

Kocat-D1의 streptozotocin으로 유도한 당뇨모델에 대한 항당뇨 활성

원혜진 · 이현순¹ · 김종탁² · 홍충의³ · 구윤창³ · 이광원^{3*}
국립과학수사연구소 약독물과, ¹고려대학교 보건과학대학 식품영양학과,
²(주)바이오버드, ³고려대학교 식품공학부

The Anti-diabetic Effects of Kocat-D1 on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Hye-Jin Won, Hyun-Sun Lee¹, Jong-Tak Kim², Chung-Oui Hong³, Yun-chang Koo³, and Kwang-Won Lee^{3*}

Division of Drug and Toxicology, National Institute of Scientific Investigation
¹*Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Korea University*
²*BioBud Inc.*

³*Division of Food Bioscience and Technology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University*

Abstract This study was conducted to investigate the anti-diabetic activity of Kocat-D1, which is widely used in traditional medicine to treat diabetes in Shandong, China. Sprague Dawley rats (8 weeks of age) were separated into 4 groups: a normal control, streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat group (DM control), Kocat-D1-1 (diabetic rat treated with 0.25 g/kg/day hot water extract), and Kocat-D1-2 (diabetic rat treated with 1 g/kg/day hot water extract). After eight weeks of treatment, the fasting blood glucose levels of the Kocat-D1-1 (334.3±32.9 mg/dL) and Kocat-D1-2 group (259.5±35.0 mg/dL) were significantly lower when compared to the DM control group (451±42.6 mg/dL). Furthermore, the levels of glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT), albumin and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol in the serum of the Kocat-D1-2 group were significantly normalized when compared to the DM control group. However, significant differences were not observed between the Kocat-D1-1 group and the DM control group. Histochemical staining of the liver of the Kocat-D1-2 group revealed no fat accumulation. The insulin level was significantly upregulated in the Kocat-D1-2 group (0.13±0.02 ng/mL) when compared to the DM control group (0.05±0.04 ng/mL). The relative volume of β-cells in the pancreas of the Kocat-D1-2 group (49.4±4.2%) also increased significantly when compared to the DM control group (12.9±7.9%). These results suggest that Kocat-D1 exerts an anti-hyperglycemic effect through the enhancement of insulin secretion.

Key words: anti-hyperglycemia, diabetic rat, streptozotocin, insulin, traditional medicine, Cucurbitaceae

서론

최근 시대가 발전함에 따라 경제적인 여유와 생활수준의 향상 등으로 생활이 풍요롭게 되자 식생활과 생활습관이 서구화 되면서 이로 인해 대사성 질병인 당뇨병이 급격히 증가하기 시작했다(1). 당뇨병은 대부분의 선진국에서 4-5위의 사망원인을 차지하고 있으며 현재 전세계적으로 환자수는 1.9억 명으로 추정되고 있다(2). 이러한 증가추세로 볼 때 2030년에는 전세계적으로 3.3억 명이 넘을 것으로 세계당뇨병학회는 예측하고 있다(3). 과거 당뇨병은 40-50세에 집중적으로 발생되고 있는 성인병으로 취급되어 왔으나 경제가 발전하고 식생활이 서구화됨에 따라 유전적인 요인과 더불어 후천적인 요인인 비만, 식생활, 운동부족, 스트

레스 등 생활습관에 영향을 받는 질병으로 40-50세 뿐만 아니라 점점 연령층이 낮아져 소아 당뇨 환자도 증가하고 있는 추세이다(4).

인슐린은 췌장의 베타세포에서 생성되는 호르몬으로 세포의 포도당 이용 및 혈당조절에 있어서 가장 중요한 물질이다. 당뇨는 체내 인슐린 부족으로 유발된 당뇨인 제1형 당뇨병(insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM)과 유전적이거나 비만 등으로 인해 인슐린 수용체에 이상이 생겨 나타나고, 인슐린 저항성 같은 인슐린의 문제로 과생된 제2형 당뇨병(non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM)으로 나눌 수 있다. 제2형 당뇨의 경우 진단 당시에는 50%정도 베타세포의 기능이 남아있지만 유병기간이 12년 정도 지나면 제1형 당뇨병 환자처럼 인슐린 결핍에 이르러 인슐린 치료가 필요하게 된다(5). 국내에서도 제2형 당뇨병 환자로 진단확정시 약 35%정도가 일차 선택 약물로 인슐린 분비를 유도하는 sulfonyl urea 계 약물이 사용되고 있다(6). 이 약물의 작용기전은 췌장의 랑게르한스섬의 베타세포의 수용체와 결합하여 칼슘이온의 세포 외 이동을 저해하여 탈분극을 유도해 칼슘이온의 세포 내 이동을 증가시켜 인슐린 분비가 촉진되도록 작용한다고 알려져 있다(7,8). 따라서 이 약물은 베타세포의 인슐린 분비기능이 유지되고 있는 경우에만 그 효과를 기대할 수 있으며(9), 저혈당 쇼크를 유발할 수 있다는 단점을 가지고 있다(10,11).

*Corresponding author: Kwang-Won Lee, Division of Food Bioscience and Technology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea
Tel: 82-2-3290-3027
FAX: 82-2-927-1970
E-mail: kwangwon@korea.ac.kr
Received October 10, 2009; revised December 21, 2009; accepted December 24, 2009

많은 천연물은 의약품의 선도물질로 항상 중요시 되고 있다(12). 아직까지 현대 의학으로 당뇨병을 근원적으로 치료할 수 있는 방법은 개발되지 못하고 있고, 혈당이 정상적인 수준으로 유지되도록 혈당을 조절하는 것만이 최선의 치료방법으로 알려져 있으며 약물복용에 따른 부작용과 환자의 내성이 끊임없는 문제가 되고 있기 때문에 천연물에서 인슐린 분비를 촉진시키거나 인슐린처럼 작용하는 당뇨치료제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(13, 14).

Kocat-D1은 정확한 학명은 규명되지 못하였지만 중국 산둥지방에서 민간적으로 당뇨병 환자들이 사용하는 다년생 자생 식물이다. 따라서 본 연구는 민간요법에서 널리 사용되는 Kocat-D1을 streptozotocin으로 유도한 당뇨병모델에 8주간 경구투여하여 혈당조절능과 insulin 분비에 대한 영향을 확인하여 Kocat-D1의 항당뇨 활성을 과학적으로 검증하고자 한다.

재료 및 방법

시료의 조제

본 연구에서 사용한 시료는 중국 산둥지방에서 자생하는 다년생 식물로 (주)Kocat에서 기탁받아 사용하였다. 이 식물은 채취 즉시 중국에서 감압 건조하여 국내로 들여와 사용하게 되었다. 아직 정확한 학명이 규명되지 못한 관계로 Kocat-D1으로 가칭하여 사용하였다. 본 식물은 현재 한국생명공학연구원 해외 생물 소재 허브 센터 이종구 박사팀에서 정확한 학명 규명을 진행하고 있다. Kocat-D1은 분말로 분쇄한 뒤 추출 전까지 -70°C 에서 보관하였으며 추출물 조제는 분쇄한 가루를 증류수에서 2시간 환류추출하여 여과(No. 41, Whatman, Maidstone, England)하여 농축 및 동결건조 하여 사용하였으며 이때 추출 수율은 35%(w/w)였다.

실험동물

본 실험에 사용된 실험동물은 생후 8주령의 특정병원균 부재(Specific Pathogen Free, SPF) 웅성 Sprague-Dawley rats을 Samtako Bio Korea Inc.(Osan, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 실험동물은 고려대학교 동물실험윤리위원회 승인을 받은 후 '실험동물 관리 및 이용에 관한 지침(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, NRC)'에 맞추어 관리하였다. 실험기간 동안 실험동물은 stainless steel cage(22.5 cm×20 cm×19 cm)에 한 마리씩 개별 사육 하였으며 고형사료(Samtako Rodent NIH-31 Modified Auto)와 물을 자유롭게 공급하였다. 사육환경은 온도 20-22°C, 상대습도 50±1%, 명암주기는 12시간 간격으로 하여 사육하면서 일주일간 적응 시킨 후 평균체중 280±10 g인 것을 사용하였다.

당뇨유발 및 실험군 구성

당뇨유발은 투여 전일 12시간 공복을 시킨 실험동물에 streptozotocin(STZ; Sigma Aldrich Corp. St. Louis, MO, USA)을 0.1 M citric acid buffer(pH 4.5)에 용해 시켜 50 mg/kg으로 복강투여 하였다. STZ 투여는 용해 후 5분 이내에 투여하였다(15). 정상대조군은 STZ 대신 같은 양의 citrate buffer를 투여 하였다. STZ 투여 48시간 후 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당측정기(Medisense Optium Blood Glucose Electrodes, Alameda, CA, USA)를 이용하여 혈당이 300 mg/dL 이상 유지되는 것을 당뇨가 유도된 것이라 판단, 실험에 사용하였다(16). 당뇨가 유발된 쥐는 난괴법을 이용하여 10마리씩 3군으로 분류하였다.

실험군은 정상대조군(normal control; n=8), 당뇨대조군(DM control; n=10), Kocat-D1 처리군으로는 추출물 0.25 g/kg/day 투여한 Kocat-D1-1군(n=10) 및 1 g/kg/day 투여한 Kocat-D1-2군(n=10)으로 나누었다.

체중, 식이, 음수량 및 혈당측정

대조군과 실험군의 체중, 식이량 및 음수량은 8주 동안 측정하여 실험동물의 먹이섭취량(g/day), 음수량(mL/day) 및 8주 동안의 체중변화를 측정하였다. 혈당측정은 매주 1회 8주 동안 실시하였다. 혈당측정은 측정 전 12시간 절식 후, 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당측정기를 사용하여 혈당을 측정하였다.

당부하 검사(Oral Glucose Tolerance Test: OGTT)

실험을 시작한 지 8주째에, 실험동물은 12시간 절식시키고 공복혈당을 측정한 후 5% 포도당 용액(75 mg/kg body weight)을 경구투여 한 시점으로부터 30, 60, 120, 180분이 경과한 후 꼬리 정맥으로부터 채취한 혈액을 혈당측정기를 사용하여 혈당을 측정 후 혈당의 변화(측정시 혈당-공복혈당)를 관찰하였다(13).

혈장의 생화학적 분석

실험 종료 후 12시간 절식시킨 실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복대동맥으로부터 채혈한 혈액으로부터 혈장을 분리하였다. 분리된 혈장에서 알부민은 BCG-Doumas method(17)로, glutamate pyruvate transaminase(GPT) 및 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)는 IFCC 법(18)으로, 총콜레스테롤(total cholesterol)과 high density lipoprotein(HDL)-콜레스테롤은 Bayer사(Berkeley, CA, USA) kit를 이용하여 autoanalyzer(ADVIA 1650, Bayer, Yakuhi, Japan)로 측정하였다. 혈장 중 insulin 함량은 방사선 면역측정법을 이용하여 측정 하였다(19).

광학 현미경 관찰

채혈 직후 실험동물의 간과 췌장을 적출하여 4%의 파라포름알데하이드(p-formaldehyde, pH 7.4)를 이용하여 24시간 동안 고정 후 파라핀(paraffin)으로 포매한 다음 microtome을 사용하여 5 μm 두께로 박절한 각각의 조직을 hematoxylin & eosin(H&E)으로 염색(20) 후 광학현미경(Olympus cx-40, Olympus, Shinjuku, Japan)으로 관찰하였다. 췌장의 경우 각각의 조직 중 임의로 선정된 슬라이드에서 56-point grid를 이용하여 point counting morphometry를 실시하였다. 즉, 베타세포와 겹치는 point 수와 모든 조직 면적이 겹쳐지는 point 수를 측정하여 베타세포/면적×100으로 베타세포의 상대적 용적(relative volume)을 측정하였다(21).

통계처리

본 실험에서 측정한 모든 수치는 평균±표준편차(standard error of mean(SEM))로 나타내었다. 실험군 간의 통계학적 분석은 Sigma-Stat 3.5(Jandal Co., San Rafael, CA, USA)를 이용하여 one-way analysis of variance(ANOVA) 분석을 실시하였으며 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 p<0.05의 수준에서 통계학적 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

체중, 식이 및 음수량 측정

Table 1에서 보는 바와 같이 당뇨대조군(DM control)은 정상대조군(normal control)에 비해 다식, 다갈 증상을 보였으며 정상군

Table 1. Body weight, food intake, and water intake of each group

| Parameter | Normal control | DM control | Kocat-D1-1 | Kocat-D1-2 |
|---|----------------|------------|------------|------------|
| Number of animal | 8 | 10 | 10 | 10 |
| Initial body weight (g) | 281.6±0.5 | 275.1±0.9 | 278.7±0.5 | 282.5±0.4 |
| Final body weight (g) | 443.2±20.1 | 307.1±19.2 | 272.0±17.0 | 303.0±16.2 |
| Change of body weight (g) ¹⁾ | 161.9±13.4 | 38.4±16.3 | 14.7±4.6 | 16.6±5.8 |
| Food intake (g/day) | 22±1.1 | 49.2±2.9 | 53.7±2.3 | 41.2±3.4 |
| Water intake (mL/day) | 31.9±2.1 | 230.0±10.0 | 206.7±18.7 | 198±14.2 * |

¹⁾Change of body weight (g) was calculated as final body weight minus initial body weight. Physiologic parameters for each group for 8 weeks. Values are mean±SEM. Normal control: not induced diabetic rat, DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50mg/kg, i.p.), Kocat-D1-1: DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day, Kocat-D1-2: DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day. *Significantly different from DM control ($p<0.05$).

에 비해 낮은 체중 증가를 보였다. Kocat-D1-1을 투여한 군에서는 당뇨대조군과 유사하게 정상대조군보다 식이 섭취량 및 음수량은 증가하였으나 정상군보다 낮은 체중 증가를 보였다. Kocat-D1-2(Kocat-D1 추출물을 1 g/kg/day 투여한 군)의 음수량은 198±14.2 mL/day로 당뇨대조군의 230±10.0 mL/day 보다 유의적인 수준으로 감소하였으나, 그 외의 parameter에서는 유의적 차이를 보이지 않았다. Fischer와 Stewart(22)는 STZ로 유발된 당뇨쥐에서 체중감소를 일어남을 보고하였다. 이는 STZ로 유발된 당뇨쥐의 경우 물과 용질 교환이 가능한 모세혈관의 최대 표면적이 상대적으로 감소되어 나타나는 골격근의 위축현상 때문에 일어나는 현상이다(23). STZ로 유도한 당뇨쥐에 Kocat-D1을 투여한 경우 이러한 현상을 억제할 수 없었으나 1 g/kg/day로 투여한 경우 당뇨의 특징 중에 하나인 다갈 현상은 감소시키는 것을 확인하였다.

혈당 변화 및 당부하 검사

STZ로 당뇨를 유발한 당뇨대조군은 관찰기간 동안 공복혈당이 370±50 mg/dL 이상을 유지하였으나 Kocat-D1을 투여한 군에서는 투여 5주부터 감소하는 것이 관찰되었으며, 관찰 마지막 주인 8주째에서는 당뇨대조군의 혈당이 451±42.6 mg/dL인데 비해 Kocat-D1-1(Kocat-D1 추출물을 0.25 mg/kg/day 투여한 군)은 334.3±

32.9 mg/dL, Kocat-D1-2는 259.5±35.0 mg/dL로 투여 농도에 의존적으로 낮아짐을 확인하였다(Fig. 1).

8주간의 실험이 끝난 실험동물에 5% 포도당 용액(75 mg/kg body weight)을 경구투여 한 후 30분 간격으로 혈당을 측정하였다. 그 결과 Kocat-D1-2의 경우 검사 1시간 후부터 당뇨대조군과 유의적 차이를 보였으며, 관찰 180분에서는 5% 포도당 투여 전보다 당뇨대조군은 55.5±5.1 mg/dL로 높았으나 Kocat-D1-2는 17.0±7.4 mg/dL로 유의적으로 혈당이 낮아졌음을 확인하였다(Fig. 2).

혈장의 생화학적 분석 및 조직학적 분석

인슐린은 지방산 합성, 중성지방의 합성과 분해, 그리고 케톤체의 생성과 이용에 중요한 역할을 하고 있다. 인슐린은 지방산 합성을 촉진시키는데, 만약 인슐린이 결핍될 시에는 지방산 합성이 감소하게 된다. 간에서 합성된 지방산은 중성지방을 형성하여 초저밀도 지단백질(very-low-density lipoprotein, VLDL)의 형태로 혈액으로 분비되는데, 체내 인슐린 부족은 체지방 분해와 식사 등에 의한 지방산의 유입과 아포지단백질의 부족으로 간에서 VLDL과 cholesterylester 합성이 촉진된다. 그리하여 간에서 비정상적으로 많은 양의 중성지방이 축적되어 지방간을 유발하게 된다(24). 당뇨에 의해 지방간이 진행됨에 따라 간세포 내에 들어

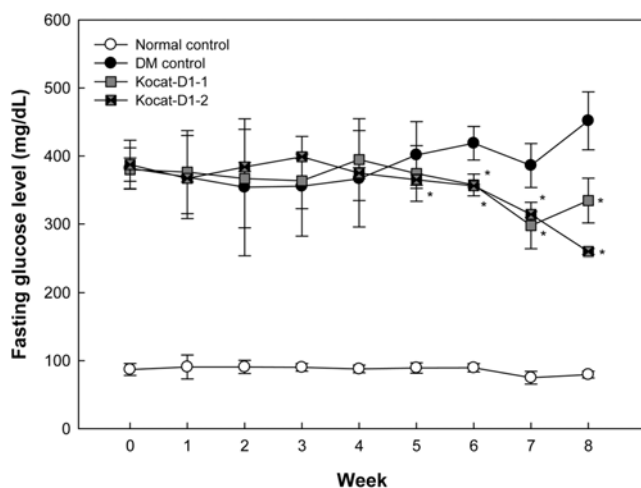


Fig. 1. Change of fasting glucose level STZ induced rat for 8 weeks. Values are mean±SEM. Normal control: not induced diabetic rat, DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50 mg/kg, i.p.), Kocat-D1-1: DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day, Kocat-D1-2: DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day. *Significantly different from DM control ($p<0.05$).

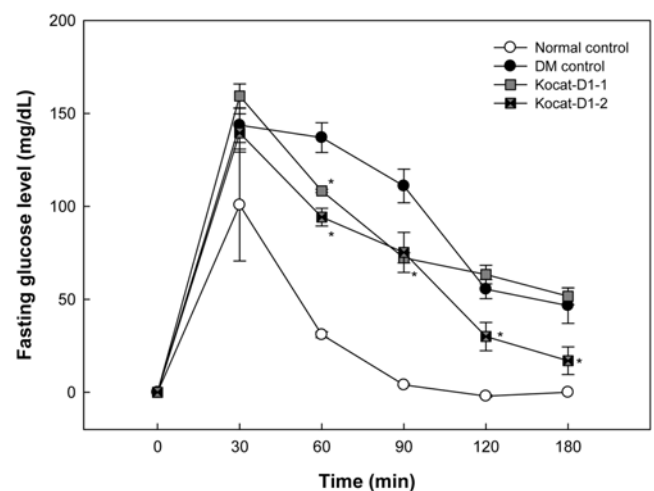


Fig. 2. Blood glucose changes in STZ induced rat by oral glucose tolerance test. Values are mean±SEM. Normal control: not induced diabetic rat, DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50 mg/kg, i.p.), Kocat-D1-1: DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day, Kocat-D1-2: DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day. *Significantly different from DM control ($p<0.05$).

Table 2. GOT, GPT, albumin, and cholesterol levels in serum for 8 weeks

| Parameter | Normal control | DM control | Kocat-D1-1 | Kocat-D1-2 |
|---------------------------------------|----------------|------------|------------|-------------|
| GOT ¹⁾ (U/L) | 112.3±8.4 | 411.3±31.3 | 307.7±44.2 | 247.0±33.4* |
| GPT ²⁾ (U/L) | 32.3±2.0 | 162.3±23.2 | 175.3±33.1 | 116.3±17.4* |
| Albumin (g/dL) | 3.9±0.1 | 2.7±0.3 | 2.8±0.1 | 3.0±0.1 |
| Total cholesterol (mg/dL) | 47.0±1.8 | 56.0±4.5 | 53.3±3.0 | 49.3±0.9* |
| HDL-cholesterol ³⁾ (mg/dL) | 26.8±3.9 | 11.7±1.3 | 22.3±2.0* | 26.8±1.2* |
| A.I. ⁴⁾ | 0.8±0.1 | 3.8±1.0 | 1.4±0.5* | 1.2±0.3* |

¹⁾glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)

²⁾glutamate pyruvate transaminase (GPT)

³⁾high density lipoprotein-cholesterol

⁴⁾atherogenic index: (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

Values are mean±SEM. Normal control: not induced diabetic rat, DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50 mg/kg, i.p.), Kocat-D1-1: DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day, Kocat-D1-2: DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day. *Significantly different from DM control ($p<0.05$).

Table 3. The number and area of langerhans islet in pancreas

| Parameter | Normal control | DM control | Kocat-D1-1 | Kocat-D1-2 |
|---------------|----------------|------------|------------|------------|
| Number (A) | 107±15 | 18±9 | 18±5 | 48±4* |
| Area (mm) (B) | 161±16 | 135±11 | 94±21 | 98±14* |
| A/B×100 | 66.2±3.8 | 12.8±7.9 | 18.9±1.5 | 49.4±4.2* |

The number and area of the langerhans islet in stained pancreas using hematoxylin and eosin stain were measured under point counting morphometry. Values are mean±SEM. Normal control: not induced diabetic rat, DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50 mg/kg, i.p.), Kocat-D1-1 (DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day), and Kocat-D1-2 (DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day). *Significantly different from DM control ($p<0.05$).

있는 GOT와 GPT는 간세포의 손상으로 인해 혈액으로 유출되어 혈중 농도가 증가하게 된다(25). 알부민은 간에서 생성되어 체내의 단백질 보급원으로 작용한다. 그러나 지방간이 진행됨에 따라 간의 기능이상으로 알부민 생성이 원활하지 못하여 혈액 내 알부민 수치가 낮아진다(26). 또한 증가된 중성지방은 콜레스테롤 전달을 증가시켜서 HDL-콜레스테롤의 turnover를 촉진시키기 때문에 혈액 중 HDL-콜레스테롤이 감소하게 되어 결국에는 동맥경화와 같은 위험한 당뇨병합병증을 유발시킨다고 알려져 있다(27).

Table 2의 결과를 보면 STZ에 의해 유도된 당뇨병 쥐는 정상대조군에 비해 혈장내의 GOT(411.3±31.3 U/L), GPT(162.3±23.2) 모두 현저히 증가하였다. 이에 비해 Kocat-D1-2군에서는 GOT(247.0±33.4 U/L), GPT(116.3±17.4 U/L) 모두 유의적인 수준으로 당뇨병대조군에 비해 감소하였다. 알부민 수치 또한 정상대조군은 3.9±0.1 U/L에 비해 당뇨병대조군은 2.7±0.3 U/L로 낮아졌으나 Kocat-D1-2군에서는 3.0±0.1 U/L로 증가하였다. Kocat-D1-1군에서는 당뇨병대조군에 비해 개선되는 경향은 보였으나 유의적인 차이는 없었다. HDL-콜레스테롤 수치 또한 정상대조군이 26.8±3.9 mg/dL인데 비해 당뇨병대조군은 11.7±1.3 mg/dL로 낮아졌다. 그러나 Kocat-D1-1과 2를 투여한 두 군 모두 각각 22.3±2.0, 26.8±1.2 mg/dL로 유의적인 수준으로 증가하였다. 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 수치를 이용하여 동맥경화 지수(Atherogenic index, AI)를 측정해본 결과 당뇨병대조군은 3.8±1.0에 비해 Kocat-D1-1과 2를 투여군은 각각 1.4±0.5, 1.2±0.3으로 정상대조군의 0.8±0.1과 유사한 수준으로 낮아졌음을 확인하였다(Table 2).

8주 관찰 후 각 실험동물로부터 간을 적출해 H&E 염색을 한 후 관찰해 본 결과(Fig. 3) 당뇨병대조군의 경우 간세포사이에 지방조직이 축적되어 있는 것이 관찰되었으나(Fig. 3B), Kocat-D1-2(Fig. 3D) 군은 거의 정상대조군(Fig. 3A)과 유사하였으며 축적된 지방구를 관찰 할 수 없었다.

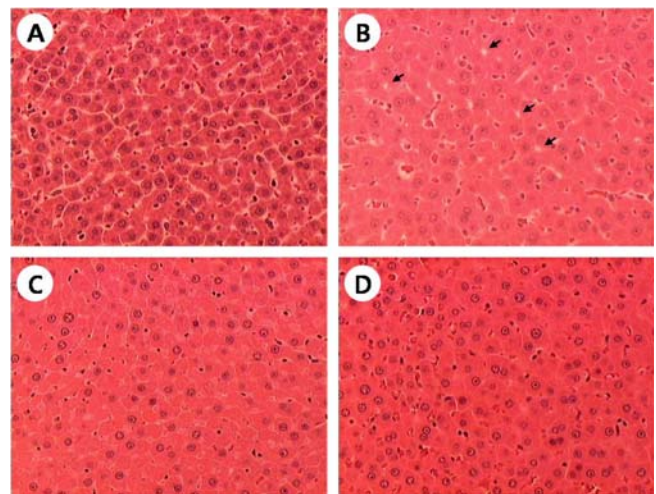


Fig. 3. Histological finding with H&E staining of STZ induced rat liver. A; Normal control: not induced diabetic rat, B; DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50 mg/kg, i.p.), C; Kocat-D1-1 (DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day), and D; Kocat-D1-2 (DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day). The livers were fixed in 4% paraformaldehyde and embedded in cold polymerizing resin, and 5- μ m sections were stained with hematoxylin and eosin. Arrow indicates the fat granules. Magnification $\times 400$.

혈액 중 인슐린 농도 및 췌장의 변화

인슐린은 췌장의 베타세포에서 분비되는 호르몬으로, 혈당의 조절뿐만 아니라 지질과 단백질 대사에도 중요한 역할을 수행한다. 제2형 당뇨병의 경우 초기에는 조직의 인슐린 저항성에 의해 체내 혈당 조직으로 이행되지 못하지만 유병기간이 길어질수록

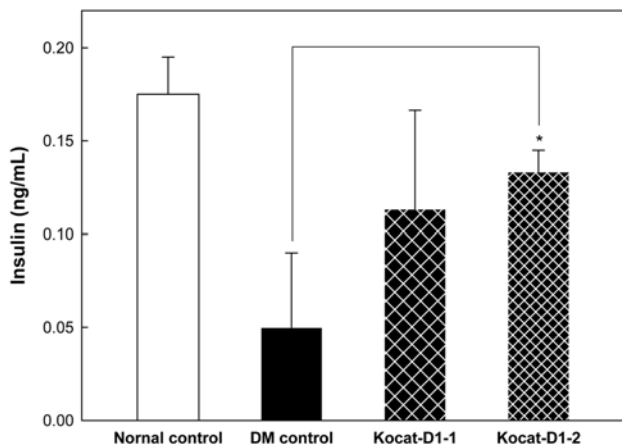


Fig. 4. The insulin level of STZ induced rat for 8 weeks. Values are mean±SEM. Normal control: not induced diabetic rat, DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50 mg/kg, i.p.), Kocat-D1-1: DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day, Kocat-D1-2: DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day. *Significantly different from DM control ($p < 0.05$).

접차 베타세포의 기능이 저하되어 결국에는 인슐린 농도가 낮아지게 된다(5). 따라서 많은 2형 당뇨 환자의 경우에도 인슐린 치료가 수행되고 있다(5,6). 각 실험군의 혈액 중 인슐린 농도를 측정된 결과 정상대조군 0.18 ± 0.02 ng/mL인데 비해 STZ의 투여로 인해 베타세포가 선택적으로 파괴되어 인슐린 생성이 저하되어(28) 당뇨가 유발된 당뇨대조군은 0.05 ± 0.04 ng/mL로 낮아졌다. Kocat-D1을 투여한 Kocat-D1-1은 0.11 ± 0.05 , Kocat-D1-2는 0.13 ± 0.02 ng/mL로 증가하였다(Fig. 4). 실험동물의 췌장을 염색한 후 각각의 슬라이드에서 베타세포의 상대적 용적(relative volume)을 측정하였다(Fig. 5). Table 3의 결과를 보면 Kocat-D1-2 군은 당뇨대조군의 $12.9 \pm 7.9\%$ 에 비해 $49.4 \pm 4.2\%$ 로 췌장 베타세포의 상대적 용적이 유의적인 수준으로 증가함을 알 수 있었다. Kocat-D1-1군에서도 당뇨대조군보다 증가하는 경향은 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

지금까지의 연구 결과를 종합해 볼 때 중국 산동지방에서 자생하는 Kocat-D1은 STZ에 의해 파괴된 췌장의 베타세포의 재생에 영향을 주어 인슐린을 분비를 촉진시켜 혈당을 강하시키는 항당뇨효과를 가지고 있음을 알 수 있었다. 특히 1 g/kg/day로 경구 투여한 투여군에서는 혈액내 인슐린의 농도가 당뇨대조군에 비해 유의적인 수준으로 증가하였으며 혈당조절 및 장기간의 고혈당으로 인한 지방간이 억제되었음을 알 수 있었다. Kocat-D1은 인슐린 분비를 유도하기 위하여 현재 가장 널리 사용되는 sulfonyl urea 계 약물의 대체 의약품 소재 및 기능성 식품 소재로서의 활용가능성이 있음을 본 연구를 통해 확인하였다.

Kocat-D1의 정확한 학명은 규명되지 않았으나 현재 박과(Cucurbitaceae)의 덩굴성 다년생 식물임을 확인하였다. 따라서 본 연구에 이어 Kocat-D1을 새로운 항당뇨 소재로 활용하기 위해서는 정확한 학명 규명 및 대부분의 당뇨병 환자가 해당하는 제2형 당뇨모델을 이용하여 장기적인 항당뇨효능 검토 및 효능의 지표물질에 대한 추가적인 연구를 수행할 필요가 있다.

요 약

STZ으로 당뇨를 유발 8주 후 당뇨대조군은 공복혈당이 451 ± 42.6

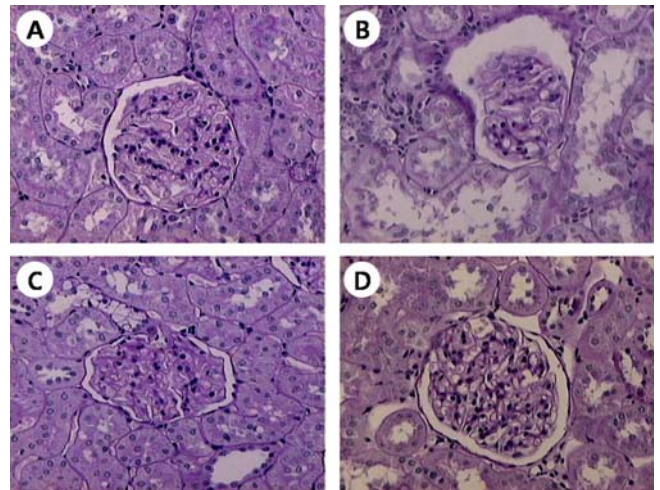


Fig. 5. Histological finding with H&E staining of STZ induced rat pancreas. A; Normal control: not induced diabetic rat, B; DM control: streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat (STZ injected 50 mg/kg, i.p.), C; Kocat-D1-1: DM control treated with hot water extract 0.25 g/kg/day, D; Kocat-D1-2: DM control treated with hot water extract 1 g/kg/day. The pancreases were fixed in 4% paraformaldehyde and embedded in cold polymerizing resin, and 5- μ m sections were stained with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$.

mg/dL인데 비해 Kocat-D1-1(Kocat-D1 추출물을 0.25 g/kg/day 투여한 군)에서는 334.3 ± 32.9 mg/dL, Kocat-D1-2(Kocat-D1 추출물을 1 g/kg/day 투여한 군)에서는 259.5 ± 35.0 mg/dL로 투여 농도에 의존적으로 당뇨대조군에 비해 유의적 수준으로 혈당이 낮아졌다. OGTT 검사에서도 180분 경과 후에도 당뇨대조군은 포도당 투여 전보다 혈당이 55.5 ± 5.1 mg/dL 높았으나 Kocat-D1-2는 17.0 ± 7.4 mg/dL로 유의적으로 낮아졌다. STZ에 의해 유도된 당뇨쥐는 정상대조군에 비해 혈장내의 GOT(411.3 ± 31.3 U/L), GPT(162.3 ± 23.2 U/L) 모두 현저히 증가하였다. 이에 비해 Kocat-D1-2 군에서는 GOT(247.0 ± 33.4 U/L), GPT(116.3 ± 17.4 U/L) 모두 유의적인 수준으로 당뇨대조군에 비해 감소하였다. 알부민 수치 또한 정상대조군 3.9 ± 0.1 U/L에 비해 당뇨대조군은 2.7 ± 0.3 U/L로 낮아졌으나 Kocat-D1-2군에서는 3.0 ± 0.1 U/L로 증가하였다. HDL-콜레스테롤 수치 또한 정상대조군이 26.8 ± 3.9 mg/dL인데 비해 당뇨대조군은 11.7 ± 1.3 mg/dL로 낮아졌다. 그러나 Kocat-D1을 투여한 두 군 모두 각각 22.3 ± 2.0 , 26.8 ± 1.2 mg/dL로 유의적인 수준으로 증가하였다. 간조직의 조직학적 관찰에서도 당뇨대조군의 경우 간세포사이에 지방구가 관찰되었으나, Kocat-D1-2는 거의 정상대조군과 유사하였으며 지방구를 관찰 할 수 없었다. 각 실험군의 혈액 중 인슐린 농도를 측정된 결과 정상대조군 0.18 ± 0.02 ng/mL인데 비해 당뇨대조군은 0.05 ± 0.04 ng/mL로 낮아졌으나 Kocat-D1-1은 0.11 ± 0.05 , Kocat-D1-2는 0.13 ± 0.02 ng/mL로 증가하였다. 췌장의 베타세포의 상대적 용적을 측정된 결과 Kocat-D1-2 군은 당뇨대조군의 $12.9 \pm 7.9\%$ 에 비해 $49.4 \pm 4.2\%$ 로 유의적인 수준으로 증가하였다. Kocat-D1-1군에서도 당뇨대조군보다 증가하는 경향은 보였으나 유의적인 차이는 없었다. Kocat-D1은 인슐린을 분비를 촉진시켜 혈당을 강하시키는 항당뇨효과를 가지고 있음을 알 수 있었다. 따라서 아직 명확한 학명 규명이 규명되지 않았지만 Kocat-D1은 의약품 소재 및 기능성 식품 소재로서의 활용가능성이 있음을 본 연구를 통해 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 (주)Kocat의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

문헌

- King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: Prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 21: 1414-1431 (1998)
- McGill M, Felton A-M. New global recommendations: A multi-disciplinary approach to improving outcomes in diabetes. *Primary Care Diabetes* 1: 49-55 (2007)
- IDF Diabetes Atlas. International diabetes federation. Brussels, Belgium (2003)
- Zhang W, Xu YC, Guo FJ, Meng Y, Li ML. Anti-diabetic effects of cinnamaldehyde and berberine and their impacts on retinol-binding protein 4 expression in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chin. Med. J.* 121: 2124-2128 (2008)
- Fonseca V. The role of basal insulin therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Insulin* 1: 51-60 (2006)
- Lee HT, Park SY, Kim RY, Kwon HY, Shin US. Analysis of oral antidiabetic agents prescribing in the outpatients of community hospital. *J. Korean Soc. of Health-Syst. Pharm.* 24: 17-26 (2007)
- Angeli G, Alberini B. A new drug with hypoglycemic action in oral therapy of diabetes mellitus: *N*-tolyl-sulfonyl-*N'*-cyclohexyl urea (k386). *Minerva Med.* 49: 360-364 (1958)
- Aoki H, Kawanishi M, Nagano M. Therapy of diabetes mellitus with combination of sulfonyl urea and biguanide. *Saishin Igaku.* 24: 610-614 (1969)
- Hamelbeck H, Klein W, Zoltbrocki M, Schoffling K. Glibenclamide-insulin combination in the management of secondary failure of sulfonyl-urea medication. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 107: 1581-1583 (1982)
- Arul B, Kothai R, Christina AJ. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Semecarpus anacardium* Linn in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 26: 759-762 (2004)
- Bander A. Mechanism of action of hypoglycemic sulfonyl urea compounds. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 84: 996-1002 (1959)
- Liang HJ, Suk FM, Wang CK, Hung LF, Liu DZ, Chen NQ, Chen YC, Chang CC, Liang YC. Osthole, a potential antidiabetic agent, alleviates hyperglycemia in db/db mice. *Chem. Biol. Interact.* 181: 309-315 (2009)
- Bailey CJ CD. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care* 12: 553-564 (1989)
- Gray AM, Flatt PR. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant *Coriandrum sativum* (coriander). *Brit. J. Nutr.* 81: 203-209 (1999)
- Vaishya R, Singh J, Lal H. Effect of irbesartan on streptozotocin induced diabetic nephropathy: An interventional study. *Indian J. Clin. Biochem.* 23: 195-197 (2008)
- Montilla P, Barcos M, Munoz MC, Bujalance I, Munoz-Castaneda JR, Tunez I. Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Biochem. Mol. Biol.* 38: 539-544 (2005)
- Doumas B, Biggs H. Determination of serum albumin. Vol. 7, pp. 175-188. In: *Standard Methods of Clinical Chemistry*. Academic Press Inc., New York, NY, USA (1972)
- Bais R, Philcox M. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase (L-Lactate: NAD⁺ oxidoreductase, EC 1.1.1.27). International federation of clinical chemistry (IFCC). *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 32: 639-655 (1994)
- Zick R, Hammer A, Otten G, Mitzkat HJ. Rapid radioimmunoassay for insulin and its application in localizing occult insulinomas by intraoperative pancreatic vein catheterization. *Eur. J. Nucl. Med.* 7: 85-87 (1982)
- Nakajima T, Deguchi T, Kagawa K, Hikita H, Ueda K, Katagishi T, Ohkawara T, Kakusui M, Kimura H, Okanoue T. Identification of apoptotic hepatocytes in situ in rat liver after lead nitrate administration. *J. Gastroenterol.* 30: 725-730 (1995)
- Guz Y, Nasir I, Teitelman G. Regeneration of pancreatic β cells from intra-islet precursor cells in an experimental model of diabetes. *Endocrinology* 142: 4956-4968 (2001)
- Fischer KJ, Stewart JK. Phenylethanolamine n-methyltransferase in the brains of streptozotocin diabetic rats. *Endocrinology* 119: 2586-2589 (1986)
- Sexton WL. Skeletal muscle vascular transport capacity in diabetic rats. *Diabetes* 43: 225-231 (1994)
- Capeau J. Insulin resistance and steatosis in humans. *Diabetes Metab.* 34: 649-657 (2008)
- Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology* 245: 194-205 (2008)
- Kavirasan K, Pugalendi KV. Influence of flavonoid-rich fraction from *Spermacoce hispida* seed on ppar-alpha gene expression, antioxidant redox status, protein metabolism and marker enzymes in high-fat-diet fed stz diabetic rats. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 20: 141-158 (2009)
- Sung KC, Ryan MC, Wilson AM. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with increased cardiovascular risk in a large cohort of non-obese asian subjects. *Atherosclerosis* 203: 581-586 (2009)
- Tomita T, Sasaki S, Doull V, Bunag R, Kimmel JR. Pancreatic hormones in streptozotocin-diabetic rats. *Int. J. Pancreatol.* 1: 265-278 (1986)