

알코올로 유도된 간 손상 동물모델에서 굴 추출물의 간 보호 효과

Kenji Osaki¹ · Teruaki Arakawa¹ · 김범식² · 이민재³ · 정창식³ · 강남길³

¹(주)비젠화성
²경일대학교 식품과학부
³(주)뉴트리플랜

Hepatoprotective Effects of Oyster (*Crassostrea gigas*) Extract in a Rat Model of Alcohol-Induced Oxidative Stress

Kenji Osaki¹, Teruaki Arakawa¹, Bumsik Kim², Minjae Lee³, Changsik Jeong³, and Namgil Kang³

¹Okayama Head Office, Bizen Chemical Co., Ltd.

²School of Food Science, Kyungil University

³Nutriplan Co., Ltd.

ABSTRACT This study was conducted to investigate the protective effects of water extract from *Crassostrea gigas* (CGW) against ethanol-induced hepatic toxicity in rats. Seventy-two male Wistar rats (6-week-old) were divided into six groups of 12 animals each: control group (1 mL saline/d), ethanol-treated group, positive control group (ethanol+*Hovenia dulcis* Thunb extract), CGWL group (ethanol+low dosage of CGW), CGWM group (ethanol+medium dosage of CGW), and CGWH group (ethanol+high dosage of CGW). All groups except the control group received ethanol (40% ethanol 5 g/kg) orally. CGW administration with ethanol resulted in prevention of ethanol-induced hepatotoxicity by increasing levels of serum alanine aminotransferase and γ -glutamyltransferase. CGW supplementation significantly reduced formation of malonaldehyde and inhibited reduction of hepatic glutathione and peroxidase levels, as compared with the ethanol-administration group. Further, CGW suppressed expression of CYP2E1, which was elevated by ethanol administration. Consequently, our results indicate that *Crassostrea gigas* may exert hepatoprotective effects against alcohol-induced hepatocyte injury by intensifying the anti-oxidative defense system.

Key words: oyster, alcohol, oxidative stress, alcoholic liver disease

서 론

음주는 세계적으로 일반적 사회 문화로 적절한 알코올의 섭취는 사회생활 및 스트레스 해소에 도움을 줄 수 있지만 과음은 오심, 구토, 갈증, 두통 및 일상생활에 장애를 초래한다. 또한, 만성적인 알코올의 섭취는 지방간, 간 염증, 괴사, 진행성 섬유증 및 간세포 암종과 같은 알코올성 간 질환(alcoholic liver disease, ALD)의 현상이 발생할 수 있다(1). ALD는 복잡하고 여러 병원성 대사기작을 가지고 있으며 대표적인 기작은 간세포에서 활성산소의 형성과 산화적 스트레스이다(2). 알코올은 간에서 enzyme alcohol dehydrogenase(ADH)에 의해 acetaldehyde로 전환되고 aldehyde dehydrogenase(ALDH)로 산화되는 두 가지의 과정을 거친다(3).

Cytochrome(CYP450)은 알코올 대사와 관련된 다른 대

사 시스템이다. Cytochrome P450 2E1(CYP2E1)은 알코올이 acetaldehyde로 산화되는 것과 acetaldehyde가 acetate로 산화되는 것을 촉매하며 이 과정에서 여러 종의 reactive oxygen species(ROS)가 생성된다(4,5). 간세포는 ROS를 생성시킬 수 있는 잠재적인 가능성을 가지고 있으며 계속되는 알코올의 섭취 때문에 산화물들이 생성될 수 있다(6). 세포 내에서 ROS의 생성은 다양한 효소적, 비효소적 항산화 시스템과 연관되어 있다. 이들 항산화 시스템은 superoxide dismutase(SOD), glutathione(GSH) 그리고 catalase(CAT)를 포함하고 있다(7). 또한, 알코올의 섭취는 지질대사에도 영향을 미쳐 간세포에 중성지방이 축적되는 지방간을 유발하고 세포 내 지질과산화물을 유발한다(8). 따라서 알코올 섭취로 인한 알코올성 간 손상을 억제할 수 있는 식품에 대한 관심은 계속 증가하고 있으며 이에 대한 활발한 연구가 진행되고 있다.

굴(*Crassostrea gigas*, CG)은 가장 잘 알려진 어패류 중 하나이며 polysaccharides가 풍부하다고 알려져 있다(9). 굴에 관하여 진행된 연구는 인플루엔자 바이러스 복제 억제, 면역 활성 그리고 항균 활성에 관한 연구가 보고되었다(10).

Received 26 January 2016; Accepted 23 May 2016

Corresponding author: Namgil Kang, Nutriplan Co., Ltd., Paju, Gyeonggi 10935, Korea
E-mail: sales@nutriplan.co.kr, Phone: +82-70-7569-0071

게다가 굴에서 추출된 단백질은 human epithelial cells에서 산화적 스트레스에 대한 보호 효과와 rat 조직에서 glutathione과 glutathione S-transferase 활성 수준을 증가시킨다는 연구가 보고되었다(11,12). 하지만 굴의 알코올로 유도된 간 손상에 대한 보호 효과에 관한 연구는 거의 보고되어 있지 않다.

따라서 본 연구는 에탄올로 유도된 알코올성 간 손상 동물 모델에서 굴 열수 추출물의 간 보호 효과를 평가하고 항산화 활성에 대한 효과를 평가하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

시료의 추출 및 제조

굴 열수 추출물(CGW)은 원료인 생굴을 열수 추출 후 여과하여 감압 농축하였다. 굴 추출 농축액은 헬리코이드식 순간 멸균기로 살균(135°C, 15초)하여 분무 건조한 후 추출물로 사용하였으며, 헛개나무 열매 추출물(HDTW)은 (주)다원상사(Seoul, Korea)에서 분말 형태로 공급받아 사용하였다. 본 실험에 사용한 시약으로 reduced glutathione(GSH), glutathione peroxide(GPx), 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB), 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB), eosin Y solution, hematoxylin solution, anti- β -actin antibody는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, anti-CYP2E1 antibody는 Abcam (Cambridge, UK)으로부터 구입하여 사용하였다. 그 외 사용된 시약은 first grade 이상 등급을 사용하였다.

실험동물

4주령의 Wistar rat(male)을 (주)중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 구입하여 2주 동안 동물사육실의 환경 하에서 검역 및 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰한 후, 이상이 없는 개체를 선별하여 실험에 사용하였다. 본 실험의 환경은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20%, 환기횟수 10~15회/시간, 조명주기 12시간(8:00~20:00), 조도 150~300 Lux의 사육환경으로 설정된 동물사육실에서 AIN-76(Research Diet Co., New Brunswick, NJ, USA)과 음용수를 급여하여 사육하였으며, 순화 및 실험기간에 격리 사육을 하였다. 순화기간 중 이상이 발생한 개체와 정상적으로 체중이 증가하지 않은 개체를 제외한 후, 각 군 간 평균체중 및 표준편차가 균일하도록 군 분리를 하였다.

군 분리 및 시료처리

72마리의 건강한 rat을 총 6개의 실험군으로 분리하였다: i) control군(1 mL saline/d), ii) ethanol군(40% ethanol 5 g/kg b.w./d), iii) positive control군(40% ethanol 5 g/kg b.w./d+ 500 mg *Hovenia dulcis* Thunb fruit extract per kg b.w./d), iv) CGWL군(40% ethanol 5 g/kg b.w./d+ 50 mg *Crassostrea gigas* extract per kg b.w./d), v)

CGWM군(40% ethanol 5 g/kg b.w./d+ 200 mg *Crassostrea gigas* extract per kg b.w./d), vi) CGWH군(40% ethanol 5 g/kg b.w./d+ 800 mg *Crassostrea gigas* extract per kg b.w./d). 각각의 군에 실험물질 또는 에탄올을 6주간 투여하여 진행하였다. 투여 농도의 설정은 선행실험으로서 실험물질의 안전성을 동일 실험동물에 평가한 후 (data not shown), 안전범위 내에서 본 실험의 투여 농도를 설정하였다. 모든 실험동물은 혈청과 조직을 수집하기 위해 ethyl ether로 마취하여 희생하였으며, 동물의 사육은 천연 자원연구센터 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(승인번호 JINR2015-18).

체중 및 조직 무게 분석

모든 실험동물은 체중을 측정하였고 해부 후 수집된 간, 비장, 신장 조직의 무게를 측정하였으며 희생 전 마지막 몸무게 대비로 무게를 환산하였다.

혈청 내 AST, ALT, γ -GT 분석

혈액 샘플은 실온에 30분간 방치한 후 4°C, 3,000 rpm에 10분 동안 원심분리 하여 혈청만 분리하였다. 상층액에서 분리된 혈청은 실험 전까지 -70°C에 보관하였다. Alanine transferase(AST)와 alanine aminotransferase(ALT)의 분석은 Auto-serum analyzer(FUJI, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였으며, gamma glutamyltransferase(γ -GT)의 분석은 colorimetric assay kit(BioVision, San Francisco, CA, USA)을 이용하여 분석하였다.

간 조직의 항산화 활성 분석

항산화 활성 분석을 위하여 간 조직을 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)를 이용하여 균질화하였다. Glutathione reduced form(GSH)은 Akerboom과 Sies(13)의 방법을 이용하여 측정하였다. SOD 활성은 McCord와 Fridovich(14)의 방법에 따라 측정하였다. GPx 활성은 Paglia와 Valentine(15)의 방법에 따라 측정하였다. 또한, 지질과산화의 측정은 Draper와 Hadley(16)의 방법에 따라 thio-barbituric acid substance formation의 생성을 이용하여 측정하였다.

Western blot

간 조직을 액체질소를 이용하여 균질화한 후 lysis buffer(iNtRON Biotechnology Co., Seongnam, Korea)를 이용하여 단백질을 lysis 하였다. CYP2E1의 발현을 측정하기 위하여 같은 양의 단백질 샘플(10 μ g)을 취하여 8~12% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동 하고 nitrocellulose membranes(Bio-Rad Laboratories Inc., Berkeley, CA, USA)에 transfer 하였다. 1차 antibody는 CYP 2E1(1:2,000)을 사용하였으며 단백질량의 비교를 위해 β -actin(1:1,000)을 같이 사용하였다. 단백질 발현 정도를 측정하

기 위해 ImageQuant TM software(Amersham Biosciences/GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)를 이용하여 immunoreactive band를 관찰하였다.

간 조직 조직학적 분석

간 조직의 왼쪽 측면 로브를 분리하고 개별적으로 잘라낸 후 10% formalin에 24시간 동안 고정하여 paraffin에 embedding 후 3~4 μm 의 두께로 절단한 다음 hematoxylin and eosin(H&E) 염색을 진행하였다. 조직병리학적인 색전 profile들은 light microscope(Eclipse 80i, Nikon, Tokyo, Japan)를 이용하여 관찰하였다. 세포 내 20% 이상의 지질 침투를 보이는 간세포의 수 측정은 automated image analyzer(iSolution FL ver9.1, IMT I-solution Inc., Quebec, Canada)를 이용하여 측정하였으며 지방변성 비율(%/mm² of hepatic parenchyma)과 간세포 평균 직경(μm /hepatocyte)은 automated image analyzer를 이용하여 각각 측정하였다(17,18).

통계처리

각 군 간의 평균 차이에 대한 유의성 검정은 one-way ANOVA(analysis of variance)를 실시하고 군 간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 $P < 0.05$ 수준에서 사

후 검정을 하였으며, 그 결과를 mean \pm SD로 표시하였다.

결과 및 고찰

각 군 간의 체중 및 조직 무게 변화 비교

각 군 간의 최종 몸무게 및 조직 무게 비교에 대한 데이터는 Fig. 1에 나타내었다. 해부 전 마지막 날 몸무게는 군별로 유의적 차이를 보이지 않았다. 간 조직 무게의 경우 control군보다 모든 군에서 유의적으로 증가하는 결과를 나타내었고, 신장 조직의 무게는 control군보다 ethanol군, CGWM군, CGWH군에서 유의적으로 감소함을 나타내었으며, 비장 조직은 control군에 비해 CGWM군, CGWH군에서 유의적으로 감소함을 나타내었다.

굴 추출물의 혈청인자 수준에서의 간 손상 개선 효과

본 연구진은 에탄올로 유도된 간 손상 동물 모델에 대해 CGW의 간 손상 회복 효과를 측정하기 위해 혈청 인자들을 테스트한 결과를 나타내었다(Fig. 2). Fig. 2는 혈청 내에서 각 군 간의 ALT, AST, γ -GT의 수준을 표시하였다. ALT의 경우 control군(32.77 ± 7.34 U/L)과 비교하였을 때 ethanol군에서 유의적으로 증가하였으며, CGWL군(39.69 ± 12.32 U/L)에서만 ethanol군보다 유의적으로 감소함을 나타내었

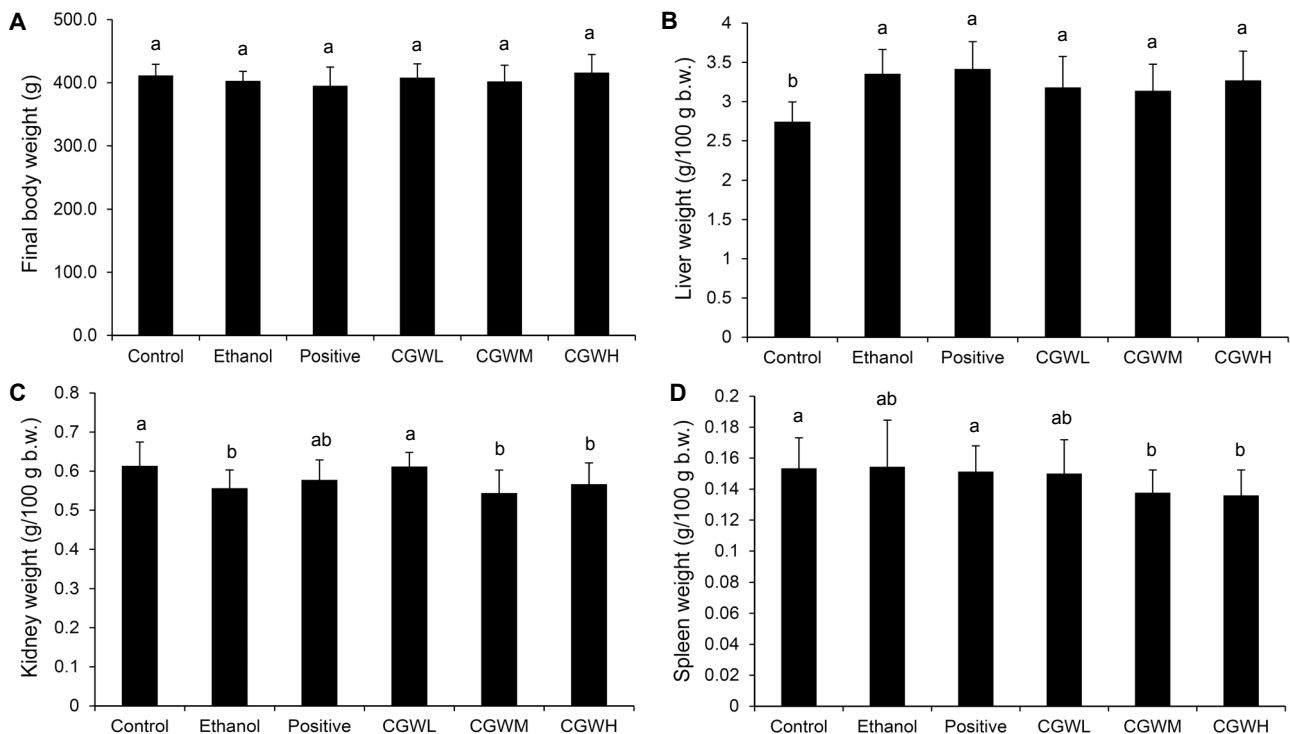


Fig. 1. Effects of extracts from the *Crassostrea gigas* on final body weight, liver weight, kidney weight, and spleen weight in the serum of rat. (A) Final body weight. (B) Liver weight. (C) Kidney weight. (D) Spleen weight. Data express the mean \pm SD. Different letters (a,b) above the bars are statistically different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). Control, 1 mL saline-administered group; Ethanol, 40% ethanol-administered group; Positive control, 40% ethanol plus 500 mg/kg b.w. of HDTW-administered group; CGWL, 40% ethanol plus 80 mg/kg b.w. of CGW-administered group; CGWM, 40% ethanol plus 200 mg/kg b.w. of CGW-administered group; CGWH, 40% ethanol plus 800 mg/kg b.w. of CGW-administered group.

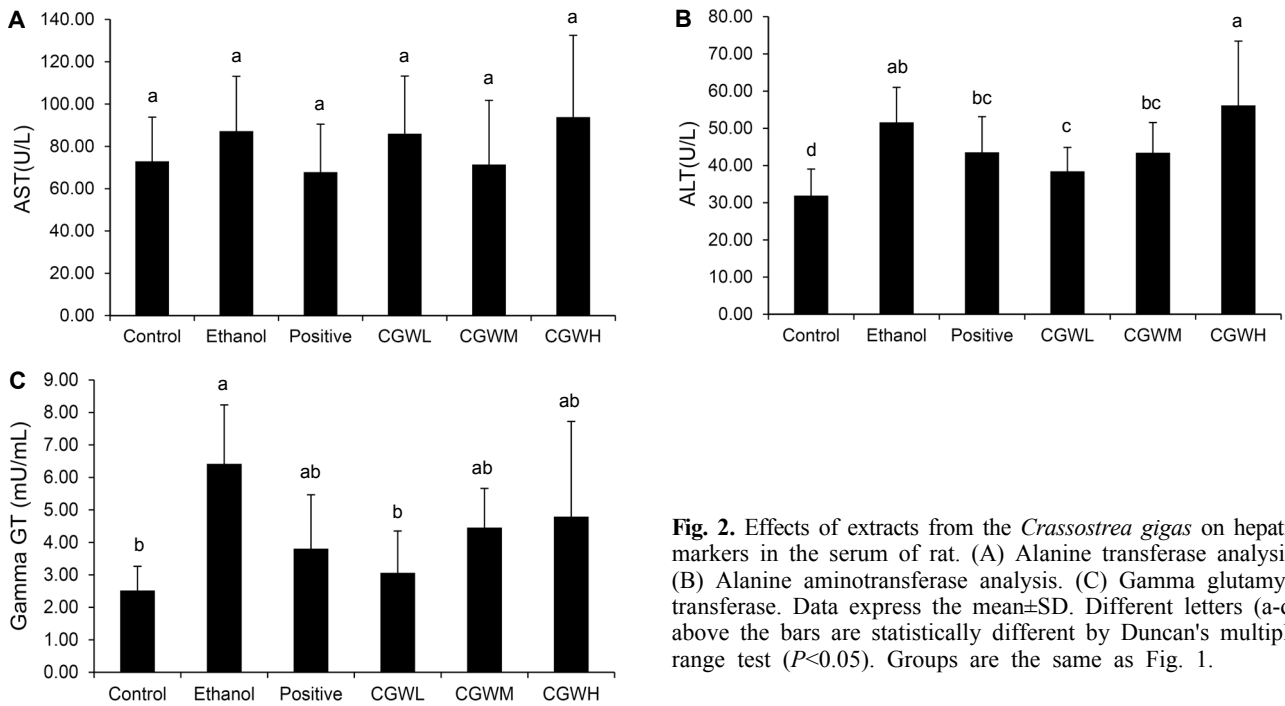


Fig. 2. Effects of extracts from the *Crassostrea gigas* on hepatic markers in the serum of rat. (A) Alanine transferase analysis. (B) Alanine aminotransferase analysis. (C) Gamma glutamyl-transferase. Data express the mean±SD. Different letters (a-d) above the bars are statistically different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). Groups are the same as Fig. 1.

다. 또한, 혈청 내 AST의 수준의 경우 모든 군 간의 유의적 차이를 나타내지 않았다. 혈청 AST 및 ALT 수치가 간 손상에 대한 생화학적 지표로 사용됐다. 혈청 AST와 ALT의 수준은 간 손상의 생화학적 인자로 사용됐다. 이는 독성 물질에 의한 간 손상이 진행됨에 따라 간세포 내에서 ALT, AST가 혈류로 유출되기 때문이다(19). 본 실험에서는 ALT의 수준은 CGWL군과 CGWM군에서 ALT의 수치가 유의적으로 회복됨을 나타내었지만, positive control군과 CGWH군에서는 유의적인 회복을 보지 않음을 나타내었다. γ -GT는 만성 알코올 섭취 또는 간담 질환에 대해 잘 알려진 대표적 생화학적 인자이다(20). γ -GT의 수준의 경우 control군 (2.52 ± 0.74 mU/mL)보다 ethanol군 (6.42 ± 1.81 mU/mL)에서 유의적으로 증가함을 나타내었으며 CGWL군 (3.06 ± 1.29 mU/mL)에서 만 그 수준이 유의적으로 감소함을 나타내었다. 이는 CGWL 농도의 처리가 혈액지표인 ALT 및 γ -GT의 수준을 감소시켜 간 손상을 유의적으로 감소시켜 주는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. γ -GT 수준의 경우

CGWL군에서 고농도군보다 더 나은 효과를 보이는 것은 50 mg/g b.w. 농도에서 간 보호에 대한 최대 활성을 보이고 그 후 활성이 더는 증가하지 않는 것으로 생각된다. 선행 실험으로서 1,000 mg/kg b.w.까지 안전성 평가를 수행하였을 때 본 실험의 설정 농도들에서 동일 실험동물에 대한 안전성을 확인하였으며(data not shown), 저농도 시료군보다 고농도 시료군에서의 활성 수준의 정체 및 감소 현상은 시료 자체의 간 독성에 의한 반감 효과는 아닌 것으로 생각한다. 고농도 실험군에서의 해당 현상에 대해 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

굴 추출물의 조직병리학적 형태에서의 간 손상 개선 효과

에탄올로 유도된 지방간의 조직검사를 한 결과를 Table 1과 Fig. 3에 나타내었다. 지방변성 부위 비율은 control군 ($2.85 \pm 0.95\% / \text{mm}^2$)에 비해 ethanol군 ($75.98 \pm 5.71\% / \text{mm}^2$)에서 현저하게 증가함을 나타내었다. 반면 positive control, CGWL, CGWM, CGWH 군에서 지방변성의 정도가 각

Table 1. Effects of extracts from the *Crassostrea gigas* on histomorphometrical analysis in the liver tissue of rat

Groups	Percentages of regions (%/mm ² of hepatic parenchyma)	Numbers of fatty changed hepatocytes (cells/1,000 hepatocytes)	Mean hepatocyte diameters ($\mu\text{m}/\text{hepatocyte}$)
Control	2.85 ± 0.95^e	29.25 ± 10.51^e	16.32 ± 0.89^d
Ethanol	75.98 ± 5.71^a	740.13 ± 71.10^a	27.36 ± 1.69^a
Positive	58.87 ± 2.57^b	591.00 ± 22.68^b	19.93 ± 1.20^b
CGWL	9.63 ± 2.57^d	95.75 ± 24.83^d	18.52 ± 0.88^c
CGWM	29.84 ± 12.00^c	303.25 ± 126.13^c	19.34 ± 1.44^{bc}
CGWH	29.63 ± 11.11^c	281.00 ± 107.61^c	19.11 ± 1.41^{bc}

Data express the mean±SD. Different letters (a-e) within a column are statistically different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). Groups are the same as Fig. 1.

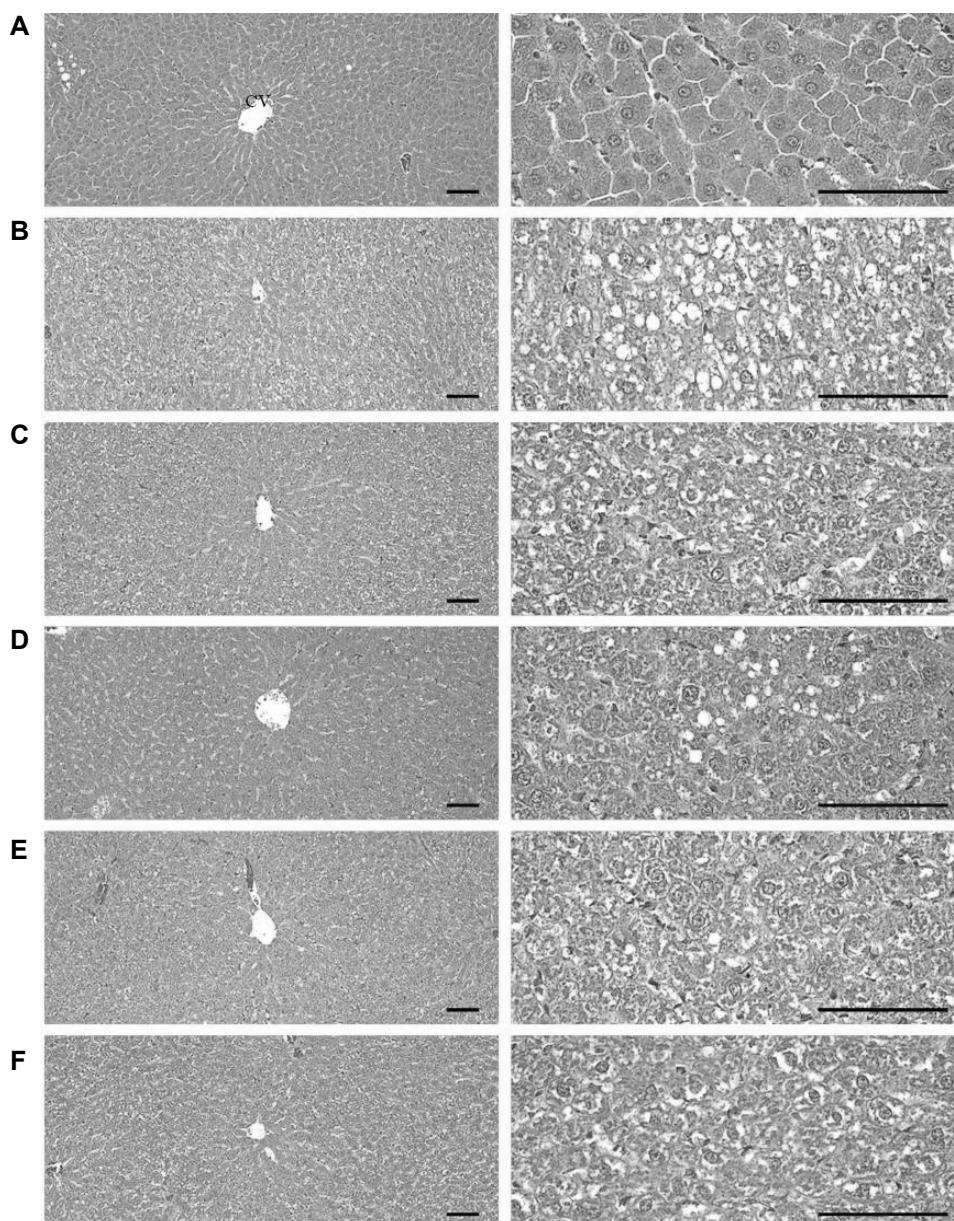


Fig. 3. The representative histopathological profiles of the liver tissue. (A) Control group, (B) Ethanol group, (C) Positive control group, (D) CGWL group, (E) CGWM group, (F) CGWH group. Groups are the same as Fig. 1.

각 ethanol군보다 유의적으로 감소함을 나타내었다($P < 0.05$). 지방 변성 간세포 수의 경우 control군(29.25 ± 10.51 cells/1,000 hepatocytes)에 비해 ethanol군(740.13 ± 71.10 cells/1,000 hepatocytes)에서 유의적으로 증가함을 나타내었지만 positive control, CGWL, CGWM, CGWH 군에서 각각 ethanol군보다 유의적으로 감소함을 나타내었다($P < 0.05$). 또한, 간세포 평균 직경의 크기에서도 ethanol군보다 positive control, CGWL, CGWM, CGWH 군에서 유의적으로 감소함을 나타내었다($P < 0.05$). 알코올의 섭취는 지방 산화를 저해하고 간 내에 지방형성을 촉진한 것으로 알려져 있으며(21,22), 이는 알코올성 지방간으로 이어질 수 있다(23). 간 조직병리학적 형태를 조사한 결과를 종합해 본 결과

positive control군과 실험물질 처리군들 중 CGWL군에서 CGWM군과 CGWH군에 비해 높은 알코올성 지방병증에 대한 간 보호 효과를 보였다. CGWL군에서 보다 고농도군인 CGWM군과 CGWH군보다 더 좋은 활성을 보이는 이유는 50 mg/kg b.w.에서 최대 활성을 나타내고 더 높은 농도에서는 활성의 수렴 상태를 나타내는 것으로 판단된다.

굴 추출물의 간 조직 내 항산화 효과 및 MDA 수준 개선 효과

간 조직 내에서 SOD, GPx, GSH의 활성과 MDA 수준에 대한 결과는 Table 2에 나타내었다. SOD의 활성은 ethanol군(174.48 ± 12.02 U/mg protein)에서 control군(220.35 ± 9.95 U/mg protein)보다 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$).

Table 2. Effects of extracts from the *Crassostrea gigas* on hepatic antioxidant activities and MDA levels

	SOD (U/mg protein)	GPx (U/mg protein)	GSH ($\mu\text{mol/mg protein}$)	MDA ($\mu\text{mol/mg protein}$)
Control	220.35 \pm 9.95 ^a	43.25 \pm 3.69 ^a	9.65 \pm 2.10 ^a	22.61 \pm 1.45 ^c
Ethanol	174.48 \pm 12.02 ^c	33.09 \pm 3.11 ^c	4.89 \pm 1.78 ^c	41.26 \pm 4.83 ^a
Positive	205.23 \pm 16.99 ^b	39.00 \pm 3.13 ^b	6.75 \pm 1.05 ^b	31.25 \pm 3.11 ^b
CGWL	203.42 \pm 9.23 ^b	41.05 \pm 2.21 ^a	7.80 \pm 1.79 ^{ab}	23.71 \pm 2.81 ^{bc}
CGWM	201.23 \pm 8.86 ^b	40.23 \pm 4.91 ^a	7.42 \pm 1.29 ^b	29.28 \pm 3.23 ^b
CGWH	207.76 \pm 4.78 ^b	38.73 \pm 3.33 ^b	7.02 \pm 1.37 ^b	25.21 \pm 2.34 ^b

Data express the mean \pm SD. Different letters (a-c) within a column are statistically different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). Groups are the same as Fig. 1.

하지만 positive control군과 CGW군에서 활성의 감소가 유의적으로 억제되었다(positive control 205.23 \pm 16.99 U/mg protein, CGWL 203.42 \pm 9.23 U/mg protein, CGWM 201.23 \pm 8.86 U/mg protein, CGWH 207.76 \pm 4.78 U/mg protein). GPx 항산화 활성 또한 SOD 활성과 유사하게 ethanol군과 비교하여 positive control군 및 CGW군에서 유의적($P<0.05$)으로 활성이 증가하였다. GSH 활성은 ethanol군(4.89 \pm 1.78 $\mu\text{mole/mg protein}$)에서 control군보다 유의적($P<0.05$)으로 감소하였으나 CGW군(CGWL 7.80 \pm 1.79 $\mu\text{mole/mg protein}$, CGWM 7.42 \pm 1.29 $\mu\text{mole/mg protein}$, CGWH 7.02 \pm 1.37 $\mu\text{mole/mg protein}$)에서 유의적($P<0.05$)으로 회복되었다. MDA는 지질과산화의 최종 산물이다. MDA의 수준은 control군(22.61 \pm 1.45 $\mu\text{mole/mg}$)에 비해 ethanol군(41.26 \pm 4.83 $\mu\text{mole/mg}$)에서 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). 에탄올 투여 때문에 증가한 MDA의 수준은 positive control군과 CGW군에서 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 간세포 내 GSH는 ubiquitous intracellular peptide로서 항산화 작용, 세포 증식 조절, ROS와 라디칼에 의한 산화적 손상에 대한 세포 방어 작용 등의 다양한 기능을 한다(24). 에탄올 투여에 따라 GSH의 수준은 유의적($P<0.05$)으로 감소하였으나 CGW를 투여함에 따라 감소된 GSH가 유의적($P<0.05$)으로 회복되었다. 또한, SOD와 GPx의 수준도 ethanol군보다 유의적($P<0.05$)으로 증가하였다. 따라서 CGW의 처리는 에탄올 투여에 대해 항산화 효소 활성의 감소를 방지하여 항산화 방어 시스템을 회복시키는 것을 확인할 수 있었다.

굴 추출물의 간 조직 내 CYP2E1의 발현에 대한 효과

굴 추출물의 투여에 따른 간 조직 내 CYP2E1 단백질의 발현 효과를 알아보기 위해 western blot을 이용하였다. CYP2E1은 에탄올이 아세트알데하이드로 산화시키고 동시에 많은 종류의 산화물들이 활성 간 독성 대사물로 전환되는 것을 활성화한다(25). 또한, CYP2E1은 산화과정 동안 O₂와 H₂O₂를 생산한다(26). 각 군 간의 간 조직 내 CYP2E1의 발현 정도는 Fig. 4에 나타내었다. 에탄올의 투여에 따라 CYP2E1의 발현은 control군보다 유의적으로 2.5배 증가하였다($P<0.05$). 그러나 CGW군은 ethanol군보다 발현량이 유의적으로 감소하였다($P<0.05$).

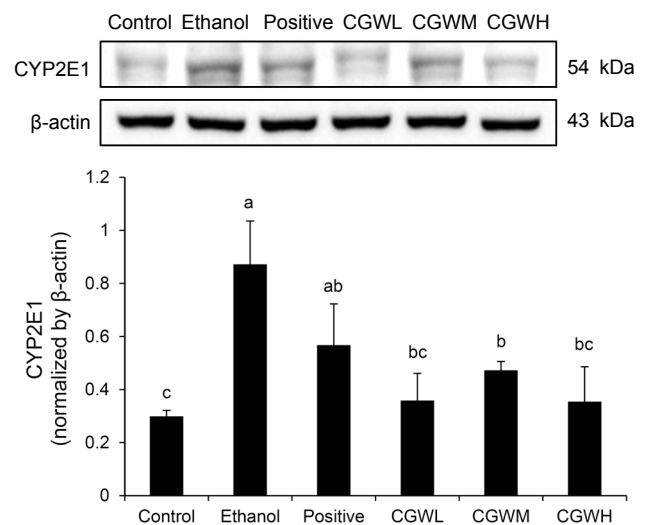


Fig. 4. Effects of extracts from the *Crassostrea gigas* on expression of CYP2E1 in liver tissue. Data express the mean \pm SD. Different letters (a-c) above the bars are statistically different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). Groups are the same as Fig. 1.

요 약

본 연구는 에탄올로 유도한 알코올성 지방간 동물모델에서 굴 열수 추출물의 알코올성 간 손상 개선 효과를 평가하기 위해 수행되었다. 6주령의 SD rat(male)을 총 6개 군으로 분리하였으며, 양성대조군으로 헛개나무 열매 추출물(500 mg/kg b.w.)을 처리하였다. 6주 동안 하루 간격으로 CGW를 50, 200, 800 mg/kg b.w. 농도로 경구 투여하였으며, control군을 제외한 나머지군은 40% ethanol 5 g/kg b.w.를 6주간 투여하였다. 43일째 실험동물을 희생시켜 혈액 분석 및 간 조직의 항산화 효과 분석을 통해 에탄올로 유도한 동물모델에서 굴 열수 추출물의 알코올성 간 손상 회복 효과를 확인한 결과, 에탄올에 의해 증가한 ALT와 γ -GT의 수준이 CGW를 투여함으로써 유의적으로 감소하였으며, 항산화 효소 활성이 증가한 것을 확인할 수 있었다. 에탄올에 의해 손상된 간 조직의 손상 정도를 평가하기 위해 수행한 조직병리학적 검사에서는 에탄올의 투여로 증가한 지방변성 비율 및 간세포 수와 같은 인자들이 굴 열수 추출물의 투여로 유의적으로 회복된 것을 확인하였다. 또한, 에탄올에 의해 증

가한 CYP2E1의 발현이 굴 열수 추출물의 투여로 유의적으로 감소하였다. 이러한 연구 결과들로 보았을 때 본 실험에서 굴 추출물의 다당류 및 폴리페놀의 항산화 작용으로 알코올로 유도된 간 손상을 억제할 수 있음을 예상할 수도 있지만, 이후 추가적인 연구로 다른 활성성분의 규명과 관련 활성 기작을 탐구하고자 한다. 본 연구진은 이와 같은 결과를 바탕으로 굴 열수 추출물이 알코올성 지방간 동물모델에서 항산화 방어시스템의 강화를 통해 간 손상을 회복시킴을 확인할 수 있었고, 이러한 연구 성과들로 굴 추출물이 알코올성 간 손상 개선에 있어 효과적인 대안으로서 더욱 더 많은 분야에서 연구되기를 바라는 바이다.

감사의 글

본 연구는 (주)비젠화성의 지원으로 수행된 연구 결과입니다.

REFERENCES

- Altamirano J, Bataller R. 2011. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new targets for therapy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 8: 491-501.
- Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. 2007. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci* 32: 453-568.
- Ceni E, Mello T, Galli A. 2004. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World J Gastroenterol* 20: 17756-17772.
- Wu YS, Salmela KS, Lieber CS. 1998. Microsomal acetaldehyde oxidation is negligible in the presence of ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 22: 1165-1169.
- Cederbaum AI. 2006. CYP2E1—biochemical and toxicological aspects and role in alcohol-induced liver injury. *Mt Sinai J Med* 73: 657-672.
- Jones DP. 2006. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 8: 1865-1879.
- Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver. *Gastroenterology* 106: 1085-1105.
- Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. 2010. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World J Gastroenterol* 16: 6035-6043.
- Yamaura K, Takahashi KG, Suzuki T. 2008. Identification and tissue expression analysis of C-type lectin and galectin in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 149: 168-175.
- Shi X, Ma H, Tong C, Qu M, Jin Q, Li W. 2015. Hepatoprotective effect of a polysaccharide from *Crassostrea gigas* on acute and chronic models of liver injury. *Int J Biol Macromol* 78: 142-148.
- Gaté L, Paul J, Ba GN, Tew KD, Tapiero H. 1999. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Bio-med Pharmacother* 53: 169-180.
- Gaté L, Schultz M, Walsh E, Dhalluin S, Nguyen Ba G, Tapiero H, Tew KD. 1998. Impact of dietary supplement of *Crassostrea gigas* extract (JCOE) on glutathione levels and glutathione S-transferase activity in rat tissues. *In Vivo* 12: 299-303.
- Akerboom TP, Sies H. 1981. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol* 77: 373-382.
- McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 244: 6049-6055.
- Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169.
- Draper HH, Hadley M. 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 186: 421-431.
- Jung YM, Lee SH, Lee DS, You MJ, Chung IK, Cheon WH, Kwon YS, Lee YJ, Ku SK. 2011. Fermented garlic protects diabetic, obese mice when fed a high-fat diet by antioxidant effects. *Nutr Res* 31: 387-396.
- Han JY, Lee S, Yang JH, Kim S, Sim J, Kim MG, Jeong TC, Ku SK, Cho IJ, Ki SH. 2015. Korean Red Ginseng attenuates ethanol-induced steatosis and oxidative stress via AMPK/Sirt1 activation. *J Ginseng Res* 39: 105-115.
- Bailey SM, Cunningham CC. 2002. Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcoholic liver disease. *Free Radical Biol Med* 32: 11-16.
- Whitfield JB. 2001. Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci* 38: 263-355.
- Donohue TM Jr. 2007. Alcohol-induced steatosis in liver cells. *World J Gastroenterol* 13: 4974-4978.
- You M, Crabb DW. 2004. Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver: role of sterol regulatory element-binding proteins. *Alcohol* 34: 39-43.
- Chen YH, Yang CM, Chang SP, Hu ML. 2009. C/EBP beta and C/EBP delta expression is elevated in the early phase of ethanol-induced hepatosteatosis in mice. *Acta Pharmacol Sin* 30: 1138-1143.
- Han D, Hanawa N, Saberi B, Kaplowitz N. 2006. Mechanisms of liver injury. III. Role of glutathione redox status in liver injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291: G1-G7.
- Lieber CS. 1997. Cytochrome P-450E1: its physiological and pathological role. *Physiol Rev* 77: 512-544.
- Gorsky LD, Koop DR, Coon MJ. 1984. On the stoichiometry of the oxidase and monooxygenase reactions catalyzed by liver microsomal cytochrome P-450. Products of oxygen reduction. *J Biol Chem* 259: 6812-6817.