한국식생활문화학회지 25(6): 839-846, 2010
KOREAN J. FOOD CULTURE 25(6): 839-846, 2010

# 두충차 추출액이 알루미늄 투여 흰쥐의 알루미늄 축적률과 각종 장기 기능에 미치는 영향

한 성 희*
원광보건대학 식품영양학과

# Effects of *Eucommia ulmodies* Oliver Tea Extract on aluminum Accumulation Rate and Tissue Function in Aluminum-administered Rats

Sung Hee Han*
*Department of Food & Nutrition, Wonkwang Health Science Unuversity*

## Abstract

This study was designed to investigate the effects of Korean *Eucommia ulmodies* Oliver tea extract on aluminum administered rats. Forty-eight male Sprague-Dawley rats (100±10 g) were divided into the following six groups; control group, 3% *E. ulmodies* tea extract group, 1,000 and 2,000 ppm aluminum ($Al_2(SO_4)_3$ in distilled water) groups, and 1,000 and 2,000 ppm aluminum plus 3% *E. ulmodies* tea extract groups. The aluminum content in the rat tissues of the aluminum administered group was lower than that in the rat tissue of the aluminum group administered 3% *E. ulmodies* tea extract. Asparate aminotransferase and alanine aminotransferase levels increased in the aluminum-administered group but were lower in the 3% *E. ulmodies* tea extract group. Lactate dehydrogenase was lower in the 3% extract *E. ulmodies* tea-aluminum group than that in the aluminum group. Cholinesterase was higher in the 3% *E. ulmodies* tea-aluminum group than that in the aluminum group. Plasma renin activity levels increased in the aluminum administration group, compared with the aluminum plus 3% *E. ulmodies* tea group. Plasma aldosterone levels increased in the aluminum administration group compared with the aluminum plus 3% *E. ulmodies* tea group. These results suggest that an extract of *E. ulmodies* tea in water has lowering effects on the accumulation of aluminum. It is believed that the *E. ulmodies* tea had some protective effects in the aluminum-administered rats, but the mechanisms remain obscure.

Key Words: *eucommia ulmodie oliver* tea extract group, aluminum, AST, ALT, LDH, ChEase, renin, aldosterone

## I. 서 론

오늘날 급속한 산업발달로 인한 환경오염 문제는 인간의 건강에 심각한 문제를 가져왔다. 특히 과거 중금속 노출은 광산, 제련산업 근로자들만의 문제로 여겨졌으나 중금속 독성원인에 대한 지식이 확대되었다. 더구나 음식, 식수 및 공기 등의 유해성 중금속은 미량일지라도 장기간에 걸친 특정 기관의 조직내에 축적되면서 비정상적인 대사를 유발한다고 한다. 그 가운데 알루미늄은 지구환경에서 세번째로 풍부한 중금속으로서 가구의 제조, 의치의 기초재료 및 제산제와 수렴제로 사용되는 등 폭넓은 용도로 인하여 사람들에게 지속적으로 노출되고 있으며, 이에 알루미늄 독성에 대한 연구가 보고되었다(El-Maraghy 등 2001). 알루미늄은 일반적으로 공기중에는 0.005-0.18 ng/$m^3$ 정도로, 물속에는 대략 0.1 ppm, 식수에는 0.4-1 ppm 분포되어 있으며, 식품용도로는 착색, 팽창 등의 목적으로 알루미늄을 함유한 식품첨가물이 사용되고 있다(Bioshop 등 1997).

현재 알루미늄 독성에 대한 연구 중 가장 활발한 분야는 노인성 치매인데, 아직 그 원인이 확실히 밝혀져 있지 않지만 가설 중 한가지가 뇌에 알루미늄이 축적되기 때문이라고 한다(Candy 등 1986). 실험동물에 알루미늄을 투여하였을 때 뇌조직에서 신경섬유가 엉켜있는 구조물(neurofibrillary tangle)이 발생하며, 노인성 치매환자에게 나타나는 뇌세포막의 인지질 변화가 어떠한 기전에 의해 일어나는지에 대해 밝혀진바는 없으나 알루미늄이 막 인지질인 이노시톨의 분해를 촉진시켜 secondary messenger function에 영향을 미친다고 한다(John 등 1985). 그리고 연령이 증가함에 따라서 뇌조직의 알루미늄 함량이 증가한다는 사실이 여러 실험결과에서 밝혀졌다(Aksari & Stoppe 1996; Armstrong 등 1996; Neill 등 1996; Salib & Hillier 1996; Jeffery 등

*Corresponding author: Sung Hee Han, Department of Food & Nutrition, Wonkwang Health Science Unuversity
Tel: 82-63-840-1250 Fax: 82-63-840-1259 E-mail: hansh@wu.ac.kr

1996; Yoshida & Yoshimasu 1996). 한편, 인체에 대한 노출 경로나 노출량 등 알루미늄 성상 등을 고려할 알츠하이머병과 알루미늄의 관련성에 대한 이견도 있다(Landsberg 등 1992; Deloncle 등 1999).

그러나 장기간에 걸친 중금속의 노출에 대한 중독을 식생활 측면에서 해결하고자 하는 연구가 다방면으로 이루어지고 있다. 특히 한국 전통차로 애용되는 두충(*Eucommia ulmoides Oliver*)은 두충과(*Eucommiaceage*)에 속하는 낙엽 활목으로서 지금까지 알려진 오래된 약초중의 하나로 한방에서 간(肝)과 신(腎)을 보하고 근골(筋骨)을 강하게 하고, 강장(强壯), 강정(强精) 등으로 광범위하게 이용되어 왔다(喬木敬次郎 등 1982).

현재까지 알려진 두충의 생리조절작용으로는 뼈성장 촉진, 근육강화, 원기회복, 항암, 항돌연변이, 혈압강하, 콜레스테롤저하 등이 있으며, 일부의 작용에 대해서는 과학적인 연구가 수행되어 다양한 활성성분과 작용기작이 보고되었다(Sasaki 등 1996; Nakamura 등 1997). 두충에 관한 연구 보고로는 혈압강하작용(Metori 등 1997), 이뇨 작용과 항당뇨 활성, cholesterol 저하 및 비만 방지(Nagasawa 등 1995)등의 효과, 항산화효과(Hsieh & Yen 2000), 납 및 카드뮴 중독완화효과(Lee & Kim 2000) 등이 보고되었다.

따라서 국내에서 노인 인구의 증가로 인해 노인성 치매의 요인 중 한가지인 알루미늄에 관한 조사는 매우 미미하여 알루미늄 등 중금속 오염이 점점 심화되어 가고 있는 현 실정에서 두충에 존재하는 폴리페놀 화합물 성분이 강한 항산화작용을 가질 뿐 만 아니라 금속이온과 착염을 형성하여 체내 중금속의 축적을 감소시킨다고 볼때 어느 정도 알루미늄 중독완화 효과에 관한 연구는 의미있다고 사료되어 알루미늄을 투여한 흰쥐에게 두충차 추출액을 급여한 후 각 장기 조직의 알루미늄 농도, 체내의 혈청 효소, 레닌활성도 및 알도스테론 호르몬 농도에 미치는 영향에 대해 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용된 두충은 서울 경동시장 약재상에서 구입한 즉시 음건한 다음 분쇄기(대우 분쇄기 KMF-360, 한국)로 마쇄하여 100 mesh로 분말화하였다. 3% 두충차 추출액은 분말화 한 30 g의 두충을 1 L의 탈이온 증류수에 넣어 6시간 동안 밀봉 상태로 순환냉각기를 사용해서 60±10°C에서 가열한 후 여과하여 회전감압농축기로 농축시켜 두충차 추출액을 제조하였다. 농축정도는 물추출액으로 3% 농도(고형분 함량비)의 시료 용액을 만들어 실험쥐에게 음용수 대신 공급하였다.

### 2. 실험동물 사육

실험에 이용한 흰쥐는 Sprague-Dawley계(male, 100±10 g)로 일반 cage에 8마리씩 넣어 일반 고형사료(삼양사)로 1 주일 동안 사육실 조건(온도 23±2°C, 습도 50~60%)에 적응시킨 후 난괴법으로 사육상자에 1마리씩 넣어 각 군당 8마리씩 6개군으로 〈Table 1〉과 같이 구분하였다. 즉, 정제수만을 급수한 대조군, 3% 두충차 추출액 급여군, 알루미늄 농도를 달리한 1,000, 2,000 ppm 단독 급여군, 3% 두충차 추출액과 1,000, 2,000 ppm 알루미늄 병합급여군으로 나눈 다음 6주 동안 사육하였다.

<Table 1> Classfication of experimental groups

| Experimental groups | Aluminum in drinking water | Eucommia ulmoides oliver extract tea |
|---|---|---|
| CON[1)] | - | - |
| EO[2)] | - | + |
| LAL[3)] | 1,000 ppm | - |
| HAL[4)] | 2,000 ppm | - |
| EO-LAL[5)] | 1,000 ppm | + |
| EO-HAL[6)] | 2,000 ppm | + |

[1)]CON (Control diet): deionzed water, without heavy metals.
[2)]EO: *Eucommia ulmoides oliver* tea water extract tea group.
[3)]LAl: Al-1,000 ppm added, non-*eucommia ulmoides oliver* tea extract tea group.
[4)]HAl: Al-2,000 ppm added, non-*eucommia ulmoides oliver* tea extract tea group.
[5)]EO-LAl: Al-1,000 ppm added, 3% *eucommia ulmoides oliver* tea extract tea group.
[6)]EO-HAl: Al-2,000 ppm added, 3% *eucommia ulmoides oliver* tea extract tea group.

알루미늄($Al_2SO_4$)$_3$ 공급은 일상 생활에서 식수를 통하여 오염될 가능성이 높다고 보는 중금속 농도 음용수 수질 기준인 0.2 ppm을 중심으로 1,000, 2,000 ppm의 알루미늄을 함유하게 하였다(Han & Shin 2005). 실험기간 동안 명암의 주기는 12시간 간격으로 조정하였고, 몸무게는 1주일에 한번 정해진 시간에 측정하였으며, 식이효율은 실험기간 동안 체중증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어 계산하였다. 식이섭취량과 음용수섭취량은 매일 정해진 시간에 측정하였으며 실험에 사용된 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.5% EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid)용액으로 세척한 후 탈이온 증류수로 헹구어 사용하였다.

### 3. 시료 채취

실험 종료 후 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 에틸에테르로 마취시킨 다음 개복한 즉시 심장정맥에서 10 mL 주사기로 혈액을 채취하였고 각 장기는 적출 즉시 생리식염수로 혈액을 제거한 후 무게를 측정하였다. 혈청은 채혈 즉시 15°C에서 20분간 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 다음 Kit 시약을 이용하여 측정하였으며, 혈장은 항응고처리된 관에 넣어 채혈한 후 4°C에서 3,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후 측정하였다.

<Table 2> The operating condition of ICPS

| Classification | Condition |
|---|---|
| Plasma | 15.0 m/min |
| Auxilary | 1.50 L/min |
| Pump speed | 25.0 rpm |
| Carrier gas flow | 75 psi |
| Nebulizer | 250 kpa |
| Intergration time | 3 sec |
| Cooling water flow | 2 kgF/cm$^2$ |

#### 4. 각 조직의 알루미늄 함량 분석법

간, 폐, 심장, 신장, 소장, 위, 대장 및 비장을 −70°C에서 냉동 보관한 후 Ganje 습식분해법(Ganje & Page 1976)에 준하여 분석하였다. 여과액은 ICPS(inductively coupled plasma spectrometer, Liberty 110−Varian)를 사용하여 〈Table 2〉의 조건으로 측정하였다.

#### 5. 혈청중의 효소 활성도 측정

Asparatate amino transaminase(AST) 및 alanine amino transaminase(ALT) Reitman−Frankle법(Reitman & Frankle 1957; Ginsberg 1970)에 기초한 혈청 transamiase 측정용 Kit 시약(한국, 아산제약)을 사용하여 측정하였고 AST 및 ALT의 활성 단위는 혈청 mL 당 Karmen unit로 하였다(Karmen 등 1955).

Lacate dehydrogenase(LDH) 활성 측정(Wroblewski & Ladue 1955; Amador 등 1963)은 Lactate dehydrogenase 측정용 Kit 시약(일본, Mizuho, Medy, SR−1110)을 이용하여 spectrophotometer(Model Gilford STASAR−3)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였고, 단위는 Wro. Unit(Wro. U=0.4821 IU/L)로 하였다. Cholinesterase 측정은 cholinersterase 측정용 시약(Roche, switzwerland)을 이용하여 분석기기(Cobas Integra 800, Roche switzland)로 측정하였다.

#### 6. 혈장 레닌활성도와 알도스테론 호르몬 농도

혈장레닌활성도는 25 μL의 혈장에 대량의 레닌기질을 사용하여 생성된 안지오텐신을 측정하는 방법으로 정량하였다(Cho 등 1987). 안지오텐신의 항체는 Goodfriend 등(1964)의 방법에 따라 안지오텐신(5−le, 9−His)을 토끼의 혈청 알부민에 접합시켜 동량의 Freund's adjuvant와 잘섞어 6주간 1회씩 여러 부위에 주사하였다. 2주후부터 채혈하여 그 titer를 측정하였으며 혈장은 56°C에서 30분간 불활성화하여 측정하였다. Titer가 결정된 안지오텐신 항혈청은 사용에 편리하도록 일단계 희석하여 소량씩 나누어 −70°C에 보관하였다. 레닌 기질은 Cho 등(Cho & Malvin 1979)의 방법에 따라 만들었으며 레닌 활성도 측정을 위한 안지오텐신의 측정은 Sealey 등(Sealey & Laragh, 1973)의 방법을 변형한 Cho 등(Cho & Kim 1982; Cho 등 1989)의 방법에 따랐다. 즉, 변환효소 및 안지오텐신나아제의 억제제로는 EDTA, phenylmethyl sulfonyl−fluoride 및 8−hydroxy−quinoline을 사용하였다. 안지오텐신의 radiommunoassay는 boivine serum albumin을 포함한 Tris−acetar buffer (pH 7.4, 0.1 M)를 사용하는 일반적인 방법에 따랐다. 4하에서 18−30시간 방치한 후 charcoal suspension (activated norit a charcoal, 6.0 g; dextran T 70, 0.625 g; phenylmercuric acetate 34 mg; Tris−acetate buffer(pH 7.4, 0.1 M)로 1 L 되게하여 bound form과 free form을 분리하였으며 gamma counter(Autogamma 5500, Packard, Downers Grovn, IL, USA)를 사용하여 그 radioactivity를 측정하였다. 혈장 알도스테론농도는 aldosterone solid−phase RIA kit(diagnostic products corporation, Los Angles, CA., USA)를 사용하여 측정하였다.

#### 7. 통계처리

모든 실험 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Sciences. Inc, Chicago IL, USA) software package 프로그램(version 11.5)을 이용하여 실험군당 평균과 표준편차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(one way analysis of variance)을 한 후 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였다.

## III. 결과 및 고찰

#### 1. 식이섭취량, 음용수섭취량, 체중증가량 및 식이효율

알루미늄 용액과 두충차 추출액의 급여에 따른 식이섭취량, 음용수섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 〈Table 3〉과 같다. 식이섭취량에서 대조군은 22.21 g, 두충차 추출액 단독급여군은 22.00 g으로 대조군과는 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군에 비하여 두충차 추출액과 알루미늄 병합급여군이 증가하였으나 유의성은 나타나지 않았다. 음용수 섭취량은 알루미늄 단독급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군이 증가하였으나 별다른 차이는 없었다. 체중증가량에서 대조군은 72.27 g, 두충차 추출액 단독급여군은 72.14 g으로 대조군에 비하여 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군은 65.34~67.00 g, 두충차 추출액과 알루미늄의 병합급여군은 68.02~69.70 g으로 대조군과 두충차 추출액 급여군에 비하여 농도를 달리한 알루미늄 급여군이 유의하게 감소하였고, 식이효율은 각 실험군간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. Berlyne(Berlyne 등 1972)도 흰쥐에 1~2%의 $Al_2(SO_4)_3$를 투여한 결과 식욕결핍증으로 체중이 감소하였으며, Lee(Lee 1992)도 1~2%의 $Al_2(SO_4)_3$의 급여로 농도가 높을 수 록 식이섭취량과 체중이 감소하였다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 경향을

<Table 3> Feed intake, water intake body weight gain and feed efficiency ratio (FER)

| Group[1)] | Feed intake (g/a day) | Water intake (mL/a day) | Body weight gain (g/6 week) | FER[4)] |
|---|---|---|---|---|
| CON | 22.21±7.45 | 20.43±4.21 | 72.27±4.45[2a3] | 0.07±0.02 |
| EO | 22.00±4.67 | 19.10±9.27 | 72.14±9.29[a] | 0.07±0.01 |
| L-Al | 21.24±2.18 | 18.98±5.40 | 67.00±12.88[b] | 0.07±0.01 |
| H-Al | 20.19±4.67 | 18.00±4.30 | 65.34±6.97[b] | 0.06±0.02 |
| EO-LAl | 23.15±4.72 | 20.48±7.20 | 68.02±10.58[ab] | 0.07±0.03 |
| EO-HAl | 23.02±2.23 | 20.15±5.65 | 69.70±6.45[ab] | 0.07±0.02 |

1)See legends <Table 1>
2)Mean±SD
3)Values with different alphabet within the column different of p<0.05 by Duncan's multiple range test.

<Table 4> Effects of *eucommia ulmoides oliver* tea extracts on aluminum concentration in aluminum poisoned rats

(unit: mg/100 g)

| Tissue/Group | CON | EO | LAl | HAl | EO-LAl | EO-HAl |
|---|---|---|---|---|---|---|
| liver | 1.02±0.25[c] | 1.09±0.01[c] | 2.67±0.12[a] | 2.75±0.45[a] | 1.28±0.08[b] | 1.30±0.02[b] |
| heart | 0.97±0.01[ab] | 0.94±0.02[ab] | 1.38±0.14[a] | 1.26±0.16[a] | 0.78±0.09[ab] | 0.84±0.04[b] |
| kidney | 1.09±0.13[c] | 1.15±0.11[c] | 3.61±0.15[a] | 3.87±0.19[a] | 2.79±0.22[b] | 2.65±0.15[b] |
| lung | 1.64±0.02[bc] | 1.37±0.03[c] | 3.28±0.30[ab] | 5.27±0.34[a] | 2.43±0.25[b] | 2.18±0.14[b] |
| stomach | 1.48±0.21[c] | 1.27±0.09[c] | 3.45±0.14[a] | 3.98±0.16[a] | 2.73±0.11[b] | 2.66±0.09[b] |
| samll intestine | 1.02±0.08[bc] | 1.03±0.05[c] | 4.15±0.27[a] | 4.68±0.20[a] | 3.07±0.16[b] | 3.84±0.23[ab] |
| large intestine | 2.49±0.05[c] | 2.01±0.12[c] | 5.09±0.21[a] | 5.67±0.18[a] | 4.79±0.17[b] | 4.70±0.24[b] |
| spleen | 1.66±0.19[b] | 1.51±0.10[b] | 3.21±0.15[a] | 3.98±0.11[a] | 3.11±0.19[ab] | 3.52±0.16[ab] |

1)See the legends <Table 1>
2)Mean±SD
3)Values with different alphabet within the column different of p<0.05 by Duncan's multiple range test.

보였다. 알루미늄의 인체 흡수 경로나 평균흡수량에 대해서는 아직 알려져 있지 않으나 체중증가량에서 대조군에 비하여 알루미늄 급여군이 유의적으로 감소한 것은 알루미늄이 에너지 대사에 영향을 미친 것으로 사료된다.

### 2. 각 조직중의 알루미늄 함량

〈Table 4〉와 같이 각 조직 중의 알루미늄 함량에서 대조군과 두충차 추출액 급여군 간에는 별다른 차이를 보이지 않았으며 각각의 농도를 달리한 알루미늄 급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군의 함량은 전체적으로 감소하였다.

각 조직중의 알루미늄 함량에서 대조군은 0.97~2.49 mg/100 g, 두충차 추출액 급여군은 0.94~2.01 mg/100 g으로 대조군과는 별다른 차이를 보이지 않았고, 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군이 1.26~5.67 mg/100 g에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군은 0.78~4.79 mg/100 g으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 감소하였다.

특히, 신장 조직에서 농도를 달리한 알루미늄 급여군이 다른 실험군에 비하여 유의적으로 증가하였는데 이는 알루미늄이 신장 조직 기능의 약화를 가져온다고 볼 수 있고, 신장 기능에 이상이 있는 사람은 알루미늄이 정상적으로 배설되지 못하고 조직에 축적되는 보고(Sedman 등 1984; Krischbaum & Werth 등 1989)와도 유사하였다.

일반적으로 체내에 중금속이 축적되면 식욕감퇴, 체중감소, 면역능력감소 등의 중독 증상이 나타나며, 간이나 신장에 축적되기 쉽고, 일부 유독성 금속은 비교적 낮은 농도에서도 체조직과 반응하여 체내에 서서히 독성작용을 나타내고 생물학적 반감기가 길어 일단 중독이 되면 완치가 불가능하다고 한다(Chung 등 1999; Choi 등 2002).

뿐만 아니라 Berlyne 등(Beryne 등 1972)은 알루미늄을 식수에 녹여 흰쥐에게 경구적으로 투여한 결과 안구출혈과 식욕 감퇴, 죽음에 도달함을 관찰하였으며 뇌, 신장, 간, 폐조직의 농도가 정상쥐보다 높았다고 보고하였다. 알루미늄과 두충과의 관련성에 있어서 두충에는 polyphenolics pyrogallol, protocatechulic acid, coumaric acid, chlorogenic acid, triterpines, quercetin, kaemphenol, astragarin을 함유한 phytochemicals이 있다(Park 등 2006). 따라서 알루미늄 단독 급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군의 함량이 감소하였는데 이는 두충에 존재하는 폴리페놀 항산화성 화합물 성분이 알루미늄 금속이온과 착염을 형성하여 알루미늄 축적량을 어느정도 감소시킨 것으로 사료된다.

### 3. 혈장 레닌활성도과 알도스테론 호르몬 농도

알루미늄과 두충차 추출액을 급여한 흰쥐의 레닌활성도와 알도스테론농도는 〈Table 5〉와 같다. 레닌활성도에서 대조

<Table 5> Effects of *eucommia ulmoides oliver* tea extracts on the plasma renin and aldosterone hormone in Aluminum treated rats

| Group | Renin activity (unit: ngAl/mL/hr) | Aldosterone hormone (unit: pg/mL) |
|---|---|---|
| CON | 218.90±47.23[c] | 394.36±28.90[c] |
| EO | 209.53±32.87[c] | 384.08±19.87[c] |
| LAl | 464.51±24.90[ab] | 704.23±29.76[a] |
| HAl | 506.94±55.23[a] | 722.62±24.90[a] |
| LAl-EO | 246.63±24.89[bc] | 451.66±55.21[b] |
| HAl-EO | 266.65±32.96[b] | 525.98±29.87[b] |

[1)]See the regends <Table 1>
[2)]Mean±SD
[3)]Values with different alphabet within the column different of $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

군이 218.90 ngAl/mL/hr, 두충차 추출액 급여군은 209.53 ngAl/mL/hr, 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 464.51~506.94 ngAl/mL/hr, 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군은 246.63~266.65 ngAl/mL/hr으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 대조군과 두충차 추출액 급여군이 유의적으로 감소하였다. 알도스테론 농도는 대조군이 394.36 pg/mL, 두충차 추출액 급여군은 384.08 pg/mL 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군은 704.23~722.62 pg/mL, 농도를 달리한 알루미늄과 두충차 추출액 병합 급여군은 451.66~525.98 pg/mL으로 농도를 달리한 알루미늄 급여군에 비하여 각 실험군이 감소하였다. 신장의 기능은 노폐물의 배설과 항상성 유지, 산-염기 평형 기여 및 내분비 기관의 역할을 한다. 신장에서의 체액 조절은 나트륨 배설량에 의해 좌우되며, 이는 사구체 여과율, 신혈류 역동학적 요인과 교감신경계 및 레닌-안지오텐신-알도스테론계, 항이뇨호르몬, 프로스타글란딘에 의해 조절된다. 세뇨관에서 뇨량의 감소나 체액량의 변화를 감지하는 수용체에 의한 조절 또는 교감신경의 자극으로 신장에서 분비되는 레닌은 간에서 생성되는 안지오텐신노겐을 안지오텐신으로 활성화시킨다.

따라서 레닌활성도가 높으면 신장기능이 저하되고 부신피질에서 분비되는 알도스테론은 세뇨관에 작용하여 혈장 내 Na+ 농도를 높이고 동시에 K+ 농도를 낮추는 작용을 하여 전해질 및 삼투압 농도를 적절하게 유지시키는 호르몬으로 체액량의 변동, 전해질의 변동 및 신장에서 분비되는 레닌의 효소 작용에 의해 생성되는 안지오텐신의 영향을 받는다고 한다(Brenner 등 1981). 또한 생체는 중금속 침입시 그 독성을 해독하기 위한 반응으로써 MT(metallothionein)를 합성화하여 무독화시키는데 중금속이 체내에 흡수될 경우 주로 간장과 신장조직에서 MT의 합성이 크게 증가됨으로써 유독성의 중금속을 무독성의 물질로 만들어 그 독성을 완화시키며 간장조직에서 신장조직으로 중금속을 운반하여 중금속을 체외로의 배설을 돕는다고 한다(Rhee & Hung 1989).

<Table 6> Effects of *eucommia ulmoides oliver* tea exreact on the serum ALT and AST activities in Aluminum treated rats
(unit: King-Amstrong)

| Group[1)] | ALT | AST |
|---|---|---|
| CON | 62.71±8.98[2)c3)] | 222.14±34.89[b] |
| EO | 64.34±13.24[bc] | 194.28±26.09[b] |
| LAl | 96.40±23.61[a] | 429.40±44.61[a] |
| HAl | 108.60±29.41[a] | 475.80±39.80[a] |
| LAl-EO | 73.05±15.11[b] | 324.80±37.98[ab] |
| HAl-EO | 67.80±16.39[bc] | 385.20±49.21[ab] |

[1)]See legends <Table 1>
[2)]Mean±SD
[3)]Values with different alphabet within the column different of $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

따라서 알루미늄 단독 급여군에 비하여 두충차 추출액과 알루미늄 병합 급여군의 유의적인 감소는 두충의 폴리페놀 성분의 흡착작용으로서 알루미늄과 불용성 착화합물을 형성하여 체내 알루미늄 흡수를 억제하고 해독기구를 강화시킴으로써 신장 조직내의 알루미늄 축적을 완화시킨것으로 사료되나 이에 대한 확실한 기전은 좀더 많은 연구가 필요하다.

### 4. 혈청 중 ALT, AST 활성변화

혈청중의 ALT, AST 활성은 정상 상태에서는 효소의 활성이 낮으나 심장, 간, 근육, 혈구 등의 조직이 병적 상태에 빠지거나 혹은 붕괴되어 질병이 발생하면 세포내에 존재하는 효소가 다량으로 혈중에 유출되기 쉬운 혈행구조를 가지고 있어 만성간염, 급성간염, 지방간, 알콜성간염, 간암 등 주로 간세포의 변성이나 괴사를 반영한다(Bergmeyer 1995). 알루미늄 급여에 따른 두충차 추출액 급여가 ALT와 AST 활성에 어느 정도의 영향을 미치는지를 조사한 결과는 〈Table 6〉과 같다.

ALT는 대조군이 62.71인데 비하여 두충차 추출액 급여군은 64.34로 약간 증가하였다. 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 96.40~108.60, 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군이 67.80~73.05로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. AST는 대조군이 222.14인데 비하여, 두충차 추출액 급여군은 194.28으로 감소하였다. 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군은 429.40~475.80인데 비하여 두충차 추출액과 알루미늄 병합 급여군은 324.80~385.20으로 감소하였다.

따라서 정상적인 상태에서는 혈청중의 효소 활성이 낮으나 질병이 발생되면 간세포가 변성 혹은 파괴되어 세포내에 존재하는 효소가 다량으로 혈중에 이동하기 때문에 AST와 ALT가 증가한다(Bergmeyer 1995). 본 실험결과 알루미늄 급여로 증가된 AST와 ALT의 농도를 두충차 추출액의 급여로 효소의 활성이 감소된 것은 두충차 추출액이 간조직의 손상을 어느정도 예방한 것으로 사료된다.

<Table 7> Effects of *eucommia ulmoides oliver* tea water exreact on the serum LDH and ChEase activities in Aluminum treated rats

| Group[1)] | LDH (unit: Wro. U) | ChEase (unit: IU/L) |
|---|---|---|
| CON | 2191.72±167.03[2)bc3)] | 416.28±40.89[a] |
| EO | 2003.40±176.52[c] | 427.60±26.09[a] |
| LAl | 3557.20±263.65[a] | 305.65±44.61[c] |
| HAl | 3726.40±230.85[a] | 302.80±39.80[c] |
| LAl-EO | 3099.52±231.49[b] | 386.28±37.98[b] |
| HAl-EO | 2895.51±244.96[bc] | 406.40±29.21[ab] |

[1)]See legends <Table 1>
[2)]Mean±SD
[3)]Values with different alphabet within the same column different of α=0.05 by Duncan's multiple range test.

### 5. 혈청 중 LDH, ChEase 활성도

LDH 활성 증가는 심장, 간, 신장의 각 질환 및 악성종양, 악성빈혈, 백혈병등에서 볼 수 있는데(Rhee 등 1992), 〈Table 7〉과 같이 대조군이 2191.72인데 비하여 두충차 추출액 급여군은 2003.40으로 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군은 3557.20~3726.40인데 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군이 2895.51~3099.52로 알루미늄 급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. ChEase 농도는 대조군에 비하여 두충차 추출액은 증가하였으나 유의적인 차이는 없었고, 알루미늄 단독 급여군이 302.80~305.65인데 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군이 386.28~406.40으로 유의하게 증가하였다. ChEase는 아세틸콜린합성을 촉진하고 생성된 아세틸콜린은 신경에서 자극 전달을 차단하는 것으로 알려졌다. 따라서 알루미늄이 뇌조직에 축적되면 신경섬유가 변성을 일으켜 choline acetyl transferase(CAT)와 acetyl choline esterase(AchE)의 활성도가 감소되며 알츠하이머 환자의 경우 콜린성 기능의 장애가 있으며 CAT의 활성도가 현저하게 저하된다고 보고(Marquis & Black 1984; Bowen 1983)하였다. Candy 등(Candy 등 1986)은 신경동물에게 알루미늄을 투여했을 뇌조직에서 신경섬유가 엉켜있는 구조물(neurofibrillary tangle)이 발생한다고 하였다. 본 연구에서 알루미늄 급여군이 대조군과 두충차 추출액에 비하여 36~41% 정도의 ChEase 농도가 감소한 것은 알루미늄으로 인해 신경조직의 결합이 진행되고 있음을 보여주고 있으며 감소된 ChEase 농도를 어느정도 증가시킨 것은 두충의 폴리페놀성분에 의한 알루미늄 중독 완화 효과 있는 것으로 사료된다.

## Ⅳ. 요 약

본 연구는 농도를 달리한 알루미늄 급여가 두충의 효과에 미치는 영향을 실시한 결과 식이섭취량에서 두충차 추출액과 알루미늄 병합급여군은 알루미늄 단독급여군에 비하여 증가하였으나 각 실험군간에 유의성은 나타나지 않았다. 음용수 섭취량은 알루미늄 단독 급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군이 약간 증가하였다. 체중 증가량은 대조군과 두충차 추출액 급여군에 비하여 농도를 달리한 알루미늄 급여군이 감소하였으며 식이효율은 각 실험군간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

간, 심장, 신장, 폐, 위, 소장, 대장 및 비장 조직 중의 알루미늄 함량에서 대조군과 두충차추출액급여군 간에는 별다른 차이를 보이지 않았으나 각각의 농도를 달리한 알루미늄 급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군의 함량은 감소하였다. 레닌활성도에서 대조군에 비하여 두충차 추출액 급여군이 감소하였고, 각각 농도를 달리한 알루미늄 급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군이 유의적으로 감소하였다. 알도스테론농도는 각각 농도를 달리한 알루미늄 급여군에 비하여 알루미늄과 두충 추출액 병합급여군이 유의적으로 감소하였다. ALT와 AST는 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합 급여군이 유의적으로 감소하였다. LDHase는 알루미늄 급여군에 비하여 알루미늄과 두충차 추출액 병합급여군이 감소하였으나 유의한 차이는 없었다. ChEase는 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군에 비하여 두충차 추출액과 알루미늄 병합급여군 및 대조군과 두충차 추출액군이 유의하게 증가하였다. 따라서 알루미늄을 만성적으로 섭취하게 되면 독성효과를 나타낼 수 있으나 두충차추출액이 알루미늄에 의해 손상된 조직과 AST, ALT, LDHase. ChEase 활성도, 레닌, 알도스테론 호르몬 농도에 어느정도 영향을 미치는 것으로 나타나 두충의 폴리페놀성분이 알루미늄에 의한 어느 정도 중독 완화 효과가 있으며, 본 실험은 흰쥐를 이용한 동물모델로 실시하였으나 알루미늄은 여러 경로를 통해 사람에게 노출 될 수 있으므로 알루미늄이 인체에 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구는 계속되어져야 한다고 사료된다.

## 감사의 글

이 연구는 2008년 원광보건대학 교내 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 깊은 감사를 드립니다.

### ■ 참고문헌

喬木敬次郎, 木村正廉, 原田正敏, 大土家公男. 1982. 和漢藥物學, 東京, 南山堂. p 159

Amador E, Dorfman E, Wacker WE. 1963. Serum lactic dehydrogenase activity an analytical assessment of current assays. Clin Chem, 8(12):391-399

Armstrong RA, Winsper SJ, Blair JA. 1996. Aluminum and alzherimer's disease review of possible payhogenic mechanisms.

Dementia, 7(1):1-9

Aksari P, Stoppe G. 1996. Risk factors in alzheimer's dementia. Fortschritteder Neurologie-psychiartrie, 64(11):425-432

Brenner BM, Rector FC. 1981. The kidney. Saunders, pp. 371-399, 650-679:723, 741

Bergmeyer HU. 1995. Methods of enzymatic analysis. Verlag chemic, Academic press weinheim, 6(1):20-28

Berlyne, NC, Yagil. R, Ben Ari J, Weinberger G, Knopf E, Danovith GM. 1972. Aluminum toxicity in rats. Lancet, 299(7750): 546-567

Bioshop NJ, Morley R, Day JP, Lucas A. 1997. Aluminum neurotoxicity in preterm infants receving intravenous-feeding solution. N Engl J Med, 336(22):1557-1561

Bowen DM, Benren JS, Allen SJ, Good hardt MJ. 1983. Biochemical assessment of serotonergic and cholinergic dysfunction and cerebral atrophy in Alzherimer's disease. J Neurochem, 41(1):266-272

Candy JM, Oakley AE, Klinowski J, Carpenter TA, Perry RH, Attack JR, Perry EK, Blessed G, Fairbrain A, Edwawdson JA. 1986. Aluminosilicates and sensile plague formation in Alzherimer's disease. Lancet, 327(8477):354-356

Cho KW, Malvin RL. 1979. Renin inactivation during in vitro. Experimental Am J Physiol, 236(4):501-504

Cho KW, Kim SH. 1982. Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity. Kor J Physiol, 16(1):63-69

Cho KW, Kim SH, Koch GY. 1987. Radioimmunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the fresh water turtle. J Exp Zool, 242(3):255-262

Cho KW, Kim SH, Koh GY, Seul KH, Huh KS, Chu D, Rap NS, Moon HB, Kim KK, Kook YJ. 1989. Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in different phase of korean hemmorrhagic fever. Nephron, 51(2):215-219

Choi BS, Park YJ, Kweon IH, Hong YP, Park JD. 2002. Reference values of mercury in liver and kidney of korean. Korean J Environ Toxicol, 17(2):119-115

Chung Y, Hwanf MS, Yung GY, Jo SJ. 1999. Health risk assessment of lead exposure through multi-pathways in korea. Korean J Environ Toxicol, 14(4):203-216

Deloncle R, Huguet F, Babin P, Fermandez B, Quellard N, Guillard O. 1999. Chronic administration of aluminum L-glutamate in young mature rats, effects in iron levels and lipid peroxidation in selected brain areas. Toxicology letters, 10(1):65-73

El-Maraghy SA, Gad MZ, Fahim AT, Hamdy MA. 2001. Effects of cadmiun and aluminum intake in the antioxidant state and lipid peroxidation in rat tissues. J Biochem Molecular toxicoligy, 15(2):207-214

Ganje JJ, Page AL. 1976. Rapid acid dissoulation of plant tissue for cadium determination by atomic absorption spectrophotometry. At Absorpt Newsl, 131(37):108-110

Ginsberg AL. 1970. Very high levels of SGOT and LDH in patients with extrahepatic billiary tract obstruction. J Amer Dig Dis, 15(9):803-805

Goodfriend TL, L Levine, Fasma GD. 1964. Antibodies to bradykinin and angiotensin. A use of carbodiimide in immunololgy. Science, 144(2):1344-1346

Han SH, Shin MK. 2005. Effects of water in extracts of pueraria radix on serum enzymes activities in aluminum-administerates. J Korean Soc Food Culture, 20(1):113-122

Hsieh CI, Yen GC. 2000. Antioxidant actions of du-zhong (Eucommia ulmoides oliver) toward oxidative damage in biomoleucules. Life Sci, 66(5):1387-1400

John MC,Quinlan GJ, Clark I, Halliwell B. 1985. Aluminum salts accerate peroxidation of menbrane lipids stimulated by iron salts. Biochem Biopaths Acta, 835(3):441-447

Jeffery EH, Abreo K, Burgess E, Cannata J, Greger LJ. 1996. Systemic aluminum toxicity; effects on bone, hematopoietic tissue, and kidney. J Toxicology environmental health, 48(6):649-665

Karmen A. 1955. A note on the spectrophtometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. J Clinic Invest, 95(1):131-139

Krischbaum BB, Werth AC. 1989. Acute aluminum toxocity associated with oral citrate and aluminum-containg antacids. American Journal of Medical sciences, 297(1):9-11

Landsberg JP, Mc Donald B, Watt F. 1992. Absence of aluminum in neuritic plague cores in Alzherimer's disease. N ature, 360(1):65-68

Lee IK, Kim JG. 2000. Effects of extract of eucommia ulmoides oliver on the reduction of lead and cadmium in organs rats. J Korean Public Health Assoc, 26(1):22-28

Lee HS. 1992. Analysis of aluminum concentration in serum and phospholipid composition and catecholamin concentration in the brain of rats feed aluminum in drinking water. Dept of food. sukmong univ.

Marquis & Black. 1984. Aluminum activation and inactivation of bovine caudate acetylcholinerserase. Bull Environ Contam Toxicol, 32(1):704-710

Metori K, Furutsu M, Takahashi S. 1997. The preventive effect of ginseng with Du-zhong leaf on protein metabolism in aging. Biol Pharm Bull, 20(3):237-242

Nagasawa H, Mitamura T, Sakamoto S, Yamamoto K. 1995. Effects of lycopene on spontaneous mammary tumour development in SHN virgin mice. Anticancer Res, 15(4):1173-1178

Nakamura T, Nakazawa Y, Onizuka S, Satoh S, Chiba A, Sekihashi K, Miura A, Yasugahara N, Sasaki Y. 1997. Antimutagenicity of Tochu tea; 1. The clastogen-suppressing effect of Tochu tea in CHO cells and mice. Mut Res, 38(1):7-20

Neill D, Leake A, Hunghes D, Keith AB, Taylor GA, Allsop D, Rima

BK, Morris C, Candy JM, Edwardson JA. 1996. Effect of aluminum on expression and processing of amyloid precursor protein. J of Neuroscience Reserach, 46(4):395-403

Park SA, Choi MS, Jung UJ, Kim MJ, Kim DJ, Park HM, Park YB, Lee MK. 2006. Eucommia ulmoides oliver leaf extractincreases endogenous antioxidant activity in type 2 diabetic mice. J Med Food, 9(3):472-479

Reitman S, Frankel S. 1957. A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Amer J Clin Pathol, 28(1):56-60

Rhee SJ, Hung PC. 1989. Metallothionein accumulation in CHO, cd cells in response to lead treatment. Chem Biol Interations, 72(3):347-361

Sasaki Y, Satoh, S, Chiba A, Murakami M, Sekihashi K, Tanaka M, Moribayashi N, Kudou C, Hara Y, Nakazawa Y, Nakamura T, Onizuka O. 1996. Antimutagenicity of Tochu tea 2. Suppressing effect of tochu tea. Mut Res, 371(3):203-214

Salib E Hillier V. 1996. Acase-control study of alzherimer's disease and aluminum occupation. Brith J Psychiatry, 168(2):244-249

Sedman AB, Wikening GN, Bradely PD, Warady BA, Lum GM, Alfrey AC. 1984. Encephalopathy in childhood secondary to aluminum toxicity. Journal of pediatrics, 105(5):835-836

Sealey JE, Laragh JH. 1973. Searching out low renin patients limitation of some commonly used methods. Am J Med, 55(3):303-314

Wroblewski F, LaDue JS. 1955. Lactic dehydrogenase activity in blood. Proc Soc Exper Biol Med, 90(1):210-213

Yoshida H, Yoshimasu F. 1996. Alzherimer's disease and trace elements. Nippon rinsho Japanese. J Clin Med, 54(1):111-116

2010년 7월 26일 신규논문접수, 10월 12일 수정논문접수, 10월 22일 수정논문접수, 11월 4일 채택