

원저

양릉천 천궁약침이 흰쥐의 고지혈증에 미치는 영향

안근형 · 이현

대전대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

The Effect of *Cnidii Rhizoma* Herbal-acupuncture at GB₃₄(*Yangleungchean*) on Hyperlipidemia in Rats

An Geun-hyeong and Lee Hyun

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Objectives & Methods : The purpose of this study is to observe the effects of *Cnidii Rhizoma* Herbal solution at GB₃₄(*Yangleungchean*) on hyperlipidemia in rats. The author performed several experimental items to analyze the levels of various components and enzymes in serum, urine and liver, as well as the histological change of liver and aorta.

Results : 1. In the *Cnidii Rhizoma* Herbal-acupuncture group, The levels of total cholesterol were significantly decreased, and the ratio of HDL to Total cholesterol, Phospholipid/total cholesterol were significantly increased as compared with those of the control group.

2. In the *Cnidii Rhizoma* Herbal-acupuncture group, HMG-CoA reductase activity was significantly decreased than those of the control group NP(needle prick) group and saline group.

3. In the *Cnidii Rhizoma* Herbal-acupuncture group, phathohistological change of liver was suppressed as compared with the control group.

Conclusions : From the above results, it is suggested that *Cnidii Rhizoma* Herbal-acupuncture at GB₃₄ has a therapeutic effect on hyperlipidemia.

Key words : Hyperlipidemia, *Cnidii Rhizoma* Herbal-acupuncture, GB₃₄(*Yangleungchean*)

· 접수 : 2010. 7. 13. · 수정 : 2010. 8. 3. · 채택 : 2010. 8. 3.
· 교신저자 : 이현, 충남 천안시 두정동 621 대전대학교 부속천안한방병원 침구과
Tel. 041-521-7579 E-mail : ih2000@dju.kr

I. 서론

최근 식생활의 다양화 및 서구화로 고칼로리 음식, 동물성 식품의 섭취가 증가함에 따라 고지혈증의 발병률이 증가하고 있다^{1,2)}. 고지혈증은 혈액 내로 흡수된 Triglyceride, Cholesterol, Phospholipid, Free Fatty acid 등이 물에 용해되기 위하여 단백질과 결합된 lipoprotein을 혈청지질이라고 하고, 이 혈청지질이 정상보다 많은 상태를 말하며³⁾, 일반적으로는 혈청 중 total cholesterol 함량이 240mg/dl 이상이거나 triglyceride 함량이 200mg/dl 이상을 말하며, 임상적으로는 저밀도지단백(LDL) 함량이 160mg/dl 이상인 경우와 고밀도지단백(HDL)의 함량이 35mg/dl 이하인 경우 동맥경화나 관상동맥질환의 발생률이 높아 지므로 치료대상으로 하고 있다^{4,5)}.

현재 고지혈증에 대한 문제를 해결하기 위하여 지방의 섭취를 줄이는 식이요법 및 운동에 의하여 체내의 지방을 소비하는 운동요법 그리고 약물요법 등이 활발하게 연구되고 있다⁶⁾. 그 중 고지혈증 개선을 위한 약물요법에는 콜레스테롤 합성저해제가 다각적으로 연구되어 왔으며, 주로 콜레스테롤 합성의 주된 조절 효소인 HMG-CoA 저해제 및 혈액 내의 중성지방의 농도를 낮추는 피부린산 유도제 계열의 약물들이 개발되어 사용되고 있다⁷⁾.

한의학에서 고지혈증은 지질의 개념에 해당하는데 脂質은 《黃帝內經·靈樞·衛氣失常論》⁸⁾에서 “人有肥, 有膏, 有肉”이라고 하여 언급되었으며, 血脂는 津液의 일종으로서 水穀에서 來源하고 脾의 散精作用과 三焦의 氣化作用 등에 의해 血中에 滲入하여 형성되고, 고지혈은 脂質攝入過多와 臟腑機能의 失調로 발생하는 血中の 痰濁이라고 할 수 있다.

陽陵泉(GB₃₄)은 足少陽膽經의 合土穴이며 八會穴 중 筋會穴로서⁹⁾, 疎經絡濕滯, 活血通脈의 효능이 있어 瘀血, 痰飲으로 인해 발생한다고 여겨지는 고지혈증의 치료에 임상적으로 활용할 수 있는 穴位이다¹⁰⁾.

川芎은 산형과에 속한 다년생 초목으로 性味가 辛溫香竅하여 走하되 守하지 않아 血中の 氣藥이 되어 活血行氣하고 祛風止痛의 효능이 있으며¹¹⁾ 항진통 효과¹²⁾, 간손상 보호효과¹³⁾ 등의 보고가 있어 고지혈증에 대한 일정한 효과가 있을 것으로 생각되었다.

이에 저자는 천궁약침이 고지방 식이로 고지혈증을 유발한 흰쥐에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐의 체중 및 장기의 무게를 측정하였으며, 간 내 효

소, 조직학적 분석을 통해 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물 및 사료

동물은 6주령의 수컷 흰쥐(200±20)g을 (주)중앙실험동물로부터 공급받아, 실험 적응기간 동안에는 일반 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료)를 공급하며 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 이후 실험기간 동안에는 실험군에 따라 일반 고형사료 혹은 고지방식(AIN-76A diet, USA) 사료를 매일 일정한 시간에 물과 함께 공급하였으며, 실험실 환경은 실온(22±2°C)과 습도(50~60%)를 유지하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 천궁(*Cnidii Rhizoma*, CR)은 대전대학교 부속대전한방병원에서 구입하여 이용하였다.

2. 방법

1) 약침액의 제조

분쇄기를 이용해서 천궁 55g을 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 40µm 직경의 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축 하였다. 농축액에 95% ethyl alcohol 30ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20ml가 되게 하였다. 천궁 55g으로부터 얻은 천궁 약침액을 감압농축을 통하여 수분을 모두 날렸을 때에 분말 수율은 2.495g(수득률 4.54%)이었다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하

고, 4°C에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filtering을 실시하였다. 여과된 농축액에 PBS를 첨가 1%로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

2) 실험동물 모델

흰쥐에 alloxan(150mg/kg)을 복강투여하고 일주일 뒤 혈액 내에 총콜레스테롤 수치가 180~220mg/dl로 증가된 것을 확인한 후, 고지방식으로 조제된 사료인 AIN-76A diet(Dyets INC PA, USA)를 4주간 매일 일정시간에 공급하여, 자유식으로 섭취하게 하여, 고지혈증을 유발하였다¹⁴⁾. 실험기간 중 사료는 4°C에서 보관하였다.

3) 취혈

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

4) 실험군 분류 및 처치

흰쥐 8마리씩을 한 군으로 하여 정상군(normal), 대조군(control), NP군(needle prick), saline군(saline injection), CR 약침군(CR-HA)의 5군으로 나누었다.

정상군은 실험기간동안 일반 사료를 섭취하였으며, 정상군 이외 모든 실험군의 실험동물은 고지방식 사료를 섭취하였다. 대조군은 고지방식 섭취 이외에 아무런 처치도 하지 않았다. NP군은 양릉천(GB₃₄) 상응 부위에 26gauge 주사기를 0.5cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. Saline군은 양릉천(GB₃₄) 상응 부위에 saline 0.2ml를 주입하였다. CR약침군은 양릉천(GB₃₄) 상응부위에 1%의 CR약침액 0.2ml를 주입하였다. NP, saline 주입, CR약침 처치는 모두 alloxan 투여 1주 이후부터 4주간 주 3회 시행하였다. NP, saline 주입, CR약침 시술은 실험동물의 후지에서 양릉천(GB₃₄) 상응부위를 매 시술 때마다 좌우 교대로 취하여 시술하였다.

5) 고지혈증 평가

(1) 몸무게, 간 무게 측정

실험 종료 시까지 1주일 간격으로 각 실험군의 실험동물의 몸무게를 측정하여 기록하였다. 흰쥐의 간을 HBSS를 이용하여 적출한 뒤, 무게를 측정하였다.

(2) 혈청 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취하고, 심장 채혈법으로 혈액을 채취하였다. 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, (주)Reference laboratory (DaeJeon, Korea)에 의뢰하여 혈청 중의 total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, 인지질을 측정하였다.

(3) 동맥경화지수 판정

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

$$\text{Atherosclerosis index(AI)} = (\text{total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}) / \text{HDL cholesterol}$$

(4) 간 내 효소 분석

① HMG-CoA reductase 추출 및 분리

실험이 끝난 후, HMG-CoA가 가장 높은 시간인 밤 12시에 각 실험군의 흰쥐의 간을 HBSS를 이용하여 적출한 뒤, 무게를 측정하였다. 적출한 간은 rat liver 1g당 ice cold buffer A(50mM phosphate buffer, pH 7.0 with 0.2M sucrose, 2mM DTT) 2ml를 첨가하였다. Sonic dismembrator(Fisher Sci, USA)를 이용하여 균질화하고, 15,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액은 다시 100,000×g에서 75분간 초원심분리하여 상등액을 버리고, 얻어진 microsome pellet은 buffer A(with 50mM EDTA)를 rat liver 1g당 1ml씩 첨가하여 세척하고 100,000×g에서 60분간 원심분리하였다. 이어서 상등액은 버리고 -20°C에서 2시간 이상 보관하고 microsome pellet을 실온에서 해동시킨 후 buffer B(50mM phosphate buffer, pH 7.0 with 0.1M sucrose, 2mM DTT, 50mM KCl, 30mM EDTA)를 3 ml/1.5g rat liver를 가하여 균질화하였다. Buffer B를 7ml/1.5g rat liver 첨가하고 상온에서 15~30분간 방치하였다. 100,000×g, 20°C에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 취한 후, 효소원으로 사용하기 전까지 -70°C에서 보관하였다.

② HMG-CoA reductase 활성 측정

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

도 변화를 확인하였다. HMG-CoA reductase의 억제 활성은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{HMG-CoA reductase activity(\%)} = (\text{Sample O.D.} / \text{Blank O.D.}) \times 100$$

③ 간 조직의 분획

적출한 간 조직의 일부를 취하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal 등의 방법¹⁵⁾에 의해 간 조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화 하였다. 균질화한 조직을 600×g에서 10분간 원심분리하여 균질화 되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리 하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction을 얻고, 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하고 현탁하여 microsomal fraction을 얻었다. Microsomal fraction은 glutathion의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과를 측정하였다. Mitochondrial fraction에서 catalase의 활성을 측정하였다.

④ Catalase

Catalase assay kit(Oxford Biomedical Research, USA)를 이용하여 측정하였다. 간 분획으로 얻은 sample 중에서 20,000rpm으로 얻은 sample을 사용하였다. 우선 24well plate의 well에 40μl씩 분주하였다. 130nmol의 sodium phosphate buffer(pH 7.0)를 500μl/well과 15mmol의 H₂O₂를 1ml, 그리고 DW 660μl/well을 분주하였다. Plate를 약하게 흔들어 mix 시킨다. Spectrophotometer 전용 cuvette에 1ml를 분주한 뒤, 240nm에서 흡광도를 측정하고, catalase 농도값으로 환산하였다.

(5) 간의 조직학적 검사

실험 종료 후, 각 군의 실험동물의 간 조직을 절취하여, 10%의 formalin에 고정하였다. 조직검사 전 gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4°C에서 조직을 침수하였다. 침수가 끝난 조직은 액체질소를 이용하여 급속 동결하여 냉동조직절편기(Cryostat Cryocut Microtome)를 사용하여 10μm의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시키고, 100% propylene glycol 용액에서 10분간 처리하여 완전 탈수를 하였으며, 60°C oven에 있는 Sudan black B용액에서 10분간 염색을 시행하였다. 이어 85% propylene glycol 용액

에서 5분간 감별하였다. 증류수로 여러 번 세척한 후, Nuclear fast red 용액으로 1분간 핵 염색을 실시한 다음 증류수로 여러 번 세척한 후 수용성 봉입제로 봉입하였다. 봉입을 끝낸 조직사진은 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰한 후, digital camera(DXM 1200F, Nikon, Japan)를 이용하여 사진을 촬영하고, ACT-1 program을 이용하여 분석하였다.

6) 통계분석

본 실험의 결과는 각 실험군에서 얻은 데이터의 평균과 표준편차로 나타내었다. 통계분석은 SPSS(14.0 KO) 통계프로그램을 사용하여 군간 평균 비교를 하였다. 각 군간의 평균비교는 ANOVA test를 사용하였고, 사후검정은 Scheffe's test를 이용하였으며, 정상군과 대조군 평균비교는 대응 t-test를 사용하였다. 데이터 분석결과, HG(hand grasping)는 본 실험 결과에 영향을 미치지 않은 것으로 인정되어, HG군의 데이터는 본 논문의 실험 성적에 나타내지 않았다. 각 실험군의 결과값을 비교하여 신뢰도 95% 이상(p<0.05)일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 성적

1. 고지혈증 평가

1) 몸무게

실험동물에 alloxan을 복강투여하고 고지방식을 4주간 섭취하게 하면서 매주 몸무게를 측정하였다.

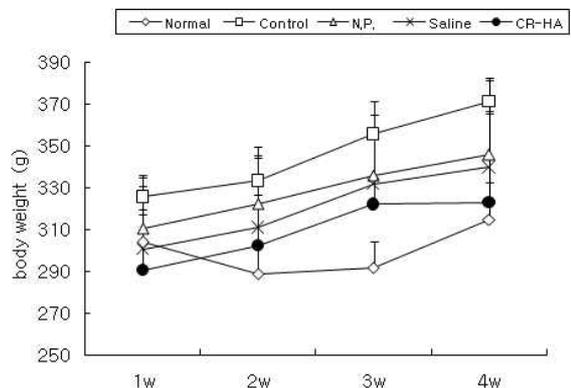


Fig. 1. Effect of CR-HA at GB₃₄ on body weight in rats with hyperlipidemia

Normal군에 비하여 control군에서 약간 높은 몸무게를 나타내었으며, CR-HA군에서 control군에 비하여 다소 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 1).

2) 간 무게

실험종료 후 실험동물의 간을 적출하여 무게를 측정하였다. Normal군에 비하여 control군에서 간무게가 유의하게 증가하였다. NP군, saline군, 및 CR-HA군의 간무게는 control에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2).

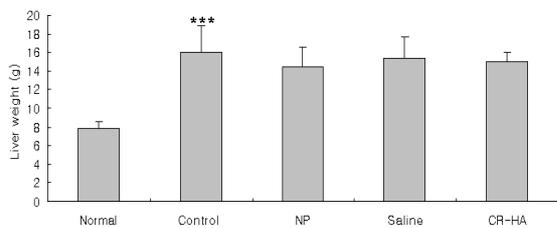


Fig. 2. Effect of CR-HA at GB₃₄ on liver weight in rats with hyperlipidemia

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

2. 혈청 분석

각 실험동물의 혈청에서 지질성분인 total cholesterol, HDL, LDL 및 phospholipid의 양을 측정하였다.

1) Total cholesterol

실험동물의 혈중 total cholesterol level을 측정한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군, 및 CR-HA군에서 control군에 비하여 혈중 total cholesterol이 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

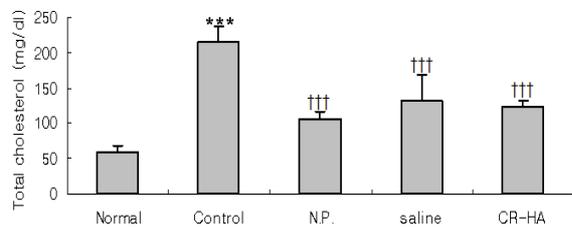


Fig. 3. Effect of CR-HA at GB₃₄ on serum total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

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

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

2) HDL/total cholesterol

실험동물의 혈청에서 total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비를 측정한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 감소하였으며, NP군, saline 및 CR-HA군에서 control군에 비하여 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 증가하였다(Fig. 4).

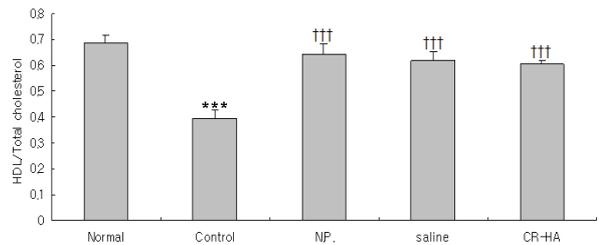


Fig. 4. Effect of CR-HA at GB₃₄ on serum HDL/total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

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

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

3) 동맥 경화 지수(atherogenic index; AI)

혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과, normal군에 비하여 control군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였다. NP군에서는 control군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

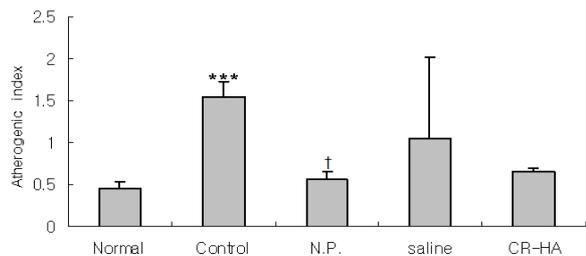


Fig. 5. Effect of CR-HA at GB₃₄ on atherogenic index in rats with hyperlipidemia

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

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

4) LDL-cholesterol

실험동물의 혈중 LDL-cholesterol level을 측정한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 증가하였다. NP군에서는 control군에 비하여 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 감소하였으며, saline 및 CR-HA군에서 NP군에 비하여 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 증가하였다(Fig. 6).

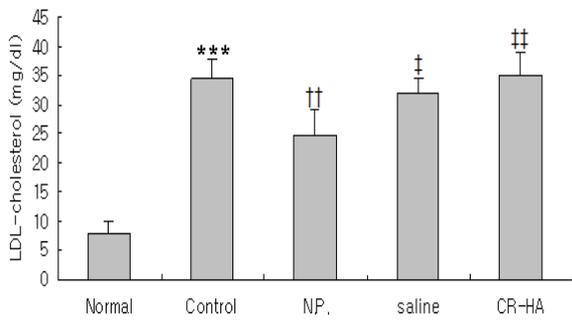


Fig. 6. Effect of CR-HA at GB₃₄ on serum LDL-cholesterol level in rats with hyperlipidemia

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

5) Phospholipid/total cholesterol

실험동물의 혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군, CR-HA군에서는 control군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 7).

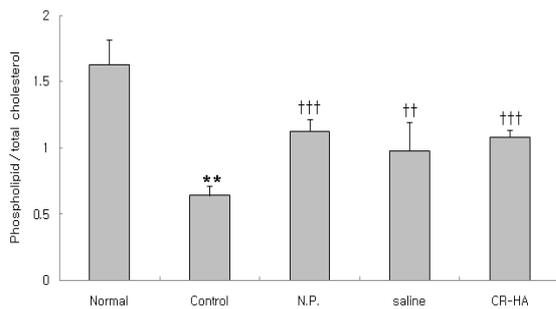


Fig. 7. Effect of CR-HA at GB₃₄ on serum phospholipid/total cholesterol in rats with hyperlipidemias

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

3. 간 내 효소 분석

분획한 간 조직으로부터 HMG-CoA reductase activity, glutathione 농도, catalase activity를 측정하였다.

1) HMG-CoA reductase activity

실험동물의 간에서 HMG-CoA reductase activity를 측정된 결과, Normal군에 비하여 control군에서 유의하게 증가하였다. CR-HA군에서는 control군, NP군 및 saline군에 비하여 간내 HMG-CoA reductase

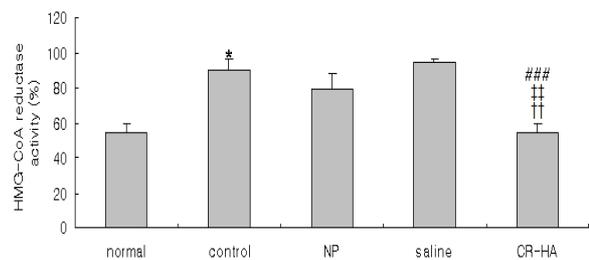


Fig. 8. Effect of CR-HA at GB₃₄ on hepatic HMG-CoA reductase activity in rats with hyperlipidemia.

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

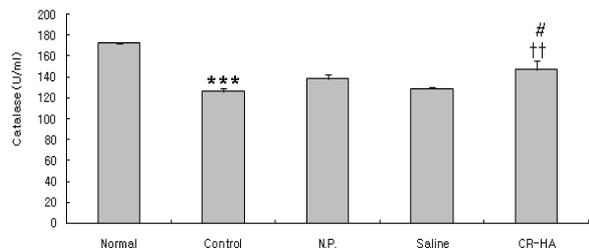


Fig. 9. Effect of CR-HA at GB₃₄ on hepatic catalase level in rats with hyperlipidemia.

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

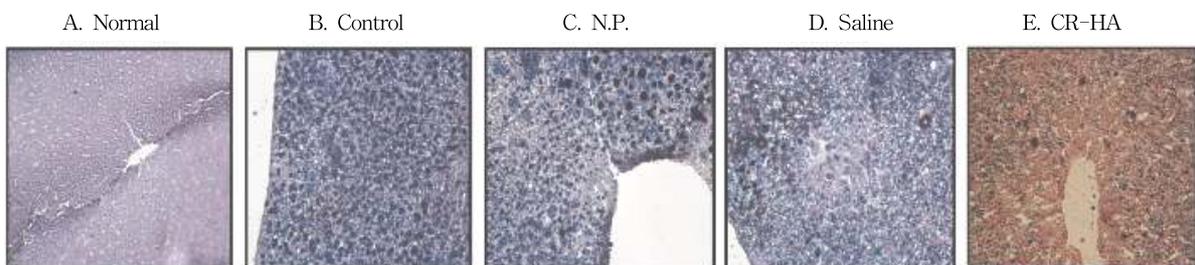


Fig. 10. Histological analysis of liver in rats with hyperlipidemia(SBB stain) ×200

activity가 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

2) Catalase

실험동물의 간에서 catalase activity를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 catalase 농도가 유의하게 감소하였다. CR-HA군에서 control군 및 saline군에 비하여 catalase 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 9).

4. 조직학적 분석

실험동물의 간조직을 Sudan black B(SBB) 염색으로 염색하여 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났다. CR-HA군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 10).

IV. 고찰

최근 고령화, 스트레스 및 식생활의 변화로 고칼로리 음식과 동물성 식품의 섭취가 증가하고 생활이 편리해짐에 따라 운동량이 줄어들면서 심혈관계 질환이 증가하는 추세이다¹⁶⁾. 고지혈증은 동맥경화를 유발하는 위험인자로 뇌혈관질환의 중요한 원인이 되며¹⁷⁾, 고지혈증을 감소시키면 동맥경화증의 진행을 감소시키고 허혈성 심질환의 합병증 빈도를 낮출 수 있으므로, 고지혈증과 고혈압은 뇌졸중 및 동맥경화, 허혈성 심질환의 주요한 원인이며 서로 밀접한 관계가 있음을 알 수 있다^{18,19)}. 혈장 지질 농도는 유전적 요인과 연령과 성별 등의 생리적 요인, 비만, 고혈압, 고혈당 등의 신체적 요인과 혈액학적 요인 등이 영향을 미치며, 이러한 고지혈증의 소인이 있는 경우에 음주, 흡연, 운동, 식사, 가족력, 성격 등의 환경적 요인들이 추가되어 고지혈증이 생기는 것으로 보고되어 있다²⁰⁾.

고지혈증의 유발인자 중 혈액 중의 콜레스테롤 농도가 주요 인자이며, 중성지질 농도 및 지단백, 혈장 thromboxane A(TX A)의 형성 등이 지적되고 있는데²¹⁾ 일반적으로는 혈청 중 total cholesterol 함량이 240mg/dl 이상이거나 triglyceride 함량이 200mg/dl 이상을 말하며, 임상적으로는 지단백인 저밀도지단백(LDL) 함량이 160mg/dl 이상인 경우와 고밀도지단백

(HDL)의 함량이 35mg/dl 이하인 경우 동맥경화(動脈硬化)나 관상동맥질환의 발생률이 높아지므로 치료 대상으로 하고 있다^{4,5)}. 이에 대한 약물 치료로는 Statin계 약물, 담즙산 흡착제, Fibric acid 및 Nicotin acid 등이 사용되고 있다. Statin계 약물인 HMG CoA Reductase 저해제 Lovastin, Simvastatin 등은 생체 내 콜레스테롤 생합성에 관여하는 HMG CoA Reductase를 차단함으로써 혈중 저비중지단백(LDL) 또는 콜레스테롤치를 효과적으로 낮춘다^{22,23)}.

한의학에서는 고지혈증이란 병명은 없으나 《黃帝內經·靈樞·衛氣失常論》⁸⁾에서 “肥人多有膏, 有肉”이라고 하여 지질과의 연관성이 있다고 보고 있으며, 張景岳은 “痰涎皆本血氣 若失化失其正 則臟腑病津液敗, 而氣血則成痰涎”이라 하여 痰濁이 혈맥상에 있어서 脈絡壅滯不暢으로 고지혈증이 痰濁으로 말미암아 血瘀에 이르게 되서 痰瘀互結 膠着脈道 되어 마침내 脈痺가 되면서 中風 등의 병을 발생할 수 있다고 보았다^{24,25)}. 川芎은 미나리과에 속한 다년생 초목인 천궁의 根莖을 건조한 것으로, 性味が 辛溫하고 血中の 氣藥이 되어 活血行氣하는 요약이 된다¹¹⁾.

川芎은 최근 들어 약침제제로 관절염 동물모델에서 항진통 효과¹²⁾, 간손상 보호효과¹³⁾ 등이 알려져 있지만 천궁 약침이 고지혈증에 미치는 영향에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 저자는 천궁약침이 고지방 식이로 고지혈증을 유발시킨 흰쥐에 미치는 영향을 알아보기 위하여 약침액의 독성 및 효과를 실험하고, 흰쥐의 체중 및 장기의 무게를 측정하였으며 혈청, 간 내 효소 및 조직학적 분석을 실험 관찰하였다.

비만은 콜레스테롤과 지단백 대사에 이상을 초래하여 고지혈증의 원인이 된다고 하였다. 과체중이거나 비만한 사람은 혈장 콜레스테롤이나 중성지방이 정상인보다 높다고 보고된 바 있다²⁰⁾.

본 실험에서 실험동물에 alloxan을 복강투여하고 고지방식을 4주간 섭취하게 하면서 매주 몸무게를 측정된 결과 Normal군에 비하여 control군에서 약간 높은 몸무게를 나타내었으며, CR-HA군에서 control군에 비하여 다소 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 1).

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

이상의 결과에서 천궁약침이 고지혈증 유발로 인

한 체중증가 억제에는 유효하나 간 무게의 증가에서는 유의한 차이를 보이지 않았다.

Total cholesterol은 체내의 이상 저장으로 인하여 고혈압, 동맥경화증 및 각종 심혈관 질환을 유발시켜 체내 지질대사의 이상지표로 볼 수 있고 임신, 당뇨병, 신장염, 폐쇄성 황달, 간경화증, 갑상선기능저하증 및 담낭염일 때 그 수치가 증가한다²⁶⁾. 본 실험에서 혈중 total cholesterol level을 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군, 및 CR-HA군에서 control군에 비하여 혈중 total cholesterol이 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

HTR(HDL to total cholesterol ratio)은 total cholesterol 농도에 대한 HDL-cholesterol 농도의 비율을 나타내는 동맥경화지수로서 동맥경화에 대한 위험성 척도를 말해주는 것으로 비율이 클수록 동맥경화성 질환의 발생 위험율이 낮은 것으로 보고되고 있다²⁷⁾. 실험동물의 혈청에서 total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 감소하였으며, NP군, saline 및 CR-HA군에서 control군에 비하여 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 증가하여(Fig. 4).

혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수(AI)를 계산한 결과, normal군에 비하여 control군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였다. CR-HA군에서는 control군에 동맥경화지수가 감소하였으나 유의성은 없었으며 NP군에서는 control군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

죽상경화반에 침착된 콜레스테롤은 원천적으로 저밀도 지단백(LDL)에서 유래된다. 이 LDL의 산화는 요즘 죽상경화의 진행과정에 결정적인 역할을 하는 것으로 받아들여지고 있다²⁸⁾. LDL의 산화는 대식세포의 아세틸기 수용체에 대한 산화된 저밀도 지단백의 친화도를 높인다. 이와 같은 경로로 결국 지질포식 대식세포들을 형성하고 이런 포말세포의 존재는 혈관 내에서 죽상경화반 형성의 초기단계를 이루며 그 후 백혈구에 의해 분비되는 다른 염증인자들이 죽상경화반의 진행을 촉진한다²⁹⁾.

실험동물의 혈중 LDL-cholesterol level을 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 증가하였다. NP군에서는 control군에 비하여 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 감소하였으며, saline 및 CR-HA군에 비해서도 혈중 LDL-

cholesterol이 유의하게 감소하였다(Fig. 6). CR-HA는 LDL-cholesterol을 감소시키는 작용은 없었으며 약침 시술보다는 오히려 陽陵泉 단순 자침 시 유의하게 LDL-cholesterol이 감소되는 것이 관찰되었다. 혈청 Phospholipid는 각종의 지질대사 이상에 의해 증감하지만 cholesterol과 평행해서 변동하는 경우가 많다. 또한 동맥경화증에 있어서의 Phospholipid의 역할은 cholesterol 등의 용해도를 높여서 동맥벽에 지질침착을 억제시키는, 항동맥경화인자의 하나이므로, Total Phospholipid/Total cholesterol 비의 감소는 동맥경화 촉진의 지표로 이용된다³⁰⁾. 혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군, CR-HA군에서는 control군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 7).

이상의 혈청분석 결과에서 천궁약침이 대조군에 비해서 HDL/total cholesterol, total cholesterol에 대한 phospholipid의 비가 유의하게 증가하였고 total cholesterol이 유의하게 감소하여 고지혈증 억제에 유의한 효과가 있을 것으로 사료되나 NP군 및 saline군에서도 대조군에 비해 유의한 효과를 보여 이는 천궁약침액의 효과보다는 陽陵泉의 疎經絡濕滯, 活血通脈하는 경혈적 특성이 작용한 것으로 생각된다. 또한 동맥경화지수, LDL-cholesterol, free cholesterol 측정 결과에서는 陽陵泉 단순 자침에서만 control에 비해 유의한 효과가 나타나 약침이 경혈자극과 약리적인 효과를 동시에 기대하지만 본 실험결과에서 오히려 경혈자극 효과를 상쇄시킬 가능성도 있다고 생각되며 이에 대한 추후 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

HMG-CoA reductase는 생체 내에서 콜레스테롤의 합성을 조절하는 데 중요한 역할을 하는 효소로 콜레스테롤을 합성하는 과정에서 HMG-CoA를 mevalonate로 변환하는 역할을 하여 혈액 내에서 콜레스테롤 수치를 높게 만들어서 HMG-CoA reductase의 역할은 고콜레스테롤혈증과 동맥경화를 예방 치료하는데 유용한 것으로 보고³¹⁾ 된 바 있다. 실험동물의 간에서 HMG-CoA reductase activity를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 증가하였다. CR-HA군에서는 control군, NP군 및 saline군에 비하여 간내 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

실험동물의 간에서 Catalase는 세포 내에서 과산화수소를 제거하는 효소로 생체의 모든 주요 기관에 존재하나 특히 간과 적혈구에 많이 분포하며¹³⁾, free radi-

cal에 의한 세포독성 초기에 반응하는 중요한 항산화 효소로 과산화수소를 분해함으로써 조직 손상을 방지하는 효과가 있다³²⁾. 실험동물의 간에서 catalase activity를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 catalase 농도가 유의하게 감소하였다. CR-HA군에서 control군 및 saline군에 비하여 catalase 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 9). 이는 CR-HA약침이 catalase activity를 활성화시켜 독성물질에 대한 생체 방어능력을 향상시키는 항산화 효과가 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 HMG-CoA reductase activity는 천궁약침만이 유의한 감소를 나타내어 천궁약침이 초기 콜레스테롤 합성을 저해하여 항고지혈증에 대한 유의한 효과가 있을 것으로 생각되며 catalase 농도는 saline군과 control군에 비해 유의한 효과를 나타내어 약침 중에서도 천궁의 약리적인 효능이 발휘된 것으로 사료된다.

실험동물의 간조직을 Sudan black B(SBB)로 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났다. CR-HA군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 10).

본 실험 결과를 종합하여 볼 때 천궁약침군에서 고지혈증과 관련된 지표들이 유의하게 호전되었는데 특히 control군에 비해 HDL/total cholesterol, Phospholipid/total cholesterol, catalase는 유의하게 증가하였으며 Total cholesterol, HMG-CoA reductase activity는 유의하게 감소하였다. 최근 고지혈증의 치료법으로 식이요법, 운동요법, 약물요법 등이 시행되고 있는데 약물요법 중에는 HMG-CoA 제해제인 Lovastatin, Simvastatin 계열의 약물들이 많이 사용되고 있다. 이들은 항고지혈증에 대한 효과가 입증 되었으나 그에 따른 부작용이 있어 새로운 치료제 개발이 시급한 상태이다. 본 실험에서 보여준 천궁약침의 HMG-CoA reductase activity 감소는 생체 내 콜레스테롤 생합성에 관여하는 HMG CoA Reductase을 차단하여 항고지혈증의 예방 및 치료에 유의한 효과가 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 천궁약침은 고지방사료로 유발된 흰쥐의 고지혈증 치료에 효과가 있는 것으로 생각되며, 향후 고지혈증 질환에 임상적인 응용 및 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

고지방 식이로 고지혈증이 유발된 흰쥐에 천궁약침이 미치는 영향을 알아보기 위하여, 몸무게, 간 무게, 혈청, 간 내 효소 분석 및 조직학적 분석을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 천궁약침군에서 control군에 비해 Total cholesterol은 유의하게 감소하였으며, HDL/total cholesterol, Phospholipid/total cholesterol이 유의하게 증가하였다.
2. 천궁약침군에서 HMG-CoA reductase activity는 control군, NP군 및 saline군에 유의하게 감소하였다.
3. 천궁약침군에서 control에 비해 간조직의 병리적 변화가 억제되었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 천궁약침 HMG-CoA reductase activity를 억제하여 콜레스테롤 합성을 저하시켜 고지혈증에 유효한 효과가 있을 것으로 사료되며 추후 임상적인 연구가 필요하리라 생각된다.

VI. 참고문헌

1. 의학교육연수원 편저. 가정의학. 서울 : 서울대학교 출판부. 2003 : 250-62, 302-3.
2. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과진료지침. 서울 : 고려의학. 2002 : 309.
3. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과학 II. 서울 : 군자출판사. 1998 : 96-107, 288.
4. 민헌기. 임상 내분비학. 서울 : 고려의학. 1990 : 489-520.
5. 서순규. 성인병. 서울 : 고려의학. 1992 : 77-121, 429-48, 457-73.
6. 전국의과대학교수 역. 오늘의 진단과 치료. 서울 : 하우리. 1999 : 846-74.
7. Coleman CIJ, Hebert H and Reddy P. The effect of Pariax ginseng in quality of life. J Clin Pharm Ther. 2003 ; 28 : 5-15.
8. 권건혁. 편집황제내경. 서울 : 도서출판 반룡. 2005 : 410-12.

9. 김정제. 최신침구학. 서울 : 정보사. 1995 : 211-13.
10. 임윤경, 김준표, 김태한. 대학 경혈학 각론. 대전 : 오비기획. 2005 : 2783-6.
11. 전국한외과대학 본초학교수 공저. 본초학. 서울 : 영림사. 2000 : 409-10.
12. 황영진, 임윤경, 이현. 족삼리 천궁 약침이 Collagen-induced Arthritis에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007 ; 24(4) : 81-97.
13. 이문희, 조수열, 윤수홍. Benzo[a]pyrene에 의해 유도된 간기능 장애에 미치는 천궁 수침액의 영향. 한국위생과학회지. 2003 ; 9(1) : 53-63.
14. Xie W, Wang W, Su H, Xing D, Cai G, Du L. Hypolipidemic mechanisms of Ananas comosus L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins. J pharmacol Sci. 2007 ; 103 : 267-74.
15. Bansal VS, Kanfer JN. The phospholipid-N-methyltransferase of rat brain microsomes. Biochim Biophys Acta. 1985 ; 836(1) : 73-9.
16. National Cholesterol Education Program National heart, Lung, and Blood Institute National Institutes of Health. Detection Evaluation and Treatment of High blood Cholesterol in Adults(Adult Treatment Panel III). Executive Summary. NIH Publication. 2001 ; 1 : 3670.
17. 탁양주, 유선미, 송윤미. 혈청 총콜레스테롤과 관련된 인자들. 가정의학지. 1992 ; 13(12) : 935-40.
18. 屈松栢, 李家庚. 實用中醫心血管病學. 北京大學技術文獻出版社. 1993 : 290-5.
19. 정시전, 김경수. 고혈압환자에서의 혈중 지질농도. 대한순환기학회지. 1991 ; 21(1) : 125-26, 128.
20. 황금희, 허영란. 한국인의 고지혈증에 관한 연구 - I. 고콜레스테롤혈증 소견자의 음주, 흡연, 운동 및 생활습관 특성과 그 위험인자를 중심으로. 한국식품영양학회지. 1999 ; 12(3) : 290-99.
21. Benjamin H and Lau S. Suppression of LDL oxidation by garlic. J Nutr. 2001 ; 131 : 985-88.
22. 박영배. 고지혈증. Medical Postgraduates. 2003 ; 31 : 160-65.
23. Havel RJ and Rappaport E. Management of primary hyper-lilidemia. Engl J Med. 1995 ; 332 (144) : 91-9.
24. 전국한외과대학 심계내과학교실. 東醫心系內科學. 서울 : 書苑堂. 2001 : 209-14.
25. 鄭遇悅, 安圭錫. 韓方臨床病理學. 서울 : 永林社. 1998 : 545.
26. 이규범. 임상병리핸드북. 서울 : 고문사. 1992 : 116-22.
27. 강수우, 위통순, 윤대환. 脾俞에 대한 내복자 약침이 고지방 식이로 유발된 비만 백서(白鼠)에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007 ; 24(5) : 113-25.
28. Ehara S, Ueda M, Nakuro T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, Komatsu R, Matsuo T, Itabe H, Takano T, Bexker AE. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndrimes. Circulation. 2001 ; 103 : 1955-60.
29. Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, Collen D, Muls E, van de Werf F. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vsc Biol. 2001 ; 21 : 844-48.
30. 이삼열, 정윤섭, 권오녕, 손경순. 임상병리검사법. 서울 : 연세대학교 출판부. 2001 : 273-76, 281-83, 303-15.
31. 이현철. 고지혈증 치료제의 현황. 제7차. 한국지질학회지. 1994 ; 4(1) : 91-8.
32. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일 제3판. 서울 : 의학문화사. 2003 : 193, 345, 373, 374, 410.