

녹차추출물이 에탄올 투여에 의한 초기 간 손상에 미치는 영향

김동춘² · 정승욱² · 박평심^{1*}

¹조선대학교 의학연구원

²조선대학교 의과대학 생화학교실

Effects of Green Tea Extract on Acute Ethanol-induced Hepatotoxicity in Rats

Dong Chun Jin², Seung Wook Jeong², and Pyoung-Sim Park^{1*}

¹Institute of Medical Science, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

²Dept. of Biochemistry, College of Medicine, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract

The liver is the major target of ethanol toxicity and oxidative stress plays a role in development of alcoholic liver disease. This study was performed to investigate the effects of green tea extracts (GTE) on acute ethanol-induced hepatotoxicity in rats. Experimental animals were divided into 4 groups, control, GTE, ethanol, and GTE+ethanol treatment, with 5 rats in each group. Ethanol (6 g/kg body weight (BW)) and GTE (200 mg/kg BW) were treated by gavage. At 1 hour, 3 hours and 20 days (6 g/kg BW every 2 days for total 10 doses) after ethanol and/or GTE treatments, animals were killed; hepatic tumor necrosis factor- α (TNF- α) and glutathione level, serum aspartate aminotransferase (AST), serum alanine aminotransferase (ALT), hepatic antioxidant enzymes (SOD, CAT, GPx) activities and hepatic thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were measured. At 1 hour and 3 hours, hepatic TNF- α levels were increased significantly in ethanol group and ethanol+GTE group but that levels was significantly lower in ethanol+GTE group compared with ethanol group. Hepatic glutathione level was decreased by ethanol treatment but GTE prevented the ethanol-induced glutathione decrement. The levels of liver marker enzymes (AST, ALT), liver antioxidant enzymes (SOD, CAT, GPx) and lipid peroxidation marker (TBARS) were not changed in rats of 1 and 3 hours after ethanol treatment. After 20 days, GTE decreased the changes of liver marker enzymes (AST, ALT) activities and TBARS level by ethanol. This study shows that GTE beneficially modulates TNF- α and glutathione levels in liver of ethanol administered rats. The GTE supplementation could be beneficial to liver by decreasing early changes of biomarkers of liver damage caused by ethanol.

Key words: green tea extract, ethanol, TNF- α , hepatotoxicity, glutathione

서 론

술은 세계적으로 널리 응용되고 있는 음료이지만 계속적인 음주는 여러 가지 사회적 문제를 야기할 뿐만 아니라, 간염, 간경화증 및 간암 등 알코올성 간질환을 유발할 수 있다(1). 음주 후 체내 흡수된 알코올의 80~90%는 간에서 대사되는데, 간세포에서 에탄올은 alcohol dehydrogenase(ADH)와 acetaldehyde dehydrogenase에 의해 acetaldehyde와 acetate로 전환되거나, 세포 내망계의 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)에서 산화되어 acetaldehyde를 생성한다(1,2). 음주로 간에서 생성된 acetaldehyde는 반응성이 높은 화합물로 다른 물질과 반응하거나, 유리기 생성을 증가시켜서 간세포 손상을 유발할 수 있다(1,2). 알코올을 장기간 섭취하면 간의 SOD, catalase 및 GPx 등 항산화 효소 활성도가 감소되고(3,4), 글루타치온이

나 비타민 C 및 비타민 E 등 항산화물질이 감소되는데, 항산화력이 감소된 세포는 유리기에 의한 산화적 자극에 쉽게 손상될 수 있다(5). 알코올섭취에 의한 간세포의 유리기 생성 증가나 항산화력 감소는 알코올성 간질환 유발과 매우 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있으므로, 산화적 세포 손상을 방지할 수 있는 항산화비타민(A, C, E), L-carnitine 이나 beta-carotene 및 글루타치온 등 항산화물질이 알코올성 간 손상 방지제로 연구되고 있다(6,7).

식물에 함유된 천연물은 일반적으로 독성반응에 의한 부작용이 화학합성 물질에 비해 적기 때문에 기능성식품 및 약품개발의 소재로 천연물에 대한 관심이 증가하고 있는데(8,9), 포도 잎, 강황 및 계수나무 등 식물의 추출물이 알코올에 의한 간 손상을 방지하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다(10-12). 기호음료로 세계적으로 이용되고 있는 녹차(*Camellia sinensis* L.)의 항산화 기능이 알려지면서 녹차

*Corresponding author. E-mail: pspark3687@hanmail.net
Phone: 82-62-230-6295, Fax: 82-62-226-4165

있에 함유된 데아닌, 아미노산 및 카테킨 등의 성분에 대한 기능성 연구가 진행되고 있다(13-15). Ostrowska 등(16)은 녹차추출물을 4주간 투여한 흰쥐의 간세포에서 글루타치온과 GPx 활성을 증가시킴으로써 에탄올에 의한 지질과산화를 감소시킨다고 하였고, Augustyniak 등(17)은 녹차를 5주간 복용시키면 SOD나 GPx의 활성도를 증가시키고 비타민 A, C, E 등의 감소를 억제하여 간세포를 보호하는 기능이 있다고 하였으며, Lee 등(18)은 녹차 카테킨의 한 종류인 epigallocatechin gallate(EGCG)가 배양한 간 종양 세포(HepG2 cells)에서 gamma-glutamyl transferase(GGT) 활성을 억제함으로써 에탄올에 의한 간세포의 독성을 감소시킨다고 하여 녹차 추출물이나 카테킨이 알코올에 의한 간세포 독성을 감소시킨다고 하였다. 그러나 녹차의 에탄올에 의한 간독성을 방지하는 작용기전에 대하여는 여러 가지 가설이 제시되고 있으나 아직까지 명확하게 규명되어 있지는 않다.

따라서 본 연구에서는 알코올의 간세포 독성 감소에 미치는 녹차 추출물의 작용기전을 규명하기 위한 실험으로 흰쥐에 에탄올 투여 후 초기 간 손상에 미치는 녹차추출물의 영향을 염증반응을 유발하는 것으로 알려진 tumor necrosis factor- α (TNF- α)와 항산화 작용에 관여하는 글루타치온의 변화를 측정하여 관찰하였다.

재료 및 방법

녹차 추출물의 제조

녹차 추출물은 건조 녹차 잎을 열수 추출하고 부분 정제하여 사용하였다. 건조 녹차 잎은 녹차재배농원(보성다원)에서 구입하여 사용하였다. 녹차 잎을 분마시킨 후 가열한 증류수 50 L에 녹차 잎 분말 5 kg을 첨가하여 2시간 동안 가열한 후 추출액을 원심분리기(J2-21, Beckman, CA, USA)에서 1500 rpm으로 15분간 원심분리하고 상층액을 수집하였다. 수집한 추출액을 4°C에서 12시간 동안 방치하고 난 후 원심분리기로 4°C에서 1500 rpm으로 15분간 원심분리 하여 수집한 상층액을 60°C 건조기에서 완전히 건조시킨 후 마쇄하여 제조한 분말을 녹차 추출물 시료로 사용하였다.

실험동물의 사육

실험동물은 Sprague-Dawley(SD 체중 250±20 g, 수컷) 종 흰쥐는 한국 실험동물센터에서 구입하여 사용하였다. 실험동물은 12시간 명암주기, 온도 20±2°C, 상대습도 60±5%의 환경에서 사육하였다. 실험은 SD종 흰쥐를 대조군, 녹차추출물 투여군, 에탄올 투여군 및 에탄올+녹차추출물 투여군으로 나누었고, 녹차추출물과 에탄올 등 시료의 투여는 실험동물을 12시간 금식시킨 후 경구 투여하였으며, 각 실험군은 5마리씩 나누었다. 대조군은 수돗물 4 mL/rat, 에탄올 투여군은 30% 에탄올(수돗물에 희석) 4 mL/rat, 녹차추출물 투여군은 녹차 추출물 50 mg 을 첨가한 수돗물 4 mL/rat,

Table 1. Experimental design

Experimental groups	Agents	Feeding volume (mL)
Control	Water	4
GTE	50 mg GTE	4
Ethanol	30% ethanol	4
Ethanol+GTE	30% ethanol+50 mg GTE	4

GTE: green tea extract.

에탄올+녹차추출물 투여군은 녹차 추출물 50 mg을 첨가한 30% 에탄올 4 mL/rat를 각각 경구 투여하였다(Table 1). 시료 투여 후 1시간 및 3시간 경과 시에 실험동물을 희생시켜서 혈액과 간 조직 시료를 채취하였다. 또한 장기간(20일간) 투여에 의한 변화를 관찰하기 위해서 상기의 실험조건에서 상기의 시료를 2일마다 1회씩 10회 반복투여 하고, 최종 시료 투여 3시간 후 실험동물을 희생시켜서 시료를 채취하였다.

시료의 채취

실험동물은 ethyl ether로 마취시킨 후 복부대동맥에서 채혈하고 혈청을 분리하여 혈청시료로 사용하였고, 간 조직을 절제하여 즉시 액체질소로 냉동시킨 후 -70°C에 보관하면서 간 조직 시료로 사용하였다.

혈액 생화학적 검사

혈청 aspartate aminotransferase(AST) 활성도는 AST 측정 kit(Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany)를 사용하였고, 혈청 alanine aminotransferase(ALT) 활성도의 측정은 ALT 측정 kit(Boehringer Mannheim)를 사용하였으며, 이상의 kit를 사용한 결과는 생화학 자동분석기(Hitachi 747, Hitachi, Tokyo, Japan)로 측정하였다.

간 조직 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 및 글루타치온(glutathione)량 측정

흰쥐의 간 조직에 5배의 냉각된 10 mM EDTA를 함유한 0.1 M 인산염 완충액(pH 7.4)을 첨가한 후 균질화 시켜 20,000×g로 15분간 원심분리한 후 상층액을 TNF- α 와 글루타치온 측정 시료로 사용하였다. TNF- α 의 측정은 ELISA 방법에 의한 쥐 TNF- α 측정 kit(BioSource International Inc., Camarillo, CA, USA)을 사용하여 측정하였고, 글루타치온량은 발색반응에 의한 글루타치온 측정 kit(BioAssay Systems, CA, USA)를 이용하여 측정하였다.

간 조직 항산화효소 활성도 측정

흰쥐의 간 조직에 5배의 냉각된 10 mM EDTA를 함유한 0.1 M 인산염 완충액(pH 7.4)을 첨가한 후 균질화 시켜 20,000×g로 15분간 원심분리한 후 상층액을 효소활성도 측정 시료로 사용하였다. Superoxide dismutase(SOD) 활성도는 Flohe와 Otting(19)의 방법에 의해서 측정했다. 즉 0.1 mM EDTA와 0.2 mM KCN를 함유한 100 mM phosphate

buffer(pH 7.8)에 0.5 mM xanthine, 0.1 mM cytochrome C 및 시료액을 넣고 혼합한 후 xanthine oxidase 용액을 가하여 효소활성도를 측정하였다.

Catalase(CAT) 활성도는 Aebi(20)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 50 mM phosphate buffer(pH 7.0)에 시료액을 혼합하고 25°C에서 3분 동안 방치한 후 10 mM H₂O₂ 용액을 혼합하여 즉시 240 nm에서 15초간 변화되는 흡광도를 측정하였다. Glutathione peroxidase(GPx) 활성도는 Flohe 등(21)의 방법으로 측정하였다. 즉 100 mM phosphate buffer(pH 7.0)에 100 mM EDTA, 100 mM GSH 및 glutathione reductase를 혼합하여 37°C에서 5분간 방치한 후 15 mM NADPH, 45 mM H₂O₂ 및 시료액을 가하여 340 nm에서 1분 동안 변화되는 흡광도를 측정하였다. 시료 단백질량은 Lowry 등(22)의 방법에 의해서 측정하였다.

간 조직 TBARS량 측정

흰쥐의 간 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)량은 Buege와 Aust(23)의 방법으로 측정하였다. 즉 TBA 시약 1.0 mL에 butylated hydroxy toluene(BHT)을 최종농도가 0.01%가 되게 가하고 혈액 0.1 mL를 가하여 잘 혼합한 후 98°C로 15분간 가열하고 즉시 냉각시켜 1000×g로 15분간 원심분리 하여 상층액을 취해 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

실험결과는 SPSS 통계프로그램(statistical package for the social science version 12.0)을 이용하여 평균±표준오차로 표시하였고, 일원배치분산분석(one-way ANOVA)으로 비교하여 실험군 간의 통계적 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

녹차추출물과 에탄올이 간 TNF-α에 미치는 영향

녹차 추출물이 에탄올에 의한 간 손상에 미치는 영향을 알기 위하여 실험동물에 30% 에탄올과 녹차 추출물 50 mg/rat을 투여한 후 1시간 및 3시간 경과 후 간 TNF-α량을 측정하였다. 간 TNF-α량은 시료 투여 1시간 경과 후 에탄올 투여군(71.31±6.21 pg/mg protein)의 간 TNF-α량은 대조군(24.31±4.52 pg/mg protein)에 비하여 195%가 증가되었고, 3시간 경과 후에는 188%, 20일 경과 후에는 157%가 각각 증가되어 에탄올 투여로 간 조직의 TNF-α량이 증가되는 것을 알 수 있으며, 간 TNF-α는 에탄올 투여 1시간 경과군에서도 유의하게 증가되므로 에탄올 투여 후 초기에 TNF-α량이 변화됨을 알 수 있다(Fig. 1).

Zhou 등(24)은 생쥐를 이용한 실험에서 간 TNF-α량은 에탄올 투여 1.5, 3 및 6시간 후에 각각 측정할 결과 모두 증가되었고, Zhao 등(25)도 생쥐를 이용한 실험에서 1.5와 3시간 후 간 TNF-α량이 증가된다고 하였는데, 본 실험에서

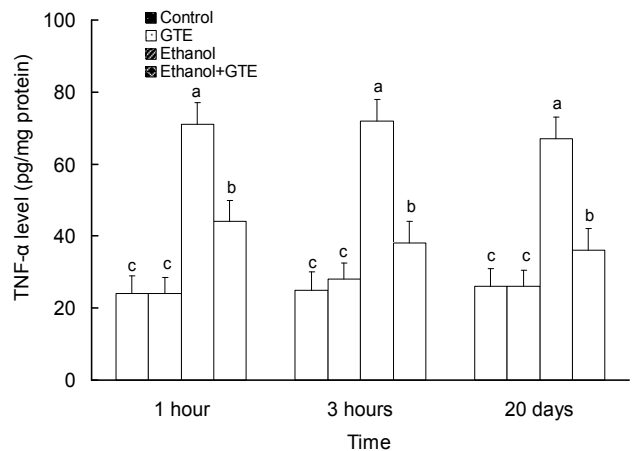


Fig. 1. Effects of green tea extracts (GTE) on hepatic TNF-α levels in ethanol administered rats. Each bar represents the mean±SE of 5 animals. Bars with different letters in the same time are significantly different at p<0.05.

도 에탄올 투여 1시간과 3시간 후 간 TNF-α량이 증가되어 이들의 실험과 유사한 결과를 나타냈다. TNF-α는 간세포의 세포사를 유발하여 독성물질에 의한 간세포의 손상에 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있으며(26,27), 에탄올 투여 후 초기 간세포 TNF-α 증가는 간세포손상을 유발할 수 있으며, TNF-α량 증가 억제제는 세포손상을 예방하는 효과가 있을 것으로 추측된다. 따라서 본 실험에서 에탄올과 녹차추출물을 혼합하여 투여한 후 간 TNF-α량을 측정한 결과 에탄올 투여군에 비하여 1시간 경과 후에는 38%, 3시간 경과 후에는 47%, 20일 경과 후에는 47%가 각각 감소되어 녹차추출물 혼합 투여로 에탄올 투여에 의한 간 조직의 TNF-α량 증가가 억제됨을 알 수 있다.

에탄올에 의한 TNF-α 증가는 알코올에 의한 간세포 손상의 중요한 요인으로 에탄올에 의한 급성간독성 방지효과가 있는 silymarin도 에탄올에 의한 간세포 TNF-α량 증가 억제를 간세포 보호 작용의 주요기전으로 보고하고 있는데(28), 본 실험결과 나타난 에탄올에 의한 간 조직 TNF-α 증가에 대한 녹차 추출물 효과는 에탄올에 의한 간 손상 방지 효과를 나타내는 데에 중요한 작용을 할 것으로 추측된다.

녹차추출물과 에탄올이 간 글루타치온에 미치는 영향

세포내에 항산화작용을 나타내는 물질인 글루타치온에 미치는 에탄올과 녹차추출물의 영향을 관찰한 결과 간 글루타치온량은 30% 에탄올투여 1시간 경과 후 대조군(48.17 ± 5.25 μg/mg protein)에 비하여 23%가 감소되었고, 3시간 경과 후에는 37%, 20일 경과 후에는 45%가 각각 감소되어 에탄올 투여로 간조직의 글루타치온량이 감소됨을 알 수 있다(Fig. 2). 또한 에탄올과 녹차추출물을 혼합하여 투여한 쥐의 간 글루타치온량은 에탄올 투여군에 비하여 1시간 경과 후에는 16% 증가한 43.19±5.71 μg/g tissue을 나타냈고, 3시간 경과 후에는 34%, 20일 경과 후에는 48%가 각각 증가되어 녹차추출물 혼합 투여로 에탄올 투여에 의한 간조직의

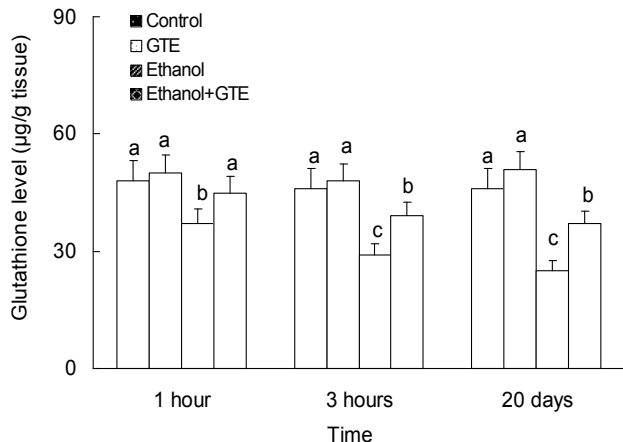


Fig. 2. Effects of green tea extracts (GTE) on hepatic glutathione levels in ethanol administered rats. Each bar represents the mean \pm SE of 5 animals. Bars with different letters in the same time are significantly different at $p < 0.05$.

글루타치온량 감소가 억제됨을 알 수 있다(Fig. 2).

글루타치온은 세포내에 산화적 세포손상을 방지하는 항산화작용을 가진 물질로서 Ostrowska 등(16)은 흰쥐를 이용한 실험에서 에탄올과 녹차 카테킨을 5주간 투여한 실험에서 에탄올 투여로 간 글루타치온량이 감소되고 녹차 카테킨투여로 글루타치온량의 감소가 억제된다고 보고하였고, Song 등(28)도 생쥐실험에서 에탄올 투여 20시간 후 간 글루타치온량이 감소된다고 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 보고하였는데, 본 실험에서는 에탄올 투여 1시간 경과 시에도 간 글루타치온량이 감소됨을 나타내고 있어서 글루타치온의 감소가 에탄올 투여 후 초기에도 감소됨을 나타내고 있다. 에탄올에 의한 간세포 손상은 간에서 대사되는 과정에 생성된 유리가 간세포의 산화적 손상을 유발하는 것으로 알려져 있는데, 항산화작용을 나타내는 글루타치온량 감소는 알코올에 의한 간세포의 산화손상에 중요한 요인으로 작용할 것으로 추측된다. 또한 녹차 추출물의 간 조직 글루타치온량 감소 억제 효과는 녹차 추출물이 에탄올에 의한 간 손상 억제 효과를 나타내는데 중요한 작용을 할 것으로 생각된다. Ostrowska 등(16)은 에탄올과 녹차 카테킨을 5주간 투여한 실험에서 녹차 카테킨투여로 에탄올에 의한 글루타치온량의 감소가 억제된다고 보고하였는데, 본 실험에서는 1시간 경과 시에도 녹차추출물 투여군에서 간 글루타치온량 감소가 억제되었으므로 녹차추출물을 투여하면 에탄올에 의한 초기 간세포 손상유발을 방지하는 효과가 나타날 것으로 추측된다.

녹차추출물과 에탄올이 간 항산화효소 활성에 미치는 영향

SOD, catalase 및 GPx 등은 체내에 생성된 산소유리기를 제거하여 세포를 보호하는 항산화효소로서 본 실험에서도 30% 에탄올을 투여한 후 간 항산화효소 활성도 변화를 관찰하였다.

간 SOD 활성도는 30% 에탄올을 투여한 1시간 경과 후

Table 2. Effects of green tea extracts on activities of SOD in liver of ethanol-administered rats

Groups	Enzyme activities (U/mg protein)		
	1 hour	3 hours	20 days
Control	38.77 \pm 6.35	36.13 \pm 3.31	36.52 \pm 4.62
GTE	42.17 \pm 5.54	38.27 \pm 4.12	37.31 \pm 3.31
Ethanol	33.19 \pm 6.62	32.11 \pm 5.22	32.23 \pm 5.21
Ethanol+GTE	39.14 \pm 7.21	35.35 \pm 4.17	36.75 \pm 4.39

Values are expressed as mean \pm SE of 5 animals. GTE: green tea extracts. SOD: superoxide dismutase. One unit of activity was taken as the enzyme reaction, which gave 50% inhibition of cytochrome C reduction in 1 min.

Table 3. Effects of green tea extracts on activities of catalase in liver of ethanol-administered rats

Groups	Enzyme activities (U/mg protein)		
	1 hour	3 hours	20 days
Control	85.71 \pm 15.55	86.17 \pm 9.31	92.21 \pm 12.32
GTE	94.31 \pm 12.64	93.71 \pm 11.21	91.16 \pm 13.44
Ethanol	81.01 \pm 16.16	84.93 \pm 12.11	82.31 \pm 14.72
Ethanol+GTE	90.10 \pm 14.71	87.51 \pm 12.13	86.15 \pm 13.01

Values are expressed as mean \pm SE of 5 animals. GTE: green tea extracts. One unit of activity was taken as the enzyme reaction, which consumed 1 μ mole hydrogen peroxide in 1 min.

대조군(38.77 \pm 5.25 U/mg protein)과 차이가 없었고, 3시간 및 20일 경과군에서도 30% 에탄올이나 녹차추출물 투여군과 유의한 효소활성도 차이를 나타내지 않아서 에탄올이나 녹차추출물 투여로 간 SOD 활성도에 미치는 영향은 작은 것으로 추측된다(Table 2). 간 catalase 활성도는 30% 에탄올을 투여한 1시간 경과 후 대조군(85.71 \pm 15.55 U/mg protein)과 차이가 없었고, 3시간 및 20일 경과 후에도 30% 에탄올이나 녹차추출물 투여군과 유의한 효소활성도 차이를 나타내지 않아서 에탄올이나 녹차추출물 투여로 간 catalase 활성도에 미치는 영향은 작은 것으로 추측된다(Table 3). 간 GPx 활성도는 30% 에탄올을 투여한 1시간 경과 후 대조군(18.47 \pm 1.85 U/mg protein)과 차이가 없었고, 3시간 경과 후에도 30% 에탄올이나 녹차추출물 투여군과 유의한 효소활성도 차이를 나타내지 않았다(Table 4). 20일 경과 후 30% 에탄올 투여군의 간 효소활성도는 대조군에 비하여 31%가 감소되어 에탄올 투여로 효소활성도가 감소됨을 알 수 있고, 30% 에탄올+녹차추출물 투여군의 GPx 활성도는 30% 에탄올 투여군에 비하여 효소활성도가 54%가 높아서 녹차추출물 투여로 간 GPx 활성도가 증가됨을 알 수 있다. Pari와 Suresh(10)는 20% 에탄올을 45일간 투여한 흰쥐의 간 SOD, catalase 및 GPx 활성도가 모두 감소된다고 하였고, Kundu 등(29)은 에탄올(3.7 g/kg)을 35일간 투여하여 간 SOD, catalase 및 GPx 활성도가 모두 감소된다고 하였으나, 본 실험에서는 SOD나 catalase 활성도는 모든 군에서 효소 활성도의 차이를 나타내지 않았고, GPx는 1시간과 3시간 군에서는 차이가 없었으나 20일 투여군에서 에탄올 투여로 감소를 나타내서, 이들의 실험결과와 다른 소견을 나타냈다. 이러한

Table 4. Effects of green tea extracts on activities of glutathione peroxidase in liver of ethanol-administered rats

Groups	Enzyme activities (U/mg protein)		
	1 hour	3 hours	20 days
Control	18.47±1.85	19.17±3.17	16.27±2.22 ^a
GTE	17.91±2.54	18.57±2.21	17.10±3.14 ^a
Ethanol	15.12±3.62	16.13±3.71	11.31±3.49 ^b
Ethanol+GTE	18.34±3.21	18.11±4.14	17.51±3.19 ^a

Values are expressed as mean±SE of 5 animals. Values with different letters in the same column are significantly different at p<0.05. GTE: green tea extracts. One unit of activity was taken as the enzyme reaction, which consumed 1 μmole glutathione in 1 min.

실험결과 에탄올 투여 후 초기에는 간 항산화효소 활성에 미치는 영향은 적으나 장기간 반복으로 에탄올을 투여하면 간 GPx 활성도가 감소됨을 알 수 있고, 녹차추출물을 병합 투여하면 에탄올에 의한 간 GPx 활성의 변화를 방지할 수 있을 것으로 추측된다.

녹차추출물과 에탄올이 간 TBARS에 미치는 영향

에탄올을 투여한 간조직의 산화적 손상을 관찰하기 위해 TBARS량을 측정된 결과 30% 에탄올을 투여한 후 1시간 경과 및 3시간 경과군에서는 대조군과 유의한 차이가 없었고, 20일 경과군에서 30% 에탄올 투여군이 대조군에 비하여 137%가 증가되었다(Table 5). TBARS는 산화적 세포손상의 결과 주로 지질과산화물의 증가를 나타내는 지표로서 이용되고 있는데(3,6), 에탄올을 투여할 경우 간 지질과산화물이 증가된다는 많은 보고가 있다(3,6,7,16,28). Ostrowska 등(16)은 흰쥐를 이용한 실험에서 에탄올 투여에 의한 간 TBARS량 증가를 녹차 카테킨투여로 억제된다고 하였고, Augustyniak 등(17)은 5주간 에탄올을 투여한 실험에서 녹차 추출물이 에탄올에 의한 간 지질과산화물의 증가를 억제시킨다고 하여 녹차가 에탄올에 의한 산화적 손상을 방지할 수 있다고 하였다. 본 실험에서 20일 경과군에서 간 TBARS량은 에탄올 투여군에 비하여 에탄올+녹차추출물 투여군에서 40% 더 낮았는데, 이는 에탄올 투여에 의한 간 TBARS의 증가량이 녹차추출물 혼합투여로 감소된 것으로 생각된다. 따라서 에탄올에 의한 산화적 간세포의 산화적 손상을 에탄올 1회 투여로는 알 수 없지만 20일간 장기적으로 투여

Table 5. Effects of green tea extracts on the levels of TBARS in liver of ethanol-administered rats

Groups	TBARS level (μM/g tissue)		
	1 hour	3 hours	20 days
Control	0.81±0.12	0.82±0.17	0.93±0.12 ^c
GTE	0.75±0.17	0.78±0.14	0.82±0.17 ^c
Ethanol	0.81±0.21	0.91±0.22	2.21±0.24 ^a
Ethanol+GTE	0.83±0.11	0.86±0.19	1.32±0.26 ^b

Values are expressed as mean±SE of 5 animals. Values with different letters in the same column are significantly different at p<0.05. GTE: green tea extracts. TBARS: thiobarbituric acid reactive substances.

할 경우 현저하게 나타나므로 에탄올은 간세포의 산화적 손상을 유발한다고 할 수 있고 녹차 추출물은 이러한 에탄올의 산화적 간세포 손상을 억제하는 작용이 있다고 추측된다.

녹차추출물과 에탄올이 혈청 AST 및 ALT에 미치는 영향

에탄올을 투여한 간세포의 손상을 관찰하기 위해 혈청 AST와 ALT 활성도를 측정된 결과 30% 에탄올을 투여한 후 1시간 경과 및 3시간 경과군에서는 대조군과 유의한 차이가 없었다.

20일 경과군에서 혈청 AST 활성도는 30% 에탄올 투여군이 대조군에 비하여 78%가 증가되었고, ALT 활성도는 30% 에탄올 투여군이 대조군에 비하여 167%가 증가되었다. 혈청 AST와 ALT는 간세포손상을 간접적으로 측정하는 지표로 이용되고 있는데(1,2), 본 실험에서 에탄올 투여 후 20일 경과군에서 혈청 ALT와 AST가 증가되어 에탄올 투여로 간세포 손상이 증가되었음을 나타내고 있다(Table 6, 7). 또한 20일 경과군에서 혈청 AST 활성도는 에탄올 투여군에 비하여 에탄올+녹차추출물 투여군에서 34% 더 낮았고, 혈청 ALT 활성도는 에탄올 투여군에 비하여 에탄올+녹차추출물 투여군에서 45% 더 낮았다. 따라서 에탄올에 의한 혈청 AST와 ALT 활성도는 에탄올 1회 투여로는 변화되지 않았으나 20일간 투여할 경우 현저히 높게 나타나므로 에탄올은 장기간 투여하면 간세포의 손상을 유발한다고 할 수 있고 녹차 추출물은 에탄올의 간세포 손상을 억제하는 작용이 있다고 추측된다.

따라서 녹차 추출물의 간세포 손상 억제작용은 에탄올에

Table 6. Effects of green tea extracts on serum AST level of ethanol-administered rats

Groups	AST level (IU/L)		
	1 hour	3 hours	20 days
Control	81.25±5.68	87.17±6.91	97.31±11.19 ^c
GTE	83.58±4.69	85.15±7.16	98.21±9.60 ^c
Ethanol	84.14±7.57	96.21±7.15	175.02±15.35 ^a
Ethanol+GTE	84.21±6.31	90.18±7.91	116.31±15.19 ^b

Values are expressed as mean±SE of 5 animals. Values with different letters in the same column are significantly different at p<0.01. GTE: green tea extracts. AST: aspartate aminotransferase.

Table 7. Effects of green tea extracts on serum ALT level of ethanol-administered rats

Groups	ALT level (IU/L)		
	1 hour	3 hours	20 days
Control	25.12±2.18	26.01±3.61	30.13±4.21 ^c
GTE	23.25±2.49	23.18±3.71	28.27±4.91 ^c
Ethanol	24.25±2.15	27.11±3.91	75.10±9.13 ^a
Ethanol+GTE	23.02±3.91	25.54±4.13	41.83±9.91 ^b

Values are expressed as mean±SE of 5 animals. Values with different letters in the same column are significantly different at p<0.05. GTE: green tea extracts. ALT: alanine aminotransferase.

의한 간세포 손상을 억제할 수 있는 물질로서 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

녹차 추출물이 에탄올에 의한 조기 간세포에 미치는 영향을 관찰하기 위해 흰쥐에 에탄올과 녹차 추출물을 투여하고 1시간 및 3시간 후 흰쥐의 간 글루타치온과 TNF- α 량, 간 항산화효소 활성도, 지질과산화물량 및 혈청 AST 및 ALT 활성도를 측정하였다. 또한 에탄올에 의한 만성 간 손상에 미치는 영향을 관찰하기 위해서 에탄올과 녹차 추출물을 2일 간격 투여 20일 후 흰쥐의 간 글루타치온과 TNF- α 량, 간 항산화 효소활성도, 지질과산화물량 및 혈청 AST 및 ALT 활성도를 측정하였다. 간 글루타치온량은 대조군에 비하여 에탄올 투여군에서 1시간, 3시간 및 20일 경과 후에 모두 감소되었고, 에탄올과 녹차추출물 혼합투여로 간 글루타치온량이 에탄올 투여군에 비하여 증가되어 녹차추출물이 에탄올에 의한 간 글루타치온량 감소를 억제시킴을 알 수 있다. 간 TNF- α 량은 에탄올 투여 1시간, 3시간 및 20일 경과 후 증가되었고, 녹차추출물과 에탄올 혼합투여군은 에탄올 투여군에 비하여 1시간, 3시간 및 20일 경과 후 모두 감소되어 녹차추출물 투여로 에탄올 투여에 의한 간조직의 TNF- α 량 증가가 억제됨을 알 수 있다. 에탄올 투여군의 간 조직 TBARS량을 측정된 결과 에탄올을 투여한 후 1시간 경과 및 3시간 경과 후 대조군과 유의한 차이가 없었다. 에탄올 투여군의 간 조직 항산화효소(SOD, catalase, GPx) 활성도를 측정된 결과 에탄올을 투여한 후 1시간 경과 및 3시간 경과 후 대조군과 유의한 차이가 없었다. 에탄올 투여군의 혈청 ALT와 AST 활성도를 측정된 결과 에탄올을 투여한 후 1시간 경과 및 3시간 경과 후 대조군과 유의한 차이가 없었다. 이상의 실험 결과 녹차 추출물은 간에서 에탄올에 의해서 초기에 일어나는 글루타치온량 감소 및 TNF- α 량 증가를 억제시키는 작용이 있는 것을 알 수 있는데, 녹차 추출물의 이러한 효과는 녹차 추출물이 에탄올에 의한 간 손상을 억제하는데 중요한 작용을 할 수 있을 것으로 기대된다. 녹차 추출물에 함유된 에탄올에 의한 간 손상 방지 물질의 검색과 글루타치온 및 TNF- α 에 대한 작용 기전 및 특성에 대한 연구가 계속된다면 우수한 간 손상 방지작용을 가진 물질이 개발될 수 있을 것으로 추측된다.

문 헌

- Willner IR, Reuben A. 2005. Alcohol and the liver. *Curr Opin Gastroenterol* 21: 323-330.
- Lieber CS. 1997. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Acta* 257: 59-84.
- Polavarapu R, Spitz DR, Sim JE, Follansbee MH, Oberley LW, Rahemtulla A, Nanji AA. 1998. Increased lipid peroxidation and impaired antioxidant enzyme function is associated with pathological liver injury in experimental alcoholic liver disease in rats fed diets high in corn oil and fish oil. *Hepatology* 27: 1317-1323.
- Lee JS. 2004. Supplementation of Pueraria radix water extract on changes of antioxidant enzymes and lipid profile in ethanol-treated rats. *Clin Chim Acta* 347: 121-128.
- Nordmann R. 1994. Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol* 29: 513-522.
- Wu D, Cederbaum AI. 2009. Oxidative stress and alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 29: 141-154.
- McDonough KH. 2003. Antioxidant nutrients and alcohol. *Toxicology* 189: 89-97.
- Corns CM. 2003. Herbal remedies and clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 40: 489-507.
- Tapsell LC, Hemphill I, Cobiac L, Patch CS, Sullivan DR, Fenech M, Roodenrys S, Keogh JB, Clifton PM, Williams PG, Fazio VA, Inge KE. 2006. Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Med J Aust* 185: S4-S24.
- Pari L, Suresh A. 2008. Effect of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf extract on alcohol induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol* 46: 1627-1634.
- Kumar RS, Ponmozhi M, Viswanathan P, Nalini N. 2002. Effect of *Cassia auriculata* leaf extract on lipids in rats with alcoholic liver injury. *Asia Pac J Clin Nutr* 11: 157-163.
- Nanji AA, Jokelainen K, Tipoe GL, Rahemtulla A, Thomas P, Dannenberg AJ. 2002. Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF-kappa B-dependent genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284: G321-G327.
- Alschuler L. 1998. Green tea: Healing tonic. *Am J Natur Med* 5: 28-31.
- Dullo AG, Duret C, Rohrer D. 1999. Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation and fat oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 70: 1040-1045.
- Beltz LA, Bayer DK, Moss AL, Simet IM. 2006. Mechanisms of cancer prevention by green and black tea polyphenols. *Anticancer Agents Med Chem* 6: 389-406.
- Ostrowska J, Luczaj W, Kasacka I, Rozanski A, Skrzydlewska E. 2004. Green tea protects against ethanol-induced lipid peroxidation in rat organs. *Alcohol* 32: 25-32.
- Augustyniak A, Waszkiewicz E, Skrzydlewska E. 2005. Preventive action of green tea from changes in the liver antioxidant abilities of different aged rats intoxicated with ethanol. *Nutrition* 21: 925-932.
- Lee SI, Kim HJ, Boo YC. 2008. Effect of green tea and (-)-epigallocatechin gallate on ethanol-induced toxicity in HepG2 cells. *Phytother Res* 22: 669-674.
- Flohe L, Otting F. 1984. Superoxide dismutase assays. In *Methods in Enzymology*. Packer LS, ed. Academic Press, New York, USA. Vol 105, p 93-104.
- Aebi H. 1974. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU, ed. Academic Press, New York, USA. Vol 2, p 673-684.
- Flohe L, Wolfgang A, Gunzler WA. 1984. Assay of glutathione peroxidase. In *Methods in Enzymatic Analysis*. Packer L, ed. Academic Press, New York, USA. Vol 105, p 114-121.
- Lowry CH, Rsenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 256-277.
- Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in Enzymology*. Packer LS, ed. Academic Press, New York, USA. Vol 52, p 302-310.

24. Zhou Z, Wang L, Song Z, Lambert JC, McClain CJ, Kang YJ. 2003. A critical involvement of oxidative stress in acute alcohol-induced hepatic TNF- α production. *Am J Pathol* 163: 1137-1146.
25. Zhao J, Chen H, Li Y. 2008. Protective effect of bicyclol on acute alcohol-induced liver injury in mice. *Eur J Pharmacol* 586: 322-331.
26. Ding WX, Yin XM. 2004. Dissection of the multiple mechanisms of TNF- α -induced apoptosis in liver injury. *J Cell Mol Med* 8: 445-454.
27. Hatano E. 2007. Tumor necrosis factor signaling in hepatocyte apoptosis. *J Gastroenterol Hepatol* 22: S43-44.
28. Song Z, Deaciuc I, Song M, Lee DY, Liu Y, Ji X, McClain C. 2006. Silymarin protects against acute ethanol-induced hepatotoxicity in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 30: 407-413.
29. Kundu R, Dasgupta S, Biswas A, Bhattacharya A, Pal BC, Bandyopadhyay D, Bhattacharya S, Bhattacharya S. 2008. *Cajanus cajan* Linn. (Leguminosae) prevents alcohol-induced rat liver damage and augments cytoprotective function. *J Ethnopharmacol* 118: 440-447.

(2009년 12월 22일 접수; 2010년 3월 3일 채택)