

## Protective Effect of *Semisulcospira libertina* Extract on Induced Hepatitis in Rats

Young Mi Park<sup>1</sup>, Jae Hwan Lim<sup>1</sup>, Jong Eun Lee<sup>1</sup> and Eul Won Seo<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea

<sup>2</sup>Institute of Marine Biotechnology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Received March 11, 2015 / Revised May 8, 2015 / Accepted May 9, 2015

This study aimed to investigate the protective effect of *Semisulcospira libertina* extract on liver injury induced by D-galactosamine in rats. After the administration of *S. libertina* extract, the local fat degeneration and infiltration of inflammatory cells in liver tissues were significantly decreased and peripheral hemorrhages around portal triads and central necrosis around central veins were found to be protective. The elevated levels of plasma ALT, AST, and LDH, the ALP activation lipid peroxidation, and the lipid contents of a damaged liver were recovered in experimental rats administrated with *S. libertina* extract, suggesting its role in blood enzyme activation and lipid content restoration within damaged rat liver tissues. Moreover, the expression rate of TNF- $\alpha$ , which accelerates inflammation and induces tissue damage and necrosis, was significantly decreased. In addition, the activities of antioxidant enzymes were more effectively upregulated compared to those of the control group induced hepatotoxicity. All data showed that *S. libertina* extract has a preventive role against liver damages, such as inflammation and tissue necrosis, as instigated with D-galactosamine by improving the activities of blood enzymes and antioxidant enzymes and modulating the expression of inflammation factor, suggest *S. libertina* extract is an effective medicinal resource for the restoration of hepatotoxicity.

**Key words** : D-galactosamin, hepatitis, lipid peroxidation, *Semisulcospira libertina*

### 서 론

현대인은 급격한 환경오염, 불규칙한 식사, 스트레스, 피로 및 식습관의 서구화로 인한 영양섭취의 불균형으로 면역력이 저하됨에 따라 약물과 이물질의 대사과정을 통해 생성되는 독성물질로부터 신체를 보호하는 간의 손상이 두드러지게 되었다. 간질환의 원인은 다양하지만 병인학적으로 볼 때 바이러스 및 약물중독에 기인한 간질환과 담도기능부전에 의한 간질환 등으로 분류할 수 있다. 현재 국내외적으로 사용되고 있는 간질환 치료제로는 합성 약물인 인터페론과 malotilate 가 있으나 이들은 간독성 물질에 대한 보호 작용만으로 그의 유효성을 인정받고 있는 수준이며, 부작용 또한 빈번히 나타나고 있다. 또한 마리아영경귀(*Silybum marianum*)의 활성성분인 silymarin [12]과 천연물 유래 합성 간질환 치료제인 biphenyl dimethyl dicarboxylate (DDB)의 개발로 천연물에 대한 관심이 고조되고 있다[30]. 대다수의 천연물의 경우 유효용량뿐 아니라 정확한 약리효과에 대한 기초연구가 미약한 실정이지만, DDB의 경우 간생검상 조직학적인 괴사염증지수

나 간섬유화에는 영향을 미치지 않고 있으며 생체 외 연구에서도 간세포 내에서 ALT (alanine aminotransferase)의 합성과 분해에만 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다. 이에 따라 간질환의 예방 혹은 치료를 위한 방법의 하나로 천연물을 이용한 간기능 개선 또는 간질환 치료제 개발에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

본 연구의 다슬기(*Semisulcospira libertina*)는 하천이나 호수 등지에서 흔히 볼 수 있는 고등류로 동의보감 및 본초강목에서 볼 수 있는 다슬기의 효능에 대해서는 예로부터 간염, 간경화, 지방간 등의 치료 및 개선에 이용되어 왔으며, 숙취해소와 신경통 완화, 빈혈증세 완화, 골다공증의 예방과 치료에 이용되어 왔다고 알려져 있다. 다슬기에 대한 연구로는 식품학적 성분 및 품질 특성에 관한 연구[24], 생리활성 특성에 대한 연구[18] 등이 보고되어 있다. 기존의 연구에서 Jeon 등[13]과 Lee 등[22]은 다슬기가 사염화탄소에 의한 간 손상에 미치는 보호 효과를 알아보기 위하여 조직학적 변화와 혈청 성분을 분석한 바 있으나 다슬기 열수 추출물이 염증 반응 인자의 발현과 항산화효소 활성 변화에 미치는 영향에 대해 조사한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 다슬기 열수 추출물이 D-galactosamine 투여에 의해 유발되는 간독성에 대한 보호효과를 조직학적 변화와 혈액 성분 분석 및 염증 반응 인자의 발현과 항산화효소 활성 변화를 통하여 알아보 고자 하였다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5462, Fax : +82-54-820-7705

E-mail : ewseo@andong.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.

## 재료 및 방법

### 다슬기의 열수 추출

본 연구의 다슬기(*Semisulcospira libertina*)는 경북 안동 남선면 갈라산에서 채집, 동정하여 사용하였다. 다슬기의 열수 추출물은 다슬기를 이틀 간 해감과정을 거친 뒤 가식부만을 골라낸 공시료에 증류수를 첨가해 3시간 동안 100°C에서 추출하였다. 이 후 추출물은 착즙하지 않고 원심분리 후 상등액을 취하여 동결 건조를 한 후 실험에 사용하였다.

### 실험동물 및 시약

본 실험에 사용한 4주령 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)는 ㈜샘타코에서 구입하였으며 사육실에서 일정한 조건(온도 21.4°C±0.05°C, 습도 61%, 명암은 12시간 주기)에서 사육하였다. 식이는 물과 사료(AIN-93G purified rodent diet)를 충분히 섭취하게 하면서 1주일 동안 순치한 뒤 체중이 150±10 g인 흰쥐를 선별하여 실험에 사용하였다. 모든 동물실험 과정은 안동대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 취한 후 실시하였다(2014-3-1111-05-01). 본 연구에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)로부터 구입하였으며 기타의 시약은 별도로 표기하였다.

### 간독성 유발

다슬기 열수 추출물의 급성 간독성에 대한 보호 효과를 조사하기 위하여 흰쥐를 아무것도 처리하지 않은 실험군(대조군)과 D-galactosamine (700 mg/kg)에 의해 급성 간독성을 유발한 실험군(GalN 실험군), 양성대조군은 천연물의 활성 성분으로 밝혀진 silymaine과 urusodeoxycoline acid (UDCA)를 사용하여 silymarin (25 mg/kg)을 미리 투여한 후 간독성을 유발한 실험군(Silymarin 실험군)과 UDCA (40 mg/kg)를 미리 투여한 후 간독성을 유발한 실험군(UDCA 실험군)으로 설정하였고 선행연구를 통해 가장 유효한 결과를 나타낸 공시료의 유효농도를 선정하여 다슬기 열수 추출물(300 mg/kg, 800 mg/kg)을 미리 투여한 후 간독성을 유발한 실험군(SL-300, SL-800 실험군)으로 나누었다. 각 실험군은 군당 10 마리씩 실험에 사용하였으며, 매일 일정한 시간에 체중을 측정하였다. 모든 시험 약물은 극소량의 DMSO (dimethyl sulfide)에 용해 후 생리식염수와 1%의 olive oil로 희석하여 D-galactosamine 투여 2일 전, 1일 전 및 2시간 전에 3회씩 경구 투여하였다. 이후 간독성은 D-galactosamine (700 mg/kg)을 복강 투여하여 인위적으로 유발하였다. 24시간 경과 후에 혈액을 경동맥에서 채취하여 2,000 ×g에서 15분간 원심분리 한 후 혈장만을 회수하여 분석 전까지 -80°C에서 보관하였다. 혈액 채취 후 실험동물로부터 간 조직을 적출하여 생리식염수에 세척한 후 여과지로 물기를 닦아내었다. 이 후 간 조직의 중량을 측정하였고 조직 관찰을 위하여 간 조직의 일부를

FAA에 고정하였고 나머지는 차후 실험을 위해 -80°C에서 보관하였다.

### 간 조직의 미세 구조 관찰

간 조직의 미세구조를 관찰하기 위해 일반적인 조직 제작 방법에 따라 절취한 간 조직을 4°C FAA 용액에서 24시간 고정하였다. paraffin block은 4 μm의 두께로 절편하였고 hematoxylin과 eosin에 이중 염색하였다. 조직은 Olympus BX50 (Japan)하에서 관찰하였고, Olympus DP-71을 사용해 촬영하였다.

### 혈액 성분 분석

채취한 혈액은 4,000 ×g에서 원심 분리하여 AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), LDH (lactate dehydrogenase) 및 ALP (alkaline phosphate) 활성을 조사하였다. AST와 ALT 분석은 Reitman-Frankle법[29]에 따라 조제된 kit (Asan, Korea)를 사용하여 기질액을 37°C에서 5분간 반응시킨 후 혈장을 첨가하여 37°C에서 ALT는 30분, AST는 60분간 반응시켰다. 이후 정색시액(2,4-dinitrophenylhydrazine, 19.8 mg/100 ml)을 첨가하고 0.4 N NaOH 용액을 가하여 실온에 방치하였고 505 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성도는 표준검량선에 따라 혈장 1 ml당 Karmen unit (IU/l)로 표시하였다. LDH의 측정은 Wroblewskin와 LaDue [33]의 방법에 따라 조제된 kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하여 측정하였다. 기질액과 정색시액을 1:1로 혼합하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음 시료와 혼합하였다. 이 후 37°C에서 10분간 방치하였고 염산으로 반응을 종료시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준곡선에 따라 활성도를 분석하였다. ALP는 Kind-King [19]법에 따라 조제된 kit (Asan, Korea)를 사용하여 기질 완충액에 혈장을 첨가한 후에 표준액과 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. 이 후 정색시약을 처리하여 10분간 실온 방치한 다음 570 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 따라 효소 활성을 분석하였다.

### 간 조직의 총 지질함량과 지질과산화 함량 분석

간 조직의 총 지질 함량은 Folch 등[8]과 Bligh와 Dyer [4]의 방법에 따라 분석하였다. 간 조직 시료를 만들기 위하여 간 조직에 chloroform : methanol 혼합액(2:1)을 첨가하여 균질화하였고, 4,000 ×g에서 10분간 원심 분리한 후 chloroform 층을 분리하였다. 이 후 다시 chloroform을 첨가한 다음 원심 분리하여 chloroform층을 분리한 후 감압 건조한 후 함량을 측정하였다.

간 조직의 지질과산화 함량은 Ohkawa 등[26]의 방법을 이용하여 측정하였다. 간 조직에서 지방층을 제거하기 위하여 N-butanol : pyridine의 혼합액(15:1) 300 μl를 첨가한 후

3,500 ×g에서 10분간 원심 분리하였으며 532 nm에서 상층액의 흡광도를 측정하였다. 1,1,1,3-tetraethoxypropane을 표준 용액으로 사용하였고 지질과산화물 함량은 MDA nmol로 표기하였다.

**항산화효소 활성 측정**

Superoxide dismutase (SOD)의 활성은 McCord와 Fridovich [25]의 방법에 따라 실시하였다. 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), 0.1 M cytochrome C, 50 mM xanthine, 0.1 mM EDTA, 효소액이 포함된 용액을 25℃에서 예치한 다음 xanthine oxidase를 첨가하여 반응을 개시하였으며 반응은 550 nm에서 10초 단위로 150초간 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase 첨가량은 효소액을 함유하지 않은 반응액의 흡광도 흡수가 분당 0.025가 되도록 조절하고 SOD 활성은 cytochrome C의 환원 속도를 50% 억제하는 양을 1 unit으로 정의하였다. CAT (catalase)의 활성은 Aebi [2]의 방법에 따라 측정하였다. 50 mM phosphate buffer (pH 7.0), 15 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액과 1 mg protein의 시료를 넣은 후 240 nm에서 3분간 변화되는 흡광도를 측정하여 최초 60초 동안의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 감소량을 활성도로 나타내었다. 효소의 활성은 1 mg의 단백질이 1분 동안에 1 μM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다. GPX (glutathione peroxidase)의 활성은 Flohe 등[7]의 방법에 따라 측정하였다. 1 mM EDTA를 함유한 100 mM phosphate buffer (pH 7.0), 3 mM GSH, 0.45 mM NADPH, 20 mM glutathione reductase 0.72 U와 1 mg protein 시료를 넣고 37℃에서 5분간 방치한 다음 4 mM cumene hydroperoxide를 첨가한 후 반응을 개시하여 340 nm에서 3분 동안 변화되는 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성은 1분 동안에 1 μmol의 NADPH를 NADP로 산화하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

**Total RNA 분리 및 PCR**

간 조직의 total RNA는 TRIzol Reagent (Gibco Inc., USA)를 이용하여 추출한 후 total RNA Clean up kit (Ambion, USA)를 사용하여 정제하였다. 정제된 RNA를 template로 SuperScript™ kit (Invitrogen, USA)를 이용하여 single stranded cDNA를 제조하였다. 간독성에 관련된 유전자들을 특이적으로 증폭하기 위해 primer (Table 1)를 제작하였으며 각 유전자의 발현 정도를 mGAPDH 유전자의 발현과 비교하여 확인하였다. 유전자의 발현은 전기 영동 후 Gel image analysis system (Core Bio iMax™, Korea)에서 UV illuminator로 결과를 확인하였으며, 발현 수준은 Un-SCAN-IT gel Version 5.1 (Silk Scientific, Inc.) 프로그램을 통해 분석하였다.

**단백질 발현을 분석**

간 조직을 lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH=7.5, 1 mM

Table 1. Selected genes related hepatotoxicity and primer sequences used in RT-PCR

Gene	Sequence	Tm
TNF-α	5'-TAC TGA ACT TCG GGG TGA TTG GTC C-3'	60℃
	5'-CAG CCT TGT CCC TTG AAG AGA ACC-3'	
HO-1	5'-AAC AAG CAG AAC CCA GTC T-3' 5'-TGT CAT CTC CAG AGT CTT C-3'	50℃

EDTA, 0.25% sucrose, 0.4 mg/ml digonin and 1.5 mM PMSF)를 이용하여 균질화한 후, 단백질은 Bradford [5]법에 따라 정량하였다. 간 조직 내 tumor necrosis factor alpha (TNF-α)는 간에서 추출한 단백질 40 μg을 전기영동한 후 1차 antibody (TNF-α) (Cell signaling Technology, Beverly, USA)를 처리하였고, 2차 antibody (anti-rabbit IgG-HRP) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)를 처리하여 확인하였고, heme oxygenase-1 (HO-1)의 인산화비는 간에서 추출한 단백질을 전기영동을 한 후 1차 antibody (heme oxygenase-1)를 처리하였고, 2차 antibody (anti-rabbit IgG-HRP) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)를 처리하였다. 이후 ECL detection polaroid camera (Amersham Biosciences, USA)를 사용하여 촬영하였으며, 발현 수준은 Un-SCAN-IT gel Version 5.1 (Silk Scientific, Inc.) 프로그램을 통해 분석하였다.

**통계처리**

각 실험에서 얻어진 결과는 평균 ± 표준오차로 나타내었다. 통계처리는 SPSS (version 12.0)로 분석한 후 t-검정을 실시하여 분산과 평균의 동일성 여부를 검정하였으며, 분석결과는 일원분산분석(one way ANOVA)에 의한 Duncan 검정을 실시하여 p값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 간주하였다.

**결과 및 고찰**

**실험군별 체중과 간 조직의 중량**

본 실험에서는 각 약물을 경구 투여한 후 D-galactosamine을 복강 투여하여 간독성을 유발한 각 실험군의 체중을 비교하였다. D-galactosamine을 이용하여 간 병변을 유발했을 때 대조군에 비해 D-galactosamine만을 투여한 GalN 실험군에서 188.3±4.6 g으로 가장 낮은 체중량을 보였다. 또한 간 조직의 중량은 GalN 실험군에서 낮게 나타났으나 기타 실험군에서는 간 조직의 중량에 있어 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 2). 아미노당인 D-galactosamine은 간염 유도 물질로, galactose 대사 장애를 통한 uridine triphosphate 등의 농도 감소를 유도하여 체내 지질을 축적시키는 것으로 알려져 있다[31]. 최근 연구에서 약물에 의한 간질환은 외래물질의 대

Table 2. Changes in body weight and liver weight in experimental group

Group	Weight (g)	
	Body	Liver
Control	193.2±8.1	6.4±0.5
GalN <sup>1)</sup>	188.3±4.6 <sup>+</sup>	5.9±0.1 <sup>++</sup>
Silymarin	197.5±4.4	6.2±0.4
UDCA	196.5±7.3	6.3±0.3
SL-300 <sup>2)</sup>	194.6±6.0	6.7±1.1
SL-800 <sup>3)</sup>	193.2±3.2 <sup>*</sup>	6.6±0.9 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>GalN group : D-galactosamine (700 mg/kg) only treated group

<sup>2)</sup>SL-300 group : *S. liberina* (300 mg/kg) treated group before D-galactosamine injection

<sup>3)</sup>SL-800 group : *S. liberina* (800 mg/kg) treated group before D-galactosamine injection

<sup>+</sup>*p*<0.05, <sup>++</sup>*p*<0.01 indicate a significant difference between the control group and the GalN group.

<sup>\*</sup>*p*<0.05 indicates a significant difference between the GalN group and the medicine treated group.

사에 있어 중심 장기인 간을 직접적으로 손상시켜 생체 대사의 이상 현상과 체조직의 합성 방해를 초래하기 때문에 체중과 간 조직의 중량이 낮게 나타난다고 보고된 바 있다[23]. 본 연구에서도 실험군 중 체중과 간 조직의 중량은 GalN 실험군이 가장 낮게 나타났으나 다슬기를 경구 투여한 실험군은 대조군과 유사한 수준을 유지하는 것으로 나타났다.

**간 조직의 미세구조**

본 연구에서는 다슬기 열수 추출물이 D-galactosamine 투여로 인한 간조직의 미세구조 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 대조군의 간 조직은 중심정맥에서부터 방사상으로 간세포삭이 배열되었고 그 사이에 동모양의 혈관이 형성되어 어떠한 조직학적 이상도 관찰되지 않았다(Fig. 1A). 반면 GalN 실험군에서는 동모양 모세혈관이 폐쇄되었으며 간소엽 내에서 염증 세포의 침윤, 간세포의 세포질 공포화 등이 관찰되었을 뿐만 아니라 세포가 전반적으로 팽대되고 간세포 내 핵의 소실을 동반하는 심각한 괴사성 변화가 다수 관찰되었다(Fig. 1B). 양성대조군으로 사용된 silymarin과 UDCA 실험군의 경우 간세포의 괴사는 관찰되지 않았고 국소적으로 지방 변성과 염증세포의 침윤이 관찰되었으나 GalN 실험군과 비교할 때 그 정도는 매우 미미한 것으로 확인되었다(Fig. 1C, Fig 1D). 또한 SL-300 실험군의 경우 일부 간세포에서 지방공포 현상이 발견되었으나, 동모양 모세혈관이 fibrin의 축적이 크게 감소하여 내강이 다소 넓어져 있었으며 중심정맥에서부터 방사상으로 간세포가 배열되고 세포괴사가 관찰되지 않았다(Fig. 1E). 이러한 국소적인 간 손상은 SL-800 실험군에서 크게 완화되어 중심에 위치한 간샘파리(hapatic acinus)의 문로 주위에서 말단간세포정맥이 관찰되고 핵소체가 두드러진 커

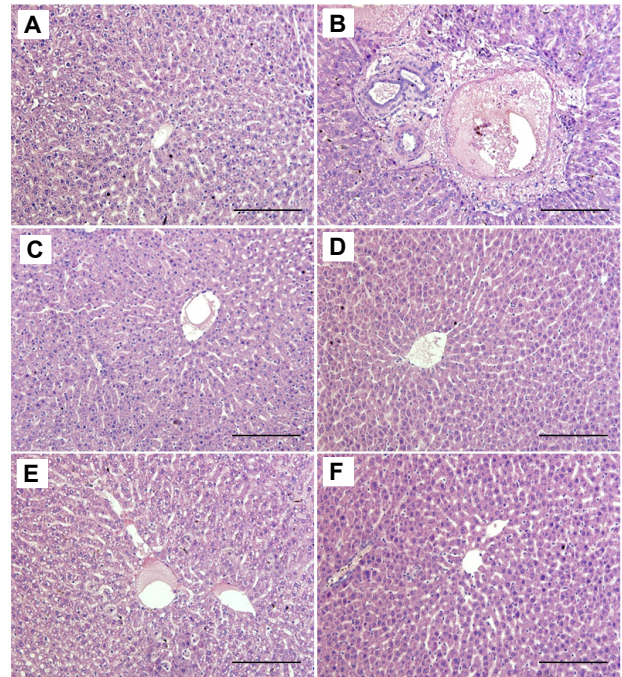


Fig. 1. Photographies of rat liver pretreated with various medicine show the protective effects against hepatotoxicity. Rat were treated with medicine orally at intervals of 48 hr, 24 hr, 2 hr before D-galactosamine injection. (A) Control group, (B) D-galactosamine (700 mg/kg) only treated group, (C) Silymarin (25 mg/kg) pretreated group before D-galactosamine injection, (D) UDCA (40 mg/kg) pretreated group before D-galactosamine injection, (E) *S. liberina* (300 mg/kg) pretreated group before D-galactosamine injection, (F) *S. liberina* (800 mg/kg) pretreated group before D-galactosamine injection. (X 20) - Scale bar = 100 μm. Arrows indicate necrotic nuclei.

다란 다각형의 간세포가 가장자리에 흩어져 있어 대조군과 매우 유사한 상태로 회복되었다(Fig. 1F). 최근 연구에 따르면 Lee 등[20]은 자초(*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물이 D-galactosamine에 의한 동모양 모세혈관의 폐쇄현상과 염증세포 출현을 감소시켜 간세포의 손상을 억제하는데 효과적이라 하였다. 또한 Wills와 Asha [32]는 D-galactosamine 투여에 따라 광범위한 간세포 괴사와 변성, 염증세포의 침윤 및 세포질 공포화가 심하게 나타났으나 실고사리과 식물인 *Lygodium flexuosum*을 처리함에 따라 간병변이 감소하였다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 D-galactosamine에 의한 국소적인 세포 공포 현상과 간 조직의 염증반응, 괴사, 공포화 현상은 다슬기 열수 추출물을 처리함에 따라 완화되었다. 특히 SL-800 실험군의 경우 양성 대조군인 silymarin과 UDCA 실험군에서 나타난 국소적인 지방 변성과 염증세포 침윤도 관찰되지 않아 실험군 중 가장 대조군과 유사한 수준으로 간 조직을 보호하는 것으로 조사되었다.

**혈액 성분 분석**

다슬기 열수 추출물이 간독성에 대한 보호 효과를 알아보기 위하여 혈액 내 AST, ALT, LDH 및 ALP의 활성을 측정하였다. 대조군의 AST 활성은 62.3±2.0 IU/l로 나타났으나 D-galactosamine으로 간독성을 유발한 GalN 실험군은 143.4±0.5 IU/l로 유의하게 증가하였다. 반면 SL-300 실험군의 AST 활성은 92.0±0.3 IU/l로 간독성 유발군에 비해 감소하였으며 특히 SL-800 실험군의 경우 AST 활성이 80.4±0.7 IU/l로 나타나 양성대조군인 silymarin과 UDCA 실험군보다도 낮은 활성을 보였다. 실험군별 혈액 내 ALT 활성은 대조군이 36.4±0.1 IU/l로 나타났으나 간독성을 유발한 GalN 실험군은 109.6±0.6 IU/l로 높은 활성을 보였다. 이러한 증가는 SL-300 실험군에서 56.8±0.1 IU/l로 감소하여 silymarin과 UDCA 실험군보다 낮은 활성을 보였으며 SL-800 실험군의 경우 40.2±0.3 IU/l로 나타나 대조군과 유사한 수준으로 보호되는 경향을 보였다. 또한 LDH의 수치는 대조군이 1063.2 ±14.6 IU/l인데 반해 GalN 실험군이 2350.0±10.2 IU/l로 나타나 간독성 유발 후 높은 수준을 보였으나 SL-300 실험군에서 1742.5±4.9 IU/l로 감소하였고, 특히 SL-800 실험군의 경우 1247.7±11.5 IU/l로 나타나 양성 대조군 보다 대조군의 LDH 수준으로 유지되는 것으로 확인되었다. 또한 대조군의 ALP 수치는 584.2±10.5 IU/l로 나타났으며 GalN 실험군의 경우 753.0±12.6 IU/l로 대조군에 비해 높은 수준을 보였다. 그러나 SL-300 실험군의 ALP 활성은 600.5±15.9 IU/l, SL-800 실험군은 592.3±17.9 IU/l로 나타나 대조군과 유사한 수준으로 유지되는 경향을 보였다(Table 2).

AST (aspartate aminotransferase)와 ALT (alinine aminotransferase)는 아미노산과 α-keto acid 사이의 아미노기 전이를 촉매하는 효소로 주로 심근, 간, 골격근 및 신장 등에 많이 분포한다. 그리고 혈중 분포보다 조직 내 분포가 더 커서 혈중에 이들이 상승하면 간 등의 장기에 세포변성 및 괴사를 유발하며, 특히 간질환과 심질환의 지표로 널리 사용된다. LDH (lactate dehydrogenase)는 해당계 효소로 체내의 각 조직에 널리 분포하고 있으며, 조직 내 분포가 혈중 분포보다 크며 간질환, 악성종양 및 백혈병 등에서 증가한다고 알려져 있다. ALP (alkaline phosphate)는 인산모노에스테르(phosphomonoesterase)를 가수분해 하는 효소로 생체 내에 널리 분포한다.

ALP의 활성은 급성 간염과 간암, 부갑상선 기능 항진증 및 담즙 울체 시 배설장애와 담관 내압 항진에 의해 증가되는 것으로 알려져 있다. 최근 Kim 등[17]은 지부자(*Kochiae fructus*) 활성성분을 투여한 실험군이 D-galactosamine 단독 투여군에 비해 간 병변으로 인한 AST와 ALT 활성의 증가를 감소시켜 간 손상을 개선시키는 데 효과가 있다고 한 바 있으며, Park 등[28]은 민들레(*Taraxacum officinale*) 열수 추출물이 D-galactosamine에 의해 유의하게 증가한 AST와 ALT, LDH 및 ALP의 활성을 대조군과 유사한 수준으로 감소시켜 간 조직을 효과적으로 보호할 것이라고 시사한 바 있다. 또한 Choi 등[6]은 순무(*Brassica rapa*)가 D-galactosamine에 의한 급격히 상승된 LDH와 ALP의 활성을 유의하게 억제하여 간 장애에 의한 보호효과가 높을 것이라 보고하였다. 본 연구에서도 D-galactosamine로 인해 현저하게 상승된 AST와 ALT, LDH 및 ALP 활성은 다슬기 열수 추출물을 처리함에 따라 대조군 수준으로 유지되는 양상을 보였는데, 특히 SL-800 실험군은 다른 실험군에 비해 상승된 간 손상 지표효소의 활성이 현저히 감소되어 대조군과 가장 유사한 수준을 보이는 것으로 조사되었다.

**지질함량 분석**

다슬기 열수 추출물이 D-galactosamine에 의해 유도된 간독성에 미치는 보호 효과를 알아보기 위하여 간 조직 내 지질함량과 과산화지질 함량을 조사하였다. 대조군의 지질함량은 31.0 ±1.0 mg/g 로 나타났으나 D-galactosamine으로 간독성을 유발한 GalN 실험군은 60.9±1.0 mg/g 로 유의하게 증가하였다. 이러한 증가는 SL-300 실험군에서 35.1±0.2 mg/g 로 감소하였는데, 특히 SL-800 실험군은 32.1±0.3 mg/mg로 유의하게 감소하여 양성대조군인 silymarin과 UDCA 실험군 보다도 낮은 수준으로 대조군과 유사한 수준을 나타내고 있다. 또한 대조군의 과산화지질 함량은 1.1±0.1 µg/mg 인데 반해 간독성을 유발한 GalN군은 2.2±0.2 µg/mg로 높은 수준을 보였다. 반면 SL-300 실험군의 과산화지질 함량은 1.2±0.1 µg/mg로 간독성 유발군에 비해 비교적 낮은 수치를 보였으며 SL-800 실험군의 경우 과산화지질 함량이 1.1±0.2 µg/mg로 나타나

Table 3. Activities of AST, ALT, LDH and ALP in the rat pretreated with medicine before inducing hepatotoxicity

Group	AST (IU/l)	ALT (IU/l)	LDH (IU/l)	ALP (IU/l)
Control	62.3±2.0	36.4±0.1	1063.2±14.6	584.2±10.5
GalN	143.4±0.5 <sup>++</sup>	109.6±0.6 <sup>++</sup>	2350.0±10.2 <sup>++</sup>	753.0±12.6 <sup>++</sup>
Silymarin	90.2±0.4 <sup>**</sup>	60.1±0.2 <sup>*</sup>	1521.3±5.9 <sup>**</sup>	623.1±14.1 <sup>*</sup>
UDCA	93.1±0.1 <sup>**</sup>	55.3±0.8 <sup>**</sup>	1668.2±4.1 <sup>**</sup>	603.5±10.8 <sup>**</sup>
SL-300	92.0±0.3 <sup>**</sup>	56.8±0.1 <sup>**</sup>	1742.5±4.9 <sup>*</sup>	600.5±15.9 <sup>**</sup>
SL-800	80.4±0.7 <sup>**</sup>	40.2±0.3 <sup>**</sup>	1247.7±11.5 <sup>**</sup>	592.3±17.9 <sup>**</sup>

+p<0.05, ++p<0.01 indicate a significant difference between the control group and the GalN treated group.

\*p<0.05, \*\*p<0.01 indicate a significant difference between the GalN group and the medicine treated group.

대조군과 유사한 수준으로 유지되는 경향을 보였다(Table 4).

각종 독성 물질이 유도하는 지방간은 중성지방의 합성 증가와 지방산 산화 저해 또는 지질과산화를 야기한다고 알려져 있다[14]. 이 중 지질과산화에 의한 조직의 손상은 다가 불포화 지방산으로부터 유리기가 발생하면서 과산화기가 생성되고 이는 다른 지질과 반응하여 지질과산화를 축적하고 체내의 막을 손상시킨다[27]. 독성물질 등 여러 가지 인자에 의하여 생성된 자유라디칼은 간세포 내 recycling 반응에 관여하여 지속적으로 라디칼을 생성하여 지질과산화를 증가시켜 연쇄적인 조직 괴사를 초래하는 것으로 알려져 있다[1]. Han 등[11]은 흰쥐에 사염화탄소와 갈근(Puerariae Radix) 카테킨을 급여하여 간 기능의 변화를 분석한 결과 조직 내 지질과산화물의 형성이 현저하게 억제되어 사염화탄소에 의한 간 손상으로부터 조직을 효과적으로 보호할 것이라고 시사한 바 있다. 또한 Lee 등[21]은 흰쥐에 glutathione과 selem yeast을 혼합한 DWP-04를 투여하여 D-galactosamine에 의한 간 보호효과를 확인한 시험에서 DWP-04는 독성물질에 의한 지질과산화물의 함량을 감소시켜 산화적 반응에 의한 간 손상을 억제시키는 데 효과적이었다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 D-galactosamine로 인해 현저하게 상승되는 지질함량과 지질과산화 함량은 다슬기 열수 추출물을 처리한 실험군에서 대조군과 유사한 수준을 유지하는 양상을 보였는데, 특히 SL-800 실험군은 다른 실험군과 비교하여 간의 지질함량과 지질과산화 함량이 유의하게 낮은 것으로 조사되었다. 이와 같은 결과를 바탕으로 다슬기 열수 추출물은 D-galactosamine에 의한 자유라디칼의 생성을 감소시킴으로서 조직 중의 지질함량과 지질과산화를 억제시켜 지질대사 개선에 효과가 있을 것으로 생각된다.

Table 4. Effect of medicine on the concentration of the liver lipids against hepatotoxicity

Group	Total-lipid (mg/g liver)	Malondialdehyde contents (µg/mg protein)
Control	31.0±1.0	1.1±0.1
GalN <sup>1)</sup>	60.9±1.0 <sup>++</sup>	2.2±0.2 <sup>+</sup>
Silymarin	42.0±0.7	1.8±0.1
UDCA	43.2±0.1	1.8±0.5
SL-300 <sup>2)</sup>	35.1±0.2 <sup>**</sup>	1.2±0.1 <sup>**</sup>
SL-800 <sup>3)</sup>	32.1±0.3 <sup>**</sup>	1.1±0.2 <sup>**</sup>

<sup>1)</sup>GalN group : D-galactosamine (700 mg/kg) only treated group.

<sup>2)</sup>SL-300 group : *S. liberina* (300 mg/kg) treated group after D-galactosamine injection

<sup>3)</sup>SL-800 group : *S. liberina* (800 mg/kg) treated group after D-galactosamine injection

+*p*<0.05, ++*p*<0.01 indicate a significant difference between the control group and the GalN treated group.

\*\**p*<0.01 indicates a significant difference between the GalN group and the medicine treated group.

**항산화효소 활성**

다슬기 열수 추출물이 D-galactosamine에 의한 산화적 스트레스에 미치는 영향을 알아보기 위하여 간 조직 내의 항산화효소 활성을 조사하였다. 각 실험군별 SOD 활성은 D-galactosamine의 투여에 따라 감소하여 GalN군이 31.02±4.32 unit으로 가장 낮은 SOD 활성을 보였으며, 이러한 효소 활성 변화는 CAT와 GPX에서도 나타나 GalN군의 CAT 활성은 18.25±4.58 unit, GPX 활성은 12.33±1.36 unit으로 나타나 GalN군에서 항산화효소의 활성이 모두 감소하는 경향을 보였다. 양성 대조군인 silymarin 실험군과 UDCA 실험군은 GalN 실험군에 비해 항산화효소의 활성이 대조군과 유사한 수준을 보였다. SL-300 실험군의 경우 SOD의 활성은 32.10±6.33 unit, CAT의 활성은 19.58±3.21 unit 및 GPX의 활성은 15.98±3.64 unit로 조사되어 대조군 수준으로 항산화 효소의 활성이 유지되지 못하고 있으나, SL-800 실험군의 SOD 활성은 37.40±5.01 unit, CAT의 활성은 21.65±4.53 unit 및 GPX의 활성은 17.54±0.99 unit로 조사되어 대조군과 유사한 수준으로 보호되는 경향을 나타내었다(Table 5).

간 손상이 유발되면 각 세포의 세포막이 파괴되고 단백질 합성 억제 등의 장애가 일어나며 세포 내부 효소계가 파괴됨으로서 다양한 산화적 스트레스가 유발된다. 생체는 산화적 스트레스를 감소시키기 위하여 체내 항산화효소의 활성을 조절하여 산화반응을 억제한다[3]. Han 등[10]의 연구에 따르면 에탄올을 투여한 흰쥐의 항산화효소 활성에 비하여 인진쑥(*Artemisia capillaris*)과 눈꽃동충하초(*Paecilomyces japonica*)를 투여한 실험군의 SOD와 CAT의 활성은 유의하게 증가한 것으로 보아 인진쑥과 눈꽃동충하초가 에탄올에 의한 간 독성을 저하시키는 효과가 크다고 한 바 있다. 또한 Ha 등[9]은 표고버섯(*Lentinus edodes*) 균사체가 에탄올에 의한 간 손상 동물모델에서 SOD와 catalase의 활성을 증가시킨 것으로 보아 산화스트레스를 감소시킴으로서 간을 보호하는 효과가 있다고 하였다. 본 연구에서도 다슬기 열수 추출물의 처리에 따라 간독성에 대한 항산화효소의 활성이 대조군 수준으로 유지되는 것으로 나타났다. 이는 다슬기 열수 추출물이 독성물질에

Table 5. Activities of antioxidant enzymes in the liver of Sprague-Dawley rats applied with *S. liberina* extract

Group	SOD (Unit)	CAT (Unit)	GPX (Unit)
Control	38.45±6.54	22.51±3.01	19.02±2.88
GalN <sup>1)</sup>	31.02±4.32	18.25±4.58	12.33±1.36
Silymarin	36.13±3.21	20.65±1.24	16.35±2.00
UDCA	36.52±4.21	21.63±6.98	14.63±0.78
SL-300 <sup>3)</sup>	32.10±6.33	19.58±3.21	15.98±3.64
SL-800 <sup>4)</sup>	37.40±5.01	21.65±4.53	17.54±0.99

+*p*<0.05 indicates a significant difference between the control group and the GalN treated group.

\*\**p*<0.01 indicates a significant difference between the GalN group and the medicine treated group.

대한 산화적 스트레스를 감소시키기 위해 항산화효소의 활성을 높여 간세포의 손상을 감소시켜 나타난 결과로 생각된다.

**TNF-α 유전자와 단백질 발현을 분석**

다슬기 열수 추출물이 간독성에 의한 염증성 사이토카인에 미치는 영향을 알아보기 위해 GalN 실험군에 대한 실험군별 상대적 TNF-α 발현율을 분석하였다. GalN 실험군에 대한 대조군의 TNF-α 발현율은 29.5%로 나타났으며 양성 대조군인 silymarin과 UDCA 실험군은 각각 58.4%, 76.3%로 확인되었다. 본 연구의 SL-300 실험군은 48.6%, SL-800 실험군은 37.3%로 조사되어 SL-800 실험군에서 대조군에 가장 근접한 TNF-α 발현율을 보였다(Fig. 2). 또한 염증 반응에 의한 조직상해 및 괴사에 미치는 영향을 단백질 수준에서 정량하기 위한 western blot 분석 결과 대조군의 TNF-α의 단백질 발현율은 13.2%로 나타났으며 양성 대조군인 silymarin과 UDCA

실험군은 각각 48.3%, 31.5%로 확인되었다. 본 연구의 SL-300 실험군은 50.5%, SL-800 실험군은 26.3%로 조사되었다(Fig. 3).

TNF-α는 cytokine과 관련한 여러 염증반응에서 중요한 매개체로 인식되고 있다. 이 TNF-α는 IgE 반응 메커니즘에서 비만세포, 대식세포(macrophages), T세포의 알레르기 메커니즘으로 분비되며, 혈관내피세포에 유착인자의 발현을 야기하며 백혈구를 축적시켜 염증반응을 나타낸다. Kim 등[16]은 지구자, 산약, 갈근을 중심으로 구성된 신한방조성물인 명간보 추출물이 아세트아미노펜에 의한 간독성에 미치는 영향을 조사한 결과 간 손상시 활성화되는 TNF-α의 발현을 현저히 억제시켜 간 손상 보호효과가 높다고 한 바 있다. 또한 Kim 등[15]은 녹차(*Camellia sinensis*) 추출물이 에탄올에 의한 조기 간세포에 미치는 영향을 관찰하기 위해 TNF-α의 발현율을 확인한 결과 에탄올 투여 후 간 조직 내 TNF-α의 발현율이

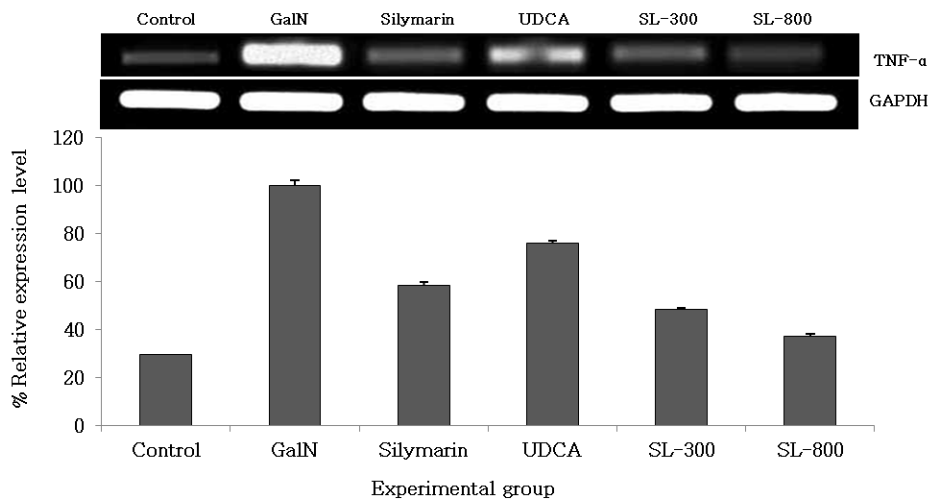


Fig. 2. The effect of *S. libertina* extract on D-galactosamine inducible TNF-α production.

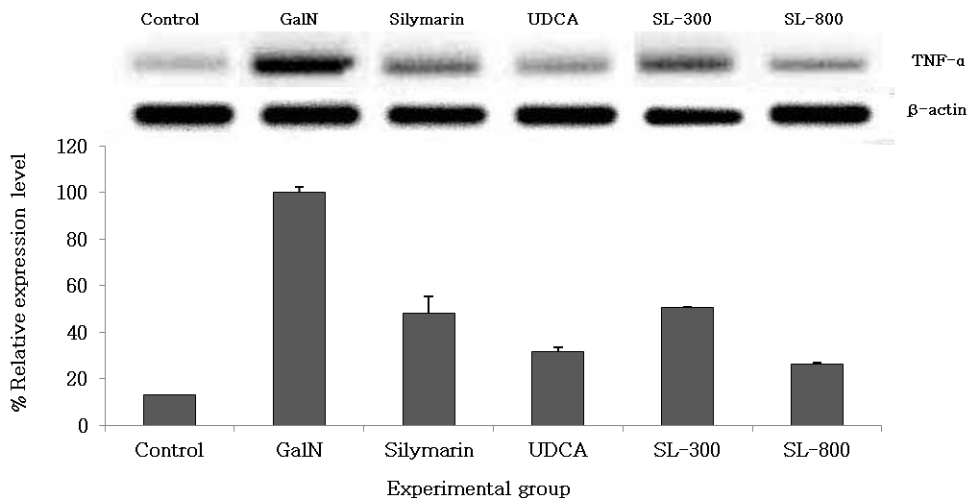


Fig. 3. The effect of *S. libertina* extract on D-galactosamine inducible TNF-α protein production.

증가하였으나 녹차 추출물을 투여함에 따라 TNF- $\alpha$ 량 증가가 억제되는 것으로 보아 간 손상을 억제하는 데 중요한 역할을 할 것이라 시사한 바 있다. 본 연구에서도 다슬기 열수 추출물은 D-galactosamine에 의해 간독성이 유발된 실험군에 비하여 TNF- $\alpha$ 의 발현을 효과적으로 억제시킨 것으로 조사되었다. 다슬기 열수 추출물이 HO-1의 발현에 미치는 영향을 조사한 결과 실험군별 발현 수준에 유의적인 차이를 보이지 않아 다슬기 열수 추출물이 염증 반응에 세포를 보호하는 데에는 주목할 만한 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다(data not shown). 따라서 다슬기 열수 추출물에 의한 염증 반응 억제는 TNF- $\alpha$ 의 발현을 통해 조절되어 나타나는 것으로 판단되며, 차후 심층적인 연구를 통하여 다슬기 열수 추출물의 효능 검증이 필요할 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 과제는 교육과학기술부의 재원으로 지원을 받아 수행된 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업의 연구결과입니다.

### References

- Adzharov, D., Donchev, N., Kerimova, M., Naidenova, E. and Borov, B. 1989. Effects of preliminary fasting on the development of D-galactosamine-induced acute lesion of the liver in rats. *Biull. Exsp. Biol. Med.* **107**, 33-36.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*, pp. 121-126, In: Packer (eds.), *Methods in Enzymology*. Academic Press: New York, USA.
- Balakrishnan, S. D. and Anuradha, C. V. 1998. Exercise depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biol.* **16**, 269-275.
- Bligh, E. G. and Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911-917.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Choi, H. J., Han, M. J., Baek, N. I., Kim, D. H., Jung, H. G. and Kim, N. J. 2006. Hepatoprotective effects of *Brassica rapa* (Turnip) on d-galactosamine induced liver injured rats. *Kor. J. Pharmacol.* **37**, 258-265.
- Flohe, L., Wolfgang, A. and Gunzler, W. A. 1984. Assay of glutathione peroxidase. pp. 105-114. In: Packer (eds.), *Methods in enzymatic analysis*. Academic Press, New York, USA.
- Folch, J., Mee, L. and Stanley, G. S. H. 1975. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509.
- Ha, Y. L., Kim, Y. S., Ahn, C. R., Kweon, J. M., Park, C. W., Ha, Y. K. and Kim, J. O. 2010. Mycelial culture of *Lentinus edodes* alleviates rat liver toxicity induced by carbon tetrachloride and ethanol. *J. Life Sci.* **20**, 133-141.
- Han, E. K., Jin, Y. X., Yoo, Y. S., Jung, E. J., Lee, J. Y. and Chung, C. K. 2009. Effect of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the reduction of hepatotoxicity and lipid metabolism induced by ethanol. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 1016-1023.
- Han, S. H., Kim, J. B., Min, S. G. and Lee, C. H. 1995. The effects of Puerariae Radix catechins administration on liver function in carbon tetrachloride-treated rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **24**, 713-719.
- Huber, R., Hockenjos, B. and Blum, H. E. 2004. DDB treatment of patients with chronic hepatitis. *Hepatology* **39**, 1732-1733.
- Jeon, T. W., Lee, E. S., Lee, Y. S., Ham, O. K., Park, M. H., Kim, K. J. and Kim, H. J. 2002. Hepatoprotective effects of *Semisulcospira libertina* and garlic on the liver damage induced by carbon tetrachloride in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 516-520.
- Ki, S. H., Choi, J. H., Kim, C. W. and Kim, S. G. 2007. Combined metadoxine and garlic oil treatment efficaciously abrogates alcoholic steatosis and CYP2E1 induction in rat liver with restoration of AMPK activity. *Chem. Biol. Interact* **169**, 80-90.
- Kim, D. C., Jeong, S. W. and Park, P. S. 2010. Effect of green tea extract on acute ethanol-induced hepatotoxicity in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 343-349.
- Kim, H. J., Mok, J. Y., Park, K. H., Jeon, I. H., Kim, H. S., Hwang, S. Y. and Jang, S. I. 2012. Protective effect on myeongganbo extract on acetaminophen-induced liver injury. *Kor. J. Herbology* **27**, 85-91.
- Kim, N. Y., Lee, J. S., Park, M. J., Lee, K. H., Kim, S. H., Choi, J. W. and Park, H. J. 2004. The hepatoprotective effect of active compounds of *Kochia fructus* on D-galactosamine-intoxicated rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1286-1293.
- Kim, Y. K., Moon, H. S., Lee, M. H., Park, M. J., Lim, C. W., Park, H. Y., Park J. I., Yoon, H. D. and Kim, D. H. 2009. Biological activities of seven melania snails in Korea. *Korean J. Fish Aquat. Sci.* **42**, 434-441.
- Kind, P. R. and King, E. J. 1954. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino antipyrine. *J. Clin. Pathol.* **7**, 322-326.
- Lee, H. H., Yoon, J. S. and Song, S. Y. 2010. Protective effect of *Lithospermum erythrorhizon* on galactosamine induced liver injury. *Kor. J. Microscopy* **40**, 29-35.
- Lee, J. H., Chi, S. C., Kim, S. H., Shin, Y. H. and Choi, J. W. 2005. Protective effect of DWP-04 against hepatotoxicity induced by D-galactosamine. *J. Life Sci.* **15**, 461-467.
- Lee, M. S., Park, J. B. and Yoon, S. H. 2005. Hepatoprotective effects of the water extract from *Semisulcospira gottschei* against liver injuries induced by carbon tetrachloride in rats. *J. Kor. Soc. Hygienic Sci.* **11**, 17-26.
- Lee, T. J. and Min, K. J. 2010. The effect of *Allium sativum* L. extract on hepatic function in rats with CCl<sub>4</sub>-induced (hepatic) injury. *J. Kor. Acad. Industr. Coop. Soc.* **11**, 1936-1942.



24. Lim, C. W., Kim, Y. K., Kim, D. H., Park, J. I., Lee, M. H., Park, H. Y. and Jang, M. S. 2009. Comparison of quality characteristics of melania snails in Korea. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **42**, 555-560.
25. McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase an enzymic function ferythrocyte protein (Hemocuprotein). *J. Biol. Chem.* **244**, 6049-6055.
26. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
27. Oyanagui, Y. 1989. SOD and active oxygen modulator. pp 17-36. Nihon Igakukan: Tokyo, Japan.
28. Park, J. Y., Park, C. M., Kim, J. J. and Song, Y. S. 2008. Hepatoprotective activity of dandelion (*Taraxacum officinale*) sater extract against D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 177-183.
29. Reitman, S. and Frankel, S. A. 1957. Colorimetric method for determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 56-63.
30. Wang, G. X., Ben, C. E. and Ye, B. K. 1988. Reparative effects of biphenyl dimethyl dicarboxylate on experimental liver injury in rats with histochemical and electromicroscopy study. *Chin. J. Integrat. Tradit. Western Med.* **8**, 158-160.
31. Wang, J. and Wendel, A. 1990. Studies on the hepatotoxicity of galactosamine endotoxin or galactosamine/TNF in the perfused mouse liver. *Biochem. Pharmacol.* **39**, 267-270.
32. Wills, P. J. and Asha, V. V. 2006. Protective effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. (Lygodiaceae) against D-galactosamine induced liver injury in rats. *J. Ethnopharmacol.* **108**, 116-123.
33. Wroblewski, F. and LaDue, J. S. 1955. Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **90**, 210-213.

## 초록 : 다슬기 열수 추출물이 간독성이 유도된 흰쥐에 미치는 보호 효과

박영미<sup>1</sup> · 임재환<sup>1</sup> · 이종은<sup>1</sup> · 서울원<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>안동대학교 자연과학대학 생명과학과, <sup>2</sup>안동대학교 해양바이오산업연구소)

본 연구는 다슬기(*Semisulcospira libertine*) 열수 추출물이 D-galactosamine에 의해 급성 간독성이 유도된 흰쥐에 미치는 보호 효과를 조사하였다. 다슬기 열수 추출물은 D-galactosamine에 의해 유발된 간 조직 내 국소적 지방 변성과 염증세포 침윤을 크게 완화하여 대조군과 유사하게 보호하는 경향을 보였다. 또한 다슬기 열수 추출물을 처리한 실험군은 간 손상 지표 효소인 AST와 ALT, LDH 및 ALP의 활성이 대조군 수준으로 유지되었으며 간 조직 내 지질함량과 과산화지질함량이 감소되는 것으로 나타나 다슬기 열수 추출물이 D-galactosamine으로 인한 혈중 효소 활성과 조직 내 지질함량을 개선하는 것으로 조사되었다. 또한 다슬기 열수 추출물을 처리한 실험군은 염증반응을 촉진시켜 조직 상해 및 괴사를 유도하는 TNF- $\alpha$ 의 발현을 억제하고 있어 염증 반응에서 세포 손상을 감소시키는 데 관여하는 것으로 나타났다. 따라서 다슬기 열수 추출물은 D-galactosamine에 의한 조직 괴사를 감소시키고 혈중 효소의 활성과 조직 내 지질함량을 개선하는 효과를 나타내고 있으며 염증 반응 인자의 발현과 항산화효소 활성을 조절하여 간독성에 대해 보호 효과가 높을 것으로 생각된다.