

PTU(6-n-propyl-2-thiouracil)로 유발된 Rat 갑상선 기능저하증에 미치는 烏梅의 효과

최재영^{1#}, 노성수¹, 박지하¹, 구진숙², 서부일^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 안동대학교 자연과학대학 생약자원학과

Effects of Mume Fructus on the Rat Hypothyroidism Induced by PTU(6-n-propyl-2-thiouracil)

Jae Young Choi^{1#}, Seong Soo Roh¹, Ji Ha Park¹, Jin Suk Koo², Bu Il Seo^{1*}

1 : Department of Korean Medicine, Daegu Haany University, 2 : Dept. of Bioresource Science, Andong National University

ABSTRACT

Objectives : The aim of this study was to evaluate the effect of aqueous extracts of Mume Fructus(MF) on the 6-n-propyl-2-thiouracil(PTU)-induced rat hypothyroidism.

Methods : Aqueous extracts of MF(yield = 19,38%) were administered, once per day for 42 days from 2 weeks before starting of PTU treatment as an oral dose of 300 and 150 mg/kg(body weight), and hypothyroidism was induced by daily subcutaneous treatment of PTU 10 mg/kg for 28 days. The changes in the body weight, thyroid gland weights, liver weight, serum levels of thyroid hormone-thyroid stimulating hormone(TSH), tri-iodothyronine(T₃) and thyroxine(T₄), total cholesterol, low density lipoprotein(LDL), high density lipoprotein(HDL) and triglyceride (TG), aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), liver antioxidant defense system-lipid peroxidation, H₂O₂, superoxide dismutase(SOD) and catalase(CAT) were examined with histopathology of thyroid glands and liver.

Results : Results were compared with LevoT₄ 0.5 mg/kg treated rats, MF extracts recovered from the decreases in the body weight, liver weight, T₃ and T₄, TG, liver CAT activities as results of PTU treatment. And MF extracts recovered from the increases of thyroid gland weights, TSH, HDL contents, liver H₂O₂, AST as results of PTU treatment. In addition, these PTU-induced histopathological changes in thyroid glands and liver related to hypothyroidism were dramatically decreased by treatment of both different dosages of MF extract, respectively.

Conclusions : According to the above results, it is suggested that MF extracts have advantageous effects on the thyroid hormone productions with beneficial effects on the hypothyroidism related liver injuries mediated by the modulation on the antioxidant system.

Key words : Mume Fructus, hypothyroidism, PTU(6-n-propyl-2-thiouracil)

서론

갑상선 기능저하증이란 갑상선 조직자체가 소실되어 호르몬의 생합성이 불가능한 경우, 상위 조절 중추인 시상하부 또는 뇌하수체 기능에 이상이 있어서 갑상선 자극원이 사라진 경우, 갑상선 호르몬 생합성 단계의 중간에 장애가 있는 경우

의 원인으로, 갑상선호르몬이 갑상선에서 생산이 결핍하여 발생하는 병증을 통칭하는 질환이다¹⁾. 현재 갑상선 기능 저하증을 치료하기 위해서는 주로 Levothyroxine(LT₄)이라는 약을 활용하여 부족한 갑상선호르몬을 외부에서 공급하여 보충해주는 방법을 사용하지만²⁾, 약물을 장기간 복용해야 하는 불편

*Corresponding author : Bu Il Seo, Department of Korean Medicine, Daegu Haany University.
· Tel : +82-53-819-1876 · E-mail : jangsan@dhu.ac.kr

#First author : Jae Young Choi, Department of Korean Medicine, Daegu Haany University.
· Tel : +82-10-4513-5755 · E-mail : 0adhbr@hanmail.net

· Received : 16 June 2015 · Revised : 19 July 2015 · Accepted : 21 July 2015

함미 있고, 허혈성 심질환의 발생이나, 갑상선 호르몬 요구량이 변화할 수 있으며, LT_4 를 보충해도 임상증상의 개선이 없는 경우도 발생하는 등의 여러 가지 문제점이 유발되고 있으므로^{3,4)}, 항산화 효과가 우수하고 부작용이 적은 한약재나 한약제제를 활용한 치료제의 개발이 필요하다⁵⁻⁷⁾. 본 연구에서는 면역기능을 증강하고⁸⁾, 항산화 효과가 있으며⁹⁾,生津止渴^{8,10)}하는 효능을 지니고 있는 烏梅가 갑상선 기능저하증에 효과가 있을 것으로 생각하여, PTU(6-n-propyl-2-thiouracil)로 rat 갑상선 기능저하증을 유발하고 그에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

烏梅는 매실나무 *Prunus mume* Sieb. et Zucc.의 미성숙한 과실을 채취하여 매연에 훈증하여 건조하거나 青梅를 저온 불에 쪄서 흑색으로 건조시킨 것으로¹⁰⁾, 맛이 시고 떼으며, 약성이 평하다¹⁰⁾. 烏梅는 斂肺止咳, 潤腸止瀉, 生津止渴, 安蛔하는 효능이 있어서, 주로 肺虛久咳, 虛熱消渴, 暑熱煩渴, 氣陰兩虛로 인한 煩熱口渴, 久瀉, 久痢, 滑腸, 蛔厥嘔吐腹痛, 복통, 膽道蛔蟲症, 便血, 崩漏, 尿血의 증상을 치료한다^{8,10)}.

6-n-propyl-2-thiouracil(PTU)은 갑상선의 기능을 억제하는 항갑상선제로서, 현재 갑상선 기능저하증 유발에 가장 흔히 사용되고 있다¹¹⁾. PTU는 iodine과 tyrosine의 결합을 억제하여, TSH(thyroid stimulating hormone)를 증가시키고, T_3 (tri-iodothyronine) 및 T_4 (thyroxine)를 절대적으로 감소하도록 하여, 비활동성 갑상선 종대(simple goiter)를 유발한다^{11,12)}.

오매 물 추출물의 경구 투여가 PTU로 유발된 rat 갑상선 기능저하증에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 오매 물 추출물을 PTU 처리시작 2주전부터 6주간 투여하고, 체중, 갑상선, 간 및 혈중 갑상선 호르몬(TSH, T_3 및 T_4) 함량, 혈중 지질(total cholesterol, HDL(high density lipoprotein), LDL(low density lipoprotein) 및 triglyceride) 함량, 간의 항산화 방어 system(lipid peroxidation, H_2O_2 , SOD(superoxide dismutase) 및 CAT(catalase)), 혈중 aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase(ALT) 함량의 변화를 갑상선, 간의 조직병리학적 변화와 함께 관찰하였으며, 본 실험에서의 결과는 LT_4 0.5 mg/kg 복강 투여 군과 비교하였다.

재료 및 방법

1. 오매 물 추출물

본 실험에 사용된 烏梅는 대원약업사(대구, Korea)에서 매입한 것을 현미경하에서 관능검사를 통하여 선정하여 사용하였으며, 본 실험에 사용된 오매 500 g을 취하여 정제수 4,500 ml로 80°C 3시간, 3회 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(Rotavapor R144 Büchi Labortechnik AG, Switzerland)로 감압농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음, programmable freeze dryer(Freezezone 1; Labconco Corp., MO, USA)를 사용하여 동결 건조시켜, 총 96.9g(수율 약 19.38%)의 연갈색의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 준비한 오매 물 추출물은 -20°C의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 40 mg/ml의 농도까지 비교적 잘 용

해되었다.

2. 실험동물 및 사양관리

수컷 Sprague-Dawley계 rat(6-wk old upon receipt, SLC, Japan) 40마리를 7일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간 동안에는 온도(20-25°C)와 습도(30-35%)가 조절된 사육실에서 polycarbonate 사육 상자에 4 마리씩 수용하여서 사육하였고, 명암 주기(light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료(Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 모든 실험동물은 오매 물 추출물 투여 시작일 및 최종 부검일 18시간 전 절식을 실시하였으며(이 기간에도 음수는 자유롭게 공급하였다), picric acid로 개체를 식별하였다.

3. 실험 군 분리 및 약물의 투여

실험동물은 하기와 같이 군당 8마리씩 5그룹-정상 대조군, PTU 대조군, LT_4 투여군 및 300, 150 mg/kg의 오매 물 추출물 투여군-으로 구분하여 실험을 실시하였다. 오매 물 추출물 400, 200 mg을 각각 10 ml의 멸균 증류수에 용해시켜, kg 당 5 ml/kg의 용량으로 존데(zonde)가 부착된 5 ml 주사기를 이용하여 매일 1회씩 PTU 투여 시작 2주전부터 42일 동안 강제 경구투여 하였으며, 2.5 mg의 LT_4 (Sigma, MO, USA)를 10 ml의 생리 식염수에 용해 시켜, kg 당 2 ml의 용량으로, PTU 투여 시작일로부터 28일간 매일 복강 주사하였다. 한편 정상 및 PTU 대조군에서는 동일한 용량의 멸균 증류수를 오매 물 추출물 투여군과 동일한 기간 동안 경구 투여하였다(Fig. 1).

실험군(5개 군 군당 8마리의 랫트 사용)

1. 정상 대조군 : PTU 대신 생리식염수를 피하 투여하고, 약물대신 멸균증류수를 경구 투여한 정상 대조군
2. PTU 대조군 : PTU 피하 투여하고, 약물대신 멸균증류수를 경구 투여한 대조군
3. LT_4 투여군 : PTU 피하 투여하고 및 LT_4 0.5 mg/kg 복강 투여군
4. 오매 물 추출물 300 mg/kg 투여군 : PTU 피하 투여하고, 오매 물 추출물 300 mg/kg 경구 투여군
5. 오매 물 추출물 150 mg/kg 투여군 : PTU 피하 투여하고, 오매 물 추출물 150 mg/kg 경구 투여군

4. 갑상선 기능저하증의 유발

50 mg의 PTU(Sigma, MO, USA)를 10 ml 생리 식염수에 용해시켜, kg 당 2 ml의 용량으로 매일 1회씩, 28일간 매일 등쪽 경부 피하에 주사하여, 갑상선 기능저하증을 유발하였다. 한편 정상 대조군에서는 PTU 대신 동일한 용량의 생리 식염수만 동일한 방법과 기간 동안 투여하였다(Fig. 1).

5. 체중 측정

모든 실험동물의 체중을 오매 물 추출물 투여 시작 1일 전, 투여 시작일, 투여 7, 14(PTU 및 LT₄ 투여 시작일), 21, 28, 35, 41 및 42(최종 희생일)일 후에 각각 측정하였으며, 사료섭취에 따른 체중 변화를 최소화하기 위해 烏梅 추출물 투여시작일 및 최종 희생일에 모든 실험동물은 18시간 정도 절식시켰으며, 실험 시작시의 개체 차이에 의한 체중 변화를 최소화하기 위해 2 주간의 오매 물 추출물 전 투여기간, 4 주간의 PTU 투여기간 및 6 주간의 실험 전 기간 동안의 체중 변화량인 증체량 (body weight gains)을 하기의 공식 [1]을 이용하여 각각 측정하였다.

EQUATION [1]. Body Weigh Gains(g)

Test material pretreatment periods = Body weight gains of 2 weeks of test material pretreatment periods(Body weights at 14 days after start of test material administration - body weights at start of test material administration)

PTU treatment periods = Body weight gains of 4 weeks of PTU treatment (Body weights at sacrifice - body weight at start of PTU treatment ; 14 days after test material administration)

Throughout the whole experimental periods = Body weight gains of 6 weeks of experiments (Body weight at sacrifice - body weight at start of test material administration 2 weeks before start of PTU treatment)

6. 장기 중량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물의 간, 좌측 갑상선을 적출·분리한 다음 중량을 측정하여, 절대 중량(absolute weight)으로 하였으며, 체중의 변화에 수반된 이차적 변화를 최소화하기 위해 체중에 대한 갑상선 절대중량의 비율인 상대 중량을 하기의 공식 [2]를 이용하여 각각 산출하였다.

EQUATION [2]. Relative Organ Weights(%)

= (Absolute organ weights / Body weights at sacrifice) × 100

7. 채혈 및 혈청의 분리

마지막 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식시킨 후, 후대정맥(vena cava)에서 각각 6 ml의 혈액을 채취하였으며, 상온에서 1시간 정도 방치한 다음 3,000 rpm으로 원심 분리하여 혈청을 분리하였고, 분석 전까지 -70℃의 초저온냉장고(Deep freezer)에 보관하였다.

8. 혈청 중 호르몬 함량의 측정

Radioimmunoassay 법¹³⁾에 준하여 혈청 중 TSH, T₃, T₄ 함량을 각각 Coat A count Total TSH, T₃, T₄ kit(DPC, CA, USA)를 사용하여, Gamma count Cobra II(Packard Co., IL, USA)로 pg/ml, ng/ml 또는 µg/ml 단위로 측정하였다.

9. 혈청 중 지질 함량의 측정

자동혈액분석장치(Toshiba 200 FR, Japan)를 이용하여 혈청 중 total cholesterol, HDL, LDL 및 triglyceride 함량을 각각 mg/dl 단위로 측정하였다.

10. 항산화 방어 system의 측정

Kavutcu 등¹⁴⁾의 방법에 따라, 적출한 간 조직을 얼음으로 냉각(ice-cold)한 0.01 M Tris-HCl(pH 7.4)을 이용하여 homogenize한 다음, 800 rpm으로 10분간 원심 분리하여 상층액을 분리하고, 다시 12,000 rpm으로 15분간 원심 분리하여, mitochondrial fraction을 준비하였다. 이 후 단백질 함량은 Lowry 등¹⁵⁾의 방법으로 bovine serum albumin을 standard로 이용하여 측정하였으며, 지질 과산화 정도(lipid peroxidation)는 Jamall과 Smith의 방법¹⁶⁾으로 2-thiobarbituric acid를 이용하여, 흡광도 525 nm에서 측정하여, malondialdehyde (MDA) nM/mg protein 단위로 측정하였다. 또한 Pick and Keisari의 방법¹⁷⁾에 따라서 H₂O₂ 함량은 horseradish peroxidase(Sigma, MO, USA)와 phenol red(Wako, Japan)를 이용하여, nM/mg protein 단위로 spectrophotometry로 측정하였으며, 이전의 Aebi 등¹⁸⁾의 방법에 따라, H₂O₂ 분해능을 이용하여 catalase 함량을 흡광도 240 nm에서 측정하였다. 즉, pH 7.0, 온도 25℃하에서 1 µmol의 H₂O₂를 분해하는데 필요한 catalase를 1 unit(U)로 정의하여, U/mg protein의 단위로 catalase의 활성을 평가하였고, SOD 활성은 Nishikimi 등¹⁹⁾의 방법에서, nicotinamide adenine dinucleotide (reduced)-phenazine methosulphate-nitrobluetetrazolium 억제 반응을 변형 시킨 Kakkar 등²⁰⁾의 방법을 이용하여 평가하였다. SOD 1 unit는 상온(25 ± 2℃)에서 1분 동안 formazan 형성을 50% 억제하는 농도로 정의하여, U/mg protein 단위로 측정하였다.

11. 혈청 중 AST 및 ALT 함량의 측정

자동혈액분석장치(Toshiba 200 FR, Japan)를 이용하여 혈청 중 AST 및 ALT 함량을 각각 IU/l 단위로 측정하였다.

12. 조직병리

최종 희생일에 좌측 갑상선, 간 조직을 적출한 다음 세포로 절단하고, 10% 중성포르말린에 18시간 이상 고정시킨 다음, 탈수를 거쳐 파라핀 포매 후 4 µm의 절편을 제작하였다. 이후 Hematoxylin & eosin(H&E) 염색을 실시하고, 광학현미경 하에서 관찰하였다 또한 세포 절단한 갑상선 전체 두께(mm/central regions), 평균 갑상선 여포 직경(µm/follicle) 및 피막 두께(µm/thyroid)를 각각 Automated image analyzer (DMI-300, DMI, Korea)를 이용하여 측정하였으며, 단위 면적당 간세포의 수를 Subudhi 등²¹⁾의 방법에 따라 Automated image analyzer를 이용하여 nuclei numbers/mm² 단위로 산출하였다.

13. 통계처리

모든 실험 결과 수치는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산 동질성을 Levene test를 실시하여 검증 하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences(LSD) test로 사후 검증을 실시하여 군 간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U test를 실시하여 군 간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하여 평가하였으며, *p*-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 체중의 변화

정상 대조군에 비해 PTU 대조군에서는 유의성 있는(*p* < 0.01 또는 *p* < 0.05) 체중의 감소가 PTU 투여 2주 후부터 인정되기 시작하여, 4 주간의 PTU 투여기간 및 6주간의 실험 전 기간 동안의 증체량 역시 정상 대조군에 비해 유의성 있는(*p* < 0.01) 감소를 각각 나타내었다. LT₄ 및 300 mg/kg의 오매 추출물 투여 군에서는 각각 PTU 투여 3주 후부터 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(*p* < 0.01) 체중의 증가가 인정되기 시작하여, PTU 투여기간 및 실험 전 기간 동안의 증체량이 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(*p* < 0.01) 증가를 각각 나타내었다. 한편 150 mg/kg의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군과 유사한 체중 및 증체량의 변화를 나타내었다(Table 1, Fig. 1).

2 주간의 실험물질 전투여 기간 동안 증체량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 110.38 ± 11.88, 114.00 ± 18.24, 107.00 ± 6.16, 107.13 ± 13.38 및 109.13 ± 9.82 g 으로 관찰되었다.

4 주간의 PTU 투여기간 동안의 증체량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 57.88 ± 12.87, -20.63 ± 2.92, 24.63 ± 7.29, 26.75 ± 17.58 및 -18.88 ± 7.18 g으로 관찰되었다.

6 주간의 실험 전 기간 동안 증체량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 168.25 ± 24.01, 93.38 ± 16.86, 131.63 ± 11.61, 133.88 ± 24.32 및 90.25 ± 11.20 g으로 관찰되었다.

Table 1. Changes on the body weight gains after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Groups	Body weight gains during		
	2 weeks of MF extracts pretreatment	4 weeks of PTU treatment	6 weeks of total experiments
Controls			
Intact	110.38±11.88	57.88±12.87	168.25±24.01
PTU	114.00±18.24	-20.63±2.92 ^c	93.38±16.86 ^a
LT ₄ treated group			
0.5 mg/kg	107.00±6.16	24.63±7.29 ^{cd}	131.63±11.61 ^{ab}
MF extracts treated groups			
300 mg/kg	107.13±13.83	26.75±17.58 ^{cd}	133.88±24.32 ^{ab}
150 mg/kg	109.13±9.82	-18.88±7.18 ^c	90.25±11.20 ^a

Values are expressed as mean ± S.D. g of eight rats

MF : Mume Fructus

PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil

LT₄ : Levothyroxine

^a *p* < 0.01 as compared with intact control by LSD test

^b *p* < 0.01 as compared with PTU control by LSD test

^c *p* < 0.01 as compared with intact control by MW test

^d *p* < 0.01 as compared with PTU control by MW test

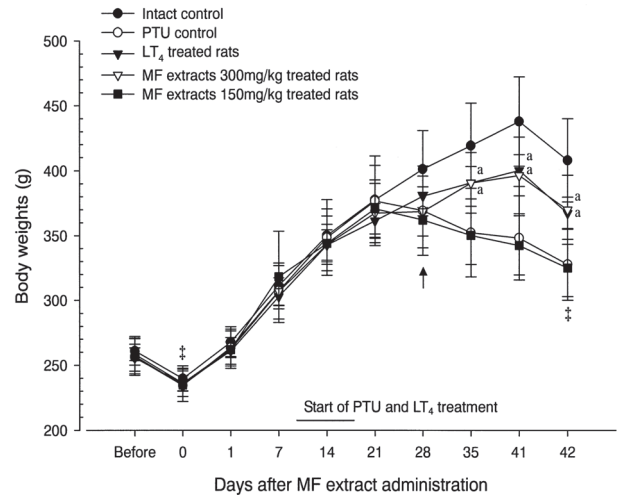


Fig. 1. Body weight changes after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Note that the body weights in PTU control were significantly decreased from 2 weeks after PTU treatment, at 28 days after MF extract administration (arrow). However, these body weight decreases were significantly inhibited by treatment of LT₄ and 300mg/kg of MF extracts from 35 days after treatment, respectively. No meaningful changes on the body weights were detected in MF extracts 150mg/kg treated rats as compared with PTU control rats in the present study

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats, g

MF : Mume Fructus

PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil

LT₄ : Levothyroxine

0 means, at start of MF extracts administration

All rats at start of MFextract administration and sacrifice were overnight fasted (†).

^a *p* < 0.01 as compared with PTU control by LSD test

2. 갑상선 중량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(*p* < 0.01) 절대 및 상대 갑상 샘 중량의 증가가 인정되었으나, LT₄ 및 두 용량의 오매 투여 군에서는 각각 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(*p* < 0.01) 절대 및 상대 갑상선 중량의 감소가 인정되었다(Fig. 2).

갑상선 절대 중량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 0.006 ± 0.003, 0.038 ± 0.005, 0.004 ± 0.002, 0.026 ± 0.003 및 0.031 ± 0.004 g으로 관찰되었다.

갑상선 상대 중량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 0.001 ± 0.001, 0.012 ± 0.001, 0.001 ± 0.001, 0.007 ± 0.001 및 0.010 ± 0.001% of body weights로 관찰되었다.

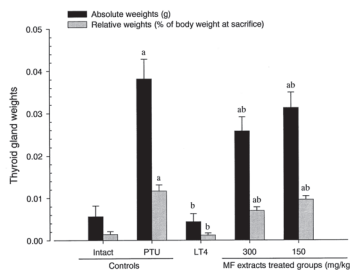


Fig. 2. Thyroid gland weight changes after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Note that the absolute and relative (% of body weight) thyroid gland weights in PTU control were significantly increased but these thyroid gland weight increases were significantly inhibited by treatment of LT₄ and MF extract 300 and 150mg/kg as compared with PTU control, respectively.

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats
 MF : Mume Fructus
 PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil
 LT₄ : Levothyroxine
^a $p < 0.01$ as compared with intact control by LSD test
^b $p < 0.01$ as compared with PTU control by LSD test

3. 간 중량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 절대 및 상대 간 중량의 감소가 인정되었으나, LT₄에서는 절대 및 상대 간 중량의 증가가, 오매 150 mg/kg 투여 군에서는 상대 중량이 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 증가가 각각 인정되었다(Fig. 3).

간 절대 중량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 10,665 ± 1,089, 7,323 ± 0,484, 10,117 ± 0,544, 9,666 ± 1,280 및 7,932 ± 0,686 g으로 관찰되었다.

간 상대 중량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 2,613 ± 0,140, 2,240 ± 0,142, 2,753 ± 0,096, 2,605 ± 0,194 및 2,438 ± 0,082% of body weights로 관찰되었다.

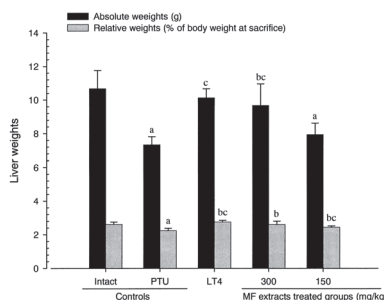


Fig. 3. Liver weight changes after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Note that the absolute and relative (% of body weight) liver weights in PTU control were significantly decreased but these liver weight decreases were dramatically inhibited by treatment of LT₄ and MF extract 300 and 150 mg/kg as compared with PTU control, respectively.

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats
 MF : Mume Fructus
 PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil
 LT₄ : Levothyroxine
^a $p < 0.01$ and ^b $p < 0.05$ as compared with intact control by LSD test
^c $p < 0.01$ as compared with PTU control by LSD test

4. 혈청 중 갑상선 호르몬 함량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 혈청 중 TSH 함량의 증가가 T₃ 및 T₄ 함량의 감소와 함께 인정되었다. LT₄ 및 두 용량의 오매 추출물 투여에서는 PTU 대조군에 비해 TSH 함량의 유의성 있는($p < 0.01$) 감소와 T₄ 함량의 증가가 인정되었으나, 유의성 있는($p < 0.05$) T₃ 함량의 증가는 오매 300 mg/kg 투여군에 국한되어 인정되었다(Table 2).

혈청 중 TSH 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 14.33 ± 1.83, 64.14 ± 14.16, 12.04 ± 1.45, 37.66 ± 9.26 및 45.99 ± 9.60 ng/ml로 관찰되었다.

혈청 중 T₃ 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 69.26 ± 6.87, 21.09 ± 2.87, 19.95 ± 1.77, 23.89 ± 2.97 및 21.18 ± 2.09 ng/ml로 관찰되었다.

혈청 중 T₄ 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 4.61 ± 0.58, 0.89 ± 0.29, 6.25 ± 1.48, 2.18 ± 0.58 및 1.90 ± 0.23 µg/ml로 관찰되었다.

Table 2. Changes on the serum thyroid hormone levels after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Groups	Serum levels		
	Thyroid stimulating hormone(ng/ml)	Tri-iodothyronine(ng/ml)	Thyroxine(ng/ml)
Controls			
Intact	14,33±1,83	69,26±6,87	4,61±0,58
PTU	64,14±14,16 ^a	21,09±2,87 ^a	0,89±0,29 ^a
LT ₄ treated group			
0,5 mg/kg	12,04±1,45 ^{bc}	19,95±1,77 ^a	6,25±1,48 ^{bc}
MF extracts treated groups			
300 mg/kg	37,66±9,26 ^{bc}	23,89±2,97 ^{cd}	2,18±0,58 ^{bc}
150 mg/kg	45,99±9,60 ^{cd}	21,18±2,09 ^a	1,90±0,23 ^{bc}

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats
 MF : Mume Fructus
 PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil
 LT₄ : Levothyroxine
^a $p < 0.01$ and ^b $p < 0.05$ as compared with intact control by MW test
^c $p < 0.01$ and ^d $p < 0.05$ as compared with PTU control by MW test

5. 혈청 중 지질 함량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 혈청 중 Total cholesterol, HDL 함량의 증가를 나타내었으며, 혈청 중 triglyceride는 유의성 있는($p < 0.01$) 감소를 나타내었으나, LT₄ 및 두 용량의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 혈청 중 HDL의 감소 및 triglyceride 함량의 증가를 각각 나타내었다. 한편 PTU 투여에 의해 의미 있는 혈청 중 LDL의 변화는 인정되지 않았으며, LT₄ 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) 혈청 중 total cholesterol 함량의 감소가 인정된 반면, 두 용량의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는 total cholesterol 함량의 변화는 인정되지 않았다(Table 3).

혈청 중 total cholesterol 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여군에서 각

각 61.28 ± 9.95 , 74.20 ± 7.26 , 63.08 ± 11.39 , 67.50 ± 6.96 및 73.63 ± 7.56 mg/dl로 관찰되었다.

혈청 중 LDL 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 15.24 ± 2.22 , 15.63 ± 1.88 , 15.79 ± 2.34 , 14.48 ± 2.84 및 15.13 ± 2.53 mg/dl로 관찰되었다.

혈청 중 HDL 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 26.01 ± 6.78 , 50.09 ± 7.83 , 36.11 ± 5.57 , 38.89 ± 7.79 및 40.19 ± 6.12 mg/dl로 관찰되었다.

혈청 중 triglyceride 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 93.65 ± 15.41 , 39.34 ± 9.36 , 83.38 ± 18.99 , 69.45 ± 18.26 및 58.20 ± 6.69 mg/dl로 관찰되었다.

Table 3. Changes on the serum lipid levels after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Groups	Serum levels (mg/dl)			
	Total cholesterol	Low density lipoprotein	High density lipoprotein	Triglyceride
Controls				
Intact	61.28 ± 9.95	15.24 ± 2.22	26.01 ± 6.78	93.65 ± 15.41
PTU	74.20 ± 7.26^a	15.63 ± 1.88	50.09 ± 7.83^a	39.34 ± 9.36^d
LT ₄ treated group				
0.5 mg/kg	63.08 ± 11.39^c	15.79 ± 2.34	36.11 ± 5.57^{ab}	83.38 ± 18.99^f
MF extracts treated groups				
300 mg/kg	67.50 ± 6.96	14.48 ± 2.84	38.89 ± 7.79^{ab}	69.45 ± 18.26^{ef}
150 mg/kg	73.63 ± 7.56^d	15.13 ± 2.53	40.19 ± 6.12^{ab}	58.20 ± 6.69^{df}

Values are expressed as mean \pm S.D. of eight rats

MF : Mume Fructus

PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil

LT₄ : Levothyroxine

^a $p < 0.01$ as compared with intact control by LSD test

^b $p < 0.01$ and ^c $p < 0.05$ as compared with PTU control by LSD test

^d $p < 0.01$ and ^e $p < 0.05$ as compared with intact control by MW test

^f $p < 0.01$ as compared with PTU control by MW test

6. 간 항산화 방어 system의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 없는 경미한 지질 과산화(MDA 함량)의 감소가 인정되었으나, 유의성 있는($p < 0.01$) 간 H₂O₂ 및 SOD 활성의 증가가 CAT 활성의 유의성 있는($p < 0.01$) 감소와 함께 인정되었다. LT₄ 및 두 용량의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$, $p < 0.05$) CAT 활성의 증가가 H₂O₂ 함량의 감소와 함께 인정되었다. 한편 LT₄ 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) SOD 활성의 감소가 인정된 반면, 두 용량의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군과 유사한 SOD 활성이 각각 인정되었고, LT₄ 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) MDA 함량의 증가 인정된 반면, 300 mg/kg의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 없는 MDA 함량의 감소가 인정되었으며, 150 mg/kg의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 의미 있는 MDA 함량의 변화는 인정되지 않았다(Table 4).

간 MDA 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 2.94 ± 0.70 , 2.55 ± 0.73 , 3.35 ± 0.55 , 2.04 ± 0.54 및 3.45 ± 0.76 nM/mg protein으로 관찰되었다.

간 H₂O₂ 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 102.38 ± 19.04 , 203.28 ± 24.13 , 97.00 ± 19.00 , 123.63 ± 14.77 및 166.50 ± 27.54 nM/mg protein으로 관찰되었다.

간 SOD 활성은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 49.75 ± 13.72 , 83.50 ± 10.92 , 47.50 ± 11.84 , 82.75 ± 15.80 및 76.00 ± 13.37 U/mg protein으로 관찰되었다.

간 CAT 활성은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여군에서 각각 315.38 ± 54.76 , 148.00 ± 34.52 , 229.88 ± 49.19 , 229.25 ± 37.60 및 194.63 ± 13.64 U/mg protein으로 관찰되었다.

Table 4. Changes on the liver antioxidant defense systems after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Groups	Liver contents			
	MDA (nM/mg protein)	H ₂ O ₂ (nM/mg protein)	SOD (U/mg protein)	Catalase (U/mg protein)
Controls				
Intact	2.94 ± 0.70	102.38 ± 19.04	49.75 ± 13.72	315.38 ± 54.76
PTU	2.55 ± 0.73	203.28 ± 24.13^a	83.50 ± 10.92^a	148.00 ± 34.52^a
LT ₄ treated group				
0.5 mg/kg	3.35 ± 0.55^d	97.00 ± 19.00^c	47.50 ± 11.84^c	229.88 ± 49.19^{bc}
MF extracts treated groups				
300 mg/kg	2.04 ± 0.54^b	123.63 ± 14.77^c	82.75 ± 15.80^a	229.25 ± 37.60^{bc}
150 mg/kg	3.45 ± 0.76	166.50 ± 27.54^{bc}	76.00 ± 13.37^a	194.63 ± 13.64^{bd}

Values are expressed as mean \pm S.D. of eight rats

MF : Mume Fructus

PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil

LT₄ : Levothyroxine

MDA : malondialdehyde

SOD : Superoxide dismutase

^a $p < 0.01$ and ^b $p < 0.05$ as compared with intact control by MW test

^c $p < 0.01$ and ^d $p < 0.05$ as compared with PTU control by MW test

7. 혈청 중 AST 및 ALT 함량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 혈청 중 AST 함량의 증가를 나타내었으나, 이러한 AST 함량의 증가는 LT₄ 및 300 mg/kg의 오매 추출물 투여에 의해 각각 유의성 있게($p < 0.01$) 억제되었다. 한편 150 mg/kg의 오매 추출물 투여 군에서도 PTU 대조군에 비해 유의성 없는 혈청 AST 함량의 감소를 나타내었으며, PTU 투여에 의해 의미 있는 혈청 중 ALT 함량의 변화는 인정되지 않았다(Fig. 4).

혈청 중 AST 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 119.00 ± 24.54 , 194.38 ± 13.24 , 137.75 ± 31.74 , 149.13 ± 21.95 및 175.75 ± 11.57 IU/L로 관찰되었다.

혈청 중 ALT 함량은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 45.75 ± 13.05 , 50.00 ± 11.29 , 50.00 ± 7.27 , 49.13 ± 6.53 및 46.38 ± 7.73 IU/L로 관찰되었다.

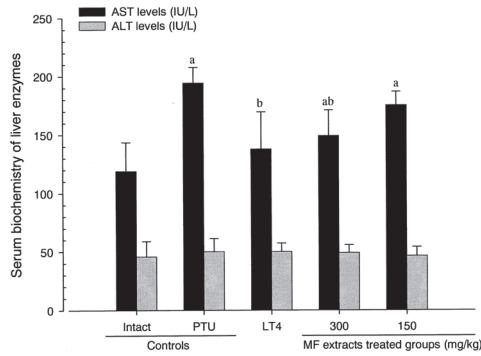


Fig. 4. Serum AST and ALT changes after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Note that serum AST levels in PTU control were significantly increased but these AST elevations were significantly inhibited by treatment of LT₄ and 300mg/kg of MF extract as compared with PTU control, respectively. In addition, non-significant but marked decreases of serum AST levels were detected in 150mg/kg of MF extracts treated rats as compared with PTU control. No meaningful changes on the serum ALT levels were detected by PTU treatment in the present study.

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats

MF : Mume Fructus

PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil

LT₄ : Levothyroxine

AST : Aspartate aminotransferase

ALT : Alanine aminotransferase

^a $p < 0.01$ as compared with intact control by LSD test

^b $p < 0.01$ as compared with PTU control by LSD test

8. 갑상선의 조직병리학적 관찰

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견이 여포 직경 및 여포 내 colloid 물질의 감소와 함께 인정되었으며, 갑상선 전체 두께 및 피막 두께의 유의성 있는($p < 0.01$) 증가가 평균 갑상선 여포 직경의 유의성 있는($p < 0.01$) 감소와 함께 인정되었다. 한편 이러한 PTU 투여에 의한 갑상선 조직의 증생 및 비대 소견이 LT₄ 및 두 용량의 오매 추출물 투여에 의해 현저히 억제되었다. 즉, LT₄ 및 두 용량의 오매 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 갑상선 전체 두께 및 피막 두께의 감소와 평균 갑상선 여포 직경의 증가를 각각 나타내었다(Table 5, Fig. 5).

갑상선 전체 두께는 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여군에서 각각 1.37 ± 0.13 , 3.21 ± 0.22 , 1.18 ± 0.16 , 1.79 ± 0.32 및 2.54 ± 0.16 mm/thyroid gland로 관찰되었다.

평균 갑상선 여포 직경은 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여군에서 각각 237.81 ± 34.94 , 122.76 ± 13.54 , 230.87 ± 53.31 , 191.82 ± 12.39 및 176.91 ± 17.59 $\mu\text{m}/\text{follicle}$ 로 관찰되었다.

갑상 피막 두께는 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄, 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여군에서 각각 36.92 ± 5.87 , 216.72 ± 18.51 , 38.61 ± 4.91 , 83.49 ± 17.36 및 129.27 ± 11.55 $\mu\text{m}/\text{thyroid gland}$ 로 관찰되었다.

Table 5. Changes on the histomorphometrical analysis of thyroid glands and liver after LT₄ and MF extracts treatment in PTU treated rats

Groups	Thyroid gland			Liver
	Total thickness (mm/central regions)	Mean follicle thickness ($\mu\text{m}/\text{follicle}$)	Mean capsule thickness ($\mu\text{m}/\text{thyroid}$)	Liver cell counts (Nuclei/ mm^2)
Controls				
Intact	1.37 ± 0.13	237.81 ± 34.94	36.92 ± 5.87	492.88 ± 43.31
PTU	3.21 ± 0.22^a	122.76 ± 13.54^a	216.72 ± 18.51^a	284.00 ± 13.99^a
LT ₄ treated group				
0.5 mg/kg	1.18 ± 0.16^c	230.87 ± 53.31^c	38.61 ± 4.91^c	462.38 ± 26.99^c
MF extracts treated groups				
300 mg/kg	1.79 ± 0.32^{bc}	191.82 ± 12.39^{bc}	83.49 ± 17.36^{bc}	437.50 ± 44.59^c
150 mg/kg	2.54 ± 0.16^{bc}	176.91 ± 17.59^{bc}	129.27 ± 11.55^{bc}	364.00 ± 69.47^c

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats

MF : Mume Fructus

PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil

LT₄ : Levothyroxine

^a $p < 0.01$ and ^b $p < 0.05$ as compared with intact control by MW test

^c $p < 0.01$ as compared with PTU control by MW test

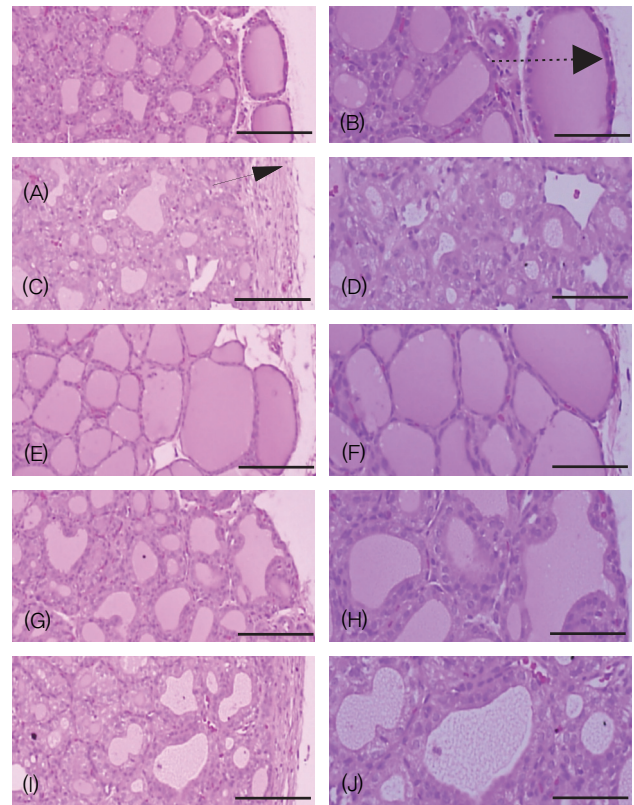


Fig. 5. Representative histopathological profiles of the left thyroid glands in the intact control (A, B), PTU control (C, D), LT₄ (E, F), MF extracts 300 (G, H) and 150 (I, J) mg/kg treated rats

Note that marked enlargement of the thyroid glands related to hyperplasia of follicular cells were demonstrated in PTU control rats at histopathological inspections with decreases of follicular colloid contents and sizes. However, these PTU-induced histopathological changes related to hypothyroidism were dramatically decreased by treatment of LT₄ and both different dosages of MF extract, respectively.

All H&E stain, Scale bars = 160 μm .

MF : Mume Fructus

PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil

LT₄ : Levothyroxine

Arrow indicated the mean capsule thickness measured

Dot arrow indicated mean follicle thickness measured

9. 간의 조직병리학적 관찰

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 간세포의 종창에 의한 유의성 있는($p < 0.01$) 단위 면적당 간세포의 수적 감소가 인정되었으나, 이러한 PTU 투여에 의한 간세포의 종창 소견이 LT_4 및 두 용량의 오매 추출물 투여에 의해 현저히 억제되었다. 즉, LT_4 및 두 용량의 오매 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 단위 면적당 간 세포 수의 감소를 각각 나타내었다(Table 5, Fig. 6).

단위 면적당 간세포의 수는 정상 대조군, PTU 대조군, LT_4 , 오매 물 추출물 300 및 150 mg/kg 투여 군에서 각각 492.88 ± 43.31 , 284.00 ± 13.99 , 462.38 ± 26.99 , 437.50 ± 44.59 및 364.00 ± 69.47 nuclei/mm²으로 관찰되었다.

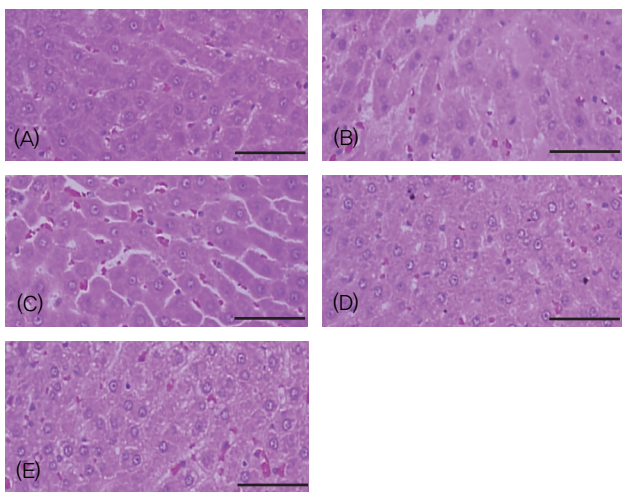


Fig. 6. Representative histopathological profiles of the liver in the intact control (A), PTU control (B), LT_4 (C), MF extracts 300 (D) and 150 (E) mg/kg treated rats

Note that marked decreases of hepatocytes related to hypertrophy of hepatic cells were demonstrated in PTU control rats at histopathological inspections. However, these PTU-induced histopathological changes related to hypothyroidism were dramatically decreased by treatment of LT_4 and both different dosages of MF extracts, respectively.

All H&E stain, Scale bars = 160 μ m.
MF : Mume Fructus
PTU : 6-n-propyl-2-thiouracil
 LT_4 : Levothyroxine

고찰

갑상선 기능저하증은 매우 서서히 진행되는 질환으로¹⁾, 임상증상은 질병의 진행 정도에 따라 매우 다양하지만, 일반적으로, 피로 및 근육의 쇠약감, 추위에 민감, 체중증가, 무기력, 무력감, 기억력 감퇴, 말이 느려짐, 식욕감퇴, 변비, 근육통, 관절통, 손발이 저리고 쥐가 잘 낄, 발한감소가 나타난다^{1,22-24)}.

갑상선 기능저하증을 진단하기 위해서는 임상증상만으로는 어렵지만, 초기부터 나타나는 증상으로 체중증가, 근육통 및 numbness(저림감), 추위에 민감해지는 등의 증상이 있으므로 진단에 이용되고 있다^{1,22-24)}. 또한 갑상선 기능저하증이 있을 경우에는 피곤하고, 행동이 느려지며, 전신에 부종감이 발생하며, 진단은 갑상선 호르몬의 혈중농도를 측정함으로써 가능

하다^{1,22-24)}.

한의학에서는 갑상선 기능저하증을 浮腫, 虛勞, 語遲, 行遲, 結陽證, 解顛 등과 관련이 깊은 것으로 파악하고 있으며^{1,25,26)}, 이 질환의 원인으로는 주로 氣血不足, 命門火衰, 心腎陽虛, 脾胃陽虛, 腎水不足, 肝旺脾虛로 발생한다고 보고 있고, 補氣, 補血, 溫補腎陽, 溫中健脾, 扶陽補腎, 溫補心陽, 溫補脾胃, 健脾利濕平肝하는 등의 治法을 활용하고 있다^{1,25,26)}. 따라서, 갑상선 기능 저하증을 치료하기 위해서 한방임상에서는 주로 十全大補湯, 補中益氣湯, 右歸飲, 八味丸, 大營煎 등의 처방을 활용하고 있다^{1,25,26)}.

갑상선 기능저하증에 대한 실험적 연구로 처방연구로는 當歸四逆湯²⁷⁾, 眞武湯²⁸⁾, 滋陰健脾湯²⁹⁾, 大營煎²⁶⁾ 등의 연구가 있으며, 한약재에 대한 연구로는 인삼³⁰⁾, 柴胡³¹⁾, 淫羊藿³²⁾, 肉從蓉³³⁾ 등의 연구가 있었다. 이에, 저자들은 면역기능을 증강하고⁸⁾, 항산화 효과가 있으며⁹⁾,生津止渴하는 효능^{8,10)}을 지니고 있는 烏梅를 갑상선 기능저하증에 활용해 볼 필요가 있을 것으로 생각하여, PTU로 유발된 rat 갑상선 기능저하증에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

烏梅는 장미과(Rosaceae)에 속한 매실나무 *Prunus mume* Sieb. et Zucc.의 미성숙한 과실을 채취하여 매연에 훈증하여 건조하거나 靑梅를 저온 불에 쪄서 흑색으로 건조시킨 것¹⁰⁾으로, 烏梅는 맛이 시고 떫으며, 약성이 평하다¹⁰⁾. 烏梅는 斂肺止咳, 澀腸止瀉, 生津止渴, 安蛔하는 효능이 있어서, 주로 肺虛久咳, 虛熱消渴, 暑熱煩渴, 氣陰兩虛로 인한 煩熱口渴, 久瀉, 久痢, 滑腸, 蛔厥嘔吐腹痛, 복통, 膽道蛔蟲症, 便血, 崩漏, 尿血의 증상을 치료한다^{8,10)}.

烏梅의 약리작용을 살펴보면, 항균⁹⁾, 항진균⁹⁾, 혈당강하³⁴⁾, 간암 및 자궁암 세포주의 증식 억제³⁵⁾의 작용이 밝혀졌으며, 유기체의 면역기능을 증강하고⁸⁾, 적출된 토끼의 장에 대하여 억제하는 작용이 있음이 밝혀졌다⁸⁾. 그 외에도 烏梅의 에탄올 추출물의 항산화 및 항암활성 효과가 밝혀졌다⁹⁾.

본 연구의 결과, 28일간의 연속적인 PTU 10 mg/kg 피하 투여에 의해 현저한 체중 감소, 갑상선 중량의 증가, 간 중량의 감소, 혈청 중 TSH 함량의 증가와 함께 T_3 , T_4 함량의 감소, 혈청 중 total cholesterol, HDL 함량의 증가와 triglyceride 함량의 감소, 간의 항산화 방어 system의 저하, 혈청 중 AST 함량의 증가가 인정되었으며, 조직병리학적으로 현저한 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견, 간세포 비대에 의한 단위 면적당 간세포의 수적 감소가 인정되었다.

일반적으로 갑상선 기능저하증인 경우에 조직 내 당단백질이 침착하여서 체중의 증가가 일어나지만^{22,36)}, 이 체중의 증가를 보상하기 위하여 leptin의 분비가 증가되어서 식욕이 떨어지고, 에너지 대사가 증가되어 체중이 감소할 수도 있다³⁷⁾. 또한 본 실험의 결과와 마찬가지로, 실험동물에서 10 mg/kg 이상의 PTU 투여는 뚜렷한 체중 감소를 일으킨다^{13,21)}. 본 실험 결과, LT_4 및 300 mg/kg의 오매 추출물 투여 군에서는 각각 PTU 투여 3주 후부터 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 체중의 증가가 인정되기 시작하여, PTU 투여기간 및 실험 전 기간 동안의 증체량이 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 증가를 각각 나타내었다. 이러한 결과는 烏梅 추출물이 PTU 투여 갑상선 기능저하증시 유발되는 체중의 감소를 매우 효과적으로 억제하는 것을 나타낸다고 판단할 수 있다.

10 mg/kg 이상의 PTU를 투여하면 갑상선의 중량은 늘어나는데³⁰⁾, 본 연구에서는 LT₄ 및 두 용량의 오메 투여 군에서는 각각 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 절대 및 상대 갑상선 중량의 감소가 인정되었다.

간의 중량의 변화를 살펴보면, PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 절대 및 상대 간 중량의 감소가 인정되었으나, LT₄에서는 절대 및 상대 간 중량의 증가가, 오메 150 mg/kg 투여군에서는 상대 중량이 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 증가가 각각 인정되었다.

일반적으로 갑상선의 기능 검사로, 혈청 중 호르몬 TSH, T₃ 및 T₄의 함량의 변화를 주로 이용하며^{12,38)}, 현재 갑상선 기능 저하증의 진단 기준은 TSH의 증가, T₄의 감소, T₃ 정상 또는 감소를 기준으로 한다^{3,22,38)}. 따라서, 선천적 갑상선 기능저하증을 치료하기 위해서 thyroxine(T₄)의 치료는 매우 중요하다³⁹⁾. 본 실험의 연구 결과, LT₄ 및 두 용량의 오메 추출물 투여에서는 PTU 대조군에 비해 TSH 함량의 유의성 있는($p < 0.01$) 감소와 T₄ 함량의 증가가 인정되었으나, 유의성 있는($p < 0.05$) T₃ 함량의 증가는 오메 300 mg/kg 투여군에 국한되어 인정 되었다.

갑상선 기능 저하증이 될 경우에, 갑상선 호르몬은 간에서 지질 대사와 콜레스테롤의 합성을 억제하기 때문에 혈청 중 지질 함량의 변화를 일으키는데, 일반적으로 total cholesterol, LDL cholesterol의 함량을 증가시킨다^{30,40)}. 그러나, HDL-cholesterol은 감소 혹은 증가되는 등 다양하게 나타난다⁴¹⁾. 본 실험의 결과, PTU 투여에 의해 의미 있는($p < 0.01$) 혈청 중 total cholesterol 및 HDL의 함량의 증가, triglyceride 감소를 나타내었다. PTU 대조군에 비해 현저한 혈청 중 HDL의 함량 감소와 triglyceride 함량의 증가가 LT₄ 및 300, 150 mg/kg의 오메 추출물 투여군에서 인정된 점은 갑상선 호르몬의 함량 증가에 의해, 간에서 지질 대사 기능이 정상화되고, 이차적으로 지질의 이용이 증가되어 나타난 결과로 판단된다.

갑상선 기능저하인 경우에는 신체 항산화 방어 system의 변화가 초래되며³⁰⁾, 항산화제를 투여하면 갑상선 기능저하증 소견이 뚜렷하게 감소한다^{21,42)}. 갑상선 기능 저하증 환자는 불충분한 항산화 방어 체계를 지니게 되므로⁴³⁾, 항산화 효과가 있는 한약재는 갑상선 기능 저하증을 치료할 수 있는 후보 물질이 될 수 있다. 본 실험 연구 결과, LT₄ 및 두 용량의 오메 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$, $p < 0.05$) CAT 활성의 증가가 H₂O₂ 함량의 감소와 함께 인정되었다. 한편 LT₄ 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) SOD 활성의 감소가 인정된 반면, 두 용량의 오메 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군과 유사한 SOD 활성이 각각 인정되었고, LT₄ 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.05$) MDA 함량의 증가 인정된 반면, 300 mg/kg의 오메 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 없는 MDA 함량의 감소가 인정되었으며, 150 mg/kg의 오메 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 의미 있는 MDA 함량의 변화는 인정되지 않았다. 따라서, 烏梅는 비교적 강력한 항산화 효과를 나타낸다고 볼 수 있다.

갑상선 기능 저하증 환자 중 60%에서 AST의 함량이 상승한다⁴⁴⁾. 또한 갑상선 저하증이나 항진증에서는 간 기능 검사 결과 liver enzyme이 모두 활성화된다⁴⁵⁾. 본 실험 연구 결

과, PTU 대조군에서의 AST 함량의 증가는 LT₄ 및 300 mg/kg의 오메 추출물 투여에 의해 각각 유의성 있게($p < 0.01$) 억제되었다. 한편 150 mg/kg의 오메 추출물 투여 군에서도 PTU 대조군에 비해 유의성 없는 혈중 AST 함량의 감소를 나타내었으며, PTU 투여에 의해 의미 있는 혈청 중 ALT 함량의 변화는 인정되지 않았다.

갑상선 억제제인 PTU는 TSH를 증가시키고, T₃ 및 T₄의 절대적 감소를 유발하여, 비활동성 갑상선 종대(simple goiter)를 유발하고^{12,13,21,46)}, 뚜렷하게 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대와 여포 직경 및 여포 내 colloid 물질의 감소를 발생시킨다^{13,47)}. 본 실험의 결과, PTU 투여에 의한 갑상선 조직의 증생 및 비대 소견이 LT₄ 및 두 용량의 烏梅 추출물 투여에 의해 현저히 억제되었다. 즉, LT₄ 및 두 용량의 오메 추출물 투여 군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 갑상선 전체 두께 및 피막 두께의 감소와 평균 갑상선 여포 직경의 증가를 각각 나타내었다.

건강한 갑상선은 간 대사에 매우 필수적이며, 갑상선의 이상과 간의 질환은 서로 좋지 않은 작용을 발휘한다⁴⁸⁾. 간의 조직병리학적 변화를 살펴보면, 본 실험의 결과, 烏梅 물 추출물의 투여 군에서는 LT₄ 투여 군과 유사하게, PTU 투여에 의한 간세포의 종창 소견이 현저히($p < 0.01$) 억제되었다. 이러한 결과는 오메 물 추출물이 갑상선 기능저하증시 유발되는 간 손상을 억제하는 증거로 판단된다.

이상에서 烏梅 추출물의 경구투여는 PTU 유발 갑상선 기능저하증시 초래되는 체중의 감소, 갑상선 종대, 갑상선 및 혈청 중 지질 함량의 변화 등 PTU 유발 갑상선 기능저하증시 초래되는 항산화 방어 system의 변화 역시 억제하였으므로, 항산화 방어 system의 조절을 통해 갑상선 기능저하증에 매우 유효한 효과를 나타낼 것으로 판단된다.

결론

PTU로 유발된 rat의 갑상선 기능저하증에 대하여 烏梅의 경구 투여가 미치는 영향을 살펴보고자, 烏梅 물추출물(수율 : 19.38%) 300 및 150 mg/kg을 PTU 처리시작 2주전부터 6주간 투여하고, 그 실험결과를 LT₄ 0.5 mg/kg 복강 투여군과 비교하였다.

- 28 일간의 연속적인 PTU 10mg/kg 피하 투여에 의해 현저한 체중 감소, 갑상선 중량의 증가, 간 중량의 감소, 혈청 중 TSH 함량의 증가와 함께 T₃, T₄ 함량의 감소, 혈청 중 total cholesterol, HDL 함량의 증가와 triglyceride 함량의 감소, 간의 항산화 방어 system의 저하, 혈청 중 AST 함량의 증가가 인정되었으며, 조직병리학적으로 현저한 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견, 간세포 비대에 의한 단위 면적당 간세포의 수적 감소가 인정되었다.
- 烏梅 추출물의 경구투여는 PTU 유발 갑상선 기능저하증시 초래되는 체중의 감소, 갑상선 중량 증가, 간 중량의 감소, 갑상선 호르몬의 함량의 변화, 혈청 중 지질 함량의 변화 및 간 손상을 억제하였고, PTU 유발

갑상선 기능저하증시 초래되는 항산화 방어 system의 저하를 억제하였다. 또한 갑상선과 간의 조직병리학적 변화를 개선시켰다.

이상의 연구 결과로 볼 때, 烏梅 추출물은 항산화 방어 system의 조절을 통해 갑상선 기능저하증 및 관련 간 손상 및 지질 변화에 매우 유효한 효과를 나타낼 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 최재영 한의원의 연구비지원에 의하여 이루어졌습니다.

References

1. Doo HK, The sixth internal medicine of oriental medicine, Seoul : Oriental Medicine Research Institute, 1991 : 867-74.
2. Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Morreale de Escobar G. Treatment of hypothyroidism with levothyroxine or a combination of levothyroxine plus L-triiodothyronine. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015 ; 29(1) : 57-75.
3. Cho BY. The clinical thyroidology, the 3rd editoin, Seoul : Korea Medicine, 2010 : 437-76.
4. Wiersinga WM, Thyroid hormone replacement therapy. *Horm Res.* 2001 ; 56 : 74-81.
5. Lanxiuping. Ziniziyinjianghuotang zhiliao gengnianqibumeiliaoxiao guan cha. *Shanxizhigong yixueyuanxuebao.* 2003 ; 13(3) : 25.
6. Sanocka D, Miesel R, Jedrzejczak P, Kurpisz MK. Oxidative stress and male infertility. *J Androl.* 1996 ; 17(4) : 449-54.
7. Sahoo DK, Roy A, Chainy GB. Protective effects of vitamin E and curcumin on L-thyroxine-induced rat testicular oxidative stress. *Chem Biol Interact.* 2008 ; 176 : 121-8.
8. Seo BI, Ju YS, Choi HY, Park JH, Roh SS, Koo JS, Kim JJ, Kim DY. Illustrated book of herbal plants in oriental medicine. Daegu : Daewondang, 2011 : 439-40.
9. Jeon YH, Kwon JE, Kim MR. Study on Antioxidant and Cytotoxic Activities in Ethanol Extract from *Prunus mume*. *J East Asian Soc Dietary Life.* 2010 ; 20(5) : 751-8.
10. The textbook compilation committee of Korean herbology. *Korean herbology.* Seoul : Younglimsa, 2011 : 676-7.
11. Sarandöl E, Taş S, Dirican M, Serdar Z. Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism : effect of vitamin E supplementation. *Cell Biochem Funct.* 2005 ; 23 : 1-8.
12. Cooper DS. Antithyroid drugs. *New Engl J Med.* 1984 ; 311 : 1353-62.
13. O'Connor JC, Frame SR, Ladics GS. Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators. *Toxicol Sci.* 2002 ; 69 : 79-91.
14. Kavutcu M, Canbolat O, Oztürk S, Olcay E, Ulutepe S, Ekinci C, Gökhuun IH, Durak I. Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs : effects of vitamins E and C. *Nephron.* 1996 ; 72 : 269-74.
15. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall R J : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951 ; 193 : 265-75.
16. Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxidase dismutase and lipid peroxidation in the rat heart : a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985 ; 80 : 33-42.
17. Pick E, Keisari Y. Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages--induction by multiple nonphagocytic stimuli. *Cell Immunol.* 1981 ; 59 : 301-18.
18. Aebi H. Catalase. In : Bergmeyer HU (Ed.), *Methods in Enzymatic Analysis.* New York : Academic Press Inc., 1974 : 673-86.
19. Nishikimi M, Rao NA, Yagi K The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced PMS and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Comm.* 1972 ; 46 : 849-54.
20. Kakkar P, Das B, Viswanathan PN. Modified spectrophotometric assay of SOD. *Indian J Biochem Biophys.* 1984 ; 2 : 130-2.
21. Subudhi U, Das K, Paital B, Bhanja S, Chainy GB. Supplementation of curcumin and vitamin E enhances oxidative stress, but restores hepatic histoarchitecture in hypothyroid rats. *Life Sci.* 2009 ; 84 : 372-9.
22. Andreoli TE, Carpenter CJ, Plum F, Smith L. *Cecil Essentials of Medicine.* Philadelphia : WB Saunder's Company, 1986 : 436-7.
23. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology.* Philadelphia : WB Saunder's Company, 1986 : 906-8.
24. Schmidt RF, Thews G. *Human Physiology.* Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 1989 : 385-6.
25. Koo JS, Kim BH, Seo BI. A clinical study on a patient with hypothyroidism. *Kor J Herbol.* 2014 ; 29(5) : 17-21.
26. Kim DH, Choi JS, Kim CJ, Cho CS. The Effects of Daeyoungjeon(DYJ) on the Hypothyroidism in Rats. *Kor J Herbol.* 2007 ; 22(4) : 35-43.
27. Cho CS, Kim DB, Kim CJ. The Effects of Danggwisaeyeoktang on the Hypothyroidism of

- Rats. *Kor J Herbol*. 2007 ; 22(1) : 95-102.
28. Choi IG, Chae EY, Chang SK, Cho CS, Kim CJ. Effects of Jinmutang(JMT) on Hypothyroidism in Rats. *J Korean Orient Int Med*. 2006 ; 27(4) : 879-87.
 29. Kim SJ, Kim DC. Effects of Jaemukanghwa-tang on the Rat Hypothyroidism induced by Propylthiouracil (PTU). *J Orient Obstet Gynecol*. 2014 ; 27(1) : 41-64.
 30. Kim SM. Effects of Ginseng Radix on the Rat Hypothyroidism Induced by PTU (6-n-propyl-2-thiouracil). *Kor J Herbol*. 2010 ; 25(3) : 11-8.
 31. Kim SM, Ku SK, Cho SY, Park SJ. Effects of Bupleuri Radix on the Rat Hypothyroidism induced by PTU(6-Propyl, 2-thiouracil). *Kor J Orient Physiol Pathol*. 2012 ; 26(5) : 714-23.
 32. Hong MJ, Lee BC, Ahn YM, Ahn SY. The Effects of Epimedii Herba on a Hypothyroidism Rat Model induced by PTU(6-Propyl, 2-thiouracil). *J Pharmacopuncture*. 2011 ; 14(4) : 13-22.
 33. Lee SJ, Baek SH, Ahn SY, Lee BC, Ahn YM. Effects of Cistanche Deserticola on Thyroid Function in Hypothyroidism Rat Model induced by PTU(6-Propyl, 2-thiouracil). *Korean J Orient Physiol Pathol*. 2011 ; 25(6) : 989-95.
 34. Ko BS, Park SK, Choi SB, Jun DW, Jang JS, Park SM. Hypoglycemic Effects of Crude Extracts of *Prunus mume*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2004 ; 33(6) : 951-7.
 35. Jung SE, Bae JH. The Effect of *Prunus Mume* Extracts on the Growth of HepG2 and HeLa Cell Lines. *Korean J Nutr*. 2002 ; 35(4) : 439-45.
 36. Roti E, Minelli R, Gardini E, Braverman LE. The use and misuse of thyroid hormone. *Endocr Rev*. 1993 ; 14 : 401-24.
 37. Kim MS, Yoon CA, Cho YM, Jung HS, Shin CS, Park GS, Kim SY, Cho BY, Lee HG, Bloom SR. Changes in Plasma Leptin Levels Relating to Short-Term Thyroid Manipulation in Rats. *Endocrinol metabolism*. 2002 ; 17(2) : 197-205.
 38. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med*. 2000 ; 160 : 526-34.
 39. O'Hare E, Kim EM, Page D, Reid R. Effects of thyroxine treatment on histology and behavior using the methimazole model of congenital hypothyroidism in the rat. *Neuroscience*. 2015 ; 285 : 128-38.
 40. Frost PH, Havel RJ. Rationale for use of non-high-density lipoprotein cholesterol rather than low-density lipoprotein cholesterol as a tool for lipoprotein cholesterol screening and assessment of risk and therapy. *Am J Cardiol*. 1998 ; 81 : 26B-31B.
 41. Jeong WJ, Park BH, Park CY, Ryu MS, Oh SJ, Woo JT, Kim SW, Yang IM, Kim JW, Choi YK, Paeng JR. Prevalence of subclinical hypothyroidism in hypercholesterolemic adults and influence of serum TSH on the serum total cholesterol level. *Korean J Med*. 2002 ; 62(2) : 187-93.
 42. Das K, Chainy GB. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta*. 2001 ; 1537 : 1-13.
 43. Reddy VS, Gouroju S, Suchitra MM, Suresh V, Sachan A, Srinivasa Rao PV, Bitla AR. Antioxidant defense in overt and subclinical hypothyroidism. *Horm Metab Res*. 2013 ; 45(10) : 754-8.
 44. Griffiths PD. Serum enzymes in disease of thyroid gland. *J Clin Pathol*. 1965 ; 18 : 660.
 45. Ajala MO, Ogunro PS, Fasanmade OA. Relationship between liver function tests and thyroid hormones in thyroid disorders. *Niger Postgrad Med J*. 2013 ; 20(3) : 188-92.
 46. Yang Y, Gordon CJ. Regulated hypothermia in the hypothyroid rat induced by administration of propylthiouracil. *Am J Physiol*. 1997 ; 272 : R1390-5.
 47. Oner J, Kükner A, Oner H, Ozan E, Yekeler H. Effect of vitamin E on follicular cell proliferation and expression of apoptosis-associated factors in rats with 6-N-propyl-2-thiouracil-induced goitrogenesis. *Folia Histochem Cytobiol*. 2003 ; 41 : 213-17.
 48. Mansourian AR. A review of literatures on the adverse effects of thyroid abnormalities and liver disorders : an overview on liver dysfunction and hypothyroidism. *Pak J Biol Sci*. 2013 ; 16(23) : 1641-52.