

Jaceosidin이 streptozotocin으로 유도된 당뇨 쥐의 혈당강하 및 항산화능에 미치는 영향*

박은교¹ · 권병목² · 정인경³ · 김정현^{3†}

중앙대학교 대학원 가정학과,¹ 한국생명공학연구원 의과학융합연구본부,² 중앙대학교 체육교육과³

Hypoglycemic and antioxidant effects of jaceosidin in streptozotocin-induced diabetic mice*

Park, Eunkyo¹ · Kwon, Byoung-Mog² · Jung, In-Kyung³ · Kim, Jung-Hyun^{3†}

¹Dept. of Home Economics, Graduate School, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

²Division of Biomedical Convergent, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea

³Dept. of Physical Education, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

ABSTRACT

Purpose: In this study, we investigated the effects of jaceosidin on blood glucose regulation in type 1 diabetic mice. **Methods:** C57BL/6 mice were divided into four groups; normal control (Normal), diabetes control (D-Control), diabetes low-jaceosidin (D-0.005%), and diabetes high-jaceosidin (D-0.02%). Type 1 diabetes was induced by streptozotocin and mice were then fed a diet containing jaceosidin for eight weeks. Fasting blood glucose, oral glucose tolerance test, insulin tolerance test, lipid peroxidation, and antioxidant enzyme activities were assessed. **Results:** Jaceosidin supplementation for eight weeks had no effect on body weight, organ weight, and blood lipid profiles. However, jaceosidin supplementation significantly lowered fasting blood glucose level and reduced insulin resistance. We also found that jaceosidin supplementation increased antioxidant capacity by enhancement of catalase and GSH-px activities. **Conclusion:** These results suggest that jaceosidin could be a therapeutic candidate to ameliorate hyperglycemia through increase of antioxidant enzyme activity.

KEY WORDS: jaceosidin, diabetes mellitus, antioxidant, lipid peroxidation

서 론

우리나라 국민의 사망원인 중 4위를 차지하고 있는 당뇨병은 유병률이 2001년 8.6%에서 2010년 9.7%로 증가하는 추세에 있다.¹ 또한, 전 세계적으로도 약 2억 8,500만 명의 당뇨병 환자들이 있으며, 2030년에는 약 4억 3,800만 명으로 증가할 것으로 예상되고 있어 이를 예방하고 치료하고자 하는 노력이 지속적으로 이루어지고 있다.¹

당뇨병의 종류로는 자가면역성, 원인불명성 베타세포 파괴로 인해 인슐린 분비가 감소되어 발병하는 제1형 당뇨병과 인슐린 저항성, 베타세포 기능부전에 의한 인슐린 결함

으로 발생하는 제2형 당뇨병이 있으며, 이중 제1형 당뇨병은 인슐린의 절대적 결핍으로 발병이 급속하게 진행되고 여러 합병증을 유발한다고 알려져 있다.²⁻⁴ 또한, 당뇨병으로 인한 합병증은 혈당이 높게 유지되면서 reactive oxygen species (ROS)가 과다하게 생성되어 발생하는 것으로 알려져 있다.⁵⁻⁸ 정상적인 세포의 경우 유리기의 생성과 항산화 방어 시스템의 활성이 균형을 이루고 있어 조직이나 세포에 손상을 주지 않으나⁹ 당뇨병으로 인해 혈당이 높게 유지되면 체내 유리기가 과다 생성되고, 이를 방어하는 항산화 시스템의 기능이 감소되어 균형이 깨지게 되고, 이로 인해 산화적 스트레스가 과도하게 발생하게 된다.¹⁰⁻¹² 과도한

Received: July 24, 2014 / Revised: August 8, 2014 / Accepted: August 27, 2014

*This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korean Government (NRF-2013R1A1A2006028).

†To whom correspondence should be addressed.
tel: +82-02-820-5378, e-mail: jjhkim@cau.ac.kr

© 2014 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

산화적 스트레스는 알도스환원효소와 hexosamine 경로의 활성을 증가시키고, 포도당 자기 산화 반응을 유발하여 최종당화산물 (advanced glycation endproducts; AGEs)의 형성을 증가시킬 뿐 아니라⁵⁻⁸ 세포 내의 지질과산화물의 생성을 증가시켜 당뇨병 증상을 악화시키고 여러 합병증을 유발하는 것으로 알려졌다.^{13,14} 따라서 당뇨병에 의해 높아진 혈당을 조절함과 동시에 체내의 항산화능을 향상시키는 것이 당뇨병 뿐 아니라 합병증의 예방 및 치료에 효과적인 것으로 보고되고 있어 최근에는 항산화능을 가진 천연 식물 소재 기능성 물질을 탐색하여 당뇨병의 치료와 합병증 예방에 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

쑥은 예로부터 복통, 출혈, 두통, 간염, 류마티스, 황달, 빈혈, 고혈압, 신경통, 발열 등의 질환에 사용되어 왔다¹⁵. 최근에는 약쑥(*Artemisia princeps*)의 기능성 성분으로 eupatilin과 jaceosidin이 분석되었으며,¹⁶ 이중 jaceosidin은 강력한 항산화력과 함께 항암, 항염증 작용을 갖는 것으로 보고되고 있다.¹⁷⁻¹⁹ 또한, 약쑥에 함유된 flavone이 제2형 당뇨 동물모델 연구에서 항산화력을 증가시켜 혈당과 지질대사를 개선하는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.^{20,21} 따라서, 항산화력과 항염증 작용을 하는 것으로 알려진 jaceosidin은 산화적 스트레스가 높은 당뇨병 환자의 산화적 스트레스를 억제하고, 혈당을 낮춤으로써 당뇨 증상을 완화시키는데 효과가 있을 것으로 판단된다. 그러나, jaceosidin이 제1형 당뇨시 혈당조절이나 그 기전에 미치는 영향에 대한 연구는 전무하므로, 본 연구에서는 jaceosidin 섭취가 당뇨 시 당 대사와 항산화능에 미치는 영향을 규명하고, 그 기전을 밝힘으로써 당뇨병 및 당뇨 합병증의 예방·치료에 효과적인 천연 식품 소재로서 jaceosidin의 기능을 밝히고자 한다.

연구방법

실험 동물 사육 및 처리

중앙실험동물에서 5주령 된 수컷 C57BL/J mice를 구입하여 일주일간 안정화 시킨 후, 정상군 (Normal)을 제외한 mice에 5일간 streptozotocin (55 mg/kg body weight)을 i.p. 주사하여 당뇨를 유도하였다. 48시간 후 6시간 절식을 시킨 상태에서 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 혈당을 측정 (Accu-CHEK, Roche, Germany)하였으며 혈당치가 200 mg/dl 이상인 실험동물을 3그룹 (당뇨 대조군 (D-Control), 0.005% jaceosidin 섭취군 (D-0.005%), 0.02% jaceosidin 섭취군 (D-0.02%))으로 나누어 각 그룹에 해당하는 실험 식이를 공급하였다. 체중과 식이 섭취량은 주 2회 측정하였으며, 실험기간동안의 총 체중 증가량을 동일 기간 동안의 총 식이섭취량으로 나누어 식이효율 (FER)을 계산하였다.

동물은 중앙대학교 내 청정동물연구센터에서 사육되었으며, 동물실험실은 온도 22±1°C, 습도 50 ± 1%를 유지하였고 12시간 간격으로 점등과 소등을 반복하였다. 실험 식이는 AIN-93 purified rodent diet base를 기초로 하였으며, jaceosidin은 각각 0.005%, 0.02%를 첨가하여 pellet 형태로 제조 ((주)유니페이스, Seoul, Korea)한 후 4°C에서 냉장 보관하였다. 실험식이의 조성은 Table 1과 같다. 본 동물실험은 중앙대학교의 동물윤리위원회에 의해 승인되었다 (승인번호: 13-0036).

혈당 및 내당능 측정

실험식이를 공급한 후 1주일 간격으로 꼬리정맥으로부터 채혈하여 공복혈당을 측정하여 혈당 변화를 측정하였다. 경구 당부하 검사는 실험 사육 7주 경에 6시간을 절식시킨 다음 공복혈당을 측정하였으며, 이후 glucose (2 mg/Kg body weight)를 경구 투여하고 15, 30, 60, 120분 후에 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 혈당을 측정하였다.

인슐린 내성 검사

인슐린 내성 검사는 실험 사육 8주 경에 6시간 절식시켜 공복 혈당을 측정한 뒤 insulin (0.75 U/kg body weight)을 i.p. 주사하여 15, 30, 60, 120분 후에 혈당의 변화를 측정하였다.

채혈 및 장기 적출

희생하기 전 12시간 공복시킨 실험동물을 에테르로 마취한 후 헤파린을 첨가한 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 원심분리 (1,000 rpm, 20 min)하여 혈장을 분리하고, 분석 전까지 -80°C에 냉동 보관하였다. 해부 후 간, 신장, 비장, 지방 조직은 혈액을 제거한 후 여과지로 습기를 제거하였고 장기 무게를 측정 후 액

Table 1. Composition of experimental diets (g/Kg diet)

Groups Ingredients	Normal	D-Control	D-0.005%	D-0.02%
Corn Starch	397.4	397.4	397.3	397.2
Casein	200.0	200.0	200.0	200.0
Dextrin	132.0	132.0	132.0	132.0
Sucrose	100.0	100.0	100.0	100.0
Soybean oil	70.0	70.0	70.0	70.0
Cellulose	50.0	50.0	50.0	50.0
Mineral mix. ¹⁾	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix. ²⁾	10.0	10.0	10.0	10.0
L-cysteine	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.0	2.0	2.0	2.0
Jaceosidin	-	-	0.05	0.2

1) AIN-93 mineral mixture

2) AIN-93 vitamin mixture

체질소에 냉동시켜 -80°C에 냉동 보관하였다.

간 기능 손상 정도 측정

간 기능 지표인 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)와 glutamic pyruvic transaminase (GPT)의 활성은 kit (Asan Chemical, Seoul, Korea)을 이용하여 제시된 실험방법에 따라 측정하였다.

간내 지질 과산화물 함량 측정

간 조직에서의 지질 과산화물 (thiobarbituric acid reactive substance, TBARS)농도는 TBA 시약을 이용하여 측정한다. 표준용액은 1,1,2,2,-tetraethoxypropane을 methanol과 증류수로 희석하여 농도별로 만들었으며, 시료는 간 조직 0.025 g을 250 μ L의 RIPA buffer에 넣고 sonication하여 준비하였다. 표준용액 혹은 간 균질액에 1% 인산용액과 TBA 용액을 혼합한 후 60분동안 끓였으며 n-butanol을 넣은 후 2000 rpm에서 15분 원심분리 하여 상층액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 1,1,3,3,-tetraethoxypropane 농도에 따른 TBA값으로 표준곡선을 이용하여 각 시료의 지질 과산화물의 함량을 계산하였다.

간내 항산화 효소의 활성 측정

간내 항산화 효소의 활성을 측정하기 위하여 간 조직을 균질화한 후, superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-px) 활성을 kit (Cayman, CA, USA)을 이용하여 측정하였다. SOD는 간 균질액을 1.500 \times g에서 5분간 원심분리 한 뒤 상층액을 radical detector에 넣은 후 zanthine oxide를 넣어 440~460 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액의 흡광도로 표준곡선을 그린 뒤 각 시료의 SOD 활성을 계산하였다. Catalase의 활성은 간 균질액을 10,000 \times g에서 15분간 원심분리 한 뒤 얻어지는 상층액을 이용하여 실험하였다. formaldehyde standard와 시료에 assay buffer, methanol, hydrogen peroxide를 넣고 20분간 실온에서 방치 후 potassium hydroxide와 purpald를 넣고 10분간 배양하고 potassium periodate를 넣어 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase 활성도 표준곡선을 이용하여

계산하였다. GSH-px는 10,000 \times g에서 15분간 원심분리 하여 얻어지는 간 균질액의 상층액을 assay buffer와 co-substrate에 Cumene Hydroperoxide를 넣은 후 340nm에서 흡광도를 시간대 별로 찍어 각 시간에 따른 흡광도의 변화를 계산하여 GSH-px의 활성을 측정하였다.

통계 분석

모든 실험 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타내었다. 각 실험군에 대한 유의차 검정은 SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 일원분산분석(ANOVA)을 실시한 후, $p < 0.05$ 수준에서 Tukey's multiple range test를 이용하여 유의성을 검증하였다.

결 과

Jaceosidin이 체중 변화 및 식이효율에 미치는 영향

Jaceosidin의 섭취가 체중 및 식이효율에 영향을 미치는지 본 알아본 결과는 Table 2와 같다. 섭취 전 체중은 모든 군에서 유의한 차이가 없었으나 실험 후 STZ로 당뇨병을 유도한 군의 체중이 Normal과 비교하여 유의하게 감소하였다. 당뇨병군에서는 Jaceosidin의 섭취 유무에 따라 체중의 차이가 없는 것으로 나타났으나, jaceosidin을 섭취한 군의 체중이 D-Control보다 다소 높은 경향을 보였다. 8주간 체중 증가량을 측정한 결과 Normal은 2.2 g의 체중이 증가하였으나, 당뇨병의 경우 체중이 감소하는 것으로 나타났으며, D-0.02%의 경우 Normal군보다 체중이 유의적으로 감소한 것으로 나타났다. 식이 섭취량의 경우, Normal의 섭취량이 당뇨병군에 비해 유의적으로 적은 것으로 나타났으며, 당뇨병군 중에서는 D-Control의 섭취량이 D-0.005%에 비해 유의적으로 많은 것으로 나타났다. 식이효율은 정상군이 당뇨병군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 당뇨병군간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Jaceosidin이 장기무게에 미치는 영향

Jaceosidin이 장기 무게에 영향을 미치는지 알아보기 위해 간, 비장, 신장, 지방조직의 무게를 측정한 결과는 Table

Table 2. Effects of jaceosidin on changes in body weight, food intake, and food efficiency ratio in STZ-induced diabetic mice

Groups	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Food intake (g/day)	Total body weight gain (g/8 weeks)	FER ²⁾
Normal	25.24 \pm 1.68 ¹⁾	27.44 \pm 3.13 ^a	2.97 \pm 0.49 ^c	2.20 \pm 2.25 ^a	1.13 \pm 0.52 ^a
D-Control	22.70 \pm 3.31	21.90 \pm 2.88 ^b	5.10 \pm 0.57 ^a	-0.80 \pm 3.82 ^{ab}	-0.16 \pm 0.46 ^b
D-0.005%	23.16 \pm 1.72	22.36 \pm 1.27 ^b	4.30 \pm 0.84 ^b	-0.80 \pm 2.63 ^{ab}	-0.26 \pm 0.41 ^b
D-0.02%	23.98 \pm 2.45	22.48 \pm 3.53 ^b	4.67 \pm 0.70 ^{ab}	-1.50 \pm 2.15 ^b	-0.46 \pm 0.23 ^b

1) Mean \pm SEM 2) FER: Food efficiency ratio

Values not sharing the same letter were significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Effects of jaceosidin on organ weight in STZ-induced diabetic mice

Group	Normal	D-Control	D-0.005%	D-0.02%
Tissue Weight (g)				
Liver	1.132 ± 0.093 ¹⁾	1.047 ± 0.231	1.095 ± 0.089	1.061 ± 0.143
Spleen	0.090 ± 0.026 ^a	0.057 ± 0.021 ^b	0.054 ± 0.008 ^b	0.057 ± 0.016 ^b
Kidney	0.351 ± 0.033	0.364 ± 0.058	0.347 ± 0.058	0.369 ± 0.048
Epididymal adipose tissue	0.709 ± 0.273 ^a	0.138 ± 0.148 ^b	0.210 ± 0.122 ^b	0.174 ± 0.191 ^b
Perirenal adipose tissue	0.231 ± 0.097 ^a	0.017 ± 0.042 ^b	0.034 ± 0.047 ^b	0.045 ± 0.076 ^b

1) Mean ± SEM

Values not sharing the same letter were significantly different (p < 0.05).

Table 4. Effects of jaceosidin on liver function in STZ-induced diabetic mice

	Normal	D-Control	D-0.005%	D-0.02%
GOT (U/L)	65.8 ± 8.9 ¹⁾	131.8 ± 66.6	93.6 ± 18.1	132.0 ± 70.7
GPT (U/L)	16.6 ± 3.3	55.2 ± 36.2	32.4 ± 5.4	48.7 ± 40.5

1) Mean ± SEM

Values not sharing the same letter were significantly different (p < 0.05).

3과 같다. 간과 신장의 무게는 그룹 간 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 비장과 부고환 지방, 신장주위 지방조직의 무게는 당뇨군이 Normal군에 비해 유의적으로 적었다. Jaceosidin의 섭취에 따른 조직 무게의 변화는 D-Control군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았으나 부고환지방과 신장주위 지방조직의 경우 D-Control에 비해 다소 높은 경향을 보였다.

Jaceosidin이 간 기능에 미치는 영향

Jaceosidin의 섭취가 간 기능에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈장 GOT, GPT 활성을 측정된 결과 (Table 4), GOT와 GPT의 활성은 그룹 간에 유의한 차이가 없었으나 Normal군이 활성이 당뇨군에 비해 낮게 나타났으며, jaceosidin 섭취는 간기능에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

Jaceosidin이 공복혈당, 내당능 및 인슐린 내성에 미치는 영향

제1형 당뇨병에서 jaceosidin의 섭취가 공복 혈당, 내당능 및 인슐린 내성에 미치는 영향을 알아보기 위해 공복 혈당과 당부하 검사, 인슐린 내성을 측정하였다 (Fig. 1). 공복혈당의 경우 당뇨군의 혈당이 Normal군에 비해 유의적으로 높았으며, jaceosidin을 섭취시킨 군이 D-Control에 비해 감소하는 경향을 보였다. 특히 D-0.005%군은 D-Control에 비해 공복 혈당 수준이 유의적으로 낮았다 (Fig. 1A).

7주간의 jaceosidin의 섭취가 당뇨시 내당능에 미치는 영향을 측정된 결과는 Fig. 1B와 1C에 제시되었다. Normal군의 공복혈당이 당뇨군보다 유의적으로 낮았으며, 당뇨군 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한, 정상군의 경우 포도당을 경구 투여한 이후 15분경에 최대 혈당 수치를

보였으며, 이후 감소하여 120분 이후에는 공복혈당과 비슷한 수치가 되었다. 그러나, 당뇨군의 경우 포도당 투여 후 15~30분에 최고 혈당치를 보였고, jaceosidin의 섭취에 따른 내당능의 차이는 보이지 않았다.

Jaceosidin의 섭취에 따른 인슐린 저항성을 측정된 결과 (Fig. 1D, 1E), Normal군의 경우 혈당이 서서히 감소하여 60분에 가장 최저치를 보였고, 그 이후 서서히 증가되었다. 당뇨군의 경우 인슐린 처치 15분 이후부터 혈당이 감소하기 시작하였으며, 120분까지 공복혈당보다 낮은 수준으로 혈당이 유지되었다. 또한, 인슐린 저항성의 경우 jaceosidin 섭취군과 D-Control간에 유의적인 차이는 없었으나, D-0.002%군의 인슐린 내성이 낮은 경향을 나타내었다.

Jaceosidin이 과산화 지질 생성 및 체내 항산화 체계에 미치는 영향

Jaceosidin 섭취가 당뇨병으로 인해 야기되는 산화적 스트레스와 항산화 체계에 미치는 영향을 측정된 결과는 Table 5와 같다. Jaceosidin의 섭취가 당뇨병으로 인한 산화적 스트레스에 미치는 영향을 간내 과산화 지질 함량으로 측정된 결과 모든 군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 항산화 효소 활성의 경우, Normal군의 활성이 D-Control보다 높게 나타났다. 또한, 당뇨병으로 인해 낮아진 항산화 효소의 활성은 jaceosidin의 섭취에 의해 높아지는 경향을 보였다. GSH-px의 경우, D-0.005%와 D-0.02%군의 활성이 D-Control과 비교하여 유의적으로 높게 나타났으며, Normal 군과는 차이를 보이지 않았다. 또한, catalase의 경우 jaceosidin을 섭취한 군의 활성이 D-Control보다 높은 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다.

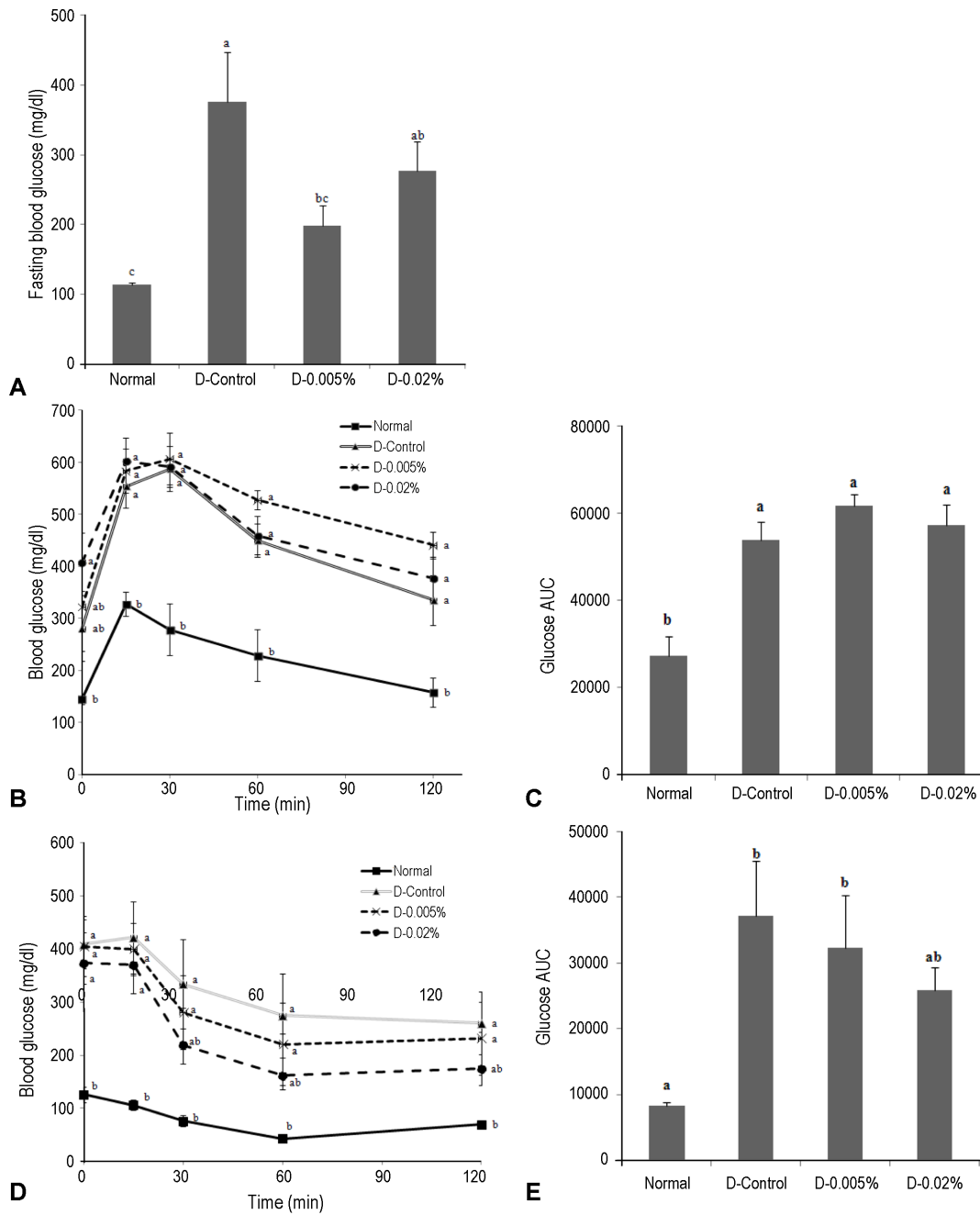


Fig. 1. Effects of jaceosidin intake on fasting blood glucose, oral glucose tolerance test and insulin tolerance test in STZ-induced mice. A: Fasting blood glucose levels after 8 weeks of diet, B: Oral glucose tolerance test (OGTT) was performed at 6 week of diet. C: Area under curve (AUC) was calculated based on OGTT results. D: Insulin tolerance test (ITT) was performed at 7 week of diet. E: AUC was calculated based on ITT results.

고찰

당뇨병 증상이나 당뇨병 합병증은 혈당이 높게 유지되면서 과도하게 생성된 유리기로 인해 항산화 시스템의 기능이 감소되어 항산화 체계의 균형이 깨지고, 이로 인해 세포

막의 지질과산화물과 최종 당산화물(AGEs)이 생성되고 축적됨으로써 야기된다고 보고되고 있다.^{10,12} 또한, 산화적 스트레스시 전사인자인 NF- κ B의 활성이 증가되어 염증인자의 발현을 증가시킴으로써 당뇨병 증상을 더욱 악화시키는 것으로 보고되고 있다.²²⁻²⁶ 당뇨로 인한 고혈당

Table 5. Effects of jaceosidin on liver lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in STZ-induced diabetic mice

	Normal	D-Control	D-0.005%	D-0.02%
TBARS ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)	0.78 \pm 0.05 ¹⁾	0.68 \pm 0.04	0.66 \pm 0.67	0.79 \pm 0.62
SOD (U/ml/mg protein)	67.14 \pm 8.15 ^a	36.75 \pm 12.41 ^{ab}	28.94 \pm 12.60 ^b	58.49 \pm 8.44 ^{ab}
GSH-px (nmol/min/ml)	694.04 \pm 42.53 ^{ab}	597.82 \pm 64.06 ^b	761.95 \pm 31.01 ^a	826.57 \pm 36.09 ^a
Catalase (nmol/min/ml/mg protein)	323.23 \pm 13.03 ^a	272.74 \pm 16.40 ^b	289.54 \pm 14.52 ^{ab}	301.79 \pm 11.52 ^{ab}

1) Mean \pm SEMValues not sharing the same letter were significantly different ($p < 0.05$).

과 과도한 산화적 스트레스, 염증반응은 심혈관계질환, 당뇨병 망막증, 당뇨 신증, 상처치유 억제와 같은 합병증을 유발시키는 것으로 알려져 있다.^{2,8,28} 따라서, 당뇨병의 증상을 완화시키기 위해 혈당을 낮출 뿐 아니라 산화적 스트레스를 완화시킴으로써 당뇨병을 억제하고 그 합병증을 예방하기 위한 연구가 지속적으로 이루어지고 있으며, 항산화, 항염증 및 항암 기능^{19,29,30}을 갖는 jaceosidin이 당뇨병의 증상을 완화시킬 수 있을 것으로 사료되는 바, 제 1형 당뇨병 모델을 이용하여 jaceosidin이 혈당 및 항산화능에 미치는 효능을 알아보았다.

Jaceosidin의 항당뇨 효능을 제1형 당뇨병 모델을 이용하여 측정한 결과, D-0.005%군의 공복 혈당이 D-Control에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며, D-0.02%군은 유의적인 차이는 없었으나 D-Control에 비해 감소하는 경향을 보였다. 여러 연구 결과에 의하면 항산화제를 섭취하거나 항산화효소의 발현을 증가시키게 되면 산화적 스트레스가 감소되어 췌장내 β 세포의 사멸이 억제되거나, 간내 glucose transporter의 발현이 증가되어 혈당이 감소하고 산화적 스트레스를 저하시킨다고 보고되고 있다.³¹⁻³³ 따라서, jaceosidin에 의한 혈당 감소 효과가 산화적 스트레스를 억제함으로써 야기되는 것인지를 알아보기 위해 간 내 과산화지질의 농도와 항산화 효소의 활성을 측정하였다. 그 결과, 과산화지질의 농도에는 유의적인 차이가 없었으나, GSH-px의 활성이 D-Control에 비해 유의적으로 높아졌으며, catalase의 활성도 높아지는 경향을 보였다. 따라서, jaceosidin의 섭취가 과산화지질의 생성을 억제하지는 못하였으나, jaceosidin 자체의 항산화력과 체내 항산화효소인 GSH-px의 활성을 증가시켜 산화적 스트레스를 억제함으로써 공복 혈당을 감소시킨 것으로 사료된다. Jaceosidin이 함유된 약쥬는 강력한 항산화력이 있는 것으로 보고되고 있다.³⁰ Superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical과 같은 유리기 소거능이 positive Control인 butylated hydroxyanisole (BHA)보다 높은 것으로 나타났으며, 간내 지질과산화물의 생성을 효과적으로 감소시키는 것으로 보고되었다.³⁴ 이러한 항산화능은 약쥬내 다량 함유된 flavone인 eupatiolin과 jaceosidin에 의한 것으로 나타났다.¹⁷ 뿐만 아니라

jaceosidin은 NF- κ B의 활성을 억제함으로써 pro-inflammatory mediators인 prostaglandin E₂와 tumor necrosis factor- α , interleukin-1의 발현을 억제하는 것으로 보고되고 있다.¹⁹ 따라서, jaceosidin은 외인적, 내인적 항산화력을 증진시켜 산화적 스트레스를 감소시킬 뿐 아니라 과도한 염증반응으로 인해 악화될 수 있는 당뇨병의 증상을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

다른 여러 연구에서도 항산화능이 있는 성분이나 각종 식물 추출물의 섭취가 당뇨병으로 인한 산화적 스트레스를 감소시켜 공복혈당을 감소시키거나,^{35,36} 혈당과 상관없이 항산화능을 향상시키는 것으로 보고하고 있다.³⁷ 생약제나 외송 추출물을 1% 섭취시킨 군의 경우 공복혈당을 유의적으로 감소시키고, 항산화능을 향상시켜 지질과산화물의 생성을 억제하는 것으로 보고되었으며,^{36,37} asiatic acid (20 mg/kg body weight)를 제1형 당뇨병 모델에 섭취시킨 결과, 공복혈당을 낮출 뿐 아니라 GSH와 GSH-px, catalase 등 체내 항산화 효소의 활성을 높이는 것으로 보고되었다.³⁶ 그러나, 대부분의 추출물이나 단일성분의 항당뇨 효능 연구에서는 총 섭취량의 0.5%~1% 또는 체중당 20 mg을 섭취시켜 본 연구에서 사용한 0.005%~0.02%보다 다량의 성분을 섭취시켰다. 따라서, 소량의 섭취만으로 공복 혈당을 감소시킬 뿐 아니라 항산화 효소의 활성을 증가시키는 jaceosidin이 당뇨병을 예방하고 억제하는데 더욱 효과적으로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Jaceosidin의 섭취 여부에 따른 내당능을 측정한 결과 유의적인 차이를 보이지 않았으나 인슐린에 대한 민감성을 측정하는 ITT 실험 결과에서는 0.02% Jaceosidin을 섭취한 군의 AUC (곡면하면적)가 감소하는 것으로 나타나 인슐린 민감도가 당뇨 대조군에 비해 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 쥬 추출물의 섭취가 인슐린 저항성을 낮춰 당뇨병 증상을 완화시켰다는 연구결과³⁸와 유사한 경향을 보였다. 제1형 당뇨병의 경우 인슐린을 투여하여 혈당을 낮추기 때문에 인슐린의 민감성을 향상시켜주는 jaceosidin과 같은 기능성 성분을 섭취한다면 적은 양의 인슐린으로 혈당을 효율적으로 조절할 수 있을 것으로 기대된다.

STZ에 의해 유도된 당뇨군은 정상군과 비교하여 체중 및

식이 효율이 낮았다. 이는 당뇨병으로 인해 체내 에너지 대사에 불균형이 초래됨으로써 발생한 것으로, 다량의 항산화 성분을 섭취하게 되면 체중감소가 완화되고, 식이효율이 높아진다고 보고되고 있다.^{39,40} 그러나 본 연구에서는 항산화 능이 있는 jaceosidin의 섭취가 체중감소와 식이효율에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났는데, 이는 jaceosidin을 식이의 0.005%~0.02%로 섭취시켜 다른 연구와 비교하여 적은 양(0.1%~0.5%)을 섭취시켰기 때문으로 판단된다.^{39,40} 또한, jaceosidin 섭취에 의한 간, 비장, 신장, 지방조직의 무게를 비교한 결과 당뇨군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았으나 당뇨 대조군에 비해 jaceosidin을 섭취한 군의 지방조직 무게가 다소 높은 경향을 보였다.

본 연구에서는 jaceosidin의 섭취가 인슐린 결핍으로 인해 발생하는 제1형 당뇨병에 미치는 영향을 연구함에 있어 인슐린의 민감도를 측정하였을 뿐 혈중 인슐린 농도나 분비능을 측정하지 못한 한계점이 있으므로 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 jaceosidin 섭취는 STZ로 유도한 당뇨병 모델의 공복혈당을 감소시키고, 체내 항산화 효소인 GSH-px의 활성을 높여주며, 인슐린 민감성을 증가시키는 효과가 있어 제1형 당뇨병을 억제하거나 당뇨병으로 인한 합병증을 예방할 수 있을 것으로 생각되며, 항당뇨 기전이나 당뇨 합병증에 대한 연구 및 임상 연구 등의 후속연구가 이루어진다면 항당뇨 기능성 성분으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 약쑥의 기능성 성분인 jaceosidin이 제1형 당뇨병에서 혈당과 체내 항산화 상태에 미치는 영향을 조사하고자 실시되었다. jaceosidin을 식이에 농도별(0.005%, 0.02%)로 혼합시켜 준비하였으며, 실험 동물은 C57BL/6J 5주령 수컷 마우스를 사용하여 정상군(Normal)과 당뇨군으로 나눈 뒤 당뇨군의 마우스는 5일간 streptozotocin (55 mg/kg bw)을 복강으로 주사하여 당뇨를 유발하였다. 당뇨군은 당뇨대조군(D-Control), jaceosidin 0.005% 섭취군(D-0.005%), jaceosidin 0.02% 섭취군(D-0.02%)으로 나누어 사육하였다. 8주간의 식이 섭취 결과, 당뇨군의 체중이 Normal과 비교하여 유의적으로 감소되었고, 식이효율은 유의적으로 낮아졌으며, jaceosidin의 섭취는 당뇨로 인한 체중 및 식이효를 저하에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 제1형 당뇨시 jaceosidin의 섭취가 장기 무게와 간기능에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나, 공복 혈당은 D-0.005%가 D-Control과 비교하여 유의하게 감소하는 것으

로 나타났으며, 농도의존적은 경향은 보이지 않았다. 당부하 검사에서는 당뇨군이 normal에 비해 혈당과 AUC 값이 유의적으로 높게 나타났으나, jaceosidin 섭취에 의한 차이는 없는 것으로 나타났으며, 인슐린 내성검사 결과에서는 D-0.02%가 당뇨 대조군보다 AUC값이 감소하는 경향을 보였다. Jaceosidin의 섭취가 당뇨병로 인한 산화적 스트레스에 미치는 영향을 측정한 결과, jaceosidin의 섭취가 과산화 지질 생성에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나, 항산화 효소인 GSH-px의 활성은 D-Control과 비교하여 유의적으로 증가시켰다. 이상의 결과로 미루어 볼 때, jaceosidin은 제1형 당뇨병시 간의 항산화 효소계를 활성화 시킴으로써 공복혈당을 낮추고, 인슐린민감성을 증가시키는 것으로 생각되는 바 당뇨병이나 당뇨로 인한 합병증 예방 및 치료에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

References

1. Lim S, Lee EJ, Koo BK, Cho SI, Park KS, Jang HC, Kim SY, Lee HK. Increasing trends of metabolic syndrome in Korea-based on Korean National Health and Nutrition Examination Surveys. *J Korean Diabetes Assoc* 2005; 29(5): 432-439.
2. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15(7): 539-553.
3. Pambianco G, Costacou T, Ellis D, Becker DJ, Klein R, Orchard TJ. The 30-year natural history of type 1 diabetes complications: the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study experience. *Diabetes* 2006; 55(5): 1463-1469.
4. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405-412.
5. Eppens MC, Craig ME, Cusumano J, Hing S, Chan AK, Howard NJ, Silink M, Donaghue KC. Prevalence of diabetes complications in adolescents with type 2 compared with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29(6): 1300-1306.
6. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414(6865): 813-820.
7. Loomans CJ, de Koning EJ, Staal FJ, Rookmaaker MB, Verseyden C, de Boer HC, Verhaar MC, Braam B, Rabelink TJ, van Zonneveld AJ. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes. *Diabetes* 2004; 53(1): 195-199.
8. Giacco F, Brownlee M. Chapter 35. Pathogenesis of microvascular complications. In: Holt RI, Cockram C, Flyvbjerg A, Goldstein BJ, editors. *Textbook of Diabetes*, 4th edition. Chichester: Wiley-Blackwell; 2010. p.555.
9. Jacob RA. The integrated antioxidant system. *Nutr Res* 1995; 15(5): 755-766.
10. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23(5): 599-622.
11. Yasunari K, Maeda K, Nakamura M, Yoshikawa J. Oxidative

- stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reacting protein. *Hypertension* 2002; 39(3): 777-780.
12. Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol JP, Colette C. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA* 2006; 295(14): 1681-1687.
 13. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48(1): 1-9.
 14. Irshad M, Chaudhuri PS. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. *Indian J Exp Biol* 2002; 40(11): 1233-1239.
 15. Lee SD, Park HH, Kim DW, Bang BB. Bioactive constituents and utilities of *Artemisia* sp. as medical herb and foodstuff. *Korean J Food Nutr* 2000; 13(5): 490-505.
 16. Ryu SN, Kang SS, Kim JS, Ku BI. Quantitative analysis of eupatilin and Jaceosidin in *Artemisia herba*. *Korean J Crop Sci* 2004; 49(6): 452-456.
 17. Al-Mustafa AH, Al-Thunibat OY. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak J Biol Sci* 2008; 11(3): 351-358.
 18. Hill JO, Peters JC. Biomarkers and functional foods for obesity and diabetes. *Br J Nutr* 2002; 88 Suppl 2: S213-S218.
 19. Min SW, Kim NJ, Baek NI, Kim DH. Inhibitory effect of eupatilin and jaceosidin isolated from *Artemisia princeps* on carrageenan-induced inflammation in mice. *J Ethnopharmacol* 2009; 125(3): 497-500.
 20. Riccardi G, Capaldo B, Vaccaro O. Functional foods in the management of obesity and type 2 diabetes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005; 8(6): 630-635.
 21. Kang YJ. Beneficial effects of eupatilin and jaceosidin isolated from *Artemisia princeps* on regulation of glucose, lipid and antioxidant metabolism in type 2 diabetic mice [dissertation]. Daegu: Kyungpook National University; 2008.
 22. Farhangkhoei H, Khan ZA, Mukherjee S, Cukiernik M, Barbin YP, Karmazyn M, Chakrabarti S. Heme oxygenase in diabetes-induced oxidative stress in the heart. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35(12): 1439-1448.
 23. Nagareddy PR, Xia Z, McNeill JH, MacLeod KM. Increased expression of iNOS is associated with endothelial dysfunction and impaired pressor responsiveness in streptozotocin-induced diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289(5): H2144-H2152.
 24. Komers R, Lindsley JN, Oyama TT, Schutzer WE, Reed JF, Mader SL, Anderson S. Immunohistochemical and functional correlations of renal cyclooxygenase-2 in experimental diabetes. *J Clin Invest* 2001; 107(7): 889-898.
 25. Huang X, Yuang J, Goddard A, Foulis A, James RF, Lernmark A, Pujol-Borrell R, Rabinovitch A, Somoza N, Stewart TA. Interferon expression in the pancreases of patients with type I diabetes. *Diabetes* 1995; 44(6): 658-664.
 26. Wentholt IM, Kulik W, Michels RP, Hoekstra JB, DeVries JH. Glucose fluctuations and activation of oxidative stress in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2008; 51(1): 183-190.
 27. Ruggenenti P, Remuzzi G. Primary prevention of renal failure in diabetic patients: the Bergamo Nephrologic Diabetes Complication Trial. *J Hypertens Suppl* 1998; 16(1): S95-S97.
 28. Blake R, Trounce IA. Mitochondrial dysfunction and complications associated with diabetes. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840(4): 1404-1412.
 29. Yang HG, Kim HJ, Kim HS, Park SN. Antioxidative and antibacterial activities of *Artemisia princeps* Pampanini extracts. *Korean J Microbiol Biotechnol* 2012; 40(3): 250-260.
 30. Kim MJ, Kim DH, Lee KW, Yoon DY, Surh YJ. Jaceosidin induces apoptosis in ras-transformed human breast epithelial cells through generation of reactive oxygen species. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1095: 483-495.
 31. Lortz S, Tiedge M. Sequential inactivation of reactive oxygen species by combined overexpression of SOD isoforms and catalase in insulin-producing cells. *Free Radic Biol Med* 2003; 34(6): 683-688.
 32. Fu Z, Zhen W, Yuskavage J, Liu D. Epigallocatechin gallate delays the onset of type 1 diabetes in spontaneous non-obese diabetic mice. *Br J Nutr* 2011; 105(8): 1218-1225.
 33. Alam MM, Meerza D, Naseem I. Protective effect of quercetin on hyperglycemia, oxidative stress and DNA damage in alloxan induced type 2 diabetic mice. *Life Sci* 2014; 109(1): 8-14.
 34. Hong JH, Jeon JL, Lee JH, Lee IS. Antioxidative properties of *Artemisia princeps* Pamp. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2007; 36(6): 657-662.
 35. Lee SJ, Shin JH, Ju JC, Kang SK, Sung NJ. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Orostachys japonicus* with medicinal herbs in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2013; 42(4): 587-594.
 36. Ramachandran V, Saravanan R. Asiatic acid prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Funct Foods* 2013; 5(3): 1077-1087.
 37. Kim MW. Effect of Sea Buckthorn leaves on hepatic enzyme levels in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2013; 42(1): 40-45.
 38. Anaya-Eugenio GD, Rivero-Cruz I, Rivera-Chávez J, Mata R. Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from *Artemisia ludoviciana* Nutt. *J Ethnopharmacol* 2014; 155(1): 416-425.
 39. Yuan H, Meng S, Wang G, Gong Z, Sun W, He G. Hypoglycemic effect of triterpenoid-rich extracts from *Euryale ferox* shell on normal and streptozotocin-diabetic mice. *Pak J Pharm Sci* 2014; 27(4): 859-864.
 40. Nakano M, Onodera A, Saito E, Tanabe M, Yajima K, Takahashi J, Nguyen VC. Effect of astaxanthin in combination with alpha-tocopherol or ascorbic acid against oxidative damage in diabetic ODS rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2008; 54(4): 329-334.