

비알코올성 지방간 세포 모델에 대한 택사, 산사, 구기자, 울금, 단삼, 인진의 효능 비교

한창우¹, 주명수², 이장훈³

¹부산대학교 한의학전문대학원 내과학교실, ²부산대학교 한의학전문대학원 응용의학부
³경희대학교 한의과대학 간계내과학교실

Comparison of the Therapeutic Efficacy of Rhizoma Alismatis, Fructus Crataegi, Fructus Lycii, Radix Curcumae, Radix Salviae Miltiorrhizae, Herba Artemisiae Scopariae on the Experimental Cellular Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease

Chang-woo Han¹, Myung-soo Joo², Jang-hoon Lee³

¹Dept. of Internal Medicine, School of Korean Medicine, Pu-San National University

²Division of Applied Medicine, School of Korean Medicine, Pu-San National University

³Dept. of Internal Medicine, College of Korean Medicine, Kyung-Hee University

ABSTRACT

Objectives : We try to compared the efficacy of six herbal medicines, Rhizoma Alismatis (RA), Fructus Crataegi (FC), Fructus Lycii (FL), Radix Curcumae (RC), Radix Salviae Miltiorrhizae (RSM), and Herba Artemisiae Scopariae (HAS), constituting *KHchunggan-tang* which was previously proven to be hepatoprotective on non-alcoholic fatty liver disease with combined properties of cellular steatosis, ROS production, and cytoprotection.

Methods : HepG2 cells were pretreated with aqueous extracts of the six herb medicines at concentrations of 1, 10, 50 and 100 µg/ml each, and treated with 0.5 mM palmitate consecutively. After 21 hrs, cell viability was assessed using MTT assay, and the percentage of cells with sub-G1 DNA content was measured using fluorescence-activated cell sorting after propidium iodide staining.

Results : The first three extracts, RA, FC, and FL restored cell viability reduced by palmitate in MTT assay, and RA, FC, FL and RC inhibited palmitate-induced apoptosis in sub-G1 analysis. FL showed relatively weak potential only at tested maximal dose, and RA showed the greatest higher efficacy on this experimental cellular model of nonalcoholic fatty liver disease.

Conclusions : According to this comparative experiment, Rhizoma Alismatis seems to have the most powerful potential among the six herbs constituting *KHchunggan-tang*, and consecutive further study seems to be required for more standardized and effective clinical application of *KHchunggan-tang* for treatment of non-alcoholic fatty liver disease.

Key words : nonalcoholic fatty liver disease, *KHchunggan-tang*, Rhizoma Alismatis

1. 서론

대사증후군이란 각종 심혈관 질환과 제 2형 당뇨병의 위험 요인들이 서로 군집을 이루는 현상을 한 가지 질환군으로 개념화시킨 것으로서, 비만, 고지혈증, 인슐린 저항성 등을 특징으로 한다¹. 비

· 교신저자: 이장훈 서울시 동대문구 회기동 1번지
경희대학교 한의과대학 간계내과학교실
TEL: 02-958-9118 FAX: 02-958-9120
E-mail: komclive@khmc.or.kr

알코올성 지방간질환(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 대사증후군의 한 형태로 중성지방이 간세포 내에 미만성으로 침윤한 경우를 말하며, 단순 지방증(simple steatosis) 소견만을 나타내기도 하지만, 지방간염(steatohepatitis) 및 간경변증으로 까지 진행하기도 한다². 국내 유병률은 성인의 18% 까지 보고되고 있으며, 비만인구의 증가와 함께 향후 만성 간질환의 원인에서 보다 큰 부분을 차지 할 것으로 생각된다³.

이러한 중요성으로 인해 근래에는 비알코올성 지방간 질환의 병리 기전과 치료 약물에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 인슐린 저항성을 타깃으로 metformin이나 thiazolidinedione과 같은 2형 당뇨병 치료제들에 대한 평가가 이루어지고는 있으나, 비알코올성 지방간 질환에 대한 약물 치료로 공인된 것은 없다⁴.

KH청간탕은 ○○대학교 한방병원에서 비알코올성 지방간질환의 치료에 사용되어온 경험 처방으로 이전 연구를 통해 c-Jun N-terminal kinase(JNK) signaling pathway를 차단함으로써 비알코올성 지방간질환에서 발생하는 지방증, 활성 산소 생성 및 세포손상을 회복시키는 효능이 확인된 바 있다⁵.

이에 저자는 KH청간탕을 구성하는 텍사, 산사, 구기자, 울금, 단삼, 인진에 대한 기존 연구를 조사하여 이들 약재들이 모두 비알코올성 지방간 질환을 개선시키는 효능이 있거나, 비만 및 고지혈증을 완화시키고 혈당을 낮추는 등의 대사증후군을 개선시키는 효능이 있음을 확인하였고, 따라서 본 연구에서는 일정 정도의 약리 작용을 가진 것으로 확인된 이들 한약재들의 상대적 약효 차이를 비교 측정해보기 위해 실험적으로 유도한 비알코올성 지방간 세포 모델에 개별 한약재 추출물을 처리하여 lipotoxicity와 lipoapoptosis에 미치는 영향을 관찰하고 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 재료와 방법

1. 실험에 사용된 약재

본 실험에서는 KH청간탕을 구성하는 한약재 중 텍사(tuber of *Alisma orientale* Juzepzuk), 산사(ripe fruit of *Crataegus pinnatifida* Bunge), 구기자(ripe fruit of *Lycium barbarum* Linné), 울금(root tuber of *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling), 단삼(root of *Salvia miltiorrhiza* Bunge), 인진(aerial part of *Artemisia capillaris* Thunberg)을 대한약전 및 대한약전의 한약규격집에 근거하여 경희대 부속 한방병원에서 구입하여 사용하였다.

2. 시료의 조제

각각의 한약재 200 g에 3차 증류수 1000 ml를 붓고 환류추출기에서 100 °C 온도로 2 시간 동안 가열 추출한 후 여과하였다. 여과한 잔사에 다시 증류수 1000 ml를 붓고 동일한 전탕의 과정을 거쳐 여과한 다음, 처음 얻은 전탕액과 합하여 감압 농축한 후 동결 건조하였다. 텍사, 산사, 구기자, 울금, 단삼, 인진에 대하여 각각 37 g(수율 18.5%), 60 g(수율 30%), 62 g(수율 31%), 14 g(수율 7%), 53 g(수율 26.5%), 22 g(수율 11%)의 물 추출물을 얻었다.

3. 재 료

Palmitate, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), propidium iodide (PI)는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

4. 세포배양

Human hepatocellular carcinoma cell line인 HepG2 cell을 American Type Culture Collection(Manassas, VA, USA)으로부터 구입하여 사용하였다. penicillin 100 U/ml, streptomycin 100 µg/ml 및 fetal bovine serum(FBS) 10%을 포함한 Dulbecco's modified

Eagle's medium(DMEM)을 배양액으로 사용하고, 37 °C, CO₂ 5% 로 설정된 incubator에서 배양하였다.

5. 지방산 처리

Palmitate를 isopropanol에 50 mM 농도가 되도록 녹인 다음, HepG2 cell에 처리할 때는 배양액에 대하여 0.5 mM(1%) 농도가 되도록 투약하였다. 배양액은 1 % bovine serum albumin(BSA)를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)을 사용하였다.

6. 세포 활성도(cell viability)의 측정

MTT assay를 통해 세포 활성도를 측정하였다. 먼저 HepG2 cell을 24-well plate에 5×10^4 cells/well의 밀도로 seeding하였다. 다음 날, 각각의 한약재 추출물(1, 10, 50, 100 µg/ml)과 palmitate(0.5 mM)를 1시간의 간격을 두고 투약한 다음 21시간 동안 배양하였다. 배양 후 세포 활성도를 측정하기 위해 각 well에 MTT(final concentration, 0.1 mg/ml)를 처리하였다. 4시간 후 medium을 모두 제거하고 활성이 있는 세포들이 MTT를 환원하여 생성한 formazan crystal을 DMSO를 사용하여 용해하였다. background subtraction을 630 nm로 하고 570 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

7. 세포 사멸(apoptosis) 측정

HepG2 세포를 60 mm dish에 배양하여 80% confluence 상태가 되면, 1시간 전 각각의 한약재 추출물을 투약하고, palmitate 0.5 mM로 21 시간 처리하였다. Ice-cold phosphate-buffered saline(PBS)로 세척 후, 세포를 고정하기 위해 70%(v/v) ethanol에서 4 °C 냉장 상태로 하룻밤 처리하였다. Ice-cold PBS로 다시 세척한 후, propidium iodide(PI) staining solution(10 mM Tris-Cl, 1 mM NaCl, 0.1% NP-40, 0.7 µg/ml RNase A, and 50 µg/ml Propidium iodide, pH 8.0)을 처리하고 실온에서 차광 상태로

30분간 두었다. FACSCalibur flow cytometer(Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, USA)를 이용하여 세포 주기 상태를 분석하였다. 각 측정 조건마다 최소 20,000개 이상의 세포를 분석하였다.

8. 통계분석

One-way analysis of variance(ANOVA) test 로 그룹 간의 측정값을 비교하였고, Turkey test로 사후분석을 시행하였다. 모든 검정에서 $P < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판단하였다. PASW Statistics Data Editor v18 Korean (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 프로그램을 사용하였고, 모든 측정값은 평균(mean)±표준오차(SEM)로 표시하였다.

III. 결 과

1. 택사 물 추출물이 palmitate에 의한 lipotoxicity와 lipoapoptosis에 미치는 영향

택사 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 세포 손상에 미치는 영향을 평가하기 위해, HepG2 cell에 택사 물 추출물과 palmitate를 처리하고 배양한 다음 MTT assay를 통해 HepG2 세포의 세포 활성도를 측정한 결과, palmitate에 의해 세포 활성도가 뚜렷이 감소하는 것을 확인하였으며, 이러한 세포 활성도의 저하가 택사 물 추출물에 의해 용량 의존적으로 회복되는 경향을 관찰하였다(Fig. 1A). 택사 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 apoptosis에 미치는 영향을 평가하기 위해, HepG2 cell에 위와 같이 택사 물 추출물과 palmitate를 처리하고 배양한 다음, Sub-G₁ 부분을 측정할 결과, palmitate에 의해 sub-G₁ 부분이 증가하였으며, 택사 물 추출물을 전처리하였을 때 sub-G₁ 부분의 증가가 농도 의존적으로 억제되었다(Fig. 1B).

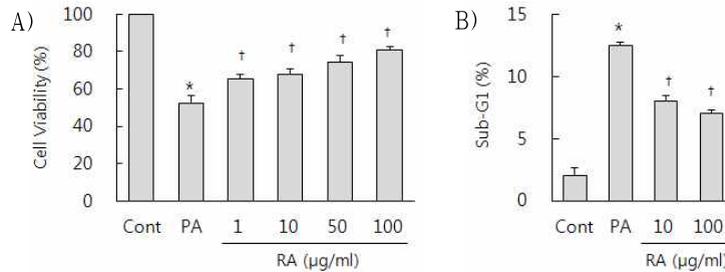


Fig. 1. Effect of of Rhizoma Alismatis (RA) on palmitate induced lipotoxicity in HepG2 cells.

HepG2 cells were pretreated with several different doses of aqueous extract of Rhizoma Alismatis (RA) for 1h and treated with 0.5 mM palmitate for 21 hrs in succession. After that, cell viability was assessed through MTT colorimetric assay (A). The percentage of cells with sub-G1 DNA content was measured using fluorescence-activated cell sorting after propidium iodide staining (B). The means±SE (n=4) are presented. * $P < 0.01$, compared to untreated control; † $P < 0.01$, compared to palmitate-treated cells.

2. 산사 물 추출물이 palmitate에 의한 lipotoxicity 와 lipoapoptosis에 미치는 영향

산사 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 세포 손상에 미치는 영향을 평가하기 위해, HepG2 cell에 산사 물 추출물과 palmitate를 처리하고 배양한 다음 MTT assay를 통해 HepG2 세포의 세포 활성도를 측정된 결과, palmitate에 의해 세포 활성도가 뚜렷이 감소하는 것을 확인하였으며, 산사 물 추출물이 10 µg/ml 이상의 농도로 투여된 경우 이러한 세포

활성도의 저하가 일부 회복되는 경향을 관찰하였다 (Fig. 2A). 산사 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 apoptosis에 미치는 영향을 평가하기 위해, HepG2 cell에 위와 같이 산사 물 추출물과 palmitate를 처리하고 배양한 다음, Sub G₁ 부분을 측정된 결과, palmitate에 의해 sub-G₁ 부분이 증가하였으며, 산사 물 추출물을 전처리하였을 때 sub-G₁ 부분의 증가가 부분적으로 억제되었다(Fig. 2B).

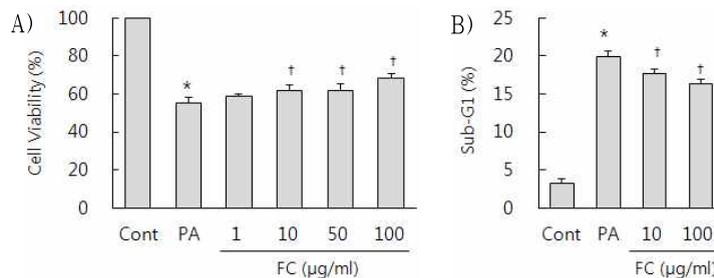


Fig. 2. Effect of of Fructus Crataegi (FC) on palmitate induced lipotoxicity in HepG2 cells.

HepG2 cells were pretreated with several different doses of aqueous extract of Fructus Crataegi (FC) for 1h and treated with 0.5 mM palmitate for 21 hrs in succession. After that, cell viability was assessed through MTT colorimetric assay (A). The percentage of cells with sub-G1 DNA content was measured using fluorescence-activated cell sorting after propidium iodide staining (B). The means±SE (n=4) are presented. * $P < 0.01$, compared to untreated control; † $P < 0.01$, compared to palmitate-treated cells.

3. 구기자 물 추출물이 palmitate에 의한 lipotoxicity 와 lipoapoptosis에 미치는 영향

구기자 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 세포 손상 및 apoptosis에 미치는 영향을 평가하기 위해,

HepG2 cell에 구기자 물 추출물과 palmitate를 처리하고 배양한 다음 텍사 및 산사 물 추출물을 테스트한 방법과 동일한 방법으로 MTT assay와 Sub-G₁ analysis를 시행하였다. 구기자 물 추출물

은 100 µg/ml로 투여된 경우에만 palmitate에 의해 저하된 세포 활성도를 증가시키고 증가한 sub-G₁ 부분을 감소시키는 효과를 나타냈다(Fig. 3).

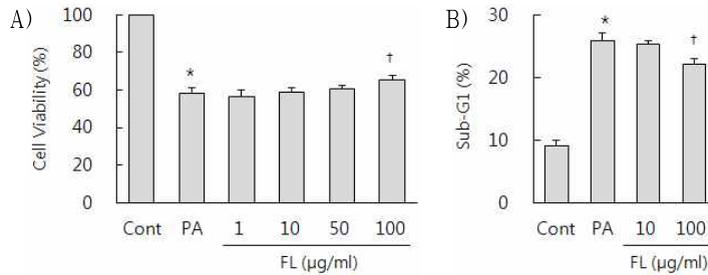


Fig. 3. Effect of of Fructus Lycii (FL) on palmitate induced lipotoxicity in HepG2 cells.

HepG2 cells were pretreated with several different doses of aqueous extract of Fructus Lycii (FL) for 1h and treated with 0.5 mM palmitate for 21 hrs in succession. After that, cell viability was assessed through MTT colorimetric assay (A). The percentage of cells with sub-G₁ DNA content was measured using fluorescence-activated cell sorting after propidium iodide staining (B). The means±SE (n=4) are presented. **P*<0.01, compared to untreated control; †*P*<0.01, compared to palmitate-treated cells.

4. 울금 물 추출물이 palmitate에 의한 lipotoxicity와 lipoapoptosis에 미치는 영향

울금 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 세포 손상 및 apoptosis에 미치는 영향을 평가하기 위해, HepG2 cell에 울금 물 추출물과 palmitate를 처리하고 배양한 다음 상기한 시료들과 동일한 방법으

로 MTT assay와 Sub-G₁ analysis를 시행하였다. 울금 물 추출물은 palmitate에 의해 증가한 sub-G₁ 부분을 감소시키는 효과는 있었으나, 저하된 세포 활성도를 증가시키지 못했고, 오히려 세포 활성도를 더욱 저하시키는 결과가 관찰되었다(Fig. 4).

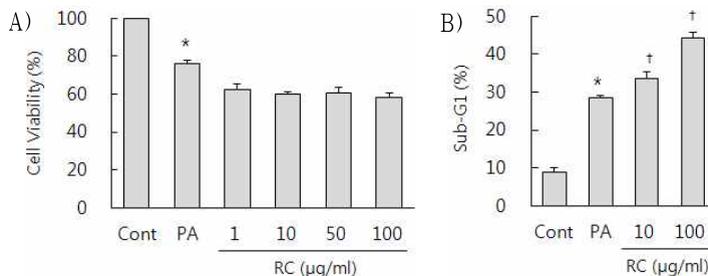


Fig. 4. Effect of of Radix Curcumae (RC) on palmitate induced lipotoxicity in HepG2 cells.

HepG2 cells were pretreated with several different doses of aqueous extract of Radix Curcumae (RC) for 1h and treated with 0.5 mM palmitate for 21 hrs in succession. After that, cell viability was assessed through MTT colorimetric assay (A). The percentage of cells with sub-G₁ DNA content was measured using fluorescence-activated cell sorting after propidium iodide staining (B). The means±SE (n=4) are presented. **P*<0.01, compared to untreated control; †*P*<0.01, compared to palmitate-treated cells.

5. 단삼 물 추출물이 palmitate에 의한 lipotoxicity와 lipoapoptosis에 미치는 영향

단삼 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 세포 손상 및 apoptosis에 미치는 영향을 평가하기 위해, 상기한 시료들과 동일한 조건 및 동일한 방법으로

MTT assay와 Sub-G₁ analysis를 시행하였다. 단삼 물 추출물은 palmitate에 의해 저하된 세포 활성도를 증가시키지 못했고, 증가한 sub-G₁을 감소시키는 효과도 나타나지 않았다(Fig. 5).

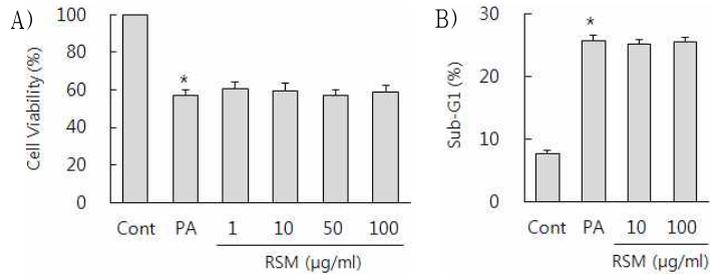


Fig. 5. Effect of of Radix Salviae Miltiorrhizae (RSM) on palmitate induced lipotoxicity in HepG2 cells.

HepG2 cells were pretreated with several different doses of aqueous extract of Radix Salviae Miltiorrhizae (RSM) for 1h and treated with 0.5 mM palmitate for 21 hrs in succession. After that, cell viability was assessed through MTT colorimetric assay (A). The percentage of cells with sub-G₁ DNA content was measured using fluorescence-activated cell sorting after propidium iodide staining (B). The means±SE (n=4) are presented. **P* < 0.01, compared to untreated control; †*P* < 0.01, compared to palmitate-treated cells.

6. 인진 물 추출물이 palmitate에 의한 lipotoxicity와 lipoapoptosis에 미치는 영향

인진 물 추출물이 지방산에 의해 유발된 세포 손상 및 apoptosis에 미치는 영향을 평가하기 위해, 상기한 시료들과 동일한 조건 및 동일한 방법으로

MTT assay와 Sub-G₁ analysis를 시행하였다. 인진 물 추출물도 단삼 물 추출물과 같이 palmitate에 의해 저하된 세포 활성도를 증가시키지 못했고, 증가한 sub-G₁을 감소시키지 못했다(Fig. 6).

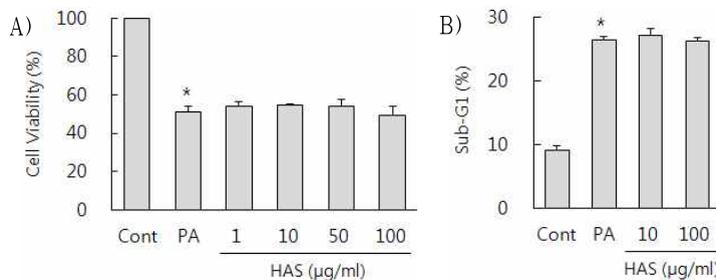


Fig. 6. Effect of of Herba Artemisiae Scopariae (HAS) on palmitate induced lipotoxicity in HepG2 cells.

HepG2 cells were pretreated with several different doses of aqueous extract of Herba Artemisiae Scopariae (HAS) for 1h and treated with 0.5 mM palmitate for 21 hrs in succession. After that, cell viability was assessed through MTT colorimetric assay (A). The percentage of cells with sub-G₁ DNA content was measured using fluorescence-activated cell sorting after propidium iodide staining (B). The means±SE (n=4) are presented. **P* < 0.01, compared to untreated control; †*P* < 0.01, compared to palmitate-treated cells.

IV. 고 찰

비알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD)은 알코올 섭취에 의하지 않은 간 지방증(hepatic steatosis)를 말하며, 단순 지방증만이 존재하거나 염증이 동반되거나 섬유화로 진행하기도 한다⁶. 대사증후군의 한 형태로 보여지며 인슐린 저항성이 발병에 관여하므로, 식이요법과 운동을 통한 생활습관의 개선이 치료의 기본이 되고 있으며, metformin이나 thiazolidinedione과 같은 2형 당뇨 치료제들에 대한 평가가 이루어지고 있으나 비알코올성 지방간 질환에 대한 약물치료로 공인된 것은 없다⁴.

택사(澤瀉)는 利水滲濕하는 효능이 있어 小便不利, 水腫, 淋病, 濕瀉, 停飲眩暈 등의 증상을 다스리는데 사용되어 왔다⁷. 최근 연구에서는 고지방식으로 유도된 비알코올성 지방간 질환 동물 모델에서 고지혈증을 개선시키고, 간내 지방 축적 및 염증을 억제하며, 지질 과산화에 의한 산화적 스트레스를 완화시켜주는 효능이 보고되었다⁸. 비알코올성 지방간 개선 효능은 부분적으로 c-Jun NH (2)-terminal kinase(JNK) 활성을 억제함으로써 이루어지는 것으로 보여지며⁹, 택사는 Farnesoid X receptor(FXR) agonist로 작용하기도 하는데, FXR은 lipogenesis를 유발하는 LXRα를 억제하는 것으로 알려져 있다¹⁰.

산사(山楂)는 消食化積하는 효능이 있어 주로 食滯不化, 脘腹脹痛, 泄瀉 등의 소화기 증상에 사용되어 왔다⁷. 최근 연구에서는 동물 실험을 통해 triglyceride와 glucose의 장내 흡수를 억제하고, adiponectin을 증가시켜 인슐린 저항성을 감소시키고, adipogenesis에 관여하는 것으로 알려진 C/EBPβ, PPARγ, SREBP-1c, aP2 발현을 억제하여 triglyceride의 합성을 감소시키고¹¹, 간내 지질 분해 과정인 β-oxidation을 증가시키며¹², 이를 통해 고지혈증 및 당뇨를 개선시키는 작용이 확인되었다¹¹.

구기자(枸杞子)는 滋腎補肝明目하는 효능이 있어 肝腎陰虛諸證, 陰血虧虛證, 消渴證 등의 음허

증상에 다용되어 왔다⁷. 최근 연구에서는 동물 모델에서 SOD, GSH-Px, CAT, TAOC를 활성화시켜 고지방식이에 의해 증가한 reactive oxygen species (ROS)로부터의 간손상을 완화시키고¹³, 세포막의 glucose transporter 4(GLUT4)를 증가시킴으로써 인슐린 저항성을 완화시키고¹⁴, 혈청 총콜레스테롤과 중성 지방을 감소시키며¹⁵, 또한 임상 연구에서도 에너지 대사량(energy expenditure)을 증가시키고 허리 둘레를 감소시키는 효능이 확인되었다.

울금(鬱金)은 活血止痛하는 효능이 있어 脇痛, 痛經, 月經不調, 癥瘕積塊 등의 증상에 다용되어 왔다⁷. 최근 연구에서는 콜레스테롤 첨가식으로 고지혈증을 유도시킨 Wistar rat에서 체중 증가를 억제하고, 혈청 glucose, 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, VLDL-콜레스테롤의 증가를 억제시키고, HDL-콜레스테롤을 증가시키며¹⁶, 혈중 콜레스테롤 농도 감소 효과는 부분적으로 담즙분비 촉진을 통하여 이루어지는 것으로 보여진다¹⁷.

단삼(丹蔘)은 活血祛瘀하는 효능이 있어 月經不調, 血滯經閉, 產後腹痛, 心腹痛, 癥瘕積聚, 跌打損傷, 熱痺關節紅腫疼痛 등의 증상에 다용되어 왔다⁷. 최근 연구에서는 lipid emulsion 경구 주입으로 지방간을 유도시킨 SD rat에서 간내 지방 축적 및 염증 소견을 완화시켰고¹⁸, 간내 지방 축적을 감소시키는 효과는 부분적으로 farnesoid X receptor (FXR) - short heterodimer partner(SHP) pathway를 통해 lipogenesis에 관여하는 sterol regulatory element binding protein-1c(SREBP-1c) 발현을 억제시키고, 담즙으로의 담즙산과 인지질의 분비에 관여하는 ATP-binding Cassette Transporter B11 (ABCB11) 및 ABCB4의 발현을 증가시킴으로써 이루어지는 것으로 생각된다¹⁹. 또한 동물 모델에서 고혈압²⁰과 당뇨²¹ 및 당뇨병성 신병증²²을 완화시키는 효능이 알려져 있다.

茵陳(茵陳)은 清熱利濕退黃하는 효능이 있어 黃疸, 膽結石證, 濕溫病, 濕瘡, 疥癬, 風疹 등에 사용되어 왔다⁷. 최근 연구에서는 이담작용이 있을 뿐

만 아니라²³, mitochondrial beta-oxidation에 관여하는 carnitine palmitoyl transferase I의 발현을 증가시켜 지방의 연소를 촉진시키고 fatty acid synthase의 발현을 감소시켜 지방산의 합성을 억제시킴으로써 비만을 개선시키는 효능이 알려져 있다²⁴. 또한 동물 모델에서 당뇨와 고지혈증을 개선시키는 효능도 알려져 있다²⁵.

KH청간당은 ○○의료원 한병병원에서 비알코올성 지방간 질환에 다용되고 있는 처방의 하나로서, 선행 연구를 통해 비알코올성 지방간 실험 모델에서 세포 내 지방 축적을 감소시키고, 지방산에 의해 유도된 apoptosis를 완화시키며, reactive oxygen species(ROS) 생성을 억제하는 효능이 밝혀져 있다⁵. KH청간당을 구성하는 인진, 텍사, 산사, 구기자, 울금, 단삼은 상기한 바와 같이 비알코올성 지방간 질환을 개선시키는 효능이 알려져 있거나, 비만 및 고지혈증을 완화시키고 혈당을 낮추어주는 등의 대사증후군을 개선시키는 효능이 있어 비알코올성 지방간 질환에 대한 간접적 효능이 있을 것으로 추정된다. 그러나, 개별 약재에 대한 연구가 동일한 지표나 방법에 의해 시행되지 않아 이들 약재의 효능에 대한 직접적 비교는 어려운 실정이다.

따라서 본 연구에서는 개별 구성 한약재의 비알코올성 지방간 질환에 대한 효능을 직접적으로 비교해보고자 HepG2 cell에 palmitate를 처리하여 유도한 비알코올성 지방간 세포 모델에 개별 한약재 추출물을 처리하여 지방산에 의한 세포 활성화도 저하와 apoptosis에 미치는 영향을 관찰하였다. 지방산에 의해 저하된 세포 활성화도를 회복시키고 apoptosis를 억제시키는 효능은 텍사 추출물에서 가장 뚜렷하게 관찰되었다. 산사 추출물에서도 유사한 효과가 관찰되었으며, 구기자 추출물은 본 실험에서 사용된 가장 높은 농도인 100 µg/ml에서만 효능이 관찰되었다. 울금 추출물에서는 lipoapoptosis를 억제하는 효능은 관찰되었으나 지방산에 의해 저하된 세포 활성화도를 회복시켜주는 효능은 관찰되지 않았다. 단삼과 인진 추출물은 100 µg/ml 이하의

농도에서는 lipotoxicity를 완화시키거나 lipoapoptosis를 억제시키는 효능을 나타내지 않았다. 다만, 본 연구에서 사용한 실험 방법은 많이 사용되고 있는 모델의 하나일 뿐이며 다른 방법으로 비교할 경우 또 다른 결과가 관찰될 가능성이 있으므로, 약제간 효능 비교에 대한 보다 정확한 정보를 얻기 위해서는 더 다양한 방법을 통한 검증이 향후 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

인진, 텍사, 산사, 구기자, 울금, 단삼 추출물 중에서 텍사, 산사 및 구기자 추출물에서 palmitate에 의한 lipotoxicity와 lipoapoptosis 완화 효과가 관찰되었고, 텍사 추출물에서 그 효능이 가장 뚜렷하게 관찰되었다. 향후 추가적 연구가 더 진행된다면 한방 임상에서 비알코올성 지방간질환에 대한 처방 구성과 표준화에 일정 정도 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(2011-0014035)

참고문헌

1. Prasad H, Ryan DA, Celzo MF, Stapleton D. Metabolic syndrome: definition and therapeutic implications. *Postgrad Med* 2012;124(1):21-30.
2. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999;94(9):2467-74.

3. Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21(1Pt1): 138-43.
4. Shyangdan D, Clar C, Ghouri N, Henderson R, Gurung T, Preiss D, et al. Insulin sensitizers in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Health Technol Assess* 2011;15(38):1-110.
5. Han CW, Lee JH. Effects of KHchunggan-tang on the nonalcoholic fatty liver disease in palmitate-induced cellular model. *J Korean Oriental Med* 2011;32(1):109-20.
6. Adams LA, Angulo P. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Postgrad Med J* 2006;82(967): 315-22.
7. Wu JN. An illustrated Chinese materia medica. New York: Oxford University Press; 2005, p. 59, 111, 225, 235, 403, 565.
8. Hong X, Tang H, Wu L, Li L. Protective effects of the *Alisma orientalis* extract on the experimental nonalcoholic fatty liver disease. *J Pharm Pharmacol* 2006;58(10):1391-8.
9. Han CW, Kang ES, Ham SA, Woo HJ, Lee JH, Seo HG. Antioxidative effects of *Alisma orientale* extract in palmitate-induced cellular injury. *Pharm Biol* 2012;50(10):1281-8.
10. Lin HR. Triterpenes from *Alisma orientalis* act as farnesoid X receptor agonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2012;22(14):4787-92.
11. Li HB, Fang KY, Lu CT, Li XE. [Study on lipid-regulating function for the extracts and their prescriptions from Semen Cassiae and fructus crataegi]. *Zhong yao cai* 2007;30(5): 573-5.
12. Niu C, Chen C, Chen L, Cheng K, Yeh C, Cheng J. Decrease of blood lipids induced by Shan-Zha (fruit of *Crataegus pinnatifida*) is mainly related to an increase of PPARalpha in liver of mice fed high-fat diet. *Horm Metab Res* 2011;43(9):625-30.
13. Wu HT, He XJ, Hong YK, Ma T, Xu YP, Li HH. Chemical characterization of *Lycium barbarum* polysaccharides and its inhibition against liver oxidative injury of high-fat mice. *Int J Biol Macromol* 2010;46(5):540-3.
14. Zhao R, Li Q, Xiao B. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on the improvement of insulin resistance in NIDDM rats. *Yakugaku Zasshi* 2005;125(12):981-8.
15. Luo Q, Cai Y, Yan J, Sun M, Corke H. Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sci* 2004;76(2):137-49.
16. Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Lee SJ, sung NJ. Effects of namhae specialized crops water extract on lipid metabolism in rats fed a cholesterol diet. *Korean J Food Cookery Sci* 2011;27(5):599-610.
17. Arafa HM. Curcumin attenuates diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Med Sci Monit* 2005;11(7):BR228-34.
18. Zhang ZP, You TT, Zou LY, Wu T, Wu Y, Cui L. [Effect of a compound Danshen preparation in preventing long-term gastric lipid emulsion administration-induced nonalcoholic steatohepatitis in rats]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2008;28(7):1109-13.
19. Ji W, Gong BQ. Hypolipidemic activity and mechanism of purified herbal extract of *Salvia miltiorrhiza* in hyperlipidemic rats. *J Ethnopharmacol* 2008;119(2):291-8.
20. Kang DG, Yun YG, Ryoo JH, Lee HS.

- Anti-hypertensive effect of water extract of danshen on renovascular hypertension through inhibition of the renin angiotensin system. *Am J Chin Med* 2002;30(1):87-93.
21. Liu G, Guan GJ, Qi TG, Fu YQ, Li XG, Sun Y, et al. [Protective effects of *Salvia miltiorrhiza* on rats with streptozotocin diabetes and its mechanism]. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao* 2005;3(6):459-62.
22. Kim SK, Jung KH, Lee BC. Protective effect of Tanshinone IIA on the early stage of experimental diabetic nephropathy. *Biol Pharm Bull* 2009;32(2):220-4.
23. Okuno I, Uchida K, Kadowaki M, Akahori A. Choleretic effect of *Artemisia capillaris* extract in rats. *Jpn J Pharmacol* 1981;31(5):835-8.
24. Hong JH, Hwang EY, Kim HJ, Jeong YJ, Lee IS. *Artemisia capillaris* inhibits lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes and obesity in C57BL/6J mice fed a high fat diet. *J Med Food* 2009;12(4):736-45.
25. Pan J, Liu G, Liu H, Qiu Z, Chen L. [Effects of *artemisia capillaris* on blood glucose and lipid in mice]. *Zhong Yao Cai* 1998;21(8):408-11.