”라고 한 것을 그 淵源으로 하여, 營血衛氣의 障礙에 起因한 氣血失和의 發病疾患 및 疼痛을 艾灸에 의한 生體反應으로 營衛를 疎通시키고 經絡循環의 病變을 調和시키는 것을 治療機能으로 보았다. 그러나 그 동안 한방분야의 연구에서는 임상적 치료효과를 지표로 하여 치료기법에 대한 연구를 주로 하였기에 그 결과를 생체 내에서 일어나는 생리현상과 관련시켜 해석하고, 관련된 다른 질환들에 응용하는데는 한계를 나타내었으며, 연구 결과에 있어서도 양, 한방 모두 아직도 만족할 수준에 이르지 못하며 보다 더 많은 연구의 필요성을 인식시켜 주었다.

한편 甘菊(*Chrysanthemum indicum* L.)은 국화과에 속하며 국내에 자생하는 다년생 초본으로서, 한방에서는 해열, 소염 및 혈압강화작용이 알려져 있으며, 감국의 주

성분은 플라보노이드 화합물인 luteolin, apigenin, 및 acacetin, sesquiterpene lacton 화합물인 cumambrin A, cumambrin B, arteglinin A 및 angeloyljadin 등 다양한 성분들이 보고되었으며, 이들 성분들 중, 가장 함량이 많은 luteolin은 항염 및 항암활성 등이 보고되었다<sup>22-24</sup>. 따라서 본 연구는 생체 내 지방 및 과산화지질의 과잉축적에 의한 질환들의 예방 및 치료효과를 향상시키기 위한 기초지식을 얻기 위하여 과산화지질을 투여한 흰쥐에게 생체 내 제 기관들의 기능을 향상시켜줌으로써 건강증진에 효과적인 혈로 알려져 있는 關元(CV4), 膾中(CV17) 및 印堂(EX-HN3)에 항염 및 지질강하능이 알려진 감국 약침을 처리한 후, 생체 내 지질강하 효과, 항산화계 및 면역계에 미치는 영향을 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물, 식이 및 실험군

평균체중이 161.38±4.21 g인 Sprague-Dawley계의 숫컷 40두를 일주일간 기본식이 및 환경에 적응시킨 후, 정상군 (기본식이), 대조군 (10% 과산화지질식이), 처리1군 (10% 과산화지질식이+關元(CV4) 감국약침, T<sub>I</sub>), 처리2군 (10% 과산화지질식이+膾中(CV17) 감국약침, T<sub>II</sub>) 및 처리 3군 (10%과산화지질식이+印堂(EX-HN3) 감국약침, T<sub>III</sub>)으로 나누고, 각 처리군당 8두씩 평균체중이 유사하게 임의 배치했다. 식이급여는 7주간의 실험기간동안 각 처리군 별 평균식이섭취량의 차이가 5% 전후가 되도록 급

여량을 제한하였다. 물은 자유급여 하였으며, 기본식의 구성은 AIN-76정제식이조성에 의거하였다. 과산화지질식은 첨가대두유의 에너지가 및 기타 성분을 고려하여 가능한 범위 내에서 일반적인 영양소 함량이 처리군 간에 유사하도록 조정하였다 (Table 1).

**Table 1. Composition of experimental diets**

Ingredients (%)	Basal diet	Oxidized diet
Sugar	50.00	44.74
Corn starch	12.00	10.74
Casein	20.00	17.89
Corn oil	8.00	7.16
Cellulose	5.00	4.47
AIN-76 Miner mix.	3.50	3.50
AIN-76 Vitamin mix.	1.00	1.00
DL-methionine	0.30	0.30
Choline chloride	0.20	0.20
Oxidized soybean oil		10.00
Total	100.00	100.00

**AIN-76 Mineral mix(g/kg)** : CaHPO<sub>4</sub> 500, NaCl 74, K citrate monohydrate 220, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52, MgO 24, Mn carbohydrate 3.5, Fe citrate 6.0, Zn carbonate 1.6, Cu Carbonate 0.3, KIO<sub>3</sub> 0.01, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.01, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O 0.55, Sucrose 118

**AIN-76 Vitamin mix(g/kg)**: thiamin.HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine.HCl 0.7, nicotinic acid 3, D-calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, D-biotin 0.02, cyanocobalamin 0.001, retinyl palmitate 0.8(500,000iu/g), DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate 20(250IU/g), cholecalferol 0.00025, menaquinone 0.005

### 2. 과산화지질의 조제

과산화지질은 대두유를 60°C에서 72시간 연속적으로 폭기, 교반하여 유지의 산화를 유도하였으며, 과산화수준은 200 meq/kg 이상이였다.

### 3. 감국 약침액의 조제

약침액은 시중에서 구입하여 정선한 100g의 감국약재를 둥근 flask에 2ℓ의 증류수와 함께 넣어 수증기 증류법으로 1600ml의 증

류액을 만든 후, 냉각, 여과하고, 이 여액을 100 ml되게 감압, 농축하여, pH 7로 조정, 냉장 보관했다.

#### 4. 약침처리 및 취혈

정상군 및 대조군을 제외한 3개 약침처리군 (關元(CV4), 臍中(CV17), 印堂(EX-HN3))들은 7주간의 과산화지질식이 급여기간 중 마지막 2주 동안, 격일로 오후 7시에 각 처리군 별로 약침을 실시하였으며, 약침처리시의 Stress를 줄이기 위해 1.5m의 합판에 10개의 보정축을 설치한 보정틀을 제작, 이용했다. 취혈은 인체의 關元(CV4), 臍中(CV17) 및 印堂(EX-HN3)에 상응하는 부위를 全國韓醫科大學 經絡經穴學 教材에 근거하여<sup>25)</sup>의 방법에 준해 laser detector (Akuplas MFL, MBB, Germany)를 이용하여 취혈하였다. 關元(CV4), 臍中(CV17)은 흰쥐 胸腹部에서 복장뼈자루 위쪽끝 목아래패임(suprasternal notch of mandibrium)부터 치골결합(symphysis pubis) 위모서리를 연결한 선을 22 등분하여, 아래에서 2/22에 해당하는 곳을 關元(CV4)으로 정하였고 臍中(CV17)은 아래에서 14/22에 해당하는 위치에 취혈하였다. 印堂(EX-HN3)은 두 눈 사이 정중선 상에서 위로 2 mm 정도 올라간 위치에 취혈하였다.

#### 5. 채혈 및 간장채취

채혈은 실험종료일에 12시간 절식을 시킨 후, 심장천자법에 의해 약 7 ml를 하였으

며, 채취한 혈액을 분석항목별로 나누어 각각의 시료로 사용하였다. 간장은 채혈을 마친 후, 채취하여 각각의 분석항목별 처리방법에 따라 처리 한 후, -80℃에 냉동 보관하였다.

#### 6. 생화학적 분석

##### 1) 혈장 및 간장 지질

血漿 triglyceride(TG), total cholesterol(TC), LDL-cholesterol 및 HDL-cholesterol 量은 血液自動分析器 (Boehringer Mannheim, 독일)에 의해 분석했다. 肝臟內 TC 및 TG량은 定量用 kit (Wako Co., 일본)를 이용하여 분석했다.

##### 2) 혈장 Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

혈장 TBARS량은 혈장을 분리하여, 37℃에서 120분간 배양후 Buge와 Aust<sup>26)</sup>의 방법에 의해 정량했다.

##### 3) 간장 Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

간장 TBARS량은 1-2 g 정도의 간장절편을 0.9% 생리식염수로 세척하여 혈액을 제거하고, 1.15% KCl수용액과 혼합한 후, homogenizer로 충분히 마쇄하여 10% homogenate를 만들었다. 이 중 0.1 ml의 homogenate를 취하여 Screw cap tube에 넣고 8.0% sodium dodecyl sulfate 0.2 ml와 20% acetic acid solution (pH 3.5) 1.5 ml 그리고 0.8%TBA solution 1.5 ml를 첨가하였다. 총 4 ml가 되도록 증류수를 넣은 다음 진탕하여 95 ℃ water bath에 넣고 1시간

동안 가열하였다. 가열한 시험관을 흐르는 수돗물에서 냉각시킨 후, 증류수 1 ml와 n-butanol : pyridine (15:1, v/v)혼합용액 5 ml를 가하고 vortex하였다. 1,500xg에서 10분간 원심분리한 후 상층액(n-butanol : pyridine 층)을 채취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 TMP (1,1,3,3-tetraamitoxyp propane)를 사용하였고, lipid peroxide 수준은 nmol MDA (malondialdehyde)로 표시하였다.

#### 4) 간장 Glutathione peroxidase activity (GSH-Px)

간장 glutathione peroxidase (GSH - Px) 활성은 Levander 등<sup>27)</sup>의 방법에 준해 분석하였다.

#### 5) 간장 Superoxide dismutase activity (SOD)

간장 SOD 측정은 Flohe 등<sup>28)</sup>의 방법으로 측정했다. 본 실험에서는 ferricytochrome c의 환원이 방해되는 정도를 550 nm에서 30초 간격으로 3분간 비색정량한 후 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit로 하여 분당 활성정도를 나타내었다.

#### 6) 간장 Catalase activity

간장 catalase 활성을 측정하기 위하여 간장 0.2 g을 20배의 25 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -NaOH buffer (pH 7.0)에 넣어 균질화 시키고 이 homogenate를 같은 buffer로 60배 희석한 후 ice bath 상태에서 ultrasonicator (Heat System Ultrasonics, Inc., Ultrasonic Propessor W-385)로 15초씩 2회 반복하여 이

시료를 Spectrophotometer(550 nm)에서 흡광도를 측정한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 활성을 계산했다<sup>29)</sup>.

#### 7) 혈장 및 간장의 cytokine정량

혈장 cytokine정량용 시료는 채혈 직후, 혈장을 분리하여  $-80^\circ\text{C}$ 에 냉동 보관하였다. 간장 cytokine정량용 시료는 1 g의 간장을 채취하여 5ml의 cold phosphate buffered saline(PBS, pH7.4, containing a protease inhibitors cocktail)과 함께 혼합하여 얼음위에서 분쇄(homogenized)하였다. 분쇄혼합물을  $4^\circ\text{C}$ , 15,000 rpm, 15분간 원심분리한 후, 상층부를 0.45  $\mu\text{m}$ 필터로 여과하고, 다시 원심분리해서 상층부를  $-80^\circ\text{C}$ 에 냉동 보관했다. Cytokine(IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-10)정량은 시판 Kit(Biosource International, USA)를 이용했다. TNF- $\alpha$ 의 최저 측정농도는 0.7 pg/ml이며, 다른 cytokine들은 3-8 pg/ml이다. 간장 cytokines 량은 5 ml의 PBS에 생 간장 1g을 혼합한 조정액으로 측정하였으며, pg/mg 단위로 나타내었다.

#### 8) 혈액분석

혈액 total protein 및 albumin 농도는 혈액자동분석기(Boehringer Mannheim, 독일)로, Hemoglobin량과 hematocrit치는 각각 Hb-meter와 microhematocrit centrifuge를 사용하여 측정하였으며, 적혈구와 백혈구수는 counting chamber를 이용하여 직접 계수하였다. 백혈구의 구성종류는 Giemsa 염색을 한 도말표본을 만들어 검경, 계수하

였다. 구성비는 백혈구 200개를 기준으로 하였다.

### 7. 통계처리

실험결과는 SPSS package를 이용하여 one-way ANOVA검정을 수행하였으며, 각 처리군 간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test 에 의해  $P < 0.05$  수준에서 실시했다.

## III. 결 과

### 1. 혈장 지질구성

혈장 TG 농도는 정상군보다 과산화지질 첨가군 모두가 높은 값을 보였다. 과산화지질첨가군 들 간에는 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈장 TC 농도는 정상군보다 과산화지질첨가군 모두가 높은 값을 보였다. 약침 처리군들은 대조군보다 낮은 값을 나타내었으나, 약침처리군 들 간에서는 유의한 차이를 보여주지 않았다. 혈장 LDL-cholesterol농도는 정상군보다 과산화지질첨가군 모두가 높은 경향을 보였다. 그러나 臍中(CV17) 약침처리군은 과산화지질첨가군 중 가장 낮은 값을 보여 정상군과 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈장 HDL-cholesterol농도는 처리군 들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 2).

**Table 2. Effect of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on plasma lipid composition in rat fed oxidized fat.**

Treatment	Plasma TG (mg/dl)	Plasma total cholesterol (mg/dl)	Plasma LDL-cholesterol (mg/dl)	Plasma HDL-cholesterol (mg/dl)
Normal	113.72±7.88 <sup>a</sup>	96.35±6.71 <sup>a</sup>	51.65±5.94 <sup>a</sup>	45.15±4.41 <sup>NS</sup>
Control	165.35±5.95 <sup>b</sup>	151.39±8.25 <sup>c</sup>	64.71±5.18 <sup>b</sup>	44.91±5.01 <sup>NS</sup>
T <sub>I</sub>	150.44±5.98 <sup>b</sup>	131.72±5.42 <sup>b</sup>	60.42±7.15 <sup>b</sup>	46.38±4.66 <sup>NS</sup>
T <sub>II</sub>	145.25±6.58 <sup>b</sup>	130.76±7.25 <sup>b</sup>	57.88±6.31 <sup>a</sup>	44.79±4.25 <sup>NS</sup>
T <sub>III</sub>	167.33±6.11 <sup>b</sup>	128.39±6.02 <sup>b</sup>	59.94±6.02 <sup>b</sup>	44.79±4.25 <sup>NS</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>NS</sup>: Not significantly different ( $P > 0.05$ ).

<sup>a,b,c</sup>: Means in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 2. 간장 TG 및 TC

간장 TG 및 TC 농도는 전 처리군 들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 3).

**Table 3. Effect of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on liver lipid composition in rat fed oxidized fat**

Treatment	Liver TG(mg/g)	Liver total-cholesterol (mg/g)
Normal	15.39±2.14 <sup>NS</sup>	10.11±2.19 <sup>NS</sup>
Control	17.11±3.52 <sup>NS</sup>	10.85±3.05 <sup>NS</sup>
T <sub>I</sub>	16.38±3.95 <sup>NS</sup>	11.17±2.88 <sup>NS</sup>
T <sub>II</sub>	15.97±2.74 <sup>NS</sup>	10.43±3.69 <sup>NS</sup>
T <sub>III</sub>	16.07±3.55 <sup>NS</sup>	11.73±3.41 <sup>NS</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>NS</sup>: Not significantly different( $P > 0.05$ ).

### 3. 혈장 및 간장의 Thiobabuturic acid reactive substance (TBARS) 농도

혈장 내 TBARS 농도는 군 간 차이가 없었다. 간장 TBARS 농도는 약침처리군 모두가 대조군보다 낮은 값을 보여주었다. 약침처리군들 간에서는 關元(CV4) 약침처리군이 가장 낮은 값을 보였다. 과산화지질 식이군들 모두가 정상군보다 높은 값을 나타내었다 (Table 4).

**Table 4. Effects of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on plasma and liver TBARS concentration in rat fed oxidized fat**

Treatment	Plasma TBARS (nmols MDA/ml)	Liver TBARS (nmols MDA/g)
Normal	10.11±2.19 <sup>NS</sup>	17.94±2.53 <sup>a</sup>
Control	10.85±3.05 <sup>NS</sup>	40.72±4.55 <sup>d</sup>
T <sub>I</sub>	11.17±2.88 <sup>NS</sup>	25.03±3.17 <sup>b</sup>
T <sub>II</sub>	10.43±3.69 <sup>NS</sup>	34.18±4.29 <sup>cd</sup>
T <sub>III</sub>	11.73±3.41 <sup>NS</sup>	30.15±4.88 <sup>bc</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>a,b,c,d</sup>: Means in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05).

<sup>NS</sup>: Not significantly different(P>0.05).

### 4. Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT) 및 Glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성치

SOD 활성치는 정상군, 대조군 및 약침처리군 모두가 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. CAT 활성치는 약침처리군 모두가 대조군 보다 높은 경향을 나타내었다. 그러나 약침처리군들 간에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다. GSH-Px 활성치는 약침처리군 모두가 대조군 보다 높은 값을 나타내었다. 그러나 약침처리군들 간에는 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 5).

내지 않았다. CAT 활성치는 약침처리군 모두가 대조군 보다 높은 경향을 나타내었다. 그러나 약침처리군들 간에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다. GSH-Px 활성치는 약침처리군 모두가 대조군 보다 높은 값을 나타내었다. 그러나 약침처리군들 간에는 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 5).

**Table 5. Effects of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on SOD, CAT and GSH-Px activities in rat fed oxidized fat.**

Treatment	SOD (Unit/mg protein)	CAT (μ moles (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) min/mg/protein)	GSH-Px (n moles/min/mg /protein)
Normal	14.29±1.75 <sup>c</sup>	130.75±7.51 <sup>c</sup>	249.75±22.06 <sup>c</sup>
Control	11.31±1.05 <sup>a</sup>	74.31±8.23 <sup>a</sup>	120.71±17.44 <sup>a</sup>
T <sub>I</sub>	11.73±1.56 <sup>b</sup>	108.29±6.49 <sup>b</sup>	197.85±20.66 <sup>b</sup>
T <sub>II</sub>	13.29±1.84 <sup>b</sup>	92.54±7.88 <sup>ab</sup>	178.31±15.42 <sup>b</sup>
T <sub>III</sub>	11.53±1.25 <sup>bc</sup>	117.38±8.15 <sup>bc</sup>	210.52±18.44 <sup>bc</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>a,b,c</sup>: Means in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05).

### 5.혈액 total protein농도, Albumin 농도 및 Albumin/Globulin (A/G) 비율

혈액 총 단백질 및 알부민 농도는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 모두 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았으며, Albumin/Globulin(A/G)은 대조군과 비교하여 약침처리군 모두가 높은 경향을 나타내었다 (Table 6).

**Table 6. Effect of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on the concentration of plasma total protein and albumin, and the ratio of albumin/globulin in rat fed oxidized fat**

Treatment	Plasma total protein (g/dl)	Plasma albumin(g/dl)	Albumin/Globulin (%)
Normal	7.11±0.95 <sup>NS</sup>	4.51±0.75 <sup>NS</sup>	1.73
Control	7.98±1.11 <sup>NS</sup>	4.01±0.53 <sup>NS</sup>	1.01
T <sub>I</sub>	7.23±0.83 <sup>NS</sup>	4.75±0.81 <sup>NS</sup>	1.91
T <sub>II</sub>	7.57±1.21 <sup>NS</sup>	4.38±0.95 <sup>NS</sup>	1.37
T <sub>III</sub>	7.53±1.35 <sup>NS</sup>	4.05±0.46 <sup>NS</sup>	1.16

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>NS</sup>: Not significantly different(P>0.05).

## 6. 적혈구 총수 (RBC), Hemoglobin량 및 Packed cell volume (PCV)

적혈구 총수는 關元(CV4) 약침처리군이 가장 높은 값을 나타내어 약침 처리군들 중 유일하게 대조군과 유의한 차이를 나타내었다. 혈중 Hemoglobin량 및 PCV값은 정상군, 대조군 및 약침 처리군들 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 7).

**Table 7. Effects of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on the RBC counts, concentration of Hb and PCV in rat fed oxidized fat**

Treatment	RBC(10 <sup>6</sup> /ml)	Hb(mg/dl)	PCV(%)
Normal	7.92±0.55 <sup>ab</sup>	13.92±3.25 <sup>NS</sup>	43.81±4.25 <sup>NS</sup>
Control	7.14±0.31 <sup>a</sup>	15.17±2.88 <sup>NS</sup>	45.19±5.03 <sup>NS</sup>
T <sub>I</sub>	8.08±0.38 <sup>b</sup>	14.11±3.06 <sup>NS</sup>	46.28±4.51 <sup>NS</sup>
T <sub>II</sub>	7.46±0.64 <sup>ab</sup>	13.74±2.95 <sup>NS</sup>	45.12±4.75 <sup>NS</sup>
T <sub>III</sub>	7.71±0.61 <sup>ab</sup>	13.37±2.57 <sup>NS</sup>	44.07±3.91 <sup>NS</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat + *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

a,b: Means in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05). NS: Not significantly different(P>0.05).

## 7. 백혈구 총수(WBC) 및 구성

백혈구 총수는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. Neutrophils의 구성비는 대조군이 가장 높은 수치를 나타내었고 약침처리군들 모두는 대조군보다 낮은 경향을 나타내었으며, 정상군과 유의한 차이를 나타내지 않았다.

Lymphocytes의 구성비는 과산화지질침가

**Table 8. Effect of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on the counts of WBC and its composition ratio in rat fed oxidized fat**

Treatment	WBC(10 <sup>3</sup> /mℓ)	Neutrophils(%)	Lymphocytes(%)	Monocytes(%)	Basophils(%)	Eosinophils(%)
Normal	8.17±1.33 <sup>NS</sup>	36.02±2.54 <sup>a</sup>	56.15±4.88 <sup>b</sup>	2.75±0.31 <sup>b</sup>	1.75±0.33ab	3.33±0.69 <sup>ab</sup>
Control	8.06±1.12 <sup>NS</sup>	47.15±3.91 <sup>b</sup>	47.29±3.25 <sup>a</sup>	1.81±0.35 <sup>a</sup>	0.99±0.41a	2.76±0.51 <sup>a</sup>
T <sub>I</sub>	7.83±1.06 <sup>NS</sup>	37.83±3.11 <sup>a</sup>	53.64±4.39 <sup>ab</sup>	2.89±0.47 <sup>b</sup>	1.94±0.38b	3.70±0.38 <sup>b</sup>
T <sub>II</sub>	8.52±0.94 <sup>NS</sup>	42.98±4.05 <sup>ab</sup>	49.58±5.15 <sup>ab</sup>	2.27±0.75 <sup>ab</sup>	1.77±0.62ab	3.40±0.47 <sup>ab</sup>
T <sub>III</sub>	7.95±1.11 <sup>NS</sup>	38.85±3.77 <sup>a</sup>	54.77±4.02 <sup>ab</sup>	2.11±0.52 <sup>ab</sup>	1.48±0.71ab	2.79±0.53 <sup>a</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat + *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>a,b</sup>: Means in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05). <sup>NS</sup>: Not significantly different(P>0.05).



군 들 모두가 정상군보다 낮은 경향을 보였다. 그러나 약침처리군 들은 대조군보다 높은 값을 나타내어 정상군과 유의한 차이를 나타내지 않았다. Monocytes의 구성비는 정상군을 비롯한 약침처리군 들 모두가 대조군보다 높은 경향을 나타내었다. Basophils의 구성비는 대조군이 정상군 및 약침 처리군 들보다 낮은 경향을 나타내었다. Eosinophils의 구성비는 대조군이 가장 낮은 값을 보였다. 그러나 關元(CV4) 약침 처리군을 제외한 여타 처리군들과는 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 8).

### 8. 혈청 Cytokines 농도

혈청 IL-1 $\beta$  농도는 정상군과 비교하여 과산화지질 처리군 모두가 유의하게 높은 수치를 나타내었다. 과산화지질 처리군 간에서는 대조군보다 약침 처리군이 낮은 경향을 보였으나, 가장 낮은 수치를 나타낸 關元(CV4) 약침 처리군을 제외한 여타 약침 처리군들은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 IL-6 농도는 정상군과 비교하여 과산화지질 처리군 모두가 유의하게 높은 수치를 나타내었다. 과산화지질 처리군 간에서는 대조군보다 약침 처리군들 모두가 낮은 경향을 보였으나, 關元(CV4) 약침 처리군은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 TNF- $\alpha$  농도는 전 처리군에서 정상군과 비교하여 과산화지질 처리군 모두가 유의하게 높은 수치를 나타내었다. 그러나 과산화지질 처리군 간에서는 대조군을 비롯한 약침 처리군들 모두가 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈청 IL-10 농도는 정상군

과 비교하여 약침처리군 모두가 유의하게 높은 수치를 나타내었다. 그러나 정상군과 대조군 간에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 9).

**Table 9. Effects of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on plasma cytokines concentration in rat fed oxidized fat.**

Treatment	IL-1 $\beta$ (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
Normal	12.14 $\pm$ 4.51 <sup>a</sup>	23.75 $\pm$ 7.62 <sup>a</sup>	7.88 $\pm$ 3.25 <sup>a</sup>	10.27 $\pm$ 3.33 <sup>a</sup>
Control	37.11 $\pm$ 6.83 <sup>c</sup>	76.55 $\pm$ 14.19 <sup>c</sup>	42.66 $\pm$ 7.47 <sup>b</sup>	7.85 $\pm$ 2.27 <sup>a</sup>
T I	22.75 $\pm$ 4.44 <sup>b</sup>	59.14 $\pm$ 7.77 <sup>bc</sup>	38.95 $\pm$ 9.16 <sup>b</sup>	21.42 $\pm$ 5.12 <sup>b</sup>
T II	26.59 $\pm$ 5.02 <sup>bc</sup>	45.27 $\pm$ 7.45 <sup>b</sup>	31.53 $\pm$ 7.51 <sup>b</sup>	20.06 $\pm$ 3.51 <sup>b</sup>
T III	30.23 $\pm$ 5.71 <sup>bc</sup>	52.73 $\pm$ 8.58 <sup>b</sup>	40.47 $\pm$ 6.35 <sup>b</sup>	16.35 $\pm$ 2.79 <sup>b</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat + *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat +*Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>a,b,c</sup>: Means in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05).

### 9. 간장 cytokines 농도

IL-1 $\beta$  농도는 정상군과 비교하여 과산화지질처리군 모두가 높은 수치를 나타내었다. 그러나 정상군과 膾中(CV17) 약침처리군 간에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다. 과산화지질처리군에서는 대조군 보다 약침처리군 모두가 낮은 값을 나타내었으나, 가장 낮은 값을 나타낸 膾中(CV17) 약침처리군을 제외한 여타 약침처리군들은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 간장 IL-6 농도는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 간장 TNF- $\alpha$  및 IL-10농도는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 10).

**Table 10. Effects of *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture on liver cytokines concentration in rat fed oxidized fat.**

Treatment	IL-1 $\beta$ (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	TNF- $\alpha$ (pg/mg)	IL-10 (pg/mg)
Normal	11.54 $\pm$ 2.15 <sup>a</sup>	2.85 $\pm$ 0.88 <sup>c</sup>	1.88 $\pm$ 0.75 <sup>NS</sup>	1.55 $\pm$ 0.38 <sup>NS</sup>
Control	23.75 $\pm$ 3.92 <sup>c</sup>	3.11 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup>	1.15 $\pm$ 0.58 <sup>NS</sup>	1.07 $\pm$ 0.75 <sup>NS</sup>
T I	16.14 $\pm$ 3.18 <sup>bc</sup>	1.98 $\pm$ 0.55 <sup>b</sup>	0.98 $\pm$ 0.55 <sup>NS</sup>	1.94 $\pm$ 0.53 <sup>NS</sup>
T II	14.21 $\pm$ 4.07 <sup>ab</sup>	2.65 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	1.19 $\pm$ 0.71 <sup>NS</sup>	1.88 $\pm$ 0.69 <sup>NS</sup>
T III	18.53 $\pm$ 3.77 <sup>bc</sup>	2.17 $\pm$ 0.43 <sup>bc</sup>	1.75 $\pm$ 0.49 <sup>NS</sup>	1.21 $\pm$ 0.41 <sup>NS</sup>

Control: 10% oxidized fat, T<sub>I</sub>:10% oxidized fat + *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV4, T<sub>II</sub>: 10% oxidized fat + *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at CV17, T<sub>III</sub>: 10% oxidized fat + *Chrysanthemum indicum* L. pharmacopuncture at EX-HN3.

<sup>a,b,c</sup>: Means in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05). <sup>NS</sup>: Not significantly different(P>0.05).

#### IV. 고 찰

고지방 가공식품들의 증가로 현대인들의 지질과산화물의 섭취량은 날로 증가하고 있으며, 이러한 지질과산화물들은 생체 내에서 퇴행성과정을 유발하고, 생체막을 변화시키거나 파괴하여 암, 노화 등의 여러 질환들을 일으킬 수 있다<sup>1-3</sup>). 또한 최근의 연구에서 생체 내의 지방세포가 세포기능을 조절하는데 관여하며, 뇌하수체, 췌장, 간, 근육, 신장, 혈관내피 및 면역체통의 다양한 조직에도 영향을 준다는 것이 밝혀졌다<sup>4</sup>). 특히 백색지방세포에서 분비되는 TNF- $\alpha$  및 IL-6 등의 cytokine들은 체내 에너지대사에 영향을 주며<sup>29</sup>), 비만성 당뇨병을 야기하는데도 관여한다<sup>12</sup>). 또한 이들은 전 염증성 cytokine으로 알려져 있으며, 체내 면역계에도 직접적으로 영향을 줄 수 있다<sup>6-8</sup>). 따라서 지방 및 과산화지질의 과량섭취는

체내의 에너지 대사, 항산화계 및 면역계의 기능에 이상을 일으켜 질병을 초래하는 주요 요인으로 된다.

한편 한방에서는 이와 유사한 상태를 高梁厚味 嗜食肥甘 體肥多痰이라 하였으며, 이러한 질환들은 水濕津液이 脾胃의 虛弱으로 인하여 體內에 停聚 하여 生한 痰이라 하였고<sup>9</sup>), 頭暈, 心荒, 肢麻, 胸悶, 胸痛 등의 증상으로 인해 痰證, 心悸, 眩暈, 頭痛, 胸痺, 眞心通, 中風등의 範疇에서 임상적 해석을 하고 다양한 치료법을 제시했다<sup>10-12</sup>). 그러나 양, 한방 모두에서도 현재까지 많은 연구<sup>30-37</sup>)를 하였으나 그 결과는 아직도 만족할 수준에 이르지 못하며 보다 더 많은 연구의 필요성을 인식시켜 주었다.

甘菊(*Chrysanthemum indicum* L.)은 국화과에 속하며 국내에 자생하는 다년생 초본으로서, 한방에서는 해열, 소염 및 혈압강화작용이 알려져 있으며, 감국의 주성분은 플라보노이드 화합물인 luteolin, apigenin, 및 acacetin, sesquiterpene lacton 화합물인 cumambrin A, cumambrin B, arteglastrin A 및 angeloyljadin 등 다양한 성분들이 보고되었고, 이들 성분들 중, 가장 함량이 많은 luteolin은 항염 및 항암활성 등이 보고되었다<sup>22-24</sup>). 甘菊(*Chrysanthemum indicum* L.)의 性味는 苦甘平無毒하고 歸經은 肝腎肺이고 主治症은 解熱鎮痛의 效로 祛風養肺滋腎明目漏出差明의 주치증이 있다<sup>38</sup>).

關元(CV4)은 臍下 3寸으로 小腸之募穴, 足三陰經與任脈之會穴, 三焦之氣所生處로 穴性은 補益元氣, 回陽固脫, 培腎固本, 祛除寒濕陰冷하며 主治는 子宮疾患, 消化器疾患,

泌尿生殖器疾患 등에 사용하며 膻中(CV17)은 兩乳頭間正中으로 心包絡之募穴, 八會穴中氣會, 足太陰脾脈, 足少陰腎脈, 手太陽小腸脈, 手少陽三焦脈及 任脈之會穴이며 穴性은 調氣降透, 清肢化痰, 寬胸利膈으로 主治症은 氣病, 呼吸器疾患, 心臟疾患 등에 사용하며 印堂(Ex-HN3)은 兩眉間陷中으로 穴性은 鎮痙清神, 明目通鼻하며 主治症은 小兒驚風, 頭疾患, 鼻疾患 등에 사용한다<sup>39,40)</sup>.

따라서 본 연구는 생체 내 지방 및 과산화지질의 과잉축적으로 인한 질환들의 예방 및 치료효과를 향상시키기 위한 기초지식을 얻기 위하여 과산화지질을 투여한 흰쥐에게 關元(CV4), 膻中(CV17) 및 印堂(EX-HN3)에 항염 및 지질강하능이 알려진 감국 약침을 처리한 후, 생체 내 지질강하효과, 항산화계 및 면역계에 미치는 영향을 검토하였다. 그 결과 혈장 TG 및 TC 농도는 정상군보다 과산화지질첨가군 모두가 높은 값을 보였다. 이러한 결과는 식이에 첨가한 과산화지질이 주요 요인으로 작용하였을 것으로 생각되며, 고지방식이를 장기간 급여한 경우에 혈중 TC 값이 증가하였다는 다른 연구자들<sup>41)</sup>의 연구 결과와 유사했다. 과산화지질첨가군들 간에서는 TG의 경우, 처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았으나, TC 농도는 약침처리군들이 대조군보다 낮은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 혈장 cholesterol 농도에 직접적으로 영향을 줄 수 있는 식이의 종류와 양이 동일하였던 점을 고려해 보면 감국약침이 간장 내의 cholesterol 생합성에 영향을 주었을 것으로

생각된다. 혈장 LDL-cholesterol은 동맥경화 및 심장병 인자로 알려져 있다<sup>42)</sup>. 본 실험에서는 과산화지질첨가군 모두가 높은 경향을 보였다. 이러한 결과는 과산화지질식이의 고에너지로 인해 간장 내 지방합성의 증가와 함께 LDL-cholesterol의 합성도 증가한 데 기인한 것으로 생각된다. 그러나 膻中(CV17) 약침처리군에서 하락하는 경향을 보였으며, 정상군과 유의한 차이를 나타내지 않아 膻中(CV17) 약침이 LDL-cholesterol의 합성이나 분해에 영향을 주었을 것으로 생각되었다. HDL-cholesterol은 동맥벽과 각 조직으로부터 cholesterol을 받아들여 LCAT의 작용으로 ester화되고, 간장내로 Cholesterol을 끌고 들어가서 이화시키는 기능을 하여 세포 내의 cholesterol의 제거 작용을 한다. 또한 LDL수용체와 결합적으로 작용하여 LDL- cholesterol 수용을 억제한다. 결과적으로 HDL-cholesterol은 항 동맥경화 및 심장병 예방인자로 작용한다<sup>43)</sup>. 그러나 본 실험의 결과에서는 혈장 HDL-cholesterol 농도가 처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 생체 내 혈장 HDL-cholesterol 농도에 영향을 줄 수 있는 여러 요인들이 복합적으로 작용한 결과로 생각되며 다른 연구자들의 실험결과에서도 일정하지 않았다<sup>44,45)</sup>. 간장 TG 및 TC 농도는 전 처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았는데 이는 간장 내에서 지방의 합성과 분해가 이루어져서 일정 수준을 유지하려는 간장의 항상성 기능이 큰 요인으로 작용하였을 것으로 생각된다. 혈장 TBARS 농도는 군 간 차이가 없었으나 간장

TBARS 농도는 과산화지질첨가군들 모두가 정상군보다 높은 값을 나타내었다. 약침 처리군 모두가 대조군보다 낮은 값을 나타내었으며, 특히 關元(CV4) 약침처리군이 가장 낮은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 과산화지질을 첨가한 경우, 혈장 및 간장의 TBARS 농도가 증가하였다고 보고한 다른 연구자의 결과<sup>46)</sup>와 부분적으로 일치하였으며, 감국약침이 항산화능에 긍정적으로 효과를 나타내었고, 특히 關元(CV4) 감국약침이 보다 더 효과적이었음을 시사해준다. SOD 활성치는 군 간 유의한 차이를 나타내지 않았으나 CAT 및 GSH-Px 활성치는 약침처리군 모두가 대조군보다 높은 경향을 나타내어 간장 TBARS 농도의 변동경향과 잘 부합되었다. 혈액 총 단백질 및 알부민 농도는 정상군, 대조군 및 약침 처리군들 모두가 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았으나, Albumin/Globulin(A/G) 비율은 대조군과 비교하여 약침 처리군 모두가 높은 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 감국약침처리가 생체 내 면역계에 영향을 주었음을 시사해주며, 한편으로는 면역계에 긍정적인 방향으로 작용하였으리라 생각된다. 적혈구 총수는 關元(CV4) 약침처리군이 과산화지질 첨가군들 중 가장 높은 값을 나타내었고, 혈중 Hemoglobin량 및 PCV값은 정상군, 대조군 및 약침 처리군들 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 혈액 내 적혈구 총수와 Hemoglobin량의 증가는 생체 내 조직으로의 산소운반과 대사를 향상시켜준다. 본 실험에서는 關元(CV4) 약침처리군이 적혈구 총수의 높은 값을 나타내어

생체에너지 대사를 개선시키는데 보다 더 효과적임을 시사해 주었으며, Hemoglobin량 및 PCV의 값이 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았는 것은 각 처리군 별 적혈구 총수의 증감이 큰폭이 아니었는데 기인한다고 생각된다. 각 처리군 별 백혈구 총수는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 실험동물 자체에 염증이나 생체면역기능에 이상을 줄 수 있는 요인이 없었음을 시사해 준다. 백혈구 구성비는 Neutrophils의 경우 약침처리군들 모두가 대조군보다 낮은 경향을 나타내었으며, Lymphocytes는 과산화지질첨가군들 모두에서 낮은 경향을 보였으나, 약침처리군들은 대조군보다 높은 값을 나타내었다. 일반적으로 생체 내에 어떤 위해 인자가 발생하여 방어체계가 작동할 경우 백혈구의 Neutrophils의 구성비율이 감소하고 Lymphocytes의 구성비율이 증가하는 경향을 나타낸다. 따라서 백혈구 총수의 변화가 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았음을 고려해 볼 때 감국약침처리가 과산화지질로 인해 발생한 생체 내 위해인자 제거에 어떤 기여를 하였을 것으로 생각된다. Monocytes, Basophils 및 Eosinophils들의 구성비율은 낮은 수치를 나타내어 기능면에서는 미약하리라 생각되나 정상군을 비롯한 약침처리군들 모두가 대조군보다 높은 경향을 보여 감국약침처리가 생체방어체계에 어떤 영향을 주었음을 시사해준다. 혈청 IL-1 $\beta$  농도 및 IL-6 농도는 정상군과 비교하여 과산화지질 처리군 모두가 유의하게 높은 수치를 나타내었으나

대조군보다는 약침 처리군들 모두가 낮은 경향을 보였다. IL-1 $\beta$ 는 생체 내에서 독성 물질의 mediator로서 알려진 전 염증성 사이토카인이다. IL-1 $\beta$ 의 생물학적 기능은 TNF- $\alpha$ 와 유사하며 이들 두 사이토카인들은 여러 형태의 실험에서 상호 상가효과를 나타내는 것이 밝혀졌다. 또한 IL-6는 monocytes/macrophages와 주로 간장의 Kupffer cell에서 생산되는 중요한 전 염증성 사이토카인이며, B-세포의 항체생성세포로의 최종분화에 관여하고, T-세포증식을 촉진하고, 보체 C3와 같은 급성기 단백질 합성을 촉진한다<sup>47-49</sup>. 또한 IL-6는 혈관내피세포, 단핵구 및 대식구, 섬유모세포 등에서 생성되어 급성염증반응을 촉진하거나 억제시키는 것으로 알려져 있다<sup>50</sup>. 본 실험의 결과에서 과산화지질처리군들의 혈청 IL-1 $\beta$  및 IL-6의 농도가 높게 나타난 것은 침가된 과산화지질이 생체면역계에 영향을 미친 결과로 생각된다. 또한 감국 약침처리군들이 대조군보다 cytokine농도가 하락한 결과는 감국약침이 과산화지질로 인한 생체내 급성기 쇼크를 완화시켜주었음을 시사한다. 혈청 TNF- $\alpha$  농도는 정상군과 비교하여 과산화지질 처리군 모두가 유의하게 높은 수치를 나타내었다. 그러나 과산화지질 처리군 간에서는 대조군을 비롯한 약침 처리군들 모두가 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. TNF- $\alpha$ 는 박테리아 LPS를 비롯한 여러 가지의 자극에 반응하여 monocytes와 macrophage에 의해 방출되는 peptide mediator이다<sup>51</sup>. 이것은 endotoxin의 제거효과를 가지는 가장 중요한

mediator로 가정되었다. 그러나 TNF- $\alpha$ 는 LPS의 shock에 의해 Kupffer cell로부터 방출되며, 간장에 상처를 주고 간세포의 사멸을 일으키며<sup>50</sup>, TNF- $\alpha$ 의 과잉 생산은 광범위한 pathogenic상태와 연관된다. 따라서 최근의 연구에서 생체 내에서 TNF- $\alpha$ 의 생산을 하락시키는 방법을 연구하고 있다<sup>52</sup>. 이상의 여러 연구결과를 종합해 보면 본 실험에서 과산화지질 쇼크가 혈중 TNF- $\alpha$ 의 농도를 증가시키는데 기여하였으며, 급성기 염증반응에서 감국 약침은 TNF- $\alpha$ 의 생산을 하락시키는데 강력한 효능을 나타내지 않았음을 시사한다. 혈청 IL-10 농도는 정상군과 대조군보다 약침처리군 모두가 높은 수치를 나타내었다. IL-10은 lymphocytes와 macrophages에 의해 생산되는 강력(potent)하고 pleiotropic anti-inflammatory cytokine이다<sup>53</sup>. 이것은 T helper type 1 cells, mono/macrophages, polymorphonuclear cells에 의해서 IL-6와 TNF- $\alpha$ 와 같은 전 염증성 사이토카인들의 합성을 억제하며, in vitro와 in vivo에서 T-cell활성을 감소시켰다<sup>54,55</sup>. 본 실험의 결과에서 약침처리군들에서 IL-10 농도가 증가하는 경향을 보였는데 이러한 결과가 전술한 다른 cytokines들의 변동경향에 영향을 주었을 것으로 생각된다. 간장 IL-1 $\beta$ 는 정상군과 비교하여 과산화지질처리군 모두가 높은 수치를 나타내었다. 그러나 과산화지질처리군들 간에서는 대조군보다 약침처리군 모두가 낮은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 과산화지질 쇼크가 IL-1 $\beta$ 의 생산에 많은 영향을 준다는 것을 알 수 있으며, 한편으

로는 감국약침이 이러한 과산화지질로 인한 IL-1 $\beta$ 의 생산억제에 효과적임을 시사한다. 간장 IL-6, TNF- $\alpha$  및 IL-10 농도는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 간장은 혈액과 달리 생체 내 기능성 물질의 합성 및 분해를 전담하는 기관으로 항상성을 유지하려는 간장 고유의 기능과 다른 여러 요인들이 복합적으로 작용하여 그 변동폭이 미미하였기에 유의한 차이를 나타내지 않았을 것으로 생각된다.

또한 본 실험에서 약침처리군에서 시술시 받는 스트레스를 최소화하기 위하여 노력하였으나 완전히 배제할 수는 없었으므로 이를 고려하여 약침처리군에 대한 sham 군의 설정도 향후 연구에서 필요할 것으로 여겨진다.

## V. 결론

본 연구는 생체 내 지방 및 과산화지질의 과잉축적으로 발병하는 질환들의 예방 및 치료효과를 향상시키기 위한 기초지식을 얻기 위하여 과산화지질을 투여한 흰쥐에게 關元(CV4), 臄中(CV17) 및 印堂(EX-HN3)에 감국약침을 처리한 후, 생체 내 지질강하효과, 항산화계 및 면역계에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈장 TG 및 TC 농도는 과산화지질첨가군 모두가 정상군보다 높은 값을 보였으며 TG는 처리군들 간에 유의한 차이를

나타내지 않았으나, TC는 약침처리군들이 대조군보다 낮은 값을 나타내었다. 간장 TG 및 TC 농도는 전 처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

2. 혈장 LDL-cholesterol 농도는 과산화지질첨가군 모두가 높은 경향을 보였으나 臄中(CV17) 약침처리군에서는 정상군 수준으로 하락하였으며 HDL-cholesterol 농도는 처리군들 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다.
3. 혈장 TBARS 농도는 군 간 차이가 없었다. 간장의 TBARS 농도는 과산화지질첨가군들 모두가 정상군보다 높은 값을 나타내었다. 약침처리군 모두가 대조군보다 낮은 값을 나타내었으며, 약침처리군들 간에서는 關元(CV4) 약침처리군이 가장 낮은 값을 나타내었다.
4. SOD 활성치는 군 간 차이가 없었으나 CAT 및 GSH-Px 활성치는 약침처리군 모두가 대조군 보다 높은 경향을 나타내었다.
5. 혈액 총단백질 및 알부민 농도는 군 간 차이가 없었으나 Albumin/Globulin(A/G) 비율은 대조군과 비교하여 약침 처리군 모두가 높은 경향을 나타내었다.
6. 적혈구 총수는 關元(CV4) 약침처리군이 과산화지질 첨가군들 중 가장 높은 값을 나타내었고, 혈중 Hemoglobin량 및 PCV 값, 백혈구 총수는 군 간 차이가 없었다.
7. Neutrophils의 구성비는 약침처리군들 모두가 대조군보다 낮은 경향을 나타내었으며, lymphocytes, monocytes, basophils 및 eosinophils들의 구성비는 약침처리군

들이 대조군보다 높은 값을 나타내었다.

8. 혈청 IL-1 $\beta$  농도와 IL-6 농도는 과산화 지질 처리군 모두가 높은 수치를 나타내었고 과산화지질 처리군 간에서는 대조군보다 약침처리군들 모두가 낮은 경향을 보였다. 혈청 TNF- $\alpha$  농도는 과산화 지질 처리군 모두가 높은 수치를 나타내었으나 대조군과 약침처리군들 사이에 유의한 차이가 없었다.
9. 간장 IL-1 $\beta$  농도는 대조군보다 약침처리군 모두가 낮은 값을 나타내었고 그 외 IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10 농도는 군 간 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합해 보면 감국약침은 과산화지질을 급여한 흰쥐에서 지질강하, 항산화 및 항염에 효과적임을 시사한다. 그러나 약침처리군들 간에서는 그 효과의 차이가 미미하여 혈위에 따른 효과의 검토는 실험 체계를 달리하여 보다 더 구체적인 검토가 필요할 것으로 사료된다.

### 參考文獻

1. Bidlack WR, Tappel AL. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids*. 1973 ; 8 : 177-8.
2. Saito M. Interaction between lipid peroxide formation and nutritional status. *J Jpn Soc Nutr Food Sci*. 1988 ; 41 : 343-9.
3. Vergroeson AT. Physiological effects of dietary linoleic acid. *Nutr Rev*. 1997 ; 35 : 1-9.
4. Serrero G, Lepak N. Endocrine and paracrine negative regulators of adipose differentiation. *Int J Obes*. 1996 ; 20(Suppl 3) : 58-64.
5. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrel MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signalling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001 ; 280 : 827-47.
6. Chamulitrat W, Blazka ME, Jordan SJ, Luster MI, Mason RP. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide production in endotoxin-primed rats administered carbon tetrachloride. *Life Sci*. 1995 ; 24 : 2273-80.
7. Harbrecht BG, DiSilvio M, Demetris AJ, Simmons RL, Billiar TR. Tumor necrosis factor- $\alpha$  regulates in vivo nitric oxide synthesis and induces liver injury during endotoxemia. *Hepatology*. 1994 ; 20 : 1055-60.
8. Hamada E, Nishida T, Uchiyama Y, Nakamura J, Isihara K, Kazuo H. Activation of Kupffer cells and caspase-3 involved in rat hepatocyte apoptosis induced by endotoxin. *J Hepatol*. 1999 ; 30 : 807-18.
9. 신서근. 660예 단순성비만환자여중의분형적관계. 제2차 전국중서의결합 비만병연구학술논문적요편. 1989 ; 10.

10. 王其飛. 中醫長壽學. 南京 : 遼寧科學技術出版社. 1989 : 490-501.
11. 宗文九. 痰飲淺說. 上海 : 上海科技. 1985 : 51-2.
12. 陸紀宏. 試論中醫辨治高脂血症. 遼寧中醫雜誌. 1991 ; 18(2) : 1-3.
13. 이남훈, 이경섭. 防風通聖散이 고혈압, 고지혈에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1991 ; 12(1) : 44-55.
14. 김진태. 靑雲化痰湯이 지질대사에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1984 ; 7 : 239-47.
15. 노승현. 涼膈散이 혈압 및 지혈에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1985 ; 8 : 219-28.
16. 경경하. 生肝湯이 고지혈증에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1989 ; 12 : 263-83.
17. 安一, 李東熙. 淸心湯이 실험적 가토 고지혈증에 미치는 영향에 관한 研究. 경희한의대논문집. 1982 ; 2 : 131-46.
18. 宋孝貞, 文濬典. 淸上瀉火湯이 혈압 및 지질대사에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1979 ; 2 : 127-34.
19. 孫彰奎. 淸肝湯이 고지혈증에 미치는 영향. 대전대학교석사학위논문. 1991.
20. 權寧哲, 李京燮. 疎風湯 및 加味疎風湯이 고지혈증에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1982 ; 5 : 269-79.
21. 홍원식. 황제내경소문. 서울 : 집문당. 1985 : 164, 361.
22. Chatterjee A, Saekar S, Saha SK. Acacetin 7-O-gal-actopyranoside from *Cbrysanthmum indicum*. Phytochem. 1981 ; 20 : 1761-7.
23. Uchio Y, Tomosu K, Nakyama M, Yamamura A, Waki T. Constituents of the essential oils from three terpenoid species of the essential oils from three terpenoid species of *Chrysanthemum*. Phytochem. 1981 ; 20 : 2691-3.
24. Mladenova K, Tsankova E, van Hung D. New sesquiterpenoids from *Chrysanthemum indicum* var. *tuneful*. Planta Med. 1988 ; 54 : 553-9.
25. 전국한외과대학·한의학전문대학원 경락경혈학교재편찬위원회. 대학경락경혈학(上·下). 4판. 원주 : 의방출판사. 2009 : 259, 1137, 1172, 1192, 1312.
26. Buge JA, Austa SD. Microsomal lipid peroxidation. In: Fleicher S, Packer L. Methods in Enzymology. London : Academic Press. 1978 : 302-9.
27. Levander OA, Deloach DP, Morris VC, Moser PB. Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. J Nutr. 1983 ; 113 : 55-63.
28. Flohe L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, Otting F. Convenient assays for superoxide dismutase. CRC Handbook of free radicals and antioxidants in Biomedicine. 1992 : 287-93.
29. Johnson LH, Hakan Borg LA. A spectrophotometric method for



- determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochemistry*. 1988 ; 174 : 331-6.
30. 이준무, 이은, 최무영. 시호분말이 고콜레스테롤 급여 흰쥐의 체지방구성 및 TBARS량에 미치는 영향. *대한본초학회지*. 2000 ; 5(1) : 67-71.
31. 오세웅. 침자극이 고지방식을 급여한 흰쥐의 체지방합성과 항산화능에 미치는 영향. *상지대학교박사논문*. 2001.
32. 이명진. 침자극이 비만쥐의 지질강하 및 항산화효과와 Apo-B, Apo-E, TNF- $\alpha$  및 Leptin의 DNA발현량에 미치는 영향. *상지대학교 대학원박사논문*. 2002.
33. 김종홀. 자침이 비만쥐의 혈청지질저하 및 항산화효과와 분자생물학적 양상에 미치는 영향. *상지대학교대학원*. 2002.
34. 정선희. 비만환자의 침치료 임상예. *대한침구학회지*. 1999 ; 16(3) : 39-56.
35. 劉志誠. 鍼灸對單純肥滿病發高血壓患者的調整作用. 第2次 全國中西醫結合肥滿病研究學術論文的要編. 1989 ; 17.
36. 江幼李. 肥滿의中醫治療. *北京中醫學院報*. 1985 ; 8 : 2.
37. 王玉芬. 感肥驗案4則. *中醫雜誌*. 1986 ; 27 : 11.
38. 이용성. *경약분류전*. 수문사. 1979 ; 14.
39. 전국한 의과대학침구경혈학교실 편저. *침구학(상·하)*. 서울 : 집문당. 1991 : 722-3, 735-6, 764.
40. 양계주. *침구대성*. 인민위생출판사. 1995 : 267, 270, 292.
41. 이은. 솔잎분말이 과산화지질을 급여한 흰쥐의 혈장 및 간장의 지질구성과 항산화능에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*. 2003 ; 32(6) : 926-30.
42. Kim SH, Jo MJ. A study of metabolic effect in high and low fat diet on albino rat. *J Nutr*. 1972 ; 5 : 169-83.
43. Hang A, Hostmark AT. Lipoprotein lipases, lipoprotein and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. *J Nutr*. 1987 ; 117 : 1011-7.
44. Chung YJ, Park HJ, Chang YK. Effect of dietary eicosapentaenoic acid on serum and liver lipids patterns of mail rat. *Korean J Nutr*. 1994 ; 27 : 537-51.
45. 이은, 최무영, 오혜숙. 시호분말이 과산화지질을 급여한 흰쥐의 혈장 및 간장 지질구성과 항산화능에 미치는 영향. *한국영양학회지*. 2000 ; 33(5) : 502-6.
46. Lotz M, Jink F, Kabouridis P, Tsoukas C, Hirano T, Kishimoto T et al. B cell stimulating factor 2/interleukin-6 is a costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J Exp Med*. 1988 ; 167 : 1253-8.
47. Hamada E, Nishida T, Uchiyama Y, Nakamura J, Isihara K, Kazuo H. Activation of Kupffer cells and caspase-3 involved in rat hepatocyte apoptosis induced by endotoxin. *J. Hepatol*. 1999; 30: 807-818.
48. Hirano T, Taga T, Tasukawa K, Nakajima K, Nakano N, Takatsuki F et al. Human B-cell differentiation

- factor defined by autoantibody production. Proc Natl Acad Sci USA. 1987 ; 84 : 228-31.
49. Baumann H, Onorato V, Gauldie J, Jahreis GP. Distinct sets of acute phase plasma proteins are stimulated by separate human hepatocyte-stimulating factors and monokines in rat hepatoma cell. J Biol Chem. 1987 ; 262 : 9756-68.
50. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. Blood. 1989 ; 74 : 1-10.
51. Chamulitrat W, Blazka ME, Jordan SJ, Luster MI, Mason RP. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide production in endotoxin-primed rats administered carbon tetrachloride. Life Sci. 1995; 24 : 2273-80.
52. Marriot JB, Westby M, Cookson S, Guckian M, Goodbourn S, Muller G. CC-3052: a water-soluble analog of thalidomide and potent inhibitor of activation-induced TNF- $\alpha$  production. J Immunol. 1998 ; 161 : 4236-43.
53. Tompson KC, Trowern A, Fowell A, Marathe M, Haycock C, Arthur MJ et al. Primary rat and mouse hepatic stellate cells express the macrophage inhibitor cytokine interleukin-10 during the course of activation in vitro. Hepatology. 1998; 28 : 1518-24.
54. Moreira AL, Sampaio EP, Zmuidzinas A, Frindt P, Smith KA, Kaplan G. Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor alpha by enhancing mRNA degradation. J Exp Med. 1993 ; 177 : 1675-80.
55. Sang H, Wallis GL, Stewart CA, Yashige K. Expression of cytokines and activation of transcription factors in lipopolysaccharide-administered rats and their inhibition by phenyl N-tert-butyl nitron (PBN). Arch Biochem Biophys. 1999 ; 363 : 341-8.