

## 하고초추출물의 갑상선기능항진증 랫트모델에서의 한열조절작용에 의한 개선효능 연구

강안나<sup>1#</sup>, 강석용<sup>1</sup>, 맹상용<sup>1</sup>, 마준남<sup>1</sup>, 박종훈<sup>1,2</sup>, 박용기<sup>1,2\*</sup>

1 : 동국대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 동국대학교 한방신약개발센터

### Effects of *Prunellae Spica* Extract on LT4-induced Hyperthyroidism in Rats through the Regulation of Heat and Cold Imbalance

An Na Kang<sup>1#</sup>, Seok Yong Kang<sup>1</sup>, Xianglong Meng<sup>1</sup>, Junnan Ma<sup>1</sup>,  
Jong Hun Park<sup>1,2</sup>, Yong-Ki Park<sup>1,2\*</sup>

1 : Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University

2 : Korean Medicine R&D Center, Dongguk University

#### ABSTRACT

**Objective :** This study was intended to examine the effects of water extract of *Prunellae Spica* (PS), which is a herb with 'cold' nature based on hot and cold theory of traditional Korean medicine.

**Methods :** Hyperthyroidism was induced in SD rats by LT4 (0.5 mg/kg, i.p.) daily for four weeks. After 2 weeks of LT4 injection, rats were divided randomly into four groups; normal, LT4-induced hyperthyroid control, PS extract (500 mg/kg, p.o.)-treated group, and propylthiouracil (PTU, 10 mg/kg, s.c.)-treated positive group. After 2 weeks of drug treatment, all rats were sacrificed and harvested blood samples and thyroid tissues. The changes of body weight, food and water intake, and body temperature were measured weekly. Serological markers were analyzed in sera using an enzyme-based assay, and thyroid tissues were stained with Hematoxylin & Eosin (H&E). Brain and dorsal root ganglion (DRG) tissues were isolated and analyzed the expression of transient receptor potential (TRP) channels by Western blot.

**Results :** PS extract administration attenuated the loss of body weight and the increase of body temperature in LT4-induced hyperthyroidism rats. PS extract increased the level of thyroid stimulating hormone (TSH) and decreased triiodothyronine (T3) and tetraiodothyronine (T4). In action mechanism, PS extract regulated the expression of transient receptor potential channel subfamily V member 1 (TRPV1) and transient Receptor Potential channel subfamily M member 8 (TRPM8), the thermoregulators.

**Conclusion :** To conclude, PS extract can improve the symptoms of hyperthyroidism through regulation of the thyroid hormones imbalance and thermoregulation via TRP channels.

**Key words :** *Prunellae Spica*, LT4, Hyperthyroidism, Thyroid hormones, Thermoregulation, TRPV1, TRPM8

## I. 서 론

갑상선기능항진증(Hyperthyroidism)은 갑상선호르몬의 지

속적인 합성과 분비로 인해 혈중 갑상선호르몬의 농도가 과도하게 높아진 갑상선 중독증의 증상을 나타내는 상태를 의미한다<sup>1)</sup>. 갑상선기능항진증은 갑상선 세포의 과다증식 혹은 그레

\*Corresponding author : Yong-Ki Park, Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University.

· Tel : +82-54-770-2661 · Fax : +82-54-770-2647 · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr

#First author : An Na Kang, Department of Herbology, College of Korean Medicine, Dongguk University.

· Tel : +82-54-770-2647 · Fax : +82-54-770-2647 · E-mail : ank4200@gmail.com

· Received : 11 June 2018 · Revised : 10 July 2018 · Accepted : 25 July 2018

이브스병(Grave's disease)이나 뇌하수체에 이상이 생겨 갑상선자극호르몬(thyroid stimulating hormone, TSH)이 과다 분비될 때 주로 유발되는 것으로 알려져 있다<sup>1)</sup>. 갑상선호르몬은 에너지 호르몬으로 기초적인 기질, 비타민, 호르몬교체 등에 영향을 끼치며 열에너지의 원천이 되는데 증가 정도에 따라 임상 증상이 다르게 나타나며, 기초대사율 증가, 발한 증가, 심박출량 증가와 고혈압 발생에 따른 빈맥, 체온 증가 등 전신에 걸쳐 대사항진 증상이 나타나게 된다<sup>1,2)</sup>.

갑상선기능항진증의 치료법은 약물과 수술 요법으로 나눌 수 있으며, 약물요법은 TSH의 생성을 억제하는 항갑상선제(propylthiouracil, methimazole)를 사용하는데 중단 시 재발률이 매우 높고, 피부발진, 발열, 두드러기, 관절통 등의 부작용이 알려져 있다<sup>2)</sup>. 수술요법은 갑상선을 절제하거나 방사성 동위원소를 이용한 치료법으로써 수술 이후에도 약물을 평생 복용해야 하고, 갑상선 조직이 절제되어 더 이상 스스로 갑상선호르몬을 생산해낼 수 없으므로 후에 갑상선기능저하증이 유발될 가능성이 매우 높다는 단점이 있다<sup>1-3)</sup>.

한의학에서 갑상선기능항진증은 임상 증상에 따라 갑상선이腫大되어 혹이 생긴 것은 癭瘤, 癭, 兎眼, 心悸亢進, 不整脈, 驚悸의 범주로 본다<sup>4)</sup>. 가슴이 울렁거리고 불안증이 생기는 정충(怔忡), 섭취량은 증가하는 반면 음수량은 줄어드는 다식(多食), 소수(消瘦)한 증상은 소갈(消渴)의 범주로 분류하며, 경부의 갑상선 연골부인 결후(結喉) 양측에 생기는 발병 위치에 따라 대부분 영(癭)에 포함시키고 있다<sup>5)</sup>.

한약을 이용한 한의학적 치료법은 한약의 약물학적 성질을 陰陽을 기준으로 四氣의 寒熱溫涼으로 구분하고, 병증의 진단과 치료의 기준을 寒熱辨證을 이용한 寒證과 熱證으로 나누어 약물의 寒熱溫涼 藥性を 통해 치료하게 된다<sup>3)</sup>. 현대 질병인 갑상선기능항진증은 한열개념에서 陰陽 중에 陽, 寒熱 중에 熱에 해당한다고 할 수 있으며, 肝鬱氣滯, 心陰虧損, 氣血虛弱, 痰濕凝結 등을 변증으로 보고 치료하게 된다<sup>6,7)</sup>. 따라서 갑상선기능이상증은 한열의 불균형으로 진단할 수 있고 한열의 균형을 조절하는 약물로 치료할 수 있다고 볼 수 있다.

하고초(夏枯草, *Prunellae Spica*, PS)는 다년생 풀풀(*Prunella vulgaris* Linne var. *lilacina* Nakai)의 꽃 이삭(果穗)부분으로 性味는 辛苦 寒하고 귀경은 肝膽經이므로 肝氣, 특히 肝火를 淸하는 효능이 있고, 특히 밤에 눈이 아픈 目珠夜痛, 빛에 눈을 똑바로 뜨지 못하는 羞明流淚와 같은 증상에 효과가 있으며, 鬱結, 癭瘤를 풀어주고, 口眼喎斜, 乳癌, 癩癧 등의 증상을 치료하는 데에 사용하는 것으로 알려져 있다<sup>8)</sup>. 하고초 효능에 대한 현대 약리연구로는 항비만과 항산화<sup>9)</sup>에 대한 효과가 보고 되어있고, 유방암, 대장암에서의 항암효과<sup>10-12)</sup>와 면역기능 개선효과<sup>13)</sup>가 보고된 바 있다.

현재까지는 갑상선기능항진증 연구는 대부분 병태생리 이해 및 임상치료에 대한 연구<sup>14-19)</sup>가 중심이고 한의학적 본초학이론에 기초한 갑상선기능항진증 개선에 대한 효능연구는 매우 미비한 실정이다. 중국에서 갑상선기능항진증 환자들 중 간의 과한 활성과 관련하여 치료효과가 있는 본초에 관한 연구가 2011년 보고된 바 있고<sup>20)</sup>, 국내에서는 1991~2년도에 하고초를 이용하여 갑상선기능항진증을 유발한 백서에 대해 효과를

연구해 본 논문들이 발표되어있다<sup>21-23)</sup>. 따라서 본 연구에서는 한열변증이론을 바탕으로 한성을 가진 하고초가 열증을 나타내는 갑상선기능항진증에서의 개선 효능과 작용기전을 검증하고자 하며, 하고초의 寒性으로 체온조절을 통한 갑상선기능항진증 개선효과는 본 연구에 의해 처음 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 약재

본 실험에 사용된 하고초(*Prunellae Spica*; PS)는 광명당 제약(울산, 한국)으로부터 표준약재를 구입한 뒤 동국대학교 한의과대학 본초학교실의 박용기교수가 동정하여 추출물 제조에 사용하였다.

#### 2) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약으로는 6-Propyl-2-thiouracil (PTU; Sigma-Aldrich, CA, USA), Levothyroxine(L-thyroxine; Sigma-Aldrich), Hematoxylin & eosin(H&E) solution(Seoulin Biosciences Co., Seoul, Korea), Isofluorane (ABBVIE Limited, UK), thyroid stimulating hormone (TSH), T3, T4 enzyme-linked immunoassay (ELISA) kit (Cusabio, China) 등을 사용하였으며, 사용된 기기로는 현미경(LEICA, Wetzler, Germany), 자동혈액분석기(FDC7000i, Fujifilm Co., Japan), ELISA reader(ASYS, Austria), 추출기(Heating mantle: Daihan scientific, Korea), 회전식감압농축기(Eyela Co., Ltd, Japan), 동결건조기(Ilshin Lab Co., Ltd, Korea), 자동광검장치(ChemiDoc; Biorad, USA) 등이 있다.

#### 3) 실험동물

실험동물은 5주령 Sprague-Dawley(SD)계 수컷 랫트(rat, 180-190g)를 (주)코아텍(경기도, 한국)로부터 공급받아 1주일 간 순화한 후 갑상선기능항진증 동물모델 제작에 사용하였다. 순화기간을 포함한 모든 실험기간 동안 12h light:12h dark의 명암 주기로 23±2℃ 온도, 50±10% 습도를 유지하였으며, 일정 고형사료(14% protein; Harlan teklad, USA)와 정수된 물을 제공하고 자유 섭취시켰다. 모든 실험동물은 식약처 동물보호법 13조 및 동국대학교 동물실험윤리위원회 심의(IACUC-2016-006)에 따라 관리 및 실험하였다.

### 2. 방법

#### 1) 하고초추출물 제조

하고초추출물은 하고초 200 g에 정수된 물 2L를 넣고 추출기(Heating mantle, Daihan Scientific, Korea)를 사용하여 95℃에서 3시간동안 1차 추출한 후 같은 비율로 2차 추출을

실시하였다. 추출물은 1호 와트만 거름종이(Whatman paper filter No.1)로 거르고, 회전식 감압농축기를 이용하여 농축한 후 동결건조기를 이용하여 건조시켰다. 이때 수율은 8.56%였다. 하고초추출물(PS)은 냉동 보관하면서 실험 직전 생리식염수에 적정 농도로 완전 용해시킨 후 경구 투여를 위한 약물로 사용하였다.

2) 갑상선기능항진증 동물모델 제작 및 약물 투여

갑상선기능항진증 유발을 위해 Levothyroxine(LT4, 0.5 mg/kg/body weight)을 1% DMSO에 희석한 후 랫트 각 마리당 1 ml 용량으로 매일 1회 4주 간 복강 주사하였다. 실험군은 정상군, LT4 투여 대조군, 하고초추출물 투여군 및 항갑상선제인 PTU 투여 약물대조군으로 나누었으며, 각 그룹 당 5마리씩 사용하였다. 정상군은 LT4 대신 생리식염수를 동일 방법으로 복강 주사하였다. 하고초추출물 투여군은 몸무게 1 kg 당 500 mg으로 용량으로 생리식염수에 녹인 후 마리당 1 ml을 LT4 투여 2주 후 3주 째 부터 매일 1회 2주 간 경구 투여하였다. 대조약물인 PTU는 몸무게 1 kg 당 10 mg 용량을 생리식염수에 녹인 후 마리당 1 ml 양으로 등 부위 경부에 매일 1회 피하 주사하였다. 경구시점이 완료 된 후 모든 실험동물을 의료용 산소/아산화질소를 혼합한 isoflurane을 흡입하게 하여 완전히 마취시킨 후에 희생시켰다.

3) 생리학적 변화 평가

모든 동물은 1 마리 당 1 케이지에 사육하고, 총 4주의 실험 기간 동안 매주 1회 개체 별 체중, 섭식량, 음수량 및 체온 변화를 측정하였다. 체중은 전자저울을 이용하여 측정하였으며, 섭식량과 음수량은 동일한 양의 사료와 정수된 물을 공급한 후 7일 간의 변화량을 매스실린더 및 저울로 측정하였다. 체온은 매주 1회 실험동물을 보정한 후 직장체온계를 이용하여 측정하였다.

4) 혈액학적 변화 평가

4주 간의 실험 종료 후 모든 실험동물을 희생시키고 복대 정맥으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액은 4℃, 6,000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 -80℃에 동결 보관하면서 갑상선호르몬(TSH, T4, T3) 및 각종 혈액마커들(AST, ALT, Glucose, Total cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol)의 측정을 위한 시료로 사용하였다. 혈청 내 갑상선호르몬의 농도는 면역효소반응법(ELISA)을 이용하여 측정하였으며, 각 혈액마커들의 농도를 자동혈액분석기를 이용하여 측정하였다.

5) Western Blot

모든 실험동물로부터 척수후근신경절(dorsal root ganglia, DRG)과 간뇌(diencephalon) 조직을 적출한 후 마쇄액을 제조하여 말초조직의 온도조절센서인 온도감수성일시적전위통로(transient receptor protien, TRP) 채널(channel) 단백질들(TRPV1, TRPM8)의 발현 변화를 Western blot 방법으로 관찰하였다. 먼저 DRG와 뇌 조직에 RIPA buffer를 넣고

homogenizer를 이용하여 마쇄한 후 4℃, 14,000rpm에서 20분 동안 원심 분리하였다. 상청액을 수집하여 Bradford's assay 용액으로 단백질의 농도를 측정한 후 30 µg 단백질을 SDS-PAGE 분리하였다. 이를 nitrocellulose membrane에 transfer한 후 5% skim milk에 담겨 상온에서 3시간 동안 blocking 하였다. 여기에 5% skim milk에 희석한 각 단백질의 1차 항체와 4℃에서 하룻밤 반응시켰으며, 1x TBST buffer(Tris-buffered saline, 0.1% Tween 20, pH 7.5)를 이용하여 15분씩 3회 세척한 후 HRP-conjugated 2차 항체와 실온에서 3시간 반응시켰다. 이를 다시 1x TBST로 3회 세척한 후 ECL 용액으로 염색하고 자동검출기를 이용해서 단백질의 발현도를 확인하였다. 각 단백질 밴드는 Image J program(NIH, USA)을 이용하여 Actin의 발현도와 비교한 발현 비율로 계산하였다.

6) 통계분석

모든 실험결과는 GraphPad Prism 5.0 분석프로그램(GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)을 이용해 histogram으로 나타내었고, 군 간 유의성을 one-way ANOVA와 Turkey's test를 통해 검증하여 95% confidence interval 이상인 경우를 유의성 있는 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 생리적 변화에 대한 효과

체중변화에서는 정상군(Nor)에 비해 LT4 투여로 갑상선기능항진증이 유발된 대조군(Cont)에서 체중 증가의 유의적인 감소가 관찰되었다. 하고초추출물의 투여(PS)는 대조군에 비해 유의적인 체중 증가가 나타났으며, 하고초추출물 투여군(PS)과 PTU 투여군(PTU) 간 유의적인 체중 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1A). 섭식량 변화에서는 정상군에 비해 갑상선기능항진증 유발 대조군(Control)에서 유의적인 증가가 나타났으며, 하고초추출물과 PTU 투여군은 대조군에 비해 섭식량이 다소 감소하는 것으로 관찰되었다(Fig. 1B). 음수량은 정상군에 비해 대조군에서 유의적인 증가를 나타냈으며, 하고초추출물 투여에 의해 유의적으로 감소하였다(Fig. 1C). 따라서 하고초추출물은 갑상선기능항진증에 의한 섭식량과 음수량의 증가를 억제하며, 체중 변화에는 영향 주지 않는 것으로 나타났다.

2. 체온 변화에 대한 효과

체온변화에서는 정상군(Nor)에 비해 LT4 투여로 갑상선기능항진증이 유발된 대조군(Cont)에서 체온의 유의적인 증가가 나타났다. 하고초추출물 투여(PS)와 PTU 투여군(PTU)에서는 대조군(Cont)에 비해 유의적인 체온감소를 나타내었다(Fig 2). 따라서 하고초추출물은 갑상선기능항진증 모델에서의 체온을 유의미하게 감소시키는 것으로 나타났다.

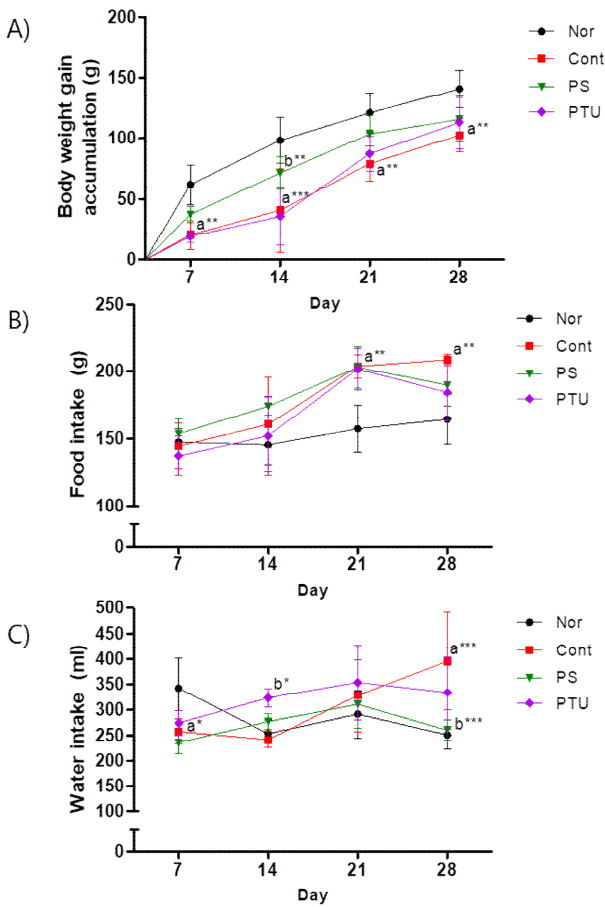


Fig. 1. Effects of *Prunellae Spica* (PS) extract on the physiological changes in hyperthyroidism rats. PS extract or PTU was administrated for 14 days in LT4-induced hyperthyroidism rats with continued LT4 injection. Body weight change (A), food (B) and water (C) intake were measured once a 7 day for 28 days. Data are shown in mean  $\pm$  SD (n=5 per a group). \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 and \*\*\*P < 0.001 compared with normal (a) or control (b). Nor, Normal group; Cont, LT4-induced hyperthyroidism group; PS, PS extract (500 mg/kg)-administrated group; and PTU, PTU (10 mg/kg)-treated group.

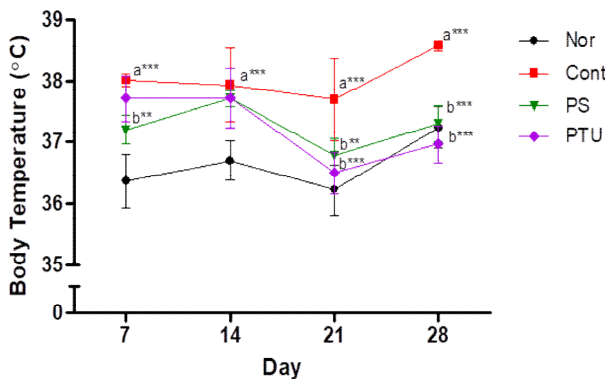


Fig. 2. Effects of *Prunellae Spica* (PS) extract on the body temperature changes in hyperthyroidism rats. S extract or PTU was administrated for 14 days in LT4-induced hyperthyroidism rats with continued LT4 injection. The body temperature was measured once a 7 day for 28 days. Data are shown in mean  $\pm$  SD (n=5 per a group). \*\*P < 0.01 and \*\*\*P < 0.001 compared with normal (a) or control (b). Nor, Normal group; Cont, LT4-induced hyperthyroidism group; PS, PS extract (500 mg/kg)-administrated group; and PTU, PTU (10 mg/kg)-treated group.

### 3. 갑상선 호르몬 분비 변화에 대한 효과

갑상선기능항진증 유발에 따른 갑상선 호르몬의 변화에 대한 하고초추출물의 효과를 확인하기 위해 혈청으로부터 TSH, T3, T4의 농도를 측정하였다. 그 결과, 정상군(Nor)에 비해 LT4 투여로 갑상선기능항진증이 유발된 대조군(Cont)에서 TSH 농도가 유의적으로 감소하였으며, 하고초추출물의 투여(PS)와 PTU의 투여(PTU)에 의한 유의적 변화는 관찰되지 않았다 (Fig 3A). 반면, T3와 T4 변화에서는 정상군에 비해 대조군에서 유의적인 증가가 관찰되었고, 하고초추출물과 PTU 투여군에서는 모두 대조군에 비해 유의적인 감소를 나타내었다 (Fig. 3B, C). 따라서 하고초추출물은 갑상선기능항진증에 의한 갑상선호르몬 T3와 T4의 증가를 감소시킴으로 갑상선 호르몬의 불균형을 조절할 수 있는 것으로 나타났다.

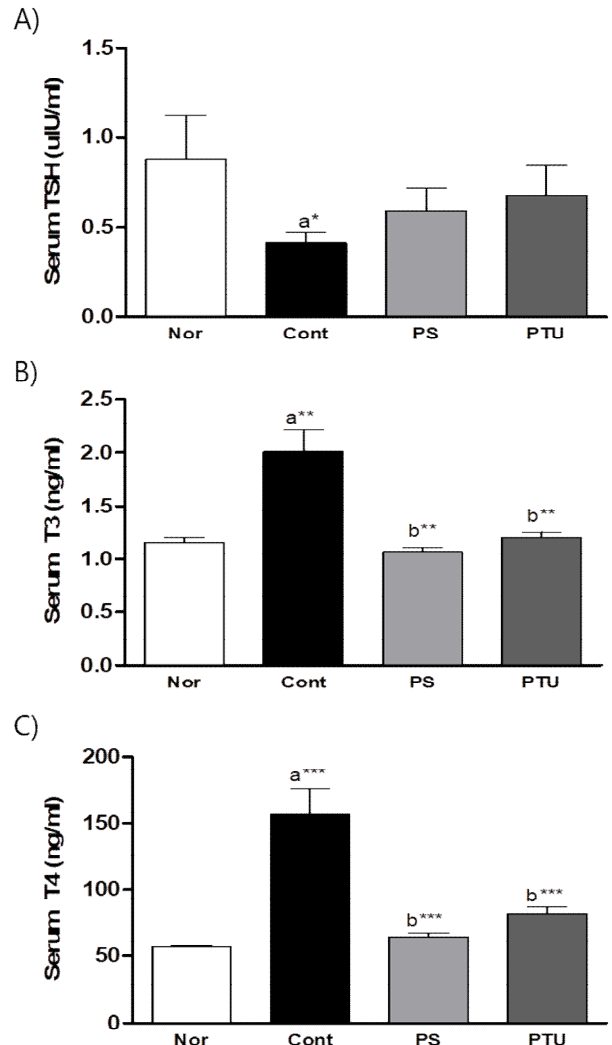


Fig. 3. Effects of *Prunellae Spica* (PS) water extract on the thyroid hormone changes in hyperthyroidism rats. PS extract or PTU was administrated for 14 days in LT4-induced hyperthyroidism rats with continued LT4 injection. Changes of serum TSH (A), changes of serum T3 (B) and changes of serum T4 (C). The hormone levels were measured from the sera after the experiment. Data points are shown in mean  $\pm$  SD (n=5 per a group). \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 and \*\*\*P < 0.001 compared with normal (a) or control (b). Nor, Normal group; Cont, LT4-induced hyperthyroidism group; PS, PS extract (500 mg/kg)-administrated group; and PTU, PTU (10 mg/kg)-treated group.

#### 4. 혈액마커 변화에 대한 효과

혈액마커 변화에서는 LT4 투여에 의해 갑상선기능항진증이 유발된 대조군(Cont)에서는 정상군(Nor)에 비해 AST, ALT의 유의적 증가가 나타났으며, 하고초추출물의 투여군(PS)과 PTU의 투여군(PTU)에서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 4A, B).

Glucose의 변화에서는 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 감소하였고, 하고초추출물 투여(PS)와 PTU 투여(PTU)에 의한 유의적인 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 5).

총콜레스테롤(total cholesterol) 농도는 정상군에 비해 대조군에서 유의적인 감소가 관찰되었고, PTU 투여군(PTU)에서만 유의적인 증가가 나타났다(Fig. 6A). 중성지방(triglyceride)에서는 정상군에 비해 대조군에서 증가하였고 하고초추출물 투여에 의해 감소하였으나 유의적인 결과를 얻지는 못하였다(Fig. 6B). 고밀도 콜레스테롤(HDL-cholesterol)은 정상군과 대조군 간 유의성은 없었으나 하고초추출물 투여군(PS)에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며 (Fig. 6C), 저밀도 콜레스테롤(LDL-cholesterol)은 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 감소하였고 이는 PTU 투여(PTU)에 의해 유의적으로 증가하였다(Fig. 6D) 따라서 하고초추출물은 갑상선기능항진증에서 고밀도-콜레스테롤을 증가시키는 데 유의적인 효과가 있는 것으로 나타났다.

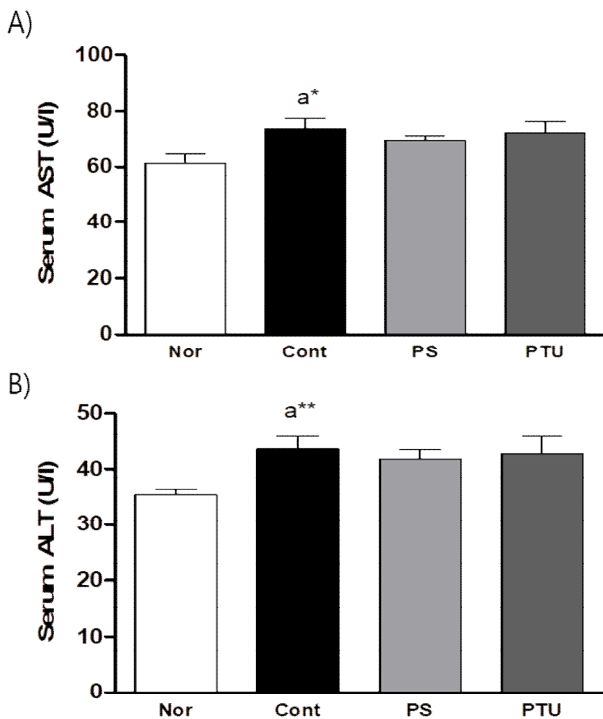


Fig. 4. Effects of *Prunellae Spica* (PS) extract on AST and ALT levels in LT4-induced hypothyroidism rats. PS extract or PTU was administered for 14 days in LT4-induced hyperthyroidism rats with continued LT4 injection. The levels of AST (A), changes of ALT (B) were measured in the sera of rats after the experiment. Data points are shown in mean  $\pm$  SD (n=5 per a group). \*P < 0.05 and \*\*P < 0.01 compared with normal (a). Nor, Normal group; Cont, LT4-induced hyperthyroidism group; PS, PS extract (500 mg/kg)-administrated group; and PTU, PTU (10 mg/kg)-treated group.

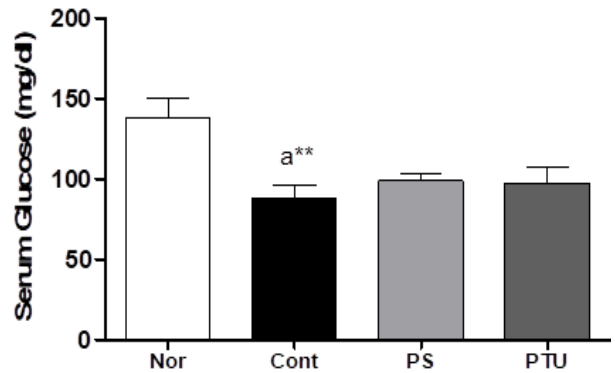
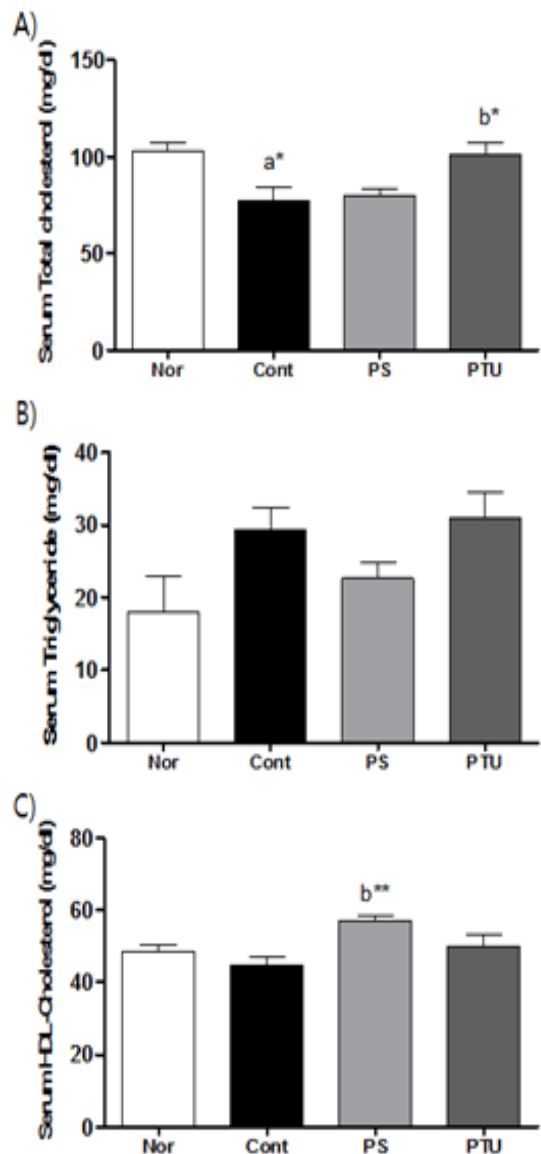


Fig. 5. Effects of *Prunellae Spica* (PS) extract on glucose levels in LT4-induced hypothyroidism rats. PS extract or PTU was administered for 14 days in LT4-induced hyperthyroidism rats with continued LT4 injection. The glucose levels were measured in the sera of rats. Data points are shown in mean  $\pm$  SD (n=5 per a group). \*\*P < 0.01 compared with normal (a). Nor, Normal group; Cont, LT4-induced hyperthyroidism group; PS, PS extract (500 mg/kg)-administrated group; and PTU, PTU (10 mg/kg)-treated group.



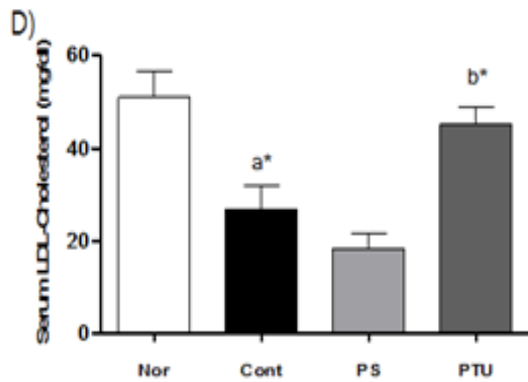


Fig. 6. Effects of *Prunellae Spica* (PS) extract on the changes of lipid metabolites in LT4-induced hyperthyroidism rats. PS extract or PTU was administrated for 14 days in LT4-induced hyperthyroidism rats with continued LT4 injection. The levels of total cholesterol (A), triglyceride (B), HDL-cholesterol (C), and LDL-cholesterol (D) were measured in the sera of rats. Data are shown in mean±SD (n=5 per a group). \*P < 0.05 and \*\*P < 0.01 compared with normal (a) or control (b). Nor, Normal group; Cont, LT4-induced hyperthyroidism group; PS, PS extract (500 mg/kg)-administrated group; and PTU, PTU (10 mg/kg)-treated group.

### 5. 체온조절채널 단백질 발현에 대한 효과

갑상선기능항진증 유발에 따른 체온 증가와 하고초추출물의 체온 조절 기전을 확인하기 위해 말초조직의 온도감지센서인 TRPV1과 TRPM8 채널 단백질 발현을 뇌와 DRG 조직에서 Western blot으로 확인하였다. 그 결과 정상군(Nor)에 비해 LT4 투여 갑상선기능항진증 유발군(Cont)의 DRG 조직에서 TRPV1 발현이 유의적으로 증가하였으며, TRPM8 발현은 유의적으로 감소하였다. 하고초추출물(PS) 투여군과 PTU 투여군에서는 모두 대조군에 비해 TRPV1의 발현을 유의적으로 감소시키고 TRPM8 발현이 유의적으로 증가하였다(Fig. 7A).

또한 뇌 조직에서도 정상군에 비해 대조군에서 TRPV1의 유의적인 증가와 TRPM8의 유의적인 감소가 관찰되었으며, 하고초추출물과 PTU의 투여는 대조군에 비해 TRPV1의 발현을 유의적으로 감소시키고, 대조군에 비해 TRPV1 발현이 유의적으로 감소하였고, TRPM8의 발현을 유의적으로 증가시켰다(Fig. 7B).

따라서 하고초추출물은 갑상선기능항진증에서 뇌와 DRG의 TRPV1, TRPM8 발현 조절을 통해 체온을 조절할 수 있는 것으로 나타났다.

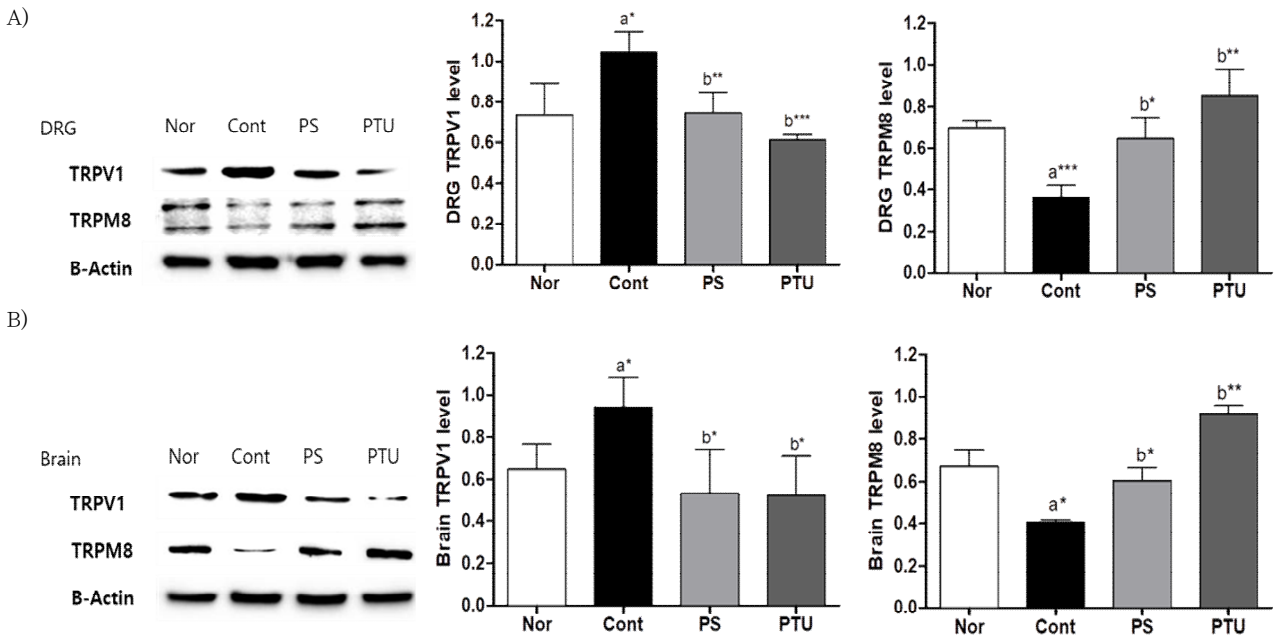


Fig. 7. Effects of *Prunellae Spica* (PS) water extract on the expression of TRPV1 and TRPM8 in brain and DRG tissues of LT4-induced hyperthyroidism rats. PS extract or PTU was administrated for 14 days in LT4-induced hyperthyroidism rats with continued LT4 injection. The expression of TRPV1 and TRPM8 proteins was determined in DRG (A) and brain (B) tissues by Western blot, respectively.  $\beta$ -Actin was used as an internal control. Data are shown in mean±SD (n=5 per a group). \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 and \*\*\*P < 0.001 compared with normal (a) or control (b). Nor, Normal group; Cont, LT4-induced hyperthyroidism group; PS, PS extract (500 mg/kg)-administrated group; and PTU, PTU (10 mg/kg)-treated group.

## IV. 고찰

갑상선기능항진증은 인체가 계속해서 뇌하수체전엽으로부터 분비된 갑상선자극호르몬(TSH)의 자극에 의해 T3/T4 ratio가 과하게 말초에서 전환되어 필요이상으로 에너지를 생산하고

소비하는 상태가 되며<sup>1,4,24,25)</sup> 이는 한의학의 陰陽辨證에서 陽證에 해당하고, 寒熱辨證에서 熱證의 범주에 속하고 경부의 結喉部位에 혹이 생기는 증상을 보이는 경우가 있으며 한의학에서는 癭病의 범주에 해당한다. 갑상선기능항진증의 병리기전으로는 기가 허약하여 답습이 몸 안에서 막혀 사기로 인한

독이 들어온 濕痰流注로 된 것이 있고, 기혈과 어혈이 뭉치고 탁해지는 痰氣結成, 氣血凝結, 瘀血濁氣痰滯이 있으며, 열이 나고 간기가 지나치게 왕성해져 머리가 어지럽고 얼굴과 눈이 충혈되고 조급증이 생기는 濕熱, 肝火로 인하여 생기기도 하며, 심장, 간, 신장의 기와 음기가 다 허해지는 氣陰兩虛, 心肝腎陰虛 등으로 해석하고 있다. 따라서 치료법은 消癭散結, 理氣化痰을 바탕으로 活血化痰, 平肝瀦陽, 寧心安神, 滋陰降火 등의 약물을 활용하게 된다<sup>3,5,6,22</sup>. 현재까지 한약을 이용한 갑상선기능항진증 조절에 대한 실험연구사례를 통해 六鬱湯<sup>27</sup>, 海藻玉壺湯<sup>28</sup>, 玄蔘<sup>29</sup>, 夏枯草<sup>2,20-23</sup> 등 다양한 한약이 실험적으로 갑상선기능항진증의 증상개선에 호전적인 영향을 줄 수 있는 것으로 보고되었다.

한약 치료약리기전은 음양을 기준으로 한약의 약물학적 특성을 寒熱溫涼의 四氣로 나누고 질병을 한열변증으로 진단하여 한증과 열증을 치료하게 된다. 이와 같이 한약 약성의 사기는 한과 열의 두 가지 요소로 대별되며 체온 조절과 매우 밀접하게 연관되어 있다. 따라서 한약의 한열개념은 현대 갑상선기능이상에 따른 인체 온도 조절 및 대사 균형 유지와 연관하여 해석할 수 있으며, 이는 한열약성을 이용한 치법은 인체 대사 불균형 조절에 효과적일 수 있음을 의미한다<sup>32,33</sup>. 본 연구에서는 단편적인 한약의 효능 연구에서 더 나아가, 한열개념을 바탕으로 한성약에 해당하는 하고초의 갑상선기능항진증에서의 체온 조절효과와 기전을 검증함으로써 한성약이 열증인 갑상선기능항진증을 개선시키는 약재로서의 활용 타당성을 평가해보고자 하였다.

LT4는 갑상선기능저하증에 주로 처방되는 갑상선호르몬제이므로 정상 상태에서의 지속적인 투여는 혈청 내 T4의 농도의 증가와 활성형으로 전환된 T3의 농도를 증가시켜 갑상선호르몬 증독에 따른 갑상선기능항진증을 유발시키게 된다<sup>32,33</sup>. 따라서 본 연구에서는 랫트에 4주 간 매일 1회 LT4를 복강 투여함으로써 갑상선기능항진증이 유발된 동물모델을 제작하였다. 갑상선기능항진증이 유발된 대조군에서는 LT4 투여 1주 째부터 정상군에 비해 체중증가 폭의 감소 및 섭식 증가, 체온 증가 현상이 관찰되었다. 체온이 증가함에 따라 음수량 또한 증가하였다. 이렇게 갑상선기능항진증이 유발된 랫트에 2주 간 하고초추출물을 경구 투여한 결과 대조군 대비 음수량에서만 유의적인 차이를 나타내었다. 대조약물로 쓰인 PTU에서도 비슷한 효과가 관찰되었는데, PTU는 항갑상선제로서 TSH의 분비를 증가시키고 T3와 T4의 분비를 감소시켜 갑상선기능을 저하시키는 약물로 주로 갑상선기능저하증 치료에 활용되는 약물이며<sup>26,34,35</sup>, 본 연구에서는 하고초추출물의 대조약물로 활용하였다.

갑상선기능항진증의 치료를 위해서는 갑상선호르몬의 생산과 분비를 억제하는 항 갑상선제를 투여하여 갑상선기능을 정상으로 유지시키거나 방사선요오드 또는 수술로 갑상선조직을 제거하는 방법을 사용하고 있다<sup>25,33,36</sup>. 갑상선 기능 조절과 갑상선호르몬 분비는 뇌의 시상하부 부신피질(hypothalamus adrenal cortex) 자극 증가로부터 분비되는 thyrotropin-releasing hormone(TRH)과 thyroid-stimulating hormone(TSH)에 의해 갑상선조직이 자극을 받음으로써 갑상선호르몬(T4, T3)의 합성과 분비를 통해 인체 각 장부의 에너지대사를 조절하게 된다. 갑상선호르몬인 T3와 T4는 전구물질인 티로

글로불린(thyroglobulin, TBG)과 여포세포의 sodium iodide symporter(NIS)에 의해 운반된 요오드(iodide)를 원료로 갑상선 과산화효소(peroxidase)의 촉매(oxidation)로 합성되며 저장되었다가 TBG로부터 단백 분해되어 혈액 내로 분비된다<sup>37</sup>. 본 연구에서 LT4 투여에 의한 갑상선기능항진증 유발은 혈액 내 TSH를 유의적으로 감소시키고 T3와 T4의 증가를 유도하였으며, 하고초추출물 또는 PTU의 투여는 이들의 증가를 감소시키는 것으로 나타났다. 특히 T4와 더불어 말초에서 활성형으로 전환되는 T3가 유의적으로 감소됨으로써 하고초추출물이 갑상선기능항진증에 따른 갑상선호르몬 분비의 증가를 조절하여 항 갑상선제의 역할을 할 수 있는 것을 확인하였다. 하고초추출물은 갑상선호르몬 조절 외에도 지질대사산물 분비 억제 효과도 나타내었는데 하고초의 항비만, 항산화 효과는 이미 보고된 바 있다<sup>9,24</sup>. 본 연구에서 하고초추출물은 갑상선기능항진증 유발에 따른 총 콜레스테롤, 중성지방, 저밀도 콜레스테롤은 감소시키고, 고밀도 콜레스테롤의 감소를 증가시키는 것으로 나타났으나 고밀도-콜레스테롤에서만 유의적인 의미가 있었고 그 외 고밀도-콜레스테롤을 제외한 간 독성의 호전, 혈당 등의 생리적인 요소에서는 유의적인 효과를 볼 수 없었다.

정상적인 T3 T4의 분비는 인체의 각 장기에서 열과 에너지 생성과 대사에 관여하게 되는데 본 연구에서 LT4 투여로 갑상선기능항진증이 유발된 대조군에서는 정상군 대비 체온 증가가 관찰되었으며 이는 하고초추출물 또는 PTU 투여에 의해 감소되는 것을 확인하였다. 따라서 한성약인 하고초추출물은 갑상선기능항진에 의한 체온의 증가를 조절해 줄 수 있음을 알 수 있었다. 갑상선호르몬은 말초에서 T4가 T3로 변환되며 활성화되는데 그에 따라 체온을 감지하는 일시적 온도 수용체 전위통로(transient receptor potential, TRP) 채널이 말초조직에서 체온 센서로 작동하여 체온을 감지하게 된다. TRP 채널은 1990년대 처음 발견된 이후 최근까지 체온조절의 역할 뿐 아니라 통증 자극 등 여러 감각관련 분야에서 활발히 연구되고 있다. TRP 채널은 활성화되는 온도에 따라 종류가 매우 다양하며 이들 중 본 연구에서 관찰한 TRPV1은 열 수용체로서 고온자극 즉, 캡사이신(capsaicin) 자극에 의해 활성화되며, TRPM8은 저온자극채널로 멘톨(menthol) 자극에 의해 활성화되는 이온채널로 알려져 있다<sup>38,39</sup>. 이들 채널의 발현은 주로 척수후근신경절(DRG)과 간뇌 조직에서 발현되는 것으로 알려져 있고 본 연구에서도 DRG와 뇌 조직으로부터 TRPV1과 TRPM8의 발현을 확인하였다. 본 연구에서 LT4 투여에 의해 갑상선기능항진증이 유발된 대조군의 척수후근신경절(DRG)과 뇌 조직에서의 TRPV1 발현 증가 및 TRPM8 발현 감소가 관찰되었고, 이는 하고초추출물과 PTU 투여에 의해 감소됨을 확인하였다. 이는 한성약인 하고초추출물이 갑상선기능항진증 유발에 따른 갑상선호르몬 과다 분비와 이에 따른 체온조절 이온채널 발현 이상을 조절함으로써 체온 증가를 감소시켜 줄 수 있음을 의미한다. 본 연구에서 단백질 수준에서의 TRP 채널들의 발현정도가 熱症의 병증에 의해 영향을 받는다는 것을 확인했으므로 좀 더 세부적으로 TRP 채널들의 關廢를 조절하는 전기 생리학적 신호 변화에 대한 연구가 필요할 것으로 사료되는 바이다.

## V. 결 론

본 연구에서는 LT4 투여로 갑상선기능항진증이 유발된 랫트에서 하고초 물추출물 투여에 의한 개선 효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 하고초추출물은 갑상선기능항진증에 의한 음수량 증가를 감소시켰다.
2. 하고초추출물은 갑상선기능항진증에 의한 체온 증가를 유의적으로 조절하였다.
3. 하고초추출물은 갑상선기능항진증에 의한 T3, T4의 증가를 유의적으로 감소시켰다.
4. 하고초추출물은 갑상선기능항진증에 의한 HDL-콜레스테롤의 감소를 증가시켰다.
5. 하고초추출물은 DRG와 뇌 조직에서의 갑상선기능항진증에 의한 TRPV1 발현 증가 및 TRPM8 발현 감소를 유의적으로 조절하였다.

결론적으로 寒性약인 하고초추출물은 熱症인 갑상선기능항진증에서 갑상선호르몬 분비 이상에 따른 체온 증가를 조절할 수 있으며, 이는 체온조절센서인 TRPV1과 TRPM8 발현 조절을 통해 이루어짐을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 한국보건산업진흥원 “한의씨앗과제”의 연구비 지원을 받아 수행된 연구입니다(HI16C0622).

## References

1. Min HK. Clinical endocrinology. Seoul : Korea Medical Book, 1999 : 155-69.
2. Koong SS. Antithyroid drug therapy for Grave's disease. The Journal of the Korean Internal Medicine, 2004 ; 66(2) : 108-19.
3. Kasper, Braunwald, Fauci, Hauser, Longo, Jameson. Harrison's principles of internal medicine, 1st ed. Seoul : MIP, 2006 : 2308-23.
4. Doo HK. Oriental internal medicine of Kidney. Seoul : Foundation of Oriental Medicine Research Institute, 1993 : 850-3, 858-68, 1056-65.
5. Lee MY, Kim CS, Lee HG. Experimental study on the standardization of the Hot and the Cold Natures. Korean Journal of Oriental Medicine, 1996 ; 2(1) : 506-13.
6. Park JH. Underlying mechanism of antioxidant action of Haejohwan in thyroxine-induced hyperthyroid rats. The Journal of Korean Oriental Internal Medicine, 2000 ; 21(3) : 399-407.
7. Go BH. SilyongJunguiogwahag. Shanghai : Shanghai science and technology publishing company, 1982 : 148-54.
8. Textbook compilation committee of college of Korean medicine. Herbology. Seoul : Younglimsa, 1991 : 209-10.
9. Kim NS, Shon MS, Kim GN, Hwang YI. Anti-obese and Antioxidant activities of Spica prunellae Extract in 3T3-L1 and HepG2 cells. Food engineering progress, 2004 ; 18(4) : 413-8.
10. Nam GS, Kim HG, Shon YH. Effect of Ethanol Extract from Thesium chinense Tunczaninov on Chemopreventive Enzymes of Breast Cancer. Korean Journal of Pharmacology, 2003 ; 34(2) : 161-5.
11. Fang Y, Zhang L, Feng J, Lin W, Cai Q, Peng J. Spica Prunellae extract suppresses the growth of human colon carcinoma cells by targeting multiple oncogenes via activating miR-34a. Oncology reports, 2017 ; 38(3) : 1895-1901.
12. Lin W, Zheng L, Zhuang Q, Zhao J, Cao Z, Zeng J, Peng J. Spica prunellae promotes cancer cell apoptosis, inhibits cell proliferation and tumor angiogenesis in a mouse model of colorectal cancer via suppression of stat3 pathway. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2013 ; 13(1) : 144.
13. Sun HX, Qin F, Pan YJ. In vitro and in vivo immunosuppressive activity of Spica Prunellae ethanol extract on the immune responses in mice. Journal of Ethnopharmacology, 2005 ; 101(1) : 31-6.
14. Lee KL, Lim MK, Song JM, Kim YW. A Case Report of Patient with Hyperthyroidism (Soyangin) Superficial Fever. Journal of Sasang Constitutional Medicine, 2006 ; 18(3) : 195-201.
15. Kim DH, Park SC, Cho MK, Han CW, Choi JY, Kwon JN, Hong JW, Kim SY, Park SH. Clinical case report of hyperthyroidism patient treated with only traditional Korean herbal medicine. KISTI, 2012 ; 26(3) : 376-80.
16. Materazzi G, Ambrosini CE, Fregoli L, Napoli LD, Frustaci G, Matteucci V, Miccoli P. Prevention and management of bleeding in thyroid surgery. Gland Surgery, 2017 ; 6(5) : 510-5.
17. Schietroma M, Cecilia EM, Carlei F, Sista F, De Santis G, Lancione L, Amicucci G. Dexamethasone for the Prevention of Recurrent Laryngeal Nerve Palsy and Other Complications After Thyroid Surgery: A Randomized Double-blind Placebo-Controlled Trial. JAMA Otolaryngol Head Neck



- Surg. 2013 ; 139(5) : 471-8.
18. Park YR, Kim WJ, Shim MS, Kim JY. S-451 A case of type 1 multiple endocrine gland with gastrin and hyperparathyroidism. Korean Society of Internal Medicine . 2016 ; Volume 1 : 275.
  19. Li X, Yin T, Zhong G, Li W, Luo Y, Xiang L, Liu Z, Li X1, Yin T, Z. Herbs for calming liver and suppressing yang in treatment of hyperthyroidism with hyperactive liver yang: herbal effects on lymphocyte protein expression. Zhongguo zhong yao za zhi. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011 ; 36(14) : 1997-2004.
  20. Lee MH, Jeon CY, Kang MS, Choi YK. Review of Domestic Experimental Studies of Herbal Medicines for Hyperthyroidism since 2000. The Journal of Internal Korean Medicine, 2016 ; 37(6) : 949-60.
  21. Park BG. A study on the Effect of Prunella Herba in Hyperthyroidism Rats. Graduate school of Daegu-University. 1991.
  22. Kim HJ. A study on the Effect of Thesium chinense T. in Hyperthyroidism Rats. Graduate school of Kyung San University. 1992.
  23. Lee SG. Effects of Prunella vulgaris of hyperthyroidism on metabolites. Graduate school of Daegu-University. 1991.
  24. Vernygorodskiy VS, Fetisova NM, Vernygorodska MV. Pathogenetic significance of proinflammatory cytokines and dyslipidemia in the development of cardiovascular complications in patients with hypothyroidism. International Journal of Endocrinology. 2017 ; 13(4) : 262-6.
  25. Jae KH, Moon JH, Kim IJ, Bom HS, Lee J, Chung WY, Chung JH, Song YK. The diagnosis and management of hyperthyroidism consensus - Report of the Korean Thyroid Association. J Korean Thyroid Assoc. 2013 ; 6(1) : 1-11.
  26. Bicer C, Ates I, Aydin M, Altay M, Topcuoglu C, Neselioglu S, Yilmaz FM. The impact of levothyroxine sodium treatment on dynamic thiol/disulphide homeostasis in overt hypothyroidism, 2017. Available from : URL : <https://www.endocrine-abstracts.org/ea/0049/ea0049EP1347.htm>
  27. Cho CS, Choi JS, Kim CJ. The Effects of YUKWOOLTANG on the Hyperthyroidism of Rats. The Korean Journal of Herbology. 2006 ; 21(4) : 11-7.
  28. Uhm HS, Kim MR. A Study on the Effect of Haejookhotang in Hyperthyroidism Rats. The Journal of East-West Medicines, 1990 ; 15(2): 20-32.
  29. Kim DB. Gene expression of hyperthyroid rats treated by scrophularia buergeriana miquel. The Korean Journal of Herbology. 2007 ; 22(4) : 9-19.
  30. Kim CJ. Literatural Examination on Hyperthyroidism. Research Institute of Korean Medicine Symposium, Daejeon University. 1998 : 807-15.
  31. Lee KG, Lee NG, Nam TS. The Literature Study on Goiter. Korean J Orient Medical Pathology. 1996 ; 10(1) : 25-31.
  32. Kim MK. Drug therapy for hyperthyroidism and hypothyroidism, J Kor Soc Health-Syst Pharm. 2006 ; 23(1) : 61-9.
  33. Li J, Donangelo I, Abe K, Scremin O, Ke S, Li F, Milanesi A, Liu YY, Brent GA. Thyroid hormone treatment activates protective pathways in both in vivo and in vitro models of neuronal injury. Molecular and cellular endocrinology. 2017 ; 452 : 120-30.
  34. Bashkin A, Nodelman M. The clinical approach to diagnosis and treatment of hypothyroidism. Harefuia. 2017 ; 156(5) : 322.
  35. Hwang MS, Hwang JH, Kang SY, Kang AN, Roh HS, Park YK. Effects study of Aconiti Lateralis Radix Preparata extract on the regulation of heat and cold in PTU-induced hypothyroidism rats. The Korean Journal of Herbology. 2016 ; 31(6) : 63-71.
  36. Sarandol E, Taş S, Dirican M, Serdar Z. Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism : effect of vitamin E supplementation. Cell Biochem Funct. 2005 ; 23 : 1-8.
  37. American thyroid association. Hyperthyroidism. 2017. Available from : URL : <https://www.thyroid.org/hyperthyroidism/>
  38. Hardie RC, Minke B. Novel Ca<sup>2+</sup> channels underlying Hardie RC, Minke B. Novel Ca<sup>2+</sup> channels underlying transduction in Drosophila photoreceptors: implications for phosphoinositide-mediated Ca<sup>2+</sup> mobilization. Trends Neurosci. 1993 ; 16(9) : 371-6.
  39. O'Connor JC, Frame SR, Ladics GS. Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators. Toxicol Sci. 2002 ; 69 : 79-91.