

Streptozotocin 유발 당뇨모델을 이용한 건조누에 동충하초의 항당뇨 효과

†이 준 우

경북전문대학교 호텔조리제빵과

Anti-diabetic Effect of Dried-silkworm *Dongchunghacho* in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

†June-Woo Lee

*Dept. of Hotel Culinary Art and Bakery, Kyungbuk College, Gyeongbuk 36133, Korea

Abstract

The anti-diabetic effect of dried-silkworm *Dongchunghacho* water extracts was investigated in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Seven-week-old SD rats were randomly assigned to six groups: normal control (NC) group, diabetic control (DC) group, water extracts of *Paecilomyces japonica* grown on a dried-silkworm (PJ-DS, 50 mg/kg) group, PJ-DS (250 mg/kg) group, water extracts of *Cordyceps militaris* grown on a dried-silkworm (CM-DS, 250 mg/kg) group, and water extracts of dried-silkworm (DS, 250 mg/kg) group. These groups were orally provided with sample dissolved in water respectively for four weeks after an injection of STZ (60 mg/kg, *ip*) followed by identification of diabetic control (DC) group. After four weeks, body weight of all diabetic groups was significantly lower than that of the normal control (NC) group, but among diabetic groups there were no significant differences. Blood glucose levels of the PJ-DS (50 mg/kg), PJ-DS (250 mg/kg), CM-DS (250 mg/kg) and DS (250 mg/kg) groups were reduced compared to the DC group by 3.0 percent, 18.5 percent, 6.9 percent and 13.1 percent, respectively. Concentration of total cholesterol and triglyceride in blood plasma were to some degree decreased in PJ-DS (250 mg/kg) and DS (250 mg/kg) groups compared to the DC group. According to these results dried-silkworm *Dongchunghacho* water extracts (PJ-DS) boost protection against STZ-induced toxicity.

Key words: dried-silkworm *Dongchunghacho*, blood glucose, total cholesterol, total triglyceride

서 론

오늘날 생활수준의 향상과 식생활의 서구화에 따른 비만 및 고령화에 의한 생활 패턴의 변화로 당뇨환자가 급격히 증가하고 있다. 당뇨병은 인슐린의 절대적 또는 상대적 결핍이나 인슐린 기능 저하에 기인한 탄수화물, 지방 및 단백질 대사의 장애를 특징으로 하는 내분비계 질환으로 제1형인 인슐린 의존형과 제2형인 인슐린 비의존형으로 분류한다(Ha 등 2015). 제1형 당뇨병은 자가면역 기전에 의해 췌장에 있는 Langerhans섬의 β -세포가 파괴되어 인슐린의 생리적 기능이 충

분하지 못하여 insulin과 glucagon의 분비 상태가 교란되어 생체 조절기능의 장애에 따른 대사성 질환이 발생되고(Abate 등 2000), 이로부터 혈중 중성지방과 콜레스테롤 및 과산화물의 증가에 의하여 지질대사 이상을 초래하고, 더불어 모세혈관의 상피세포막이 두꺼워져 심장순환계 질환 등의 합병증을 유발하는 것이 특징이다(Selvin 등 2004; Butler 등 2003). 당뇨병의 대부분을 차지하는 제2형 당뇨병의 insulin의 분비는 유전적, 비만, 고혈압 등과 관련이 높은 것으로 알려졌으며, 심혈관 질환의 발생비율이 비환자에 비해 2배 이상 높은 것으로 보고하였다(Ohtani 등 1998; Robertson 등 2003). 당뇨

† Corresponding author: June-Woo Lee, Dept. of Hotel Culinary Art and Bakery, Kyungbuk College, Gyeongbuk 36133, Korea. Tel: +82-54-630-5185, E-mail: jwlee@kbc.ac.kr

병의 공통된 특징으로 혈중의 높은 콜레스테롤과 중성지방이 높은 고지혈증을 수반하는 합병증으로서 이것은 심혈관계 질환 발생과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려졌다(Castelli 등 1990). 아직까지 현대 의학으로는 당뇨병을 근본적으로 치료할 수 있는 방법은 아직 개발되지 않고 있다. 이에 따라 최근에 혈당을 정상화시켜 합병증 등을 개선하고 완화시키기 위한 생리활성을 갖는 기능성 식품소재의 연구가 이루어지고 있다(Kim 등 2008; Kim 등 2013). 동충하초(*Dongchunghacho*)는 번데기, 벌, 잠자리, 풍뎡이, 노린재, 누에 및 그들의 유충 등 기주에 따라 명명되고 있으나, 기주 특이성이 낮아 균주에 따라 여러 가지 기주에서 자실체 발생이 용이하다(Sung 등 1998). 동충하초는 고대로부터 중국에서 불로장생의 비약으로 결핵, 천식, 황달의 치료 및 아편중독의 해독제, 병후의 보양 및 강장제, 면역기능 강화제로 이용되어 왔으며, 약리활성은 자실체 또는 배양균사체로부터 분리한 고분자물질인 다당류와 저분자 물질인 cordycepin 등에 의해 나타나는 것으로 알려졌다. 다당류는 면역활성과 관련된 항암효과, 항산화효과, 피로억제효과 등이 알려졌고, 저분자인 cordycepin (3'-deoxyadenosine)의 경우는 항균 및 항암효과가 있는 것으로 밝혀졌다(Kinjo 등 1996; Lee 등 1999). 최근의 연구에 의하면 동충하초는 항당뇨 효과가 보고되고 있으며(Seo 등 2013), 이러한 다양한 약리활성이 있음에도 불구하고, 자연 상태에서의 자실체 채집이 어려워서 양적으로나 계절적 요인에 의해 공급이 제한적이고, 근래 들어서 생태계의 파괴 및 공해로 인한 이상기후 현상 등으로 자실체의 자연채취가 어렵다. 눈꽃동충하초 인공재배에 관하여 Yamanaka 등(1998)은 곡물과 누에번데기 배지를 이용하여 인공자실체를 형성시켰으며, 이를 위해서는 이산화탄소 농도, 빛 등이 필요한 것으로 보고하였다. 누에는 예로부터 동의보감을 비롯하여 여러 가지 산물들이 소갈증에 대한 효과가 우수하다고 기록되어 있다. 특히, 누에똥, 누에 번데기, 누에고치 등이 많이 이용되어 왔으나, 최근에는 누에분말이 혈당상승 억제효과가 우수한 것으로 보고되었다. 누에 분말 중에서도 숙잠보다는 5령3일의 누에가 혈당강하 효과가 높다고 하였다(Ryu 등 1999; Jang 등 2004).

이에 본 연구에서는 건강기능성 식품 소재를 개발하기 위해 항당뇨 기능이 확인된 건조된 누에를 활용하여 발생된 동충하초의 열수출물을 streptozotocin으로 유도한 당뇨 흰쥐에 4주간 경구 투여한 다음, 체중 변화, 혈당 변화, 혈중 지질농도 및 혈청 생화적 지표를 측정하여 항당뇨 효과를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 사육 및 당뇨유발

실험동물은 평균체중 233.1±7.1 g(7 주령)의 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 (주)샘타코 바이오코리아(Osan, Korea)에서 구입하여 사용하였고, 환경 적응을 위해 7 일간의 검역·순화기간 중에 매일 1회 일반증상 관찰을 실시하였다.

당뇨유발은 정상군(NC) 제외한 실험동물을 18시간 절식시키고, 체중 측정 후 60 mg/kg의 streptozotocin(STZ, S0130, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 복강 투여하여 당뇨를 유발시켰고, 정상군(NC)은 동량의 생리식염수를 주사하였다. 당뇨유발의 확인은 투여 1 주일 후 미정맥에서 채혈하여 혈당을 측정하여 100 mg/dL 이상인 동물만을 선별하여 질환모델로 사용하였다.

2. 사육환경

동물사육실의 환경조건은 온도 22±3 °C, 상대습도 50±20%, 환기방식 10~15회/시간, 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시 조명) 및 조도 50~300 lux이었다. 동물들은 적당한 깔짚을 담은 폴리카보네이트 사육상자(26 W×42 L×18 H cm)에서 1상자 당 5 마리를 사육하였다.

사육상자에는 개체식별카드(시험유형, 시험번호, 군번호, 마리수, 성별, 투여용량, 투여액량, 실험기간, 시험책임자 기재)를 부착하고, 개체식별은 유성매직을 이용하여 개체식별법에 따라 꼬리에 표시하였다. 사료는 실험동물용 쥐 사료[(주)Agribrands Purina Korea, Pyeongtaek, Korea]를 급여기에 넣어 자유섭취하도록 하였고, 물은 지하수를 자외선 살균기 및 미세여과장치로 여과·살균된 정제수를 폴리카보네이트 제 음수병(500 mL)에 넣어 자유 섭취시켰다. 사료와 음수의 혼합물 및 오염물 분석결과, 시험 허용기준치에 범위 내에 속하였다.

3. 체중변화 및 혈당측정

실험동물의 체중은 각각 STZ 유발 전, STZ 유발 7일째(시험물질 투여직전) 및 시험물질 투여 후 부검당일까지 주 1회 측정하였다.

실험동물의 혈당은 18시간 절식 후 혈액을 채취하여 STZ 투여 직전, STZ 투여 후 7일째(시험물질 투여 전) 및 시험물질 투여 후 부검 당일까지 주 1회 측정하였다.

혈당은 실험동물의 꼬리 끝을 가위로 절단하고 채혈하여 혈당계측기(Accucheck Active®, Roche, Germany)를 이용하여 측정하였다.

4. 생화학적 분석

검체채취는 시험물질 투여 4주 후 부검 전에 혈액을 복대동맥에서 채혈하였고, 노는 부검 전일 대사케이지를 이용하여 채노하였다. 채혈한 혈액은 3,000 rpm으로 4°C에서 15분

간 원심 분리한 후 혈청을 취하여 자동분석기(INTEGRA 400, Roche, Germany)를 이용하여 검사를 실시하였다. 뇨 검사는 urine glucose, total protein, creatinine, 혈액은 total cholesterol, triglyceride 및 creatinine을 측정하였다. 신장의 중량 측정은 부검 시 개체별로 신장의 중량을 측정하여 체중에 대한 상대 중량 비(%)를 계산하였다.

5. 조직병리학적 검사

부검 시 신장은 적출하여 10% 중성포르말린 고정액에 고정 후 일정한 두께(3 mm)로 삭정한 다음, 일반적인 조직 처리 과정을 거쳐 파라핀으로 포매하여 4 μ m의 조직절편을 제작하였다. 이후 periodic acid-Schiff(PAS, Kim 등 2007) 염색을 하여 광학현미경(Olympus BX50, Olympus Optical Co., Japan) 하에서 신세뇨관의 공포변성과 변성된 세포질 내에서의 PAS 양성 과립의 산재 유무 등을 관찰하였다.

6. 건조누에 동충하초의 생산

동충하초 균주로는 현재 식품으로의 사용이 허가되어 있는 눈꽃동충하초(*Paecilomyces japonica*)와 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps militaris*)를 각각 사용하였다. 각 동충하초 균주를 감자 포도당(Potato Dextrose Broth, PDB) 배지(Difco Co, USA)에 접종하여 25°C에서 7일간 동안 배양하여 종균으로 이용하였다. 동충하초 생산은 5령 3일의 열풍 건조된 누에를 물에 침적하여 하루 동안 방치한 다음 물기를 제거하고, 배양 병[1,100 mL용 반투명 광구 PP병(Φ 9.5 cm×H 20.5 cm)]에 35 g을 넣은 후 121°C에서 15분간 멸균하였다.

멸균된 열풍 건조누에에 미리 조제된 종균을 5% 접종하였다. 균사활착을 위해 25°C의 온도와 암 상태에서 10일간 배양하여 균사를 활착시키고, 동충하초 자실체 발생을 위해서 온도는 19°C, 빛은 150 lux 공급하였다. 30일 정도 경과 후 동충하초 자실체 생육이 완성되면 동결건조를 실시하였다.

7. 시료의 제조

동결 건조한 건조누에 동충하초는 전체를 잘게 절단하고, 30배의 물을 가한 후 121°C에서 30분간 열수 추출하였다. 열수 추출물을 냉각시키고 체로 여과한 상등액은 1/4량으로 농축하고 동결건조하여 연구에 이용하였다. 열풍 건조누에에 눈꽃동충하초(*Paecilomyces japonica*)를 발생시켜 추출한 시료는 PJ-DS군의 식이로 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps militaris*)를 발생시켜 추출한 시료는 CM-DS군의 식이로 이용하였다.

8. 통계처리

모든 시험결과와 평균치와 표준편차(n=7)를 사용하여 나타내었으며, 각 실험군 간의 비교는 ANOVA 및 Student's *t*-test를 사용하였고, 대조군과 비교하여 *p*-value가 5% 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 체중의 변화

실험물질 투여기간동안 체중변화 및 체중증감은 Table 1과 같다. 시험물질 투여전 및 투여 후 주 1회 체중 변화를 측정된 결과, 정상대조군(NC)은 지속적인 체중 증가를 보인 반면, 당뇨대조군(DC)과 시험물질 투여군은 체중 감소를 보였다. 체중증가량에 있어 정상대조군은 시험물질 투여전과 비교 시 시험물질 투여 4주 후 102.3 g이 증가하였으나, 당뇨대조군은 시험물질 투여전과 비교 시 투여 4주 후 22.8 g이 감소하여 11.1% 정도의 감소를 나타내었다. PJ-DS 저용량에서는 235.2±13.6에서 227.4±19.5로 3.3%, 고용량에서는 244.8±13.1에서 238.2±31.5로 2.7%, CM-DS 고용량에서는 237.8±14.8에서 229.4±25.0로 3.5% 감소하였고, DS군에서는 242.5±11.9에서 226.3±27.8로 6.7%로 시료군 중 가장 많은 체중 감소를

Table 1. Effect of PJ-DS and CM-DS on body weight changing in STZ-induced diabetic rats

Group	Dose (mg/kg)	Body weight (g)					Weight gain (g)
		0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	
NC	0	267.2±6.7	289.1±12.3	312.6±12.4	328.6±15.4	369.5±17.5	102.3
DC	0	224.4±12.8**	212.0±14.4**	211.0±16.8**	207.6±18.2**	199.6±20.7**	-22.8
PJ-DS 50	50	235.2±13.6**	222.1±16.0**	220.4±18.8**	219.9±23.4**	227.4±19.5**	-7.7
PJ-DS 250	250	244.8±13.1*	230.9±19.9**	228.9±23.7**	228.3±28.8**	238.2±31.5**	-6.6
CM-DS	250	237.8±14.8**	215.9±20.7**	217.4±22.8**	215.3±26.2**	229.4±25.0**	-8.3
DS	250	242.5±11.9**	229.2±16.2**	230.3±22.1**	227.7±26.5**	226.3±27.8**	-16.2

NC: normal control, DC: diabetic control, PJ-DS: Water extracts of *Paecilomyces japonica* grown on a dried-silkworm, CM-DS: Water extracts of *Cordyceps militaris* grown on a dried-silkworm, DS: Water extracts of dried-silkworm. Significantly different from NC (* *p*<0.01, ** *p*<0.001).

나타내었다. 이와 같이 시험물질 투여 시 STZ 투여로 인한 체중 감소 현상이 어느 정도 억제되는 경향을 보여주었다. 당뇨 발생 시 체중이 감소하는 현상은 췌장의 β 세포의 파괴에 의한 인슐린의 부재 및 작용이 저하되어 혈당조절이 되지 않고, 당이 조직 내로 공급되지 못하여 에너지를 만들기 위해 골격근으로부터 아미노산 유입을 촉진하고, 단백질 대사 작용이 저하되기 때문인 것으로 알려졌다(Pain 등 1974). 본 연구에서도 당뇨유발군은 전반적으로 NC군에 비해 체중이 감소된 것은 당뇨에 의한 퇴행성 대사에 의한 것으로 보인다(Lee 등 1994).

2. 혈당농도의 변화

Streptozotocin에 의해 당뇨 유발된 흰쥐에서 건조누에 동충하초 추출물을 투여 전 및 투여 후 주 1회 혈당을 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. 정상대조군의 경우, 4주 동안 혈당이 $77.0 \pm 7.4 \sim 89.1 \pm 4.4$ mg/dL로 나타났다. 60 mg/kg의 용량으로 STZ를 투여한 당뇨 대조군(DC)의 경우에는 STZ 투여 1주일 후에 126.8 ± 25.5 mg/dL의 고혈당이 유발되었으며, 이후 STZ 투여 4주째에는 392.2 ± 54.8 mg/dL의 고혈당치를 나타내었다. 시험물질 투여군의 경우는 전반적으로 당뇨대조군에 비해 낮은 혈당치를 보였다. PJ-DS 50 mg/kg 투여군은 1주일 후에는 161.9 ± 100.4 mg/dL이었으며, 4주 후에는 379.4 ± 132.0 mg/dL로 나타났다. 시험물질 투여 2주째, 혈당치가 308.8 ± 144.1 mg/dL인 당뇨대조군(DC)과 비교 시 PJ-DS 저용량군, PJ-DS 고용량군, CM-DS 고용량군 및 DS 고용량군에서 각각 273.1 ± 140.0 , 222.8 ± 123.6 , 210.7 ± 105.7 및 229.4 ± 148.9 mg/dL로 낮은

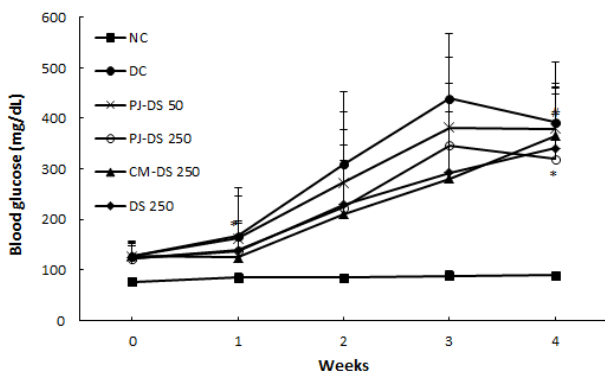


Fig. 1. Effect of PJ-DS and CM-DS on blood glucose level in STZ-induced diabetic rats. NC (■), normal control group, DC (●), diabetic control group, PJ-DS (×), PJ-DS 50 mg/kg group, PJ-DS (○), PJ-DS 250 mg/kg group, CM-DS (▲), CM-DS 250 mg/kg group, DS (◆), DS 250 mg/kg group. Values are expressed as mean \pm S.D. Significantly different from NC ($\#$ $p < 0.05$, $*$ $p < 0.01$, $p < 0.001$).

혈당치를 보였으며, 시험물질 투여 4주째 또한 혈당치가 392.2 ± 54.8 mg/dL인 당뇨대조군과 비교 시 PJ-DS 저용량군, PJ-DS 고용량군, CM-DS 고용량군 및 DS 고용량군에서 각각 379.4 ± 132.0 , 319.7 ± 150.0 , 365.0 ± 95.7 및 341.0 ± 121.2 mg/dL로 낮은 혈당치를 나타내었다. 이러한 결과로 건조누에 동충하초 추출물은 streptozotocin에 의해 유발된 당뇨를 어느 정도 개선하는데 작용하는 것으로 생각된다.

당뇨 유발된 동물에서 혈당이 증가하는 것은 투여한 streptozotocin이 생체내에서 생성된 nitric oxide(NO)가 superoxide anion과 반응하여 생성된 peroxynitrite에 의한 것으로 알려졌다(Matkovics 등 1998). 또한 streptozotocin (STZ)은 동물 체내에서 인슐린을 생산하는 췌장의 베타 세포를 파괴시켜 인슐린 결핍을 발생시키고(Redondo 등 2001), 내당능력 저하로 인한 베타 세포의 민감도를 감소시킨다고 알려져 있다(Portha 등 1979). Jung 등(2009)은 동충하초는 산화적 스트레스 손상에 대한 항산화 활성을 갖는 것으로 보고하였으며, Seo 등(2013)은 동충하초가 당뇨 유발된 실험동물의 혈당을 강하시키며, Jang 등(2004)은 건조 누에분말이 streptozotocin 유발 당뇨 동물에서 혈당 강하 효과가 있는 것으로 보고하였다.

본 연구에서 streptozotocin으로 유도된 당뇨 모델에서 건조누에와 건조누에 동충하초의 혈당저하 효과가 나타났으며, 이들 중 CM-DS 250 mg/kg 군과 PJ-DS 250 mg/kg 군에서 혈당강하 작용이 더 높게 나타남을 알 수 있었다.

3. 혈액생화학적 검사

혈중의 혈액 생화학적 검사결과는 Table 2에 나타내었다. 혈청 총콜레스테롤 비교 시, 정상대조군(NC)은 59.61 ± 13.79 mg/dL이고, 당뇨대조군(DC)에서는 81.98 ± 24.98 mg/dL로 38% 정도 높게 나타났다. 대부분의 당뇨 유발군에서 총 콜레스테롤치가 증가하는 것으로 나타났으며, 당뇨유발군(DC)과 시료투여군 간의 총 콜레스테롤치는 큰 변화는 보이지 않았으나, PJ-DS 고용량군에서는 64.44 ± 18.74 mg/dL로 약 21% 정도 감소하는 것으로 나타났다. 당뇨가 유발된 흰쥐는 탄수화물이 주 에너지원으로 이용되지 못하고, 유리지방산이 에너지로 이용되면서 콜레스테롤을 합성하기 때문인 것으로 알려졌다(Kim 등 2008). 토끼의 연구에서 당뇨 유발된 상태에서는 간의 hydroxymethylglutaryl-CoA(HMG-CoA) reductase의 활성이 감소하고, 장의 HMG-CoA reductase는 활성이 증가하여 장내 콜레스테롤 이동이 증가하여 고콜레스테롤증이 나타나는 것으로 보고하였다(O'Meara 등 1990). PJ-DS 저용량군과 고용량군 및 DS 고용량군 경우에는 각각 78.90 ± 25.77 , 64.44 ± 18.74 및 72.48 ± 11.86 mg/dL를 나타내어 당뇨대조군에 비해 낮은 수치를 나타내었으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았다. Triglyceride의 경우에는 46.27 ± 18.64 mg/dL를 나타낸

Table 2. Effects of PJ-DS and CM-DS on serum total cholesterol, triglyceride and creatinine in STZ-induced diabetic rats (mg/dL)

Group	Dose (mg/kg)	Total cholesterol	Triglyceride	Creatinine
NC	-	59.61±13.79	35.47±16.28	0.53±0.07
DC	-	81.98±24.98*	46.27±18.64**	0.49±0.05**
PJ-DS 50	50	78.90±25.77*	46.73±23.51*	0.54±0.09**
PJ-DS 250	250	64.44±18.74**	39.85±19.31**	0.51±0.06**
CM-DS	250	84.68±12.36**	46.76±14.25**	0.52±0.08**
DS	250	72.48±11.86**	36.22±18.36**	0.49±0.07**

NC: normal control, DC: diabetic control, PJ-DS: Water extracts of *Paecilomyces japonica* grown on a dried-silkworm, CM-DS: Water extracts of *Cordyceps militaris* grown on a dried-silkworm, DS: Water extracts of dried-silkworm. Significantly different from NC (* $p<0.01$, ** $p<0.001$).

당뇨대조군과 비교 시 PJ-DS 고용량군과 DS 고용량군에서 각각 39.85±19.31 mg/dL와 36.22±18.36 mg/dL로 낮은 수치를 보였다. 당뇨병이 발생하면 죽상경화증과 고지혈증이 합병증으로 발생하는데, 고지혈증의 경우는 혈장내의 지방산이 중성지방으로 전환되는 속도가 정상보다 빨리 증가하여 혈장내 중성지방의 농도가 높아지는 것으로 보고되었다(Nikkila 등 1973). 당뇨 발생 시에 혈액 내 중성지방의 증가는 인슐린의 생리작용이 저조하거나, 인슐린 수용체의 수가 적어 인슐린의 생리적 기능의 불충분으로 인해 발생하며(Han 등 2011; Chae 등 2011), 증가된 중성지방은 콜레스테롤을 증가시켜서 여러 가지 당뇨 합병증을 유발하는 것으로 알려졌다(Won 등 2010). 신장의 기능적 마커인 creatinine 함량을 측정된 결과, PJ-DS 고용량군과 CM-DS 고용량군의 경우, 당뇨 대조군(DC)과 비교 시 높은 수치를 보였으나, 유의적인 차이는 나타내지 않았다. 일반적으로는 당뇨군에서 증가한다고 알려졌으나, 본 연구에서는 큰 차이를 나타나지 않는 것으로 조사되었다.

노 중의 creatinine 함량을 측정된 결과는 Table 3에 나타내었다. Creatinine은 체내에서 에너지로 사용된 단백질의 노폐물로서, 이는 혈중으로 유출된 후 신장을 통해 뇨로 배출되는

데, 당뇨병에 걸린 경우, 신장기능의 이상으로 인해 뇨로 배출되지 못하고 혈중에 남아있게 된다. 일반적으로 streptozotocin 처리된 동물 모델에서 혈중이나 뇨 중의 creatinine의 농도가 증가되는 것으로 보고하고 있으나, 본 연구에서는 당뇨유발 모델에서 오히려 감소하는 것은 체중감소에 의한 근육량의 감소에 따른 것으로 여겨진다.

본 연구에서도 당뇨 유발 시 중성지방의 농도가 증가하는 것으로 나타났고, 당뇨 수치를 낮춘 PJ-DS군과 DS군에서는 중성지방의 수치도 감소시키는 것으로 나타났다.

4. 장기무게 변화

실험동물의 신장 무게는 체중 차이에 의한 차이를 최소화하기 위해 체중 100 g 당으로 환산하여 Table 4에 나타내었다. 정상군과 당뇨유발군(DC)은 각각 0.30±0.01(w/w%)과 0.54±0.02(w/w%)로 나타났다. 시료투여군에서는 신장의 무게증가에 대한 큰 변화는 없는 것으로 나타났다. 당뇨가 유발된 흰쥐의 신장이 비대해지는 것은 고혈당에 의해 신장의 사구체 여과율이 증가되어 신장의 크기와 용적이 증가하게 되며(Park 등 2008), 이것은 혈당 조절과 상관성이 있는 것으로 보

Table 3. Effects of PJ-DS and CM-DS on urine total protein and creatinine in STZ-induced diabetic rats

Group	Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Creatinine (mg/dL)
NC	-	0.3±0.1	113.69±23.78
DC	-	0.6±0.1**	63.04±23.62*
PJ-DS 50	50	0.5±0.1*	45.15± 7.48**
PJ-DS 250	250	0.6±0.2*	67.13±21.40*
CM-DS	250	0.7±0.2**	42.37±13.78**
DS 250	250	0.6±0.4#	64.36±44.58**

NC: normal control, DC: diabetic control, PJ-DS: Water extracts of *Paecilomyces japonica* grown on a dried-silkworm, CM-DS: Water extracts of *Cordyceps militaris* grown on a dried-silkworm, DS: Water extracts of dried-silkworm. Significantly different from NC (# $p<0.05$, * $p<0.01$, ** $p<0.001$).

Table 4. Index of kidney hypertrophy in STZ-induced diabetic rats

Group	Dose (mg/kg)	Kidney weight (g)	Body weight (g)	Index of kidney hypertrophy (w/w%)
NC	-	1.11±0.1	369.50±17.5	0.30±0.01
DC	-	1.11±0.2	205.15±17.4	0.54±0.02
PJ-DS 50	50	1.14±0.2	227.44±19.5	0.50±0.05*
PJ-DS 250	250	1.29±0.1	238.22±31.5	0.54±0.05*
CM-DS	250	1.16±0.1	229.44±25.0	0.50±0.04*
DS	250	1.25±0.2	226.27±27.8	0.55±0.04*

NC: normal control, DC: diabetic control, PJ-DS: Water extracts of *Paecilomyces japonica* grown on a dried-silkworm, CM-DS: Water extracts of *Cordyceps militaris* grown on a dried-silkworm, DS: Water extracts of dried-silkworm. Significantly different from NC (* $p < 0.01$).

고되었다(Poulter 1999).

5. 조직병리학적 관찰

육안적으로 정상대조군, 당뇨대조군, STZ 투여 후 시험물질 투여군에서 특기할만한 차이점은 관찰되지 않았다. 병리조직학적 검사 결과, 당뇨 유발물질인 STZ 투여에 의한 주요한 변화가 신세뇨관에서 관찰되었다(Table 5). 조직학적으로 신세뇨관의 공포변성과 변성된 세포질 내에서는 PAS 양성 과립들이 산재되어 있거나 축적되어 있었다. 이러한 변화는 정상대조군에서는 관찰되지 않았으며, 당뇨대조군과 STZ 투여 후 시험물질 투여군에서 관찰되었다. 신세뇨관 공포변성은 NC(정상대조군), DS(250 mg/kg), PJ-DS군(250 mg/kg), PJ-DS군(50 mg/kg), CM-DS군(250 mg/kg), DC(당뇨대조군) 순으로 그 병변의 정도가 심하게 관찰되었다. 기타 산발적으로 발생한 요원주(cast), 유리질방울(hyaline droplet), 세뇨관의 확장(tubular dilatation)은 자연발생적인 소견으로 판단된다.

요약 및 결론

Table 5. Necropsy finding with PAS staining in STZ-induced diabetic rats

Group		NC	DC	PJ-DS	PJ-DS	CM-DS	DS
Organ	Dose (mg/kg)	0	0	50	250	250	250
	No. of animals	7	6	7	6	7	7
Kidney	No. of examined	7	6	7	6	7	7
	Not remarkable	5	0	0	0	0	0
	Remarkable	2	6	7	6	7	7
	- Vacuolation, tubular						
	• minimal	0	1(16.7%)	4(57.1%)	2(33.3%)	3(42.9%)	6(85.7%)
• mild	0	5(83.3%)	3(42.9%)	4(66.7%)	4(57.1%)	1(14.3%)	
- Cast, hyaline, minimal	2	0	0	1	1	2	
- Hyaline droplet, minimal	0	1	0	1	0	0	

NC: normal control, DC: diabetic control, PJ-DS: Water extracts of *Paecilomyces japonica* grown on a dried-silkworm, CM-DS: Water extracts of *Cordyceps militaris* grown on a dried-silkworm, DS: Water extracts of dried-silkworm. Significantly different from NC (* $p < 0.01$).

본 연구는 흰쥐에 streptozotocin(STZ)을 투여하여 제1형 당뇨병 질환 모델을 만들어 건조누에 동충하초 추출물인 PJ-DS, CM-DS 및 DS의 혈당 강하, 지질 대사의 개선 및 신장 기능에 미치는 영향을 조사하기 위해 정상대조군(NC), 당뇨대조군(DC), 시험물질투여군 모두 6군으로 나누어 시험물질을 4주간 투여하였다.

시험물질 투여 4주후의 체중증가는 정상대조군은 102.3 g이 증가하였으나, 당뇨대조군은 시험물질 투여전과 비교 시 22.8 g이 감소하였다. 한편, PJ-DS 저용량군, PJ-DS 고용량군, CM-DS 고용량군 및 건조누에 추출물인 DS 고용량군에서는 각각 7.7, 6.6, 8.3 및 16.2 g이 감소하여 22.8 g이 감소한 당뇨대조군과 비교 시 낮은 체중 감소를 보였으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

시험물질 투여 4주째 또한 혈당치가 392.2±54.8 mg/dL인 당뇨대조군과 비교 시 PJ-DS 저용량군, PJ-DS 고용량군, CM-DS 고용량군 및 DS 고용량군에서 각각 379.4±132.0, 319.7±150.0, 365.0±95.7 및 341.0±121.2 mg/dL로 낮은 혈당치를 나타내었다. 이러한 결과로 건조누에 동충하초 추출물인 PJ-DS

고용량군과 DS 고용량군은 streptozotocin에 의해 유발된 당뇨를 어느 정도 개선하는데 작용하는 것으로 생각된다. 혈액 생화학적 검사에 있어 총콜레스테롤의 경우, 당뇨대조군과 비교 시 PJ-DS 고용량군에서 가장 낮은 수치를, triglyceride의 경우, DS 고용량군에서 가장 낮은 수치를 보였다.

이상의 결과들로부터 STZ 투여에 의한 제1형 당뇨질환 모델에 있어서 PJ-DS 고용량군과 DS 고용량군에서 가장 좋은 혈당강하 효과와 지질대사 개선 효능을 가지는 것으로 생각된다.

References

- Abate N. 2000. Obesity and cardiovascular disease. Pathogenetic role of the metabolic syndrome and therapeutic implications. *J Diabetes Complications* 14:154-174
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. 2003. β -Cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52:102-110
- Castelli WP, Wilson PF, Lery D, Anderson K. 1990. Serum lipids and risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis Rev* 21: 7-19
- Chae HJ, Lee IS, Moon HY. 2011. Effects of *Schizandra chinensis* fruit extract on the hypoglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor Soc Biotechnol Bioeng J* 26:126-130
- Ha YJ, Lee MH, Kwon HO, Lee YH. 2015. Effect of African Mango (*Irvingia gabonensis*, IGOB 131TM) extract on glucose regulation in STZ-induced diabetes. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 44:1607-1611
- Han YK, Park YK. 2011. Effect of *Atractylodis rhizoma alba* water extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Kor J Herbol* 26:23-30
- Jang MJ, Rhee SJ. 2004. Hypoglycemic effects of pills made of mulberry leaves and silkworm powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 33:1611-1617
- Jung SH, Lee YS, Lim SS, Kim YS, Lee SH, Shin KH. 2009. Hepatoprotective and antioxidant capacities of *Paecilomyces japonica* and *Cordyceps sinensis* in rats with CCl_4 -induced hepatic injury. *Kor J Horticult Sci & Tech* 27:668-672
- Kim DY, Ryu SY, Lim JE, Lee YS, Ro JY. 2007. Anti-inflammatory mechanism of simvastatin in mouse allergic asthma model. *Eur J Pharmacol* 557:76-86
- Kim KH, Son DH, Lee JS, Lee JW, Kim HS, Lee JH, Lee MC, Kim NS, Song SW. 2013. Anti-diabetic studies of mass cultured mycelia from *Ganoderma applanatum* in db/db mice and human. *Kor J Food & Nutr* 26:366-374
- Kim SH, Kang JS, Lee SJ, Chung YJ. 2008. Antidiabetic effect of Korean red ginseng by puffing process in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 37:701-707
- Kinjo N, Kaizu, Y, Taketomo N, Tsunoo A. 1996. Physiological activities of the extracts from cultured mycelial of *Cordyceps militaris* (Vuill.) Fr. *Bull Gen Educ Tokyo Med Dent Univ* 26:7-14
- Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. 1994. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 27:817-827
- Lee JW. 1999. Biological activity of *Cordyceps* spp. *Kor Soc Food and Nutri Symposium Proceeding Report* pp.61-69
- Matkovic B, Kotorman M, Varga IS, Hai DQ, Varga C. 1998. Oxidative stress in experimental diabetes induced by streptozotocin. *Acta Physiol Hung* 85:29-38
- Nikkila EA, Kekki M. 1973. Plasma triglyceride transport kinetics in diabetes mellitus. *Metabolism* 22:1-22
- Ohtani KI, Shimizu H, Sato N, Mori M. 1998. Troglitazone (CS-045) inhibits beta-cell proliferation rate following stimulation of insulin secretion in HIT-T 15 cells. *Endocrinol* 139: 172-178
- O'Meara Nmg, Devery RAM, Owens D, Collins PB, Johnson AH, Tomkin GH. 1990. Cholesterol metabolism in alloxan-induced diabetic rabbit. *Diabetes* 39:626-633
- Pain VM, Garlick P. 1974. Effect of streptozotocin diabetes and insulin treatment on the rate of protein synthesis in tissues of the rat *in vivo*. *J Biol Chem* 249:4510-4514
- Park CH, Hong JH, Kim JO, Lee GD. 2008. Single oral-dose toxicity of *Bulnesia sarminenti* single and mixed extracts in Sprague-Dawley rats. *Kor J Lab Anim Res* 24:83-86
- Portha B, Picon L, Rosselin G. 1979. Chemical diabetes in the adult rat as the spontaneous evolution of neonatal diabetes. *Diabetologia* 17:371-377
- Poulter N. 1999. Coronary heart disease is a multifactorial disease. *Am J Hypertens* 12:S92-S95
- Redondo MJ, Fain PR, Eisenbarth GS. 2001. Genetics of type 1A diabetes. *Recent Prog Horm Res* 56:69-89
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. 2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*

52:581-587

- Ryu KS, Lee HS, Kim SY. 1999. Pharmacodynamic study of silkworm powder in mice administration to maltose, sucrose and lactose. *Kor J Seric Sci* 41:9-13
- Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, Golden SH. 2004. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 141:421-431
- Seo DS, Kang JK, Jeong MH, Kwon M, Park CB. 2013. Anti-diabetic effects of *Isaria tenuipes* in OLETF rats as an animal model of diabetes mellitus type II. *J Food Hyg Safety* 28:152-157
- Sung JM, Lee HK, Yoo YJ, Choi YS, Kim SH, Kim YO, Sung GH. 1998. Classification of *Cordyceps* species based on protein banding pattern. *Kor J Mycol* 26:1-7
- Won HJ, Lee HS, Kim JT, Hong CO, Koo YC, Lee KW. 2010. The anti-diabetic effects of kocat-d1 on streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Food Sci Technol* 42:204-209
- Yamanaka K, Inatomi S, Hanaoka M. 1998. Cultivation characteristics of *Isaria japonica*. *Mycoscience* 39:43-48

Received 13 March, 2017

Revised 18 May, 2017

Accepted 21 June, 2017