

Anti-diabetic Effects of Barnyard Millet Miryang 3 [*Echinochloa esculenta* (A. Braun)] Grains on Blood Glucose in C57BL/KsJ-*db/db* Mice

Gi Hyun Kwon¹, Do Youn Jun², Ji Young Lee¹, Jueun Park¹, Mi Hee Woo³, Young Ho Yoon⁴, Jee Youn Ko⁴, In-Seok Oh⁴ and Young Ho Kim^{1*}

¹School of Life Sciences and Biotechnology, College of Natural Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Institute of Life Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

³Department of Pharmacology, College of Pharmacology, Daegu Catholic University, Gyeongsan 712-702, Korea

⁴Upland Crop Breeding Research DIV, Department of Southern Area Crop Science, RDA, Miryang, Gyeongnam 627-803, Korea

Received November 24, 2015 / Revised November 25, 2015 / Accepted November 25, 2015

Barnyard millet Miryang 3 [*Echinochloa esculenta* (A. Braun)] grains have recently been acknowledged for beneficial health properties due to phenolic ingredients and dietary fiber. This study has been conducted on the anti-diabetic activity of barnyard millet Miryang 3 which shows the strongest anti-inflammatory activity among barnyard millet inhabiting in South Korea. When 80% ethanol (EtOH) extract of barnyard millet Miryang 3 grains were orally administered into *db/db* diabetic mice for 8 weeks (600 mg/kg/day), the glucose level in blood following fasting appeared to be improved compared to the control group. The results of glucose tolerance test and blood lipid profile assay were similar to those of the metformin-administered positive control group. In addition, the level of body weight increase (8.54 ± 2.24) was lower than the level of metformin-administered group (10.36 ± 3.15); however, there was no subtle difference with negative and positive control groups in terms of food efficiency rates. In addition, total cholesterol levels of the 80% EtOH extract-administered group (160.7 ± 7.6) were significantly reduced compared to the diabetic control group (229.3 ± 47.8) and metformin-administered group (176.0 ± 25.6). Consequently, these results show that barnyard millet grains alleviates many of the diabetic symptoms *in vivo* non-insulin-dependent diabetes mellitus, and suggest that barnyard millet grains can be applicable in developing new functional food materials.

Key words : Anti-hyperglycemia, anti-diabetes, barnyard millet grains, blood glucose level, ethanol extract

서론

과잉의 영양섭취와 운동 부족에 따른 비만에 의한 제2형 당뇨병(Diabetes mellitus: DM)은 전 세계적으로 인류를 위협하는 질환의 하나로 대두되고 있다. 비만에 의한 세포 내 에너지 대사는 산화적 스트레스를 유발하게 되고 이는 염증을 유발하게 되어 JNK, NF- κ B kinase inhibitor (IKK)와 PKC- θ 와 같은 인슐린 신호전달계를 억제하여 결과적으로 인슐린 내성과 고혈당증(hyperglycemia)을 유발하여 당뇨나 고혈압을 유발하게 된다. 특히 제 2형 당뇨는 이전에는 노화에 따른 퇴행성 질환으로 간주되었으나, 최근 들어 영양과다의 식생활과 생활 양식의 변화에 의해 소아 비만도 문제되므로 이의 예방

과 치료는 매우 중요하다[6]. 현재 DM 치료제는 발병 원인 만큼이나 이의 조절 약제도 다양하여 체장 β -세포의 인슐린 분비 촉진제, 간에서의 당 신생 저해제, 근육 또는 지방조직에서의 당 흡수 촉진제나 소장에서의 당 분해 저해제등이 개발되어 이용되고 있다[2, 3, 9, 16, 17, 21, 27]. 그러나 현재 이용되고 있는 대부분의 약제는 간과 신장 장애, 구토와 복부 팽만 그리고 비정상적 저혈당 등의 부작용으로 그 사용이 매우 제한적이다. 따라서 다양한 방면에서 약물사용에 따른 부작용을 최소화하고 혈당조절 효과가 높은 기능성 식품 개발에 주력하고 있는 실정이다.

최근 들어 혈액 내 정상 혈당수치 유지와 관련하여 최근 정제된 곡류보다는 전곡 또는 잡곡섭취가 혈액 내 지방 수치를 개선하고, 혈압을 낮추며[5, 7], 나아가 인슐린 감수성을 높여서 대사성 질환인 제 2형 당뇨병과 심혈관 질환 예방과 치료 효과가 있다고 보고되면서[4, 8] 잡곡에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

한국, 일본과 중국 중심으로 많이 재배 및 식용으로 이용되고 있는 millets 중 식용피(barnyard millet; *Echinochloa crus-galli*)는 타 millets보다 전분 함량은 낮으면서 단백질과 미네랄 함량이 높고, 수용성 섬유소 함량이 최대 6.0~6.5%로 매우 우

*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5378, Fax : +82-53-955-5522

E-mail : ykim@knu.ac.kr

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.

수한 잠곡으로 알려져 있다. 또한 재배 환경에 대한 적응력도 뛰어나 기후 환경 변화에 따른 벼농사 대체 작물로 수수, 기장과 더불어 동북아 지역 중심으로 우수한 작물로 재인식되고 있다. 식용피의 생리활성에 관해서는 항산화 활성[12, 22], 혈중 지질 개선효과[19], 면역증강 효과[13], 항염증[18, 23], 미백 효과[25] 및 항균 활성[24]이 보고되어 있다. 항당뇨 활성과 관련하여서는 식용피 유래 단백질을 섭취할 경우 혈중 지질 개선 효과가 있다고 보고되었다[26].

본 연구에서는 식용피의 대사성 질환 예방과 관련된 우수소재 함유량이 높은 품종 개발에 목적을 두고 국내에서 확보한 식용피 17 품종의 항산화와 항염증 활성을 비교하고 항염증 활성이 우수한 밀양 3호[Echinochloa esculenta (A. Braun)]를 선발하여 이의 항당뇨 활성을 검증하였다. 제 2형 당뇨병 모델인 C57BL/KsJ-db/db 마우스에 식용피 밀양3호 80% 에탄올추출물을 8주간 투여한 결과, 양성대조군으로 투여한 metformin의 효과와 유사한 혈당 강하 효과를 보였으며 혈중 지질 개선 효과가 우수함을 확인하였다. 이러한 연구 결과는 식용피를 제2형 당뇨병 예방과 치료에 활용할 수 있는 영양학적 또는 의학적 기능성 소재로 활용할 수 있음을 시사한다.

재료 및 방법

시약 및 추출물 제조

식용피 추출물 제조에 사용한 95% ethanol (Duksan, Korea) 이었으며, 추출에 사용한 기기는 Rotary Vacuum Evaporator (Eyela N-12, Heidolph WB 2000), Heating Mantle (110 V, 700 W, 5,000 ml), Aspirator (Eyela CA-1111, Eyela A-3S) 등이다. 대장균 유래의 lipopolysaccharide (LPS)와 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT)는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Fetal bovine serum (FBS)과 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)은 Hyclone (Gaithersburg, MD, USA)에서 각각 구입하였다. 국립식량과학원 남부작물부(경남 밀양)로부터 제공받은 2014년산 식용피 밀양 3호 63~500 g을 Blender 7012

(Dynamics Corporation, USA)로 마쇄하여 80% ethanol (EtOH)과 섞은 다음 80°C 환류냉각장치를 사용하여 3시간씩 3회 추출하여 혼합한 후 동결 건조하여 본 연구에 사용하였다.

실험동물

본 실험에 사용한 실험동물은 제2형 당뇨 동물모델인 C57BL/KsJ-db/db 마우스와 정상 마우스인 C57BL/6J 7주령을 Shizuoka Laboratory Animal Center (SLC; Shizuoka, Japan)에서 분양 받은 후 일주일간 순화시킨 다음 본 연구에 사용하였다. 본 실험은 경북대학교 동물실험윤리위원회 승인을 받은 후(승인번호: 2015-50) 실험동물 관리 및 이용에 관한 지침에 따라 수행하였다. 각 실험동물은 마우스용 케이지(220×200×145 mm)에 2마리씩 수용하고, 동물실의 사육환경을 온도 23±2°C, 상대습도 55±10%, 환기 횟수 12회/시간, 조명주기 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 Lux로 하였다. 실험군은 정상군, 당뇨 대조군(콘 오일 투여군), 양성대조군(메트포민 100 mg/kg 투여군)과 식용피 EtOH 추출물 투여군(600 mg/kg)의 4군으로 나누고 각 군당 7마리로 하여 8주간 매일 투여하였다. 실험 기간 동안 일반 고형사료를 급여 하였으며, 매일 오전 9~10시 사이에 경구투여용 존데로 시험 물질을 1회 투여하였다. 또한 시험물질 투여 전 후 각 실험군의 체중과 식이량을 측정하면서 실험 동물을 관찰하였다. 식이급여 및 식용피 추출물 투여에 따른 전체 실험계획은 Fig. 1과 같이 수행하였다.

공복혈당 측정, 경구내당성 검사(Oral glucose tolerance test: OGTT) 및 간기능 검정

혈당 측정은 실험동물을 16시간 동안 절식시킨 후, 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈당측정기(Acuu-Check, Roche Diagnostics Korea Co., Ltd., Seoul, Korea)로 매주 1회 공복 혈당을 측정하였다. 경구 내당성 검사 시에도 실험동물을 16시간 절식시킨 후 공복 혈당을 측정 한 후 포도당(0.5 g/kg body weight)를 존데를 사용하여 경구투여하고 15, 30, 60, 90 및 120분 후 혈당을 측정하였다. 식용피 EtOH 추출물과 메트포민을 8주간 투

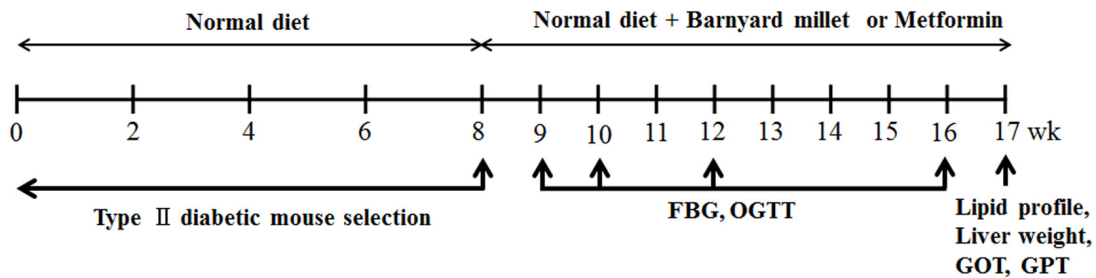


Fig. 1. Schematic diagram showing experimental schedule for 17 weeks. C57BL/KsJ-db/db mice were divided to 3 groups such as diabetic control (corn oil only), positive control (metformin only) and test group (barnyard millet + corn oil). OGTT was conducted at 1 week, 2 weeks, 4 weeks, and 8 weeks after oral administering of barnyard millet EtOH extract. FBG, fasting blood glucose; OGTT, oral glucose tolerance test; GOT, glutamate oxaloacetate transaminase; GPT, glutamate pyruvate transaminase.

여한 후 혈청 지질 농도(lipid profile)와 간기능 분석을 위하여 다이에틸에테르(Junsei Chemical Co. Ltd, Japan)로 마취한 후 심장 대동맥으로부터 채혈하여 혈청을 확보하였다. 확보된 혈청을 이원의료재단 검사실(인천광역시, 대한민국)에 암맹검사로 혈중 지질과 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)와 glutamate pyruvate transaminase (GTP)의 활성을 의뢰하였다.

세포독성 검증

MTT를 반응시켜 540 nm에서 대조군의 흡광도 값이 0.6에서 0.8 수준이 되도록 일정한 수의 세포를 96-well plate에서 일정 시간 동안 37°C, CO₂ 배양기에서 배양한 후 1.1 mg/ml 농도로 PBS에 녹인 MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)용액을 모든 well에 50 µl/well 씩 가해주고 다시 4시간 더 배양하였다. 이어서 배양을 종료하고 plate를 2300 rpm에서 10분간 원심 분리하여 생성된 포마존 결정을 가라앉힌 후 DMSO에 결정을 용해시켜 micro plate reader로 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

아질산염 측정

식용피 추출물의 nitric oxide (NO) 생성 저해능을 평가하기 위해 마우스 대식세포주인 RAW264.7 세포를 96-well plate에서 각 well 당 0.2×10^6 개의 세포를 분주하고 16시간 동안 배양하였다. 이어서 식용피 추출물을 주어진 농도로 한 시간 동안 전처리 한 후, 배염증유발제인 LPS를 0.1 µg/ml 농도로 처리하여 다시 16시간 동안 배양하였다. 이때 NO 생성 정도는 배양 상등액의 아질산염의 농도를 Griess reaction을 수행함으로써 측정하였다.

통계처리

모든 결과는 3회 이상 반복 실험하였으며 모든 실험값은 평균±표준편차(mean±SD)로 표시하였고, 통계학적 유의치는 비교 분석은 SPSS Statistics 23 (IBM, New York, NY, USA)를 이용하였고 각 결과의 통계 유의치는 Student's *t*-test로 계산하였다. 검정 유의치는 *p* 값이 0.05 미만 수준일 때를 기준으로 하였다.

결과 및 고찰

항염증 활성 우수 식용피의 선발

영양과다에 의한 비만은 chronic low-level inflammation을 유발하게 되고, 이와 같은 obesity-induced inflammation은 ER stress를 유발하여 JNK와 IKK 신호 전달 경로를 활성화시켜 염증을 유도하고 이 염증은 인슐린 내성을 일으켜 당뇨를 유발하거나, hyperlipidemia를 일으켜 심혈관 질환으로 발전하게 한다[28, 30, 32]. 따라서 염증 조절은 당뇨예방과 치료에

매우 중요하다. 이에 본 연구진은 전년도 연구에서 잡곡 중 항염증 활성이 우수한 식용피를 선발하여 식용피에 존재하는 kaempferol, biochanin A, quercetin 등의 페놀화합물 소재에 의해 iNOS와 Cox2발현 저해에 따른 NO 생성이 억제되고, 친염증성 사이토카인(IL-1β, IL-6, 및 TNF-α)의 발현도 저해함을 확인하였다. 그리고 이들 페놀릭 화합물은 p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK), c-Jun N-terminal kinase (JNK)와 extracellular signal-regulated kinase (ERK)의 활성화를 억제함으로써 항염증 활성을 가진다고 보고하였다[18]. 이에 항염증 활성이 우수한 국내 식용피 품종을 선발하기 위하여 국내 식용피 자원 17종을 대상으로 항염증 활성을 비교하여 항염증 활성이 우수한 식용피 밀양3호를 선발하였다. Fig. 2에 나타난 바와 같이, 식용피 밀양3호 80% EtOH 추출물을 마우스 RAW 264.7세포에 100 µg/ml와 150 µg/ml 농도로 처리하였을 때, 염증유발제인 LPS에 의해 유도되는 세포 내의 NO 생성율이 40.1%와 75.6% 저해되었다. 동일한 조건에서 RAW264.7세포의 생존율은 92.5%와 90.0% 정도로 각각 나타났다. 이러한 결과는, 식용피 밀양3호의 EtOH 추출물은 LPS에 의한 마우스대식세포의 NO 생성을 저해하는 항염증 활성이 있음과 이러한 항염증 활성은 세포독성 때문이 아님을 나타낸다.

식용피 밀양 3호 추출물 식이에 따른 체중 변화 및 식이섭취량

식용피 밀양3호의 항염증 활성이 당뇨질환 예방과 치료에 영향을 미치는지 제2형 당뇨 모델 C57BL/KsJ-db/db 마우스와 정상 마우스를 대상으로 확인해 보았다. 식용피 EtOH 추출물을 큰 오일에 녹여 매일 600 mg/kg로 경구투여한 실험군의 체중 변화, 식이섭취량과 food efficiency ratio를 음성대조군(큰 오일 식이군)과 양성 대조군(메트포민 식이군, 100 mg/kg)을 비교한 결과는 Table 1과 같다. 시험 0주차 몸무게를 기준으로 하여 8주간 식용피 추출물을 투여하였을 때 큰 오일만 투여한 음성대조군과 식용피 투여군의 체중 증가가 각각 8.71 ± 1.64 과 8.54 ± 2.24 으로 별 차이를 보이지 않는 반면 메트포민 투여군의 체중 증가는 10.36 ± 3.15 으로 가장 높았다. Food efficiency ratio 역시 당뇨 대조군과 식용피 투여군 공히 0.029 인데 반해, 메트포민 투여군은 0.035로 식용피 투여가 당뇨마우스 식이에 큰 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 식이섭취량은 각 실험군 당 유의적인 차이를 보이지 않아 체중 증감에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다.

식용피 추출물의 항 당뇨 효능

식용피 추출물 투여가 C57BL/KsJ-db/db 마우스 혈당에 미치는 영향을 조사하였다. 식용피 EtOH 추출물을 투여한 후 16시간 절식시킨 공복혈당을 식용피 추출물 투여 후 1주차, 2주차, 4주차와 8주차 혈당을 측정하였다. C57BL/KsJ-db/db 마

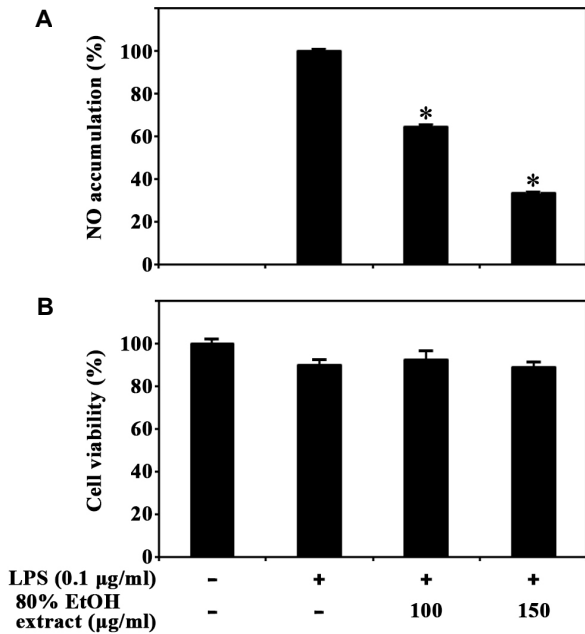


Fig. 2. Effect of 80% EtOH extract of barnyard millet Miryang 3 grains on the LPS-induced NO production (A) and the viability in RAW264.7 cells (B). Nitrite was measured using Griess reaction at 20 hr after treatment of LPS (0.1 µg/ml) in the presence or absence of various concentrations (100 µg/ml or 150 µg/ml) of extract of barnyard millet Miryang 3. The cell viability was determined by the MTT colorimetric assay as described in Materials and Methods. Each value is expressed as mean±SD (n = 3 with six replicates per independent experiment). *p<0.05 compared with control.

우스는 생후 8주부터 체내 인슐린 저항성이 증가하면서 생후 12주령에는 혈당이 540 mg/dl까지 증가하는 것으로 알려져

있다. 이는 생후 5주에서 12주에 *db/db* 마우스의 인슐린 결합능이 22-50%로 감소하면서 췌장 기능이 파괴되면서 인슐린 부족에 따른 당뇨가 유발된다고 알려져 있다[11]. 식용피 추출물과 메트포민을 8주간 투여하면서 1주차, 2주차, 4주차 및 8주차에 각각 공복혈당을 측정 한 결과는 Table 2에 나타난 바와 같다. 양성대조구인 메트포민은 1주 투여로 공복혈당이 당뇨대조군 보다 20% 감소하였으나, 식용피 추출물의 1주 투여로는 약 혈당 6%만이 감소하였다 그러나 식용피 추출물을 4주 또는 8주 동안 투여하였을 경우는 혈당이 당뇨 대조군에 비해 31.5%와 30.3% 정도로 유의성 있는 감소됨을 확인할 수 있었다. 이때 메트포민 투여군의 혈당은 당뇨 대조군 보다 40.7%과 37.3%정도 각각 유의적으로 감소되는 것으로 나타났다. 이와 같은 식용피의 혈당 강하 효과가 인슐린 분비 촉진에 의한 것인지 혹은 인슐린 저항성 개선에 의한 것인지 등과 같은 그 작용 기전에 대해서는 차후의 연구가 더 수행되어야 하겠지만, 식용피 추출물투여가 메트포민 당뇨약과 같이 혈당상승에 대한 억제효능이 매우 뛰어난을 확인할 수 있었다.

경구 내당능의 측정결과도 식용피 EtOH 추출물의 경구 투여가 메트포민 수준의 혈당 강하효과가 있음을 보여 주었다. 즉, 16시간 절식시킨 각 실험군에 포도당(0.5 g/kg body weight)를 투여한 후 15분, 30분, 60분, 120분 간격으로 혈당을 측정 한 결과 식용피와 메트포민 투여 일수가 증가함에 따라 내당성도 개선되는 것으로 나타났다. 또한 각 시험물질을 8주 동안 투여하였을 경우는 식용피 추출물군(220.8±28.5)과 메트포민군(165.2±23.2)의 당 투여 후 최고 혈당치가 당뇨 대조군(322.0±32.8)보다 훨씬 낮게 확인되었다. 이때 혈당치는 당 투여 후 120분에서 식용피 추출물군과 메트포민 투여군의 혈당은 포도당 투여 전의 혈당 수준으로 완전히 떨어진 반면에 당뇨 대조군의 혈당은 포도당 투여 전 혈당보다 높았다(Fig.

Table 1. Daily weight gain, food consumption and food efficiency ratio after oral administration of 80% EtOH extract of barnyard millet Miryang 3 grains in *db/db* mice

	Initial weight (g)	Final weight (g)	Body weight gain (g)	Food intake (g)	FER*
Control	51.32±1.89	60.03±3.10	8.71±1.64	5.38±0.85	0.029±0.007
Metformin	51.07±1.79	61.43±4.28	10.36±3.15	5.37±0.76	0.035±0.010
80% EtOH extract	52.05±2.65	60.59±2.51	8.54±2.24	5.20±0.29	0.029±0.007

* FER: food efficiency ratio; body weight gain (g)/food intake (g) and barnyard millet extract (g). Each value represents the mean±SD.

Table 2. Changes of blood glucose level after oral administration of 80% EtOH extract of barnyard millet Miryang 3 grains in *db/db* mice (mg/dl)

	1 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks
Control	149.60±18.66 ^a	201.60±22.29 ^a	195.20±49.06 ^a	111.60±27.85 ^a
Metformin	116.40±27.79 ^b	138.20±9.34 ^b	115.80±16.63 ^b	70.00±10.37 ^b
80% EtOH extract	140.60±9.53 ^{ab}	164.80±26.25 ^b	133.80±22.08 ^b	77.80±5.17 ^b

Values are expressed as mean±SD (n=7/group). Values with different letters (a-c) are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

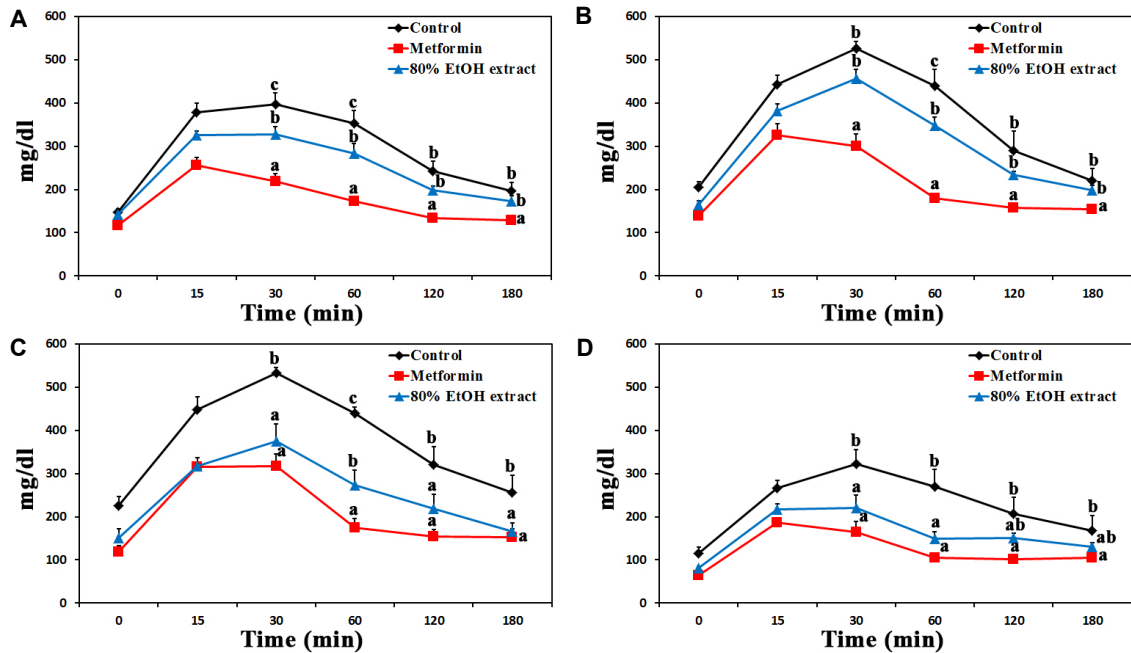


Fig. 3. Effect of 80% EtOH extract of barnyard millet Miryang 3 grains on the oral glucose tolerance test. OGTT was conducted at 1 week (A), 2 weeks (B), 4 weeks (C) and 8 weeks (D) after oral administering of barnyard millet extract. Values are expressed as mean±SD (n=7/group). Groups are the same in Table 2. Values with different letters (a-c) are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

3). 또한 식용피 추출물의 4주 투여시까지의 내당성이 대조군 보다는 개선되었으나 메트포민 투여군에는 못 미치지 못하는 것으로 나타났다. 특히 식용피 추출물의 8주 투여 후에는 내당성이 메트포민 투여군 수준으로 개선됨을 확인되었다. 이는 발아일퐁벼 추출물[20]과 뽕잎오디쌀 식이[10]가 당뇨 개선 효과가 있다고 보고된 결과와 더불어 식용피를 주곡 식이에 의한 당뇨 개선에도 활용할 수 있으며, 또는 추출물을 이용한 식의학 소재로도 이용할 수 있음을 시사하는 결과이다.

식용피 추출물의 혈중 지질에 대한 영향

식용피 추출물의 동물의 혈액 내 지질 구성성분비에 대한 영향을 조사하였다. 표준식을 하면서 식용피 EtOH 추출물을 8주 투여한 후 각 실험군의 혈청 내 지질과 간독성을 조사

한 결과는 Table 3과 같다. 먼저 총 콜레스테롤 농도는 당뇨 대조군의 총 콜레스테롤(229.3±47.8)에 비해 식용피 추출물군(160.7± 7.6)과 메트포민투여군(176.0±25.6)에서 유의적으로 감소하였다. LDL-콜레스테롤 농도는 식용피 투여군과 메트포민 투여군 공히 당뇨 대조군에 비해 약 41~42%정도 감소하였으나 중성지방농도는 식용피 추출물군(154.3±74.4)은 당뇨대조군(159.5±9.5)과 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 LDL-콜레스테롤 수치는 식용피 추출물과 메트포민 투여군 각각 173.3±21.6과 175.7±19.3로 당뇨 대조군(299.0±10.1) 보다 유의적으로 감소하였다. 식용피 추출물이 간독성에 미치는 영향을 GOT와 GPT 효소 활성도를 측정하여 검사한 결과 GOT효소 활성도가 메트포민에서 높게 나타났으나, GPT 활성도는 식용피 투여군과 메트포민 투여군 공히 당뇨 대조군 보다 활성도

Table 3. Serum lipid levels after administration of 80% EtOH extract of barnyard millet Miryang 3 grains in *db/db* mice

	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	LDL-cholesterol (mg/dl)	AST(SGOT) (U/L)	ALT(SGPT) (U/L)	HTR* (%)
Control	159.5±9.5 ^a	229.3±47.8 ^a	69.9±6.8 ^a	299.0±10.1 ^a	24.8±9.7 ^a	19.8±4.1 ^a	30.5±5.1 ^a
Metformin	117.0±7.2 ^a	176.0±25.6 ^{ab}	71.0±4.7 ^a	175.7±19.3 ^b	31.5±4.9 ^a	13.3±1.2 ^b	40.3±3.4 ^b
80% EtOH extract	154.3±74.4 ^a	160.7±7.6 ^{bc}	70.3±6.5 ^a	173.3±21.6 ^b	17.7±12.5 ^a	13.3±1.2 ^b	43.8±2.8 ^{ab}
Normal**	92.0±4.2 ^a	109.5±16.3 ^c	60.8±11.2 ^a	25.0±0.0 ^c	31.0±0.0 ^a	9.0±0.0 ^b	55.5±2.0 ^c

*HTR = HDL-cholesterol/Total cholesterol. **Normal = normal C57BL/6j mice. Each value represents the mean±SD. Values with different letters (a-c) are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

가 32.8%정도 낮았다.

당뇨병으로 인한 인슐린 저항성 및 고인슐린 하에서는 지방 조직의 유리 지방산분해가 증가하면서 간에서는 지방합성 및 저밀도 지방산의 생성이 증가되고, 반면 지단백 리파아제 활성은 오히려 감소하여 혈중 중성 지방이 증가된다고 알려져 있다. 이와 같이 혈중 중성 지방이 증가하게 되면 HDL 농도가 감소하고 LDL 농도가 증가하게 된다[26, 29]. 따라서 혈중 지질 프로파일은 당뇨질환 치료의 중요한 바이오 마커가 되므로 이상적인 혈중 지질 프로파일로의 개선은 당뇨치료에 중요한 위치에 있다. 본 연구 결과에서 나타난 바와 같이, 식용피 추출물을 투여한 실험군의 총 콜레스테롤(160.7±7.6)이 당뇨대조군(229.3±47.8)보다 30%정도 유의적 감소를 보였다. 이때 메트포민 투여군의 총 콜레스테롤은 176.0±25.6로 확인되어 23% 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 총 콜레스테롤 수치는 식용피 추출물 투여군이 메트포민 투여군보다 더 낮음을 확인하였다. 특이하게도 메트포민은 중성지질과 LDL-콜레스테롤 수치를 다 낮추는 반면, 식용피 추출물은 LDL-콜레스테롤 수치는 메트포민 수준으로 낮추지만 중성지질에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 따라서 이에 대한 작용기전 연구는 당뇨에 의한 고지혈증 관련 심혈관 연구에 도움이 될 것으로 기대된다.

현재 제 2형 당뇨 치료제로써 널리 사용되고 있는 메트포민은 글루카곤의 기능을 저해하여 혈당치를 낮추는 약제로 인슐린 유무에 상관없이 지방산 산화에 영향을 미쳐 혈장 지질을 감소시키는 효과를 가진다[14]. 현재 임상에서 메트포민이 당뇨치료에 많이 사용되고 있는 약이지만 구토, 복부 불편감이나 복부 팽만감 등 소화기 계통 부작용이 심각하여 당뇨치료를 중단하는 사례가 많아 이를 개선하는 약제 개발이 요구된다. 또한 메트포민 장기 복용에 따른 체내 칼슘대사 장애로 유발되는 비타민 B12 흡수 저하는 피로감 동반과 신경증을 유발하고 젖산증 등의 부작용도 보고되어 신장 기능 이상환자, 심장 질환자 및 간기능 저하 환자 사용에 신중하여야 한다 [1, 15, 31].

본 연구 결과 식용피 추출물을 당뇨모델 C57BL/KsJ-db/db mice에 8주간 투여한 결과 투여 초기에는 항당뇨 활성이 두드러지지 않는 8주간의 투여에 의해 체중 증가를 완화시키고, 메트포민과 같은 수준의 혈당 강하 효과와 혈 중 지질 대사 이상을 개선 효과를 확인하였다. 이 결과는 식용피가 당뇨 질환 예방 및 치료에 효과적인 우수 식품 소재로 개발될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 어젠다사업(09-27)의 지원으로 수행되었음(과제번호: PJ009865012015).

References

- Altun, E., Kaya, B., Paydaş, S., Sarakçalı, B. and Karayaylali, I. 2014. Lactic acidosis induced by metformin in a chronic hemodialysis patient with diabetes mellitus type 2. *Hemodial. Int.* **18**, 529-531.
- Chen, X., Zheng, Y. and Shen, Y. 2006. Voglibose (Basen, AO-128), one of the most important alpha-glucosidase inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **13**, 109-116.
- Cryer, D. R., Mills, D. J., Nicholas, S. P., Stadel, B. V. and Henry, D. H. 2005. Comparative outcomes study of metformin intervention versus conventional approach. *Diabetes Care* **28**, 539-543.
- de Munter, J. S., Hu, F. B., Spiegelman, D., Franz, M. and van Dam, R. M. 2007. Whole grain, bran, and germ intake and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and systematic review. *PLOS Med.* **4**, e261.
- Dykes, L. and Rooney, W. L. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World* **52**, 105-111.
- Egede, L. E. and Ellis, C. 2010. Diabetes and depression: Global perspectives. *Diabetes Res. Clin. Pr.* **87**, 302-312.
- Esmailzadeh, A., Mirmiran, P. and Azizi, F. 2005. Whole-grain intake and the prevalence of hypertriglyceridemic waist phenotype in Tehranian adults. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 55-63.
- Fardet, A. 2010. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? *Nutr. Res. Rev.* **23**, 65-134.
- Fineman, M. S., Gaines, E., Bicsak, T. A., Varns, A., Shen, L. Z., Kim, D., Taylor, K. and Baron, A. D. 2003. Effect on glycemic control of exenatide (Synthetic Exendin-4) additive to existing metformin and/or sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **26**, 2370-2377.
- Han, C. K., Kim, S. S., Choi, S. Y., Park, J. H. and Lee, B. H. 2009. Effects of rice added with mulberry leaves and fruit on blood glucose, body fat and serum lipid levels in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 1336-1341.
- Hanefeld, M. and Temelkova, K. T. 2002. Control of postprandial hyperglycemia-an essential part of good diabetes treatment and prevention of cardiovascular complications. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **12**, 98-107.
- Higashi-Okai, K., Ishida, E., Nakamura, Y., Fujiwara, S. and Okai, Y. 2008. Potent antioxidant and radical-scavenging activities of traditional Japanese cereal grains. *J. UOEH* **30**, 375-389.
- Hosoda, A., Okai, Y., Kasahara, E., Inoue, M., Snhimizu, M., Usui, Y., Sekiyama, A. and Higashi-Okai, K. 2012. Potent immunomodulating effects of bran extracts of traditional Japanese millets on nitric oxide and cytokine production of macrophages (RAW264.7) induced by lipopolysaccharide. *J. UOEH* **34**, 285-296.
- Hundal, R. S., Krssak, M., Dufour, S., Laurent, D., Lebon, V., Chandramouli, V., Inzucchi, S. E., Schumann, W. C., Petersen, K. F., Landau, B. R. and Shulman, G. I. 2000.

- Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes* **49**, 2063-2069.
15. Kim, O. K., Oak, C. H., Jeong, J. M., Lee, J. W., Shin, M. H. and Kim, N. H. 2012. A case of metformin-induced lactic acidosis with acute kidney injury misdiagnosed as hepatorenal syndrome in a cirrhosis patient. *Kor. J. Med.* **82**, 241-246.
 16. Large, V. and Beylot, M. 1999. Modifications of citric acid cycle activity and gluconeogenesis in streptozotocin-induced diabetes and effects of metformin. *Diabetes* **48**, 1251-1257.
 17. Laube, H. 2002. Acarbose. *Clin. Drug Invest.* **22**, 141-156.
 18. Lee, J. Y., Jun, D. Y., Yoon, Y. H., Ko, J. Y., Woo, K. S., Woo, M. H. and Kim, Y. H. 2014. Anti-inflammatory effect of flavonoids kaempferol and biochanin A-enriched extract of barnyard millet (*Echinochloa crus-galli* var. *frumentacea*) grains in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *J. Life Sci.* **24**, 1157-1167.
 19. Lee, S. H., Chung, I. M., Cha, Y. S. and Park, Y. 2010. Millet consumption decreased serum concentration of triglyceride and C-reactive protein but not oxidative status in hyperlipidemic rats. *Nutr. Res.* **30**, 290-296.
 20. Lee, Y. R., Woo, K. S., Hwang, I. G., Kim, H. Y., Lee, S. H., Kim, Y. B., Lee, J. and Jeong, H. S. 2012. Anti-diabetic activity of germinated ilpum rough rice extract supplement in mice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 339-344.
 21. Musi, N., Hirshman, M. F., Nygren, J., Svanfeldt, M., Bavenholm, P., Rooyackers, O., Zhou, G., Williamson, J. M., Ljunqvist, O., Efendic, S., Moller, D. E., Thorell, A. and Goodyear, L. J. 2002. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes* **51**, 2074-2081.
 22. Nishizawa, N., Togawa, T., Park, K. O., Sato, D., Miyakoshi, Y., Inagaki, K., Ohmori, N., Ito, Y. and Nagasawa, T. 2009. Dietary Japanese millet protein ameliorates plasma levels of adiponectin, glucose, and lipids in type 2 diabetic mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**, 351-360.
 23. Prashant, S., Hegde, T. S. and Chandra, E. S. R. 2005. Spectroscopic study reveals higher free radical quenching potential in kodo millet (*Paspalum scrobiculatum*) compared to other millets. *Food Chem.* **92**, 177-182.
 24. Ryazantsev, D. Y., Rogozhin, E. A., Dimitrieva, T. V., Drobyazina, P. E., Khadeeva, N. V., Egorov, T. A., Grishin, E. V. and Zavriev, S. K. 2014. A novel hairpin-like antimicrobial peptide from barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* L.) seeds: Structure functional and molecular-genetics characterization. *Biochimie* **99**, 63e70
 25. Seo, W. D., Kim, J. Y., Jang, K. C., Han, S. I., Ra, J. E., Oh, S. H., Lee, J. H., Kim, Y. G., Kang, H. J., Kim, B. J. and Nam, M. H. 2012. Anti-pigmentation effect of serotonin alkaloid isolated from Korean barnyard millet (*Echinochloa utilis*). *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **55**, 579-586.
 26. Ugare, R., Chimmad, B., Naik, R., Bharati, P. and Itagi, S. 2014. Glycemic index and significance of barnyard millet (*Echinochloa frumentacea*) in type II diabetics. *J. Food Sci. Technol.* **51**, 392-395.
 27. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1998. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in subjects with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* **352**, 837-853.
 28. Wellen, K. E. and Hotamisligil, G. S. 2005. Inflammation, stress, and diabetes. *J. Clin. Invest.* **115**, 1111-1119.
 29. Wu, L. and Parhofer, K. G. 2014. Diabetic dyslipidemia. *Metabolism* **63**, 1469-1479.
 30. Xie, W. and Du, L. 2011. Diabetes is an inflammatory disease: evidence from traditional Chinese medicines. *Diabetes Obes. Metab.* **4**, 289-301.
 31. Zhou, G., Myers, R., Li, Y., Chen, Y., Shen, X., Fenyk-Melody, J., Wu, M., Ventre, J., Doebber, T., Fujii, N., Musi, N., Hirshman, M. F., Goodyear, L. J. and Moller, D. E. 2001. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J. Clin. Invest.* **108**, 1167-1174.
 32. Zozulinska, D. and Wierusz-Wysocka, B. 2006. Type 2 diabetes mellitus as inflammatory disease. *Diabetes Res. Clin. Pr.* **74S**, S12-16.

초록 : 식용피 밀양3호(*Echinochloa esculenta* (A. Braun)) 에탄올 추출물의 당뇨모델 마우스에 대한 항당뇨 활성

권기현¹ · 전도연¹ · 이지영¹ · 박주은¹ · 우미희² · 윤영호³ · 고지연³ · 오인석³ · 김영호^{1*}

(¹경북대학교 자연과학대학 생명과학부, ²대구가톨릭대학교 약학대학, ³국립식량과학원 남부작물부)

잡곡의 하나인 식용피는 폴리페놀과 수용성 식이섬유성분이 풍부하고 전분함량이 타 곡류보다 낮으면서 단백질 함량이 높아 영양학적 건강지표가 높은 잡곡이다. 본 연구에서는 항염증 활성이 강하게 확인된 밀양3호를 선발하여 이의 항당뇨 활성에 관해 조사하였다. 식용피 밀양3호의 80% 에탄올(EtOH) 추출물을 당뇨모델인 C57BL/KsJ-db/db mice에 600 mg/kg로 8주간 투여하여 혈당과 혈중 지질에 대한 영향을 조사한 결과, 공복혈당이 당뇨 대조군에 비해 유의적으로 감소하여 개선 되었으며, 경구 내당성도 1주 투여 시부터 개선되는 효과를 보이다가 8주간의 투여 시는 양성대조군인(메트포민 100 mg/kg) 수준으로 경구 내당성이 개선됨을 확인하였다. 이때 체중증가는 메트포민 투여군(10.36±3.15)에는 못 미치나 8.54±2.24로 당뇨 대조군 체중 증가(8.71±1.64)의 수준이었으며, food efficiency rates를 고려하면 식용피가 식이 섭취에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다. 총 콜레스테롤 농도는 당뇨 대조군의 총콜레스테롤(229.3±47.8)에 비해 식용피 EtOH 추출물 투여군(160.7±7.6)과 메트포민 투여군(176.0±25.6)에서 유의적으로 감소하였다. LDL-콜레스테롤 농도는 식용피 투여군에서 메트포민 투여군 수준으로 당뇨 대조군에 비해 약 41%정도 감소한 것에 반해, 중성지방은 식용피 추출물의 영향을 받지 않았다. 간독성은 식용피 추출물군의 GOT 값이 메트포민 투여군 보다 더 낮았으며, GPT 활성도는 모든 실험군들 간에 유의한 차이가 없었다. 이상의 연구 결과는 식용피 밀양3호가 항 당뇨 관련 우수한 소재 함유 곡류로 관련 질환 예방과 치료에 활용할 수 있음을 시사한다.