

신장절제로 유발한 신약(腎弱) 동물 모델에서의 비만 및 지질대사에 대한 영향 평가

곽진영¹, 박정환¹, 고영미¹, 안택원¹

¹대전대학교 한의과대학 사상체질의학교실

A Study of the Effect on Obesity and dyslipidemia in Kidney-hypofunction Animal Model Induced by Unilateral Ureteral Obstruction

Jinyoung Kwak¹, Junghwan Park¹, Youngmee Koh¹, Taekwon Ahn¹

¹Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon University

Objectives: The objective of this study is to develop a new animal model with Kidney-hypofunction for Sasang Constitutional Medicine, especially for partial Soyangin(one of four constitution which has good digestive function and poor renal function) by Unilateral Ureteral Obstruction, and to estimate the factor related to obesity, dyslipidemia, and metabolic syndrome.

Methods: The C57BL/6J mice were divided into 3 groups : normal group, high fat diet(HFD) control group, and HFD group with Unilateral Ureteral Obstruction(UUO). Then, the HFD control group and the experimental group were fed with high fat diet for 6 weeks. Food intake and body weight were measured at regular time by week. After the final experiment, blood was gathered for bloodchemical examination and organs(liver, fatty tissue) were removed, weighed, and mRNA was analyzed with real-time PCR.

Results: The weight growth rate with High fat diet went down by 8.35% in experimental group and had similar FER with the normal group, while HFD control group had higher weight growth rate and FER than any other groups. Also The experimental group had lower triglyceride and LDL cholesterol rate and higher glucose rate in serum. and in mRNA expression, GLUT-9, the protein related to excretion of uric acid and metabolic syndrome, expressed lower rate than that of HFD control group. and IL-6, a kind of cytokine related to obesity and metabolic syndrome, expressed more than HFD control group.

Conclusions: It was found that Kidney-hypofunction animal-experimental model is susceptible to metabolic syndrome.

Key Words : Obesity, Soyangin, Animal-Experimental Model, High-fat Diet

서론

『東醫壽世保元』에서 臟腑를 논할 때 肺와 肝은 氣液을 呼吸하는 門戶로, 脾와 腎은 水穀을 出納하는 府庫

로 표현하고 있는데, 그중 소양인과 소음인의 경우 脾腎의 大小와 관련된 水穀之氣의 관계로 설명하고 있다¹⁾. 肺脾肝腎에서의 脾는 粟而包하고 水穀을 納하며, 膜海의 清汁을 흡수하여 脾元의 陽暖之氣를 자양하고, 膏海

· Received : 15 March 2018 · Revised : 5 May 2018 · Accepted : 4 June 2018

· Correspondence to : 안택원(TaekwonAhn)

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, Daejeon Univ. Cheonan Hospital of Korean Medicine. Notaesan-ro 4, Seobuk-gu, Cheonan city, Chungcheongnamdo, 31099(Zip code), Korea.

Tel : +82-41-521-7535, Fax : +82-41-521-7007, E-mail : twahn@dju.kr

를 鼓動시켜 凝聚시킨다. 腎은 濫而畜하고 水穀을 出하며, 精海의 清汁을 흡수하여 腎元의 陰靑之氣를 滋養하고, 液海를 鼓動시켜 凝聚시킨다¹⁻³. 脾大腎小한 소양인의 경우 怒性이 宏抱한즉 氣注脾하여 脾가 더욱 盛하고, 哀情이 促急하면 氣激腎하여 腎이 더욱 쇠하게 된다⁴.

사상체질 중 脾大腎小한 소양인의 경우, 선천적으로 腎局은 偏小하며 哀情으로 인하여 수곡열기를 保命之主가 제어하지 못해 장부대소의 편차가 커져 偏小之臟인 腎局陰氣가 약화되어 위국의 열기가 심화되는 裏熱證이 나타나게 된다⁴. 이렇게 소양인은 소증으로 약한 신장 기능을 가지고 있고 신약(腎弱)이 더욱 심화될 때 裏熱證이 생기게 되는데 이러한 신약(腎弱)소증을 가진 동물모델을 만들기 위해 신장의 일부를 절제하였다. 신장 절제를 할 경우 감수분열능이 증가되어 RNA합성을 가속화시키며 신장의 비후를 유도하고, 이런 상태가 지속되면 수개월내에 남은 신장에서 신장기능 및 구조적 퇴화가 일어난다고 보고되어 신약신약(腎弱)상태를 가정하기 좋은 방법으로 사료된다⁵.

대사증후군(Metabolic syndrome)은 고혈압, 비만, 당 및 지질대사의 이상 등을 의미하며 심뇌혈관계 질환의 제일 큰 원인으로 꼽힌다. 정확한 요인은 밝혀져 있지 않으나 인슐린 저항성의 변화로 인하여 복부 비만, 혈압의 상승, 당대사의 이상 등이 촉발하는 것으로 알려져 있다⁶⁻⁷. 유전적 요인뿐만 아니라 음주, 체형, 식이 등 지속적인 생활습관이 복합적인 원인으로 작용하기에 약물치료에 대한 순응도도 현저하게 떨어지며, 이에 증후군 자체의 직접적 치료보다는 예방과 유병률 감소에 초점을 맞추고 있다⁸.

사상체질적으로는 태음인이 다른 체질과 비교하여 유의하게 대사증후군 위험인자에 취약하다는 연구가 광범위하게 이루어져 있다⁹⁻¹¹. 최 등의 연구¹²에서는 태음인이 대사증후군 인자인 허리둘레, 수축기 및 이완기 혈압, 중성지방 수치에서 다른체질보다 높게 나타났으며, 최 의 연구¹³에서는 대사증후군과 밀접한 연관을 가진 인슐린 저항성과 관련된 HOMA-IR값에서 태음인이 다른 체질에 비해 유의하게 높은 값을 보였다. 이 등의 연구¹⁴에서는 중성지방 등 이상지질혈증에 대하여 태음인의 odd ratio값에 대한 유의한 차이를 설

명하고 있다. 그러나 통계적으로 유의한 태음인 외에 다른 체질의 비만 등 대사증후군의 연구는 크게 부족한 실정이다.

현재 체질별 병증이나 약리 작용에 대해 비임상 연구를 좀더 용이하게 하기 위한 체질별 동물 모델 개발에 대한 연구가 시도되고 있다. Bleomycin으로 폐약(肺弱) 상태를 만들어 비만상태에서의 일반 쥐 군과의 차이점을 비교한 김 등의 연구¹⁵, Acetaminophen으로 간약(肝弱) 상태를 만들어 비만을 유도하고 그 특징을 비교한 박 등의 연구¹⁶ 등이 진행되었으며, 본 연구에서는 신절제(Unilateral Ureteral Obstruction)를 통한 신약(腎弱) 상태를 가정하고 비만을 유도하여 일반적 고지방식을 유도한 군과의 차이점과, 그 영향 평가를 알아보고자 한다.

실험방법

1. 동물

수컷 7주령의 C57bl/6J 생쥐 (웅성 8주령 24g 생쥐)는 썬타코바이오코리아사 (Osan, Korea)에서 공급받았고, 동물은 대전대학교 준SPF 실험동물실험실(식약처등록 제270호)에서 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고, 온도 22±2℃, 습도 55±15%, 12 시간 light-dark cycle의 환경을 유지하며 1 주간 적응시킨 후 실험에 사용한다. 그리고 동물실험의 윤리적, 과학적 타당성 검토 및 효율적인 관리를 위하여 대전대학교 동물실험 윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee : IACUC)의 승인을 받았다.

2. 방법

1) 신절제를 통한 신부전 유발 방법

신장의 염증성 변화를 초래하기 위한 실험동물로서 25g내외의 성년기의 수컷 C57bl/6J 생쥐를 대상으로 마취 후 우상등부를 절개하여 우측 신장을 노출시킨 후 신동맥, 신정맥, 우측 요관을 봉합사로 묶은 다음 우측 신장 2/3를 선택적으로 절제한다 (Unilateral

Ureteral Obstruction, UUO, Fig.1). 우측 신장 절제 1주일 후 마취 하에서 C57bl/6J 생쥐의 좌상복부를 절개하여 좌측 신장을 노출시킨 다음 좌측 신동맥, 신정맥, 요관 및 신우를 보존하면서 좌측 신장의 2/3를 선택적으로 절제한다. 24시간 후 수술을 완료한 쥐를 실험군으로 분류하여 실험을 진행하였다.

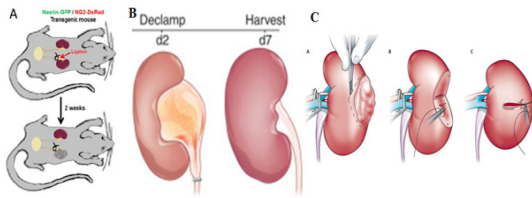


Fig. 1. radical nephrectomy and UUO establishment

2) 시험군 분류

8주령의 수컷 C57bl/6J 생쥐를 일반대조군(C57bl/6J-Nr), 60% 고지방식이(High-fat Diet)를 투여하는 고지방식이군(HFD-CTL), UUO 후 고지방 식이를 투여하는 신약(腎弱) 비만 모델군(UUO_HFD-CTL)의 3군으로 분류하여 각각 5마리씩 배분하였다. 이후 6주간 C57bl/6J-Nr의 경우 일반 고형사료, HFD-CTL 및 UUO_HFD-CTL군의 경우 고지방사료를 투여하였다.

3) 체중 및 식이효율 측정

체중은 매주 화요일 10시에 동물용 체중계(카스전자 저울, 한국)로 측정하여 기록하였다. 또한 동일한 날짜에 맞추어 1주일일 1회씩 식이섭취량(g)을 측정하였다. 식이섭취량은 매주 측정일의 일정한 시간에 측정하여 일평균 섭취 식이량을 산출하였으며, 식이 효율(feed efficiency ratio, FER)은 다음과 같이 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어서 계산하였다.

$$FER = [\text{Total weight gain} / \text{Total food intake}] \times 100$$

4) 혈액학적 검사

부검 하루 전 절식시킨 생쥐를 실험 최종일에 에테

르(Ethyl ether, 덕산제약, 한국)로 마취한 후 심장 천자법으로 항응고제인 EDTA가 들어있는 채혈관을 이용하여 채혈하였다. 채혈된 혈액을 자동혈구분석기(HEMAVET, CDC Technology, USA)를 사용하여 분석하였다. 혈청분리용 tube의 혈액은 3000 rpm에서 20분간 원심분리 후 혈청을 얻어 생화학적 지표 분석을 위한 시료로 이용한다. 분리한 혈청(serum)을 즉시 생화학자동 분석기(Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 혈장 및 간의 지질함량의 지표인 총 콜레스테롤(Total Cholesterol, HDL(High-density Lipoprotein)-cholesterol, LDL(Low-density Lipoprotein)-cholesterol, 중성지방(triglyceride), 그리고 혈중 Glucose 등의 대사증후군 관련 지표 및 간·신기능 지표를 측정하였다.

5) 부검 및 장기조직 검사

부검 후 각 실험동물의 장기조직(간, 지방조직)은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 칭량한 후, 그 무게를 비교하였다. 지방조직의 경우 피하지방량(Abdominal subcutaneous fat)과 복부지방량(Epididymal adipose tissue)으로 비교하여 비교하였다.

6) 신장 조직에서 mRNA 유전자 발현량 비교

부검 후 확보한 신장조직을 10% 포르말린 용액, 4% paraformaldehyde를 사용하여 유지시킨 후 급속 동결하여 확보하였다. 확보한 신장 조직에서 유전자 발현 양상을 알아보기 위해 조직내에서 RNA를 추출한 후, Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System(AB Science)을 사용하여 real-time PCR 분석을 시행하여 GLUT-9, IL-6, COX-2 등의 mRNA 유전자 발현 정도를 측정하였다.

3. 통계 처리

각 실험군 결과 값은 unpaired student's T-test 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며, p<0.05 이하의 수준에서 유의성 검정을 실시한다.

결 과

1. 체중증가량

60% 고지방사료를 6주간 투여한 고지방식이 대조군(HFD-CTD)과 UUO유도 후 고지방사료 투여한 UUO 실험군(UUO_HFD-CTD)은 일반대조군(C57bl/6-Nr)과 비교하여 모두 통계적으로 유의한 체중증가를 나타내었으나($p < 0.005$), UUO대조군이 고지방식이 대조군(HFD-CTD)에 비해 체중 증가율의 감소 경향을 보였다(Fig. 2).

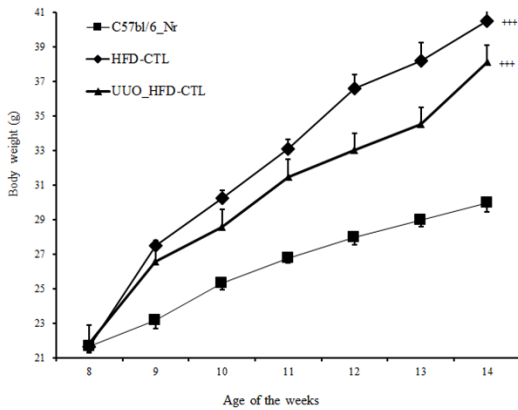


Fig. 2. Body weight change in HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UUO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
 C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

2. 식이효율

고지방사료를 6주간 투여한 대조군과 UUO유도 후 동일 기간 동안 고지방사료 투여한 후 식이효율을 분석한 결과로, 일반대조군에 비하여 HFD-CTD은 현저하게 식이효율의 증가를 나타내었으나($p < 0.005$). 일반대조군에 비하여 UUO_HFD-CTD은 차이가 없을 정도의 식이효율을 나타내었다(Table 1, Fig.3.).

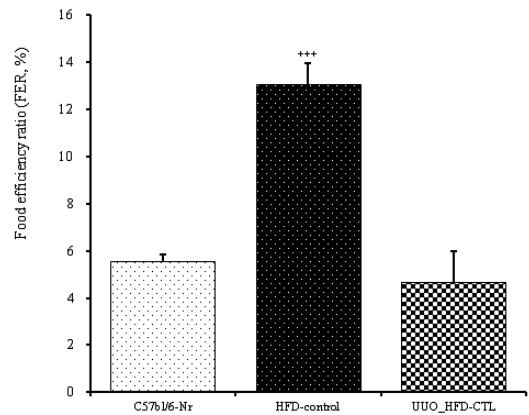


Fig. 3. Food efficiency ratio (FER, %) in HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UUO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
 C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

Table 1. Food Intake, Body Weight gain, Food Efficiency Ratio in HFD-Fed Obese Mice, and -Renal Cortex of Each Study Group(UUO : Unilateral Ureteral Obstruction) Obese Mice.

Group	Food intakes	Bodyweight gain	Food Efficiency
	(g/day)	(g/day)	(FER, %)
C57bl/6-Nr	3.46	0.191±0.01	5.53±0.31
HFD-CTD	2.89	0.377±0.03	13.05±0.92
UUO_HFD-CTD	5.97	0.280±0.03	4.70±1.29

3. 간기능 및 신장 지표

고지방사료를 6주간 투여한 대조군과 UUO유도 후 동일 기간 동안 고지방사료 투여한 후 혈청 분리를 통해 간기능 및 신장 관련 수치를 비교하였다.

AST의 경우 6주 후 일반대조군에 비해 HFD-CTD 군과 UUO_HFD-CTD 모두 경도 상승 경향이 관찰되었으나, 통계적 유의성은 없었다. ALT의 경우 HFD-CTD군($p < 0.01$)과 UUO_HFD-CTD($p < 0.05$) 모두 유의하게 증가하였다(Fig.4).

신장 관련 Creatine 수치는 UUO_HFD-CTD의 경우 유의성 있게 증가하였다($p < 0.005$)(Fig.5).

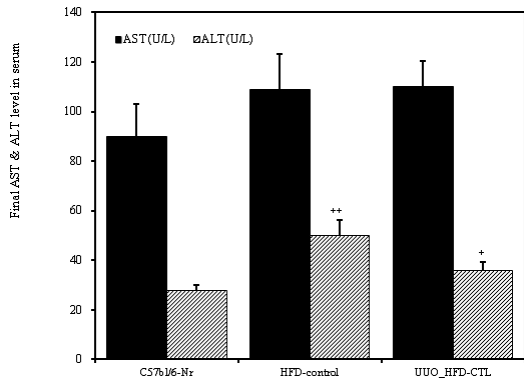


Fig. 4. AST, ALT level in serum of HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UUO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
 C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

4. 혈중 지질관련 지표

고지방사료를 6주간 투여한 대조군과 UUO유도 후 동일 기간 동안 고지방사료 투여한 후 혈청 분리를 통해 Total Cholesterol, HDL-Cholesterol, LDL-Cholesterol 및 중성지방을 비교하였다.

먼저 Total Cholesterol의 경우, 일반대조군에 비해 HFD-CTD군과 UUO_HFD-CTD 모두 경도 상승 경향이 관찰되었으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 6).

HDL-Cholesterol의 경우, 6주 후 세 군에서 큰 차이가 발견되지 않았다.

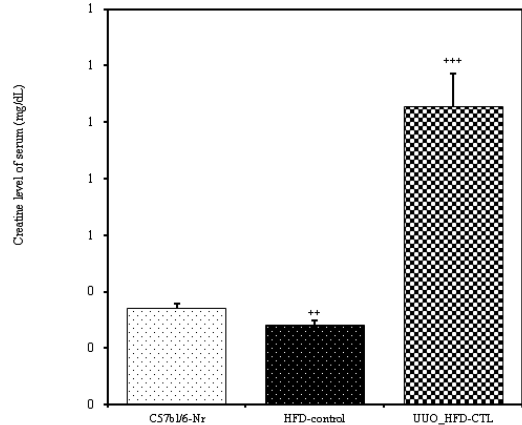


Fig. 5. Creatine level in serum of HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UUO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
 C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

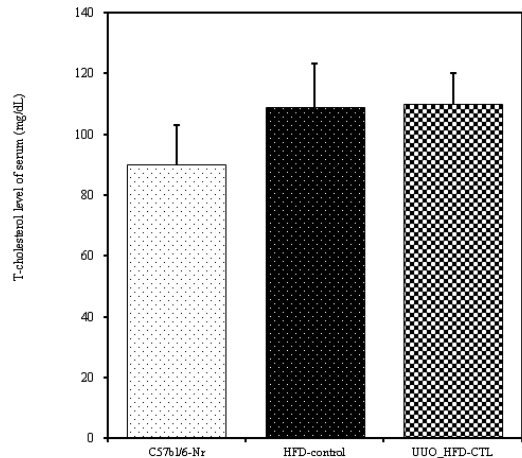


Fig. 6. Total Cholesterol level in serum of HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UUO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
 C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

반면에 LDL-Cholesterol의 경우 고지방식이 투여 6주 후 UO_HFD-CTD군이 HFD-CTD군에 비해 각각 통계적으로 유의하게 적은 상승 경향을 나타내었다($p < 0.01$)(Fig. 7).

중성지방(Triglyceride) 또한 UO_HFD-CTD군이 HFD-CTD군에 비해 통계적으로 유의하게 적은 상승 경향을 나타냈다($p < 0.005$)(Fig. 8.)

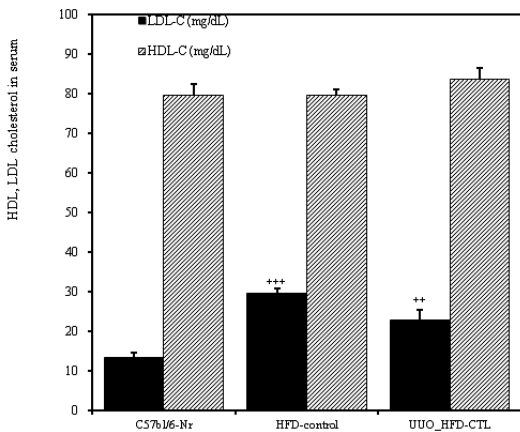


Fig. 7. HDL and LDL Cholesterol level in serum of HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
UO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

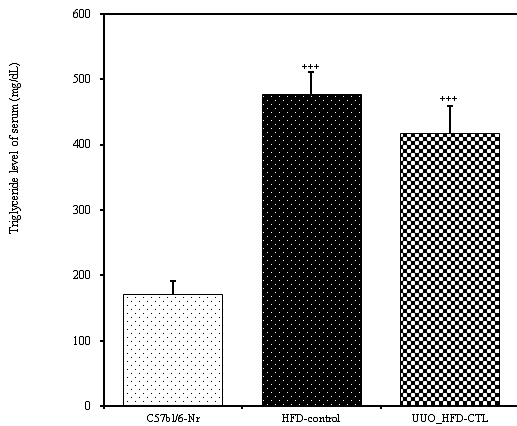


Fig. 8. Triglyceride level in serum of HFD-induced

obese mice, and -renal cortex of each study group(UO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.

C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
UO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

5. 혈중 Glucose

고지방사료를 6주간 투여한 대조군과 UO유도 후 동일 기간 동안 고지방사료 투여한 후 혈청 분리를 통해 혈청 내 Glucose의 변화를 비교하였다.

HFD-CTD군에 비해 UO_HFD-CTD군이 통계적으로 유의하게 혈중 Glucose 값이 상승하였다($p < 0.01$)(Fig. 9).

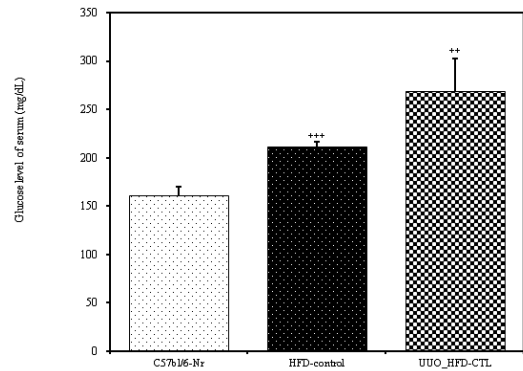


Fig. 9. Glucose level in serum of HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
UO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

6. 간 및 피하지방 무게 분석

고지방사료를 6주간 투여한 대조군과 UO유도 후 동일 기간 동안 고지방사료 투여한 군에 대하여 부검 후 간 및 피하지방량의 무게를 비교하였다.

UO_HFD-CTD군의 경우 복부 피하지방량변화에 대하여 HFD-CTL군과 유의한 차이가 없었으나, 부고환 지방조직량의 경우 유의하게 지방조직량이 감소하였다($p < 0.05$)(Fig. 10).

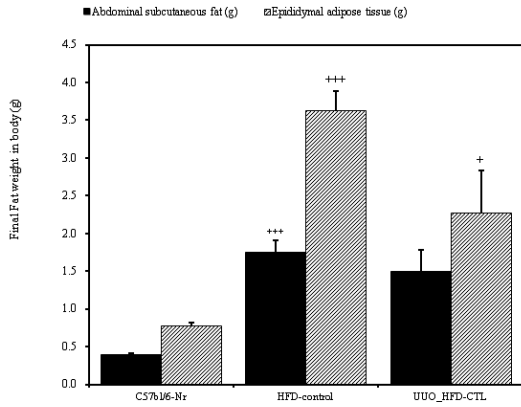


Fig. 10. Abdominal subcutaneous fat and Epididymal adipose tissue weight in HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UUO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.
 C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

간 무게에 대해 측정된 결과, HFD-CTL군의 경우 일반대조군에 비해 유의하게 증가 경향을 나타내었다 ($p < 0.01$). UUO_HFD-CTL군의 경우 HFD-CTL군과 비교하여 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 11).

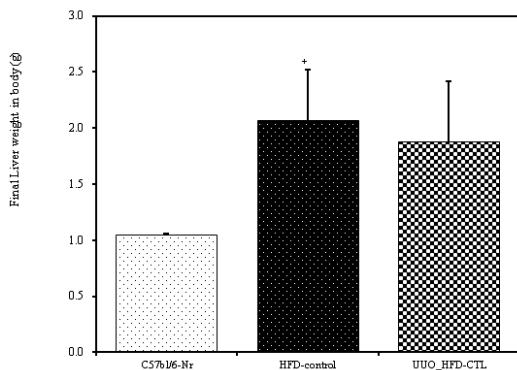


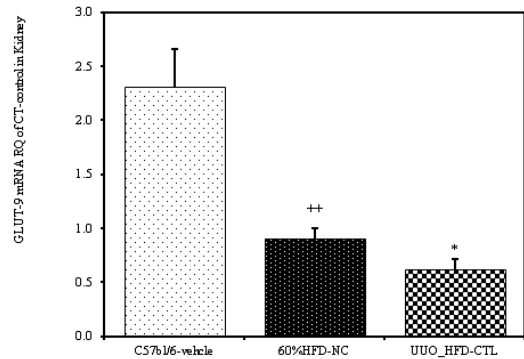
Fig. 11. Liver weight in HFD-induced obese mice, and -renal cortex of each study group(UUO : unilateral ureteral obstruction) obese mice.

C57bl/6J-Nr : C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

7. 신장 조직에서 mRNA 유전자 발현량 비교

부검 후 적출한 급속 동결 신장조직에서 real-time PCR 증폭법을 사용하여 비만과 만성 염증 및 에너지 대사와 관련 있는 유전자 발현 양상을 확인하여, 신약(腎弱) 모델과 비만과의 연관성을 확인하였다. 실험 결과 요산 순환 및 배설 대사와 관련있는 GLUT-9 유전자 발현은 HFD-CTL군보다 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$).

IL-6는 cytokine의 일종으로 만성염증과 관련있으며, 비만시 지방조직에서 분비되어 염증을 유발한다. 실험 결과 IL-6는 HFD-CTL와 비교하여 통계적으로 유의하게 유전자 발현이 높게 나타났다($p < 0.01$). 만성 염증 및 산화 스트레스와 관련이 있는 COX-2의 경우 HFD-CTL과 비교하여 정도 상승 경향을 나타내었다 (Fig. 12).



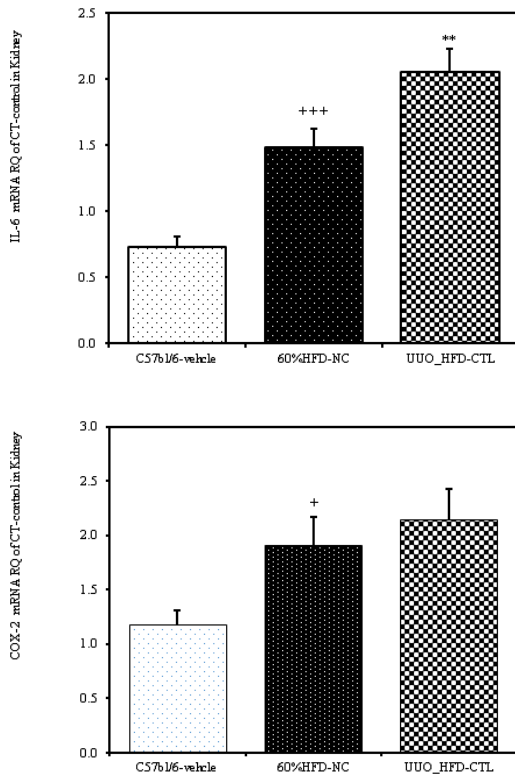


Fig. 12. mRNA expression of GLUT-9, IL-6, COX-2 were measured with Real Time-PCR analysis.
 C57bl/6J: C57bl/6J normal group (n=5)
 HFD-CTL : High Fat Diet-Negative Control (n=5)
 UUO_HFD-CTL : High Fat Diet group with unilateral ureteral obstruction (n=5)

고찰

사상체질의학에서는 인간을 태양인, 태음인, 소양인, 소음인 네가지 체질로 구분하며 각각 장부대소가 다르고 이에 따라 생리, 병리적 특징이 달라 치료법도 달라진다는 체계를 가지고 있다. 소양인은 脾大腎小한 장부대소를 지니고 있는데 김 등¹⁷⁾, 박 등¹⁸⁾, 김 등¹⁹⁾의 연구처럼 脾大腎小를 비위 기능이 강하고 신장의 기능이 약하다고 해석할 수 있다. 박 등²⁰⁾의 연구에서는 부적절한 식사를 한 경우 소양인에서 가장 뚜렷하게 BUN의 혈중농도가 증가하여 소양인의 신장기능이 약하다

는 해설을 지지하였다. 이에 따라 소양인에서 나타나는 신장기능 약화를 유발한 동물모델을 만들었다. 김 등¹⁴⁾, 박 등¹⁵⁾의 연구도 태음인의 肺大肝小가 폐기능이 약하고 간기능이 강하다는 가정을 바탕으로 폐약병태 동물모델을 설정하였으며, 후속연구인 본 연구 또한 동일한 가정 하에 진행하였다.

태음인의 경우 다른 체질보다 체질량지수(BMI), 중성지방, 인슐린 저항성 등 대사증후군 관련 인자들에 대해 더 유의하게 취약한 사실이 알려져 있으며, 지속적인 연구가 계속 이루어지고 있다^{9-13,21)}. 그러나 상대적으로 다른 체질에 대한 연구는 미약하게 진행되고 있다. 이 등의 연구¹⁴⁾에서는 대사증후군 인자 중 이상지질혈증(dyslipidemia)에 대하여 BMI를 보정한 상태에서 소음인을 기준으로 소양인과 태음인의 odd ratio를 비교하였다. 이상지질혈증 중 ‘높은 중성지방’의 경우 태음인(2.021)이 제일 높았으나 소양인(1.716) 또한 적지 않았으며, ‘높은 저밀도콜레스테롤’의 경우 소음인에 비해 소양인(1.229)이 높게 나타났다. 이것은 사상체질에 따라 대사증후군 인자들의 취약도와 위험도가 다를 수 있음을 시사하며, 吸聚之氣의 과다로 비만이 好發되는 것으로 알려져 있는 태음인 이외의 체질에 대한 연구도 필요함을 시사한다. 이에 본 연구에서는 태음인 다음으로 비만 및 대사증후군 환자의 분포가 비슷하게 나타난 소음인·소양인 중 소양인에 대한 연구를 위해 동물모델 개발을 하였다. 소양인은 신장기능이 약하다는 것을 가정하고 신장의 물리적 절제를 이용하여 인위적으로 subacute renal injury를 유도한 신약(腎弱)병태 모델을 만든 후, 체중, 식이효율, 혈액학적 특성 및 관련 유전자 발현에 대해 관찰하였다²²⁾.

고지방식이 투여 6주 후 비만대조군과 신약 비만 모델의 체중과 식이효율을 먼저 비교해보면, 체중 증가의 경우 비만대조군에서 실험기간 동안 평균 18.8g 증가한 반면, 신약 모델에서는 평균 16.2g 증가하여 약 16.04%의 체중증가를 감소를 보였다. 또한 식이효율의 경우에도 비만대조군은 크게 증가한 반면, 신약 비만 모델에서는 일반대조군과 큰 차이가 없을 정도로 낮았는데 이는 식이 섭취량이 신약 비만모델에서 비만

대조군의 2배 이상으로 증가한 반면 체중증가는 오히려 감소했기 때문이다. 이는 신약 비만 모델의 경우 동일 기간 동안 사료를 더 많이 섭취하였음에도 체중 증가는 오히려 더뎠음을 뜻한다(Fig. 3, Table 1).

혈액화학적 검사 결과를 살펴보면, 고지방식이 투여 후 비만대조군과 신약 비만 모델 모두 저밀도 콜레스테롤 및 중성지방이 상승하였으나, 신약 비만 모델에서 비만대조군에 비해 유의하게 상승의 저하 조건을 보였다(Fig. 7-8). 혈중 glucose의 경우 비만대조군에 비해 신약 비만 모델에서 통계적으로 유의하게 상승한 조건을 보여주었다(Fig. 9). 고지방식이로 인해 지방 섭취가 늘어나면서 체중이 늘어나게 되면, 콜레스테롤과 지단백(lipoprotein) 대사에 이상이 발생하게 되며 고콜레스테롤혈증(Hypercholesterolemia), 고중성지방혈증(hypertriglyceridemia) 등이 나타난다²³⁾. 이중 특히 중성지방의 경우 인슐린 저항성과 밀접한 관계가 있는데, 인슐린의 경우 단순한 혈당 강하 뿐만 아니라 지방세포에서 유리지방산(free fatty acid)가 지방조직 밖으로 방출되는 것을 억제하고 간세포에서 VLDL 중성지방의 생성을 억제한다. 말초조직에서 인슐린 저항성이 커지게 되면 지방세포에서의 유리지방산이 과량 방출되게 된다. 방출된 유리지방산은 간세포 내로 유입되어 VLDL 중성지방의 생성을 증가시키고, 말초로 유입되어 근육에서의 포도당 흡수를 저하시켜 고혈당을 유발한다²⁴⁻²⁶⁾. 본 연구에서는 고지방식이의 섭취량이 많았던 신약 비만 모델에서 저밀도 콜레스테롤과 중성지방의 증가율은 오히려 비만대조군에 비해 적으나, 혈중 glucose의 농도는 상승하여 지방대사보다는 당대사의 이상이 더 예민하게 나타난 것으로 관찰되었다.

고지방식이 투여 6주 후 실험군을 비교하여 간과 부고환의 지방조직량을 비교하였다. 간의 경우 지방조직량에서 비만대조군과 크게 차이가 나타나지 않았으나 부고환 지방조직량의 경우 신약 비만 모델에서 비만대조군보다 유의하게 적은 지방 증가량을 나타내었다(Fig. 10-11). 신약 비만 모델의 경우 고지방식이의 일일 섭취량이 비만대조군보다 많았음에도 불구하고 간의 지방조직량은 비만대조군과 크게 차이가 없었고,

부고환의 지방조직량의 증가율은 오히려 적었다. 간의 지방축적은 혈중 유리지방산과 중성지방의 축적과 간내 지방의 신생 합성, 그리고 식사를 통한 신규 흡수 등으로 이루어지는데, 인슐린 저항성 상승으로 인한 고인슐린혈증은 간에서의 지방세포의 분해 및 배출을 억제하여 지방축적을 더욱 심화시킨다²⁷⁾.

고지방식이 6주 투여 후 조직에서 각각 비만과 만성 염증 및 에너지 대사와 관련 있는 유전자 발현 양상을 확인한 결과, 요산 순환 및 배설 대사와 관련있는 GLUT-9 유전자 발현은 신약 비만 모델에서 비만대조군보다 유의하게 감소하였다(Fig. 12). GLUT-9는 소장(jejenum)과 회장(ileum) 상피세포에서 단백질 소화 대사의 산물인 요산(uric acid)을 배설하는 단백질의 일종으로, 감소 시 장벽에서의 요산 배설대에 문제를 일으켜 단기적으로 고요산 혈증을 유발하며 장기적 결핍 시 혈압의 상승, 혈중 내 콜레스테롤 수치의 증가, 고인슐린혈증, 지방간 침착 등의 초기 대사증후군 환경을 유발하게 된다²⁸⁾. 또한 반대로 인슐린의 혈중 증가는 신장에서의 요산 배설을 방해하는 등 대사증후군의 발병과 밀접한 연관을 지닌다²⁹⁻³⁰⁾. 본 연구에서는 신약 비만 모델에서 비만대조군에 비해 GLUT-9의 유전자 발현 정도가 유의하게 감소하여, 장내와 신장에서의 요산 배설대사에도 영향을 끼치는 것으로 확인되었다.

비만의 경우 지방의 섭취가 늘어나면서 지방조직에서 대식세포가 침착되면서 만성 염증 상태가 야기되는데, 이 과정에서 TNF- α , Interleukin-6(IL-6) 등의 염증유발물질(cytokine)이 지방조직에서 분비되게 된다. 최근 연구에서는 이 cytokine이 대사증후군을 야기하는 원인 중 하나로 주목되고 있다³¹⁻³³⁾. 이중 IL-6의 경우, 지방조직에서 전신적으로 방출되어 혈중 유리지방산의 농도 상승을 촉진하고 인슐린 저항성을 유발한다³³⁾. 본 연구에서 신약 비만 모델이 비만대조군에 비해 통계적으로 유의하게 IL-6의 발현이 증가한 것을 확인하였다(Fig. 12). 이 발현의 증가가 의미하는 것은, 신약 비만 모델에서는 동일한 체중에서도 비만으로 인한 만성 염증 상태가 더 심하게 나타난다는 것을 의미한다.

종합해보면, 신약 비만 모델은 동일한 고지방식이 섭취 기간 동안 섭취량은 오히려 많았으나 체중 증가는 비만대조군에 비해 적었다. 또한 지질대사에서 저밀도콜레스테롤 및 중성지방의 증가율 또한 유의하게 적었다. 반면에 혈중 glucose의 증가율은 비만대조군에 비해 크게 나타났다. 이는 섭취량에 비해 체내에 저장되는 양이 적다는 의미로 설명할 수 있다. 또한 mRNA 유전자 발현에서 요산 배설 및 대사증후군 발현과 연관 있는 GLUT-9 유전자 발현이 유의하게 감소하였으며 비만으로 인한 지방조직에서 분비되는 만성 염증 물질인 IL-6의 발현 증가 또한 확인되어, 동일한 비만상태에서도 신약 비만 모델에서 요산 배설대사의 장애와 만성 염증의 심화가 더 심하게 나타날 수 있다는 것이다.

비대신소한 소양인의 경우 비국에서의 태과한 수곡 열기를 신국의 음청지기를 통하여 얼마나 제어하느냐가 병리적인 핵심으로, 怒性과 衰情의 조절에 따라 병리적 과정이 달라지게 된다. 상기 모델은 인위적인 장부의 물리적 절제를 통해 기능의 偏小을 유발한 것으로 性情의 편급과 그로 인한 장부대소의 편차로 인해 체질이 구분되고 소증과 병증의 차이가 발생하는 실제 체질과는 동일시하기 힘들다. 그러나 상기 모델의 소증을 단순히 가정하여 추론해보면, 일반 비만대조군보다 만성 염증상태가 심화되는 상황이나 요산 배설대사의 장애가 나타나는 것을 熱證의 심화로 봤을 때 제어되지 못한 수곡열기가 腎局의 腎·大腸을 상하게 하는 소양인 裏熱證의 소증과 유사하게 가정한 비만 소증 모델로 설명할 수 있을 것 같다. 이에 상기 연구에서 나온 지질대사 및 당대사 결과에 대한 인슐린 저항성 혹은 대사증후군 유전 인자들에 대한 추가적인 연구 혹은 상기 모델에서 나타난 요산 배설인자 관련 GLUT-9의 감소 등 유의한 인자들에 대한 체질 임상 연구를 통하여 모델 자체의 유의성에 대한 확인이 필요할 것으로 보인다. 재현하기 힘든 체질 동물 모델에 대하여 새로운 관점으로 모델 개발을 접근해 봤다는 1차적 의의를 찾을 수 있으며 추후 추가적인 연구가 필요할 것으로 기대된다.

결론

신절제로 유발한 신약(腎弱) 동물 모델을 만든 후 고지방식을 투여하여 비만 유도 후 비만 및 지질대사, 대사증후군 관련 인자에 대한 영향을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 신약 비만 모델은 비만대조군과 비교하여 체중증가율이 약 8.45% 감소하였으며, 고지방식이 투여 기간 동안 식이효율(Food Efficiency)은 일반대조군과 비슷하였다.
2. 혈액화학적 검사 결과 Total Cholesterol은 세군 모두 정도 상승하였으나 통계적 유의성은 없었으며, LDL-Cholesterol 및 중성지방은 신약 비만 모델이 비만 대조군에 비해 유의하게 낮은 상승률을 보였다(각각 $p < 0.01$, $p < 0.005$).
3. 혈액화학적 검사 결과 신약 비만 모델의 혈중 Glucose는 비만대조군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.01$).
4. 실험 후 부검하여 실험군의 간 및 복부, 부고환의 피하지방 무게를 비교한 결과, 간과 복부 피하지방의 무게는 비만대조군과 큰 차이가 없었으나 부고환 지방조직의 경우 신약 비만 모델이 비만대조군에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.05$).
5. 실험군의 신장조직에서 PCR 증폭법을 사용하여 mRNA 유전자 발현량을 비교하였다. 요산 대사와 관련된 GLUT-9 유전자 발현이 신약 비만 모델에서 비만대조군보다 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 사이토카인(cytokine)의 일종인 Interleukin-6(IL-6)의 경우 신약 비만 모델이 비만대조군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.01$).

감사의 글

상기 연구는 과학기술정보통신부 '체질 특성에 따른 대사성 질환의 치료 약물 및 기기 임상 연구' (과제번호: 2015M3A9B6028311)의 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

1. Lee JM. Dongeiseusebowon. 2nd rev. Seoul: Yeogang. 2003;36,278.(Korean)
2. Hwang MW. The lecture of Sasang constitution. 2nd Edition. Seoul;Koonja. 2012;33-40.(Korean)
3. Dept. of Sasang Constitutional Medicine. All colleges of Korean med. in Korea(compilation). The revised and enlarged Sasang Constitutional Medicine. Seoul: Jipmoondang. 2012;136-144. (Korean)
4. Hwang MW, Koh BH. The Study on the Pathology of Soyangin in Sasang Constitutional Medicine(SCM). *Journal of Sasang Constitutional Medicine*. 2009;21(3):1-16
5. Lalich, J. J., P. M. Burkholder, and W. C. Paik. "Protein overload nephropathy in rats with unilateral nephrectomy. A correlative light immunogluorescence and electron microscopical analysis." *Archives of pathology* 99.2 (1975): 72-79.
6. Park SB. The Relation of Cardiovascular Risk Factors to Metabolic Syndrome. *Journal of the Korean Academy of Family Med*. 2005;26(10):20-26.
7. Sim JY, Kang HT, Kim SY, Kim JS, Kim JW, Kim JY et al. The Prevention and Treatment of Metabolic Syndrome in Korean Adults. *Korean Journal of Family Practice*. 2015;5(3):375-420.
8. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* 2012;33:1635-701.
9. Lee TG, Hwang MW, Lee SK, Choe BK, Koh BH, Song IB. A Study on the Prevalence and Risk Factors of the Metabolic Syndrome according to Sasang Constitution. *Journal of Korean Med*. 2006;27(2):14-22.
10. Kim DR. A Study on 4 Type Constitution and Life Character of Obese Patients. *Journal of Sasang Constitutional Medicine*. 1997;9(1):303-313.
11. Yang SM. Association between Risk Factors and Prevalence of Metabolic Syndrome according to Sasang Constitution in Wonju Cohort Study. *Doc. of Sangji Univ*. 2007.
12. Choi JW, Yu JS. Cut-off Values of Waist Circumference and Body Mass Index for Metabolic Syndrome according to Sasang Constitution. *Journal of Sasang Constitutional Medicine*. 2014;26(4):365-378.
13. Choi KJ. A Study on the Influence of Sasang Constitution on Insulin Resistance. *Doc. of Kyunghee Univ*. 2010.
14. Lee JW, Jang HS, Park BJ, Lee EJ, Koh BH, Lee JH. Can the Sasang Constitutional Type Trait Act as an Independent Risk Factor for Dyslipidemia? *Journal of Korean Med. Obesity Research*. 2014;14(2):63-71.
15. Kim YH, Park JH, Kwak JY, Park JM, Ahn TW. A Study of the Effect on Obesity in Taeemin Animal-experimental Model Induced Lung Fibrosis with Bleomycin. *Journal of Sasang Constitutional Medicine*. 2016;28(2):147-162.
16. Park JH, Kim YH, Kwak JY, Hong SJ, Park JM, Ahn TW. A study on the effect on obesity and lipid metabolism in liver hypofunction animal-experimental model induced by Acetaminophen(AAP) injection. *Journal of Korean Med*. 2016;37(3):47-61.
17. Kim, K. B., & Park, S. O. (2001). A study of the correlation of stress and powerlessness based on hemodialysis patients' constitution of the Korea. *Journal of East-West Nursing Research*, 6(1), 7-22.
18. Kim JD. "上壽如水: My Sassang constitution and

- characteristic 4." pastoral information, 3.4 (2010): 102-104.
19. Kim BH, Joe DY, Lee SH, Park SE, & Ga MK. Generation Sasang Constitution Diagnosis and Classification Using Acoustics Analysis Element. Korea information and communications society, 2006, 614-617.
 20. Park GS, Han JS, & Kim HJ. Effect of Diet Contents on Serum Composition and Urinary Excretion in Female Students according to Sasang Constitution. *J East Asian Soc Dietary Life*, 1998, 8(3), 271-279.
 21. Moon SH, Sin SH, Kim HJ, Kim JY. A Relationship of the Obesity and Body Composition Analysis by Sasang Constitution. *Journal of Korean Rehabilitation Med*. 2002;12(4):1-10.
 22. Ucerro AC, Benito-Martin A, Izquierdo MC, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Ramos AM et al. Unilateral ureteral obstruction: beyond obstruction. *Int Urol Nephrol*. 2014;46(4):765-776.
 23. Hwang GH, Noh YH, Heo YR. A Study on Hyperlipidemia in Koreans - Specially Related to Hematological Characteristics and Risk Factors of Hypercholesterolemia. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 1999;28(3):710-721.
 24. Lee HJ, Shin GI, Park SH, Cho HK. Insulin Resistance and Visceral Fat Obesity in Hyperlipidemia. *Korean Circulation Journal*. 1999;29(7):673-679.
 25. Byrne CD, Brindel NPJ, Wang TWM, Hales CN. Interaction of non-esterified fatty acid and insulin in control of triacylglycerol secretion by Hep G2 cells. *J Biochem* 1991;280:99-104
 26. Randle PF, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle in obesity and maturity onset diabetes mellitus. *Ann NY Acad Sci* 1965;131:324-33.
 27. Yoon HJ, Lee YH, Cha BS. Causal Relationship of Non-alcoholic Fatty Liver Disease with Obesity and Insulin Resistance. *Journal of Korean Diabetes*. 2014;15:76-81.
 28. DeBosch BJ, Kluth O, Fujiwara H, Schürmann A, Moley K. Early-onset metabolic syndrome in mice lacking the intestinal uric acid transporter SLC2A9. *Nat Commun*. 2014;5:4642.
 29. Shin YT, Kim KK, Hwang IC. Clinical Implication of Plasma Uric Acid Level. *Korean Journal of Family Medicine*. 2009;30(9):670-680.
 30. Quinones Galvan A, Natali A, Baldi S, Frascerra S, Sanna G, Ciociaro D et al. Effect of insulin on uric acid excretion in humans. *Am J Physiol* 1995;268:1-5.
 31. Eder K, Baffy N, Falus A, Fulop AK. The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. *Inflamm Res*. 2009;58(11):727-736.
 32. Sindhu S, Thomas R, Shihab P, Sriraman D, Behbehani K, Ahmad R. Obesity Is a Positive Modulator of IL-6R and IL-6 Expression in the Subcutaneous Adipose Tissue: Significance for Metabolic Inflammation. *PLoS One*. 2015;10(7):e0133494.
 33. Stouthard JM, Romijn JA, Van der Poll T, et al. Endocrinologic and metabolic effects of interleukin-6 in humans. *Am J Physiol* 1995;268: 813-319.