J Korean Soc Food Sci Nutr
40(3), 401~408(2011)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2011.40.3.401

Leptin 결핍 *ob/ob* 마우스에서 소맥엽 추출물의 혈당 강하 및 혈중 콜레스테롤에 미치는 효과

이선희[1] · 임성원[1] · 응웬반민[1] · 허정무[2] · 송봉준[2] · 이영미[3] · 이회선[4] · 김대기[1†]

[1]전북대학교 의과대학 및 의과학연구소, [2]종근당 건강(주)
[3]원광대학교 약학대학 한약학과
[4]전북대학교 농업생명과학대학 응용생물공학부

Administration of *Triticum aestivum* Sprout Water Extracts Reduce the Level of Blood Glucose and Cholesterol in Leptin Deficient *ob/ob* Mice

Sun-Hee Lee[1], Sung-Won Lim[1], Nguyen Van Mihn[1], Jung-Mu Hur[2], Bong-Joon Song[2], Young-Mi Lee[3], Hoi-Seon Lee[4], and Dae-Ki Kim[1†]

[1]Dept. of Immunology and Institute of Medical Science, Chonbuk National University Medical School, Jeonbuk 561-180, Korea
[2]Chong Kun Dang Healthcare Corp. Research Center, Chungnam 343-827, Korea
[3]Dept. of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University, Jeonbuk 570-744, Korea
[4]Faculty of Biotechnology and Center for Agricultural Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Chonbuk National University, Jeonbuk 561-756, Korea

Abstract

Type 2 diabetes mellitus (NIDDM) is a metabolic disorder that is characterized by high blood glucose in the context of insulin resistance and relative insulin deficiency. In order to control the type 2 diabetes mellitus, anti-hyperglycemic effect of *Triticum aestivum* L. water extracts (TAWE) was investigated in 7 week old male diabetic C57BL6/J-*ob/ob* mice. For the experiments, the diabetic animal model *ob/ob* mice and non-diabetic animal model lean mice were divided into 3 groups: non-treatment control group (Control), and two experimental groups orally treated with 25 or 100 mg/kg/day dose of TAWE (TAWE-25 and TAWE-100, respectively). The lean mice were used as the non-diabetic normal control. TAWE was orally administrated for 6 weeks and the diabetic clinical markers, including blood glucose level, body weight, organs weight and insulin level were determined. The oral administration of TAWE-100 in *ob/ob* diabetic mice significantly decreased blood glucose level (78.4%) and body weight (11.9%) compared with diabetic control group. The weights of organs, including spleen, liver, kidneys, heart and lung were not different among groups, while the treatments of TAWE-100 in *ob/ob* diabetic mice significantly reduced blood total cholesterol (24.35%) and triglyceride (23.97%) levels compared with the diabetic control group. The levels of serum insulin and glucose tolerance were improved after TAWE-100 treatment in *ob/ob* diabetic mice. Moreover, the immunohistochemical staining for insulin detection in pancreatic islet β-cells expressed high level of insulin in TAWE-100 treated *ob/ob* mice. From the above results, the intake of TAWE may be effective in anti-hyperglycemia by the attenuation of glucose and lipid levels. TAWE-containing diets or drugs may be beneficial for controlling diabetes mellitus type 2 in human.

Key words: *Triticum aestivum* sprout, diabetes mellitus type 2, *ob/ob* mice, blood glucose, insulin

서 론

최근 경제적 풍요와 함께 식생활의 서구화로 인한 비만 인구의 증가로 고지혈증, 관상동맥질환, 지방간 및 제2형 당뇨 발병이 급속히 증가되어지고 있다(1). 당뇨병 환자의 90~95%를 차지하는 제2형 당뇨병은 인슐린 저항성과 상대적인 인슐린 부족이 복합적으로 작용하여 포도당의 대사 장애를 초래하고 만성적인 고혈당으로 이어지게 되는 질환이다(2). 제2형 당뇨병의 일반적인 병인인 인슐린 저항성의 증가는 제2형 당뇨병 외에도 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 여러 가지 질병의 발생 및 진행에 중요한 역할을 한다(3,4). 특히 비만으로 인한 인슐린 저항성은 비만한 사람에서의 지방조직으로부터 분비되는 비에스테르성 지방산(non-esterified fatty acid, NEFA), 글리세롤, 호르몬, 염증관련 cytokine 등으로 인해 유도되며, 췌장 β세포에서의 인슐린분비 이상을 동반한 인슐린 저항성의 경우 혈중 glucose 조절이

†Corresponding author. E-mail: daekim@jbnu.ac.kr
Phone: 82-63-270-3080, Fax: 82-63-270-3080

원활하지 못하는 β세포 기능 장애를 유발하여 보다 높은 제2형 당뇨의 위험성 및 발병 관련성이 있다(5,6).

현재 제2형 당뇨병 치료제로 사용되는 대표적인 경구제제로는 췌장 β세포를 자극하여 인슐린을 분비시키는 인슐린 분비제와 간 및 말초조직에서 인슐린의 작용을 증강시키는 인슐린 감각제가 있는데, 최종적으로 대게 인슐린 주사요법이 사용되게 된다. 이는 혈당 조절에 있어 매우 효과적이지만 체지방 특히 복부 지방을 증가시키는 부작용을 갖고 있으며(7), 증가된 복부지방은 다시 인슐린 저항성을 증가시켜 보다 많은 양의 인슐린이 요구되는 악순환이 반복된다(8). 당뇨 치료에 사용되는 약물들로 인한 부작용을 줄이기 위해 WHO는 당뇨병 치료에 부작용이 적은 천연물 이용을 권장하고 있으며, 미국에서는 34.0%, 호주에서 48.5% 정도가 약물치료와 함께 한 가지 이상의 민간요법을 실시하고 있다는 보고가 있다(9). 하지만 천연물을 이용한 민간요법은 대부분 과거 개인적 경험과 효과가 구전되어진 것으로 과학적인 근거가 부족하여 독성 및 부작용 등의 위험성에 노출되어 있다는 문제점을 안고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 천연물로부터 얻어진 생리활성기능을 가진 물질들을 분리 정제 및 기능성식품으로 제조하여 이용하고, 이들이 질병치료에 미치는 효과 및 기전에 대한 과학적 규명 연구가 활발히 진행되고 있다(10).

소맥(*Triticum aestivum* Lamarck)은 화본과 식물로 주로 온대지방에서 재배하며 세계적으로 주식이용률과 생산량이 높은 작물이다. 예로부터 소맥은 한방에서 보허(補虛), 양기(養氣), 이대장(利大腸) 등의 효능이 있으며, 이뇨 및 간기를 보하며 번열을 제거한다고 알려져 있다(11). 서구에서는 소맥엽 주스가 암세포의 세포자살을 유도하여 항암치료에 효과가 있다고(12) 알려져 항암치료에 이용하기도 하였고, 발암성 물질 7,2-dimethylbenz(a)anthracene의 활성을 억제한다는 보고가 있다(13). 또한 대장암 진행을 조절(14)하거나 항염증 효과(15)가 있다는 다양한 약리학적 효능이 보고되었다. 최근 본 연구자는 streptozotocin(STZ)으로 유도한 제1형 당뇨 마우스모델에서 소맥엽 물추출물(TAWE)을 투여에 의한 혈당 및 체중개선을 보고한바 있으나(16), 제2형 당뇨에 대한 연구는 아직 보고된바 없다.

C57BL6/J-*ob/ob* mice는 1949년 Jackson Laboratory에서 처음 발견된 렙틴 호르몬이 결여된 돌연변이 개체로서(17), *db/db* 마우스와 함께 당뇨병 및 인슐린 저항성에 대한 연구에 이용되는 대표적인 동물 모델이다. *ob/ob* 마우스에게 다양한 천연물질들을 공급하여 제2형 당뇨 및 합병증에 미치는 영향에 대하여 많은 연구가 보고되어지고 있다(18,19).

본 연구자는 *ob/ob* 마우스를 이용한 제2형 당뇨모델에서의 TAWE 투여 효과에 대하여 연구하고자 6주간 투여하여 혈당 조절, 지질개선 및 포도당내성 등에 미치는 영향에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

본 실험은 우리밀 품종(금강소맥)을 국립식량과학원으로부터 공급받아 일정 온도(평균 20±2°C)를 유지하며 무균 유기농 발아용 피트머스 위에서 발아, 재배하였다. 발아 후 2주간 재배된 소맥엽을 수확하여 동결건조 하고, 일정 크기로 분쇄하여 분말화 하였다. 소맥엽 동결 분말 시료 100 g에 1 L의 4°C 정제수를 가한 후 1시간 동안 가온 추출하여 이를 Whatman paper filter로 여과한 후, 회전감압농축기(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압농축 하였다. 보다 완전한 건조를 위해 동결건조를 실시하고, 생산된 소맥엽 물추출물(TAWE)을 실험 직전까지 빛으로부터 차단된 4°C에 보관하여 이를 시료로 일정량을 정제수에 녹여 투여하였다. 본 실험에 사용된 시약들은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

성분 분석

일반성분 분석은 소맥엽을 전라북도 생물산업진흥원(전라북도 전주시)에 의뢰하여 분석하였다. 각 성분 분석은 식품의약품안전청에서 제시한 AOAC의 표준분석법에 따라 실시하였다(20). 단백질 분석은 세미마이크로 Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 탄수화물 분석은 환원당 함량 분석법으로 분석하였다. 또한 트랜스지방과 콜레스테롤 분석은 추출을 거친 후 기체크로마토그래피로 분석하였으며, 열량은 에트워터 계수를 사용하여 환산하였고 나트륨은 ASS로 측정하였다.

당뇨 실험동물 및 실험설계

동물사육실의 사육조건은 12시간 명암주기, 온도 22±2°C, 상대습도 50±10%이었다. Jackson Laboratory(Bar Harbor, ME, USA)에서 생산 및 사육한 7주령 수컷의 C57BL6/J *ob/ob* 마우스와 비당뇨 정상 lean 마우스들을 중앙실험동물(주)(Seoul, Korea)을 통하여 공급받아 실험에 사용하였다. 실험동물의 식이는 실험동물 AIN-93 조제식이(21)를 중앙실험동물(주)를 통해 구입하여 공급하고, 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다. 실험동물들을 본 사육실에서 7일 이상 검역순화 및 적응시킨 후 체중과 혈당을 측정하여 실험 실시에 적합한 개체들을 선별하여 사용하였다. Lean 마우스와 *ob/ob* 마우스들을 각각 5마리씩 대조군(Control), 소맥엽 물추출물 100 mg/kg, BW 투여군(TAWE-100), 소맥엽 물추출물 25 mg/kg, BW 투여군(TAWE-25)으로 나누었다. 일정량의 시료를 정제수에 녹여 6주간 1일 1회 동일시간에 제조 및 경구투여 하였고, 대조군에는 정제수를 공급하였다.

혈중 포도당 및 인슐린 농도 측정

소맥엽 물추출물의 투여가 실험동물의 혈중 포도당 농도 변화에 미치는 영향을 분석하기 위해 실험기간 동안 1주일

간격으로 1회 일정시간에 꼬리정맥에서 일정량의 혈액을 소량 취하여 혈중포도당 측정기기(Abbott Diabetes Care Inc., Alameda, CA, USA)를 이용하여 혈당을 측정하였다.

혈중 인슐린 농도는 6주간의 TAWE(*Triticum aestivum* sprout Water Extracts) 투여 후 투여 종료일에 실험동물을 에테르로 안락사 시켜 혈액을 취하여 혈장만을 분리하였다. 분리된 혈장을 mouse insulin ELISA kit(Shibayagi Co., Ishihara, Japan)을 사용하여 회사에서 제공된 실험 방법에 따라 인슐린 농도를 측정하였다.

체중 및 장기무게 측정

소맥엽 물추출물의 투여로 인한 실험동물의 체중 변화는 6주간의 투여 전 기간에 걸쳐 1주일 간격으로 일정시간에 측정하였다. 장기무게 측정은 투여가 종료된 6주째에 마우스들을 희생시키고, 적출한 장기들의 무게를 측정하였다. 적출된 조직의 일부는 면역조직화학염색을 위하여 사용하였고, 분리한 혈장 및 조직들은 분석 직전까지 -80°C에 보관하였다.

면역조직화학염색

면역조직화학염색을 위해 Vectastain universal quick kit (Vector Lab, Burlingame, CA, USA)를 이용하여 회사에서 제공한 실험 조건에 따라 진행하였다. 실험동물로부터 췌장조직을 적출하고 10% formalin solution에 4시간 동안 고정시킨 후 PBS(Phosphate buffered saline)로 세척하였다. 파라핀 블록을 제작하고, 절편기를 사용하여 조직을 5 μm 두께로 잘라 section을 만들었으며 xylene으로 탈파라핀화 과정을 거쳐 파라핀을 제거하고 ethanol을 이용하여 함수하였다. 조직과 인슐린 항체와의 비특이적인 반응을 막기 위해 kit에 포함된 blocking solution을 사용하여 blocking을 실시한 후 PBS로 세척하였다. 인슐린 항체(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)를 조직위에 처리하고, 4°C에서 반응을 시킨 후 PBS로 세척하였다. 이를 biotinylated universal secondary antibody(Vector Lab)와 20분 동안 반응시키고 PBS를 이용하여 세척하였다. avidin/peroxidase performed complex reagent로 반응시킨 후 PBS용액으로 세척하였다. 발색시약 DAB(diaminobenzidine hydrochloride)으로 발색시켜, 면역조직화학염색이 완료된 조직은 광학현미경으로 관찰하였다.

당부하 검사(oral glucose tolerance test)

포도당 내당능을 평가하기 위하여 당부하 검사를 실시하였다. 당부하 검사는 마우스를 4시간 절식하여 TAWE 투여 시작 직전일과 투여 6주 후 종료일에 실시하였다. 실험동물을 절식시킨 후 glucose를 2 g/kg, BW의 용량으로 경구투여하고, 투여 후 0, 30, 60, 120분 간격으로 혈액을 꼬리를 통하여 소량 취하여 혈중 포도당 농도를 측정하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 statistical analysis system(SAS) 통계프로그램을 이용하여 two way-ANOVA로 분석하고 평균±표준편차로 표시하였다. General linear model(GLM)을 이용하여 Duncan's multiple range test로 비교하였으며 $p<0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

Table 1. Proximate composition of *T. aestrivum* L.

Composition (%)	*T. aestrivum* L.
Calory	44.79 kcal
Carbohydrate	4.91±0.01
Saccharide	0.59±0.01
Protein	4.78±0.04
Fat	0.67±0.02
Saturated fat	–
Trans fat	–
Cholesterol	–
Natrium	2.50±0.04

Values are mean±SD.

결과 및 고찰

일반성분 분석

소맥엽의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 시료 100 g당 열량 44.79 kcal, 탄수화물 4.91%, 단백질 4.78%, 당류 0.59%, 지방 0.67% 그리고 나트륨 2.50%로 각각 분석되었다.

체중 및 혈중 포도당 농도에 미치는 영향

소맥엽 물추출물을 6주간 실험동물에 투여하고 체중과 혈중 포도당 농도에 미치는 영향에 대하여 관찰하였다(Table 2, 3). Lean 마우스들에게 TAWE를 용량별로 투여한 결과, TAWE 투여 시작 직전 평균 체중은 23.26 g이고, 투여 종료시 평균체중은 26.1 g으로 정상적인 몸무게 증가를 보이며 TAWE 투여로 인한 유의적인 몸무게의 이상 감소 또는 증가 변화는 없었다. 혈중 포도당 농도 또한 6주간의 실험기간 동안 평균 혈당 110.7 mg/dL의 정상 혈당 수준을 유지하며 유의적인 변화는 없었다. 이는 본 실험에 사용된 TAWE의 투여 용량 및 물질이 lean 마우스에서의 체중 및 혈당에 영향을 미치지 않으며, 또한 독성이 없음을 의미한다. Mordes와 Rossini(22) 및 Eleazar(23)의 보고에 의하면 *ob/ob* 마우스는 제6번 염색체상에 열성 유전자 ob가 homo 접합체(ob/ob)로 되었을 때 유전적 고혈당 비만의 제2형 당뇨병 특징을 나타내는 마우스이다. 비만증상은 생후 3주후부터 나타나기 시작하여 이와 함께 혈당도 증가한다고 알려져 있다. *ob/ob* 마우스의 TAWE 투여 직전 전체 평균체중은 53.63 g이었지만, 6주간의 TAWE 투여 종료 후 대조군 64.9 g, TAWE-25 투여군 59.8 g, TAWE-100 투여군 58.0 g으로 대조군의 체중 증가율이 21.0%임에 비해 TAWE-100 투여군의 체중 증가율이 8.2%로 유의적으로 체중 증가율이 감소하였다. 한편 *ob/ob* 마우스의 TAWE 투여 개시 전 전체 평균혈당은 312.5 mg/dL로 고혈당의 전형적인 당뇨병 증상을 나타내

Table 2. The change of body weights in TAWE-treated lean and *ob/ob* mice

Group[1)]		Body weight (g)						
		0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks
Lean	Control	23.1±1.2[2)]	4.5±1.3	24.6±1.1	24.9±1.3	25.6±1.0	25.9±1.2	26.1±0.9
	TAWE-25	23.3±1.0	24.2±1.9	24.7±1.2	25.1±1.3	25.5±1.2	25.8±1.0	26.1±1.0
	TAWE-100	23.4±1.1	24.2±1.4	24.9±1.1	25.2±0.9	25.7±1.2	26.0±1.2	26.3±1.1
ob/ob	Control	54.1±2.1	56.4±3.0	59.0±3.5	60.7±3.2[a3)]	63.6±3.3[a]	64.8±3.6[a]	64.9±3.7[a]
	TAWE-25	53.1±2.0	54.5±3.2	55.8±3.3	56.1±3.1[ab]	57.2±3.6[b]	59.0±3.8[b]	59.8±4.0[b]
	TAWE-100	53.7±2.7	54.5±0.9	54.5±3.0	55.1±3.2[b]	55.9±3.7[c]	56.8±3.6[c]	58.0±3.9[c]

[1)]Control: non-treatment, TAWE-25: *Triticum aestivum* L. water extract (25 mg/kg, BW), TAWE-100: *Triticum aestivum* L. water extract (100 mg/kg, BW).
[2)]Values are means±SD (n=5).
[3)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 3. The blood glucose levels in TAWE-treated lean and *ob/ob* mice

Group[1)]		Blood glucose level (mg/dL)						
		0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks
Lean	Control	102.6±3.1[2)]	109.2±4.4	110.1±4.7	115.3±3.6	113.9±4.1	111.2±5.3	112.6±3.9
	TAWE-25	105.7±6.1	107.8±6.1	115.5±4.1	113.2±5.3	112.5±3.1	112.6±2.3	111.0±4.8
	TAWE-100	102.5±2.1	113.0±5.7	116.2±6.2	108.2±4.9	116.5±4.8	106.3±3.6	109.5±6.7
ob/ob	Control	319.0±59.4	380.4±112.2	433.3±95.2[a3)]	520.1±100.3[a]	559.3±113.6[a]	559.2±50.0[a]	562.5±89.3[a]
	TAWE-25	307.7±53.2	326.3±86.4	360.1±75.4[ab]	379.5±84.1[b]	407.7±62.5[b]	423.2±88.7[b]	453.6±96.4[b]
	TAWE-100	310.7±66.4	347.1±81.2	344.7±93.7[b]	325.2±88.1[c]	313.2±77.7[c]	315.2±62.4[c]	315.3±113.2[c]

[1)]Groups are the same as in Table 2.
[2)]Values are means±SD (n=5).
[3)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

고 있었다. 6주간의 TAWE 투여 후, 대조군의 평균 혈당은 562.5 mg/dL, TAWE-25 투여군 453.6 mg/dL, TAWE-100 투여군 315.3 mg/dL이었다. *ob/ob* 마우스 대조군의 혈당 변화율이 최초 혈당보다 81.4% 증가한 반면, TAWE-25 투여군은 45.15% 증가, TAWE-100 투여군에서는 TAWE 투여 2주째부터 혈당이 감소하기 시작하여 투여기간 경과에 따라 지속적인 감소를 보이다가 종료일에는 최초 혈당에서 0.89% 증가하였다. 이로써 TAWE 투여가 제2형 당뇨 동물모델에서 혈당의 증가를 투여용량 의존적으로 억제 및 감소시키는데 효과가 있음을 확인하였다. 이는 Park과 Jeong (18)이 보고한 *ob/ob* 마우스에 청혈산을 투여한 실험에서 투여용량 의존적으로 혈당 강하 효과를 보인 것과 유사한 결과이다.

장기무게에 미치는 영향

소맥엽 물추출물 투여에 의한 실험동물의 주요장기에 미치는 영향을 보고자 lean 마우스 및 *ob/ob* 마우스에 6주간 투여한 후 비장, 간, 신장, 심장 및 폐 등의 장기 무게들을 측정하고 Table 4에 나타냈다. Lean 마우스 및 *ob/ob* 마우스 각각 실험군 간의 비장, 신장, 심장 및 폐 장기 대한 유의적인 무게 차이는 나타나지 않았지만, *ob/ob* 마우스의 간장의 무게가 lean 마우스의 간장 무게에 비해 약 4.14배 비대한 것으로 나타났다. 이는 Niall 등(24)이 보고한 당뇨병의 발병으로 인한 간장의 비대와 Choi 등(25)이 보고한 STZ으로 당뇨를 유발한 흰쥐에서는 정상에 비하여 간과 신장의 상대적 무게가 유의적으로 증가한다는 보고와 유사한 결과이다.

혈중 인슐린에 미치는 영향

소맥엽 물추출물 투여에 의한 *ob/ob* 마우스의 혈중 인슐린 농도에 미치는 영향을 확인하였다(Table 5). TAWE 투여 종료일에 마우스의 혈액을 취해 인슐린 농도를 분석한 결과, lean 마우스의 평균 혈중 인슐린 농도는 대조군 3.93 ng/mL, TAWE-25 투여군 4.12 ng/mL, TAWE-100 투여군 3.89 ng/mL로 나타났다. *ob/ob* 마우스 대조군 평균 혈중 인슐린

Table 4. Change of the weight of spleen, liver, kidneys, heart and lung in TAWE-treated lean and *ob/ob* mice

Group[1)]		Organ weight (g)				
		Spleen	Liver	Kidneys	Heart	Lung
Lean	Control	0.091±0.03[2)]	1.43±0.20	0.346±0.05	0.102±0.03	0.113±0.04
	TAWE-25	0.085±0.04	1.47±0.21	0.344±0.06	0.103±0.03	0.115±0.04
	TAWE-100	0.084±0.03	1.54±0.20	0.342±0.05	0.102±0.03	0.116±0.03
ob/ob	Control	0.085±0.05	5.98±0.27	0.454±0.06	0.121±0.04	0.118±0.04
	TAWE-25	0.096±0.06	5.56±0.28	0.456±0.07	0.121±0.05	0.117±0.04
	TAWE-100	0.088±0.06	5.30±0.29	0.455±0.07	0.120±0.05	0.117±0.04

[1)]Groups are the same as in Table 2. [2)]Values are means±SD (n=5).

Table 5. The serum insulin levels in TAWE-treated lean and *ob/ob* mice

Group[1)]		Serum insulin level (ng/mL)
Lean	Control	3.93±0.79[2)]
	TAWE-25	4.12±0.87
	TAWE-100	3.89±0.93
ob/ob	Control	15.60±2.31[b3)]
	TAWE-25	19.66±2.18[a]
	TAWE-100	20.19±2.17[a]

[1)]Groups are the same as in Table 2.
[2)]Values are means±SD (n=5).
[3)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

농도는 15.60 ng/mL, TAWE-25 투여군 19.66 ng/mL, TAWE-100 투여군 20.19 ng/mL로 나타났다. Lean 마우스 대조군에 비하여 *ob/ob* 마우스에서 인슐린 저항성으로 인한 체내 이용율 감소로 인해 당뇨대조군의 혈중인슐린 농도가 약 4배 높은 것으로 나타났는데, 이는 β세포로부터 분비되는 인슐린 양이 *ob/ob* 마우스가 정상마우스보다 더 많다는 보고와 일치한다(26-28).

ob/ob 마우스는 렙틴의 결여로 인한 비만과 고혈당 및 고 인슐린 혈증과 같은 제2형 당뇨병과 유사한 임상학적 특징을 갖는 마우스로서(29,30), 렙틴은 주로 지방세포에서 생성되는 cytokine으로 섭식, 대사 신경계 및 에너지 균형을 조절하고 식욕과 체중조절에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(31). 또한 인슐린의 감수성을 조절하여 렙틴의 발현이 감소하게 되면 인슐린 저항성을 일으킨다고 알려져 있다(32). 인슐린 항체를 이용한 면역조직학적 염색을 통해 β세포의 손상정도 및 인슐린 발현 경향을 확인하였다(Fig. 1). Lean 마우스 대조군에 비해 *ob/ob* 마우스 대조군에서 큰 용적의 β세포를 확인하였는데, 이는 Bleisch 등(33)이 보고한 *ob/ob* 마우스의 췌장 β세포의 용적이 정상마우스보다 수 배 정도 큰 것으로 보고된 것과 일치하였다. TAWE-25, TAWE-100 투여군에서 취한 β세포의 인슐린 발현 경향은 혈중 인슐린 농도 측정 결과와 유사한 결과를 보였다. 제2형 당뇨병환자에서 경구강하제 투여에도 혈당 조절이 잘되지 않는 β세포의 인슐린 분비 저항의 주원인은 식후 고혈당 자체의 포도당독성(glucose toxicity)과 중성지방으로 전환되어 초래되는 지방독성(lipotoxicity)에 의해 인슐린 저항성을 더욱 악화시키는 것으로 알려져 있다(34,35). 이와 맞물려 인슐린 분비능을 더욱 저하시키기 때문에 TAWE의 투여는 제2형 당뇨동물 모델에게서 췌장 β세포 및 인슐린 분비 개선과 같은 유익한 결과를 기대할 수 있을 것으로 보인다.

혈중 지질에 미치는 영향

소맥엽 물추출물이 혈중 지질에 미치는 영향을 살펴보면 lean 마우스의 경우 대조군 총콜레스테롤 67.44 mg/dL, 중성지방 86.48 mg/dL 및 HDL 44.04 mg/dL, TAWE-25 투여군 총콜레스테롤 69.28 mg/dL, 중성지방 88.48 mg/dL, HDL 47.42 mg/dL, TAWE-100 투여군 총콜레스테롤 58.06 mg/dL, 중성지방 78.24 mg/dL 및 HDL 49.93 mg/dL로 유의적인 차이 없이 정상 범위 내 수치를 보였다(Table 6). *ob/ob* 마우스의 혈중 지질 분석결과 대조군에서 총콜레스테롤, 중성지방 수치가 각각 158.35 mg/dL, 188.51 mg/dL로 높은 수치를 나타냈으며, HDL은 42.51 mg/dL로 나타났다. TAWE-100 투여군의 경우 총콜레스테롤 127.34 mg/dL, 중성지방 152.05 mg/dL, HDL 55.18 mg/dL로 대조군에 비해 총콜레스테롤 24.35%, 중성지방 23.97% 유의적으로 감소하며, HDL은 29.80% 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 당뇨가 발병하게 되면 탄수화물과 유리지방산이 에너지원으로 이용되지 못하게 되면서 혈중 콜레스테롤이 증가하는 반면 HDL 농도는 감소하게 된다. 이는 근육에서 포도당 유입의 감소, 간에서 포도당생성 억제 감소에 따른 포도당의 과도한 생산으로 인해 혈당이 증가되고, 지질 분해 억제효과의 감소에 따른 유리지방산의 과도한 혈액 내 유입으로 인해 나타나게 된다고 알려져 있다(36). 혈중 중성지방은 각종 지방 조직의 구성성분으로써 생체 에너지 저장에 관여하고 비만일 경우 함량이 증가하게 되는데, 높은 콜레스테롤 및 중성지방은 죽상경화증 및 고지혈증의 당뇨 합병증의 원인으로 알려져 있다. HDL은 말초 조직으로부터 콜레스테롤을 간으로 운반하여 혈중 콜레스테롤을 제거하는 작용을 하는데, 혈중 HDL 농도가 증가되면 동맥경화증을 예방할 수 있으나 농도가 감소되면 관상동맥질환 발생 위험 신호가 된다(37). 따라서 제

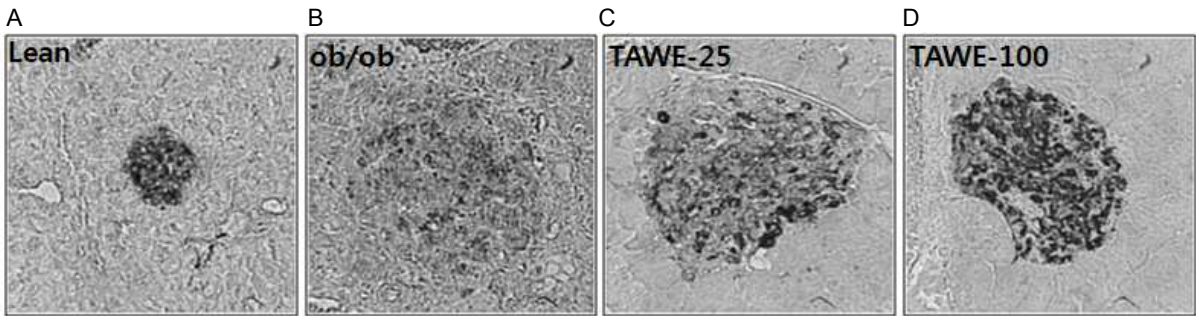

Fig. 1. Insulin expression levels in islet cells of pancreas of lean and TAWE-treated in *ob/ob* mice by immunohistochemistry.
A few of insulin-expressing β-cells were observed in the pancreatic islet of all groups. The TAWE-100 treated *ob/ob* mice showed high expression of insulin in β-cells. (Immunostain-microscopy, ×200).

Table 6. The serum lipid levels in TAWE-treated lean and *ob/ob* mice

Group[1)]		Serum lipid level (mg/dL)		
		Total cholesterol	Triglyceride	HDL-cholesterol
Lean	Control	67.44±2.97[2)]	86.48±2.40	44.04±3.51
	TAWE-25	69.28±3.48	88.48±4.12	47.42±3.97
	TAWE-100	58.06±3.41	78.24±4.84	49.93±4.46
ob/ob	Control	158.35±5.31[a3)]	188.51±3.87[a]	42.51±3.78[c]
	TAWE-25	139.58±4.15[b]	179.51±5.41[b]	51.24±3.48[b]
	TAWE-100	127.34±4.64[c]	152.05±5.03[c]	55.18±4.03[a]

[1)]Groups are the same as in Table 2.
[2)]Values are means±SD (n=5).
[3)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 7. Glucose tolerance test in non-diabetic and diabetic mice

Group[1)]	Blood glucose level (mg/dL)			
	0 min	30 min	60 min	120 min
Day 0 (before treatment)				
NDM-control	102.6±5.4[2)]	259.5±9.1	200.6±10.6	121.6±15.3
DM-control	319.7±62.1	512.3±70.0	595.3±110.3	522.1±99.1
TAWE-25	310.8±75.8	521.1±62.4	608.7±88.3	530.3±84.9
TAWE-100	307.5±62.3	537.2±94.2	621.5±96.7	523.7±67.8
Week 6 (after treatment)				
NDM-control	112.3±7.3	272.6±14.1	210.4±11.4	109.6±24.1
DM-control	562.5±123.1	684.2±108.3	699.3±97.3	623.2±93.9[a3)]
TAWE-25	506.7±87.3	599.2±78.6	614.5±63.3	527.8±73.0[b]
TAWE-100	312.1±88.1	556.4±98.3	512.1±62.8	368.4±91.7[c]

[1)]NDM-control: non-diabetic control mice, DM-control: diabetic control mice, TAWE-25: *Triticum aestivum* L. water extract (25 mg/kg, BW), TAWE-100: *Triticum aestivum* L. water extract (100 mg/kg, BW).
[2)]Values are means±SD (n=5).
[3)]Values with different superscripts within a column indicate significant difference ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2형 당뇨 모델 *ob/ob* 마우스에 있어서 TAWE의 섭취는 혈중 HDL 농도를 개선시켜 총콜레스테롤 등의 농도를 유의적으로 감소시키며, 그 결과 관상동맥질환 발생 위험을 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다.

포도당 내성에 미치는 영향

소맥엽 물추출물 투여가 제2형 당뇨 마우스의 포도당 내성에 미치는 영향을 확인하기 위해 TAWE 투여 직전일과 투여 종료일에 당부하 검사를 통해 확인하였다(Table 7). Lean 마우스 대조군의 경우 포도당 투여 후 30분째 가장 높은 혈당치를 나타내다가 120분째에 정상 혈당치로 회복하였으나 *ob/ob* 마우스에 있어서 대조군의 경우 내당능 검사 실시 후 120분 동안 계속 높은 수준의 혈당치를 유지하였고, 120분째에도 623.2 mg/dL의 높은 혈당을 나타냈다. TAWE-100투여군은 포도당 부하 후 30분째 가장 높은 혈당치를 나타내었으며, 60분부터 지속적으로 감소하여 120분째는 368.4 mg/dL로 초기 혈당치와 비슷한 수준으로 회복되는 것이 관찰되었다. 일반적인 임상 당부하 검사는 정맥 또는 경구로 일정량의 당 공급 후 혈액 내 포도당 농도를 정해진 시간에 측정함으로써 간접적으로 인슐린 분비기능을 알아보는 방법으로 당대사장애 진단 검사법 중 하나이다. 공복 혈당치가 140 mg/dL 이상이거나, 모세혈관 전혈 및 정맥혈장이 당부하 검사상 2시간 혈당치가 200 mg/dL 이상인 경우 당뇨병 진단을 내린다. 따라서 본 결과는 TAWE 투여가 내당능 개선에 효과가 있다고 사료된다.

요 약

본 연구에서는 소맥엽 물추출물을 제2형 당뇨동물모델 *ob/ob* 마우스에게 6주간 경구투여 하여 혈중 포도당 및 혈중 지질에 미치는 영향에 대하여 연구하였다. TAWE를 투여한 결과, lean 마우스 대조군 및 실험군들의 혈중 포도당 농도와 체중은 유의적인 변화가 없었다. 반면, *ob/ob* 마우스에서 대조군은 실험기간 내내 혈중 포도당 농도 및 체중이 높은 증가율을 보였으나, TAWE를 투여한 *ob/ob* 마우스에서는 혈중 포도당 및 체중 증가가 TAWE 투여용량 의존적으로 감소되었으며, 특히 TAWE-100 투여군에서 대조군에 비하여 체중 약 11.9%, 혈중 포도당 약 78.4% 감소되는 효과를 보였다. 또한 TAWE 투여가 실험동물의 장기무게에 미치는 영향을 알아보기 위해 비장, 신장, 심장 및 폐의 무게를 측정한 결과, lean 마우스 및 *ob/ob* 마우스 실험군 사이에 각각의 장기에 대한 유의적인 무게 차이는 나타나지 않았다. 혈중 인슐린 농도는 lean 마우스 대조군 및 실험군의 평균 농도(3.93 ng/mL)에 비하여 *ob/ob* 마우스 대조군(15.60 ng/mL), TAWE-100 투여군(20.19 ng/mL) 및 TAWE-25 투여

군(19.66 ng/mL)에서 모두 높게 나타나는 경향을 보였지만 *ob/ob* 마우스 TAWE-100 투여군에서는 보다 증가된 인슐린 수치를 확인하였으며, 면역조직화학염색 시험법에서도 췌장 β세포의 인슐린 발현정도가 TAWE-100 투여군에서 가장 높게 나타났다. TAWE는 lean 마우스의 총콜레스테롤, 중성지방 및 HDL에 유의적인 영향을 미치지 않았지만, *ob/ob* 마우스 TAWE-100 투여군에서 대조군에 비해 총콜레스테롤 24.35%, 중성지방 23.97%가 감소하였고, HDL은 29.80% 증가하였다. 포도당 내당능에 대한 평가를 위해 당부하 검사를 실시한 결과 *ob/ob* 마우스 TAWE-100 투여군에서 60분부터 당부하가 유의적으로 개선되는 효과를 보였다. 결과적으로, TAWE의 인슐린 저항성 제2형 당뇨병 동물모델 *ob/ob* 마우스에 6주간의 장기투여는 혈당 및 혈중 지질대사를 개선할 수 있음을 의미하며, 임상학적 당뇨 증상완화 및 당뇨 합병증 예방 및 치료제로 음용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(과제번호: 108156-03)의 지원에 의하여 수행되었으므로 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Flegal KM, Carroll MD, Kuczmarski RJ, Johnson CL. 1998. Overweight and obesity in the United States: prevalence and trends, 1960-1994. *J Obes Relat Metab Disord* 22: 39-47.
2. Boden G. 1997. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 46: 3-10.
3. Muniyappa R, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. 2007. Cardiovascular actions of insulin. *Endocr Rev* 28: 463-491.
4. Semenkovich CF. 2006. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest* 116: 1813-1822.
5. Reaven GM. 1998. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595-1607.
6. Polonsky KS, Given BD, Van Cauter E. 1998. Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J Clin Invest* 2: 442-448.
7. Bagg W, Plank LD, Gamble G, Drury PL, Sharpe N, Braatvedt GD. 2001. The effects of intensive glycaemic control on body composition in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 3: 410-416.
8. Srinivasan BT, Jarvis J, Khunti K, Davies MJ. 2008. Recent advances in the management of type 2 diabetes mellitus: a review. *Postgrad Med J* 84: 524-531.
9. MacLennan AH, Wilson DH, Taylor AW. 1996. Prevalence and cost of alternative medicine in Australia. *Lancet* 347: 569-573.
10. Tapsell LC, Hemphill I, Cobiac L, Patch CS, Sullivan DR, Fenech M, Roodenrys S, Keogh JB, Clifton PM, Williams PG, Fazio VA, Inge KE. 2006. Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Med J Aust* 185: S4-24.
11. Vaaler S, Hanssen KF, Dahl-Jørgensen K, Frølich W, Aaseth J, Odegaard B, Aagenaes O. 1986. Diabetic control is improved by guar gum and wheat bran supplementation. *Diabet Med* 3: 230-233.
12. Bonfili L, Amici M, Cecarini V, Cuccioloni M, Tacconi R, Angeletti M, Fioretti E, Keller JN, Eleuteri AM. 2009. Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation. *Biochimie* 91: 1131-1144.
13. Tudek B, Peryt B, Miłoszewska J, Szymczyk T, Przybyszewska M, Janik P. 1998. The effect of wheat sprout extract on benzo(a)pyrene and 7,2-dimethylbenz(a)anthracene activity. *Neoplasma* 35: 515-523.
14. Borowicki A, Stein K, Scharlau D, Glei M. 2010. Fermentation supernatants of wheat (*Triticum aestivum* L.) aleurone beneficially modulate cancer progression in human colon cells. *J Agric Food Chem* 58: 2001-2007.
15. Watzl B. 2008. Anti-inflammatory effects of plant-based foods and of their constituents. *Int J Vitam Nutr Res* 78: 293-298.
16. Lee SH, Lee YM, Lee HS, Kim DK. 2009. Anti-oxidative and anti-hyperglycemia effect of *Triticum aestivum* wheat sprout water extracts on the streptozotocin-induced diabetic mice. *Kor J Pharmacogn* 40: 408-414.
17. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. 1950. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered* 41: 317-318.
18. Park ST, Jeong JC. 2007. Effects of Sotosajahwan on blood glucose, hyperlipidemia, polyol pathway and antioxidative mechanism in ob/ob mouse. *Korean J Oriental Physiology and Pathology* 21: 1163-1169.
19. Park ST, Jeong JC. 2008. Effects of Cheonghyul-san on blood glucose, hyperlipidemia, polyol pathway and reactive oxygen species in ob/ob mice. *Korean J Oriental Physiology and Pathology* 22: 350-356.
20. AOAC. 2005. *Official methods of analysis*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. Vol 45, p 21-22.
21. Reeves PG. 1997. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *Nature* 127: 838S-841S.
22. Mordes JP, Rossini AA. 1981. Animal models of diabetes mellitus. *Am J Med* 70: 353-360.
23. Eleazar S. 1992. Animal models of non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metabolism Reviews* 8: 179-208.
24. Niall MG, Rosaleen AM, Daphne O, Patrick BC, Alan HJ, Gerald HT. 1990. Cholesterol metabolism in alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes* 39: 626-636.
25. Choi SP, Choi HT, Lee HJ, Moon SY, Kim SH, Lee BG, Lee DS, Ham SS. 2004. Hypoglycemic effect of the functional food manufactured by fermented soybean as main materials in streptozotosin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1126-1132.
26. Westman S. 1968. Development of the obese-hyperglycemic syndrome in mice. *Diabetologia* 4: 141-149.
27. Gepts W, Christophe J, Mayer J. 1960. Pancreatic islets in mice with the obese-hyperglycemic syndrome. *Diabetes* 9: 63-69.
28. Westman S. 1968. The endocrine pancreas of old obese hyperglycemic mice. *Acta Soc Med Ups* 73: 81-89.
29. Lindström P. 2007. The physiology of obese-hyperglycemic mice (ob/ob mice). *Scientific World J* 7: 666-685.
30. Friedman JM, Halaas JL. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395: 763-770.
31. Koerner A, Kratzsch J, Kiess W. 2005. Adipocytokines: leptin-the classical, resistin-the controversical, adiponectin-the promising, and more to come. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 19: 525-546.
32. Morton GJ, Gelling RW, Niswender KD, Morrison CD,

Rhodes CJ, Schwartz MW. 2005. Leptin regulates insulin sensitivity via phosphatidylinositol-3-OH kinase signaling in mediobasal hypothalamic neurons. *Cell Metab* 2: 411-420.
33. Bleisch VR, Mayer J, Dickie MM. 1952. Familial diabetes mellitus in mice, associated with insulin resistance, obesity, and hyperplasia of the islands of langerhans. *Am J Pathol* 28: 369-385.
34. Hanefeld M, Koehler C, Henkel E, Fuecker K, Schaper F, Temelkova-Kurktschiev T. 2000. Post-challenge hyperglycaemia relates more strongly than fasting hyperglycaemia with carotid intima-media thickness: the RIAD study. *Diabetic Medicine* 17: 835-840.
35. Hanefeld M, Temelkova-Kurktschiev T, Schaper F, Henkel E, Siegert G, Koehler C. 1996. Impaired fasting glucose is not a risk factor for atherosclerosis. *Diabet Med* 16: 212-218.
36. Georg P, Ludvik B. 2000. Lipids and diabetes. *J Clin Basic Cardiol* 3: 159-162.
37. Hong HS, Park JS, Ryu HK, Kim WY. 2008. The association of plasma HDL-cholesterol level with cardiovascular disease related factors in Korean type 2 diabetic patients. *Korean Diabetes J* 32: 215-223.

(2010년 12월 21일 접수; 2011년 3월 3일 채택)