

Nano powder propolis 투여가 streptozotocin으로 유발된 당뇨병 rat의 혈당에 미치는 영향

정년기* · 조영채¹ · 하창수² · 김희성³

대전광역시보건환경연구원, ¹충남대학교 의학전문대학원, ²한국안전성평가연구소, ³(주)가보팜스

(접수 2010. 4. 20, 게재승인 2010. 6. 10)

Hypoglycemic effects of nano powder propolis on streptozotocin-induced diabetic rats

Nyun-Ki Chung*, Young-Chae Cho¹, Chang-Su Ha², Hee-Sung Kim³

Daejeon Metropolitan Environment Health Institute, Daejeon 305-338, Korea

¹Department of Preventive Medicine and Public Health, Chungnam National University School of Medicine,
Daejeon 301-747, Korea

²Korea Institute of Toxicology, Daejeon 305-600, Korea

³Gavo Farms (Co, Ltd), Chonnam 520-320, Korea

(Received 20 April 2010, accepted in revised from 10 June 2010)

Abstract

To evaluate the hypoglycemic effect of nano powder propolis, streptozotocin (STZ) induced diabetic rats were divided into 2 groups : diabetic control group and nano powder propolis (0.9ml) group. Then the rats were fed with nano-powder-propolis for 4 weeks. After 4 weeks, oral glucose tolerance test (oral GTT) was performed and blood sugar levels after 16 hours fasting, body weights, and blood lipid levels were measured. Finally, pancreas were collected and examined by histopathology and immunohistochemistry. In conclusion, the nano-powder-propolis was effective in the treatment of diabetes due to the reduction of blood sugar level and the regeneration of damaged β -cells observed in streptozotocin-induced diabetic rats.

Key words : Nano powder propolis, Diabetic rats, Hypoglycemic effects

서 론

프로폴리스(bee glue; 봉교(蜂膠)는 식물들이 자신의 잎, 꽃, 열매 및 새싹을 보호하기 위해 분비하는 항균성과 방수성, 절연성을 가진 수지성의 화합물을 꿀벌이 채취하여 그들의 침의 효소와 혼합하여 만든 황갈색 또는 암갈색의 수지상 물질이며 천연 향생물질로 알려져 있다(Hausen 등, 1987; Monti 등, 1983; Villonueva 등, 1970).

프로폴리스의 주요 성분으로는 flavonoids, caffeic acid phenyl ester, cinamic acid, polyphenols 등 200여 종 이상이 알려져 있으며(Greenaway, 1991; Penelope와 Crane, 1987), 항산화(Kanbur 등, 2009; Gomez-Romero 등, 2007), 항세균(Grange와 Davey, 1990), 항염증(Park 등, 1996), 항곰팡이(Silici 등, 2005), 항바이러스(Schnitzler 등, 2010), 항암(Erhan 등, 2008), 면역조절작용(Beukelman 등, 1997), 혈당저하작용 등의 프로폴리스 효능이 매우 광범위하게 알려져 있다. 특히 혈당저하효능에는 물추출 프로폴리스(Matsui 등, 2004; 한, 2003; 胡와 玄, 2003), 에탄올추출 프로폴리

*Corresponding author: Nyun-Ki Chung, Tel. +82-42-870-3490,
Fax. +82-42-870-3489, E-mail. cnk3849@korea.kr

스(정 등, 2005; 胡와 玄, 2003; 高 등, 2002; Matsushige 등, 1996; Said와 Abedel-Aziz, 1990), 무알콜수용성프로폴리스(이 등, 2005), 프로폴리스와 혼합 제제(胡 등, 2004a; 董 등, 2003) 등 재료를 이용한 혈당과 혈청지질에 미치는 영향에 대한 실험동물, 임상실험이 연구되어 있다.

그러나 수용이 용이한 나노 분말 프로폴리스 분말 제제를 이용한 혈당저하 실험 자료는 전무하다. 따라서 개발된 나노 분말 프로폴리스 제제를 이용하여 streptozotocin (STZ)으로 유발된 당뇨 rat에 투여하여 혈당저하에 미치는 영향과 췌장의 병리조직학적 변화의 관찰로서 당뇨병에 대한 효과를 알아보하고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물

생후 7주된 체중 160~210g의 Sprague-Dawley계 수컷 rat(Samtako Biokorea, Korea)를 구입하여 대전광역시 보건환경연구원 실험동물사에 입식시켜 1주일간 적응 사육시킨 후, 이 실험을 실시하였다. 실험기간중의 사육환경은 실온 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 5\%$ 로 하였으며, 사육 상자는 polycarbonate cage (420W × 180D × 175Hmm)를 사용하였고 각 사육 상자마다 3~4 마리씩 넣어 표준 사육기준에 준하여 사육하였다. 실험기간중의 고행사료(삼양배합사료, 한국) 및 음용수는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

당뇨병이 유발된 당뇨병군의 실험동물 배치는 대조군과 나노 분말 프로폴리스 투여군으로 구분하여 각 군 당 9마리씩 체중과 혈당치가 비슷하도록 고려하여 무작위로 배정하였다.

당뇨병 유발

당뇨병을 유발시키기 위하여 실험동물은 16시간 동안 절식시킨 후, STZ(Wako, Japan)를 pH 4.4의 0.01M citrate buffer에 녹여 체중 kg당 45mg 농도로 최대주사량이 1ml가 되도록 하여 꼬리정맥에 주사하였다.

STZ 투여 48시간 후에 당뇨병 유발 여부를 확인하기 위해 16시간을 절식시킨 다음 꼬리정맥에서 혈액을 취해, glucose dye oxidoreductase mediator reaction법 혈당기(ACCU-CHEK Active : Roche, Germany)로 혈

당치를 측정하여 혈당이 300mg/dl 이상인 것을 당뇨병 유발된 rat로 간주하였다(정 등, 2005). 혈당측정기의 포도당 측정범위 한계인 600mg/dl 이상의 rat는 실험에서 제외시켰다.

나노 분말 프로폴리스 및 투여

국내산 프로폴리스 덩어리 500g을 80% 에틸알코올 3.1L에 녹여 교반을 한 후 200일 이상 숙성과정을 거친 다음 여과 추출한 프로폴리스액을 원액으로 하여, 이를 다시 무알콜수용성 프로폴리스로 제조한 후, 이를 200nm 크기의 나노 분말 프로폴리스로 제조한 제품을 공급받아(Gavo Farms Co. Korea) 실험시료로 하였다.

실험동물에 대한 투여는 대조군은 생리식염수를 각각 총량 2ml씩, nano powder propolis 투여군은 total flavonoids 함량(1.19w/v%)을 기준으로 하여 nano powder propolis 0.9ml에 증류수를 가하여 각각 총량 2ml가 되게 하였으며, 매일 1회 오전 10시에 sonde를 사용하여 경구투여 하였다(정 등, 2005).

체중, 혈당치 및 혈청지질치 측정

체중 측정은 STZ를 투여하기 위해 절식시키기 직전, 실험 4주 후 절식 직전에 전기식 지시저울(CAS, Computing Scale, Korea)로 g단위까지 측정하였다. 혈당치는 공복 시 혈당치로 하였으며 STZ 투여 직전, STZ 투여 후 48시간 및 실험 2주와 4주 후 16시간을 절식시킨 다음 꼬리정맥에서 채혈하여 측정하였다. 혈청 지질치 측정은 실험 4주 후 마취를 시키지 않은 rat를 직접 심장 천자하여 3~5ml를 채혈하고, 항응고제가 없는 CBC-bottle(Green Cross Medical Co, Korea)에 넣어 냉장 보관하면서 원심분리기(KM-70, Germany)로 3,000rpm에서 10분간 처리한 후 자동생화학분석기(Alcyon, France)를 이용하여 total-cholesterol(T-CHO)과 triglyceride(TG)를 측정하였다.

구강 당부하검사(oral glucose tolerance test, oral GTT)

실험 4주 후 모든 실험군의 rat는 16시간 절식시킨 후 혈당치를 측정할 시점을 0시간으로 기준하였다. 포도당액(2g/kg, BW)(Sabu 등, 2002)은 sonde를 사용하여 경구투여하고, 0.0, 0.5, 1.0 및 2.0시간이 경과한 후

고리정맥에서 채취한 혈액을 glucose dye oxidoreductase mediator reaction법(ACCU-CHEK Activ; Roche, Germany)으로 혈당치를 측정하였다.

췌장의 병리조직학(면역조직화학)적 염색

실험 4주 후 채혈이 끝난 rat는 ether로 마취시킨 후, 수술가위로 복부를 절개하여 췌장을 적출한 즉시 10% 중성 포르말린용액에 고정시켰다. 고정된 췌장을 세절한 후 실온에서 24시간 동안 10% 중성 포르말린에 재고정한 후 수돗물로 1시간 수세하였다. 수세한 조직을 automatic tissue processor (Hypercenter XP, Shandon, England)에 장착하여 탈수, 투명, 칩투 과정을 거친 다음 파라핀 포맷을 하여 박절기(ddm-p 064, Germany)로 조직절편을 만들었다.

랑거한스섬을 관찰하기 위한 병리조직학적 염색은 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 파라핀 제거 및 탈수과정을 거쳐 hematoxylineosin(H&E) 염색(오, 1987) 한 다음 광학현미경(Nikon, Japan)으로 관찰한 후 사진 촬영하였다.

베타세포의 인슐린에 면역반응을 관찰하기 위한 면역조직화학적 염색은 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 xylene으로 파라핀을 제거한 다음 ethanol 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 함수과정을 거치게 하였다. 12시간 후 0.1M의 phosphate buffer saline (PBS, 0.9% NaCl, pH 7.2) 용액에 하룻밤 동안 배양시킨 다음 15분간 PBS로 세척한 뒤 10% horse serum을 함유한 blocking solution을 사용하여 20분 동안 배양시키고 다시 PBS용액으로 15분간 세척하였다. 세척한 각각의 조직위에 인슐린(Novo Castra), IGF-I, IGF-II (H-103, Santa Cruz Biotechnology)를 각각 처리하고 습도가 높은 상온의 배양접시에서 2시간 동안 배양시킨 뒤 15분간 PBS용액으로 세척하였다. 그리고 biotinylated anti-mouse IgG를 처리하여 30분간 배양시킨 후 15분간 PBS용액으로 세척하였다. 이를 다시 avidin-biotinylated enzyme complex (ABC) reagent (Vector Lab, CA, USA)를 조직에 처리 30분간 반응시키고 다시 PBS 용액에서 15분간 세척하였다. 3, 3'-diamino-benzi-

dine (DAB, Sigma) 발색시약을 조직에 떨어뜨려 2분간 발색시키고 난 후 흐르는 물에 과량의 염색시약을 제거하였다. 물기를 제거한 후 여과시킨 hemato-xylin에 20초간 대조염색을 한 다음 통상적인 방법에 따라 표본을 제작하여 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 촬영하였다.

통계처리

실험에서 얻은 모든 자료는 statistical package for the social science (SPSS, ver 14.0) 프로그램을 이용하여 분석하였으며, oral GTT의 변수 간 유의성 검증은 one-way ANOVA를 실시하였고, 프로폴리스 투여 전 각 군의 혈당치와 투여 후 4주에 측정된 혈당치의 두 변수 간 유의성 검증은 paired-samples *t*-test를 실시하였다. Oral GTT, 혈당치, 체중, 혈청 지질치 등 각 군의 유의성 검증은 one-way ANOVA를 실시하였다.

결 과

체중의 변화

STZ 투여 직전의 각 군별 체중치는 198.8 ± 3.0 에서 210.3 ± 3.6 이었으나, 실험액 투여 4주 후의 체중은 모든 실험군에서 증가하였다(Table 1).

나노 프로폴리스 분말 투여 전후의 체중량 증감 비교에 있어 당뇨병 대조군의 실험 전 198.1 ± 3.0 에서 실험 2주 후는 232.5 ± 13.9 으로 34.4g 증가하였으며, 4주 후는 247.4 ± 12.1 으로 48.6g 증가하였고, 나노 프로폴리스 분말 투여군의 실험 전 210.3 ± 3.6 에서 실험 2주 후는 257.0 ± 11.0 으로 46.7g 증가하였으며, 실험 4주 후는 274.0 ± 12.3 으로 63.7g 증가하였다(Table 1).

혈당치 비교

STZ를 투여하기 직전의 공복시 혈당치는 $100.4 \pm 1.3 \sim 119.7 \pm 9.5$ mg/dl로 각 군별로 비슷하였으나, STZ를 투여하여 당뇨병을 유발시킨 직후의 공복시 혈당치

Table 1. Body weight variation after 2 and 4 weeks nano-powder propolis administration (g: Mean \pm SE)

Group	No	I	II	III	III-I
Control	9	198.8 ± 3.0	232.5 ± 13.9	247.4 ± 12.1	48.6 ± 9.1
Nano-propolis	9	210.3 ± 3.6	257.0 ± 11.0	274.0 ± 12.3	63.7 ± 8.7

I: Body weight just before the administration of STZ. II: Body weight on 2 weeks after the administration of nano-powder propolis in STZ-induced diabetic rats. III: Body weight on 4weeks after the administration of nano-powder propolis in STZ-induced diabetic rat. III-I: Increased body weight.

Table 2. Fasting blood sugar levels (mg/dl: Mean \pm SE)

Group	No	I	II	III	IV
Control	9	119.7 \pm 9.5	427.3 \pm 46.4	414.5 \pm 25.5	461.5 \pm 42.2
Nano-propolis	9	100.4 \pm 1.3	532.7 \pm 22.8	317.1 \pm 44.0	259.5 \pm 51.7**

I: Blood sugar levels of normal rats just before the administration of STZ. II: Blood sugar levels just before the administration of propolis in STZ-induced diabetic rats. III: Blood sugar levels on 2 weeks after the administration of propolis in STZ-induced diabetic rats. IV: Blood sugar levels on 4 weeks after the administration of propolis in STZ-induced diabetic rats.

** $P < 0.01$ (Compared to the control)

는 427.3 \pm 46.4 ~ 532.7 \pm 22.8 mg/dl로 정상혈당치 보다 월등히 증가하였으며, 각 군별 다소 차이가 있었다 (Table 2).

당뇨병 유발 실험 4주후의 공복시 혈당치의 비교는 당뇨병 대조군은 증가하였으며, 나노 분말 프로폴리스 투여군은 현저하게 감소하였다 (Table 2).

공복시 혈당치 비교에 있어 당뇨병 대조군은 실험 전 427.3 \pm 46.4 mg/dl에서 실험 2주 후 414.5 \pm 25.5 mg/dl로 12.8 mg/dl 감소하였고, 실험 4주 후 461.5 \pm 42.2 mg/dl로 34.2 mg/dl 증가하였고, 나노 분말 프로폴리스 투여군은 실험 전 532.7 \pm 22.8 mg/dl에서 실험 2주 후 317.1 \pm 44.0 mg/dl로 215.6 mg/dl 감소하였으며, 4주 후 259.5 \pm 51.7 mg/dl로 유의하게 273.2 mg/dl 감소하였다 ($P < 0.01$) (Table 2).

혈청지질치 비교

4주간 실험액을 투여 한 후 당뇨병 대조군의 T-CHO는 115.5 \pm 7.4 mg/dl에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군에서 109.5 \pm 6.1 mg/dl로 감소되었다.

TG는 당뇨병 대조군의 173.4 \pm 30.3 mg/dl에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군은 135.0 \pm 15.0 mg/dl로 감소되었다 (Table 3).

구강 당 부하검사(oral GTT) 결과

Table 3. Serum lipid values (mg/dl: Mean \pm SE)

Group	No.	T-CHO	TG
Control	9	115.5 \pm 7.4	173.4 \pm 30.3
Nano-propolis	9	109.5 \pm 6.1	135.0 \pm 15.0

*T-CHO: Total-cholesterol, TG: Triglyceride

Table 4. Blood sugar level at 0.5, 1 and 2 hrs after the administration of glucose solution (2g/kg, BW) (mg/dl: Mean \pm SE)

Group	No.	0 hr	0.5 hr	1 hr	2 hrs
Control	9	461.5 \pm 42.2	550.4 \pm 16.8	558.7 \pm 12.6	476.3 \pm 16.4
Nano-propolis	9	259.5 \pm 51.7**	517.3 \pm 28.2	484.2 \pm 34.7	417.0 \pm 48.8

** $P < 0.01$ (Compared to the control of diabetic)

실험 4주후 0시간대의 혈당치는 대조군에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군에서 유의하게 감소된 ($P < 0.01$) oral GTT 결과는 당뇨병 대조군은 0시간대에 혈당치가 최저치를 보이다가 1시간대에 최대치를 보인 후 2시간대에 하강하는 경향을 보였으며, 나노 분말 프로폴리스 투여군은 0시간대에 혈당치가 최저치를 보이다가 30분대에 최대치를 보인 후 1시간대에 하강하는 경향을 보였다. 그러나 각 군 공히 0시간대의 공복 시 혈당치로 저하되지 않았다 (Table 4).

췌장의 병리조직학적 소견

랑거한스섬의 관찰한 결과 당뇨병 대조군은 랑거한스섬의 형태학적 구조는 매우 손상되어 정상 크기에 비해 매우 작아졌으며 위축되었다 (Fig. 1). 나노 분말 프로폴리스 투여군은 랑거한스섬의 구조는 당뇨병 대조군에 비해 현저하게 크기가 커졌으며 정상크기의 상

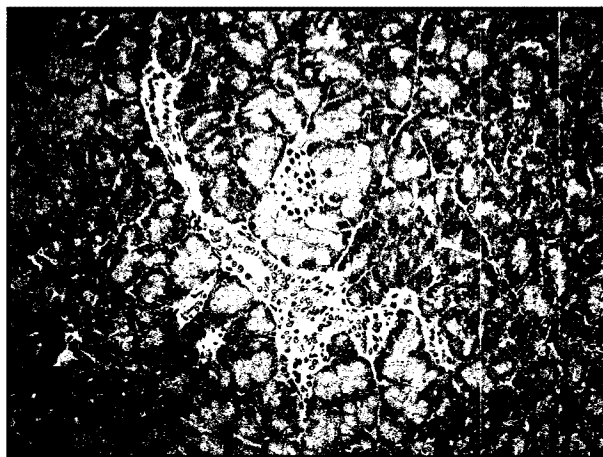


Fig. 1. Langerhans islet of diabetic control rat. H&E \times 200.

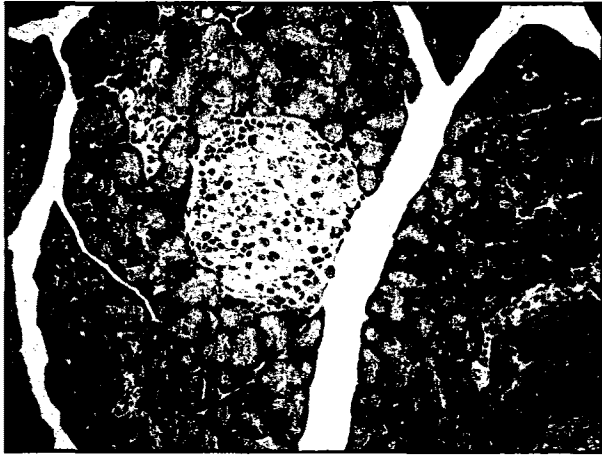


Fig. 2. Langerhans islet of diabetic, Nano powder propolis (1.19 w/v%) treated rat. H&E $\times 200$.

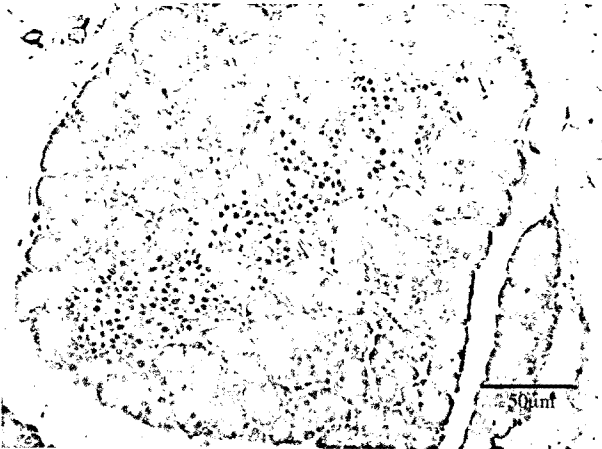


Fig. 3. Langerhans islet of diabetic control rat. Insulin-immunohistochemistry $\times 200$.

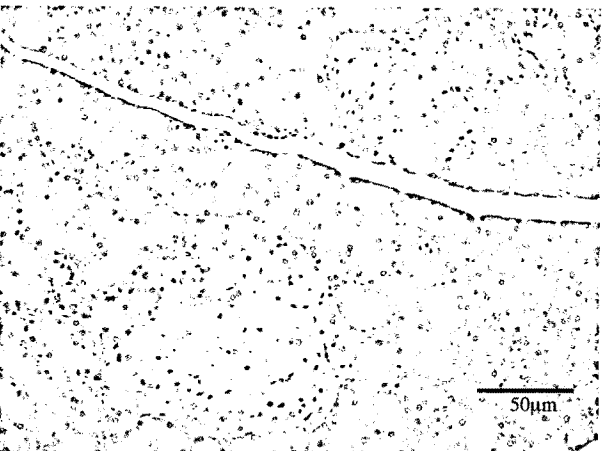


Fig. 4. Langerhans islet of diabetic, Nano powder propolis (1.19 w/v%) treated rat. Insulin-immunohistochemistry $\times 200$.

태였다(Fig. 2).

췌장의 면역조직화학적 소견

당뇨병 대조군에서는 랑게르한스섬은 관찰되나 인슐린에 대한 면역반응이 없었다(Fig. 3). 그러나 나노 분말 프로폴리스 투여군의 랑게르한스섬은 인슐린에 강한 면역 반응성을 보였다(Fig. 4).

고 찰

프로폴리스 추출하는 대표적인 방법은 1) 물 추출법 2) 에틸알코올 추출법 3) 미셀화 추출법 4) 초임계 추출법 등이 있다. 또한, 에틸알코올 추출법 의한 프로폴리스 추출액은 다시 수용이 가능한 무알코올 수용성 프로폴리스 액상의 생산으로(허, 2006; 이 등, 2004), 이어 수용성 프로폴리스 분말 제조(송, 2006)까지 이르게 되었다. 이후 구체적인 개발과정이 설명되지 않았으나 나노공법을 응용한 진공냉동마이크로 추출법의 한 사례와 최첨단의 나노 생명공학 기술로 생산한 상품(nanopropolis[®])이 있는 상태에서(<http://cafe.naver.com>) 무알코올 수용성 프로폴리스의 제조 기법에 나노 에멀전 공법을 응용한 수용성 나노 분말 프로폴리스의 제품이 개발되어 있다(김 등, 2008). 이 제품을 제공(가보팍스(주), 전남) 받아 이 연구의 시료로 사용하였다.

당뇨병에 대한 프로폴리스의 효과에 관한 자료는 민간요법 수준의 체험사례와 동물실험에 의해 혈당의 저하(Said와 Abedel-Aziz, 1990; Matsushige 등, 1996; 胡와 玄, 2003; 董 등, 2003; 胡 등, 2004a; 王, 2004; Matsui 등, 2004; Fuliang 등, 2005), 에탄올 추출 프로폴리스가 췌장의 랑게르한스섬 내 인슐린 분비 베타세포의 재생에 따른 혈당 저하의 규명(정 등, 2005), 물 추출 프로폴리스의 저혈당 효과와 췌장의 조직병리 변화(한, 2003), 프로폴리스가 당뇨병 단백질 대사에 미치는 영향과 혈당저하(胡 등, 2004b), 프로폴리스가 당뇨병과 신장에 미치는 영향(胡 등, 2004a; 胡 등, 2004c), 무알코올 수용성 프로폴리스에 의한 항당뇨 효과(이 등, 2004), 사람의 2형 당뇨병에 대한 프로폴리스와 뽕잎추출물 혼합제품의 혈당저하의 효과(Murata 등, 2004)와 혈당저하 약제 투여군과 프로폴리스 투여군으로 구분 실험에 의한 제1, 2형 당뇨병 치료 효과(高 등, 2002)등이 있다. 그러나 나노 프로폴리스를 이용한

항균(Liu, 2005), 항산화와 면역증강(허, 2006)의 실험 자료는 있으나 혈당저하 효과 실험에 관한 자료는 전무한 상태이다.

따라서 이 연구에서는 나노 분말 프로폴리스의 혈당저하의 효과여부를 규명하고자 하였다.

실험에 사용한 실험동물은 Sprague-Dawley계 rat이 있으며, 당뇨병 유발은 췌장의 β -세포에 선택적으로 작용하며 투여 24시간 내에 β -세포의 괴사가 이루어지고(Junod 등, 1967), 다른 기관에는 영향을 미치지 않는다는(Cardinal 등, 2001) STZ를 사용하였다. STZ는 45mg/kg, BW(정 등, 2005) 농도로 최대주사량이 1ml로 하여 꼬리정맥(Junod 등, 1967; 정 등, 2005)에 주입하였다. STZ를 투여한 후 24시간이 경과하면 혈당이 상승하고, 48시간에 최고점에 이른다는 결과(Cardinal 등, 2001)에 따라 STZ 투여 48시간의 혈당치를 기준으로 당뇨병 rat 유무를 판정하였다.

당뇨병 rat에 total flavonoids 함량이 1.19w/v%이며, 기능식품공전의 규격에 의한 p -coumaric acid, cinamic acid 성분이 확인된 나노 분말 프로폴리스를 투여하여 구강 당부하검사, 혈당치, 체중, 혈청지질치와 췌장의 병리조직학적 관찰과 면역조직화학적 관찰을 실시하였다.

이 실험의 결과 구강당부하검사(oral GTT)는 당뇨병 대조군과 나노 분말 프로폴리스 투여실험군은 포도당 용액을 투여한 후 1시간에 최고 혈당치에 도달하였다가 2시간에서는 유의하게 하강하였으나 공복시 혈당치까지는 하강하지 않았다($P < 0.001$). 이는 한(2003)과 정 등(2005)의 실험 결과와 일치하였다.

공복시 혈당치는 당뇨병 rat의 대조군에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군에서 유의하게 저하되었다($P < 0.01$). 이는 동물 실험 또는 사람의 임상실험에서 프로폴리스가 혈당 저하 효과 있다고 주장한 Said와 Abedel-Aziz(1990), Matsushige 등(1996), 高 등(2002), 董 등(2003), 胡와 玄(2003) 胡 등(2004a), 한(2003), Murata 등(2004), 王(2004), Matsui 등(2004), Fuliang 등(2005), 정 등(2005), Lotfy 등(2006), Zamami 등(2007) 결과와 일치하였다.

이 실험에서 체중은 실험의 시작 전과 4주후의 체중은 모든 실험군에서 공히 체중 증가를 나타냈으며, 특히 대조군의 체중 증량에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군에서 보다 높게 증량되었다. 이는 정 등(2005)의 발표와 일치하였다.

이 실험에서 혈청지질치는 대조군에 비해 나노 분말

프로폴리스 투여군은 낮게 나타났다. Total cholesterol 농도는 대조군 115.5 ± 7.4 mg/dl에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군 109.5 ± 6.1 mg/dl로 낮게 나타났다. Triglyceride는 당뇨병 대조군 173.4 ± 30.3 mg/dl에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군은 135.0 ± 15.0 mg/dl로 낮아 나타났다. 이러한 결과는 정 등(2005) 주장과 일치하였다.

췌장의 병리조직학 염색 소견은 당뇨병 대조군의 랑거한스섬의 형태학적 구조는 매우 손상되어 정상 크기에 비해 매우 작아졌으며 위축되었다. 반면에 나노 분말 프로폴리스 투여군의 랑거한스섬은 매우 커졌으며 무정형 정상 크기의 상태였다. 이는 정 등(2005)과 한(2003)의 결과와 일치하였다.

췌장의 면역조직화학 염색 소견은 당뇨병 대조군의 랑게르한스섬의 베타세포는 몇 개만 관찰되었으나 인슐린에 면역반응이 없었다. 그러나 나노 분말 프로폴리스 투여군의 베타세포는 현저하게 증가하였을 뿐만 아니라 강한 면역 반응성을 보였다. 이는 정 등(2005)의 베타세포 재생 주장과 일치하였으며, 강한 인슐린 면역 반응성을 나타내는 것은 작아진 랑거한스섬을 정상 크기로 무정형 회복시키고 베타세포를 재생하는 것으로 추정할 수 있다.

이상과 같은 결과를 종합해 볼 때 프로폴리스가 항당뇨 효과는 물론 랑거한스섬 내의 베타세포를 재생한다는 주장(정 등, 2005)과 같이 나노 분말 프로폴리스 역시 같은 기전으로 베타세포를 재생하여 당뇨병의 혈당조절개선 및 치료적인 효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 조직의 구조를 확인하기 위한 reticulum 염색, 혈중 인슐린함량 측정, 프로폴리스 또는 나노 분말 프로폴리스를 처치한 후 일정기간 회복기간을 두어 그 변화 등에 대한 추가적인 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

결 론

나노 분말 프로폴리스의 항당뇨 효과를 알아보기 위하여 STZ로 유발시킨 당뇨병 rat를 대조군과 나노 분말 프로폴리스 투여군으로 구분하여 실험액을 4주간 경구 투여 한 후 glucose tolerance test, 혈당치, 체중의 변화, 혈청의 지질치를 측정하였으며, 췌장의 병리조직학적 및 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

그 결과, 구강 당부하검사 혈당치는 대조군과 나노

분말 프로폴리스 투여군 공히 포도당액 경구 투여 후 1시간대에 최고점에 이르고 2시간대에 저하하는 경향이었으며, 기준시점인 0시간대로 낮아지지는 않았다. 공복 시 혈당치는 대조군에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군에서 현저하게 저하하였다. T-CHO와 TG는 대조군에 비해 나노 분말 프로폴리스 투여군에서 낮게 나타났다. 췌장의 병리조직학적과 면역조직화적 염색 결과, 대조군의 랑거한스섬은 정상군에 비해 크기가 매우 작아졌으며 인슐린 면역성이 없었다. 나노 분말 프로폴리스 투여군은 대조군에 비해 STZ 투여로 작아진 랑거한스섬이 정상 크기로 회복되었으며 인슐린 면역 반응성을 보였다.

이상의 결과를 볼 때, STZ로 유발된 당뇨병 rat에 나노 분말 프로폴리스를 투여할 경우 혈당저하와 당뇨병의 치료효과가 있는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 김희성, 이동배, 조영채, 정년기, 하창수. 2008. Nano Emulsion 기술을 이용한 Propolis Nano Powder 제조기술 개발. 지식경제부. (주)가보팜스 연구보고서: 1-72.
- 송효남. 2006. Propolis 수용성 분말 제조 및 이를 첨가한 빵의 저장 중 품질변화. 한국식품조리과학회 22(6): 905-913.
- 오근영. 1987. 조직병리학실기. 대학서림, 서울: 90-92.
- 이동배, 조영채, 정년기. 2004. 무알코올 수용성 프로폴리스의 제조방법과 질병효능실험. (주)가보팜스, 충남대학교 연구 보고서: 1-18.
- 정년기, 이동배, 조영채, 하창수. 2005. Propolis 투여가 Streptozotocin으로 유발된 당뇨병 rat의 혈당에 미치는 영향. 한국환경보건학회지 31(1): 47-54.
- 한충택. 2003. HPLC에 의한 프로폴리스의 성분 분석 및 Streptozotocin 당뇨 유발 흰쥐에서의 수용성 프로폴리스의 항당뇨 효과. 강원대학교 대학원(박사학위논문).
- 허용갑. 2006. 국산 프로폴리스를 이용한 무알콜 수용성의 기능성 식품 개발과 임상 실험을 통한 항산화 및 면역증강효과의 검증. 농림부. 서울프로폴리스(주) 연구보고서: 1-149.
- Beukelman CJ, De Vries PJF, Schaafsma A, Quarries van Ufford HC, Keueneen J, Kroes BH, Van den Worm E, van den Berg AJJ, Labadie RP, van Dijk R. 1997. Immunomodulating properties of propolis. *Pharm Pharmacol Lett* 7(2/3): 75-77.
- Cardinal JW, Margison GP, Mynett KJ, Yates AP, Cameron DP, Elder RH. 2001. Increased susceptibility to streptozotocin-induced beta-cell apoptosis and delayed autoimmune diabetes in alkylpurine-DNA-N-glycosylase-deficient mice. *Mol Cell Biol* 21(16): 5605-5613.
- Erhan Eroğlu H, Ozkul Y, Tatlısen A, Silici S. 2008. Anticarcinogenic and antimetabolic effects of Turkish propolis and mitomycin-Con tissue cultures of bladder cancer. *Nat Prod Res* 22(12): 1060-1066.
- Fuliang HU, Hepburn HR, Xuan H, Chen M, Daya S, Radloff SE. 2005. Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacol Res* 51(2): 147-152.
- Gómez-Romero M, Arráez-Román D, Moreno-Torres R, García-Salas P, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. 2007. Antioxidant compounds of propolis determined by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *J Sep Sci* 30(4): 595-603.
- Grange JM, Davey RW. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J R Soc Med* 83(3): 159-160.
- Greenaway W, May J, Scaysbrook T, Whatley FR. 1991. Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Z Naturforsch* 46(C): 111-121.
- Hausen BM, Wollenweber E, Senff H, Post B. 1987. Propolis allergy. (I). Origin, properties, usage and literature review. *Contact Dermatitis* 17(3): 163-170.
- Junod A, Lambert AE, Orci L, Pictet R, Gonet AE, Renold AE. 1967. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc Soc Exp Biol Med* 126(1): 201-205.
- Kanbur M, Eraslan G, Silici S. 2009. Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicol Environ Saf* 72(3): 909-915.
- Liu H. 2005. Nano-propolis a new kind of antibacterial agents. *Food Res Develop* 26(6): 107-109.
- Lotfy M, Badra G, Burham W, Alenzi FQ. 2006. Combined use of honey, bee propolis and myrrh in healing a deep, infected wound in a patient with diabetes mellitus. *Br J Biomed Sci* 63(4): 171-173.
- Matsui T, Ebuchi S, Fujise T, Abesundara KJ, Doi S, Yamada H, Matsumoto K. 2004. Strong antihyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid. *Biol Pharm Bull* 27(11): 1797-1803.
- Matsushige K, Basnet P, Hase K, Kadota S, Tanaka S, Namba T. 1996. Propolis protects pancreatic β -cells against the toxicity of streptozotocin (STZ). *Phytomedicine* 3(2): 203-209.
- Murata K, Yatsunami K, Fukuda E, Onodera S, Mizukami O, Hoshino G, Kamei T. 2004. Antihyperglycemic effects of propolis mixed with mulberry leaf extract on patients with type 2 diabetes. *Altern Ther Health Med* 10(3): 78-79.
- Monti M, Berti E, Carminati G, Cusini M. 1983. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis* 9(2): 163-164.
- Park EH, Kim SH, Park SS. 1996. Anti-inflammatory activity of propolis. *Arch Pharm Res* 19(5): 337-341.
- Sabu MC, Smitha K, Kuttan R. 2002. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxida-

- tive stress in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol* 83(1-2): 109-116.
- Said MM, Abedel-Aziz SF. 1990. Some biological aspects of propolis (bee-glue). 2-propolis as hypoglycemic agent. *J Drug Res (Egypt)* 19: 245-53
- Schnitzler P, Neuner A, Nolkemper S, Zundel C, Nowack H, Sensch KH, Reichling J. 2010. Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytother Res* 24 (Suppl 1): S20-28.
- Silici S, Koç NA, Ayangil D, Cankaya S. 2005. Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. *J Pharmacol Sci* 99(1): 39-44.
- Villonueva VR, Barbier M, Gonnet M, Lavie P. 1970. Les flavonoides de la propolis. Isolement d'une nouvelle substance bacteriostatique. la pinocembrine, *Annals Inst, Pasteur, Paris* 118: 84-87.
- Penelope W. Crane E. 1987. Constituents of propolis. *Apidologie* 18(4): 327-334.
- Zamami Y, Takatori S, Koyama T, Goda M, Iwatani Y, Doi S, Kawasaki H. 2007. Effect of propolis on insulin resistance in fructose-drinking rats. *Yakugaku Zasshi* 127(12): 2065-2073.
- 高海琳, 孟培德, 馬益嬌, 柳富海, 許止鼎, 廉所梅. 2002. 蜂膠在糖尿病綜合治療中的作用. 北京大學 中文核心基幹要目總攬 2: 1-3.
- 董捷, 閻繼紅, 孫麗萍. 2003. 蜂膠複合軟膠囊降糖作用的實驗研究. 養蜂科技 5: 2-4.
- 王南舟. 2004. 蜂膠制劑對實驗性糖尿病免血糖的影響. 中國獸醫雜誌 40(4): 7-9.
- 胡福良, 玄紅專. 2003. 蜂膠對糖尿病大鼠血糖的影響. 蜜蜂雜誌 10: 6-8.
- 胡福良, 玄紅專, 陳民利, 應和忠, 朱威. 2004a. 蜂膠對糖尿病SD大鼠的影響. 浙江大學學報 30(2): 205-209.
- 胡福良, 玄紅專, 詹耀鋒. 2004b. 蜂膠對糖尿病大鼠蛋白質代謝的影響. 養蜂科技 1: 2-3.
- 胡福良, 玄紅專, 詹耀鋒. 2004c. 蜂膠對糖尿病大鼠腎臟的影響. 蜜蜂雜誌 2: 3-4.