

回春凉膈散이 db/db 마우스의 고혈당 및 지질대사에 미치는 효과

장수영, 정유선, 신현철
대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

The Effects of *Hoechunyanggyeok-san* on hyperglycemia and Dyslipidemia in db/db mice

Soo-young Jang, Yu-sun Jung, Hyeon-cheol Shin

Dept. of Internal Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Dae-Gu Haany University

ABSTRACT

Objectives : *Hoechunyanggyeok-san* (HYS) is a traditional herbal medicine, which has been clinically used for treating febrile and inflammatory diseases. HYS has been reported to be a useful treatment for diabetes, atherosclerosis and hyperlipidemia in the type 1 diabetic model. However, the mechanism of the effects of HYS against hyperglycemia and hyperlipidemia is poorly understood. In the present study, we investigated the underlying mechanism of ameliorative effect of HYS on hyperglycemia and hyperlipidemia *in vivo*.

Methods : HYS (10, 50 mg/kg/day, p.o.) was administered every day for 2 weeks to db/db mice and its effect was compared with vehicle-treated db/db mice. To confirm serum glucose and triglyceride (TG) changes, serological testing was performed. The levels of sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) activity and Sirtuin1 (SIRT1), AMP-activated protein kinase (AMPK), and acetyl-CoA carboxylase α (ACCA) expression were analyzed by western blot analysis.

Results : The administration of HYS significantly decreased the elevated serum glucose and TG in db/db mice. HYS administration increased the levels of SIRT1 and AMPK expression compared with the vehicle-treated group. Moreover, HYS treatment significantly inhibited SREBP-1 activity and ACCA expression in the liver, while the vehicle-treated group exhibited their increase.

Conclusions : In conclusion, HYS is suggested to have an improvement effect on hyperglycemia and hyperlipidemia by activating the SIRT1/AMPK signaling pathway and inhibiting SREBP-1.

Key words : *Hoechunyanggyeok-san*, hyperlipidemia, SIRT1, SREBP-1, ACCA

1. 서론

최근 고지방, 고탄수화물 위주의 식문화로 인한

비만인구의 급증이 세계적인 주요 건강문제로 대두되고 있다. 이로 인한 합병증에는 대부분 관상동맥질환, 고혈압, 이상지질혈증 등이 있으며, 인슐린 저항성을 일으켜 제 2형 당뇨병 발병에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨지고 있다. 현재 비만에 대해서는 약물요법 및 외과적 수술 등이 시도되고 있으나 여러 가지 부작용으로 인해 아직까지 효과적인 치료법은 부족한 실정이다¹⁻⁴.

· 교신저자: 신현철 경북 포항시 남구 새천년대로 411
대구한의대학교 포항한방병원 3내과
TEL: 054-281-0055 FAX: 054-281-7464
E-mail: ungaeshin@naver.com

· 이 논문은 2014년도 대구한의대학교 대학원 한의학 박사학위 논문임.

이에 비만을 포함한 여러 대사성 질환에서 한약의 활용 가능성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이 중 回春凉膈散은 萬病回春⁵에 收錄된 方劑로 三焦火盛, 口舌生瘡를 주치증으로 하고⁶, 臨床에서는 당뇨병에도 활용되고 있으며, 回春凉膈散에 대한 실험적 연구로는 홍⁷의 streptozotocin 투여 백서의 혈당량에 미치는 영향 등이 있으나 탄수화물 및 지질대사의 조절기전에 관한 연구는 부족한 형편이다.

효모균에 존재하는 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) 의존적 탈아세틸화 효소인 Sir2의 포유류 homologue중 Sir2와 가장 유사한 것으로 알려진 Sirtuin1(SIRT1)은 당과 지질 대사, 미토콘드리아 생합성, 염증, 면역, 세포사 등 다양한 범위에서 세포 기능을 조절하고 있다^{8,9}. 또한, SIRT1은 세포내 에너지 항상성 유지에 센서 역할을 담당하는 효소인 AMP-activated protein kinase(AMPK)의 upstream kinase중 하나인 liver kinase B1(LKB1)을 탈아세틸화 함으로써 AMPK 활동을 촉진하고, 이는 다시 NAD⁺ 증가를 초래하여 SIRT1 활성을 증가시킴으로써 SIRT1과 AMPK는 상호작용으로 세포 대사를 조절하게 된다¹⁰⁻¹².

Sterol regulatory element-binding proteins(SREBPs)는 콜레스테롤과 지방산 합성에 관여하는 유전자들의 발현을 조절하는 전사인자로, 주로 간과 지방조직에서 발현된다^{13,14}. SREBP isoform에는 SREBP-1a, 1c, 2의 세 가지가 있는데, 이 중 SREBP-1a와 SREBP-1c는 지방산 대사와 중성지방의 합성에 주로 관여하며 acetyl-CoA carboxylase(ACC), fatty acid synthase(FAS), stearoyl-AcP desaturase, ATP citrate lyase, malic enzyme과 같은 지방합성에 관련된 효소들의 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다^{13,15}. 그 중 ACC는 acetyl-CoA의 비가역적 카복시화 촉진을 통해 malonyl-CoA를 생성하는 효소로, 미토콘드리아 내에서 지방산 산화를 억제하고 지방산 생합성에 중요한 역할을 한다¹⁶.

또한 최근 연구결과에 따르면 SIRT1과 AMPK

가 각각 SREBP-1을 직접적으로 탈아세틸화, 인산화시킴으로써 전사활동을 억제하는 것으로 보고된 바 있다^{17,18}.

이에 본 연구에서는 db/db 마우스에서 回春凉膈散의 당 및 지질대사 장애 개선효과를 관찰하고, 그 생화학적 기전이 SIRT1, AMPK 및 SREBP-1 발현 조절을 중심으로 함을 확인한 바 이에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 동물

생후 12주령 된 수컷 db/db 마우스 (C57BL/KsJ) 18마리와 db/m 마우스 6마리를 신타코바이오코리아(오산, 한국)로부터 공급받았다. NIH #3(신타코바이오코리아) 먹이와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 2주간 일정한 온도(23±1 °C), 습도(약 60%)와 밤낮주기(12시간씩)가 유지되는 환경에 적응시킨 후 18마리의 db/db 마우스는 체중과 혈당을 측정하여 각 군의 평균 체중과 혈당이 거의 동일하게 3군(n=6)으로 나누어 정상군(db/m 마우스, n=6) 포함 총 4군으로 배정하였다. 정상군과 대조군에게는 생리식염수를, *Hoehunyanggyeok-san*(HYS) 투여군에는 HYS 추출물 10 또는 50 mg/kg body weight을 2주간 매일 경구투여 하였다. 투여 종료 후 마취상태에서 심장천자를 통해 모든 마우스의 혈액을 채취하였고, 간은 빠르게 적출하여 액체 질소에 냉동한 뒤 -80 °C에서 보관하였다.

2. 약재 및 추출

본 실험에 사용한 약재는 휴먼허브(대구, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 回春凉膈散(Table 1) 1첩 분량 35 g에 물 600 ml를 가하여 3시간 동안 전탕하였다. 전탕액을 여과지(Whatman NO.2, Maidstone, England)로 여과한 뒤, Evaporator(BUCHI, Switzerland)를 이용하여 감압 농축한 후, 동결 건조하여 얻은 분말을 생리식염수에 희석하여 실험동물에 경구투여

하였다.

Table 1. Composition of *Hoechunyanggyeok-san*.

Herb name	Scientific name	Amounts (g)
連翹	<i>Forsythia koreana</i> (Rehder) Nakai	5
桔梗	<i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq.) A. DC.	3
枳殼	<i>Citrus aurantium</i> L.	3
生地黃	<i>Rehmannia glutinosa</i> (Gaetner) Libosch.	3
赤芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	3
當歸	<i>Angelica acutiloba</i> (S. et Z.) Kitagawa	3
黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> George	3
黃連	<i>Coptis chinensis</i> Franch.	3
梔子	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	3
薄荷	<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> Malinv.	3
甘草	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Fisch.	3
Total		35

3. 시약

Polyvinylidene difluoride(PVDF) membranes는 Millipore Corporation(Bedford, MA, USA)에서 구입하였고, β -actin, histone, SREBP-1, ACC α , SIRT1, AMPK의 항체는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)로부터 구입하였다. 모든 혈청 분석에 사용된 kit는 신양화학(부산, 한국)에서 구입하였고, 이 외에 모든 시약은 Sigma Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

4. Cytosol extract

간조직 100 mg을 100 mM Tris-HCl(pH 7.4), 20 mM β -glycerophosphate, 20 mM NaF, 2 M Na₃VO₄, 1 mM EDTA, 0.5 mM PMSF, 1 μ M pepstatin, 80 mg/L trypsin inhibitor가 포함된 homogenate buffer 1ml(10 mM HEPES(pH 7.8), 10 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM PMSF)

와 함께 얼음으로 차갑게 하여 조직 파쇄기(Bio Spec Product, USA)로 분쇄하였다. 미토콘드리아 침전물을 얻기 위해 4 °C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심분리하였다.

5. Nuclear extract

간조직 100 mg을 500 μ l hypotonic buffer A(10 mM HEPES(pH 7.8), 10 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM PMSF)에 넣어 차가운 상태에서 조직 파쇄기(Bio Spec Product, USA)로 분쇄하였다. 10% NP-40 용액 62.5 μ l을 첨가하여 12,000 rpm으로 30초간 원심분리하였다. 이렇게 얻어진 핵 분획을 10% NP-40가 더해진 buffer A에 한번 헹구어 12,000 rpm으로 원심분리하고, 100 μ l의 buffer B(50 mM HEPES, 50 mM KCl, 0.3 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1 mM PMSF, 10% glycerol)를 첨가해 재부유시킨 뒤 4 °C에서 12,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 핵단백질을 포함한 상층액은 수집되어 -80 °C에서 냉동 보관 되었다.

6. 혈청분석

심장에서 채혈한 혈액을 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청 glucose, triglyceride는 glucose, triglyceride assay kit를 사용하여 제작사(신양화학)의 protocol에 따라 측정하였다. 혈청 샘플 5 μ l에 시약 200 μ l를 첨가한 후 37 °C에서 5분간 incubate 한 뒤 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. Western blot analysis

SIRT1, AMPK, SREBP-1, ACC α , histone, β -actin을 확인하기 위해 각각의 단백질을 8% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)를 통해 전기영동 시켰다. 분리된 단백질들을 nitrocellulose membrane에서 90 V로 1시간 30분 동안 전기영동하였다. 5% 탈지분유가 함유된 TBST(20 mM Tris, 500 mM NaCl, 0.05% Tween 20)로 1시간 동안

blocking한 뒤 TBST로 washing한 후, 1차 항체 (SIRT-1, AMPK, SREBP-1, ACC α , histone, β -actin)를 5%의 탈지분유가 들어있는 TBST에 희석 (1:1,000)하여 membrane을 4 °C에서 overnight 동안 반응시켰다. 실온에서 10분씩 3번 TBST로 membrane을 washing한 후, 2차 항체 (horseradish peroxidase-conjugated donkey anti-rabbit antibody; 1:5,000)를 5%의 탈지분유가 들어있는 TBST에 희석(1:2,000)하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. TBST로 washing한 후 enhanced chemiluminescence(Amersham)로 Hyperfilm(Amersham)에 노출시킨 후 단백질의 발현 정도를 분석하였다. Band density는 ATTO Densitograph Software(ATTO Corporation, Tokyo, Japan)로 측정하여 histone 또는 β -actin과의 비율로 정량하였다.

8. 통계처리

실험결과는 평균과 표준편차(mean \pm SD)로 표기하였으며, SPSS 18.0 for Windows program을 사용하여 one-way analysis of variance(ANOVA)를 실시하여 유의수준 p -value<0.05에서 Dunnett's t-test의 다중검정을 하였다.

III. 결 과

1. HYS이 혈청 glucose에 미치는 영향

비만으로 인해 초래되는 고혈당에 대한 HYS의 효과를 확인하기 위해 혈청 glucose를 측정해본 결과, 실험시작 시 104.52 \pm 3.49 mg/dl에서 118.49 \pm 5.30 mg/dl로의 변화를 보인 정상군에 비해 대조군에서는 475.05 \pm 39.51 mg/dl에서 596.97 \pm 10.66 mg/dl로 현저한 증가를 보였다. 이에 비해 실험군의 경우 HYS 10 mg 투여군은 473.13 \pm 42.64 mg/dl에서 525.49 \pm 22.57 mg/dl, 50 mg 투여군에서는 474.95 \pm 42.76 mg/dl에서 408.16 \pm 56.00 mg/dl로의 변화를 보여 투여 종료 후 대조군에 비해 유의하게 낮은 수준을 보였고 HYS 50 mg 투여군은 투여 전에 비해 혈청 glucose가 현

저하게 감소하였다(Fig. 1).

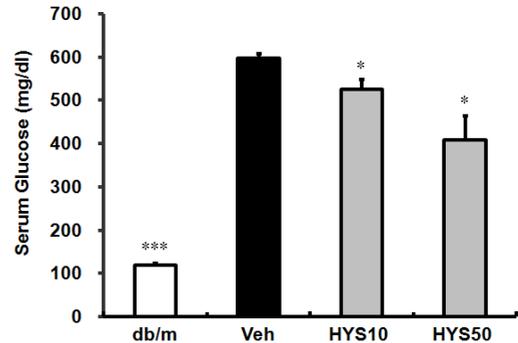


Fig. 1. Effects of HYS on serum glucose level in db/db mice.

db/m : normal group. Veh : vehicle-treated db/db mice. HYS10 : HYS 10 mg/kg treated db/db mice. HYS50 : HYS 50 mg/kg treated db/db mice. Bars represent means \pm SD. Significantly different from vehicle-treated db/db mice values by Dunnett's t-test (* p <0.05, *** p <0.001).

2. HYS이 혈청 triglyceride에 미치는 영향

고혈당과 함께 비만으로 인해 초래되는 고지혈증에 대한 HYS의 개선효과를 확인하기 위해 db/db 마우스에서 혈청 triglyceride를 측정하였다. 정상군 (106.94 \pm 6.69 mg/dl)과 비교하여 182.67 \pm 18.70 mg/dl로 뚜렷한 증가를 보인 대조군에 비해 실험군은 HYS 10 mg 투여군에서 125.00 \pm 10.56 mg/dl, 50 mg 투여군에서 109.17 \pm 9.39 mg/dl로 통계적으로 유의하게 감소하였다(Fig. 2). 특히 HYS 50 mg 투여군에서는 정상군 수준에 가까운 감소효과를 보였다.

이상의 결과를 통해 HYS이 비만으로 유발되는 고혈당 및 고지혈증을 완화하는 효능이 있음을 알 수 있었고, 특히 지질수치를 개선하는데 더욱 유의한 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

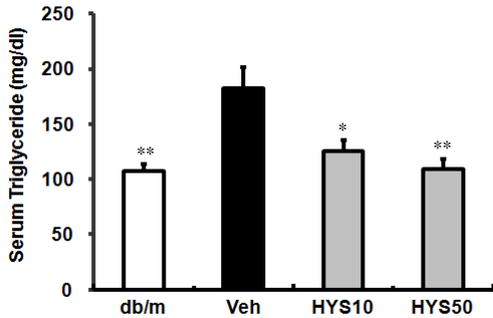


Fig. 2. Effects of HYS on serum triglyceride level in db/db mice.

db/m : normal group, Veh : vehicle-treated db/db mice, HYS10 : HYS 10 mg/kg treated db/db mice, HYS50 : HYS 50 mg/kg treated db/db mice. Bars represent means±SD. Significantly different from vehicle-treated db/db mice values by Dunnett's t-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

3. HYS이 SIRT1, AMPK 발현에 미치는 영향

HYS의 당 및 지질대사 조절 기전을 구체적으로 탐구하기 위해 SIRT1과 상호촉진 작용을 통해 세포대사를 조절하는 AMPK의 발현정도를 Western blotting을 통해 확인하였다. 그 결과, 정상군에 비해 대조군에서 SIRT1의 발현이 유의하게 감소하였고, 실험군은 HYS 10, 50 mg 투여군 모두에서 정상군에 가까운 발현을 보였다(Fig. 3A). AMPK의 발현정도를 확인해 본 결과에서는, 유의성은 없었으나 대조군에 비해 HYS 투여군에서 농도의존적으로 발현이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3B).

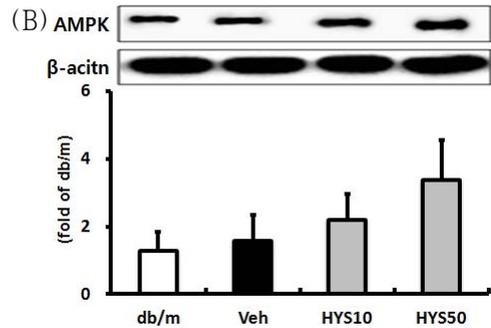
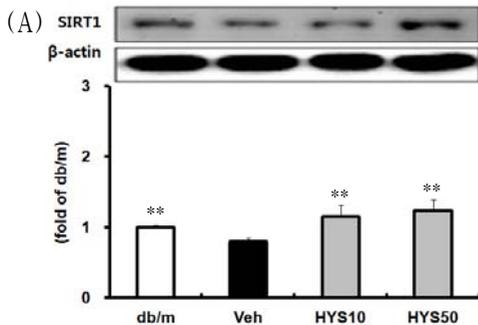


Fig. 3. Effects of HYS on SIRT1 and AMPK expression in db/db mice liver.

SIRT1 (A), AMPK (B) protein expressions in liver. db/m : normal group, Veh : vehicle-treated db/db mice, HYS10 : HYS 10 mg/kg treated db/db mice, HYS50 : HYS 50 mg/kg treated db/db mice. β -actin was used for loading control. Bars represent means±SD. Significantly different from vehicle-treated db/db mice values by Dunnett's t-test (** $p < 0.01$).

4. HYS이 SREBP-1 활성화에 미치는 영향

HYS이 혈중 지질수치 개선에 더욱 유의한 효과를 보인 결과를 토대로 지질대사의 조절 기전을 더 구체적으로 알아보려고 콜레스테롤과 지방산 합성에 관여하는 유전자들의 발현을 조절하는 전사인자인 SREBP-1의 활성화에 대한 HYS의 효과를 확인해 보았다. 그 결과, 대조군에서 SREBP-1 활성이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며, 실험군은 HYS 50 mg 투여군에서 유의성 있게 줄어든 결과를 보였다(Fig. 4).

이로써 HYS은 SREBP-1 활성을 억제해 지질대사를 조절함을 알 수 있었으며, 아울러 결과 3에서 SREBP-1의 활성을 직접적으로 억제하는 SIRT1과 AMPK의 발현이 촉진된 결과와 연관하다 하겠다.

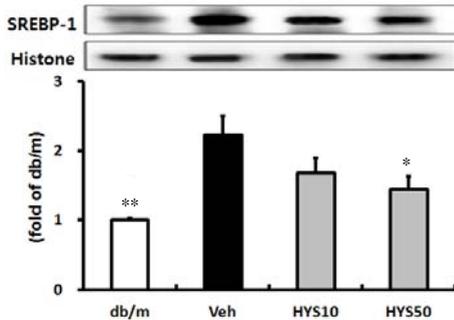


Fig. 4. Effects of HYS on SREBP-1 activity in db/db mice liver.

db/m : normal group, Veh : vehicle-treated db/db mice, HYS10 : HYS 10 mg/kg treated db/db mice, HYS50 : HYS 50 mg/kg treated db/db mice. Histone was used for loading control. Bars represent means \pm SD. Significantly different from vehicle-treated db/db mice values by Dunnett's t-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

5. HYS이 ACC α 발현에 미치는 영향

SREBP-1의 하위 표적 효소인 ACC α 발현에 대한 HYS의 효과를 확인해 본 결과에서는, SREBP-1과 마찬가지로 대조군에서 ACC α 발현이 정상군에 비해 유의하게 증가하였다. 이에 비해 실험군은 HYS 50 mg 투여군에서 정상군 수준에 가까운 발현을 보여 유의한 감소효과를 확인하였다(Fig. 5).

이로써 HYS이 SREBP-1 활성억제를 통해 ACC α 발현을 낮춤으로써 지질 합성을 효과적으로 제어하고 지방산 산화를 촉진함을 알 수 있었다.

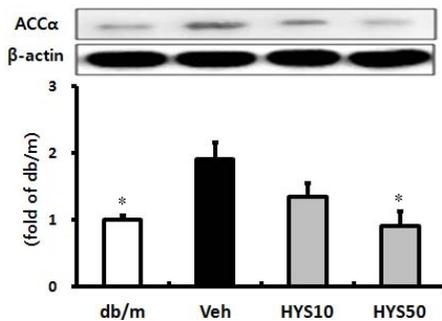


Fig. 5. Effects of HYS on ACC α expression in db/db mice liver.

db/m : normal group, Veh : vehicle-treated db/db

mice, HYS10 : HYS 10 mg/kg treated db/db mice, HYS50 : HYS 50 mg/kg treated db/db mice. β -actin was used for loading control. Bars represent means \pm SD. Significantly different from vehicle-treated db/db mice values by Dunnett's t-test (* $p < 0.05$).

IV. 고찰

回春涼膈散은 明代 龔廷賢의 萬病回春⁵에 기재되어 있으며, 連翹 黃芩 梔子 桔梗 黃連 生地黃 枳殼 當歸 赤芍藥 薄荷 甘草의 11種 藥物로 構成되어 있고, 三焦火盛, 口舌生瘡를 주치증으로 하는 方劑이다. 이에 三焦의 火가 盛하여 나타나는 口內糜爛(口內炎), 頭瘡, 鼻血, 目赤, 脣裂 등과, 胃熱로 인한 發斑頭瘡의 黑陷, 癰炎 등에 주로 활용되고 있다⁶. 현재까지 回春涼膈散에 대해서는 주로 항염증에 대한 효과를 밝히는 연구¹⁹⁻²¹ 위주로 보고되어 왔으나, 本方과 관련하여 臨床에서는 上焦中焦積熱로 인한 煩燥多渴咽乾, 胸膈煩熱, 面赤脣焦, 口舌生瘡, 消渴 등의 적응증²²⁻²⁴으로 당뇨병에도 활용되고 있지만, 이에 대해서는 streptozotocin 투여 백서의 혈당량 및 혈중지질 감소효과를 확인한 보고⁷ 외에 혈당 및 혈중지질 개선 효능과 관련한 구체적인 기전연구는 부족한 실정이다.

비만은 에너지 소모에 비해 칼로리 섭취가 지나칠 경우에 발생하며, 영양과잉으로 인해 생리적 수준을 넘어선 활성산소의 생성으로 세포에 스트레스 상황을 유도하고, 고혈압, 이상지질혈증, 제 2형 당뇨병, 심혈관질환, 비알콜성 지방간 등의 여러 질병을 일으키게 된다^{25,26}.

현재 비만에 대한 치료적 접근으로는 식이 및 운동을 통한 생활습관 개선이나 인지행동치료와 같은 정신과적 치료, 수술요법, 약물요법 등이 있다. 수술요법에는 루와이 위우회술, 위 조절밴드 등이 있으나 수술후 사망, 외과적 합병증 및 잦은 재수술 등의 위험 부담이 있고, 약물요법은 음식물의 섭취·흡수를 감소시키거나 에너지 소비를 증가시키는 효과가 있으나 심혈관질환, 기분장애 및 약물남용 등의 여러 부작용으로 사용에 제한이 따르는 실정이다⁴.

이에 비만 및 그와 관련된 여러 합병증의 예방과 치료에 이상의 여러 부작용들을 최소화하면서 당 및 지질대사를 효율적으로 조절할 수 있는 치료제가 필요한 실정므로, 본 연구에서는 回春凉膈散의 활용가능성을 검토해 보았다.

비만으로 인해 제 2형 당뇨병이 초래되는 모델인 db/db 마우스에 回春凉膈散을 2주간 투여하여 고혈당 및 고지혈증에 대한 개선 효과를 관찰할 수 있었고, 그 중에서도 특히 혈중 중성지방의 감소효과가 더욱 유의함을 확인하였다. 이로써 回春凉膈散이 당 및 지질대사를 유의하게 조절하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

回春凉膈散의 고혈당 및 고지혈증 완화효과에 대한 구체적 기전을 알아보기 위해 세포 에너지 대사 과정에서 중추적 역할을 하는 SIRT1과 AMPK를 중심으로 그 하위 기전에 해당하는 지표들의 발현 변화를 확인해 보았다.

먼저 db/db 마우스에서 SIRT1과 AMPK의 발현량을 Western blotting을 통해 확인해 본 결과, 대조군에서 SIRT1의 발현이 줄어든 반면 回春凉膈散 투여군에서는 정상군에 가까운 발현을 보였고, AMPK의 경우는 유의성은 없었으나 回春凉膈散의 투여 농도가 증가함에 따라 그 발현량이 늘어나는 경향을 보였다.

이로써 HYS은 AMPK보다는 SIRT1의 발현활성을 통한 신호전달에 더 많은 영향을 미쳐 당 및 지질대사에 대한 조절효능을 가짐을 알 수 있었다.

回春凉膈散이 특히 지질대사에 강한 조절력을 보임에 따라 지질합성 유전자의 발현을 촉진하는 전사인자이면서 SIRT1과 AMPK로부터 그 활성이 직접적으로 억제되는 SREBP-1의 활성화와 지방산 합성의 주요 효소인 ACCα의 발현변화를 관찰해 보았다.

클레스테롤과 지방산 합성에 관여하는 유전자들의 발현을 조절하는 SREBPs는 helix-loop-helix-leucine zipper family에 속하는 전사인자로, SREBP-1a, 1c, 2의 세 가지 isoform으로 존재한다^{13,14}. 이중 지방산 대사와 중성지방의 합성에 주로 관여하는 SREBP-1

은 단백질로 발현되어 불활성화 상태(native form)로 소포체에 존재하다가 세포내 sterol이 고갈되면 골지체로 이동하여 두 단계의 cleavage를 통해 활성화되고, 활성화된 상태(mature form)의 SREBP-1은 핵 안으로 이동해 표적 유전자들의 발현을 증가시킨다^{13,27-29}. 이 중에서 특히 지질대사 효소인 ACC의 발현을 증가시키는데, ACC는 미토콘드리아 내에서 지방산 산화를 억제하고 지방산 생합성에 중요한 역할을 하며, ACCα는 lipogenic tissue에 많이 존재하고 ACCβ는 골격근과 심장 등 oxidative tissue에 많이 분포하는 것으로 알려져 있다^{16,30}.

본 실험에서는 SREBP-1의 활성이 정상군에 비해 유의하게 증가되어 지질 합성이 항진되어 있는 것으로 보이는 대조군과 달리, 回春凉膈散 투여군에서는 SREBP-1 활성화와 ACCα 발현이 모두 줄어든 결과를 보였다.

이로써 回春凉膈散은 SIRT1과 AMPK의 촉진 및 그에 따른 SREBP-1 활성화와 ACCα 발현 억제를 통해 동화작용에서 이화작용으로의 대사를 활성화시킴으로써 포도당 및 지방 대사장애를 개선하는데 유효한 효과가 있고, 특히 SIRT1, SREBP-1, ACC를 주축으로 하는 신호전달경로를 통해 지질대사를 효과적으로 조절함을 알 수 있었다(Fig. 6).

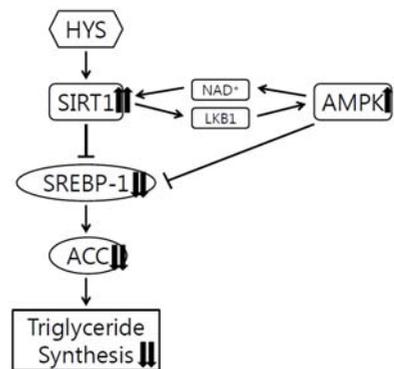


Fig. 6. Possible action mechanisms of HYS on the lipid metabolism.

HYS inhibited triglyceride synthesis through increasing SIRT1 and AMPK which regulate SREBP-1 and ACC in lipid metabolism.

비만으로 인해 유발된 고혈당에 대한 回春凉膈散의 저하효과는 확인하였으나 당대사와 관련한 실험은 부족하였다. 따라서 향후 구체적인 기전 연구를 통해 回春凉膈散의 고지질혈증, 고혈당 조절 효과에 관한 실험적 결과를 마련하여 비만, 당뇨병 및 그로 인한 합병증 치료에 있어 回春凉膈散의 임상적 활용에 관한 객관적인 근거를 확고히 해야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

비만으로 인한 당 및 지질대사 이상에 대해 回春凉膈散의 효과 및 대사조절 기전을 db/db 마우스에서 알아본 결과, 고혈당과 고중성지방혈증을 개선·완화하는 효과를 관찰하였고, 당 및 지질대사를 효율적으로 조절하였으며, 특히 지질 대사에 대한 개선효과가 더욱 유의함을 확인한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

回春凉膈散은 SIRT1과 AMPK의 촉진 및 그에 따른 SREBP-1과 ACC α 의 억제에 의하여 당 및 지질대사 이상을 개선함으로써 혈당과 혈중 중성 지방 수치를 감소시키는 효과를 보였다.

이로써 回春凉膈散은 비만에서의 탄수화물 및 지질대사 이상을 교정함으로써, 비만으로 초래되는 대사성 질환의 치료 및 예방에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Klop B, Elte JWF, Cabezas MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients* 2013;5:1218-40.
2. Kim JH, Jo GJ, Choi GM, Han JH, Yoon DK, Kim SM. The relationship between plasma Visfatin level, obesity and metabolic syndrome in women without diabetes. *Korean J Obes* 2009;18(1):15-23.
3. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 2001;104(4):531-43.
4. Rodgers RJ, Tschop MH, Wilding JPH. Anti-obesity drugs: past, present and future. *Disease Models & Mechanisms* 2012;5:621-6.
5. Gong JH. Man-byeong-hoe-chun. Seoul: Haeng-rim-seo-won; 1972. p. 16.
6. Hwang DY. Bang-yak-hap-pyeon. Seoul: Yeong-rim-sa; 1985. p. 304-5.
7. Hong JS. Effect of Hoechounyanggeuksan on the glucose in diabetic rats induced by streptozotocin. *J. of Oriental Medicine* 1991;14:397-412.
8. Kitada M, Koya D. SIRT1 in type 2 diabetes: mechanisms and therapeutic potential. *Diabetes Metab J* 2013;37:315-25.
9. Kitada M, Kume S, Takeda-Watanabe A, Kanasaki K, Koya K. Sirtuins and renal disease: relationship with aging and diabetic nephropathy. *Clin Sci (Lond)* 2013;124:153-64.
10. Ruderman N, Prentki M. AMP kinase and malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:340-51.
11. Lan F, Cacicedo JM, Ruderman N, Ido Y. SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization and activity of LKB1. Possible role in AMP-activated protein kinase activation. *J Biol Chem* 2008;283(41):27628-35.
12. Canto C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, Lagouge M, Milne JC, Elliott PJ et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. *Nature* 2009;458(7241):1056-60.
13. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 1997;89:331-40.
14. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Maintaining

- cholesterol homeostasis: sterol regulatory element-binding proteins. *World J Gastroenterol* 2004; 10(21):3081-7.
15. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002;109:1125-31.
 16. Tong L. Acetyl-coenzyme A carboxylase: crucial metabolic enzyme and attractive target for drug discovery. *Cell Mol Life Sci* 2005;62(16):1784-803.
 17. Walker AK, Yang FJ, Jiang KR, Ji JY, Watts JL et al. Conserved role of SIRT1 orthologs in fasting-dependent inhibition of the lipid/cholesterol regulator SREBP. *Genes & Development* 2010;24:1403-17.
 18. Li Y, Xu SQ, Mihaylova MM, Zheng B, Hou XY et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metabolism* 2011;13:376-88.
 19. Lee TH, Jo MJ, Park SJ, Lee JR, Back YD, Kim JR et al. Inhibitory effects of hoechunyanggyeok-san on inflammation *in Vivo* and *in Vitro*. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 2009; 23(6):1341-891.
 20. Kim GJ, Kim JH, Chae BY. Anti-allergic and anti-inflammatory analgesic effects of Hoechunyanggyeoksan. *The J of Oriental Medical Surgery, Ophthalmology & Otolaryngology* 1994;7(1):1-13.
 21. Kang SW, No SS. Experimental study on the anti-inflammatory and wound healing effect of hoichunyanggyuksan and yongseksan. *The J of Oriental Medical Surgery, Ophthalmology & Otolaryngology* 1999;12(1):47-78.
 22. Hwang TG, Shi S. Jung-yak-bang-je-hyun-dae-yeon-gu-dae-jeon. Baiging: Science Publishing: 1996, p. 1256.
 23. Heo JG. Jung-ui-bang-je-hak. Seoul: Eum-yang-maek-gin Publishing: 1991, p. 174-5.
 24. Song IB. Sa-sang-ui-hak. Seoul: Jip-mun-dang: 1997, p. 397-8.
 25. Marchi ED, Baldassari F, Bononi A, Wieckowski MR, Pinton P. Oxidative stress in cardiovascular diseases and obesity: role of p66Shc and Protein Kinase C. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013;1013:1-11.
 26. Savini I., Catani MV, Evangelista D, Gasperi V, Avigliano L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int J Mol Sci* 2013;14:10497-537.
 27. Foufelle F, Ferre P. New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem J* 2002;366:377-91.
 28. Ferre P, Foretz M, Azzout-Marniche D, Becard D, Foufelle F. Sterol-regulatory-element-binding protein 1c mediates insulin action on hepatic gene expression. *Biochemical Society Transactions* 2001;29(4):547-52.
 29. Horton JD. Sterol regulatory element-binding proteins: transcriptional activators of lipid synthesis. *Biochemical Society Transactions* 2001; 30(6):1091-5.
 30. Munday MR. Regulation of mammalian acetyl-CoA carboxylase. *Biochem Soc Trans* 2002;30(6):1059-64.