



Original Article / 원저

고지방식이 비만마우스 모델에서 파키스탄산 및 중국산 마황으로 구성된 降脂丸의 비알콜성 지방간질환 개선효과 비교

조주흠¹ · 장두현² · 정양삼³ · 김종훈⁴ · 김병출⁵ · 석화준⁶ · 유재상⁷ · 구자룡⁸ · 윤기현⁹ ·
노종성⁹ · 안예지⁹ · 이원경⁹ · 윤미정¹⁰ · 신순식^{9*}

¹우심한의원 · ²청남한의원 · ³정양삼한의원 · ⁴능인한의원 · ⁵고려한의원 ·

⁶수정한의원 · ⁷봉황한의원 · ⁸소리청한의원 · ¹⁰목원대학교

바이오건강학부 · ⁹동의대학교 한의과대학 방제학교실 및 한방당뇨비만연구소

Comparison of Pakistani and Chinese Ephedra Herba-Containing Gangjihwan in the Improvement Effects of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a High Fat Diet-Fed NAFLD Mouse Model

Ju Heum Jo¹ · Du Hyon Jang² · Yang Sam Jung³ · Jong Hoon Kim⁴ · Byeong Chul Kim⁵ ·
Hoa Jun Seok⁶ · Jae Sang Yoo⁷ · Ja Ryong Ku⁸ · Ki Hyeon Yoon⁹ · Jong Seong Roh⁹ ·
Ye Ji Ahn⁹ · Won Kyung Lee⁹ · Michung Yoon¹⁰ · Soon Shik Shin^{9*}

¹Woosim · ²Chungnam · ³Jungyangsam · ⁴Neungin · ⁵Goryo · ⁶Soojung ·

⁷Bonghwang, and ⁸Soricheong Luck Korean Medicine Clinic ·

¹⁰Dept. of Life Sciences, Mok-Won University, Daejeon 302-729, South Korea ·

⁹Dept. of Formula Sciences and Research Institute of Korean Medicine for
Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University,
Busan, 614-851, South Korea

ABSTRACT

Objectives : This study investigated the improvement effects of Pakistani (DF-a) and Chinese Ephedra herba-containing Gangjihwan (DF-b) on nonalcoholic fatty liver disease in a high fat diet-induced obese mouse model.

Methods : Eight-week-old C57BL/6N mice were divided into five groups: a normal lean group given a standard diet, an obese control group given a high fat diet, and atorvastatin, DF-a, and DF-b groups given a high fat diet with atorvastatin (10 mg/kg), DF-a (80 mg/kg), and DF-b (80 mg/kg), respectively. After 8 weeks of treatment, body weight gain, blood lipid markers, ALT concentrations, liver weight and histology were examined.

Results : 1. Body weight gain was significantly decreased in DF-a, DF-b, and atorvastatin groups compared with control. The extent of decreases was eminent in DF-a group.

2. Circulating concentrations of total cholesterol and LDL-cholesterol were significantly decreased in DF-a, DF-b, and atorvastatin groups compared with control. The decreases were most effective in atorvastatin group.

3. Liver weights were decreased in DF-a, DF-b, and atorvastatin groups compared with control. In particular, liver weight was significantly reduced in DF-b group.

4. Hepatic lipid accumulation was significantly decreased in DF-a, DF-b, and atorvastatin groups compared with control, and the magnitude of which was most effective in DF-b group.

5. Circulating ALT concentrations were decreased in DF-a, DF-b, and atorvastatin groups compared with control, but ALS levels were significantly reduced only in DF-b group.

Conclusions : In conclusion, these results suggest that DF-a and DF-b decrease body weight gain, improve blood lipid metabolism, and reduce liver weight and hepatic lipid accumulation, contributing to the improvement of nonalcoholic fatty liver disease. In addition, these effects were similar between Pakistani and Chinese Ephedra herba-containing Gangjihwan.

Keyword : Gangjihwan, DF-a, DF-b, nonalcoholic fatty liver disease, cholesterol

I. 緒 論

비알콜성 지방간질환(Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 비만과 매우 밀접한 관계를 지니며¹⁾, 간경변증이나 간세포암 같은 진행성 간 질환으로 발전될 수 있고²⁾, 최근 당뇨, 심혈관계 질환 및 신장질환 등에 독립적인 위험인자로 보고되고 있다³⁾. 또한 우리나라 비알콜성 지방간의 유병율이 2004년 11.5%에서 2010년 23.6%로 6년 새 2배 정도 급격히 증가한 것으로 나타나⁴⁾ 비알콜성 지방간 치료에 대한 중요성이 점점 커지고 있다.

降脂丸(Di-fatty, DF)는 麻黃, 大黃, 紫草로 구성된 방제로 현재 로컬 한의원에서 NAFLD 치료

에 사용되고 있으며, 그 치료 효과를 실험적으로 입증하여 학술논문으로 발표한 바 있다⁵⁾. 여기에서 사용한 마황은 파키스탄산 마황이다.

마황은 중국 내몽고 지역에서 대부분 생산되고 있는 약재이다. 내몽고 지역의 사막화가 점차 빨라지자 중국 정부는 사막화를 막기 위한 조치로 감초 등과 함께 허가를 받지 않고는 국외로 마황을 수출하지 못하도록 하는 제도를 실시하고 있고 가격이 상승함으로써 최근들어 우리나라는 중국산 마황의 수입이 어렵게 되었다⁶⁾. 그 대안으로 파키스탄산 마황의 수입이 많아져 대부분 일반 한의원에서는 파키스탄산 마황의 사용이 점차로 늘어나는 추세이다.

전세계 마황속 식물은 42종이고 그 중에 9종이

* Corresponding author : Soon Shik Shin, PhD, Professor, Department of Formula Sciences and Research Institute of Korean Medicine for Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University, 52-57 Yangjeong-ro, Busanjin-gu, Busan, 614-851, South Korea.

· Tel : 82-51-850-7414, Fax : 82-51-853-4036

· E-mail : ssshin@deu.ac.kr

• Received : May 20, 2014 / Revised : June 13, 2014 / Accepted : June 15, 2014

파키스탄에 분포되어 있다. 9종은 *E. ciliate*, *E. regeliana*, *E. pachyclada*, *E. wallichii*, *E. gerardiana* Syns *E. distachya*, *E. przewalskyi*, *E. procera* Syn *E. Nebrodensis*, *E. sarcocarpa*, *E. monosperma* 이다⁷⁾.

시중에 유통되고 파키스탄 마황은 약용으로 사용가능한 *Ephedra intermedia* Schrenk et C. A.Meyer⁸⁾로 中麻黃이 대부분이며, 중국산 草麻黃 (*Ephedra sinica* Stapf.)에 비하여 총알칼로이드 함량이 2.5배 많은 것으로 알려져 있다⁶⁾.

본 연구에서는 강지환의 조성약물 중에서 마황을 같은 용량의 파키스탄 마황과 중국산 마황을 사용하여 NAFLD에 대한 개선효과의 차이를 비교하였다.

이를 위해 고지방식이 유발 수컷 비만 마우스 모델을 이용하여 파키스탄 마황으로 조성된 강지환과 중국산 마황으로 조성된 강지환의 경구 투여가 NAFLD의 개선에 미치는 영향을 체중 증가량과 혈중 지질대사 관련 지표 및 간 조직 분석 등으로 조사하였다.

II. 실험재료 및 연구방법

1. 실험재료

1) 실험동물

㈜샘타코(샘타코바이오키리아 Inc., Korea)에서 공급한 7주령의 C57BL/6N 수컷 마우스를 구입하여 1주 간 실험실 환경에 적응하도록 한 후 사용하였다. 실험 기간 동안 온도 21±2 °C, 습도 55±5 %, 환기 횟수 15~17 회/hour, 조도 150~300 lux, 그리고 조명에 12시간의 명암(점등: 06:00, 소등: 18:00) 주기가 있는 실험실 환경에서 고행사료(Harlan, USA)와 물을 자유롭게 공급 받았다.

2) 실험물질

실험물질인 DF의 조성약물은 화림 제약(Busan, South Korea)에서 구입한 후 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선하여 ultrafine particle crusher (Korea Patent R&D Institution, Busan,

Table 1. The composition of DF

| 韓藥名 | Ingredient | % |
|---------------|--|-----|
| 麻黃 | <i>Ephedra intermedia</i> Schrenk et C. A.Meyer* | 40 |
| | <i>Ephedra sinica</i> Stapf.** | |
| 大黃 | <i>Rheum palmatum</i> L | 20 |
| 紫葍 | <i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold et Zuccarini | 40 |
| Total amounts | | 100 |

* 파키스탄산 마황 (DF-a)

** 중국산 마황 (DF-b)

Table 2. Experimental groups

| Group | Diet | Treatment | Number | Sex |
|--------------|-------------|-----------|--------|------|
| Normal | 10Kcal% fat | water | 9 | male |
| Control | | water | 9 | male |
| Atorvastatin | 45Kcal% fat | 10mg/kg | 9 | male |
| DF-a | | 80mg/kg | 9 | male |
| DF-b | | 80mg/kg | 9 | male |

South Korea)에 300mesh로 초미립 분쇄하여 냉장보관하고 실험에 사용하였다. 조성약물은 다음과 같고(Table 1), 마황은 파키스탄산 마황과 중국산 마황을 구입하여 사용하였으며, 양성대조군으로는 atorvastatin calcium (Pfizer Ireland Phamaceuticals Drug Product Plant, Loughbeg, Ringaskiddy. Co, Cork, Ireland)을 사용하였다.

3) 실험군 및 투여방법

각 군당 9마리를 체중에 따라 무작위하게 군 분리를 실시하였다. 8주 동안 normal 그룹은 10Kcal% fat의 일반 식이를 공급하고, control, 양성대조군, 약물 그룹은 45Kcal% fat의 고지방식이를 공급하여 NAFLD를 유발하였다. 그 후 DF-a와 DF-b는 모두 80mg/kg의 농도로, 양성대조군인 atorvastatin은 10mg/kg의 농도로⁹⁾ 8주간 경구 투여하였다 (Table 2).

2. 연구방법

1) 체중 증가량 측정

DF-a, DF-b 및 atorvastatin이 체중 증가량에 미치는 영향을 알아보기 위해 약물을 투여하는 8주 동안 매주 2회씩 체중을 측정하고 체중 증가량을 계산하였다.

2) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 경구 투여 시작 8주 후 12시간 절식한 뒤 diethyl ether로 마취한 다음 심장에서 혈액 1ml을 채취하였다. Blood clotting을 위해 30분 이상 실온에서 방치한 후 고속원심분리기(Micro12, Hanil, Korea)를 이용하여 3000rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 분리된 혈장은 냉동고(-20℃)에 보관하고 혈액생화학분석기(Modular analytics, Roche, Germany)를 사용하여 aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, γ -glutamyl transferase, high density lipoprotein cholesterol(HDL-cholesterol), low density lipoprotein cholesterol(LDL-cholesterol), total cholesterol, triglyceride, glucose의 혈중 농도를 각각 측정하였다. Free fatty acid의 혈중 농도는 혈액생화학분석기(Modular analytics, Hitachi, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 혈중 insulin 농도는 혈액생화학분석기(Microplate reader, Molecular device, USA)를 사용하여 각각 측정하였다.

3) 동물부검

체혈한 뒤 부검하여 간장, 심장, 비장, 신장, 췌장 등의 각 장기의 무게를 측정하고 조직을 수집하였다.

4) 조직의 형태학적 분석

검체에서 분리한 조직은 10% phosphate-buffered formalin에서 하루 이상 고정된 후 12시간 이상 흐르는 물에서 formalin을 세척한 후 50% ethanol에서 2시간, 70% ethanol에서 2시간, 80% ethanol에서 2시간, 90% ethanol에서 2시간, 100% ethanol에서 2시간씩 3번 단계적으로 탈수시켰다. Xylen에서 1시간씩 3번의 투명과정 후 paraffin에 1시간씩 2번 침투를 실시하였다. 포매과정(embedding)을 거쳐 약 4 μ m의 두께로 박절(paraffin-section)하여 slide에 조직을 얹고 건조시킨 다음 hematoxylin-eosin 염색을 하였다. Slide는 탈수과정을 거쳐 mounting medium(Sigma, MO, USA)을 떨어뜨린 후 cover glass를 덮어 분석하였다. 조직의 사진촬영과 지방세포의 크기분석은 image analysis system(Image Pro-Plus, MD, USA)을 이용하였다.

3. 통계분석

모든 값은 mean \pm standard deviation(SD)으로 표시하며, OriginLab Version 9.1(OriginLab Corporation, MA, USA)의 one way ANOVA를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

III. 實驗 結果

1. 체중 증가량

정상군에 비해 대조군은 체중 증가량이 40일째부터 유의하게 증가하였고(P<0.05), 48일째부터 증가폭이 더욱 커져(P<0.01) 56일째를 제외하고 실험 종료 시까지 증가폭이 유지되었다. 대조군에 비하여 DF-a는 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고(P<0.05), 8일째 감소폭이 증가하였다(P<0.001) 16일째까지 감소폭이 주춤하였다(P<0.01). 24일부터 28일까지 감소폭이 낮아졌다(P<0.05) 그 이후 44일째까지는 감소폭이 늘었다가 줄었다가를 반복하였다. 48일째부터 60일까지는 감소폭을 일정하게 유지하다가 64일째에는 감소폭이 더 확대되었다(P<0.001). DF-b 역시 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고(P<0.05), 그 감소폭이 12일째까지 증가하다가(P<0.001) 16일째부터 다시 감소폭이 줄어들었고, 20일째부터는 더 줄어들어 28일째까지 지속되었다(P<0.05). 32일째부터 다시 체중 증가량 감소폭이 증가하였고(P<0.01), 그 양상이 60일까지 유지되다가 64일째에 가장 현저하였다(P<0.001). Atorvastatin은 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소되어(P<0.05) 24일째를 제외하고는 체중 증가량의 감소폭이 유지되었다. 40일째에 체중 증가량의 감소폭이 증가하였으나(P<0.01), 48일째에 다시 그 감소폭이 줄어들어(P<0.05) 실험 종료 시까지 유지되었다 (Table 3, Fig. 1).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군에 비해 DF-a는 65.25%, DF-b는 43.94%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다. 모두에서 통계적으로 매우 현저한 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다(P<0.001). Atorvastatin의 경우 대조군에 비해 28.12%

Table 3. Changes in body weight gain of DF against high fat diet-fed NAFLD mice

| | Normal | Control | Atorvastatin | DF-a | DF-b |
|----|--------------|--------------|---------------|-----------------|-----------------|
| 4 | -0.9±0.515 | -0.607±0.785 | -1.581±0.641* | -1.521±1.042* | -1.748±0.849** |
| 8 | -0.553±0.648 | 0.477±1.403 | -1.544±1.635* | -2.459±0.835*** | -2.598±1.024*** |
| 12 | -0.409±0.852 | -0.608±1.12 | -2.207±1.566* | -2.521±1.090** | -2.778±0.900*** |
| 16 | 0.054±0.792 | 0.138±1.824 | -1.993±1.432* | -2.592±0.884** | -2.376±1.107** |
| 20 | 0.203±1.077 | -0.884±1.767 | -2.43±1.212* | -2.517±0.995* | -2.638±1.327* |
| 24 | 0.149±1.462 | -0.692±1.525 | -2.134±1.401 | -1.934±.801* | -2.206±1.137* |
| 28 | -0.173±1.213 | -0.826±1.411 | -2.571±1.605* | -2.059±0.864* | -2.301±0.948* |
| 32 | -0.071±1.246 | 0.766±1.512 | -0.986±1.372* | -1.360±0.830** | -1.179±0.807** |
| 36 | 0.109±1.609 | 1.273±1.551 | -0.621±1.502* | -1.241±0.988*** | -1.240±1.264** |
| 40 | 0.326±1.828 | 2.223±1.659† | 0.008±1.395** | -0.440±1.313** | -0.073±1.110** |
| 44 | 0.757±1.676 | 2.922±1.877† | 0.66±1.268** | -0.202±1.175*** | 0.280±0.964** |
| 48 | 0.921±1.773 | 3.634±2.08† | 1.427±1.209* | 0.451±1.325** | 0.813±1.217** |
| 52 | 1.008±1.467 | 3.782±2.009† | 1.6±1.289* | 0.939±1.295** | 1.339±1.317** |
| 56 | 1.531±1.637 | 4.124±2.123† | 2.024±1.058* | 1.500±1.076** | 1.722±0.902** |
| 60 | 1.798±1.563 | 4.832±2.23† | 2.623±1.119* | 1.712±1.200** | 2.242±1.218** |
| 64 | 2.196±1.879 | 5.554±2.406† | 3.116±1.095* | 1.168±1.372*** | 2.163±1.097*** |

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01. * Value significantly different from control, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.

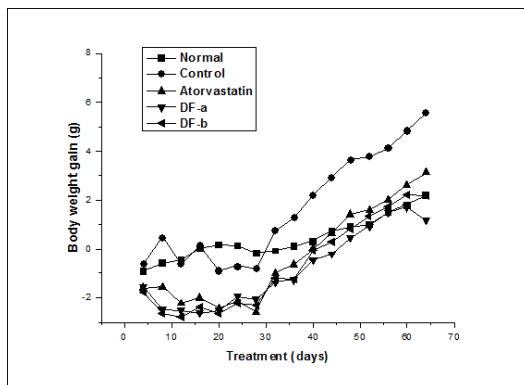


Figure 1. Changes of body weight gain in high fat diet-fed NAFLD mice.

의 체중 감량효과가 있었으며, 통계적으로 유의한 체중 감량효과를 보였다(P<0.05). (Table 4, Fig. 2).

2. 혈액생화학분석

1) 혈중 aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase와 γ -glutamyl transferase (γ -GT) 농도

약물 투여 시작 8주 후 혈장 내 aspartate

aminotransferase(AST), alanine aminotransferase (ALT) 및 γ -glutamyl transferase(γ -GT)의 농도를 측정 한 결과, DF-a, DF-b와 atorvastatin에서 모두 대조군에 비해 낮은 것으로 나타났으며, DF-b의 혈중 ALT의 농도에서만이 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Table 4, Fig. 2).

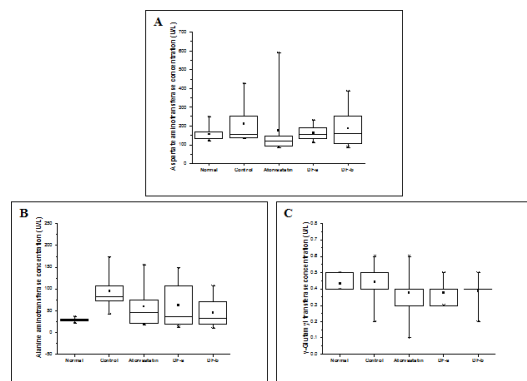


Figure 2. Fasting plasma aspartate aminotransferase(A), alanine aminotransferase(B) and γ -glutamyl transferase(C) levels in high fat diet-fed NAFLD mice.

Table 4. Blood analysis data in high fat diet-fed NAFLD mice

| | unit | Blood analysis data | | | | |
|------|-------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | Normal | Control | Atorvastatin | DF-a | DF-b |
| AST | U/L | 156.333±42 | 212.556±103.5 | 178±159.708 | 165.444±39.9 | 189.222±101.296 |
| ALT | U/L | 28.889±4.595 | 95.222±42.967 ^{††} | 60.667±48.399 | 62.444±50.917 | 46±35.577 [†] |
| γ-GT | U/L | 0.433±0.05 | 0.444±0.133 | 0.378±0.139 | 0.378±0.067 | 0.389±0.078 |
| HDL | mg/dl | 137.444±11.749 | 158.778±14.712 [†] | 137.556±14.134 ^{**} | 137.556±26.482 | 139.889±22.519 |
| LDL | mg/dl | 20.667±5.809 | 40.111±9.493 ^{†††} | 24.778±6.058 ^{***} | 28.111±11.285 [†] | 28.556±12.837 [†] |
| TC | mg/dl | 157.444±14.492 | 201.222±23.371 ^{†††} | 160.778±17.188 ^{***} | 164.222±38.137 [†] | 164.444±35.242 [†] |

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01, ††† p<0.001. * Value significantly different from control, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.

2) 혈중 total cholesterol, HDL-cholesterol과 LDL-cholesterol 농도

약물 투여 시작 8주 후 혈장 내 total-cholesterol, HDL-cholesterol과 LDL-cholesterol의 농도를 측정 한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 모든 값에서 통계적으로 유의하게 높은 수치를 보였다. 혈장 내 total cholesterol의 경우 대조군에 비하여 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며 그 정도는 atorvastatin에서 더 큰 것으로 나타났다.

혈장 내 HDL-cholesterol의 농도는 대조군에 비하여 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 낮은 것으로 나타났으며, atorvastatin에서만 통계적인 유의성을 보였다.

혈장 내 LDL-cholesterol의 경우, 대조군에 비하여 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며 그 정도는 atorvastatin에서 더 큰 것으로 나타났다 (Table 4, Fig. 3).

4. DF에 의한 간조직의 무게와 지방축적 변화

1) 간장 무게

실험종료 후 부검 시 간장의 무게를 측정한 결과, 정상군에 비해 대조군에서 통계적으로 유의하게 그 무게가 증가하였다. 대조군에 비하여 DF-a는 9.83%, DF-b는 14.38%, atorvastatin은 8.33%로 그 무게가 감소하였으며, DF-b에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Table 5, Fig. 4).

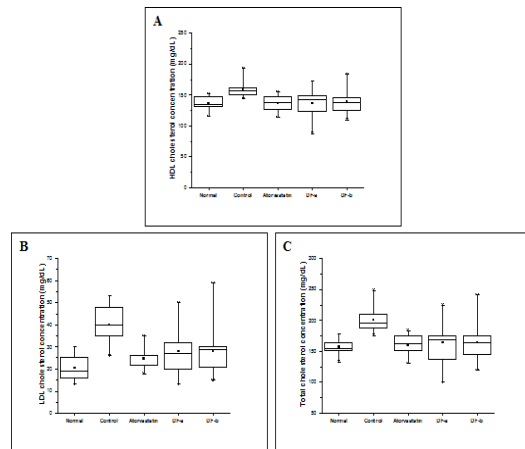


Figure 3. Fasting plasma HDL-cholesterol(A), LDL-cholesterol(B) and total cholesterol(C) levels in high fat diet-fed NAFLD mice. HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein.

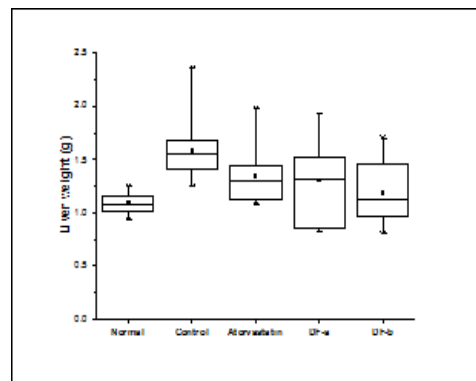


Figure 4. Liver weights in high fat diet-fed NAFLD mice.

Table 5. Liver weights in high fat diet-fed NAFLD mice

| | Normal | Control | Atorvastatin | DF-a | DF-b |
|------------------|-------------|----------------------------|--------------|-------------|------------------------|
| Liver weights(g) | 1.094±0.106 | 1.587±0.332 ^{†††} | 1.343±0.283 | 1.303±0.419 | 1.188±0.3 [*] |

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † † † p<0.001. * Value significantly different from control, * p<0.05.

Table 6. Histological analysis of hepatic lipid accumulation in high fat diet-fed NAFLD mice

| | Normal | Control | Atorvastatin | DF-a | DF-b |
|--------------|-------------|--------------------|------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Lesion score | 0.222±0.192 | 4±0 ^{†††} | 3±0.333 ^{***} | 2.667±0.577 ^{***} | 1.111±0.192 ^{***} |

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † † † p<0.001. * Value significantly different from control, *** p<0.001.

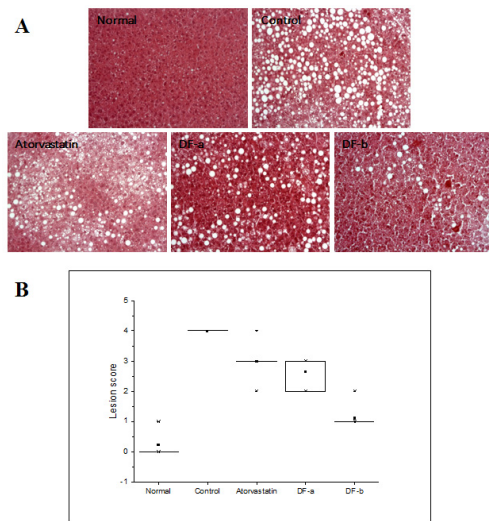


Figure 5. Inhibition of hepatic lipid accumulation by DF in high fat diet-fed NAFLD mice.

(A) Representative hematoxylin and eosin stained sections of livers are shown (original magnification X 100). (B) Pathological scores of hepatic accumulation are as follows: 0, no lesion; 1, mild; 2, moderate; 3, severe; 4, very severe.

2) 간조직의 지방축적 변화

고지방식이로 NAFLD가 유발된 Control 그룹 마우스는 상당량의 지방이 축적된 소견을 보였으나, DF를 투여한 그룹에서는 간의 지방축적이 감소된 양상을 보였다. 정상군에 비해 대조군은 통계적으로 유의하게 lesion score가 증가하였고, DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 이를 백분율로 환산하면 DF-a는 19.99%, DF-b는 56.53%,

atorvastatin은 14.29%의 감소폭을 보였다(Table 6, Fig. 5).

IV. 考 察

비알콜성 지방간질환(NAFLD)은 서구사회에서 가장 일반적인 만성 간질환으로 비만 및 대사증후군과 밀접하게 관련되어 있다¹⁰. 우리나라 성인의 NAFLD 유병률은 2004년 11.5%에서 2010년 23.6%로 두 배 정도 증가했는데, 이는 미국 및 유럽의 성인 유병률 16~25%와 비슷한 수준이다⁸. 현재 NAFLD는 비만 비율의 극적인 증가에 따라 급속하게 확산되고 있는 것으로 여겨진다. 그러나 체중 감량 외에는 검증된 치료법이 없다는 점에서 분명하고 정확한 치료법이 필요하다¹².

麻黃의 항비만 효과, 大黃의 항고지혈증 작용과 紫草의 항염증 작용은 간의 염증 및 과체중, 고지혈증을 기본 특성으로 하는 NAFLD에 영향을 줄 수 있을 것으로 생각되어 이 세 가지 약물로 降脂丸(DF)을 구성하고 고지방식이 NAFLD 모델 마우스를 이용하여 NAFLD의 개선에 미치는 영향을 조사하여 발표한바 있다⁵.

降脂丸의 조성약물 중 마황은 중국 내몽고 지역의 사막화를 막기 위하여 중국 정부의 수출제한으로 우리나라는 중국산 마황의 수입이 어렵게 되었다. 그 대신에 파키스탄산 마황의 수입이

많아져 대부분 일반 한의원에서는 파키스탄 마황을 사용하는 것으로 조사되었다. 파키스탄산 마황은 中麻黃(Ephedra intermedia Schrenk et C. A.Meyer)이 대부분이며, 중국산 草麻黃(Ephedra sinica Stapf.)에 비하여 총알칼로이드 함량이 2.5 배 많은 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 강지환의 조성약물 중에서 마황을 같은 용량의 파키스탄 마황(DF-a)과 중국산 마황(DF-b)을 사용하여 NAFLD에 대한 개선효과의 차이를 비교하였다.

체중 증가량의 경우, 대조군에 비해 DF-a는 65.25%, DF-b는 43.94%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다. 모두에서 통계적으로 매우 현저한 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다 ($P<0.001$). Atorvastatin의 경우 대조군에 비해 28.12%의 체중 감량효과가 있었으며, 통계적으로 유의한 체중 감량효과를 보였으나($P<0.05$) DF-a와 DF-b에 비해서는 그 효과가 낮은 것으로 나타났다.

DF-a, DF-b와 atorvastatin의 지질대사 개선 효과를 알아보기 위해 관련 지표인 혈중 total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol의 농도를 조사하였다. Total cholesterol과 LDL-cholesterol의 농도는 대조군에 비하여 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 수치를 보였으며, 그 효과는 atorvastatin에서 더 현저한 것으로 나타났다.

체중감량효과가 상대적으로 낮은 atorvastatin은 체중감량효과가 상대적으로 높은 DF-a와 DF-b에 비하여 혈중 total cholesterol과 LDL-cholesterol의 농도 값을 더 낮추는 효과가 있음을 보여주고 있어 체중감량효과의 정도와 일치하게 혈중 total cholesterol과 LDL-cholesterol의 농도가 반드시 변화하지 않음을 보여준다.

DF-a, DF-b와 atorvastatin의 NAFLD 개선 효과를 알아보기 위해 간장의 무게와 간 염증 지표 및 간세포의 조직학적, 형태학적 변화를 조사하였다.

간장의 무게는 대조군에 비해 DF-a는 9.83%, DF-b는 14.38%, atorvastatin은 8.33%로 그 무

게가 감소하였으며, DF-b에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타나 체중의 변화와 일치하게 간장의 무게가 감소하는 양상을 보였다. 이와 일치하게 간세포의 지방축적은 DF-a, DF-b와 atorvastatin은 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 lesion score를 감소하였으며, 그 정도는 DF-b를 투여하였을 때에 더욱 현저하였다. 따라서 DF-a와 DF-b는 간세포의 지방축적을 억제하여 간장의 무게를 감소시키고 NAFLD를 개선하는데 영향을 줄 수 있을 것으로 보인다.

또한 간 염증 지표인 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), γ -glutamyl transferase (γ -GT)의 농도를 조사하였다. 혈중 AST, ALT와 γ -GT의 농도는 DF-a, DF-b와 atorvastatin에서 모두 대조군에 비해 낮은 것으로 나타났으며, DF-b의 혈중 ALT의 농도에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다.

혈중 ALT 농도는 NAFLD에서의 간장 손상 정도를 예측할 수 있는 지표이며 증가된 혈중 ALT 농도는 간섬유화 등 상당한 간의 조직학적 이상을 보여주는 것으로 보고되어 있어^{13,14}, DF의 투여가 이를 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

그러므로 DF-a와 DF-b는 체중증가량을 감소시키고 혈중 지질대사를 개선하며 이에 따라 간의 무게와 간세포의 지방 축적을 감소시켜 NAFLD의 개선에 기여할 수 있을 것으로 생각된다. DF-a는 DF-b에 비하여 체중감량효과는 더 우수하고, 지질대사 개선효과와 간세포의 지방축적 억제효과 그리고 혈중 ALT의 농도를 낮추는 작용은 낮았지만, 둘 사이에 통계적인 유의성이 없는 것으로 보아 DF는 파키스탄산 마황(DF-a)을 사용했을 때와 중국산 마황(DF-b)을 사용했을 때의 효과의 차이는 크게 다르지 않은 것으로 보인다.

V. 結 論

고지방 식이로 유발된 비만 마우스 모델을 이용하여 파키스탄산 마황의 降脂丸(DF-a)과 중국산 마황의 降脂丸(DF-b)의 투여에 따른 체중증

가량, 혈중 지질대사 관련 지표와 간조직의 변화를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DF-a, DF-b와 atorvastatin은 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 체중증가량이 감소하였으며, 그 감소폭은 DF-a와 DF-b에서 특히 DF-a에서 더욱 현저하였다.
2. Total cholesterol과 LDL-cholesterol의 농도는 대조군에 비하여 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 통계적으로 유의하게 낮은 수치를 보였으며, 그 효과는 atorvastatin에서 더 현저한 것으로 나타났다.
3. 간장의 무게는 대조군에 비해 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 감소하였으나 DF-b에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다.
4. 간세포의 지방축적은 대조군에 비하여 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 그 정도는 DF-b를 투여하였을 때에 더욱 현저하였다.
5. 혈중 ALT의 농도는 DF-a, DF-b와 atorvastatin의 모두에서 대조군에 비해 낮은 것으로 나타났으나 DF-b에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다.

결론적으로 DF-a와 DF-b는 체중증가량을 감소시키고 혈중 지질대사를 개선하며 이에 따라 간의 무게와 간세포의 지방 축적을 감소시켜 NAFLD의 개선에 기여할 수 있을 것으로 생각되며, DF는 파키스탄산 마황을 사용했을 때와 중국산 마황을 사용했을 때의 효과의 차이는 크게 다르지 않은 것으로 보인다.

Acknowledgement

This work was supported by the National Research Foundation of Korea(NRF) grant funded by the Korea government(MEST) (No. 2012R1A2A2A01004508).

參 考 文 獻

1. Jun DW. Diet and exercise in nonalcoholic fatty liver disease. PG. 2013; 2013(1): 41-45.
2. Yoon MY, Cho YK. Comorbid diseases in nonalcoholic fatty liver disease. Korean J med. 2010; 79(5): 490-494.
3. Jun DW. Non-alcoholic fatty liver disease. Clin Mol Hepatol. 2011; 17(3s): 332-336.
4. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation. Influence of dietary intake on non-alcoholic fatty liver disease in Korean. 2012 : 1.
5. Ye Ji Ahn, Ki Hyeon Yoon, Ju Heum Jo, Du Hyon Jang, Yang Sam Jung, Jong Hoon Kim, Byeong Chul Kim, Hoa Jun Seok, Jae Sang Yoo, Ja Ryong Ku, Michung Yoon, Soon Shik Shin. Gangjihwan Improves Nonalcoholic Fatty Liver Disease in High Fat Diet-Fed C57BL/6N Mice. Kor. J. Herbology 2014; 29(2): 47-54.
6. <http://humanherb.co.kr/bbs/view.php?id=news&no=319>.
7. Ghafoor S, Shah MM, Ahmad H, Swati ZA, Shah SH, Pervez A, Farooq U. Molecular characterization of Ephedra species found in Pakistan. Genet Mol Res. 2007 11; 6(4): 1123-1130.
8. Zabta Khan Shinwari, Syed Shahinshah Gilani. Sustainable harvest of medicinal plants at Bulashbar Nullah, Astore (Northern Pakistan). J Ethnopharmacol. 2003; 84(2-3): 289-298.
9. Kim TK, Jung WS, Park SW, Cho KH, Kim YS. Comparison of efficacy and safety between Chunghyul-dan(HH-333) and Atorvastatin(Lipitor[®]). Kor J of Orient Int Med. 2003; 24(4): 837-45.
10. Musso G, Gambino R, Cassader M. Non-alcoholic fatty liver disease from pathogenesis to management: an update. Obes Rev. 2010;

- 11: 430-45.
11. Korea Food & Drug Administration. The press release. Retrieved Nov. 14, 2013, from <http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=675&seq=19618&cmd=v>.
 12. Durazzo M, Belci P, Collo A, Grisoglio E, Bo S. Focus on Therapeutic Strategies of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Hepatol.* 2012; 2012: 464706.
 13. American Gastroenterological Association medical position statement: nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 1702 - 1704.
 14. Westerbacka J, Corner A, Tiikkainen M, Tamminen M, Vehkavaara S, Hakkinen AM, Fredriksson J, Yki-Jarvinen H. Women and men have similar amounts of liver and intra-abdominal fat, despite more subcutaneous fat in women: implications for sex differences in markers of cardiovascular risk. *Diabetologia* 2004; 47: 1360 - 1369.