

## 현미와 발아현미의 상부 위장관 보호 효능

이아름<sup>1#</sup>, 김성현<sup>2</sup>, 권오준<sup>3</sup>, 노성수<sup>1\*</sup>

1: 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학 교실, 2: (주)웰빙고, 3: 대경지역사업평가원 경북지역산업평가단

### Improving Effects with Upper Gastrointestinal Diseases Treated with Brown Rice and Germinated Brown Rice

AhReum Lee<sup>1#</sup>, SungHyun Kim<sup>2</sup>, OJun Kwon<sup>3</sup>, Seong-Soo Roh<sup>1\*</sup>

1: College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Republic of Korea

2: WellbeingGo, Republic of Korea

3: Kyeoungbuk Institute for Regional Program Evaluation, Gyeongbuk TP, Republic of Korea

#### ABSTRACT

**Objectives** : This study is experimental comparison of brown rice (BR) and germinated brown rice (GBR) on upper gastrointestinal diseases animal models.

**Methods** : The ICR mice were divided randomly into four groups of six animals each (Normal mice, gastritis mice, gastritis mice treated with BR, gastritis mice treated with 48h GBR). Gastritis was induced by administration of 0.5 mL 150 mM HCl-60% ethanol. Six-week-old male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 7 groups after 1 week adaptation. (Normal rat, reflux esophagitis (RE) rat, RE rat treated with BR, RE rat treated with 24,30,36,48h GBR). Reflux esophagitis was induced by ligation with a 2-0 silk thread both the pylorus and the transitional junction between the forestomach and the corpus in SD rats.

**Results** : HCl/ethanol-induced gastric mucosal injury mice were ameliorated mucosal damage upon histological evaluation by treatment of 48h GBR than BR. Optical changes such as hyperemia and multiple erosions were observed in the rats with RE and damage to the normal rats was not apparent. The oral administration of GBR significantly diminished against gross mucosal damage in a germination time-dependent manner. Also, the administration of GBR suppressed the biomarker of oxidative stress, reactive oxygen species (ROS) and produces peroxynitrite (ONOO-) in serum. However, the administration of GBR could not affect to the pH level secreted from stomach when compared with Control group.

**Conclusions** : These findings suggest that GBR could have improving effects on upper gastrointestinal diseases in a germination time-dependent manner.

**Key words** : Brown rice, Germinated brown rice, anti-oxidation, gastritis, reflux esophagitis.

## I. 서 론

상부 위장관은 위와 식도를 포함한 소화관을 의미하며,

대표적인 질환으로는 위염과 역류성 식도염을 들 수 있다. 위염은 위 점막을 보호하는 방어인자와 공격인자 사이의 균형이 깨져 출혈, 발적 및 부종이 발생한 상태를 말하며

\*Corresponding author : Seong-Soo Roh, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2351 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : ddede@dhu.ac.kr

#First author : Ah Reum Lee, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2258 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : rmi2222@naver.com

· Received : 10 August 2016 · Revised : 27 August 2016 · Accepted : 20 September 2016

이 증상이 심화되면 위궤양으로 발전한다<sup>1)</sup>. 역류성 식도염은 위산이 식도내로 역류하여 식도에 손상을 줌으로서 흉통, 더부룩함, 구토, 오심 및 식도의 형태적 변화를 보이는 경우를 말한다<sup>2)</sup>. 이는 고열량식이와 서구화된 식습관, 음주와 흡연 등 다양한 원인으로 발생하게 되는데<sup>3)</sup> 식도 협착, 식도암 등의 합병증이 발생하므로 지속적인 치료가 필요한 만성질환이다<sup>4)</sup>.

쌀 (*Oryza sativa* L.)은 벼 열매의 껍질을 벗긴 알갱이로서, 한국인은 예로부터 쌀을 중심으로 한 식생활을 계속해왔다<sup>5)</sup>. 현미는 왕겨층만 한번 벗겨낸 쌀로서 백미에 비하여 영양이 풍부하지만 거친 식감과 소화흡수 저하를 유발하기 때문에, 실생활에서는 도정과정을 거쳐 미강을 제거한 후 백미 형태로 소비되고 있다<sup>6)</sup>.

발아현미는 현미를 적정한 수분, 온도, 산소 조건에서 싹을 틔운 것을 말하며, 발아과정 중 조직이 연화되어 질감이 개선되며, 영양성분이 증가된다<sup>7)</sup>. 발아현미의 주요 활성 성분은 gamma-oryzanol, alpha-tocopherol, ferulic acid 및 gamma-aminobutyric acid (GABA) 등이 있고<sup>8)</sup>, 이는 연구를 통하여 항산화 효과<sup>9)</sup>, 항염증 효과<sup>10)</sup>, 항 알츠하이머 효과<sup>11)</sup> 등이 입증되었다. 이와 같이 발아현미는 건강보조식품으로서 많은 주목을 받고, 건강증진 물질로 널리 사용되었을 뿐 아니라, 이에 관한 연구도 활발히 이루어지고 있다. 그러나 발아현미에 관한 상부 위장관 효능에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구자는 급성 위염 및 역류성 식도염 동물모델에 미발아 현미와 발아조건을 달리한 현미를 처치하여 보호효능을 비교 실험하였고, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물

ICR 마우스 6주령 수컷 24마리 및 Sprague-Dawley (SD) 흰쥐 6주령 수컷 42마리를 나라바이오 (Nara biotechnology, Seoul, Korea)에서 구입하여 1주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험은 대구한의대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (DHU2015-081, DHU2015-082)을 얻어 시행하였으며 동물관리 규정을 준수하였다. 동물 사육실의 조건은 conventional system으로 온도 22 ± 2℃, 습도 50 ± 5%, 명암주기 (light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였다. 사료는 고품사료 (Samyang Co., Seoul, Korea) (조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상, 항생제 무첨가)와 물을 충분히 공급하였다.

### 2. 시료 추출

본 실험은 미발아 현미와 발아시간을 달리한 현미를 시료로 사용하였다. 영천에서 재배한 현미 1.2 kg을 발아기 (NAGO, Gyeongsan-si, Korea) (Fig 1.)에 물 3.5 L와 함께 24,

30, 36, 48 시간으로 발아시간을 달리하여 발아하였다 (Fig 2.). 발아한 현미 25 g에 물 100 mL을 가하여 homogenizer에 미세하게 분쇄하였다. 발아 시 흡수한 물의 양을 계산하여 발아 현미에는 물의 용량을 추가하여 분쇄하였다.



Fig 1. Brown rice-germinating machine (NAGO)

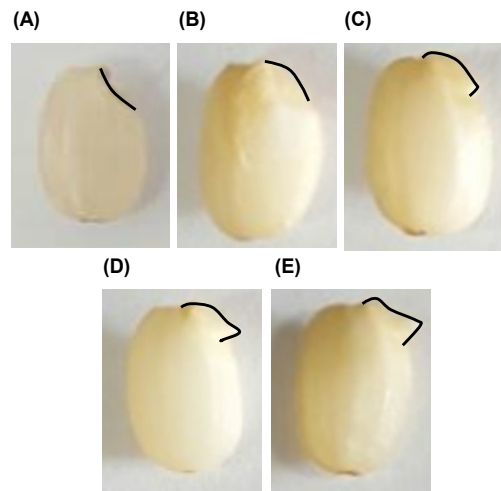


Fig 2. Various germinated times brown rice (A) : Brown rice, (B) : 24h germinated brown rice, (C) : 30h germinated brown rice, (D) : 36h germinated brown rice, (E) : 48h germinated brown rice

### 3. 시약

Nitrocellulose membranes는 Amersham GE Healthcare (Little, Chalfont, UK)에서 구입하였고, Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), nuclear factor-kappa B (NFκB), inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase2 (COX2), tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), Histone, β-actin 과 2차 항체는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)로부터 구입하였으며, Protease inhibitor mixture, Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)에서 구입하였다. 또한, 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA)와 Dihydrorhodamine 123는 Molecular Probes (Eugene, OR, U.S.A.)에서 ECL Western Blotting Detection Reagents는 GE Health

care로부터 구입하여 사용하였다. 단백질 정량을 위한 BCA protein assay kit는 Thermo Scientific (Rockford, IL, USA)에서 구입하였다.

#### 4. 위염 개선 효능 평가

##### 1) 위염 손상 유발

ICR 마우스를 군당 6마리씩 4그룹으로 구분하여 실험을 실시하였다. 실험 전날까지 고형사료와 물을 충분히 공급하였고 위 점막 손상 유발 실험 24시간 전부터 절식 하였다. 실험 전, 정상군 (Nor)은 아무런 처치를 하지 않았으며, 위점막 손상 대조군 (Con)은 증류수를 경구 투여하였고, 미 발아 현미 추출물 투여군 및 48시간 발아현미 추출물 투여군은 현미를 미세하게 분쇄하여 100 mL씩 경구 투여 한 후, 1시간 방치 하였다. 그 다음 위 점막 손상을 유발하기 위하여 150 mM HCl/60% ethanol을 각 0.5 ml 씩 경구 투여하였고 한 시간 후 개복하여 위 조직을 적출하였다<sup>12)</sup>.

##### 2) 조직학적 관찰

적출한 위 조직을 고정한 다음, 광학 디지털 카메라 (Sony, Tokyo, Japan)를 이용하여 촬영하였고, 손상된 위점막 측정은 I-Solution lite (Innerview Co., Gyeonggi, Korea) 프로그램을 이용하여 실제 손상 부위의 면적을 측정한 후, 위 전체 면적과 비교하여 비율로 표시하였다.

#### 5. 역류성 식도염 개선 효능 평가

##### 1) 식도점막 손상 유발

SD 흰쥐를 군당 6마리씩 7그룹으로 구분하여 실험을 실시하였다. 1주일 동안 고형사료와 물을 충분히 공급하여 실험실 환경에 적응시킨 후 수술 24시간 전부터 절식하였다. 실험 당일 미발아 현미 및 발아시간을 달리한 현미를 미세하게 분쇄하게 100 mL씩 경구투여 하고 1시간 후 Zoletile mixture (Vibrac, France) 25 mg/kg를 복강 주사하여 마취하였다. 복부를 2 cm 정도 개복을 하고, 대만부위 및 인접한 날문부위를 실크실로 묶은 후 복막과 피부를 봉합하였다. 수술 후 회복 챔버에 머무르게 한 뒤 케이지로 이동시켰다<sup>13)</sup>.

##### 2) 조직학적 관찰

수술 5시간 후, 식도 및 위를 분리하였고 수술용 가위를 이용하여 식도를 세로로 절단하였다. 절단된 식도 내부는 0.9% NaCl로 세척한 후 깨끗한 부직포 위에 전개했으며 이를 광학 디지털 카메라 (Sony, Tokyo, Japan)를 이용하여 촬영하였다. 손상된 식도점막 측정은 I-Solution lite (Innerview Co., 한국) 프로그램을 이용하여 실제 손상 부위의 면적을 측정하였다.

##### 3) 위 분비물 pH 측정

부검 후 위를 대만부를 따라 절개하여 위 내용물을 수집하였다. pH 측정 전 정확한 측정을 위하여 pH 4와 pH 7의 완충액 (buffer solution)의 순서로 교정한 후 수집한 위 내용물의 pH를 pH측정기 (Istek Product, Korea)를 활용하여 측

정하였다.

##### 4) 혈청 내 ROS 및 ONOO<sup>-</sup> 측정.

채혈한 혈액을 4,000 rpm 10분 원심 분리하여 혈청을 얻었다. ROS 측정은 혈청과 25 mM DCFH-DA를 혼합한 후, 형광 광도계를 이용하여 0분부터 매 10분씩 emission wavelength of 530 nm와 excitation wavelength of 485 nm를 이용하여 30분간 측정된 산출 값을 계산하였다<sup>14)</sup>.

ONOO<sup>-</sup>는 DHR123 buffer (rodamin buffer, 5 mM DT PA, 10mM DHR123)와 혈청을 혼합한 후, 37°C에서 5분간 교반하였다. 그 다음 emission wavelength of 535 nm와 excitation wavelength of 480 nm에서 측정된 값을 계산하여 나타내었다<sup>15)</sup>.

##### 5) Western blot

식도의 세포질을 얻기 위해 100 mM Tris-HCl (pH 7.4), 5 mM Tris-HCl (pH 7.5), 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 15 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.5 M sucrose, 0.1 M DTT, protease inhibitor cocktail을 첨가한 buffer A를 넣고 tissue grinder (BioSpec Product, Oklahoma, USA)로 분쇄한 후 10% NP-40 용액을 첨가하였다. 아이스 위에서 20분간 정치시킨 후 12,000 rpm으로 2분간 원심분리 하여 세포질을 포함하고 있는 상층액을 분리하였다. 핵을 얻기 위해 10% NP-40가 더해진 buffer A에 두 번 washing한 다음 100 mL의 buffer C (50 mM HEPES, 50 mM KCl, 0.3 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.1 mM PMSF, 10% glycerol)를 첨가해 재부유 시킨 뒤 10분마다 vortex을 3번 하였다. 4°C에서 12,000 rpm으로 10분간 원심 분리한 후 핵을 포함하고 있는 상층액을 얻어 -80°C에서 각각 냉동 보관하였다.

식도 조직의 세포질의 NF $\kappa$ B, iNOS, COX-2, TNF- $\alpha$ , IL-6,  $\beta$ -actin 단백질의 발현을 측정하기 위하여 10  $\mu$ g의 단백질을 8~15% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기연동 후, acrylamide gel을 nitrocellulose membrane으로 이동시켰다. 준비된 membrane에 각각의 1차 antibody를 처리하여 4°C에서 overnight 시킨 다음 PBS-T로 6분마다 5회 세척하고, 각각 처리된 1차 항체에 사용되는 2차 항체 (PBS-T로 1:3000로 희석해서 사용)를 사용하여 상온에서 1시간 반응시킨 후, PBS-T로 6분마다 5회 세척하였다. 그리고 enhanced chemiluminescence (ECL) 용액을 GE Healthcare (Arlington Heights, IL, USA)에 노출시킨 후, Sensi-Q2000 Chemidoc (Lugen Sci Co. Ltd, Seoul, Korea)에 감광시켜 단백질 발현을 확인한 후, 해당 band를 ATTO Densitograph Software (ATTO Corporation, Tokyo, Japan)프로그램을 사용하여 정량하였다.

#### 6. 통계분석

모든 수치는 평균과 표준오차로 표시하였으며, SPSS (Version 22.0, IBM, Armonk, NY, USA)을 사용하여 one-way analysis of variance (ANOVA) test를 실시한 후 Tukey Multiple Comparison test로 사후검증을 실시하여

군 간의 유의성을 측정하였다. 각 군의 평균 차이에 대한 통계적 유의성을 5% 수준에서 검증하였다. Student's paired t-test을 사용하여 미발아 현미를 투여한 군과 발아현미를 투여한 군간의 통계적 유의성을 측정하였다 ( $p < 0.05$ ).

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 위 점막 손상도 변화

150 mM HCl/60% ethanol을 경구 투여하여 급성 위염을 유발한 대조군은 위 점막이 손상을 받아 출혈, 발적 및 부종이 발생하였고, 손상 부위 면적 비율은  $676.35 \pm 113.82$  ( $p < 0.001$ ) AU로 정상군에 비하여 매우 높게 나타났다. 이는 HCl/ethanol에 의한 위 손상이 정상적으로 이루어 졌음을 의미한다. 또한, 미발아 현미 투여군은  $271.61 \pm 58.66$  ( $p < 0.001$ ), 48시간 발아현미 투여군은  $116.22 \pm 40.11$  ( $p < 0.001$ )의 위 손상을 보여 미발아 현미를 섭취하였을 때, 위 점막 보호효과를 있음을 확인하였을 뿐 아니라, 발아하였을 때 더 높은 보호효과를 보이는 것으로 나타났다 (Fig. 3).

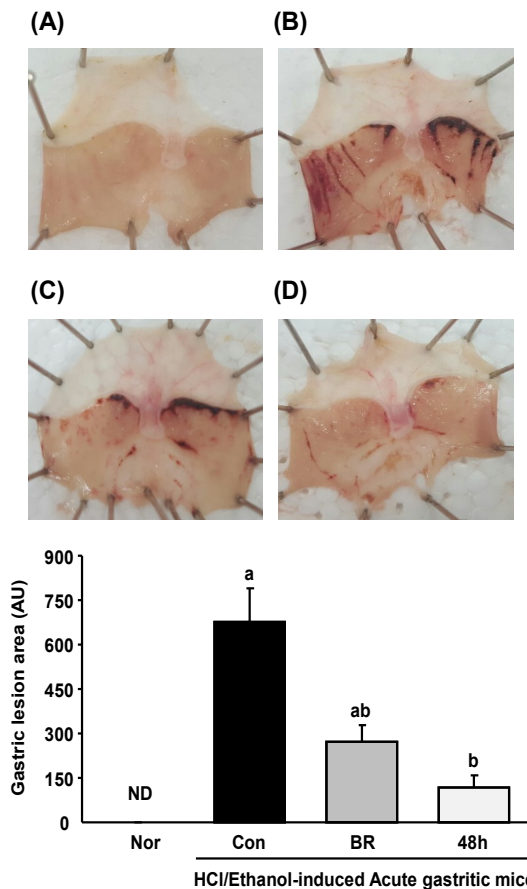


Fig. 3. Optical change stomach tissues of HCl/ethanol-induced acute gastritis mice. All values are mean  $\pm$  SD (n=6) (A) Nor, Normal mice, (B) Con, Control gastritis mice, (C) BR, gastritis mice treated with brown rice, (D) 48h, gastritis mice treated with 48h germinated brown rice. ND: Not detected. <sup>a-c</sup>Different letters show a significantly difference at  $p < 0.05$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

#### 2. 역류성 식도염 개선 효능 평가

##### 1) 육안적 손상 분석

정상군에 비하여 역류성 식도염을 유발한 대조군의 경우  $351.28 \pm 76.59$  ( $p < 0.001$ )AU의 높은 식도 점막 손상도를 보였고, 미발아 현미를 경구투여한 후 역류성 식도염을 유발한 BR군의 경우  $218.63 \pm 68.29$  ( $p < 0.01$ )의 손상도를 보였다. 역류성 식도염 유발 전 발아시간을 달리한 현미를 경구투여한 24h, 30h, 36h, 48h군의 경우 각각  $187.91 \pm 45.01$  ( $p < 0.001$ ),  $155.86 \pm 73.85$  ( $p < 0.001$ ),  $149.55 \pm 19.56$  ( $p < 0.001$ ),  $98.84 \pm 45.13$  ( $p < 0.01$ )로 나타나, 발아시간에 비례하게 식도 보호효과를 보이는 것으로 나타났다 (Fig. 4).

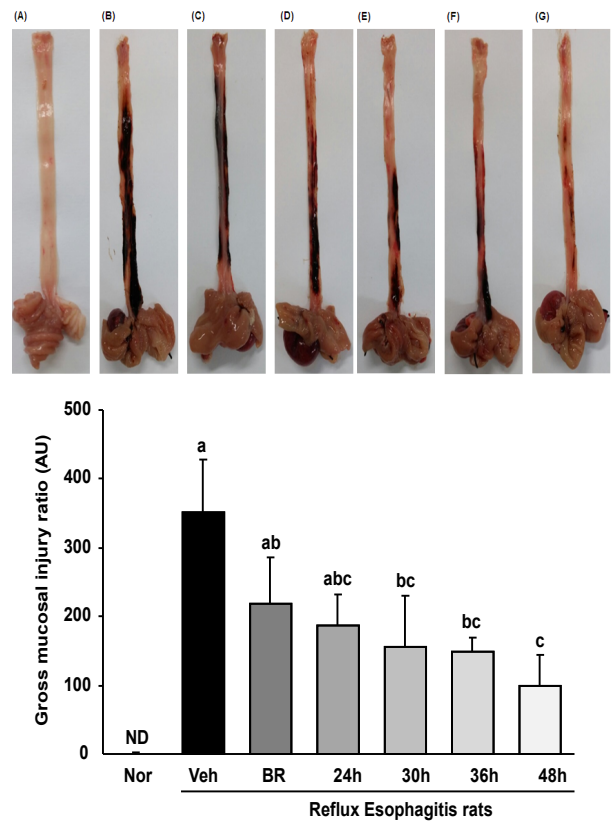


Fig. 4. Optical change esophagus tissues of reflux esophagitis rats. All values are mean  $\pm$  SD (n=6) (A) Nor, Normal rat, (B) Con, reflux esophagitis rat, (C) BR, reflux esophagitis rat treated with brown rice, (D) 24h, reflux esophagitis rat treated with 24h germinated brown rice, (E) 30h, reflux esophagitis rat treated with 30h germinated brown rice, (F) 36h, reflux esophagitis rat treated with 36h germinated brown rice, (G) 48h, reflux esophagitis rat treated with 48h germinated brown rice, ND: Not detected. <sup>a-c</sup>Different letters show a significantly difference at  $p < 0.05$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

##### 2) 위 분비물 pH 분석

부검 후 정상군의 위 분비물의 pH를 측정된 결과,  $4.95 \pm 0.10$  으로 측정되었고, 대조군은  $2.15 \pm 0.42$  ( $p < 0.001$ )으로 감소된 모습을 보였다. 그러나 미발아 현미 및 발아현미에서는 pH의 유의한 변화를 관찰할 수 없었다 (Fig. 5).

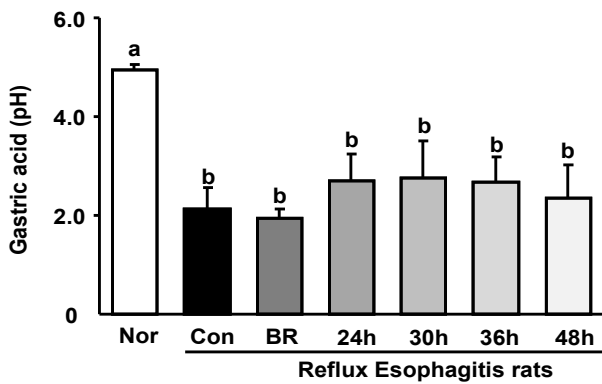


Fig. 5. Gastric acid pH in reflux esophagitis rat treated with germinated brown rice. Normal rat; Nor; reflux esophagitis rat; Con, reflux esophagitis rat treated with brown rice; BR, reflux esophagitis rat treated with treated with 24h germinated brown rice; 24h, reflux esophagitis rat treated with treated with 30h germinated brown rice; 30h, reflux esophagitis rat treated with treated with 36h germinated brown rice; 36h, reflux esophagitis rat treated with treated with 48h germinated brown rice; 48h, <sup>a-c</sup>Different letters show a significantly difference at  $p < 0.05$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

3) 혈청의 ROS 및 ONOO<sup>-</sup> 측정.

혈청을 이용하여 산화적 스트레스 바이오 마커인 ROS를 측정한 결과, 정상군 (111 ± 9.26 fluorescence/min/mL)에 비하여 대조군 (225 ± 24.00 ( $p < 0.001$ ))은 유의하게 증가하였고, BR군 (163.20 ± 39.76 ( $p < 0.01$ )) 및 24h군 (149.00 ± 14.43 ( $p < 0.0001$ ))은 발현이 감소하였다. 30h군은 144.14 ± 23.13 ( $p < 0.01$ )로, 36h군은 126.00 ± 10.71 ( $p < 0.05$ ), 48h군은 111.17 ± 20.10로 나타났다 (Fig. 6A).

또한 ONOO<sup>-</sup> 측정 결과, 정상군 (267.33 ± 38.31 fluorescence/min/mL) 보다 대조군 (398.20 ± 28.76 ( $p < 0.001$ ))은 크게 증가하였으며 BR군에서는 388.33 ± 47.91로 나타나 감소하는 모습을 보였으며, 발아시간이 증가할수록 ONOO<sup>-</sup>의 발현이 감소하는 것을 확인하였다 (Fig. 6B).

4) 식도조직의 염증성 사이토카인 및 매개인자 발현

식도조직에서 염증성 매개인자인 NFκ B를 측정하였다. 정상군에서 1.00 ± 0.16으로 발현되었고 대조군은 1.91 ± 0.36 ( $p < 0.001$ )로 나타났다. 미발아 현미 투여군에서는 1.63 ± 0.42로 감소되었으며, 발아현미는 발아시간에 따라 유의하게 감소하는 모습을 나타냈다 (Fig. 7).

또한 염증성 매개인자인 COX-2, iNOS, TNF-α, IL-6의 발현을 확인한 결과, COX-2의 발현은 정상군 (1.00 ± 0.22)에 비해 대조군 (1.49 ± 0.43 ( $p < 0.05$ ))은 유의성 있게 증가하였으며 미발아 현미 투여군 (1.46 ± 0.25)은 대조군과 유사한데 비하여 발아현미 투여군은 각각 1.30 ± 0.30, 1.27 ± 0.25, 1.22 ± 0.26, 1.00 ± 0.21 ( $p < 0.05$ )로서 발아시간에 의존적으로 감소함을 보였다 (Fig. 8A).

iNOS의 경우 정상군 (1.00 ± 0.32)에 비해 대조군 (1.40 ± 0.23 ( $p < 0.05$ ))은 증가하였으며 미발아 현미투여군은 1.31 ± 0.32으로 감소하는 경향을 보였고, 발아현미 투여군은 발현이 감소되었으며 48시간 발아현미 투여군의 경우 1.18 ± 0.13으로 유의한 감소를 보였다 (Fig. 8B).

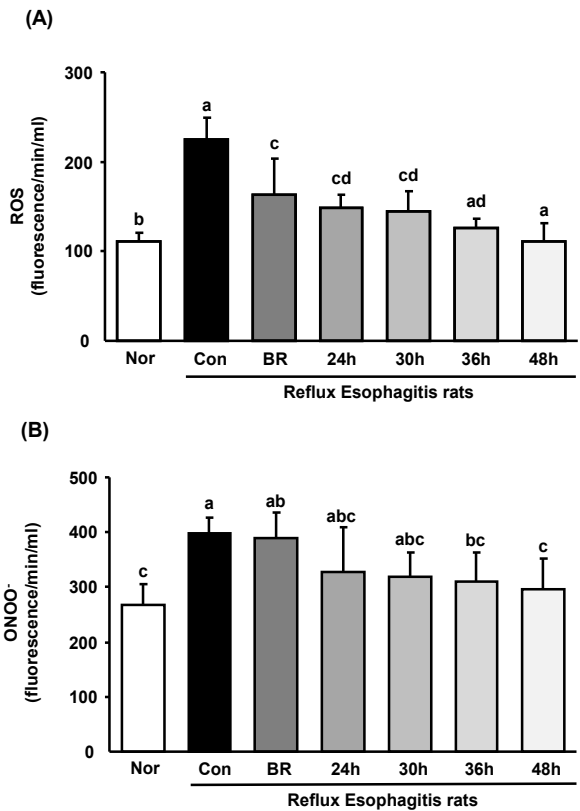


Fig. 6. Oxidative stress biomarker in serum. Oxidative stress biomarkers reactive oxygen species (ROS) (A) and peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) (B) in serum. Normal rat; Nor; reflux esophagitis rat; Con, reflux esophagitis rat treated with brown rice; BR, reflux esophagitis rat treated with treated with 24h germinated brown rice; 24h, reflux esophagitis rat treated with treated with 30h germinated brown rice; 30h, reflux esophagitis rat treated with treated with 36h germinated brown rice; 36h, reflux esophagitis rat treated with treated with 48h germinated brown rice; 48h, <sup>a-c</sup>Different letters show a significantly difference at  $p < 0.05$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

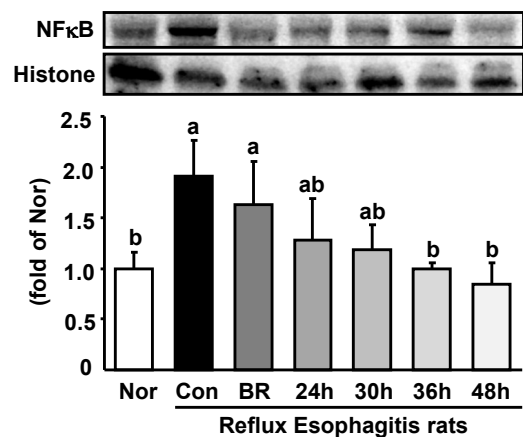


Fig. 7. Expression of inflammation-related proteins in Esophagus. Western blot analysis of NFκ B, Histone expression; Normal rat; Nor; reflux esophagitis rat; Con, reflux esophagitis rat treated with brown rice; BR, reflux esophagitis rat treated with treated with 24h germinated brown rice; 24h, reflux esophagitis rat treated with treated with 30h germinated brown rice; 30h, reflux esophagitis rat treated with treated with 36h germinated brown rice; 36h, reflux esophagitis rat treated with treated with 48h germinated brown rice; 48h, <sup>a-c</sup>Different letters show a significantly difference at  $p < 0.05$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

TNF- $\alpha$ 의 발현은 정상군 ( $1.00 \pm 0.44$ )에 비해 대조군 ( $1.91 \pm 0.17$  ( $p < 0.001$ ))에서 크게 증가하였으며, 미발아 현미 투여군 ( $1.89 \pm 0.32$ )은 감소되었으나 대조군과 유사한 발현을 보였으며, 36시간 발아현미 투여군 ( $1.18 \pm 0.22$  ( $p < 0.001$ )) 및 48시간 발아현미 투여군 ( $1.03 \pm 0.38$  ( $p < 0.001$ ))에서 발현이 유의성 있게 감소하였다 (Fig. 8C).

IL-6의 발현은 대조군 ( $1.30 \pm 0.19$  ( $p < 0.05$ ))에 비하여 36시간 발아현미 투여군에서는 25.38% ( $p < 0.05$ ) 감소한 발현을 보였고, 48시간 발아현미 투여군에서 또한 27.69% ( $p < 0.01$ ) 감소된 발현을 보였다 (Fig. 8D).

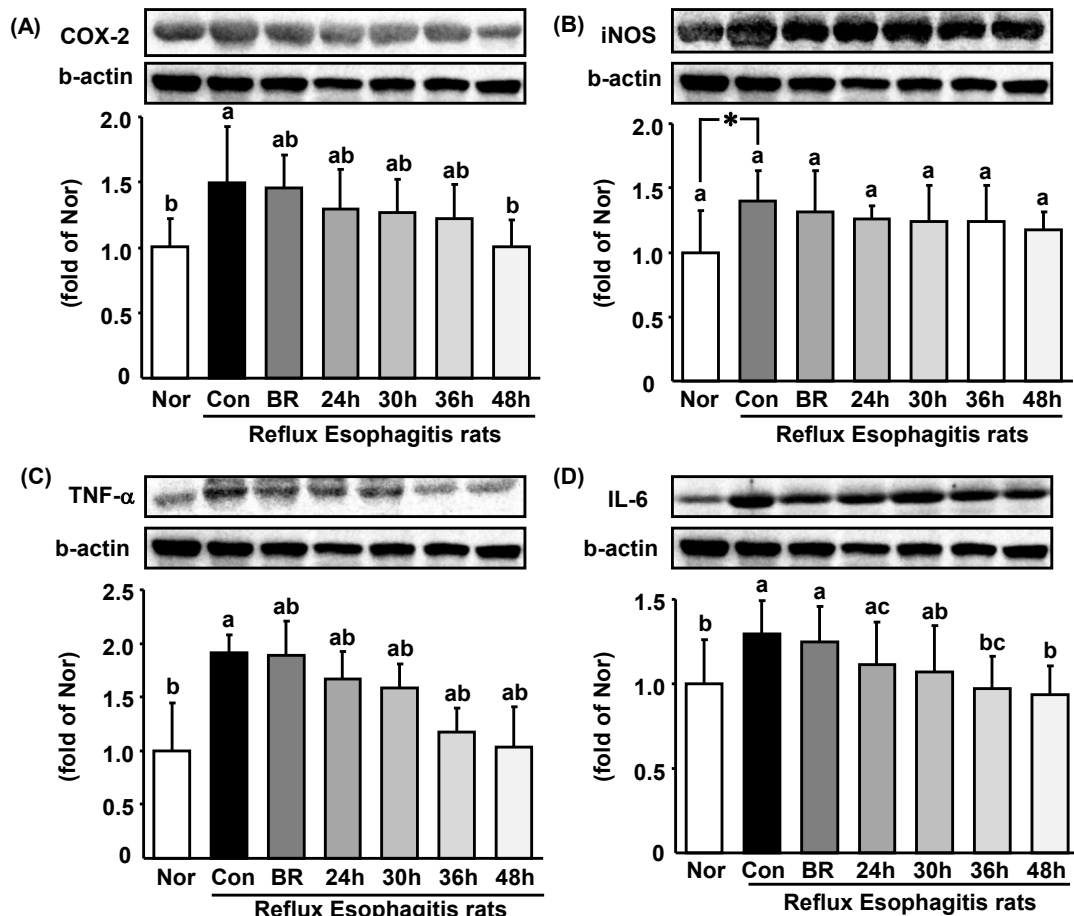


Fig. 8. Expression of inflammation-related proteins in Esophagus.

Western blot analysis of COX-2, iNOS, IL-6,  $\beta$ -actin expression; (A), inflammation-related proteins cyclooxygenase-2 (COX-2); (B), inducible nitric oxide synthase (iNOS); (C), Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); (D), interleukin-6 (IL-6), Normal rat; Nor; reflux esophagitis rat; Con, reflux esophagitis rat treated with brown rice; BR, reflux esophagitis rat treated with treated with 24h germinated brown rice; 24h, reflux esophagitis rat treated with treated with 30h germinated brown rice; 30h, reflux esophagitis rat treated with treated with 36h germinated brown rice; 36h, reflux esophagitis rat treated with treated with 48h germinated brown rice; 48h, <sup>a-c</sup>Different letters show a significantly difference at  $p < 0.05$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test. The Student's paired t-test was carried out to compare with the reflux esophagitis rats ( $*p < 0.05$ ).

#### IV. 고찰

발아는 식물의 종자, 가지, 뿌리 등에 배가 종피를 뚫고 나와 생근 싹이 발생 또는 성장을 개시하는 현상을 말한다<sup>16</sup>. 각종 식물 종자류는 발아하는 순간부터 생리활성성분의 활성도가 증대하게 되는데 이는 종자 스스로가 자생 및 종족 번식에 필요한 모든 성분을 만들고 있기 때문이다<sup>17</sup>. 종자의 발아에 관한 연구로는 대두<sup>18</sup>, 녹두<sup>19</sup>, 보리<sup>20</sup>, 옥수수<sup>21</sup> 등을 중심으로 활발히 이루어져 왔으며, 현미는 발아 과정 중 다양한 효소의 활성화로 인하여 gamma-oryzanol, alpha-tocopherol, ferulic acid 및 gamma-aminobutyric acid (GABA) 과 같은 성분들이 증가되거나 생성되고<sup>22</sup>, 그에 따라 다양한 생리활성이 증가되는 경향이 있는 것으로 알려져 있다<sup>23</sup>. 현

미를 발아법을 통하여 생리활성을 증대시키려는 연구가 활발히 진행되고 있지만<sup>9-11</sup>, 발아조건을 달리한 현미의 상부 위장관 보호 효능에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구자는 급성위염 및 역류성 식도염 동물모델에 발아시간을 달리한 현미를 단회 투여한 후 부검하여 얻은 혈청 및 식도, 위를 분석하여 그 개선효과를 평가하였고 그 결과는 다음과 같다.

급성위염 동물모델에서 부검 후 적출한 위를 촬영하고 이미지 분석 프로그램을 통해 위의 전체 면적 및 염증, 발적, 출혈 부위를 측정된 결과 정상군에서는 손상부위가 없었으며 대조군에서는 위 점막 손상도가 매우 높게 나타났다. 미발아 현미 투여군에서는 위 점막 손상도가 감소하였고, 48시간 발아 현미 투여군은 유의한 개선효과를 나타내었다.

또한 역류성 식도염 동물모델에서 유발 전 미발아 현미와



발아시간을 달리한 현미를 미세하게 분쇄하여 경구 투여한 결과, 발아시간에 비례하게 식도 손상도가 감소한 모습을 나타냈다. 식도 손상 억제 기전을 밝히기 위하여 수집한 위 내용물의 pH를 측정된 결과 정상군에 비하여 대조군의 pH가 유의하게 감소하였지만 미발아 현미 및 발아현미 투여군에서는 유의한 효과를 얻을 수 없었다. 이는 미발아 현미와 발아현미의 투여가 위산의 pH에 영향을 주지 않는다는 것을 의미한다.

분리한 혈청에서 항산화 관련 바이오 마커인 ROS 및 ONOO<sup>-</sup>를 측정된 결과 대조군에서는 높은 산화 스트레스를 보였고 발아현미 투여군에서는 유의하게 감소하였다.

염증성 사이토카인의 발현을 분석한 결과 COX-2, iNOS, TNF- $\alpha$ , IL-6의 발현이 현저히 감소되었고 이로 인하여 NF- $\kappa$ B의 발현 또한 억제하여 염증이 감소됨을 확인하였다. 이러한 염증성 관련 바이오마커의 유의성있는 감소는 발아현미의 경구투여가 발아시간에 비례하게 역류성 식도염 보호효과가 있음을 의미한다.

급성 위염 동물 모델에서 미발아 현미 및 발아현미의 경구 투여가 육안적으로 위 점막 손상을 개선하는 것을 확인하였으나, 그 기전에 관한 추후 연구가 필요하다고 판단된다. 역류성 식도염 동물 모델에서 미발아 현미와 발아현미의 경구 투여가 미치는 영향을 연구하였을 때, 염증성 사이토카인의 발현 감소로 유의하게 염증을 억제함을 확인하였으나, 위산의 pH에는 영향을 미치지 않으며 산화적 스트레스를 억제함으로써 식도 점막 보호효과를 보이는 것으로 확인하였다. 이상의 결과들로 현미는 발아시간에 비례하게 상부 위장관 보호 효능이 있는 것으로 판단되며 급성 위염 및 역류성 식도염 치료제제로서의 개발 가능성을 보여준다.

## V. 결 론

발아시간을 달리한 현미의 경구 투여가 상부 위장관에 미치는 효과를 알아본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 발아현미의 경구투여는 급성 위염 마우스모델에서 위 조직의 육안적인 손상을 유의하게 감소시켰다.
2. 발아현미의 경구투여는 역류성 식도염 유발 동물 모델에서 식도 조직의 육안적인 손상을 유의하게 감소시켰다.
3. 발아현미의 경구투여는 역류성 식도염 유발 동물 모델에서 위 분비물의 pH 변화에 영향을 주지 않았다.
4. 발아현미의 경구투여는 역류성 식도염 유발 동물 모델에서 혈청의 산화스트레스 바이오마커인 ROS 및 ONOO<sup>-</sup>를 유의하게 감소시켰다.
5. 발아현미의 경구투여는 역류성 식도염 유발 동물 모델에서 식도 조직 내에서 NF- $\kappa$ B의 발현을 유의하게 감소시켰다.
6. 발아현미의 경구투여는 역류성 식도염 유발 동물 모델

에서 식도 조직 내 염증성 사이토카인인 COX-2와 iNOS, TNF- $\alpha$ , IL-6의 발현을 유의하게 감소시켰다.

따라서 발아현미의 경구투여는 급성 위염 보호 효능이 있고, 발아시간에 비례하게 산화스트레스를 억제하여 식도를 보호함으로써 역류성 식도염의 개선에 효과를 보인다.

## 감사의 글

본 연구는 2016년 중소기업청 산학연 첫걸음 기술개발사업 연구과제 (C0330447)의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 참고문헌

1. Banks WJ, Applied veterinary histology, 2nd ed, William & Wilkins Baltimore, Philadelphia, 1986 : 393-6.
2. Kahrilas PJ, Quigley EM, Clinical esophageal pH recording: a technical review for practice guideline development, Gastroenterology, 1996 ; 110 : 1982-96.
3. Jeon SG, Rhee PL, Prevalence, Clinical Manifestations, and Treatment of Gastroesophageal Reflux Disease in Korea, Korean J Gastroenterol, 2008 ; 51(6) : 331-7.
4. Badillo R, Francis D, Diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease, World J Gastrointest Pharmacol Ther, 2014 ; 5(3) : 105-12.
5. Oh SK, Lee JH, Yoon MR, Kim DJ, Lee DH, Choi IS, Lee JS, Kim IH, Lee JS, Physicochemical properties of germinated brown rice, J Korean Soc Food Sci Nutr, 2012 ; 41(7) : 963-69.
6. Kim DJ, Oh SK, Lee JH, Yoon MR, Choi IS, Lee DH, Kim YG, Changes in Quality Properties of Brown Rice after Germination, Korean J Food Sci Technol, 2012 ; 44(3) : 300-305.
7. Jung IS, Kim YJ, Choi IS, Choi EY, Shin SH, Gal SW, Choi YJ, Studies on antioxidant activity and inhibition of nitric oxide synthesis of germinated brown rice soaked in mycelial culture broth of *Phellinus linteus*, Journal of Life Science, 2007 ; 17(8) : 1141-46.
8. Kim DJ, Oh SK, Yoon MR, Chun AR, Choi IS, Lee DH, Lee JS, Yu KW, Kim YK, The change in biological activities of brown rice and germinated brown rice, J Korean Soc Food Sci Nutr, 2011 ; 40(6) : 781-89.
9. Kang BR, Park MJ, Lee HS, Germination dependency of anti oxidative activities in brown rice, J Korean Soc Food Sci Nutr, 2006 ; 35(4) : 389-94
10. Debnath T, Park SR, Kim DH, Jo JE, Lim BO, Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of

- Inonotus obliquus and germinated brown rice extracts. *Molecules*. 2013 ; 18(8) : 9293–9304.
11. Azmi NH, Ismail M, Ismail N, Imam MU, Alitheen NBM, Abdullah MA. Germinated Brown Rice Alters A $\beta$  (1–42) Aggregation and Modulates Alzheimer's Disease-Related Genes in Differentiated Human SH-SY5Y Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015 ; 1–12.
  12. Martins JLR, Rodrigues ORL, da Silva DM, Galdino PM, de Palula JR, Romao W, da Costa HB, Vaz BG, Ghedini PC, Costa EA. Mechanisms involved in the gastro protective activity of *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent on gastric lesions in mice. *J Ethnopharmacol*. 2014 ; 155 : 1616–24.
  13. Omura N, Kashiwagi H, Chen G, Suzuki Y, Yano F, Aoki T. Establishment of surgically induced chronic acid reflux esophagitis in rats, *Scand J Gastroenterol*, 1999 ; 34(10) : 948–53.
  14. Ali SF, LeBel CP, Bondy SC. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. *Neurotoxicology*. 1992 ; 13(3) : 637–648.
  15. Kooy NW, Royall JA, Ischiropoulos H, Beckman JS. Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrohodamine 123. *Free Radic Biol Med*. 1994 ; 16(2) : 149–56.
  16. Kim HY. Identification and chemopreventive effects of bioactive compounds from germinated rough rice. *Chungbuk national university*. 2012 ; 7–8
  17. Oh YS. Study on nutritional properties of sprouted brown rice. *Kongju National University*. 2003 : 10–11
  18. Kim SH, Hwang IK. Change of Physicochemical Properties and Sprouting Characteristics of Soybean seed for Storage. *Korean Society of Food & Cookery Science*. 1993 ; 9(1) : 30–2
  19. Sung MW, Yang WJ. Fluctuation of ATP Content in Soybean and Mungbean Seeds with Germinating Time. *Journal of development of livestock prod*. 1980 ; 7(1) : 73–7
  20. Lee DJ, Ryu SN, Kim SM, Shin DI, Chung KW, Chae JC, Yoon ST. Control of viviparous germination in barley cultivars using extraction of rice hull. *The journal of the Korean Society of International Agriculture*. 2000 ; 12(3) : 265–9
  21. Yang YK, Lee SY, Choi KC. Physicochemical properties of germinated corn starch. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 1986 ; 29(4) : 333–8
  22. Jung HY, Lee DH, Baek HY, Lee YS. Pre- and post-germination changes in pharmaceutical compounds of germinated brown rice. *Korean Journal of Crop Science*. 2008 ; 53(spc) : 37–43.
  23. Lee YR, Kim JY, Woo KS, Hwang IG, Kim KH, Kim KJ, Jeong HS. Changes in the chemical and functional components of Korean rough rice before and after germination. *Food Science and Biotechnology*. 2007 ; 16(6) : 1006–10.