

고지방 · 고탄수화물 식이와 Streptozotocin-유도 당뇨병 흰쥐에서 삼릉추출물의 개선효능 연구

강안나 · 강석용 · 송미영¹ · 박용기

동국대학교 한의과대학 본초학교실, ¹한방재활의학교실

Effects of Sparganii Rhizoma Extract on High Fat · High Sucrose Diet and Streptozotocin Administration-Induced Diabetic Rats

An Na Kang, Seok Yong Kang, Mi-Young Song¹, Yong-Ki Park

Departments of Herbology and ¹Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Dongguk University

Received: November 17, 2016
Revised: November 29, 2016
Accepted: November 29, 2016

Correspondence to: Yong-Ki Park
Department of Herbology, College of
Korean Medicine, Dongguk University,
123 Dongdae-ro, Gyeongju 38066,
Korea
Tel: +82-54-770-2661
Fax: +82-54-770-2661
E-mail: yongki@dongguk.ac.kr

Copyright © 2016 by The Society of Korean
Medicine for Obesity Research

Objectives: This study was designed to evaluate the anti-diabetic effects of *Sparganium stoloniferum* Buchanan-Hamilton (Sparganii Rhizoma, SR) extract on diabetic rats.

Methods: Diabetes was induced with Sprague-Dawley rats by high fat/high sucrose (HF/HS) diet for 4 weeks and injection of a single low dose of streptozotocin (STZ; 35 mg/kg). SR water extract at 500 mg/kg was orally administrated once a day for 4 weeks. Body weights, food and water intakes and urine volumes were measured. The levels of glucose, insulin, total cholesterol, glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) were measured in the sera of rats. Histological changes were observed in pancreas, liver, and kidney tissues by H&E staining.

Results: The administration of Sparganii Rhizoma extract at 500 mg/kg in diabetic rats did not shown a significant difference in body weight changes and GPT levels, but showed meaningful changes in an increase of urination volume, and decrease of serum glucose and insulin levels. Total cholesterol and GPT levels were also significantly decreased after SR extract administration in diabetic rats. Furthermore, the abnormal changes of pancreas, liver and kidney were also improved by Sparganii Rhizoma extract administration.

Conclusions: These results indicate that SR extract can improve HF/HS-diet and STZ-induced diabetic damages in rats through inhibition of the blood glucose and insulin increase.

Key Words: *Sparganium stoloniferum*, Sparganii Rhizoma, High fat/high sucrose diet, Streptozotocin, Type 2 diabetes mellitus, Obesity

서론

당뇨병은 체내 인슐린 분비와 활성에 장애가 생긴 상태를 특징으로 하는 대표적인 만성 대사성 질환이다. 체내에서의 인슐린 부족은 만성 고혈당증을 유발하게 되며, 탄수화물 및 지질 대사에 이상을 초래하고 나아가 인슐린 수용체(insulin receptor)를 가진 골격근, 지방조직, 간 등에서 대사신호전달과 변환 체계에 이상을 유발하게 된다^{1,2)}. 당

뇨병은 고전적으로 제1형 당뇨병과 제2형 당뇨병으로 나누어지며 인슐린 저항성이 생긴다는 점에서 병의 진행방향은 같지만 유전적 기반이 다르다. 제1형 당뇨병은 자가 면역질환이며 췌장 베타세포의 기능적 불능상태로 인슐린 분비가 이루어지지 않아 당대사 장애가 초래된다. 반면 제2형 당뇨병은 베타세포 기능에는 이상이 없어 인슐린 분비는 이루어지지만 각 장기에서의 인슐린 수용체에 저항성이 생겨 인슐린 소모가 원활하지 않게 되어 당대사 장애가 생기고, 만성

고혈당증이 생기는 상태를 의미한다^{1,2)}. 이러한 당뇨병에서의 고혈당 현상은 체내 에너지 생산을 당대사가 아닌 지질 대사에 의존하게 하여 혈중 지질농도를 증가시킴으로써 심혈관계 질환, 망막증세, 신경장애 등의 합병증을 동반하게 된다^{3,4)}.

한의학에서 당뇨병은 소갈의 消渴轉變證으로 보며 過飮, 膏粱厚味の 飮食不節, 消穀善飢, 渴而多飮 등의 증상으로 해석하는데 이는 현대의학에서의 당뇨병 해석과 유사하다^{5,6)}. 또한 삼소이론에 따라 상소, 중소, 하소로 단계를 구분, 각 단계 별 폐식, 비위, 간신의 삼초 부위 발현에 따른 치료방법을 달리 적용하고 있다.

三稜(삼릉, *Sparganium stoloniferum* Buchanan-Hamilton, *Sparganii Rhizoma* [SR])은 黑三稜科(Sparganiaceae)에 속하는 다년생 초본인 黑三稜의 괴경(塊莖)을 건조한 것으로, 본초학적 성미는 平하고 辛, 苦하다. 삼릉은 設講하며 成俊善削하기 때문에 血中の 瘀結을 파하고 行氣止痛하여 消積하는 효능이 있다고 알려져 있다⁷⁾. 또한 血瘀氣滯, 停痰, 停積의 癥瘕結塊 및 經閉腹痛, 產後瘀滯, 食積不消로 인한 胸腹脹痛證에도 응용되며, 특히 血瘀로 인한 腹部腫壞 처치에 많이 활용된다. 또한, 五積六聚, 七癥八瘕를 치료하며, 婦人, 室女血瘦, 月經不通 등의 치료에도 사용된다. 삼릉의 괴경장부는 肝과 脾로써 肝脾血分에 속하며 이는 현대의학에서의 당뇨병 발병 핵심 장기인 췌장과 간에 해당하는 것으로 이는 삼릉이 당뇨병 치료에 활용될 수 있음을 의미한다^{7,8)}.

삼릉의 효능연구로 자궁경부암과 유방암에 대한 항암효과가 알려져 있으며⁹⁻¹¹⁾, 항산화 및 신혈관생성 효과가 보고되었다^{12,13)}. 그러나 아직 당뇨병에서의 삼릉의 효과에 대해서는 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 삼릉의 당뇨병에 대한 개선효능을 확인해보고자 고지방과 고탄수화물 식이로 비만이 유도된 흰쥐에 저용량 streptozotocin (STZ)을 단회 투여함으로써 사람의 제2형 당뇨병 유사 증상을 유발하였다. STZ는 베타세포 독소이지만 저용량으로 단회 투여하게 되면 베타세포의 활성을 방해하는 역할을 하여 고지방 식이와 병행되었을 때 이미 비만으로 인해 인슐린 저항성은 생기게 되고 STZ로 인해 감소한 인슐린의 분비가 마치 사람의 전형적인 제2형 당뇨병의 증상처럼 고혈당, 고지혈증, 인슐린 저항성을 일으키게 된다¹⁴⁻¹⁸⁾. 이렇게 제2형 당

뇨병이 유발된 흰쥐에 4주간 삼릉추출물을 경구투여하여 생리학적, 혈액학적 및 조직학적 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용한 삼릉(SR)은 흑삼릉(*Sparganium stoloniferum* Buchanan-Hamilton)의 괴경(塊莖)으로서 (주)광명당제약(울산, 한국)으로부터 표준약재를 구입하여 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 감별한 후 정선하여 추출물 제조를 위한 시료로 사용하였다.

2) 동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 5주령 수컷 랫드를 (주)오리엔트바이오(성남, 한국)로부터 분양받아 1주일간의 적응기간을 거친 후 실험에 사용하였다. 실험기간 동안 일정량의 사료와 물을 자유롭게 섭취시켰으며, 실내온도 22°C±2°C, 습도 55%±5%, 명암 12시간(day light 08:00~20:00)을 주기로 실험종료 시까지 일정한 사육조건을 유지시켰다. 실험동물은 식품의약품안전처 실험동물사용 및 사육관리규정에 따라 관리하였다.

3) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약으로는 STZ, H&E solution (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA), glucose, total cholesterol 검출 시약(에이치비아이(주), 안양, 한국), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvic transaminase (GPT) 검출시약(아산제약, 서울, 한국), insulin ELISA 키트(EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA), 혈당측정검사지(Accu-Check; Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany) 등이 있으며, 기기로는 Microplate reader (ASYS, Salzburg, Austria), 광학현미경(LEICA, Wetzler, Germany), 추출기(Daihan Scientific, Wonju, Korea), 회전식감압농축기(Eyela Co., Ltd., Tokyo, Japan), 동결건조기(Ilshin Lab Co., Ltd., Yangju, Korea) 등이 있다.

2. 방법

1) 시료의 조제

삼릉 200 g에 정제수 2 L를 가하여 열탕추출기에서 3시간씩 2회 가열하여 얻은 추출물을 3겹 거즈와 와트만여과지(Whatman NO. 1)로 여과한 후 회전식 감압농축기로 감압 농축하여 동결 건조함으로써 물추출물 건조엑스(SR extract)를 제조하였다(수득률=17.2%). 삼릉 건조엑스를 냉장보관하면서 실험 직전 생리식염수에 적정 농도로 희석하여 약물로 사용하였다.

2) 당뇨병 흰쥐모델 제작

당뇨병 유발을 위해 먼저 4주간 고지방과 고탄수화물 식이(Surwit's Retenon Diet with 45 kcal% fat and 32% kcal% sucrose; Research Diet Inc., Brunswick, NJ, USA)를 실시하였으며, 정상군에는 정상 고형사료(Teklad Global 18% Protein Rodent Diet; Harlan Laboratories, Inc., Livermore, CA, USA)를 제공하였다. 4주 식이 후 당뇨병 유발을 위해 STZ를 0.01 mol citrate buffer (pH 4.5)로 적정한 다음 35 mg/kg/몸무게 용량을 흰쥐 복강으로 1회 주사하였다. 이때 정상군은 동일한 양의 0.1 mol citrate buffer를 복강 주사하였다. STZ 복강 투여 후 3일째 12시간 이상 절식시킨 후 꼬리정맥으로부터 채혈한 혈액으로부터 혈당측정검사지(Accu-Check)를 이용하여 혈당을 측정함으로써 당뇨병 유발을 확인하였다. 혈당수치가 200 mg/dl가 넘는 동물만 선별하고 정상군(normal), 당뇨병 유발군(high fat/high sucrose [HF/HS] + STZ), 당뇨병 유발군에 삼릉추출물(500 mg/kg)를 경구 투여한 약물투여군(SR 500 mg/kg)으로 나누어 실험을 진행하였다. 모든 동물은 고지방과 고탄수화물 식이를 유지시켰으며, 삼릉추출물은 4주 동안 매일 1회씩 일정한 시각에 경구 투여하였고 약물을 투여하지 않는 정상군과 대조군에는 동일 양의 생리식염수를 경구 투여하였다. 실험 종료 후 최소 12시간 이상 절식시킨 후 모든 동물을 희생시키고 복대정맥으로부터 혈액을 수집하였다. 혈액은 실온에서 응고시킨 후 6,000 rpm에 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 -80°C 에 보관하면서 혈액마커 측정을 위한 시료로 사용하였다.

3) 생리학적 변화 평가

실험 종료 1주일 전 모든 동물에게 동일한 양의 사료와 물을 제공하고 1주일 동안 섭취하고 남은 잔여량을 측정하여 섭취량과 음수량을 평가하였다. 또한 실험 종료 하루 전 모든 동물의 체중을 측정하고, 대사케이지에서 24시간 배뇨량을 측정하였다.

4) 혈액학적 변화 평가

혈액마커들의 변화는 실험 종료 후 혈액으로부터 분리한 혈청에서 측정하였다. 즉, 혈청 내 인슐린의 농도는 insulin ELISA 키트를 사용하여 측정하였으며, 키트 내 표준액의 표준정량곡선을 이용하여 정량하였다. 총콜레스테롤(total cholesterol, TC), 포도당(glucose), GOT, GPT의 농도는 각각의 효소시약 측정용 키트를 이용하여 측정하였고 발색 정도를 microplate reader에서 흡광도를 측정함으로써 농도를 계산하였다.

5) 조직학적 변화 평가

8주 식이와 4주 삼릉추출물 투여 후 모든 동물을 희생시키고 췌장, 간, 신장 조직을 적출한 후 4% paraformaldehyde 용액에 하루 동안 고정시키고 10%~30% sucrose 용액으로 가라앉혀 자동조직과정 처리기를 통해 탈수, 투명, 침투화하였다. 이를 파라핀으로 포매한 후 조직절편기(microtome)를 이용하여 4~6 μm 두께로 박절함으로써 연속절편을 제작하였다. 이후 조직슬라이드는 H&E 염색을 위해 xylene으로 조직 외부에 포매된 파라핀을 제거하고 hematoxylin 용액으로 3~6분간 실온에서 염색하였다. 이를 다시 0.1%~1.0% HCl이 포함된 75% 알코올로 수세한 후 eosin 용액으로 2~3분 염색하였으며 95%~100% 알코올로 탈수, 투명과정을 시행한 후 permount 봉입제로 봉입(mounting)하였다. 염색된 조직 슬라이드는 광학현미경을 이용하여 형태 변화와 손상 정도를 관찰하였다.

6) 통계처리

모든 실험 결과는 GraphPadprism 5 program (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차(mean \pm standard deviation)를 계산하고, $P < 0.05$ 수준에서 Student t-test를 사용하여 각 실험군 간의

유의성을 검증하였다.

결 과

1. 생리학적인 변화에 대한 효과

4주간의 고지방과 고탄수화물 식이 후 STZ를 단회 복강 투여하여 당뇨병이 유발된 랫드에 고지방과 고탄수화물 식이를 유지하면서 삼릉추출물을 4주간 투여한 후 생리학적 지표변화를 측정하였다. 그 결과, 정상군(normal)에 비해 당뇨병이 유발된 대조군(HF/HS+STZ)에서 체중과 섭식량의 유의적인 감소 및 음수량과 배뇨량의 유의적인 증가가 관찰되었다. 삼릉추출물을 4주간 투여한 약물군(SR 500 mg/kg)에서는 대조군에 비해 유의적인 체중 변화가 관찰되지 않았으나 음수량의 감소와 섭식량의 증가가 나타났으며, 특히 당뇨병 유발에 따른 배뇨량의 증가가 삼릉추출물 투여에 의해 유의적으로 감소되는 것으로 나타났다(Fig. 1). 따라서 삼릉추출물의 투여는 당뇨병 발생에 따른 당뇨 현상을

감소시킬 수 있는 것을 알 수 있었다.

2. 혈액 내 포도당과 인슐린 변화에 대한 효과

고지방과 고탄수화물 식이 및 STZ 투여로 당뇨병이 유발된 랫드에 삼릉추출물을 4주간 투여한 후 혈액 내 포도당과 인슐린의 농도 변화를 효소반응법으로 측정된 결과, 정상군(normal)에 비해 당뇨병이 유발된 대조군(HF/HS+STZ)에서 혈청 내 포도당과 인슐린의 농도가 유의적으로 증가하였으며, 삼릉추출물(SR 500 mg/kg) 투여에 의해 유의적으로 감소되었다(Fig. 2). 따라서 삼릉추출물의 투여는 당뇨병 발생에 따른 혈당 증가와 췌장 손상에 따른 인슐린 증가 현상을 감소시킴으로써 당뇨병 증상을 개선시킬 수 있는 것으로 나타났다.

3. 혈액학적 변화에 대한 효과

고지방과 고탄수화물 식이 및 STZ 투여로 당뇨병이 유발된 랫드에 삼릉추출물을 4주간 투여한 후 혈액 내 TC,

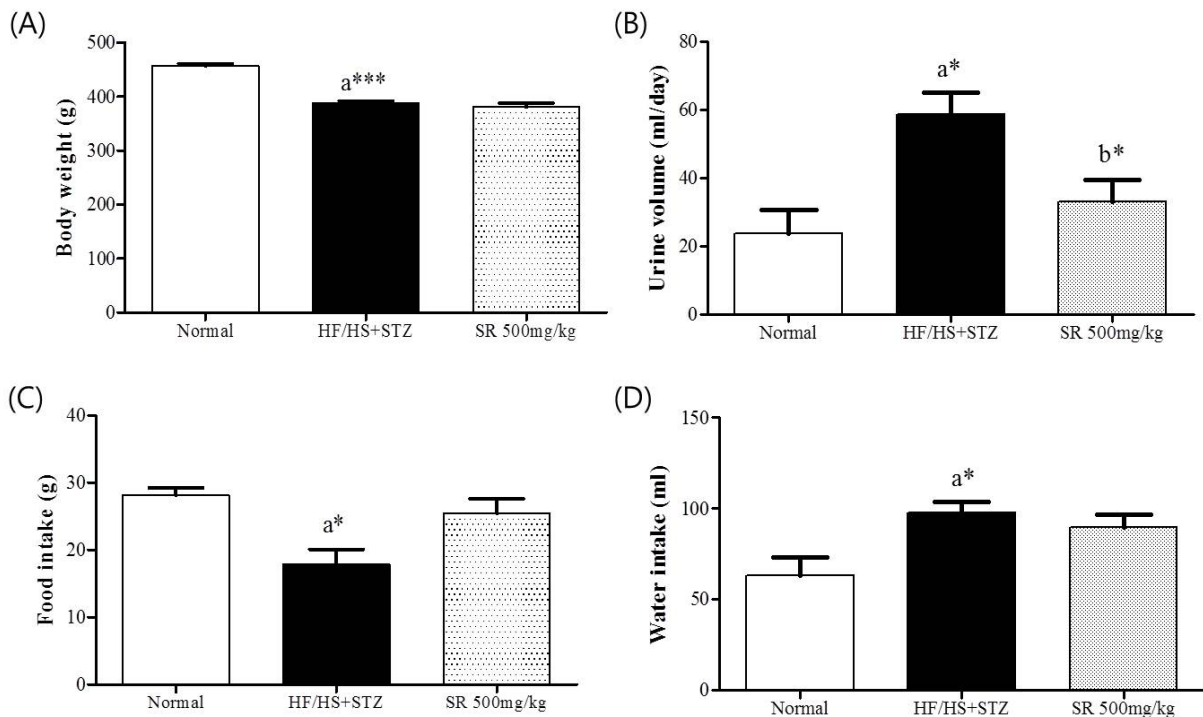


Fig. 1. Effects of Sparganii Rhizoma (SR) extract on the changes of physiological parameter in high fat/high sucrose (HF/HS) diet and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The rat were fed with HF and HS for 4 weeks, and then single injected with STZ at 35 mg/kg. SR extract (500 mg/kg) was administrated orally for 4 weeks with HF/HS diet. (A) The body weights, (B) urine volumes, (C) food, and (D) water intakes were measured at 4 week. Data are expressed as mean \pm standard deviation of each group (n=5). * $P < 0,05$ and *** $P < 0,001$ vs. normal group vs. HF/HS+STZ group (a) HF/HS+STZ group vs. SR 500 mg/kg (b).

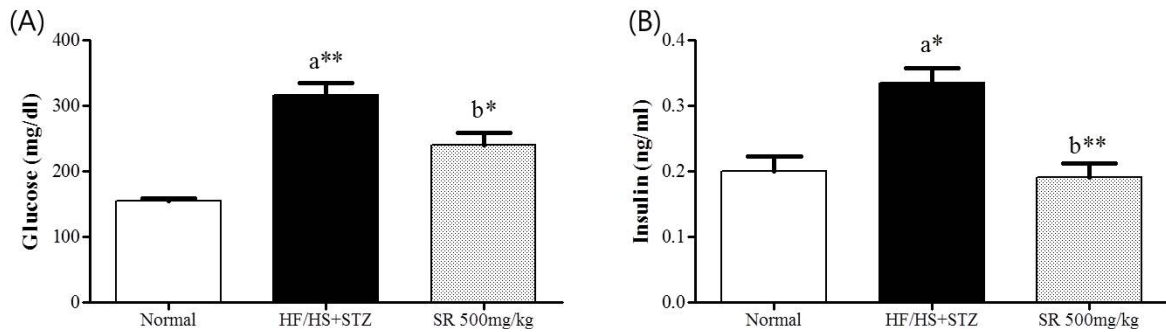


Fig. 2. Effects of Sparganii Rhizoma (SR) extract on the levels of glucose and insulin in the sera of high fat/high sucrose (HF/HS) diet and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The rat were fed with HF and HS for 4 weeks, and then single injected with STZ at 35 mg/kg. SR extract (500 mg/kg) was administrated orally for 4 weeks with HF/HS diet. The levels of glucose (A) and insulin (B) were measured in the sera of rats by enzyme-based assay as described in Methods. Data are expressed as mean±standard deviation of each group (n=5). *P<0,05 and **P<0,01 vs. normal group vs. HF/HS+STZ group (a) HF/HS+STZ group vs. SR 500 mg/kg (b).

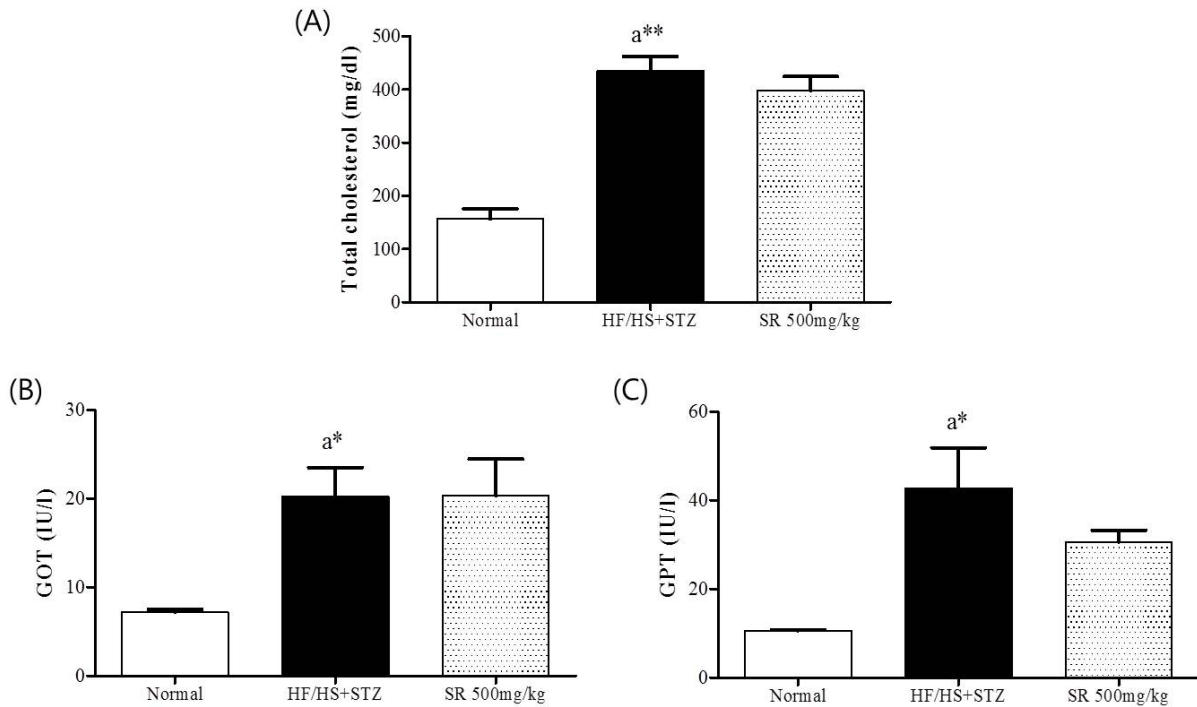


Fig. 3. Effects of Sparganii Rhizoma (SR) extract on the changes of serological parameter in high fat/high sucrose (HF/HS) diet and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The rat were fed with HF and HS for 4 weeks, with inject of STZ, and then administrated orally with SR extract (500 mg/kg) for 4 weeks. The levels of total cholesterol (A), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) (B), and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) (C) in the sera of rats were measured by enzyme-based assay. Data are expressed as mean±standard deviation of each group (n=5). *P<0,05 and **P<0,01 vs. normal group vs. HF/HS+STZ group (a).

GOT, GPT의 농도를 측정한 결과, 정상군(normal)에 비해 당뇨병이 유발된 대조군(HF/HS + STZ)에서 TC, GOT, GPT의 농도가 유의적으로 증가하였으며, 삼릉추출물을 4주간 투여한 약물군(SR 500 mg/kg)에서는 당뇨병 유발로 증가된 TC와 GPT의 농도가 억제되는 것으로 나타났다 (Fig. 3). 한편 삼릉추출물의 투여는 GOT 변화에는 영향을

주지 않는 것으로 나타났다. 따라서 삼릉추출물의 투여는 당뇨병 발생으로 인한 지질산물의 축적과 간 조직 손상을 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다.

4. 조직학적 변화에 대한 효과

4주간의 고지방과 고탄수화물 식이 후 STZ를 단회 복강

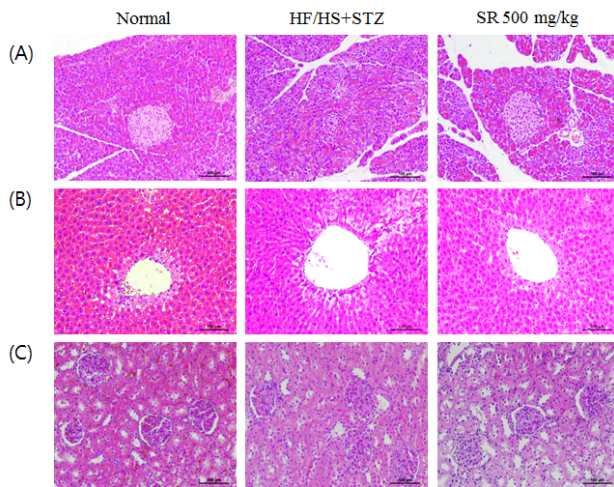


Fig. 4. Effects of Sparganii Rhizoma (SR) extract on the histopathological changes of pancreas, liver and kidney tissues in high fat/high sucrose (HF/HS) diet and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The rat were fed with HF and HS for 4 weeks, and then single injected with STZ at 35 mg/kg. SR extract was administrated orally for 4 weeks with HF/HS diet. Each tissues were isolated (A~C), prepared pafarrin-formatted block, and stained with H&E dye. Morphological changes of pancreas (A), liver (B) and kidney (C) were observed by microscope (A~C: $\times 200$).

투여하여 당뇨병이 유발된 랫드에 고지방과 고탄수화물 식이를 유지하면서 삼릉추출물을 4주간 투여한 후 췌장, 간, 신장 조직을 H&E 염색하여 조직학적 변화를 관찰하였다. 그 결과, 정상군(normal)에 비해 당뇨병이 유발된 대조군(HF/HS + STZ)에서 췌장, 간, 신장 조직의 형태적 손상을 관찰하였다. 즉 췌장에서는 인슐린을 분비하는 베타세포로 이루어진 랑게르한스섬의 형태적 손상이 나타났으며, 간에서는 간문맥을 중심으로 한 주변부의 간세포 사이 지방의 누적(steatosis)을 관찰할 수 있었고, 신장에서의 사구체 기저막의 비후 및 혈관사이질의 증식 등 약한 조직학적 변화를 확인하였다. 이러한 각 조직의 구조적 손상 변화는 4주간의 삼릉추출물(SR 500 mg/kg) 투여에 의해 개선되는 것으로 나타났다(Fig. 4). 따라서 삼릉추출물은 당뇨병 발생에 따른 췌장과 간 및 신장 조직의 병리적 변화를 감소시킴으로써 당뇨병 증상을 개선시킬 수 있는 것으로 나타났다.

고찰

고혈당을 특징으로 하는 당뇨병은 현대인들에게 가장 흔한 대사질환 중 하나이며, 최근 급속한 경제 성장과 더불어

전 세계적으로 비만으로 인한 당뇨병이 증가추세에 있어 이에 대한 치료 수요가 꾸준히 증가하고 있다. 전 세계적으로 1980년대에는 약 1.08억 명이었던 당뇨병 환자는 2014년에는 4.22억 명으로 불과 30년 사이에 약 3.9배 증가하였으며, 18세 이상의 성인이 당뇨병에 걸리는 경우도 1980년에 4.7%에서 2014년에는 8.5%로 증가하여 현재 매우 심각한 사회 문제적 질환으로 인식되고 있으며 새로운 치료법에 대한 관심도 급증하고 있다¹⁹⁾.

당뇨병은 인슐린의 분비 장애, 혹은 말초조직에 인슐린에 대한 저항성으로 인해 포도당 이용에 장애가 생겨 혈액 속 잉여 당의 양이 증가함으로써 궁극적으로 탄수화물, 지방 및 단백질 등 생체 내 대사기능을 무력화시키는 질환이다²⁰⁾. 당뇨병의 발생기전은 크게 두 가지로 보는데 하나는 유전적, 환경적, 면역학적 이유로 인해 췌장의 베타세포가 파괴됨으로써 절대적 인슐린 결핍에 의해 생기는 제1형 당뇨병과 병태생리학적 이유로 인해 인슐린의 분비는 정상적이나 세포기전에서의 인슐린 저항성으로 인해 각 장기가 인슐린을 이용하는 능력에 문제가 생겨 발생하는 제2형 당뇨병이다^{19,20)}. 특히 제2형 당뇨병은 비만과도 관련이 많은데 칼로리 섭취가 과다하여 잉여 탄수화물이 체내에 쌓이면 자연스럽게 과당상태가 되고 세포가 받아들일 수 있는 한계치를 초과하게 됨으로써 당내성이 생겨 더 이상 당을 소모할 수 없는 내당능장애(glucose tolerance) 상태가 된다. 또한 내당능장애는 고혈당을 유발하지만 실제 당을 소모해야 하는 세포는 기아상태로 들어가게 되어 음식 섭취량에 대한 요구가 더욱 커지고 혈중에서 조절되지 않는 당은 사구체에서 다 처리하지 못하게 되어 당뇨병과 각종 합병증을 유발하게 된다^{21,22)}. 따라서, 현대의학에서의 당뇨병 치료의 궁극적인 목적은 혈당 자체를 낮추어 정상 범위를 유지하게 하는 것이며 기타 축적되는 지질농도를 조절하여 장기로 가는 스트레스를 낮추는 것이다. 현재 당뇨병의 치료는 화학적 약물요법과 비약물적 요법을 사용하고 있으며 혈당강화제나 인슐린을 단일 혹은 병용 투여 받아도 비약물적 치료를 병행하게 된다^{6,19,21,22)}.

한의학에서 당뇨병은 消渴의 범주로서 당뇨병 증세와 합병증 단계까지 포함하여 해석하고 있으며 증세에 따라 上消, 中消, 下消의 三消로 분류하고 있다⁵⁾. 상소는 口渴喜飲의 多飲을 하는 시기로 심장을 거쳐 폐에 영향을 주게 되어

격소라고도 한다. 증소는 多食易肌하는 시기로 脾胃 및 대장 기능과 연관이 있으며 다음과 함께 다식하지만 체중은 빠지고 누린 소변을 보는 시기이다. 하소는 肝腎과 연관되며 小便頻而量多의 증상으로 체중저하와 기름 같은 소변을 자주 배출하는 증세를 나타낸다²³⁻²⁷. 소갈 삼소이론에서의 다음, 다식, 다뇨 증상을 현대의학에서도 당뇨병의 주요 증상으로 보고 있지만, 한의학에서는 삼소 단계별 삼초부위의 변화로 해석하는 반면 현대의학에서는 인슐린 분비 장애 및 당 대사 장애에 따른 다음, 다식, 다뇨의 복합적 현상으로 해석한다. 따라서 치료의 목적도 한의학에서는 삼소 단계별 치료방법을 달리하지만 현대 의학에서는 체내 혈당의 정상범위 유지와 함께 지질변화 조절에 두고 있다^{28,29}. 삼릉은 귀경장부가 간과 비⁷)로서 이는 현대의학에서 비만에 따른 당뇨병 발생 기관이 췌장과 간에 해당하고^{30,31} 신장손상으로 이어지는 것과 연관시켜 볼 수 있다. 따라서 본 연구에서는 삼릉추출물을 제조하고, 사람의 비만에 따른 제2형 당뇨병 유사 동물모델을 제작하여 혈당조절과 췌장, 간, 신장 조직에서의 손상억제 정도를 비교하여 삼릉의 항당뇨효과를 확인하고자 수행하였다.

본 연구에서의 고지방과 고탄수화물 식이에 따른 비만 유도 후 저용량 STZ를 단회 복강 투여하는 모델을 사용하였으며 이는 제2형 당뇨병에서의 주요 증상인 체중감소, 혈당증가(hyperglycemia), 인슐린증가(hyperinsulinemia), 다식, 다뇨 및 TC의 증가 현상을 나타내는 것을 확인할 수 있었다^{19,20,23,30}. 또한 삼릉추출물의 투여는 체중증가 조절에는 유의한 효과가 없었지만 음수량의 감소와 섭식량의 증가를 유도하였으며, 특히 당뇨병 유발에 따른 다뇨현상을 유의적으로 억제시키는 것으로 나타났다. 이는 삼릉추출물이 당뇨병 발생에 따른 신장손상과 다뇨현상을 감소시킴으로써 증상을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

임상에서 당뇨병의 발생 정도를 판단하는 지표들 중 대사인자들보다 더 의미가 있는 것은 혈당과 인슐린 수치의 변화이며²³, 본 연구에서 당뇨병 유발군은 혈당과 인슐린 수치의 증가가 관찰되었고 삼릉추출물 투여에 의해 유의적인 감소를 확인하였다. 이는 STZ로 인해 인슐린 분비가 어느 정도 감소되었음에도 불구하고 비만으로 인한 인슐린 저항성으로 인해 분비된 인슐린이 소모되지 못하여 혈중 인슐린의 수치가 유의적으로 높아졌으나 삼릉추출물 투여에 의

해 인슐린 저항성이 점차 개선됨에 따라 각 조직에서의 인슐린 감수성이 높아지면서 혈중의 당을 소모했기 때문으로 해석된다. 이는 체내 대사가 활성화되면 고당으로 인한 세포의 기아가 완화됨으로써 식이 섭취가 증가하는 것에도 일치한다고 볼 수 있다³¹.

당뇨병의 발생은 고당으로 인한 여러 대사들의 장애로부터 발생되는 각종 합병증으로 이어지는데 고당 장애로 인슐린 수용체의 인슐린에 대한 저항성이 높아지면서 인슐린의 생리적 기능이 감소됨으로써 혈액 내 중성지방과 지질의 수치가 높아져 콜레스테롤 전달을 증가시키기 때문에 각종 심혈관합병증 유발의 위험성을 높이게 된다^{28,29,31,32}. 본 연구에서 당뇨병 유발 흰쥐에 삼릉추출물을 투여하였을 때 대조군에 비해 유의적인 TC의 감소를 나타내었으며 이는 삼릉추출물이 당뇨병 말기 합병증 진행을 늦추어줄 수 있음을 의미한다.

한편 한의학에서 삼릉의 귀경장부는 간과 비인데 간과 췌장, 그리고 고혈당으로 인해 쉽게 손상되기 쉬운 신장 조직에서 삼릉추출물의 투여가 조직보호에 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 췌장은 랑게르한스섬(Langerhans Island)을 가지며 베타세포가 인슐린을 분비하는데 STZ를 투여하면 조직 내 림프구와 대식세포 침윤이 일어나고 베타세포의 선택적인 사멸을 통해 인슐린염(insulinitis)이 발생하는 것으로 알려져 있다^{33,34}. 본 연구에서 고지방과 고탄수화물 식이 및 저용량 STZ 투여를 통한 당뇨병 발생은 췌장 랑게르한스섬의 구조적 손상을 유발하였고, 이는 삼릉추출물 투여에 의해 개선되는 것을 확인하였다. 또한 간 조직에서도 당뇨병 유발에 따른 간문맥 주변 간세포 사이 지방축적 정도가 삼릉추출물 투여에 의해 감소되고, 신장 조직에서의 약한 사구체 손상과 사구체 주변조직의 치밀도가 정상과 유사하게 보호되는 것을 확인하였다. 이는 삼릉추출물이 고지방과 고탄수화물 식이 및 저용량 STZ 투여에 의한 당뇨병 발생에 따른 췌장, 간, 신장 조직 손상을 막아주며 삼릉의 귀경장부와 효능이 서로 연관성이 있음을 의미한다.

결론적으로 4주간 고지방·고탄수화물 식이 및 단회 저용량 STZ 투여로 제2형 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 4주간의 삼릉추출물(500 mg/kg) 투여는 당뇨병 발생에 따른 음수량과 배뇨량 증가를 감소시키고, 고혈당과 고인슐린 증상을 개선시키며, 귀경장부인 췌장과 간 조직 손상을 막아 당

노병 개선 효과를 나타내었다. 이는 한의학이론기반 당뇨병 단계 조절 약물 발굴 및 비만과 당뇨병 치료제 개발에 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 고지방·고탄수화물 식이(HF/HS)와 저용량 STZ 단일 투여에 의해 제2형 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 중소한약인 삼릉의 물추출물(500 mg/kg)을 투여하여 개선효과를 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 삼릉추출물은 고지방 식이, HF/HS + STZ 유도 당뇨병 흰쥐에서 음수량 증가 및 다뇨현상을 감소시켰으며, 섭식량 및 체중 변화에는 영향을 주지 않았다.

2. 삼릉추출물은 고지방 식이, HF/HS + STZ 유도 당뇨병 흰쥐에서 혈당과 인슐린 증가를 유의적으로 감소시켰다.

3. 삼릉추출물은 고지방 식이, HF/HS + STZ 유도 당뇨병 흰쥐에서 TC와 GPT의 증가를 유의적으로 감소시켰으며, GOT 변화에는 영향을 주지 않았다.

4. 삼릉추출물은 고지방 식이, HF/HS + STZ 유도 당뇨병 흰쥐에서 췌장의 랑게르한스섬 변형, 간의 지방축적, 신장의 사구체 기저막 비후 등의 구조적 손상을 억제하였다.

이로부터 중소한약인 삼릉의 물추출물은 제2형 당뇨병 흰쥐에서 고혈당과 인슐린저항성 증상을 개선시킴으로써 콜레스테롤 축적과 췌장 및 간, 신장조직의 손상을 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(2016R1D1A2B01012117).

References

1. Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: the epidemic of the century. *World J Diabetes*. 2015 ; 6(6) : 850-7.
2. Bastaki A. Diabetes mellitus and its treatment. *Int J Diabetes Metab*. 2005 ; 13(3) : 111.
3. Endocrinology College of Medicine Catholic University. Text-book of diabetes. 3. Seoul : Endocrinology College of Medicine Catholic University. 2005 : 263-431.
4. Amos A, McCarty D, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications, estimates and projections to the year 2010. *Diabetic Med*. 1997 ; 14(5) : S1-85.
5. Hong WS. Hwang-Je-Nae-Gyeong-So-Moon. Seoul : Publisher of oriental medicine. 1981 : 18, 138, 145, 163, 179, 180, 238, 249, 257, 263, 269, 274, 297, 299, 301, 304.
6. Jung HS, Yu JS, Song BY. Recent research trends in Korean Medicine treatment of diabetes mellitus. *J Pharmacopunct*. 2008 ; 11(4) : 65-77.
7. Herbology. Textbook compilation committee of college of Korean medicine. Seoul : Younglim. 1991 : 148-9.
8. Yook CS. Studies on active substance in the crude drugs used for blood stasis and blood coagulation. *Ball KH Pharma Sci*. 1992 ; 20 : 59-62.
9. Tennakoon TMSG, Abeysekera AM, De silva KTD, Padumadasa C, Wijesundara DSA. Essential oil composition of *Platostoma menthoides* (L.) AJ paton whole plant. *J Essent Oil Bear Plants*. 2016 ; 19(6) : 1-5.
10. Yoo GS, Lee JM, Lee CH, Jang JB, Lee KS. Study of apoptosis by scirpi tuber in Hela cell and MCF-7 cell. *J Orient Obstet Gynecol*. 2011 ; 24(3) : 1-13.
11. Park KM, Cho SH, Jeong KA. Anti-proliferative effect of Sam-nueng (*Sparganii Rhizoma*) extract on MCF-7 cells. *J Orient Obstet Gynecol*. 2006 ; 19(1) : 166-77.
12. Sun J, Wang S, Wei YH. Reproductive toxicity of *Rhizoma Sparganii* (*Sparganium stoloniferum* Buch.-Ham.) in mice: mechanisms of anti-angiogenesis and anti-estrogen pharmacologic activities. *J Ethnopharmacol*. 2011 ; 137(3) : 1498-503.
13. Kim JG, Kang YM, Um KS, Ko YM, Kim TY. Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (*Akebia quinata* Decaisn, *Scirusfluviatilis* A. Gray, *Gardenia jasminoides* for *grandiflora* Makino). Jinju : Institute of Agriculture & Life Sciences, Gyeongsang National University. 2003 ; 37(4) : 69-75.
14. Irondi EA, Oboh G, Akindahunsi AA. Antidiabetic effects of *Mangifera indica* Kernel flour-supplemented diet in streptozotocin-induced type 2 diabetes in rats. *Food Sci Nutr*. 2016.
15. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*. 2005 ; 52(4) : 313-20.
16. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003 ; 52(1) : 102-10.
17. Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, et al. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism*. 2000 ; 49(11) :

- 1390-4.
18. Rhodes CJ. Type 2 diabetes-a matter of β -cell life and death? *Science*. 2005 ; 307(5708) : 380-4.
 19. Global report on diabetes. Geneva : World Health Organization. 2016.
 20. Korea Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes mellitus. Seoul : Ministry of Health, Welfare and Family Affairs, Korea Centers for Disease Control and Prevention. 2016.
 21. Scherer PE, Hill JA. Obesity, diabetes, and cardiovascular disease a compendium. *Circulation Res*. 2016 ; 118(11) : 1703-5.
 22. World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health. Geneva : World Health Organization. 2016.
 23. Korean Diabetes Association. Diabetes mellitus. Seoul : Korea-Medicine Publishing Company. 2005 : 193-4.
 24. Ju YS, Ko BS. Screening of insulin-like substances from traditional herbs of diabetes prescription in donguibogam. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*. 2002 ; 45(1) : 47-52.
 25. Song JC, Kim SW, Chae SA, Um DM. A review on thirst disease prescription in sikrochanyo. *J Korean Med Class*. 2012 ; 25(3) : 39-49.
 26. Cho SY, Yoo WJ, Ahn SW, Kim NI. The formation of Sogal concept and classification in Korean traditional medicine. *Korean J Orient Med*. 2007 ; 13(2) : 1-14.
 27. Kang SY, Park YK. Comparison of the efficacy of the herbs for upper medication on glucose tolerance induced by high fat/high sucrose feeding-induced mice. *Korean J Herbol*. 2014 ; 29(5) : 1-8.
 28. Han YK, Park YK. Effect of *Atractylodes Rhizoma Alba* water extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Korean J Herbol*. 2011 ; 26(4) : 23-30.
 29. Chae HJ, Lee IS, Moon HY. Effects of *Schizandra Chinensis* fruit extract on the hyperglycemia and hyperlipemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *KSBB J*. 2011 ; 26(2) : 126-30.
 30. Kumar A, Kumar Bharti S, Kumar A. Type 2 diabetes mellitus: the concerned complications and target organs. *Apollo Med*. 2014 ; 11(3) : 161-6.
 31. Adler A. Obesity and target organ damage: diabetes. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 ; 26(S4) : S11-4.
 32. Yoon JA, Son YS. Effects of fruits and stems of *Opuntia ficus-indica* on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2009 ; 38(2) : 146-53.
 33. Sugiyama Y, Taketomi S, Shimura Y, Ikeda H, Fujita T. Effects of pioglitazone on glucose and lipid metabolism in Wistar fatty rats. *Arzneimittel-Forschung*. 1990 ; 40(3) : 263-7.
 34. Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev*. 2007 ; 87(2) : 507-20.