



Original Article / 원저

## 對金飲子가 흰쥐의 만성 알콜성 근위축에 미치는 영향

김범회\*

동의대학교 한의과대학 한의학과, 동의대학교 한의학연구소

## The Effects of *Daekumeumja* on Alcohol-induced Muscle Atrophy in Rats

Bum Hoi Kim\*

Department of Anatomy, College of Korean Medicine and Research Institute of Oriental Medicine, Dong-Eui University

### ABSTRACT

Chronic alcoholic myopathy is one of the most common skeletal muscle disorders. It is characterized by a reduction in the entire skeletal musculature, skeletal muscle weakness, and difficulties in gait. Patients with alcoholic hepatitis and cirrhosis have severe muscle loss that contributes to worsening outcome. Although the myopathy selectively affects Type II (fast twitch, glycolytic, anaerobic) skeletal muscle fibers, total skeletal musculature is reduced. The severity of the muscle atrophy is proportional to the duration and amount of alcohol consumed and leads to decreased muscle strength. The mechanisms for the myopathy are generally unknown but it is not due to overt nutritional deficiency, nor due to either neuropathy or severe liver disease. Skeletal muscle mass and protein content are maintained by a balance between protein synthesis and breakdown and in vivo animal models studies have shown that ethanol inhibits skeletal muscle protein synthesis.

*Daekumeumja* is a traditional Korean medicine that is widely employed to treat various alcohol-induced diseases. Muscle diseases are often related to liver diseases and conditions. The main objective of this study was to assess that *Daekumeumja* extract could have protective effect against alcoholic myopathy in a Sprague-Dawley rat model. Rats were orally given 25% ethanol (5ml/kg, body weight) for 8 weeks. After 30 minutes, rats were administrated with *Daekumeumja* extract. Controls were similarly administrated with the vehicle alone. The weights of gastrocnemius, soleus and plantaris muscles were assessed and the morphologic changes of gastrocnemius and

plantaris muscles were also assessed by hematoxylin and eosin staining. In results, The muscles from ethanol treated rats displayed a significant reduction in muscle weight and average cross section area compared to Normal group. *Daekumeumja* extract treated group showed increased muscle weight and muscle fiber compared to the ethanol treated group. It was concluded that *Daekumeumja* extract showed ameliorating effects on chronic alcohol myopathy in skeletal muscle.

**Key words** : *Daekumeumja*, muscle atrophy, gastrocnemius, soleus, plantaris

## I. 서론

알콜중독 환자에게서는 일반적으로 간, 췌장, 뇌, 말초신경 손상이 나타날 뿐만 아니라, 골격근 위축의 증상이 자주 동반되게 된다<sup>1)</sup>. 알콜은 근육에서 두 가지 방식으로 생화학적, 기능적 변화를 유발시키는데<sup>2,3)</sup>, 급성 알콜 손상에서는 RNA와 단백질함량의 변화없이 단순히 단백질합성의 분획률(fractional rate)을 감소시킴으로써 근육의 변화를 유발시킨다<sup>4)</sup>. 반면에, 만성적인 알콜 손상에서는 단백질 합성에는 뚜렷한 변화 없이 단백질과 RNA 함량 자체를 감소시키는 것으로 밝혀졌다<sup>5)</sup>. 이러한 근육에서의 단백질 감소는 번역개시인자(translation initiation factor)의 활성변화와 관련이 있는 것으로 알려졌는데, 이러한 변화에 간과 근육조직은 각각 다르게 반응하게 되어, 근육에 있어서는 알콜성 근질환(alcoholic myopathy)이라 하는 독립적인 병리상태를 유발하게 된다<sup>6)</sup>. 이러한 병리적 상태의 원인에 대해서 완전히 규명되지는 않았으나, 알콜이 대사되는 과정에서 활성산소(reactive oxygen species)와 자유라디칼(free radical)이 과도하게 생성되고 근육에서 산화적 스트레스(oxidative stress)와 지질과산화(lipid peroxidation) 및 막손상(membrane damage)이 유발되기 때문인 것으로 추측되고 있다<sup>7)</sup>.

일반적으로 근위축(myopathy)이라 함은 근육 안에서의 단백질함량의 감소가 원인이 되는 근섬유 직경의 감소를 말한다<sup>8)</sup>. 하지만, 근섬유 직경의 감소는 반드시 단백질 함량의 감소에 의해서만 유발되는 것이 아니고, 근육 내 수분량의 감소 등에 의해서도 발생할 수 있으므로 정확한 측정을 위해서

는 근섬유의 변화뿐 아니라 근육무게의 변화도 관찰해야만 한다<sup>9)</sup>. 이러한 근육에서의 변화 때문에 만성 알콜중독에서는 골격근의 약화와 근육량 감소가 동반되는 보행장애가 특징적으로 나타나는데, 주로 빠른연축섬유(fast-twitch fiber)가 많이 분포된 근육에 영향을 미친다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다<sup>10)</sup>.

對金飮子は <太平惠民和劑局方>에 최초로 수록된 처방으로 “諸病無不愈者 常腹 固元益氣 健脾進食 和胃祛痰 自然營衛調暢”이라고 하여<sup>11)</sup> 다양한 만성 질환에 응용이 가능한 처방으로 알려져 있는데, 주로 알콜로 인한 다양한 질환에 사용되어 왔다<sup>12)</sup>. 對金飮子에 대한 실험적 연구로는 알콜투여로 유발된 흰쥐의 간지방 병증과 면역억제에 대한 예방효과<sup>12)</sup>, 에탄올과 스트레스로 유발된 생쥐의 공장 점막 손상에 대한 방어 효과<sup>13)</sup>, alcohol, indomethacin 및 burn-stress로 유발된 생쥐의 위 점막 손상에 대한 보호효과<sup>14)</sup> 등이 알려졌다. 뿐만 아니라 對金飮子 약침이 알코올 독성 흰쥐의 해마에서 c-Fos 발현에 미치는 영향<sup>15)</sup>과 신경세포생성과 NOS 발현에 미치는 영향<sup>16)</sup>이 관찰되어 알코올 중독으로 유발된 학습 능력과 기억 능력의 저하를 방어하는데 효과가 있음을 밝혀졌다. 그 외에도 加味對金飮子が 알코올로 인한 흰쥐의 간손상에 방어효과<sup>17)</sup>가 있음을 밝혀졌으며 임상적으로도 加味對金飮子 處方を 사용하여 알콜성 간염환자를 치험한 예들이 보고되었다<sup>18)</sup>. 이처럼 對金飮子は 알콜에 의한 간, 위장 손상에 유의한 효과가 있음이 입증되었으나, 對金飮子が 알콜성 근질환에 미치는 영향에 대해서는 아직까지 연구된 바가 없는 바, 본 연구에서는 對金飮子 추출물이 알콜에 의해 유도된 골격근 손상에 미치는 영향을 알

\*Corresponding author : Bum Hoi Kim, Department of Korean Medicine, Dong-eui University, 52-57, Yangjeong-ro, Busanjin-gu, Busan, 47227, Republic of Korea.

Tel : +82-51-850-7411, Fax : +82-51-850-7435, e-mail : bume@deu.ac.kr

• Received : July 25, 2016 / Revised : August 10, 2016 / Accepted : August 12, 2016

아보기 위하여 흰쥐에 8주간 에탄올을 경구 투여하여 만성적인 근육위축을 유발하고 같은 기간 동안 對金飮子 물추출물을 투여한 후, 흰쥐의 체중과 간 기능지표, 종아리 근육의 무게 및 근섬유 단면적 변화를 관찰하였고, 이에 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

## II. 실험방법

### 1. 실험동물

본 연구에서는 (주)샘타코 (경기도, 대한민국)에서 구입한 10주령, 약 250g 전후의 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐 30마리를 사용하였다. 흰쥐는 온도 23~24℃, 습도 40~60%, 조명 12시간 명/암이 자동적으로 유지되는 사육실에서 무균 음수와 사료를 자유롭게 공급하여 사육하고, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

### 2. 약물의 제조와 실험군의 분리

본 연구에 사용된 對金飮子(*Daekumeumja*: DKEJ)는 동의대학교 한방병원을 통해 구입하였으며, 약물 조성은 Table 1과 같다. 對金飮子 5첩 분량인 102g을 증류수 2 L와 함께 round flask에 담고 냉각기를 부착한 전탕기에서 2시간 동안 전탕한 다음 여과액을 감압농축하여 동결건조시켜 물추출액기스 32.7g을 얻었다. 투여량은 흰쥐 체중 100g당 28.0mg을 음용수에 녹여 경구 투여하였다.

**Table 1.** Herbal Composition of *Daekumeumja*

Herb name	Scientific name	weight(g)
진피	<i>Citri Pericapium</i>	12.0
후박	<i>Magnoliae Cortex</i>	2.8
창출	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	2.8
감초	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2.8
Total amount		20.4

실험군의 분리는 흰쥐를 무작위로 10마리씩 나누어 Normal, EtOH, EtOH+DKEJ 세 군으로 분리하였으며, 본 연구의 모든 과정은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 규정 및 방침에 따라 진행되었다(승인번호: R2016-010).

### 3. 만성 알콜성 손상의 유발과 약물투여

EtOH군, EtOH+DKEJ군에서의 만성 알콜성 간손상은 25%의 EtOH(Sigma-Aldrich Chem. Co., St.

Louis, Missouri, USA) 용액을 5ml/kg, bw/day의 수준으로<sup>19)</sup>, 8주간 매일 오전 일정한 시간에 경구 투여함으로써 유발시켰다. Normal군에는 동일량의 생리식염수를 투여하였다. EtOH 투여 후 30분 후에 EtOH+DKEJ군에는 對金飮子 추출물을, EtOH군에는 동일량의 생리식염수를 경구 투여하였다. 물과 사료는 모든 군에서 전체 실험기간 동안 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

### 4. 체중 측정

실험동물의 체중은 전체 실험기간동안 매일 오전 측정하였으며, 실험 마지막 날에는 부검 직전에 체중을 측정하였다.

### 5. 혈액생화학적 검사

실험동물을 안락사 시킨 후 심장 혹은 하대정맥에서 혈액을 채혈하였다. 혈액을 냉장고에 2시간정도 방치한 후 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 채취한 혈청 내 aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT) 등의 수치를 측정하였다.

### 6. 근육 중량의 변화

실험동물의 오른쪽 종아리 부위로부터 gastrocnemius, soleus 및 plantaris를 분리 채취하여 중량을 측정하였다. 근육의 무게는 각 개체의 체중에 따른 차이를 줄이기 위하여 실험동물의 체중을 측정된 다음 체중 100g당 근육 무게로 환산하였다. 이후 gastrocnemius 와 plantaris 근육은 중앙부분(mid-belly)에서 약 3~5mm 정도 두께로 절편하여 -50℃의 dry ice-isophentan 용액으로 동결시키고 -80℃에서 보관하였다.

### 7. 해부조직학적 관찰

동결보관된 gastrocnemius와 plantaris의 중앙부분을 8μm 두께로 냉동절편하여 H&E 염색법을 시행 후, 현미경 하에서 관찰하고 영상분석용 Axiovision LE software (Carl Zeiss Vision, ver 4.2 USA)를 이용하여 근육 단면의 면적(cross section area)을 측정하였다<sup>20)</sup>. 각 실험군의 근섬유의 평균 면적은 각각의 근육조직의 최소 30개 이상의 근섬유를 관찰함으로써 측정하였다.

## 8. 통계학적 분석

측정된 모든 자료는 ANOVA 분석을 통해 유의성 여부를 확인 후, student's t-test를 사용하여  $P < 0.05$  및  $P < 0.01$ 의 유의수준으로 검증하였다. 모든 값의 수치는 평균±표준오차(mean±standard error)로 표시하였다.

## III. 결과

### 1. 체중의 변화

실험 첫날 각 실험동물군에 약물을 주입하기 전 체중은 Normal군, EtOH군, EtOH+DKEJ군에서 각각  $246.4 \pm 1.8g$ ,  $247.8 \pm 2.2g$ ,  $246.5 \pm 1.7g$ 이었으며, 4주후에는 각각  $417.0 \pm 9.9g$ ,  $381.7 \pm 7.5g$ ,  $396. \pm 9.8g$ 로 측정되어 EtOH군과 EtOH+DKEJ군에서 모두 Normal군에 비해 체중의 증가량이 현저히 적은 편이었으며 EtOH군에서는 Normal군과 비교하여 유의성 있는 감소가 나타났다.

8주 후 최종적으로 측정된 체중은 Normal군에서  $524.3 \pm 7.3g$ , EtOH군에서  $459.4 \pm 5.1g$ , EtOH+DKEJ군에서는  $480.5 \pm 8.3g$ 으로 측정되어, 4주 때와 마찬가지로 EtOH군과 EtOH+DKEJ군에서 Normal군에 비해 체중의 증가량이 적은 편이었으며, EtOH군에서는 Normal군과 비교하여 유의성 있는 감소가 나타났다. EtOH+DKEJ군에서의 체중 증가량이 EtOH군 보다는 높은 편이었는데, 유의성 있는 변화를 나타내었다.

**Table 2.** Effects of *Daekumeumja* Extract on Body Weight in rats

Group	0 week	4 week	8 week
Normal	$246.4 \pm 1.8$	$417.0 \pm 9.9$	$524.3 \pm 7.3$
EtOH	$247.8 \pm 2.2$	$381.7 \pm 7.5^{##}$	$459.4 \pm 5.1^{##}$
EtOH+DKEJ	$246.5 \pm 1.7$	$396.6 \pm 9.8$	$480.5 \pm 8.3^*$

Data shown as mean±S.E. were analysed by the Student's t-test.

(##:  $P < 0.01$  compared with Normal group. \*:  $P < 0.05$  compared with EtOH group.)

### 2. 간기능에 미치는 영향

8주간의 알콜투여 후 혈청 AST값의 변화를 살펴보면 Normal군에서  $88.6 \pm 5.8IU/L$ , EtOH군에서  $128.9 \pm 11.8IU/L$ 로 측정되어, EtOH군에서 Normal군에 비해 유의성 있는 상승이 나타났다.

EtOH+DKEJ군에서는  $98.8 \pm 8.1IU/L$ 로 EtOH군에 비해 감소되었으나, 유의성 있는 변화는 아니었다.

ALT의 변화에서는 Normal군, EtOH군, EtOH+DKEJ군에서 각각  $50.3 \pm 4.6IU/L$ ,  $65.7 \pm 3.8IU/L$ ,  $53.6 \pm 2.9IU/L$ 로 측정되었다. AST와 마찬가지로 EtOH군에서 Normal군에 비해 유의성 있는 증가가 나타났으며, EtOH+DKEJ군에서는 EtOH군에 비해 유의성 있는 감소가 관찰되었다.

**Table 3.** Blood Serum Chemistry Values in Rats of Normal, EtOH and EtOH+DKEJ Groups

Group	Normal	EtOH	EtOH+DKEJ
AST(GOT) (IU/L)	$88.6 \pm 5.8$	$128.9 \pm 11.8^{\#}$	$98.8 \pm 8.1$
ALT(GPT) (IU/L)	$50.3 \pm 4.6$	$65.7 \pm 3.8^{\#}$	$53.6 \pm 2.9^*$

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase. Data shown as mean±S.E. were analysed by the Student's t-test.

(#:  $P < 0.05$  compared with Normal group. \*:  $P < 0.05$  compared with EtOH group.)

### 3. 근육 중량의 변화

8주의 실험기간 후 오른쪽 종아리 부위 세 종류의 근육의 무게를 비교한 결과, gastrocnemius의 경우 Normal군, EtOH군, EtOH+DKEJ군에서 각각  $566.4 \pm 5.7mg/100g$ ,  $543.3 \pm 4.9mg/100g$ ,  $561.4 \pm 6.5mg/100g$ 로 측정되었다. EtOH군에이 Normal군에 비해 유의성 있는 뚜렷한 감소를 나타내었다. 반면, EtOH+DKEJ군에서도 EtOH군에 비해 근육 무게의 감소가 나타났으나, 감소폭이 적었으며 통계학적으로 EtOH군과의 비교에서도 유의성 있는 증가를 나타냈다.

soleus의 경우에는 Normal군, EtOH군, EtOH+DKEJ군에서 각각  $60.3 \pm 2.7mg/100g$ ,  $53.6 \pm 1.4mg/100g$ ,  $55.9 \pm 1.9mg/100g$ 로 측정되어 gastrocnemius의 경우와 마찬가지로 EtOH군에서 Normal군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다. EtOH+DKEJ군에서는 Normal군에 비해 감소폭이 적은 편이었으나 유의성 있는 변화는 아니었다.

plantaris의 무게 변화에서는 Normal군에서  $123.9 \pm 2.7mg/100g$ 로 측정되었고, EtOH군에서는  $112.3 \pm 1.9mg/100g$ 로 EtOH군에서 Normal군에 비해 유의성 있는 뚜렷한 감소를 확인할 수 있었다. EtOH+DKEJ군에서는  $119.0 \pm 2.3mg/100g$ 으로 EtOH군에 비해 Normal군보다 낮은 감소를 나타내었으

며, EtOH군과의 비교에서도 유의성 있는 증가가 나타났다.

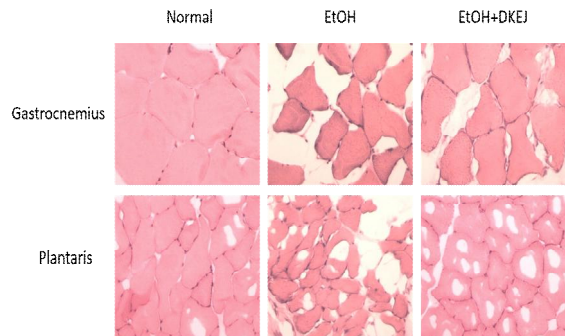
**Table 4.** Muscle Weights of Gastrocnemius(GT), Soleus(SOL), Plantaris(PLT) in Rats of Normal, EtOH and EtOH+DKEJ Groups (mg/100g body weight)

Group	Normal	EtOH	EtOH+DKEJ
GT	566.4±5.7	543.3±4.9 <sup>##</sup>	561.4±6.5 <sup>*</sup>
SOL	60.3±2.7	53.6±1.4 <sup>#</sup>	55.9±1.9
PLT	123.9±2.7	112.3±1.9 <sup>##</sup>	119.0±2.3 <sup>*</sup>

Data shown as mean±S.E. were analysed by the Student's t-test.  
 (##: P<0.01 compared with Normal group. #: P<0.05 compared with Normal group. \*: P<0.05 compared with EtOH group.)

#### 4. Gastrocnemius와 plantaris 근육의 근섬유 단면적 변화

Gastrocnemius와 plantaris를 8 $\mu$ m 두께로 냉동 절편하여 H&E 염색법을 시행 후, 현미경으로 관찰한 결과 EtOH군에서 Normal군에 비해 근섬유의 위축과 주변결합조직들의 증가가 뚜렷하게 관찰되었다(Figure 1.). 각 근육의 근섬유의 단면적을 비교한 결과는 gastrocnemius의 경우 Normal군, EtOH군, EtOH+DKEJ군에서 각각 6,003.6±242.1  $\mu$ m<sup>2</sup>, 4,888.2±248.7 $\mu$ m<sup>2</sup>, 4,888.2±248.7 $\mu$ m<sup>2</sup>로 측정되어 EtOH군에서 Normal군에 비해 유의성 있는 뚜렷한 감소를 확인할 수 있었다. EtOH+DKEJ군에서도 Normal군에 비해 근섬유의 단면적이 감소되었으나 감소폭이 적은 편이었고, EtOH군과의 비교에서도 유의성 있는 증가가 나타났다.



**Fig. 1.** Representative hematoxylin & eosin stained of gastrocnemius and plantaris muscles in Rats of Normal, EtOH and EtOH+DKEJ Groups.

plantaris의 경우에는 Normal군에서 4,586.1±190.3 $\mu$ m<sup>2</sup>, EtOH군에서 3,832.9±201.5 $\mu$ m<sup>2</sup>로 측정되어 gastrocnemius의 경우와 마찬가지로 EtOH군이 Normal에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다. EtOH+DKEJ군에서는 4,380.3±137.7 $\mu$ m<sup>2</sup>로 측정되어 EtOH군에 비해 Normal군보다 낮은 감소를 보였으며, EtOH군과의 비교에서도 통계학적으로 유의성 있는 증가가 나타났다.

**Table 5.** Muscle Fiber Areas of Gastrocnemius(GT), Plantaris(PLT) in Rats of Normal, EtOH and EtOH+DKEJ Groups ( $\mu$ m<sup>2</sup>)

Group	Normal	EtOH	EtOH+DKEJ
GT	6,003.6 ± 242.1	4,888.2 ± 248.7 <sup>##</sup>	5,730.9 ± 231.8 <sup>*</sup>
PLT	4,586.1 ± 190.3	3,832.9 ± 201.5 <sup>#</sup>	4,380.3 ± 137.7 <sup>*</sup>

Data shown as mean±S.E. were analysed by the Student's t-test.  
 (##: P<0.01 compared with Normal group. #: P<0.05 compared with EtOH group.)

#### IV. 고찰

알콜이 인체 근육에 영향을 미쳐 발생하는 알콜성 근질환(alcoholic myopathy)은 근력약화, 근위축을 주증상으로 하며, 급성 알콜성 근질환과 만성 알콜성 근질환 등으로 나눌 수 있다<sup>21)</sup>. 급성 알콜성 근질환에서는 급성 근육통, 근부종, 대퇴사두근(quadriceps femoris)의 국소경련, 동통 및 부종이 발생하며 근력약화가 수반되며, 심한 경우 근괴사로 인하여 근육색소뇨증(myoglobinuria)이 생겨 급성 신부전증으로 사망하기도 한다<sup>22)</sup>. 만성 알콜성 근질환은 사지의 골격근에서 서서히 진행되는 근력약화와 근위축이 나타난다<sup>22)</sup>. <黃帝內經素問·厥論>에 알콜섭취에 의한 손상에 대해서는 “酒入於胃 ... 精氣竭, 則不營其四肢也<sup>23)</sup>”라 하여 알콜과 신체근육과의 관련성을 제시하였고, 또한 “肝生筋”, “肝之合筋也”, “肝主身之筋膜”, “肝藏筋膜之氣”, “肝主筋”이라 하여 筋은 肝의 기능을 외부로 발현하는 생리기능계통에 해당되는 것으로 밀접한 관계가 있음을 나타내고 있다<sup>24)</sup>.

對金飮子は 알콜로 인한 간손상 및 위장기능장애를 치료하는 대표적인 처방이다. 對金飮子가 알콜로 유발된 肝損傷과 위손상에 효과가 있는 것이 실험적으로 검증되었으며, 임상적으로도 알콜섭취로 인

한 다양한 증상에 응용되어왔다<sup>12-18</sup>). 본 연구에서도 8주간의 알콜투여 후, 간기능을 나타내주는 지표인 AST와 ALT의 변화에서 對金飮子를 투여한 EtOH+DKEJ군이 EtOH군에 비해 AST의 수치가 감소되었으며, ALT의 경우는 EtOH군에 비해 유의성 있는 감소가 관찰되었다. 이러한 결과는 對金飮子 추출물이 알콜로 유발된 간손상에 유의한 방어 효과가 있음을 보여주는 것으로 임상적 알콜성 간손상에 對金飮子를 활용하는 치료법을 뒷받침해주는 결과라 할 수 있다.

한편, 장기간의 알콜 투여는 음식물 섭취량을 감소시키는 것으로 알려져 있다<sup>25</sup>). 따라서 이전까지 알콜에 의한 근육위축의 주원인은 대사와 영양불균형으로 알려져 왔다<sup>26</sup>). 하지만, 최근 연구결과에 따르면 알콜성 근위축의 병리과정 중에 영양불균형의 조건은 거의 나타나지 않는 것으로 밝혀졌다<sup>27</sup>). 이는 알콜 투여 24시간 안에 발생하는 단백질합성의 급격한 저하를 통해서도 확인할 수 있다<sup>28</sup>). 다시 말해 알콜섭취에 의한 근위축은 영양불균형 보다는 근육에서의 단백질 감소가 주된 원인인데, 급성 알콜 손상에서는 단백질합성의 분획률(fractional rate)을 감소시키며, 만성적인 알콜 손상에서는 주로 단백질과 RNA 함량 자체를 감소시키는 것으로 밝혀졌다<sup>29</sup>). 이전 연구들에서 만성적인 알콜성 근위축을 유발시키기 위해 일정한 조건 하에서 실험동물에 6주간<sup>30</sup> 혹은 그 이상의 기간 동안<sup>31</sup> 알콜을 투여한 경우, 알콜성 근위축의 특징인 근육의 단백질합성 감소와 RNA함량 저하가 발생하는 것으로 밝혀졌다. 본 연구에서는 흰쥐에 8주간 장기적으로 에탄올을 경구 투여하여 관찰하였다.

실험기간 동안의 각 실험군의 체중변화를 살펴보면 실험 개시 4주후에 EtOH군은 Normal군에 비해 체중의 증가량이 유의성 있게 감소하여, Normal군보다 약 8.5%의 체중감소율을 나타내었다. 8주후에는 감소율이 더 증가하여 Normal군에 비해 약 12.4%의 체중감소율을 보였다. 반면, 당귀음자를 투여한 EtOH+DKEJ군에서는 4주째와 8주째 체중의 감소폭이 Normal군에 비해 각각 약 4.9%, 8.4%로 측정되어 EtOH군보다는 감소폭이 적은 것으로 확인되었다. 특히 실험이 종료된 8주째에는 EtOH+DKEJ군이 평균체중이 EtOH군보다 유의성 있는 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 당귀음자

추출물이 알콜 섭취로 인한 체중감소에 유의한 방어 효과가 있음을 나타내는 것이라 할 수 있다.

장기적인 알콜섭취는 신체 모든 근육에 영향을 미쳐 근중량을 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 이러한 근육 중량의 감소는 근육의 유형 중에 특히 Type II(백색, 빠른 섬유, 혐기성 섬유) 근섬유에서 뚜렷이 나타나는 반면, Type I(붉은색, 느린 섬유, 호기성 섬유) 근섬유에는 상대적으로 영향이 적은 것으로 밝혀졌다<sup>7,31</sup>). 이러한 근섬유들의 각기 다른 반응은 insulin이나 glucagon등 근섬유 유형별로 영향을 다르게 미치는 다양한 호르몬 때문인 것으로 추측된다<sup>32,33</sup>). 본 연구에서는 8주간 알콜을 경구 투여한 후, 근위축의 정도를 측정하기 위하여 오른쪽 종아리 부위에 위치한 gastrocnemius, soleus, plantaris 세 종류의 근육의 무게를 비교하였다. 그 결과, 알콜을 투여한 EtOH군에서 세 종류의 근육 모두 Normal군에 비해 유의성 있는 중량 감소가 관찰되었다. 특히 gastrocnemius, plantaris의 감소가 soleus에 비해 더 높은 유의성으로( $P < 0.01$ ) 뚜렷하게 나타났는데, 이는 gastrocnemius, plantaris의 경우 근육의 구성에 있어 Type II 근섬유가 주로 분포하는데 반해, soleus의 경우에는 반대로 Type I 근섬유들이 다수 존재하기 때문인 것으로 사료된다. 알콜 투여 후 30분 뒤에 對金飮子 물추출물을 경구투여한 EtOH+DKEJ군에서는 EtOH군에 비해 세 근육 모두 중량의 증가가 나타났는데, 특히 gastrocnemius, plantaris에서 유의성 있는 변화가 나타났다. 이러한 결과는 對金飮子가 알콜투여로 인한 근중량의 감소에 유의한 방어 효과가 있음을 나타내주는 것이라 할 수 있으며, 특히 신체의 근섬유 유형 중에 Type II 근섬유가 주로 분포하는 근육에서 더 뚜렷이 나타난다고 할 수 있다.

만성적인 장기간의 알콜 투여는 근육의 중량 뿐 아니라 근섬유의 직경에도 영향을 미치는 것으로 알려졌는데, 알콜성 근질환에서는 골격근 내의 단백질 함량의 감소와 근섬유 직경의 위축변화가 일치하는 것으로 알려져 있다<sup>34</sup>). 본 연구에서도 8주간의 에탄올 투여로 유발된 근섬유 변화에 對金飮子가 미치는 영향을 확인하기 위해 근육 절단면에서 근섬유의 평균 단면적을 측정하여 비교하였으며, Type II 근섬유가 주로 분포하는 근육인 gastrocnemius, plantaris를 사용하였다. 그 결과 gastrocnemius의

경우 EtOH군에서 Normal군에 비해 유의성 있는 단면적의 감소를 뚜렷하게 확인할 수 있었으며, EtOH+DKEJ군에서는 Normal군에 비해 근섬유의 단면적이 감소되었으나 EtOH군과 비교하여 감소폭이 훨씬 적은 편이어서 EtOH군에 비해 근섬유 단면적에 유의성 있는 증가를 보였다. plantaris의 경우에도 EtOH군이 Normal군에 비해 평균 단면적에 유의성 있는 감소를 나타내었으나, EtOH+DKEJ군에서는 EtOH군에 비해 감소가 완화되었으며, EtOH군과의 비교에서도 단면적의 유의성 있는 증가가 나타났다. 이러한 결과는 對金飮子가 알콜투여로 인한 근섬유 단면적의 감소에 유의한 방어효과가 있음을 나타내주는 것이라 할 수 있다.

요약하면, 본 연구의 결과는 주로 한의학에서 “酒傷”으로 표현되는 알콜성 질환에 다용되는 對金飮子가 알콜로 인한 위장이나 간의 손상 뿐만 아니라 근육위축에도 상당한 방어효능이 있음을 입증한 것이다. 이번 연구는 알콜로 인한 근위축에 肝 손상과 관련된 한약물이 미치는 영향에 대해 관찰한 시험적인 연구라 할 수 있으며, 앞으로 추가적인 연구를 통하여 肝과 관련된 다양한 한의학적 처치들이 간질환 뿐 아니라 근육질환에 미치는 효과를 검증하여, 차후 임상에서의 활용뿐 아니라 기초한의학 이론의 검증에도 기여할 수 있기를 기대해 본다.

## V. 결론

본 연구에서는 알콜투여로 유발된 근위축에 對金飮子가 미치는 효과를 검증하기 위하여 흰쥐에 EtOH를 경구 투여하고, 30분 뒤에 對金飮子 물추출액을 투여하여 8주간의 실험 기간 후 흰쥐의 체중변화, 간의 생화학적 변화, 종아리 근육의 무게 및 근섬유의 단면적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 對金飮子는 만성적인 알콜섭취로 인한 체중의 감소를 유의성 있게 완화시켜주었으며, 간에서의 AST의 상승을 감소시켰으며, ALT의 상승을 유의하게 감소시켰다. 또한, 알콜섭취로 유발된 종아리 근육의 중량 감소와 근섬유의 단면적 감소를 억제하였으며, 특히 gastrocnemius와 plantaris 근육의 중량 감소와 단면적 감소에 유의성 있는 방어효과를 나타내었다. 이와 같은 결과로 對金飮子는 만성적인 알콜투여로 인한 골격근 근육의 위축변화

에 유의한 보호효과가 있는 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2014학년도 동의대학교 연구년 지원에 의하여 연구되었음

## References

1. Fromenty B, Pessayre D. Inhibition of mitochondrial beta-oxidation as a mechanism of hepatotoxicity. *Pharmacol Ther.* 1995;67(1):101-154.
2. Preedy VR, Adachi J, Ueno Y, Ahmed S, Mantle D, Mullatti N, Rajendram R, Peters TJ. Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis. *Eur J Neurol.* 2001;8(6):677-687.
3. Preedy VR, Paice A, Mantle D, Dhillon AS, Palmer TN, Peters TJ. Alcoholic myopathy: biochemical mechanisms. *Drug Alcohol Depend.* 2001;63(3):199-205.
4. Sneddon AA, Koll M, Wallace MC, Jones J, Miell JP, Garlick PJ, Preedy VR. Acute alcohol administration inhibits the refeeding response after starvation in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;284(5):874-882
5. Nakahara T, Hashimoto K, Hirano M, Koll M, Martin CR, Preedy VR. Acute and chronic effects of alcohol exposure on skeletal muscle c-myc, p53, and Bcl-2 mRNA expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285(6):1273-1281.
6. Preedy VR, Peters TJ. Alcohol and skeletal muscle disease. *Alcohol Alcohol.* 1990;25(2-3):177-187.
7. Preedy VR, Ohlendieck K, Adachi J, Koll M, Sneddon A, Hunter R, Rajendram R, Mantle D, Peters TJ. The importance of alcohol-induced muscle disease. *J Muscle Res Cell Motil.* 2003;24(1):55-63.

8. Preedy VR, Macallan DC, Griffin GE, Cook EB, Palmer TN, Peters TJ. Total contractile protein contents and gene expression in skeletal muscle in response to chronic ethanol consumption in the rat. *Alcohol*. 1997;14(6):545-549
9. Ansell H, Marway JS, Bonner AB, Salisbury JR, Candy DC, Preedy VR. Osmotic diarrhoea and skeletal muscle protein synthesis in vivo. *Gut*. 1996;38(1):40-46.
10. Reilly ME, Erylmaz EI, Amir A, Peters TJ, Preedy VR. Skeletal muscle ribonuclease activities in chronically ethanol-treated rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22(4):876-883.
11. Chen SW. Tai Ping Hui Min He Ji Ju fang. Beijing:China traditional china medicine publisher. 1996:48-49.
12. Kim JJ, Seo BI, Choi HS, Kim SM, Woo CH, Koo JS, Park GY. Preventive effects of Daekumeumja on fatty degeneration of liver and immunosuppression induced by alcohol. *Korean Journal of Oriental Medicine*. 2010;16(2):167-179
13. Hwang TH, Choi JH, Lim SW. The effects of Daigeumeumja against the mucosal injury of jejunum by ethanol and stress in mice. *J. Int. Korean Med*. 2003;24(4):735-746.
14. Kong KW. Effects of Daegeum-eumja, Igwi-tang and Sihosogan-san on Gastric Mucosal Lesions Induced by Alcohol, Indomethacin and Burn-stress in Mice. *J Korean Oriental Med*. 2007;28(2):166-184.
15. Lee TH, Lee EY. Effect of Daekumeumja Herb-acupuncture on c-Fos Expression in Hippocampus of Alcohol Intoxicated Rats. *The Journal of Korean Acupuncture and Moxibustion Society*. 2006;23(3):37-45.
16. Kim HJ, Kim EW, Lee EY. Effect of Daekumeumja Herb-acupuncture on Alcohol-induced Suppressed Cell Proliferation and Expression of Nitric Oxide Synthase in Hippocampus of Rats. *The Journal of Korean Acupuncture and Moxibustion Society*. 2006;23(5):187-198.
17. Ryu KW, Koo BH. Effects of Kamidaegeumeumja on the Ethanol induced Liver Damage in Rats. *K. H. Univ. O. Med. J*. 1980;3:1-14.
18. Park YJ, Sun JK, Cho CJ, Km JG, Park JH, Koo CM. Two Cases Of Alcoholic Hepatitis, Treated DaekumeumJa. *The Journal of the Korea Institue of Oriental Medical Infomatics*. 2003;9(2):8-14.
19. Fujii H, Ohmachi T, Sagami I, Watanabe M. Liver microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters. *Biochem Pharmacol*. 1985;34(21):3881-3884.
20. Otis JS, Brown LA, Guidot DM. Oxidant-induced atrogen-1 and transforming growth factor-beta1 precede alcohol-related myopathy in rats. *Muscle Nerve*. 2007;36(6):842-848.
21. Park SM, Cho JK. A study about the affect of alcohol in the human body in a view of Oriental and western medicine. *Korean Journal of Oriental Medicine*. 1993;3:67-78.
22. Han DY. Alcoholic Myopathy. *Clinical Pharmacology*. 1988;10(8):73-74.
23. Hong WS. Yellow Emperor's Inner Canon. Institute of Traditional Culture. 1994:269
24. Shin MK, Hong MC, Ryu DG, Kwon KB, Kim KJ, Kwon YK *et al*. *Oriental Medical Physiology*. Seoul:Jip Moon dang 2008:217.
25. Reilly ME, Mantle D, Richardson PJ, Salisbury J, Jones J, Peters TJ, Preedy VR. Studies on the time-course of ethanol's acute effects on skeletal muscle protein synthesis: comparison with acute changes in proteolytic activity. *Alcohol Clin Exp Res*. 1997;21(5):792-798.
26. Duane P, Peters TJ. Nutritional status in alcoholics with and without chronic skeletal muscle myopathy. *Alcohol Alcohol*. 1988;23(4):271-7.
27. Preedy VR, Crabb DW, Farrés J, Emery PW. Alcoholic myopathy and acetaldehyde. *Novartis Found Symp*. 2007;285:158-77.



28. Fernandez-Sola J, Preedy VR, Lang CH, Gonzalez-Reimers E, Arno M, Lin JC, Wiseman H, Zhou S, Emery PW, Nakahara T, Hashimoto K, Hirano M, Santolaria-Fernandez F, Gonzalez-Hernandez T, Fatjo F, Sacanella E, Estruch R, Nicolás JM, Urbano-Marquez A. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(12):1953-1962.
29. Reilly ME, Patel VB, Peters TJ, Preedy VR. In vivo rates of skeletal muscle protein synthesis in rats are decreased by acute ethanol treatment but are not ameliorated by supplemental alpha-tocopherol. *J Nutr.* 2000;130(12):3045-3049.
30. Salisbury JR, Preedy VR, Rose PE, Deverell MH, Peters TJ. Ethanol-induced chronic myopathy in the young rat: a light and electron microscopic study in type I or type II fibre-rich skeletal muscles. *Alcohol Alcohol.* 1992 Sep;27(5):493-500.
31. Conde A, Gonzalez-Reimers E, González-Hernández T, Santolaria F, Martinez-Riera A, Romero-Perez JC, Rodriguez-Moreno F. Relative and combined roles of ethanol and protein malnutrition on skeletal muscle. *Alcohol Alcohol.* 1992;27(2):159-163.
32. Preedy VR, Pain VM, Garlick PJ. The effect of glucagon on muscle protein synthesis in the perfused rat hemicorpus. *Biochem Soc Trans.* 1980;8(3):367-368.
33. Garlick PJ, Preedy VR, Reeds PJ. Regulation of protein turnover in vivo by insulin and amino acids. *Prog Clin Biol Res.* 1985;180:555-564.
34. Wassif WS, Preedy VR, Summers B, Duane P, Leigh N, Peters TJ. The relationship between muscle fibre atrophy factor, plasma carnosinase activities and muscle RNA and protein composition in chronic alcoholic myopathy. *Alcohol Alcohol.* 1993;28(3):325-331.