

백출이 streptozotocin 유발 당뇨흰쥐에서 췌장 및 신장에 미치는 영향

한윤경¹, 박용기^{1,2*}

1 : 동국대학교 한방신약개발센터, 2 : 동국대학교 한의학대학 본초학교실

Effect of *Atractylodis Rhizoma Alba* water extract on streptozotocin-induced diabetes in rats

Yunkyung Han¹, Yong-Ki Park^{1,2*}

1 : Oriental Medicine R&D center, Dongguk University

2 : Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Gyeongju 707, South Korea,

ABSTRACT

Objectives : This study aimed to evaluate the effect of *Atractylodis Rhizoma Alba* water extract on streptozotocin (STZ)-induced diabetes in rats.

Methods : Male Sprague-Dawley rats were divided into four groups : normal, STZ-control and *Atractylodis Rhizoma Alba* (A) water extract-administrated group. Rats in which diabetic was induced by intraperitoneal injection with STZ(60 mg/kg body weight). STZ-induced diabetic rats were orally administrated A extract daily for 5 weeks at doses of 200 or 500 mg/kg. Fasting blood glucose, total cholesterol, triglyceride and blood urea nitrogen were measured in sera of rats. Total volume of urine and urinary creatinine were also measured. Histopathological examination and immunohistochemical staining for the expression of insulin and α -SMA in pancreas and kidney were performed, respectively.

Results : There were no differences in body and kidney weights between STZ-control and A extract-administrated groups. However, serum triglyceride level was significantly decreased in A extract-administrated groups compared with those of STZ-control group. Histopathological analysis of pancreas and kidney revealed increased the number of islets and insulin-positive beta-cells in pancreas, and decreased morphological changes of glomerulus and α -SMA expression in kidney after the administration of A extract.

Conclusions : These results suggest that *Atractylodis Rhizoma Alba* has a biological action on STZ-induced diabetes in rats via decreasing the serum levels of total triglyceride, and suppressing the morphological changes of pancreas and kidney.

Key words : *Atractylodis Rhizoma Alba*, Streptozotocin, Anti-diabetic effect

서론

당뇨병은 인슐린 분비량이 절대적으로 부족하거나 상대적으로 결핍되어 발생하는 만성 대사성 질환으로, 현대인에게 가장 많이 발생하는 비전염성 만성질환이자 근본적인 치유가 되지 않는 만성 퇴행성 질환 중의 하나이다^{1,2}. 당뇨병은 인슐린의 생물학적 효과 감소로 인하여 발생하는 고혈당 상태 및 이에 수반되는 대사 장애가 장기간 지속되는 상태가 특징이며, 고혈압, 고지혈증, 비만 및 동맥경화성 혈관장애와 신경장애

등의 여러 합병증을 일으키게 된다^{2,3}. 당뇨병의 주요 대사적 특징은 지질대사의 비정상성이며, 혈청 중성지방의 증가 및 HDL-콜레스테롤의 감소를 수반 한다⁴. 이와 같은 혈청 중성지방의 증가와 HDL-콜레스테롤 농도의 감소는 당뇨병의 주요 합병증인 관상동맥 질환의 위험인자로 알려져 있어 당뇨병 관리의 주요 목표는 혈당의 급격한 상승 억제와 더불어 정상적인 혈중 지질 및 지단백 농도를 유지시키는 것이다⁴.

최근 생활환경의 변화와 더불어 식생활패턴의 서구화로 당뇨병은 암, 순환기계 질환등과 함께 해마다 유병율이 증가하는

*교신저자 : 박용기. 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학 본초학교실.
· Tel : 054-770-2661. · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr.
· 접수 : 2011년 11월 8일 · 수정 : 2011년 11월 26일 · 채택 : 2011년 12월 16일

추세이며, 당뇨의 치료법은 약물요법, 운동요법, 식이요법 등이 있으나, 아직까지 효과적인 치료법은 없는 실정이다⁵⁾. 현재 당뇨병의 약물치료에는 설펜요소제(sulfonylurea), 비구아니드(Biguanides)계 약물, 알파-글루코시데이즈 억제제(α -glucosidase inhibitors), 티아졸리딘다이온(thiazolidinedion)계 등의 경구혈당강하제와 인슐린 요법, 채식이식 등을 사용하고 있다⁶⁾. 하지만, 이런 약물요법은 대부분 합성의약품으로 장기복용에 따른 부작용과 환자의 내성이 끊임없는 문제가 되고 있기 때문에 최근 천연물을 이용한 당뇨병치료제 개발이 관심의 대상이 되고 있다^{5,7)}.

한방에서 당뇨(消渴)는 증세에 따라 上消, 中消, 下消로 분류되며, 상소는 多飲, 중소는 多食, 하소는 多尿 증상으로 처방에도 차이가 있어 상소에는 淸心蓮子飲, 중소에는 生地八物湯, 하소에는 腎氣丸 등을 사용하고 있다⁸⁾. 한약의 항당뇨 효능에 관한 실험연구로, 저령, 반하, 백출 등이 포함된 생약복합 추출물이 당뇨흰쥐에서 혈당 강하, 인슐린 양 증가, 혈청 크레아티닌 분비 감소 등에 효과가 있다고 보고되었으며⁹⁾, 오미자 추출물이 당뇨흰쥐의 고혈당과 고지혈증에 영향을 미친다고 보고되었으며⁹⁾, 황련의 콜레스테롤 분비 억제, 항염증, 항산화 효과 및 혈당, 중성지방, 총콜레스테롤 감소 및 폴리올 경로(polyol pathway) 차단 등에 의한 항당뇨 효과가 보고되었다¹⁰⁻¹⁴⁾. 본 연구의 白朮은 국화과(Compositae)에 속한 삼주(*Atractylodes japonica* Koidzumi) 또는 당백출(*A. macrocephala* Koidz.)의 뿌리줄기를 약용으로 사용하는데, 補氣藥 중에서도 補脾胃하는 약으로 性味는 溫 苦甘하며, 健脾益氣, 燥濕利水, 止汗安胎作用이 있어 脾虛食少, 腹脹泄瀉, 痰飲眩暈, 水腫, 自汗, 胎動不安 등의 증상을 치료하는데 사용한다. 白朮이 처방에서 이용되는 것을 보면 補脾益氣, 止汗하는 작용에 사용하는 것으로는 四君子湯, 六君子湯, 參苓白朮散, 補中益氣湯, 玉屏風散 등에 이용되며, 燥濕利水하는 작용으로는 五苓散, 茵陳五苓散, 燥濕湯 등에 사용되고, 安胎作用으로는 安胎飲에 사용된다^{15,16)}.

또한 白朮의 성분은 atractylol을 주성분으로 하는 정유성분과 atractylone, vitamin A 등을 함유한다¹⁵⁾. 白朮에 관한 약리적인 연구로는 다양한 종류의 암세포에 대한 항암효과가 보고되어 있으며, 위궤양 예방 및 담즙분비의 촉진 등이 보고되어있고¹⁷⁻¹⁹⁾, 보비위하는 작용으로 공복감지연효과에 대한 보고가 있다²⁰⁾. 또한 백출을 함유하는 처방인 五苓散, 茵陳五苓散 등에서 이노작용과 신부전보호작용을 보고한 바 있다²¹⁻²²⁾. 그러나 백출의 당뇨병모델에서 효능은 보고된 바 없어 본 연구에서 streptozotocin(STZ)으로 당뇨병이 유발된 흰쥐에서의 백출이 혈청변화와 채식 및 신장조직에 미치는 영향을 조사하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

백출 (*Atractylodes japonica*, 경북 경주시 양북면, 한국)은 (주)광명당제약(울산)으로부터 원료시험성적서가 첨부된 표준약재를 구입하여 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 감

별한 후 정선하여 시료로 사용하였다.

2) 동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 7주령 수컷 흰쥐(rat; 210-230 g)를 (주)오리엔트바이오(경기도, 한국)로부터 분양받아 1주일 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간동안 일반 고형사료(삼양사료주식회사, 서울, 한국)와 물을 자유 섭취시켰으며, 실내온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 명암 12시간 (Day light 06:00 ~ 18:00)을 주기로 실험종료 시까지 일정한 사육조건을 유지시켰다.

2. 방법

1) 시료의 조제

백출 210 g에 정제수 2L를 가하여 열탕추출기에서 3시간 가열하여 얻은 추출물을 여과지(Whatman NO. 1)로 여과한 후 회전식 감압농축기로 감압 농축하여 동결 건조함으로써 백출 물추출물을 제조하였으며 이때 수득율은 26%였다. 백출 시료는 냉장보관하면서 실험 전 생리식염수로 희석하여 사용하였다.

2) 당뇨유발

당뇨병을 유발하기 위해서 streptozotocin(STZ)을 0.01M citrate buffer(pH 4.5)로 적정한 다음 60 mg/kg body weight의 용량으로 체중 100 g당 0.1 mL을 1회 복강 주사하였고, 정상군은 동일한 양의 0.1M citrate buffer를 복강 주사하였다. 당뇨병 유발을 확인하기 위해 STZ 투여 72시간 경과 후에 12시간 동안 절식시킨 후 꼬리정맥으로부터 채혈한 혈액으로부터 혈당측정검사지(Accu-Check, Roche Diagnostics GmbH, Germany)를 이용하여 혈당을 측정하여 혈당수치가 300 mg/dL가 넘는 동물을 당뇨병이 유발된 것으로 보고 선별하여 실험에 사용하였다.

3) 실험군의 선정

실험군은 각 그룹간의 혈당수치의 평균값을 맞추어 정상군은 체중 100 g 당 0.5 mL의 생리식염수를 구강대(oral zonde needle)를 이용하여 경구투여 하였고, 당뇨병 대조군은 STZ로 당뇨병을 유발시킨 후, 생리식염수를 경구투여 하였다. 실험군은 STZ로 당뇨병을 유발시킨 후 백출을 200, 500 mg/kg body weight 용량으로 day 0부터 day 35까지 5주간 하루 1회 정해진 시간에 경구 투여하였다.

4) 체중 측정 및 혈액, 뇨 수집

실험기간 동안 매주 1회 체중을 측정하였고, 투여 0일째 체중을 초기(initial) 체중으로, 35일째 체중을 마지막(final) 체중으로 하였다. 또한 day 36에 모든 동물을 희생시키고 신장을 적출하여 무게를 측정하였다.

혈액의 수집은 매주 1회에 최소 8시간 이상 절식시킨 후 꼬리정맥으로부터 수집하였으며, day 36에는 모든 동물을 희생시키고 심장천자를 통해 혈액을 수집하였다. 수집된 혈액은 6,000 rpm에 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 -80°C 에 보관하면서 혈청 분석을 위한 시료로 사용하였다.

뇨의 수집은 대사케이징(metabolic cage)를 이용하여 24

시간 동안 수집하였으며 수집된 노는 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 상층액을 수거하여 -80°C 에 보관하면서 노 분석을 위한 시료로 사용하였다.

5) 혈청, 노 성분 측정

혈청 내 총콜레스테롤(total cholesterol)과 포도당(glucose)의 농도는 각각의 효소시약 측정용 키트(V-glucose, 아산제약, 서울, 한국)를 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 중성지방(triglyceride)의 농도는 효소시약(TG-S, 아산제약)을 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고, 혈액요소질소(blood urea creatinine, BUN)의 농도는 BUN 측정용 키트(BUN-E, 아산제약)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 노의 크레아티닌(creatinine) 농도는 크레아티닌 측정용 키트(Creatinine Assay Kit, Abcam, Dawinbio Inc., 경기도, 한국)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6) Hematoxylin & Eosin 조직염색

Day 36에 모든 동물을 희생시키고 췌장과 신장 조직을 각각 적출하여 4% paraformaldehyde 용액에 하루 동안 고정 한 후 10~30% sucrose 용액으로 가라앉히고 자동조직과정 처리기를 이용하여 탈수, 투명, 침투화 하였다. 이를 파라핀으로 포매한 후 절편기(microtome)를 이용하여 4~6 μm 두께로 박절하여 연속절편을 제작하였다. 이후 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색을 위해서 xylene으로 조직 외부에 포매된 파라핀을 제거한 후 흡수하고 hematoxylin 용액으로 3~6분간 염색하였다. 이를 다시 0.1~1% HCl이 포함된 75% 알코올로 수세한 후 eosin 용액으로 2~3분 염색하였으며 95~100% 알코올로 탈수, 투명과정을 시행한 후 permount 봉입제로 봉입(mounting)하여 현미경으로 관찰하였다.

7) 면역조직화학염색

췌장과 신장에서의 인슐린과 α -SMA 발현을 확인하기 위한 면역조직화학염색을 위해 각 조직절편을 streptavidin biotin-peroxidase(vector laboratories)법을 이용하여 항인슐린 항체(donkey anti-goat, 1:200, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) 또는 항 α -SMA 항체(goat anti-mouse, 1:200, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)와 4°C 에서 하룻밤 반응시켰다. 이를 diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)로 발색한 다음 헤마톡실린으로 대조 염색을 하였으며, mounting medium을 이용하여 mounting한 후 면역염색결과를 현미경으로 관찰하였다.

8) 통계처리

모든 실험 결과는 GraphPad Prism 5 program(GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준오차(mean \pm SE)를 계산하고, $p < 0.05$ 수준에서 Student *t*-test를 사용하여 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 체중 및 신장무게 변화

백출 추출물(A-200, A-500)의 당뇨병 흰쥐의 체중 및 신장 무게의 변화에 대한 효과를 확인하기 위해서 정상군(Normal), 당뇨병 대조군(STZ-con) 및 백출추출물 투여군(A-200, A-500)의 첫째날(0 day; initial)과 마지막날(35 days; final)의 체중 변화를 조사하였다. 그 결과, 초기 체중은 정상군이 241 ± 3 g, 당뇨병 대조군이 237 ± 6 g, 실험군인 백출추출물 200 mg/kg을 처리한 A-200군과 500 mg/kg을 처리한 A-500군이 각각 238 ± 3 g, 240 ± 3 g으로 모두 유사하게 나타났다. 하지만, 35일 후 체중변화를 측정한 결과에서는 정상군을 제외한 대조군과 백출추출물 처리군의 체중이 감소하였다(Table 1). 또한 마지막 체중은 정상군은 433 ± 5 g으로 초기에 비해 증가한 반면, 당뇨병 대조군과 백출추출물처리군인 A-200, A-500군이 각각 198 ± 30 g, 197 ± 7 g, 201 ± 10 g으로 감소하였다.

신장 조직의 무게와 체중의 비율 변화는 정상군이 7.23 ± 0.35 g, 당뇨병 대조군이 14.9 ± 1.26 g, 백출추출물 투여군인 A-200, A-500군이 각각 15.2 ± 0.25 g, 16.1 ± 0.74 g으로 정상군보다 높은 비율을 나타내었다. 따라서 백출은 당뇨병 흰쥐의 신장 무게 변화에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

Table 1. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba water extract on the changes of body weight and ratio of kidney and body weight in streptozotocin-induced diabetic rats.

Day	Body weight (g)		Kidney/body weight ratio (g/kg)
	Initial	Final	
Normal	241 ± 3	433 ± 14	7.23 ± 0.35
STZ-con	237 ± 6	198 ± 30	14.9 ± 1.26
A-200	238 ± 3	197 ± 7	15.2 ± 0.25
A-500	240 ± 3	201 ± 10	16.1 ± 0.74

Changes of body weight and ratio of kidney and body weights were represented as average weights on indicated days. Normal, normal group; STZ-con, streptozotocin-induced diabetic rats; A-200, Atractylodis Rhizoma Alba water extract (200 mg/kg)-administrated rats; A-500, Atractylodis Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Values are represented as mean \pm SE (n=5).

2. 혈당 변화

백출추출물의 당뇨병 흰쥐에서의 혈당변화에 대한 효과를 조사하기 위해서 5주간 백출추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg 투여한 후, 혈당(glucose)의 변화를 조사하였다(Fig. 1). 그 결과 정상군의 혈청 내 포도당 농도는 100 ± 2 mg/dl, 당뇨병 대조군은 467 ± 6 mg/100 ml로 측정되어 당뇨병 유발 후 현재 혈당의 농도가 증가하였으며, 당뇨병 흰쥐에 백출추출물을 200 mg/kg 투여한 군(A-200)은 428 ± 26 mg/100 ml, 500 mg/kg 투여한 군(A-500)은 412 ± 17 mg/100 ml로 측정되어 미비하게 감소되는 것으로 나타났다.

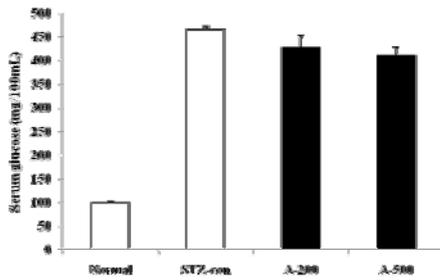


Fig 1. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba water extract on serum levels of glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. Normal, normal group ; STZ-con, streptozotocin-induced diabetic rats ; A-200, Atractylodis Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats ; A-500, Atractylodis Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Values are represented as mean±SE (n=5).

3. 총콜레스테롤 변화

백출추출물의 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서의 지방분비에 대한 효과를 조사하기 위해서 5주간 백출추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg 투여한 후, 혈청 내 총콜레스테롤(total cholesterol)의 변화를 조사하였다(Fig. 2). 그 결과, 정상군은 23.2±1.6 mg/100 ml, 당뇨병 대조군은 29.3±4.2 mg/100 ml로 측정되어 당뇨병 유발 후 총콜레스테롤의 양이 증가하였으며, 당뇨병 흰쥐에 백출추출물 200 mg/kg을 투여한 군(A-200)은 25.8±2.5 mg/100 ml, 500 mg/kg을 투여한 군(A-500)은 30.5±4.6 mg/100 ml로 측정되었다. 따라서 백출추출물의 투여는 당뇨병 흰쥐의 혈청 총콜레스테롤 분비에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

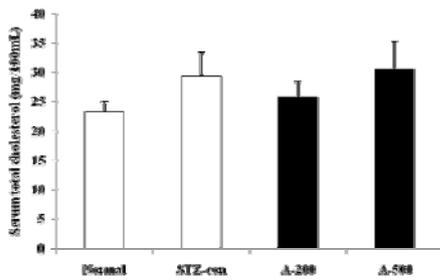


Fig 2. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba water extract on serum levels of total cholesterol in streptozotocin-induced diabetic rats. Normal, normal group ; STZ-con, streptozotocin-induced diabetic rats ; A-200, Atractylodis Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats ; A-500, Atractylodis Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Values are represented as mean±SE (n=5).

4. 중성지방 변화

백출추출물의 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서의 지방분비에 대한 효과를 조사하기 위해서 5주간 백출추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg 투여한 후, 혈청 내 중성지방(triglyceride)의 변화를 조사하였다(Fig. 3). 그 결과, 정상군에서는 189±11 mg/100 ml, 당뇨병 대조군은 260±9 mg/100 ml로 측정되어 당뇨병 유발 후 중성지방의 양이 현저히 증가하였으며, 백출추출물 200 mg/kg을 투여한 군(A-200)은 110±23 mg/dl, 백출추출물 500 mg/kg을 투여한 군(A-500)은

89±26 mg/dl이었다. 따라서, 백출추출물의 투여는 당뇨병 흰쥐에서 혈청 내 중성지방의 농도를 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다.

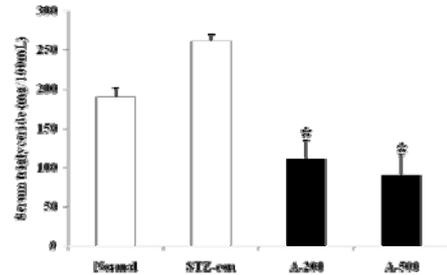


Fig 3. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba water extract on serum levels of triglyceride in streptozotocin-induced diabetic rats. Normal, normal group ; STZ-con, streptozotocin-induced diabetic rats ; A-200, Atractylodis Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats ; A-500, Atractylodis Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Values are represented as mean±SE (n=5). *p<0.05 as compared to STZ-con.

5. 혈액요소질소 변화

백출추출물의 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서의 신장기능 변화에 대한 효과를 조사하기 위해서 5주간 백출추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg 투여한 후, 혈청 내 요소질소(BUN)의 변화를 조사하였다(Fig. 4). 그 결과, 정상군에서는 14.9±0.8 mg/100 ml, 당뇨병 대조군은 64.1±3.6 mg/100 ml로 측정되어 당뇨병 유발 후 혈액요소질소의 양이 현저히 증가하였으며, 백출추출물 200 mg/kg을 투여한 군(A-200)은 52.8±1.7 mg/dl, 백출추출물 500 mg/kg을 투여한 군(A-500)은 57.3±4.9 mg/dl로 혈액요소질소의 농도가 다소 감소되었다.

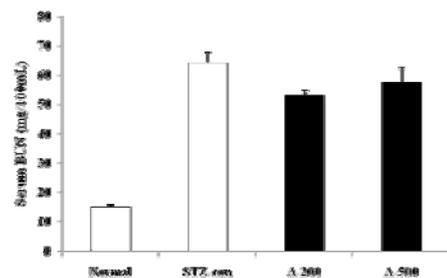


Fig 4. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba water extract on serum levels of BUN in streptozotocin-induced diabetic rats. Normal, normal group ; STZ-con, streptozotocin-induced diabetic rats ; A-200, Atractylodis Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats ; A-500, Atractylodis Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Values are represented as mean±SE (n=5).

6. 뇨 배출량 및 뇨 크레아티닌 변화

백출추출물의 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서의 신장기능 변화에 대한 효과를 조사하기 위해서 5주간 백출추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg 투여한 후, 24시간 뇨의 양과 뇨 중 크레아티닌의 변화를 조사하였다(Fig. 5).

먼저 뇨의 배출량은 정상군에서는 13.7±0.8 mg/100 ml,

당뇨병 대조군은 39.8 ± 2.7 mg/100 ml로 당뇨병 유발 후 현저히 증가하였으며, 백출추출물 200 mg/kg을 투여한 군(A-200)은 75.3 ± 12.6 mg/dl, 백출추출물 500 mg/kg을 투여한 군(A-500)은 127 ± 27 mg/dl로 백출추출물의 투여는 대조군에 비해 뇨의 배출량을 현저히 증가시키는 것으로 나타났다. 한편, 뇨 중 크레아티닌의 농도는 정상군은 61.3 ± 1.2 mg/100 ml, 당뇨병 대조군은 21.6 ± 2.6 mg/100 ml로 측정되어 당뇨병 유발 후 뇨 크레아티닌의 농도가 현저히 증가하였으며, 백출추출물 200 mg/kg를 투여한 군에서는 16.1 ± 1.4 mg/100 ml, 백출추출물 500 mg/kg를 투여한 군에서는 12.4 ± 0.6 mg/100 ml로 다소 감소하였으나 당뇨병 대조군과 약물처리군 간 차이가 없는 것으로 나타났다.

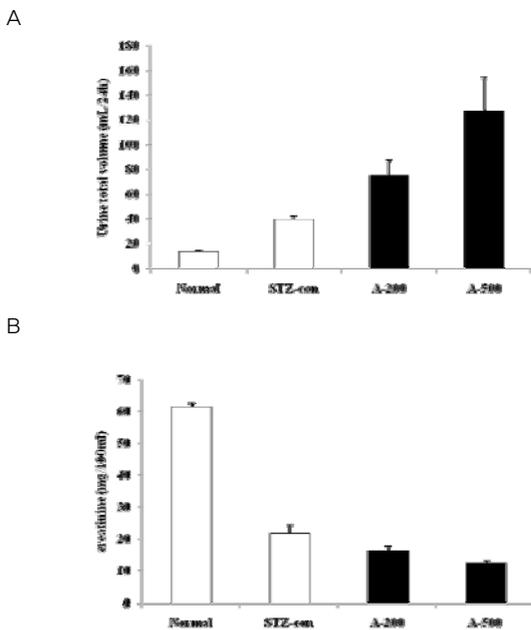


Fig 5. Effect of Atractylodes Rhizoma Alba water extract on urine total volume(A) and urinary creatinine(B) in streptozotocin-induced diabetic rats. Normal, normal group; STZ-con, streptozotocin-induced diabetic rats; A-200, Atractylodes Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats; A-500, Atractylodes Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Values are represented as mean \pm SE (n=5).

7. 췌장조직 변화에 미치는 영향

백출추출물의 당뇨병 흰쥐의 췌장의 구조적 손상에 대한 효과를 확인하기 위해서 5주간 백출추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg 투여한 후, 췌장 조직을 H&E 염색하였으며, 인슐린에 대한 면역조직화학염색을 수행하였다(Fig. 6). 그 결과, 정상군의 경우 혈관 주변에 내분비기관인 랑게르한스섬과 인슐린을 분비하는 베타세포들이 정상적으로 관찰되는 반면, 당뇨병 대조군은 STZ에 의해 췌장이 파괴되어 구조적인 변화가 나타났다. 또한, 백출추출물 투여군은 정상군에 비해서는 췌장조직의 형태적 변화를 나타내었으나, STZ 대조군에 비해서는 개선되는 것으로 나타났다.

한편 그림 7에서 보는 바와 같이 정상군에서는 랑게르한스섬 안에 인슐린을 분비하는 베타세포들이 인슐린 항체에 의해 염색되어 관찰되었으며, 당뇨병 대조군은 STZ에 의해 베타세포가 파괴되어 인슐린 분비 베타세포가 현저히 감소되었다.

한편, 백출추출물 투여군에서는 인슐린을 분비하는 베타세포의 수가 증가하는 것으로 나타났다.

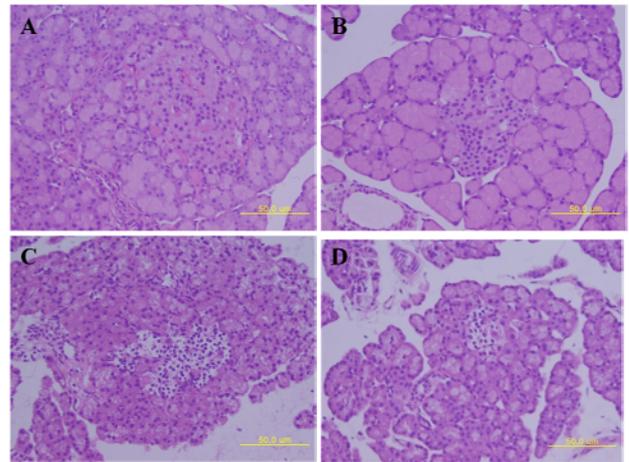


Fig 6. Effect of Atractylodes Rhizoma Alba water extract on the structural change of pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats. Rats were administered either Atractylodes Rhizoma Alba extract or saline by oral injection daily for 5 weeks. Pancreas were harvested and tissue sections were prepared for H&E staining. A, normal group; B, streptozotocin-induced diabetic rats; C, Atractylodes Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats; D, Atractylodes Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats.

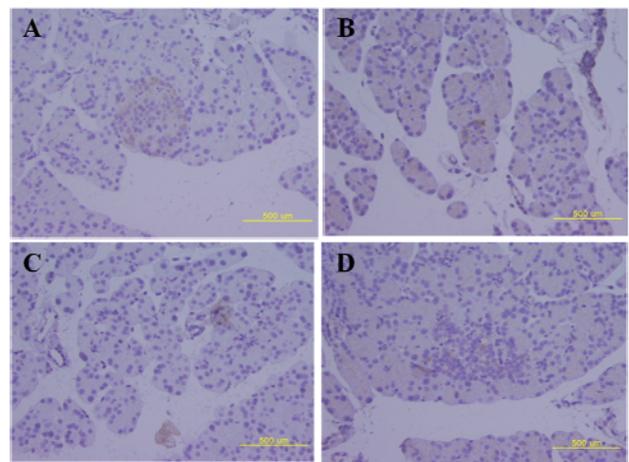


Fig 7. Immunohistochemical analysis of insulin-positive beta cells in pancreatic islets of STZ-induced diabetic rats. A, normal group; B, streptozotocin-induced diabetic rats; C, Atractylodes Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats; D, Atractylodes Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Magnification is 200 \times that of the original.

8. 신장조직 변화에 미치는 영향

백출추출물의 당뇨병 흰쥐의 신장의 구조적 손상에 대한 효과를 확인하기 위해서 5주간 백출추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg 투여한 후, 신장 조직을 H&E 염색하였으며, α -SMA에 대한 면역조직화학염색을 수행하였다(Fig. 8). 그 결과, 정상군 신장의 경우, 피질 부분에서 사구체와 세뇨관이 정상적으로 관찰되었으며, 당뇨병 대조군에서는 세뇨관의 섬유화와 함께 현저한 사구체의 모세혈관 확장성 위축이 관찰되었다. 또한, 백출추출물 투여군에서는 STZ 대조군에 비해 신장의 조직학적 변화가 감소함으로써 정상군과 유사하게 나타났다.

한편, 그림 9에서와 같이 신장조직에서 α -SMA의 발현은 정상군의 경우 적게 나타난 반면, 당뇨병 대조군은 α -SMA의 발현이 많이 관찰되었고, 백출추출물 투여군에서는 정상군과 비슷하게 발현이 감소되는 것으로 나타났다.

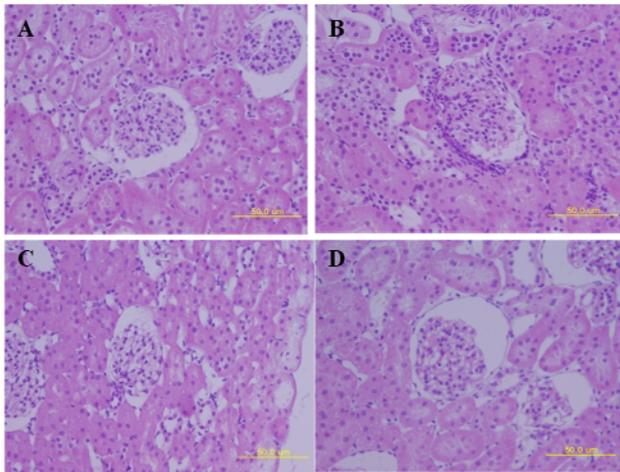


Fig 8. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba water extract on the structural change of kidney in streptozotocin-induced diabetic rats. Rats were administered either Atractylodis Rhizoma Alba extract or saline by oral injection daily for 5 weeks. Pancreas were harvested and tissue sections were prepared for H&E staining. A, normal group; B, streptozotocin-induced diabetic rats; C, Atractylodis Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats; D, Atractylodis Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats.

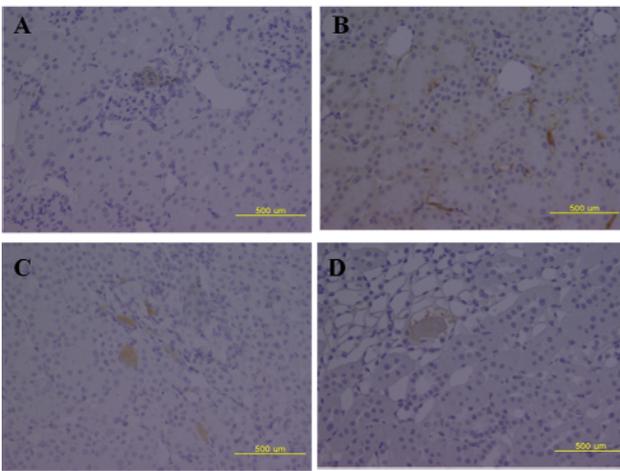


Fig 9. Effect of Atractylodis Rhizoma Alba water extract on the expression of α -SMA on the kidney of STZ-induced diabetic rats by immunohistochemistry. A, normal group; B, streptozotocin-induced diabetic rats; C, Atractylodis Rhizoma Alba extract (200 mg/kg)-administrated rats; D, Atractylodis Rhizoma Alba extract (500 mg/kg)-administrated rats. Magnification is 200 \times that of the original.

고찰

당뇨병은 만성대사질환으로, 췌장 베타세포가 손상되어 인슐린 분비가 감소되고 에너지원인 포도당이 체내로 이동되지 못하여 당질대사가 비정상화되어 고혈당이 나타나며 인슐린이 관여하는 단백질 및 지방의 에너지대사에 이상을 초래한다²³⁾.

당뇨병에서의 특징적인 지질대사의 이상은 혈중 중성지질 및 LDL-콜레스테롤은 증가하고, HDL-콜레스테롤의 감소이며, 이 같은 지질대사 이상의 발생으로 인하여 고혈당, 고지혈증 등 여러 합병증을 유도하는 난치병이다²⁴⁾. 아직까지 현대 의학으로 당뇨병을 근원적으로 치료할 수 있는 방법은 개발되지 못하고 있고, 혈당이 정상적인 수준으로 유지되도록 혈당을 조절하는 것만이 최선의 치료방법으로 알려져 있으며, 약물 복용에 따른 저혈당, 간독성 등의 부작용이 문제가 되고 있다²⁵⁾. 본 연구에서는 백출 추출물의 당뇨병에 대한 효과를 알아보기 위해 STZ 유발 당뇨병 흰쥐모델을 제작하였으며, 백출 추출물을 5주간 경구 투여한 후 체중과 신장의 무게 변화 및 혈당, 총콜레스테롤, 중성지방 및 혈액요소질소 등 혈액학적 분석, 24시간 뇨의 총배출량과 뇨 중 크레아티닌 분비의 변화, 췌장과 신장조직의 구조적 변화를 조사하였다.

인슐린은 단백질 대사에 관여하여 골격근으로의 아미노산 유입을 촉진시켜 단백질합성을 증가시키는 역할을 하는데, STZ으로 당뇨를 유발할 경우 STZ투여에 따른 인슐린 생성의 부족과 작용의 저하로 당대사에 의한 에너지 생산부족을 초래하여 체중이 감소하게 된다고 보고되어있다²⁶⁾. 본 실험의 결과에서 백출추출물 투여군은 당뇨병 대조군과 마찬가지로 체중감소를 나타냄으로써 백출추출물의 투여가 당뇨병 흰쥐에서 체중을 정상적으로 증가시키는 효과는 없는 것으로 나타났다.

당뇨병의 주된 합병증은 죽상경화증과 고지혈증이 관련되는데 고지혈증의 경우 정상보다 혈장 내 지방산이 중성지방으로 전환되는 속도가 증가하여 혈장 내 중성지방의 농도가 높아진다고 알려져 있다²⁶⁾. 본 연구에서 백출추출물은 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서 혈액 내 중성지방의 수치를 유의적으로 감소시켰으며 이는 백출추출물이 지질대사에 관여하여 당뇨병 개선효과를 나타낼 가능성을 의미한다. 당뇨병에서의 특징 중 하나는 지질대사 이상에 따른 LDL-콜레스테롤은 증가와 HDL-콜레스테롤의 감소이다. 본 연구에서는 총콜레스테롤의 수치가 백출추출물 투여에 의해 유의적인 감소는 보이지 않았으나 감소시키는 경향을 보였으며 향후 백출추출물에 의한 LDL-콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤의 수치의 변화의 추가적인 분석이 필요하다고 사료된다.

당뇨병은 췌장에 있는 랑게르한스섬의 베타세포에서 분비되는 인슐린의 생리작용이 저조하거나 인슐린 리셉터의 수가 적어 인슐린의 생리적 기능이 불충분해져서 혈당, 중성지방 등의 상승과 혈중 인슐린 농도 저하를 유발하게 된다²⁷⁾. 본 연구에서 당뇨병 유발을 위해 사용한 STZ는 췌장의 베타세포만을 선택적으로 파괴시켜 인슐린 결핍을 초래하여 고혈당을 일으키는 약물이다²⁸⁾. 본 연구에서는 STZ에 의해 파괴된 췌장의 형태가 백출추출물 처리에 의해 복구되는 것을 관찰하였으며, 이는 인슐린의 면역조직화학적 염색을 통해 STZ에 의한 베타세포의 파괴가 백출추출물 투여 후 감소되는 것과 함께 백출추출물이 췌장조직 파괴를 억제할 수 있음을 의미한다.

한편 당뇨병 발생 시 신장 무게의 증가는 당뇨로 인한 소변 배설량의 증가와 관련되어 있음이 보고되어지고 있다²⁹⁾. 본 연구에서 백출추출물 투여는 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서의 신장 무게의 증가를 감소시키지 않았다. 또한 백출추출물 투여는 당뇨병 흰쥐에서 소변의 배설량은 투여 용량에 의존적으로 현저한 증가를 보였는데, 이는 백출의 燥濕利水하는 작용으로 이뇨작용을 촉진하기 때문인 것으로 사료된다.

신장 기능평가에 중요한 지표인 혈액요소질소는 혈액중의 요소에 포함된 질소 성분으로 신장 기능의 장애가 있으면 배설이 잘 안되어서 혈액 중에 정체되어 증가하게 된다³⁰⁾. 본 연구에서 백출추출물의 투여는 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서 증가되는 혈액요소질소의 분비에 영향을 주지 않았으나, H&E 염색을 통한 신장의 조직학적 분석에서 백출추출물의 투여가 당뇨유발에 따른 신장조직의 형태적 변형을 감소시켰으며, 신장섬유화의 주요 원인이 되는 α -SMA의 발현을 감소시켰으므로 신장보호효과가 있는 것으로 나타났다. α -SMA는 활성화된 신장세포에서의 양성표지자로 신장조직을 섬유화시킴으로써 신부전을 유발하는 주요 인자로 알려져 있다³¹⁾. 본 연구에서 α -SMA는 정상군의 경우 낮게 발현된 반면, STZ-유발 당뇨병 대조군에서 증가되었고, 이는 백출추출물 투여에 의해 정상군과 비슷한 수준으로 발현이 감소되었다. 이는 백출추출물이 당뇨병에 따른 신장조직의 손상을 막고, α -SMA 발현 억제를 통해 신장 섬유화에 의한 당뇨병성 신부전으로의 진행을 막을 수 있음을 의미한다. 그러나 백출추출물의 α -SMA 발현 억제 및 신장섬유화에 대한 기전 연구는 차후 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결론적으로 백출의 물추출물은 STZ에 의해 유발된 당뇨병 흰쥐에서 베타세포의 파괴를 막고 이상 지질대사산물 생성을 억제함으로써 당뇨병 개선효과를 나타낼 수 있으며 이는 향후 당뇨병으로 인해 발생되기 쉬운 혈관계질환의 합병증을 예방하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

결론

본 연구에서는 백출 물추출물이 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서의 혈청과 췌장 및 신장조직에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 백출추출물은 STZ-유발 당뇨병 흰쥐에서 혈청 중성지방 분비를 감소시켰다.
2. 백출추출물은 STZ-유발 당뇨병 흰쥐에서 혈당과 혈청 콜레스테롤 및 혈액요소질소 분비에는 영향을 주지 않았다.
3. 백출추출물은 STZ-유발 당뇨병 흰쥐의 췌장조직 손상과 베타세포 파괴를 억제하였다.
4. 백출추출물은 STZ-유발 당뇨병 흰쥐의 신장조직 손상과 α -SMA 발현을 억제하였다.

이상의 결과로 볼 때 백출 물추출물은 STZ에 의한 췌장과 신장조직의 손상을 줄이고 이상 지질대사를 억제함으로써 당뇨병 개선효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한의약선도기술개발사업(B090075) 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee SJ. Effect of natural functional mixture on the descent of blood glucose level in streptozotocin-induced diabetic(type I) rats. The Korean Journal of Culinary Research. 2007 ; 13 : 199-206.
2. Kim E, Kim MS, Kim SY, Kim HA. Effect of *ecklonia cava* on the blood glucose, lipids and renal oxidative stress in diabetic rats. Korean J Food Culture. 2008 ; 23 : 812-19.
3. Bae HS, Nam JS, Jung JK, Oh SY, Park YK. Anti-diabetic effect of wen-pi-tang-hab-wu-ling-san extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Kor J Herbology. 2008 ; 23 : 85-91.
4. Choi SH, Park JR. Lipid modulatory functions of cysteine compounds found in genus *allium* plants in diabetic mice. Korean J Food & Nutr. 2010 ; 23 : 361-7.
5. Yoon JA, Son YS. Effects of *opuntia ficus-indica* complexes B(OCB) on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Food & Nutr. 2009 ; 22 : 48-56.
6. Pickup JC, Williams G. Textbook of diabetes. Massachusetts : Blackwell Publishing. 2003.
7. Kim KR, Choi JH, Woo MH, Kim YH, Choi SW. Effects of enzymatic hydrolysates from Hamcho(*salicornia herbacea* L.) on blood glucose and serum lipid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008 ; 37 : 170-6.
8. Ju YS, Ko BS. Screening of insulin-like substances from traditional herbs of diabetes prescription in donguibogam. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol. 2002 ; 45 : 47-52.
9. Chae HJ, Lee IS, Moon HY. Effects of *schizandra chinensis* fruit extract on the hyperglycemia and hyperlipemia in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal. 2011 ; 26 : 126-130.
10. Vad VG, Raman PH, Desmukh VK. Effect of berberine on serum cholesterol and pentobarbitone sleeping time in rats. Indian J Pharm. 1971 ; 33 : 23-4.
11. Lee SK, Lee I, Shin SH, Kim EY, Shin BC. Effects of *coptidis rhizoma* on the anti-inflammation and motor recovery in photothrombotic brain infarction model in rats. Kor J Herbology. 2009 ; 24 : 179-189.
12. Choi YS, Lee YI, Lee SY. Effects of extracts of *coptis japonica* on lipid metabolism in rats. Kor J Pharmacogn 1996 ; 27 : 246-253.
13. Liu WH, Hei ZQ, Nie H, Tang FT, Huang HQ, Li XJ, Deng YH, Chen SR, Guo FF, Huang WG,

- Chen FY, Liu PQ. Berberine ameliorates renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats by suppression of both oxidative stress and aldose reductase. *Chin Med J*. 2008 ; 121 : 706-712.
14. Yin J, Xing H, Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2008 ; 57 ; 712-7.
 15. Professors of herbology in colleges of oriental medicine. *Herbology*. Seoul : Younglimsa. 2004 : 581-3.
 16. Hwang DY. *Bangyakhappyeon*. Seoul : Namsandang. 1985 : 142,147,167,195,210,236.
 17. Lee SO, Seo JH, Lee JW, Yoo MY, Kwon JW, Choi SU, Kang JS, Kwon DY, Kim YK, Kim YS, Ryu SY. Inhibitory effects of the rhizome extract of *atractylodes japonica* on the proliferation of human tumor cell lines. *Kor. J. Pharmacogn.* 2005 ; 36 : 201-4.
 18. Park CS, Kim DH. Biological activities of extracts from *scutellaria baicalensis*, *zizyphus jujuba* and *atractylodes macrocephala*. *Kor J. Herbology*. 2008 ; 23 : 41-51.
 19. Kim CT, Jung MH, Moon CS, Lim YH, Kang SJ, Cho WG. Inhibitors of melanogenesis from *atractylodes* rhizomes. *Kor J Pharmacogn.* 2005 ; 36 : 60-3.
 20. Han HK, Je HS, Kim GH. Effects of *cirsium japonicum* powder on plasma glucose and lipid level in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol*. 2010 ; 42 : 343-9.
 21. Son DW, Kim DG, Lee SJ. Effect of natural functional mixture on the descent of blood glucose level in streptozotocin-induced diabetic(typeI) rats(II). *The Korean Journal of Culinary Research*. 2011 ; 17 : 238-247.
 22. Nakai Y, Kido T, Hashimoto K, Kase Y, Sakakibara I, Higuchi M, Sasaki H. Effect of the rhizomes of *Atractylodes lancea* and its constituents on the delay of gastric emptying. *J Ethnopharmacol*. 2003 ; 84 : 51-5.
 23. Lee SI. Studies on the diuretic action of oryeongsan and kami-oryeongsan. 1981 ; 12 : 67-8.
 24. Sa KK, Son SY, Kim IS, Jung YH, Han YH, Ahn SY. Effects of gamioryeongsan, gamiyukmijihwangtang and vinegar on rats with acute renal failure induced by gentamicin sulfate. *K H M*. 1991 ; 7 : 287-311.
 25. Won HJ, Lee HS, Kim JT, Hong CO, Koo YC, Lee KW. The anti-diabetic effects of kocat-d1 on streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol*. 2010 ; 42 : 204-9.
 26. Lee SH, Lim SW, Lee YM, Kang CS, Cheong YK, Park CS, Song BJ, Kim DK. Effects of *triticum aestivum* sprout on blood glucose and lipid levels in the streptozotocin-induced diabetic mice. *Korean J Oriental Physiology & Pathology*. 2010 ; 24 : 1012-8.
 27. Seo JK, Chung YC, Chun SS, Lee YY, Lee SJ, Shon MY, Sung NH. Effect of physiologically active compounds isolated from *platycodon grandiflorum* on streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci*. 2004 ; 33 : 981-6.
 28. Jung KH, Jeon CS. Antidiabetic effect of *cordyceps militaris* and *paecilomyces japonicus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Fd Hyg Safety*. 2002 ; 17 : 210-5.
 29. Socher M, Kunjara S, Baquer NZ, Mclean P. Regulation of glucose metabolism in livers and kidneys of NOD mice. *Diabetes*. 1991 ; 40 : 1467-1471.
 30. DeAngelo AJ, Lancaster-Weiss KJ, Eliason S, Troyer D, Wortham WG. Diabetic nephropathy with interstitial nephritis presenting with a false-positive anti-GBM antibody. *Clin Nephrol*. 2002 ; 57 : 381-5.
 31. Seo JY, Ha HJ, Yu MR, Kim JR, Ahn MW, Lee HB. Antifibrotic effect of BMP-7 in the peritoneum and the mechanism. *The Korean Journal of Nephrology*. 2007 ; 26 : 34-44.