

갈근이 고지방·고탄수화물식이와 저용량 streptozotocin-유도 당뇨병 마우스에 미치는 효능 연구

오태우^{1#}, 박용기^{1,2*}

1 : 동국대학교 한방신약개발센터, 2 : 동국대학교 한의과대학 본초학교실

Effect of the root extract of *Pueraria thunbergiana* Bentham on high fat/high sucrose diet and single low-dose streptozotocin-induced diabetic mice

Tae Woo Oh^{1#}, Yong-Ki Park^{1,2*}

1 : Korean Medicine R&D center, Dongguk University

2 : Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University, Gyeongju 707, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : This study was performed to investigate the effect of root extract of *Pueraria thunbergiana* Bentham (Puerariae Radix, PR) in diabetic mice as similar as emaciation-thirst disease in Oriental medicine.

Methods : C57BL/6 mice were fed high fat (HF) and high sucrose (HS) for 8 weeks, and then administrated with 90 mg/kg body weight (bw) of streptozotocin (STZ) for induction of diabetes which is similar to the middle emaciation stage. After 5 days, blood glucose levels were measured, and selected the mice with ranges above 250 mg/dL. PR water extract was administrated orally once a day for 4 weeks with high fat and high sucrose. The levels of glucose, insulin, total cholesterol, triglyceride, γ glutamyl transpeptidase (γ GTP), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) were analysed in the serum. Also, observed their histological changes by hematoxylin and eosin (H&E) of different organs, lung, heart, pancreas, stomach, liver, and kidney.

Results : PR extract significantly decreased the levels of serum glucose and insulin in diabetic mice. PR extract significantly increased the levels of triglyceride, total cholesterol, GOT and GPT in diabetic mice. In H&E stain, PR extract inhibited the histopathological changes of lung (as a channel of the upper emaciation stage in the channel-tropism theory), pancreas (as a channel of the middle emaciation stage) and kidney (as a channel of the lower emaciation stage) in diabetic damage.

Conclusions : PR extract has an anti-diabetic effect in HF/HS and low-dose STZ-induced diabetic mice. This result suggests that PR follows the channel-tropism theory in the emaciation-thirst disease through the protection of lung, pancreas and kidney.

Key words : Channel-tropism theory, Diabetes mellitus, Puerariae Radix, emaciation-thirst disease, Oriental medicine theory, high fat/high sucrose, streptozotocin

서 론

당뇨병(diabetes)은 가장 흔한 대사질환 중 하나로 인슐린(insulin)의 절대량이 부족하거나 생체 내 인슐린의 효율이

떨어진 결과로 발생되며, 인슐린 의존성과 인슐린 비의존성으로 구분할 수 있고, 고혈당(hyperglycemia)과 더불어 다음(多飲, 다식(多食), 다뇨(多尿), 체중감소 등의 증상을 동반하게 된다¹⁻²⁾.

*Corresponding author : Yong-Ki Park, Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University, Gyeongju 707, Republic of Korea

· Tel : +82-54-770-2661 · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr

#First author : Tae Woo Oh, Korean Medicine R&D center, Dongguk University, Gyeongju 707, Republic of Korea

· Tel : +82-54-770-2658 · E-mail : taewoo2080@gmail.com

· Received : 20 August 2014 · Revised : 16 September 2014 · Accepted : 16 September 2014

현대 질병인 당뇨병에 대해 한의학에서는 유사한 증상으로 소문(素問)의 기결론(氣厥論)과 기병론(奇病論)³⁾에 소단(消癉), 소중(消中), 풍소(風消), 격소(膈消), 식역(食亦), 폐소(肺消) 등으로 처음 언급되었으며, 소곡선기(消穀善飢), 일음이뇨(一飲二尿), 선식이수(善食二澀), 구감(口甘) 등의 증상과 유사한 것으로 해석되어 왔다. 당뇨병은 소변이 달콤한 병이라는 뜻이고 체내 수분의 감소를 보충하려는 데서 오는 소모성 질환의 소갈(消渴)과 같이 해석하였다⁴⁾. 따라서 한의학에서 당뇨병은 소갈병(消渴病)으로 기재되어 있으며, 갈이다음(渴而多飮)하는 상소(上消), 소곡선기(消穀善飢)하는 중소(中消), 갈이뇨삭(渴而尿數)하는 하소(下消)로 분류된다^{5,6)}. 상소는 폐심(肺心)의 질환으로 상초(上焦)에 열이 있어 가슴이 답답하고 입이 마르며, 헛바다에 붉고 바다가 갈라지며, 호흡이 급하여 이상이 있고 물을 많이 마시는 증상(多飮)을 나타낸다. 또한 중소는 음식을 잘 먹으면서(多食), 몸이 여위고 헛땀(自汗)이 나며 대변이 조(燥)하여 변비증세가 오고 소변이 잦으며 비(脾), 위장(胃腸)질환으로 소화불량, 피로감, 소변이 탁하고 갈증이 심한 것으로 보며, 하소는 신기능 이상으로 당(糖)에 배출되는 것으로 소변량이 과다(多尿)하고, 야간 수면 중에 2~3회 소변에 거품이 생기고 하지에 끈적통이 오는 증세를 나타낸다.

갈근(葛根, *Pueraria thunbergiana* Benth)은 콩과(豆科, Leguminosae)에 속하는 칩의 뿌리(*Puerariae Radix*, PR)로서 그대로 또는 주피를 제거한 것으로 신농본초경(神農本草經)⁷⁾ 중권에 "주(主) 소갈(消渴), 고열(高熱), 신대열(身大熱), 구토(嘔吐), 해제독(解諸毒)" 최초로 기재된 이래, 감신(甘辛) 평(平)하는 성미이고, 발표해기(發表解肌), 투발마진(透發麻疹), 생진지갈(生津止渴), 승양지사(升陽止瀉)의 효능으로 마진투발불창(麻疹透發不暢), 소갈(消渴), 습열사리(濕熱瀉痢) 등 한방임상에 널리 사용하고 있다⁸⁾. 그 귀경(歸經)은 비위(脾胃)로써 소갈의 증소약물에 해당되며, 갈근의 체액 분비를 촉진함으로써 갈증을 가시게 하는 특성으로 소갈 처방에 널리 사용되고 있다. 갈근의 당뇨와 관련된 실험연구로는 고지방식이 흰쥐에서의 지방감소 및 지방산화 억제효과⁹⁾, streptozotocin(STZ)-유도 당뇨 흰쥐에서의 혈당감소 및 인슐린 증가 효과¹⁰⁾, 및 갈근 이소플라본 성분 puerarin의 지방세포 분화유도와 감수성 증가¹¹⁾ 및 STZ-유도 당뇨 흰쥐에서의 신장의 산화적 손상 및 섬유화 억제효과¹²⁾ 되었으며, 기타 국소뇌허혈 마우스에서의 뇌경색부피 감소효과¹³⁾, 대식세포에서의 항염증효과¹⁴⁾ 등이 보고되었다.

본 연구에서는 한의학에서 소갈의 3단계 중 중소를 중심으로 갈근의 당뇨병 개선효과를 검증함으로써 현대약리와의 연관성을 해석해보고자 수행하였다. 이를 위해 본 연구에서는 고지방·고탄수화물 식이로 비만이 유도된 흰쥐에 저용량 STZ를 투여함으로써 당뇨병을 유발하였으며, 일정 기간 갈근 추출물의 투여 후 귀경장부인 비위를 중심으로 오장의 조직학적 변화와 혈액마커 변화를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시료의 조제

갈근 200 g에 정제수 2L를 가하여 열탕추출기에서 3시간 씩 2회 가열하여 얻은 추출물을 여과지(Whatman NO. 1)로 여과한 후 회전식 감압농축기로 감압 농축하여 동결 건조함으로써 갈근 물추출물을 제조하였으며 수득율은 7.1%였으며, 건조분말 상태로 냉장보관하면서 실험 직전 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

2) 실험동물

실험동물은 C57BL/6 9주령 수컷 마우스(20-25 g)를 (주)오리엔트바이오(경기도, 한국)로부터 분양받아 1주일 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간동안 실내온도 22 ± 2°C, 습도 55 ± 5%, 명암 12시간(Day light 06:00~18:00)을 주기로 실험종료 시까지 일정한 사육조건을 유지시켰다.

2. 방법

1) 당뇨 유발

상소를 거쳐 중소 단계로 진행되는 당뇨병 동물모델 제작을 위해 먼저 정상 마우스에 고지방과 고탄수화물 식이(Surwit's Retenon Diet with 45 kcal% fat and 32% kcal% sucrose, Research Diets, Inc.)를 10주간 실시하였다. 대조군으로 정상 고형사료(Teklad Global 18% Protein Rodent Diet, Harlan Laboratories, Inc., CA, USA)를 제공하였다. 이후 당뇨병 유발을 위해 STZ(Sigma - Aldrich, St Louis, MO, USA)를 0.01M citrate buffer(pH 4.5)로 적정한 다음 90 mg/kg body weight(bw) 용량으로 1회 복강 주사하였다. 이때 정상군 및 대조군은 동일한 양의 0.1M citrate buffer를 복강 주사하였다. STZ 복강 투여 후 5일째 최소 12시간 이상 절식시킨 후 꼬리정맥으로부터 채혈한 혈액으로부터 혈당측정검사지(Accu - Check, Roche Diagnostics GmbH, Germany)를 이용하여 혈당을 측정함으로써 당뇨병 유발을 확인하였으며, 혈당수치가 250 mg/dl가 넘는 마우스만 선발하여 실험에 사용하였다.

2) 실험군 설정

실험군은 각 군 당 마우스 10마리씩을 정상군(normal)과 고지방·고탄수화물식이와 STZ 투여에 의해 당뇨병이 유발된 대조군(이하 대조군, HF/HS + STZ), 대조군에 갈근 추출물을 500 mg/kg bw 용량으로 투여한 약물투여군(PR)으로 나누어 설정하였다. 정상군을 제외한 나머지 군은 10주간 고지방·고탄수화물식이를 투여 한 후, STZ를 이용하여 당뇨를 유발하였으며, 혈당 수치에 따라 대조군 설정 후 약물 투여군은 매일 1회 일정한 시간에 갈근추출물을 500 mg/kg 용량으로 4주간 경구 투여하였다. 또한 약물을 투여하지 않는 정상군과 대조군에는 동일 양의 생리식염수를 경구 투여하였다.

3) 체중 측정 및 혈액수집

실험기간 동안 매주 체중을 측정하였고 약물투여 0일째 체중을 초기(initial) 체중으로, 4주째 체중을 마지막(final) 체중으로 하였다. 또한 4주 실험 종료 후 최소 12시간 이상 절식시킨 후 모든 동물을 희생시키고 복대정맥으로부터 혈액을

수집하였다. 수집된 혈액은 6,000 rpm에 15분간 원심 분리 함으로써 혈청을 분리하고 -80°C에 보관하면서 혈액마커 측정을 위한 시료로 사용하였다.

4) 혈당 측정 및 혈액마커 측정

혈당의 측정은 12시간 이상 절식시킨 후 모든 동물의 꼬리 정맥으로부터 혈액을 수집하여 혈당측정검사지(Accu-Check)를 이용해 측정하였다.

또한 보관중인 혈청을 이용하여 혈액마커를 측정하였는데, 혈청 내 인슐린의 농도는 mouse insulin ELISA kit(EMD Millipore Corporation, MA, USA)를 사용하여 측정하였으며, 총콜레스테롤(total cholesterol, TC)과 중성지방(triglyceride, TG)의 농도는 각각의 효소시약 측정용 키트(에이치비아이(주), 안양, 한국)를 사용하여 500 nm과 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, γ -GTP, GOT, GPT의 농도는 각각의 효소시약 측정용 키트(아산제약, 서울, 한국)를 사용하여 각각 635 nm, 505 nm, 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5) 병리조직학적 관찰

약물투여 4주 후 모든 실험동물을 희생시키고 생리식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 폐, 심장, 췌장, 위장, 간, 신장 조직을 적출하였다. 각 조직을 4%의 paraformaldehyde에 24시간 담가 고정하고, 파라핀 포매 과정을 거친 후 조직 절편기(microtome)를 이용하여 2 μ m 두께로 박절하여 조직 슬라이드를 제작하였다. 각 조직의 H&E 염색을 위해 조직 슬라이드를 hematoxylin으로 5분간 염색한 후 eosin으로 2~3분간 염색하였다. 그 후 각 조직슬라이드를 탈수과정을 거쳐 투명과정을 시행한 후 permount 봉입제로 봉입(mounting)하였다. 염색 조직슬라이드는 광학현미경을 이용하여 조직학적 변화를 관찰하였다.

6) 통계처리

모든 실험 결과는 GraphPadprism 5.0 통계 프로그램(GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차(mean \pm SD)로 계산하였으며 각 그룹 간 비교를 위해 one-way ANOVA를 실시하여 $p < 0.05$ 수준에서 각 실험군 간의 유의성을 평가하였다.

결 과

1. 체중 변화에 대한 효과

고지방·고탄수화물 식이와 더불어 STZ투여에 따른 당뇨 유발 마우스(HF/HS + STZ)에서 갈근 추출물에 의한 체중 변화를 측정된 결과, 정상군은 4주까지 정상적인 체중증가를 나타내었으나 당뇨병이 유발된 대조군과 대조군에 갈근추출물(PR)을 투여한 군에서는 정상군에 비해 시간에 의존적으로 체중이 감소하는 것으로 나타났다. 또한 당뇨병 마우스에서의 이러한 체중 감소는 갈근추출물 투여에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(그림 1).

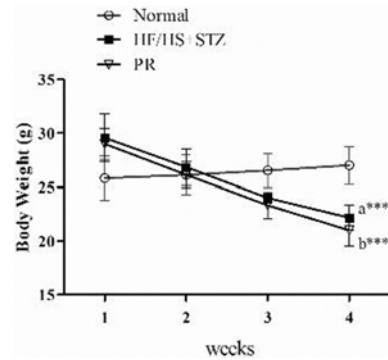


Fig. 1. The change of body weight in high fat/high sucrose diet plus STZ-induced diabetic mice. The body weight was measured once every week, and values are represented as mean \pm SD (n=10). *** $p < 0.001$ vs. Normal (a) or HS/HS+STZ (b). PR, Puerariae Radix extract 500 mg/kg/bw-administrated group.

2. 혈당 변화에 대한 효과

고지방·고탄수화물 식이와 더불어 STZ투여에 따른 당뇨 유발 마우스(HF/HS + STZ)에서 갈근 추출물에 의한 혈당 변화를 측정된 결과, 정상군의 혈당은 4주까지 정상범위의 혈당 수치를 나타내었으나 당뇨병이 유발된 대조군에서는 현저한 혈당 증가와 함께 4주까지 고혈당 상태를 유지하는 것으로 나타났다. 반면, 갈근추출물을 투여한 군(PR)에서는 대조군에 비해 유의적으로 혈당이 감소하는 것으로 나타났다(그림 2).

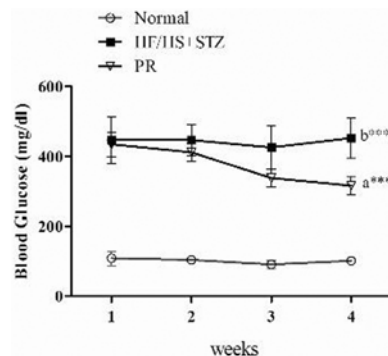


Fig. 2. The effect of PR extract on blood glucose in high fat/high sucrose diet plus STZ-induced diabetic mice. Glucose level was measured in blood by Accu-check once every week, and values are represented as mean \pm SD (n=10). *** $p < 0.001$ vs. Normal (a) or HS/HS+STZ (b). PR, Puerariae Radix extract 500 mg/kg/bw-administrated group.

3. 혈액마커의 변화에 대한 효과

고지방·고탄수화물 식이와 더불어 STZ투여에 따른 당뇨 유발 마우스(HF/HS + STZ)에서 갈근 추출물에 의한 혈액마커들의 변화를 측정된 결과, 정상군에 비해 대조군에서 인슐린, 중성지방, 총콜레스테롤, γ -GTP, GPT 및 GOT의 농도가 증가하는 것을 관찰하였다. 반면 갈근추출물 투여군(PR)에서는 대조군에 비해 인슐린 분비가 유의적으로 감소하였으며, 중성지방과 총콜레스테롤이 유의적으로 증가하였다. 또한 GPT와 GOT가 증가하는 것으로 나타났다(그림 3).

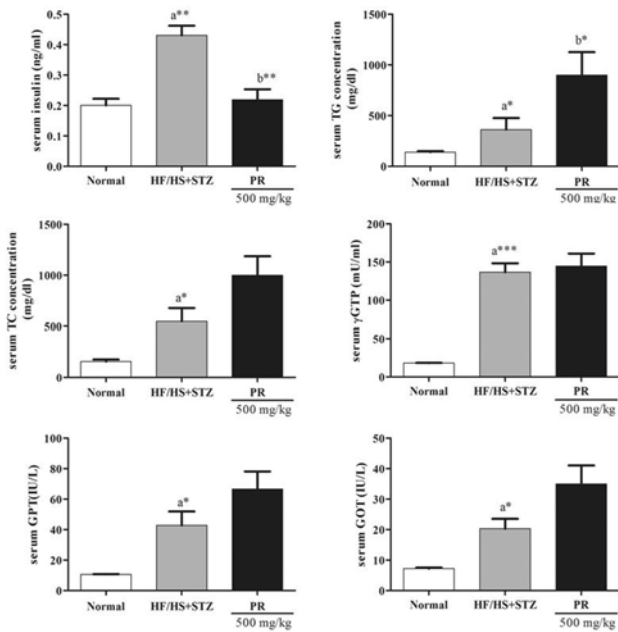


Fig. 3. The effect of PR extract on the changes of serological markers in high fat/high sucrose diet plus STZ-induced diabetic mice. Each marker was measured in the sera by enzyme-immunoassay after 4 weeks. Values are represented as mean \pm SD (n=10). ρ (0.05), ρ (0.01) and ρ (0.001) vs. Normal (a) or HF+STZ (b). PR, Puerariae Radix extract 500 mg/kg /bw-administrated group.

4. 조직학적 변화에 대한 효과

고지방·고탄수화물 식이와 더불어 STZ투여에 따른 당뇨 유발 마우스(HF/HS + STZ)에서 갈근 추출물에 의한 조직학적 변화를 관찰한 결과, 정상군의 폐 조직에서는 기관지, 세기관지, 폐포 등의 형태가 잘 관찰되었으나, 대조군에서는 기관지 주변으로의 염증세포 침윤과 내막의 비후가 관찰되었고, 갈근 추출물 투여에 의해 손상이 억제되는 것으로 나타났다(그림 4A). 또한, 정상군의 췌장조직은 랑게르한스섬(islet of Langerhans)의 형태가 뚜렷하게 잘 보존되어 있는 반면 대조군에서는 조직 손상과 함께 랑게르한스섬이 거의 관찰되지 않았으나, 갈근 추출물 투여군에서는 랑게르한스섬의 파괴와 수적 감소가 현저히 줄어든 것으로 나타났다(그림 4C). 신장 조직에서도 정상군에서는 사구체 보존과 사구체 상피세포(podocytes)의 정상적 분포가 관찰되었으나 대조군에서는 사구체의 수적 감소 및 사구체 비후(hypertrophy) 등이 관찰되었고 이는 갈근 추출물 투여에 의해 감소되는 것으로 나타났다(그림 4F). 한편, 기타 심장(그림 4B), 위(그림 4D), 간(그림 4E) 조직에서는 정상군과 대조군 간 조직학적 차이를 관찰하기 어려웠으며 갈근추출물 투여에 의한 변화도 없는 것으로 나타났다.

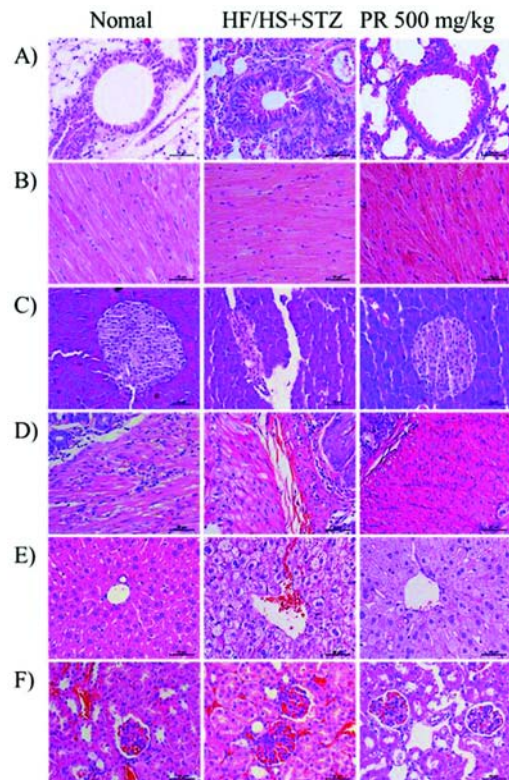


Fig. 4. The effect of PR extract on the histopathological changes of organs in high fat/high sucrose diet plus STZ-induced diabetic mice. Each tissue was stained with H&E, and observed by microscope (original magnification x200). A, lung, B, heart, C, pancreas, D, stomach, E, liver, and F, kidney.

고찰

당뇨병은 이미 세계적으로 그 유병률과 사망 및 의료비용 등에서 인류의 심각한 대표적 만성질환으로 인식되고 있으며, 우리나라에서도 당뇨병 환자가 전체 인구의 약 5%정도로 추정되고 있어¹⁾ 당뇨병으로 인한 여러 합병증 발생에 이르기까지 사회 문제적 질환으로 인식되고 있다. 최근 이러한 당뇨병에 대한 심각성으로 전 세계는 당뇨병의 구체적인 이해와 새로운 치료기술에 박차를 가하고 있다.

한의학에서 당뇨병은 소갈병으로 상소(上消), 중소(中消), 하소(下消)로 발병의 3단계를 분류하며, 장부변증체계에 따라 상초(上焦)의 심폐순환계, 중초(中焦)의 소화흡수계, 하소(下焦)의 비뇨생식계로 구분함으로써 각 단계에 따른 한약을 통해 장부기능 허실(虛實)을 조절함으로써 질병을 치료할 수 있다고 보았다. 본 연구에서는 이러한 한의학적 해석을 바탕으로 중소 한약인 갈근에 대한 당뇨병의 개선효과를 현대 약리적 실험방법으로 해석해보고자 수행하였다.

갈근은 신농본초경(神農本草經)⁷⁾ 중권에 "주(主) 소갈(消渴), 고열(高熱), 신대열(身大熱), 구토(嘔吐), 해제독(解諸毒)" 최초로 기재된 이래, 비(脾)와 위(胃)에 귀경하고, 땀을 내게 하여 근육을 풀어주는 해기발표(解肌發表), 피부의 마진(麻疹)을 치료하는투진(透疹), 진액을 생성하여 갈증을 해소시키는 생진지갈(生津止渴), 장의 기운을 도와 설사를 멈추게 하는 승양지사(升陽止瀉)의 효능으로 임상에서 상용하는 한약제이다. 갈근의 주요 성분으로는 이소플라본 계열의 puerarin, daidzin,

formononetin 등이 있으며, triterpenoid계열의 polysaccharide, soyasapogenol A 및 coumarin계열 물질들이 알려져 있다¹⁵⁾. 또한 갈근의 효능에 대한 연구로는 갈근 약침의 고지혈증 흰쥐에서의 개선효과¹⁶⁾, 항산화계에 대한 해독효과¹⁷⁾, 카드뮴해독 효과¹⁸⁾, 당뇨에서 산화적 스트레스에 대한 보호 효과¹⁹⁾ 및 뇌신경보호에 대한 효과^{13,20)} 등이 보고되었고, 성분으로 puerarin의 항당뇨 효과¹¹⁾와 STZ-유도 당뇨 흰쥐에서의 혈당강하효과²¹⁾ 및 당뇨병 초기 MMP-9 억제에 의한 신장 보호효과²²⁾ 등이 보고되었다. 본 연구에서는 고지방·고탄수화물 식이로 비만이 유도된 흰쥐에 STZ를 투여함으로써 제2형 당뇨병 유사 동물모델을 제작한 후 갈근 열수추출물을 투여함으로써 혈당, 인슐린, 총콜레스테롤, 중성지방 및 γ -GTP, GOT, GPT 등의 혈액학적 마커들의 변화 및 갈근의 귀경장부인 췌장과 위 조직 뿐 아니라 폐, 심장, 간, 신장 조직에서의 조직학적 변화를 관찰함으로써 갈근의 체내 통합적 변화에 대한 효과를 관찰해보고자 하였다.

당뇨병 동물모델은 유전적 변형이나 화학물질 투여, 식이 등의 환경변화 등 다양한 요인의 조작으로부터 제작될 수 있는데 본 연구에서의 고지방·고탄수화물 식이 유도 모델은 식이기간 동안 체내 중성지방을 축적시킴으로써 세포내 glucose-fatty acid cycle이 활성화되면서 인슐린 저항성이 발생하는 모델로 알려져 있다²³⁾. 인슐린 저항성은 인슐린비의존형인 제2형 비만형 당뇨병의 중요한 병인으로서 동의보감(東醫寶鑑)²⁴⁾에서는 살찌고 귀한사람이 달고 기름진(膏梁甘味) 음식을 많이 먹어 생긴 병을 소갈의 일종인 소단(消癪)이라 기록하였고, 체중증가 및 다음, 다식, 다뇨의 증상이 소갈의 갈이다음(渴而多飮), 소곡선기(消穀善飢), 소변빈삭(小便頻數)하는 증상과 유사하다고 기재되어 있다.

본 연구에서는 고지방·고탄수화물 식이와 더불어 췌장의 베타세포를 특이적으로 파괴시킴으로써 인슐린 분비를 저하시키는 STZ를 일정 기간 식이 후 단회 저용량 투여함으로써 당뇨병을 유발하였다. 고지방·고탄수화물 식이와 더불어 STZ를 투여하는 모델은 체중증가, 지방조직 증가, 지방간 생성, 중성지방과 총콜레스테롤 증가, 혈당 증가 및 인슐린 저항성 증가 등 사람의 제2형 당뇨병과 유사한 특징을 나타내는 것으로 알려져 있다²⁵⁻²⁷⁾. 본 연구에서 고지방·고탄수화물 식이와 STZ 투여를 통해 당뇨병을 유발한 대조군에서는 혈당 증가와 더불어 인슐린, 중성지방, 총콜레스테롤 증가가 관찰되었으며 γ -GTP, GOT, GPT의 증가를 확인하였다.

한편, 인슐린 저항성은 지방조직이나 근육과 같은 표적장기에서 인슐린의 반응이 제대로 이루어지지 않아 세포 내로 당 유입이 안 되어 체내에서는 더 많은 인슐린을 필요로 하게 되며 췌장은 인슐린 분비에 대한 요구로 고인슐린 혈증을 유발하게 된다²⁸⁾. 본 연구에서 갈근 추출물은 고지방·고탄수화물 식이와 STZ 투여로 고인슐린혈증이 유발된 흰쥐에서 인슐린 수치를 감소시켰으며 이는 갈근 추출물이 인슐린 저항성의 감소로 췌장의 인슐린 분비에 대한 요구를 경감시켜 줄 수 있는 것으로 나타났다. 이는 갈근 추출물이 당뇨병에서 고혈당 감소와 더불어 인슐린 분비 작용 조절을 통해 인슐린 저항성을 조절할 수 있음을 의미한다. 또한, 인슐린 저항성은 이상 지질혈증과 연관되어 있으며 지방축적을 위한 자유지방산(free fatty acid)의 동원, HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA) reductase 활성의 보

강, lipoprotein lipase 활성의 감소를 통해 이상지질혈증을 일으키게 된다²⁹⁾. 일반적으로 고지방 식이와 STZ로 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 혈중 중성지방과 총 콜레스테롤 증가 및 HDL-콜레스테롤 감소가 보고되고 있으며³⁰⁾, 본 연구에서도 고지방·고탄수화물 식이와 STZ 투여는 정상군에 비해 유의적으로 혈청 중성지방과 총콜레스테롤 증가를 나타내었다.

한편, 본 연구에서 고지방·고탄수화물 식이와 STZ의 투여는 각 조직에서의 구조적 손상을 유발하였는데 특히 폐와 췌장, 신장 조직 손상이 관찰되었다. 폐는 상소 한약의 귀경 장부에 속하지만 당뇨병의 진행이 상소에서 중소 단계로 진행됨으로 폐에서의 염증소견과 기관지의 구조적 손상이 함께 동반된 것으로 해석해 볼 수 있다. 또한 췌장의 경우 STZ가 췌장 베타세포에서의 xanthine oxidase 활성을 증가시킴으로써 산화물질 생성과 유전자 분절 등을 통해 세포사멸과 염증반응이 유발되어 췌장 손상에 따른 당뇨병을 유발시키는 것으로 알려져 있으며³¹⁾, 본 연구에서 고지방·고탄수화물 식이와 STZ의 투여는 췌장의 구조적 손상과 랑게르한스섬의 수적 감소를 유발하는 것으로 나타났다. 또한 신장조직에서는 당뇨유발로 사구체 기저막과 메산지움(mesangium)의 비후가 두드러지게 관찰되었다. 이는 당뇨병성 신증의 경우 신장 내 tumor growth factor가 세포외 기질에 콜라겐 축적을 유도함으로써 섬유화 시키게 되어 발생한다고 알려져 있다^{32,33)}. 또한 산화적 스트레스에 손상을 받기 쉬운 간이나 폐 조직은 인슐린저항성이나 고인슐린혈증 등으로 인해 유리지방산의 이동이 증가하고 간세포 내 지방이 축적됨으로써 간세포의 이차적 손상으로 산화적 손상을 더욱 쉽게 받을 수 있는 환경을 일으키게 되는 것으로 알려져 있다³⁴⁾. 본 연구에서 갈근 추출물의 투여는 폐 조직에서의 염증을 감소시키고, 췌장의 구조적 손상과 랑게르한스섬의 수적 감소를 막아주었으며, 신장에서의 구조적 손상도 경감시키는 것으로 나타났다. 특히 중소 한약의 귀경장부 중 하나인 췌장에서의 구조적 손상 억제효과가 우수한 것으로 나타났으며, 하소 장부인 신장에서도 보호효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 기타 심장이나 위 조직에서의 변화는 정상군과 대조군 간 차이를 확인하기 어려웠으며, 간 조직의 경우는 지방세포 내 지방누적이 관찰되었으나 이에 대해서는 당대사 및 염증관련 지표 변화 등에 대한 추가적 면역염색 등을 통해 확인해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다.

결론적으로 고지방·고탄수화물 식이와 STZ 투여로 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 갈근 추출물의 투여는 대조군에 비해 혈당과 인슐린의 증가를 유의적으로 감소시킴으로써 인슐린 조절을 통해 인슐린 저항성을 개선시킬 수 있는 것으로 나타났으며, 폐와 췌장 및 신장조직에서의 구조적 손상을 감소시킴으로써 이들의 기능개선을 통해 당뇨병을 개선시킬 수 있음을 확인하였다. 또한 중소 한약으로써 갈근은 상소 단계인 폐의 손상을 막을 뿐 아니라, 신장조직 보호를 통해 하소 단계로의 이행을 막아줄 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 갈근은 중소한약의 귀경장부를 조절함으로써 당뇨병의 진행 단계를 조절할 수 있을 것으로 사료된다.

결론

본 연구에서는 고지방·고탄수화물 식이와 저용량 STZ

단회 투여에 의해 당뇨병이 유발된 마우스에서의 갈근 추출물의 당뇨병 개선효과를 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 갈근 추출물은 고지방·고탄수화물 식이/STZ 투여 당뇨병 마우스에서 혈당의 증가를 유의적으로 감소시켰다.
2. 갈근 추출물은 고지방·고탄수화물 식이/STZ 투여 당뇨병 마우스에서 혈청 인슐린의 증가를 유의적으로 감소시켰다.
3. 갈근 추출물은 고지방·고탄수화물 식이/STZ 투여 당뇨병 마우스에서 폐, 췌장, 신장 조직의 구조적 손상을 감소시켰다.

이상의 결과로부터 갈근 추출물은 당뇨병으로 인한 고혈당과 고인슐린 조절과 췌장조직 보호를 통해 당뇨병을 개선시킬 수 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2014년 한국한의학연구원 한의이론과학화사업의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다 (K-2014-A0175-00006).

References

1. Nepom GT. A unified hypothesis for the complex genetics of HLA associations with IDDM. *Diabetes*. 1990 ; 39(10) : 1153-7.
2. Im JI. Recent trends in diabetes research. *Health Ind Technol Trends*. 2003 ; 1 : 28-38.
3. Wang B(王永). Hwangjaenaegyung somun(黄帝内經素問). Seoul : Daesung Munhwa publishing company. 1994 : 236-7, 284-8.
4. Hong WS. Hwang-Je-Nae-Gyeong-So- Moon. Seoul : Publisher of Oriental medicine, 1981 : 18, 138, 238, 249, 257, 263, 269, 274, 297, 299, 301.
5. Gong SE, Yoon IJ, Heo DS, Oh MS. Study of oriental medical science documentary records of "So-gal". *J Daejeon University Inst Orient Med*. 2007 ; 16(1) : 107-14.
6. Du Hogeong. Dong-ui-sin-gye-hak. Seoul : Seongbosa. 2006 : 1131.
7. Do Honggyeong. Bonchogyongjipju. Beijing : InminwisaengchulpanSa. 1994 : 271.
8. Textbook Compilation Committee of college of Korean Medicine. *Herbology*. Seoul : Younglim. 1991 : 148-9.
9. Lee JS, Lee KH, Jeong JH. Effects of extract of pueraria radix on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 1999 ; 28(1) : 218-24.
10. Kim MJ. Effects of Extracts of Pueraria radix on the Glucose Tolerance and Glucose Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Graduate School of Education, Kosin Univ. 2008.
11. Lim HA, Lim JS, Kim JS. Anti-Diabetic Effect of Puerarin Isolated from Puerariae Radix. *Agic Rex Bull Kyungbook Natl Univ*. 2006 ; 12 : 29-35.
12. She S, Liu W, Li T, Hong Y. Effects of puerarin in STZ-induced diabetic rats by oxidative stress and the TGF- β 1/Smad2 pathway. *Food Funct*. 2014 ; 5(5) : 944-50.
13. Song JB, Choi JG, Lee DH, Gaire BP, Lee CW, Bu YM, Choi HY, Kim HC. Neuroprotective effect of Puerariae Radix extract on focal cerebral ischemia in mice. *Kor J Herbology*. 2012 ; 27(6) : 71-6.
14. Kim SN, Kim HS, Nam GS, Hwang SW, Hwang SY. Inhibition of Inflammatory cytokines Production and Prostaglandin E2 Activity by Puerariae Radix Extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2006 ; 35(1) : 28-34.
15. Jun M, Fu HY, Hong J, Wan X, Yang CS, Ho CT. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (Pueraria lobata Ohwi). *J Food Sci*. 2003 ; 68 : 2117-22.
16. Song WG, Kang JH, Lee HT. Effect of Puerariae Radix herbal-acupuncture at GB34 (Yangleungcheon) on hyperlipidemia in rats. *J Korean Acup Moxib Soci*. 2009 ; 26(4) : 79-90.
17. Lee OH. Effects of supplementation of Puerariae Radix ethanol extract on the antioxidative defense system in rats. *Korean Nutr Soc*. 2004 ; 37(10) : 872-80.
18. Chung YH, Han SH, Shin MK. Effects of Puerariae Radix in water extract on the detoxification in rat administered with cadmium. *Korean J diary culture*. 2002 ; 17(4) : 456-64.
19. Kang KA, Chae S, Koh YS, Kim JS, Lee JH, You HJ, Hyun JW. Protective effect of puerariae radix on oxidative stress induced by hydrogen peroxide and streptozotocin. *Biol Pharm Bull*. 2005 ; 8(7) : 1154-60.
20. Bu IK, Kin YS. Effect of Puerariae Radix on hippocampal neurons in ischemic damaged rats. *Kor J Herbology*. 2004 ; 19(1) : 77-82.
21. Lee JS, Kim MJ. Effect of extract of Pueraria radix On Glucose metabolism in STZ-induced diabetic rats. *Kosin J health scie*. 2008 ; 18(15) : 15-22.
22. Zhong Y, Zhang X, Cai X, Wang K, Chen Y, Deng Y. Puerarin attenuated early diabetic kidney injury through down-regulation of matrix metalloproteinase 9 in streptozotocin induced diabetic rats. *PLoS*

- One, 2014 ; 15 (9) : e85690.
23. Randle PJ. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab Rev.* 1998 ; 14(4) : 263–83.
 24. Heo J. *East medicine therapeutic manual (Donguibogam)*. Seoul : Minjungseogak, 1996 : 954.
 25. Sasidharan SR, Joseph JA, Anandakumar S, Venkatesan V, Ariyattu Madhavan CN, Agarwal A. An Experimental Approach for Selecting Appropriate Rodent Diets for Research Studies on Metabolic Disorders. *Biomed Res Int.* 2013 ; 2013 : 752870.
 26. Daly A. Use of insulin and weight gain: optimizing diabetes nutrition therapy. *Am Diet Assoc.* 2007 ; 107(8) : 1386–93.
 27. Chalkley SM, Hettiarachchi M, Chisholm DJ, Kraegen EW. Long-term high-fat feeding leads to severe insulin resistance but not diabetes in Wistar rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002 ; 282(6) : E1231–8.
 28. Purrello F, Rabuazzo AM. Metabolic factors that affect beta-cell function and survival. *Diabetes Nutr Metab.* 2000 ; 13(2) : 84–91.
 29. Sharma AK, Bharti S, Kumar R, Krishnamurthy B, Bhatia J, Kumari S, Arya DS. *Syzygium cumini* ameliorates insulin resistance and β -cell dysfunction via modulation of PPAR, dyslipidemia, oxidative stress, and TNF- α in type 2 diabetic rats. *J Pharmacol Sci.* 2012 ; 119(3) : 205–13.
 30. Zheng XK, Zhang L, Wang WW, Wu YY, Zhang QB, Feng WS. Anti-diabetic activity and potential mechanism of total flavonoids of *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring in rats induced by high fat diet and low dose STZ. *J Ethnopharmacol.* 2011 ; 137(1) : 662–8.
 31. Nukatsuka M, Sakurai H, Yoshimura Y, Nishida M, Kawada J. Enhancement by streptozotocin of O₂ radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic beta-cells. *FEBS Lett.* 1988 ; 239(2) : 295–8.
 32. Cooper ME. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia.* 2001 ; 44 : 1957–72.
 33. Han YK, Park YK. Effect of *Atractylodis Rhizoma Alba* water extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Kor J Herbology.* 2011 ; 26(4) : 23–30.
 34. HS Jang, JS Yu, BY Song. Recent research trends in Korean Medicine treatment of diabetes mellitus. *J Pharmacopuncture.* 2008 ; 11(4) : 65–77.