

Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 신장 및 뇌조직에서의 Microsomal Mixed Function Oxidase System에 미치는 녹차 Catechin의 영향

이순재[†] · 신주영 · 차복경

대구효성가톨릭대학교 식품영양학과

Effect of Green Tea Catechin on the Microsomal Mixed Function Oxidase System of Kidney and Brain in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Soon-Jae Rhee[†], Ju-Young Shin and Bok-Gyeong Cha

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungsan 713-702, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of green tea catechin on microsomal mixed function oxidase(MFO) system of kidney and brain in streptozotocin(STZ) induced diabetic rats. Sprague-Dawley male rats weighing 140 ± 10 g were randomly assigned to one control and three STZ-diabetic groups. Diabetic groups were classified to DM-0C(catechin 0%/kg diet), DM-0.5C(catechin 0.5%/kg diet), and DM-1.0C(catechin 1%/kg diet) according to the level of catechin supplementation. Diabetes were experimentally induced by intravenous administration of 55mg/kg body weight of STZ in citrate buffer(pH 4.3) after 4 weeks feeding of three experimental diets. Animals were sacrificed at the sixth day of diabetic state. The contents of cytochrome P₄₅₀ in kidney were increased by 77, 42, 49% in DM-0C, DM-0.5C and DM-1.0C groups, respectively, than normal group. The contents of cytochrome P₄₅₀ in brain were increased by 43% in DM-0C group than normal group, but those of DM-0.5C and DM-1.0C groups were similar to that of normal group. The contents of cytochrome b₅ in kidney were increased by 78, 38, 49% in DM-0C, DM-0.5C and DM-1.0C groups, respectively, than normal group. Meanwhile, the contents of cytochrome b₅ in brain were not significantly different among all groups. The activities of NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase in kidney of DM-group were increased by 27% than normal group, but those of DM-0.5C and DM-1.0C groups were 13 and 15% lower than that of DM-0C group. The activities in brain were also increased by 31% in DM-0C group, but those of DM-0.5C and DM-1.0C groups were similar to that of normal group. Levels of TBARS(thiobarbituric acid reactive substance) in kidney were increased by 147, 60 and 59% in DM-0C, DM-0.5C, and DM-1.0C groups, respectively, compared with normal group, but those of DM-0.5C and DM-1.0C groups were 36, 35% lower than that of DM-0C group. Meanwhile, the levels of TBARS in brain were not significantly different among four groups. These results indicate that dietary catechins in green tea play a powerful antioxidant role in reducing the lipid peroxidation enhanced by activation of MFO system in STZ-induced diabetes.

Key words: diabetes, mixed function oxidase system, catechin

서 론

생체는 병리적인 상태 뿐만 아니라 정상적인 대사과정 중에서도 free radical이 생성되나 체내에서 유리기 제거계인 항산화 방어계에 의해 제거된다(1). 그러나 여러 요인에 의해 유리기 제거계에 비해 생성계가 촉진될 경우는 그 균형이 깨뜨려져 조직이 과산화적 손상을 받

게된다(2). 당뇨병과 같은 병리적 상태에서는 유리기 생성계의 하나인 mixed function oxidase(MFO계)가 활성화되어 O₂와 H₂O₂가 발생됨으로써 지질과산화증가된다는 선행 보고가 있다(3,4).

MFO계는 간에서 2상의 해독과정 중 제1상에 관여하는 효소계이다(5). 즉 체내에 흡수되는 환경오염 물질, 약물 등과 같은 지용성 이물질들은 산화, 환원, 결합 등

[†]To whom all correspondence should be addressed

의 변형과 해독과정을 통해 수용성으로 전환되어 체외로 배설되거나, 약물이 비활성화되며, 여기에 관여하는 약물대사 및 기타 독성물질의 대사는 크게 2상 반응으로 나누어진다(5,6). 1상 과정에서는 약물 및 독성물질 등 지용성 물질을 산화, 환원, 가수분해를 통하여 2상에서 처리되기 쉽게 만들며, 2상에서는 UDP-glucuronic acid, glutathione, sulfate 등과 결합시켜 수용성을 증가 시킴으로써 배설을 용이하게 한다(7).

1상 변형과정에 관여하는 효소로는 간세포의 소포체 막에 지방산, steroid 등의 내인성 물질과 약물이나 발암물질 등 외부로부터 유입된 물질들을 대사시키는 cytochrome P₄₅₀ 의존성 MFO계란 일련의 전자전달계 효소군이 존재하는 것으로 알려져 있다. 이 효소계는 membrane bound enzyme들인 cytochrome P₄₅₀, cytochrome b₅, NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 등으로 구성되어 있으며 이 MFO계에 의한 생성물질은 대부분 생물학적으로 비활성이므로 이 효소계는 체내에서 매우 중요한 해독기전이라 생각된다.

그러나 많은 약물이나 독소, 발암물질 등이 cytochrome P₄₅₀ 촉매에 의한 변형 과정 동안 활성화되어 원래의 물질 보다 더 활성적인 물질이 되기도 한다. 또 MFO 효소계는 독성물질을 해독하는 과정에서 O₂나 H₂O₂의 생성이 가능하고 조직에는 과산화반응이 초래될 수 있다(8).

MFO계의 활성변화는 기질이 다양하고 나아가 영양상태 등의 여러가지 생체 조건에 따라 달라진다는 여러 보고(9,10)가 있고 그외에도 MFO계 활성화에 미치는 항산화제에 관한 연구도 다소 보고(11-13)되고 있으나 대부분 간조직에서 관찰되었고, 신장이나 뇌조직에서는 별로 보고된 바 없다. 한편 녹차 중의 주된 생리활성 물질로 알려진 catechin은 polyphenol성 화합물로서 (+)-catechin과 (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, (+)-epigallocatechin 및 (-)-epicatechin gallate 등의 5가지 종류가 있으며, 이들은 혈청 콜레스테롤 저하작용(14), 항균작용(15), 항알레르기작용(16), 항암작용(17), 중추신경계 활성화(18) 및 중금속 제거작용(19) 있고 특히 항산화작용(20)이 우수하다고 알려져 있다. 그러므로 본 연구에서는 streptozotocin 유발 당뇨쥐의 신장과 뇌조직에서의 MFO계 활성 변화와 지질과산화를 관찰하고 아울러 이들에 미치는 catechin의 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 식이용 catechin은 태평양화학 중앙

연구소에 의뢰하여 池ヶ谷 등(21)의 분석법에 따라 crude catechin 분말을 조제하여 사용하였다. Catechin 함량 분석은 HPLC를 이용하였다. 기종은 Spectrophysics사 SP 8800을 사용하였고, column은 Lichrosorb RP-18 (4.6×250mm, Merck), mobile phase는 25% THF-1% phosphoric acid, flow rate는 2ml/min, detector는 UV 280nm, isocratic time은 6분으로 하였다.

당뇨병 유발용으로 사용한 streptozotocin은 Sigma사(St. Louis, USA) 제품을 사용하였고, 분석용 시약인 β-reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate tetrasodium salt(NADPH), sodium azide, glutathione reductase, methylglyoxal, glyoxalase I, thiobarbituric acid(TBA), xanthine, uric acid, β-nicotinamide adenine dinucleotide(NAD)와 albumin (bovine serum albumin)도 Sigma사 제품을 사용하였으며 그 외 모든 시약은 특급을 사용하였다.

실험동물 및 식이

실험동물은 체중 140g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 사용하였으며, 환경에 적응시키기 위해 일주일 간 예비 사육한 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 Table 1과 같이 당뇨를 유발하지 않은 정상군과 당뇨유발 실험군으로 나눈 후 실험군을 다시 catechin 공급 수준에 따라 catechin을 공급하지 않는 DM-0C군(0% catechin), 0.5%를 공급한 DM-0.5C군(0.5% catechin), 1%를 공급한 DM-1.0C군(1% catechin) 등 각 10마리씩 4군으로 나누어 4주간 사육하였다.

기본 실험 식이조성은 Table 2와 같으며 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취케 했다. 식이용 catechin은 池ヶ谷 등(21)의 방법으로 추출한 crude catechin분말을 사용하였다. 녹차에서 추출한 crude catechin의 조성은 분말 100μg당 epigallocatechin 24.2μg, epicatechin 7.0μg, epigallocatechin gallate 45.35μg, epicatechin gallate 10.92μg을 포함하고 있다. 당뇨 유발은 당뇨 유발군 동물을 희생시키기 6일 전에 streptozotocin

Table 1. Classification of experimental groups

Groups	Catechin ¹⁾ (g/1000g diet(%))	STZ injection ²⁾
Control	-	-
DM-0C	-	+
DM-0.5C	5(0.5%)	+
DM-1.0C	10(1.0%)	+

¹⁾Catechin from green tea

²⁾Intravenous injection of streptozotocin(55mg/kg of body weight) in 0.1M sodium citrate buffer(pH 4.3) via tail vein.

Table 2. Composition of basal diet

Ingredients	Basal diet(g/kg diet)
Corn starch ¹⁾	668
Casein ²⁾	180
DL-methionine ³⁾	2
Corn oil ⁴⁾	50
Vitamin mix ⁵⁾	10
Salt mix ⁶⁾	40
Cellulose ⁷⁾	50
kcal/kg	3.850

¹⁾Pung-Jin Chem. Co.

²⁾Lactic casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wington, N. Z.

³⁾Sigma Chem. Co.

⁴⁾Dong-Bang Oil Co.

⁵⁾Vitamin mix: according to NRC(14)

per kg of diet; thiamin-HCl, 20mg; riboflavin, 21mg; pyridoxine, 20mg; nicotinic acid, 90mg; d-calcium pantothenate, 60mg; folic acid, 10mg; biotin, 1mg; menadione, 45mg; vitamin B₁₂(0.1% triturate in mannitol), 20mg; retinyl acetate, 2,000IU; cholecalciferol, 1,000IU; choline, 1.5g; inositol, 0.1g; *p*-amino benzoic acid, 0.1g; dl- α -tocopheryl acetate, 40mg

⁶⁾Salt mix: according to Haper's(14)

g per/100g of salt mixture; CaCO₃, 30.0g; CaHPO₄, 7.5g; K₂HPO₄, 32.2g; NaCl, 16.7g; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2g; ferrictrate, 2.75g; MnSO₄, 0.51g; KI, 70mg; CuCl₂ · 5H₂O, 35mg; ZnCl₂, 25mg; CoCl₂ · 5H₂O, 5mg; (NH₄)₆Mo₇O₂ · 4H₂O, 5mg

⁷⁾Sigma Chem.Co.

CMC(sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber)

(STZ)을 55mg/kg body weight로 신선한 0.1M citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사한 후 6일째 희생하여 혈당량이 300mg/dl 이상인 동물만 실험에 사용하였다.

시료채취 및 효소원의 조제

실험 종료 후 12시간 절식시킨 후 쥐를 희생시켰다. 신장과 뇌를 절제하고 0.9% NaCl로 세척한 후 액체 질소로 급속 냉동시킨 후 -80°C에 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다.

신장과 뇌조직의 microsome 분획은 0.25M sucrose로 일정량의 각조직을 균질화시킨 후 8,000×g에서 4분간 원심분리하였다. 이 때 얻어진 상층액을 다시 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 상층액인 cytosol 분획과 침전물(pellet)과 microsome분획을 분리한다. 다시 pellet층에 0.25M sucrose를 3ml 넣어 105,000×g에서 60분간 원심분리한 후 pellet에 0.25M sucrose로 부유시켜 -80°C에서 보관하였다가 본 실험에 사용하였다.

신장과 뇌조직 중의 cytochrome P₄₅₀ 활성 측정

신장 및 뇌조직 microsome 중의 cytochrome P₄₅₀ 함량은 Omura와 Sato(22)의 방법으로 환원형 carbon monooxide complex 450nm와 490nm에서 spectrophotometer(spectronic genesys)로 측정하였다. 즉 냉동 보관한 microsome용액을 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)로 희석시켜 약 1mg/ml의 단백질 농도로 만든 다음 CO gas로 1분간 bubbling 시켰다. CO gas로 처리한 희석용액을 3~5분 지난 후 baseline을 측정하고, 이어 sodium dithionite를 넣고 3분 후에 450nm와 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 91mM⁻¹cm⁻¹로 하였다.

신장과 뇌조직 중의 cytochrome b₅ 함량

Omura와 Sato(22)의 방법으로 cytochrome b₅의 환원형과 산화형 사이의 흡광도를 측정하였다. 보관된 microsome용액을 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)로 희석시킨 다음 NADH용액을 넣어 NADH 최종 농도가 0.2mM이 되도록 한 다음 424nm와 409nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 185mM⁻¹cm⁻¹로 하였다.

신장과 뇌조직 중의 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 활성 측정

Master 등(23)의 방법으로 dichlorophenolindophenol (DCIP)의 흡광도 감소를 600nm에서 1분간 관찰하여 활성도를 측정하였다. 보관된 microsome용액을 0.05M phosphate buffer(pH 7.7, 10⁻⁴M EDTA 포함)로 희석시켜 1mg/ml의 단백질 농도로 만든 다음 semimicro cell내에 희석용액이 DCIP 96×10⁻⁹ moles이 함유되도록 하고 10⁻³M NADPH용액을 가하여 최종 부피가 1.1 ml 되도록 하고 이때 NADPH용액을 넣은 후 30°C에서 1분간 흡광도의 감소를 측정하였고 molar extinction coefficient는 21mM⁻¹cm⁻¹로 하였다.

신장과 뇌조직 중의 지질과산화물 함량 측정

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 물질을 *n*-butanol로 추출하는 Satoh(24) 방법을 이용하였다.

단백질 측정

신장과 뇌조직의 단백질 농도는 bovine serum albumin을 표준용액으로 하여 Lowry방법(25)에 의해 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 Tukey's HDS test(26)에 의해 처리하였다.

결과 및 고찰

녹차의 catechin 유도체의 함량

녹차에서 추출한 crude catechin의 함량은 Table 3과 같다. 순도는 87.5%였으며 종류별로 비교하였을 때 EGCg 함량이 가장 높았고 EGC>ECg>EG순이었다.

신장 및 뇌조직의 무게

신장 및 뇌조직의 무게는 Table 4와 같이 정상군과 DM 실험군간의 유의적인 차이는 없었다.

신장 및 뇌조직의 cytochrome P₄₅₀ 측정

신장 조직 중의 cytochrome P₄₅₀ 함량은 Table 5와 같이 정상군에 비해 DM-0C, DM-0.5C, DM-1.0C에서 각각 77, 42, 49%씩 증가하였다. 그리고 당뇨 실험군을 서로 비교했을 때 DM-0C군에 비해 DM-0.5C, DM-1.0C군은 각각 20, 16%씩 감소하였다. 뇌조직에서의 cytochrome P₄₅₀ 함량은(Table 5) 신장조직과 그 함량은 비슷하였으며, 정상군에 비해 DM-0C군은 43% 증가하였으나 DM-0.5C, DM-1.0C군은 정상군과 비슷한 수준이었다.

신장 및 뇌조직의 cytochrome b₅ 함량

신장과 뇌조직에서 cytochrome b₅ 함량은 Table 6과

Table 3. Composition of crude catechins from green tea

Catechin/100µg powder				
EGC	EC	EGCg	ECg	Total
24.2µg	7.00µg	45.38µg	10.92µg	87.50µg

EGC, (+)-Epigallocatechin; ECg, (-)-Epicatechin gallate; EC, (-)-Epicatechin; EGCg, (-)-Epigallocatechin gallate

Table 4. Kidney and brain weights of experimental rats

Groups	Kidney	Brain
	(g/100g B.W.)	(g/100g B.W.)
Normal	1.552±0.029 ^{NS}	0.796±0.066 ^{NS}
DM-0C	1.543±0.028	0.894±0.047
DM-0.5C	1.518±0.069	0.842±0.053
DM-1.0C	1.508±0.069	0.830±0.077

All values are mean±SE(n=10).
^{NS}Not significant

Table 5. Effects of green tea catechin on kidney and brain cytochrome P₄₅₀ contents in STZ-induced diabetic rats

Groups	Kidney	Brain
	(nmol/mg protein)	(nmol/mg protein)
Normal	0.136±0.010 ^a	0.169±0.008 ^a
DM-0C	0.241±0.016 ^b	0.242±0.011 ^b
DM-0.5C	0.194±0.013 ^c	0.178±0.020 ^a
DM-1.0C	0.203±0.003 ^c	0.176±0.016 ^a

All values are mean±SE(n=10).

Values with different superscripts in a column are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

같다. 신장조직에서는 정상군에 비해 DM-0C군은 78% 증가하였으나, DM-0.5C, DM-1.0C군은 정상군과 비슷한 수준으로 감소되었고, 한편 뇌조직에서는 당뇨군 모두 정상군과 차이가 없었다.

신장 및 뇌 조직의 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 활성

신장 및 뇌조직의 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 활성은 Table 7에서 보는 바와 같이 신장 조직에서 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 활성은 정상군에 비해 DM-0C군은 27% 증가하였고, 당뇨군에서 DM-0.5C, DM-1.0C군은 DM-0C군보다 13, 15%씩 각각 감소하여 정상군과 유의적인 차이가 없었다. 한편 뇌조직에서의 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 활성은 신장 조직에 비해 그 활성이 높았으나 그 경향은 비슷하였다.

신장과 뇌조직의 지질과산화물

생체조직의 과산화적 손상의 지표로 알려진 지질과산화물을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 신장조직 지질과산화는 정상군에 비해 DM-0C, DM-0.5C, DM-1.0C군에서 각각 147, 60, 59% 증가하였고, DM-0.5C, DM-

Table 6. Effects of green tea catechin on kidney and brain cytochrome b₅ contents in STZ-induced diabetic rats

Groups	Kidney	Brain
	(nmol/mg protein)	(nmol/mg protein)
Normal	0.256±0.022 ^a	0.414±0.021 ^{NS}
DM-0C	0.456±0.049 ^b	0.448±0.038
DM-0.5C	0.284±0.021 ^a	0.449±0.048
DM-1.0C	0.260±0.025 ^a	0.440±0.045

All values are mean±SE(n=10).

Values with different superscripts in a column are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

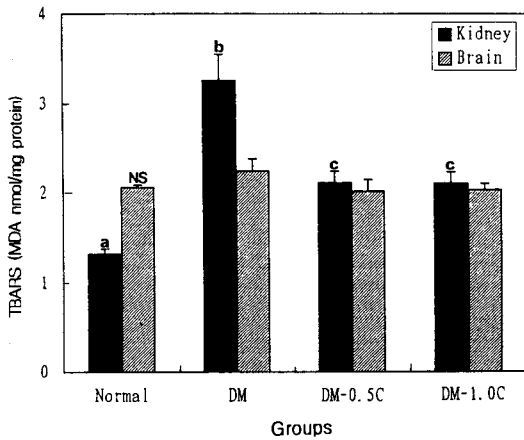
NS: Not significant

Table 7. Effects of green tea catechin on kidney NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase activities in STZ-induced diabetic rats

Groups	Kidney	Brain
	(nmol/mg protein/min)	(nmol/mg protein/min)
Normal	24.90 ± 1.294 ^a	49.53 ± 1.753 ^a
DM-0C	31.54 ± 1.063 ^b	65.07 ± 2.359 ^b
DM-0.5C	27.51 ± 1.745 ^a	52.42 ± 2.700 ^a
DM-1.0C	26.93 ± 1.081 ^a	53.07 ± 2.060 ^a

All values are mean ± SE (n=10).

Values with different superscripts in a column are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

**Fig. 1. Effects of green tea catechin on microsomal TBARS in kidney and brain of STZ-induced diabetic rat.**

All values are mean ± SE (n=10).

Bars having the different superscripts are significantly different from other groups (p<0.05).

1.0C군은 DM-0C군에 비해 각각 36, 35%씩 감소하였으며, DM-0.5C, DM-1.0C군은 비슷한 수준이었다. 한편 뇌조직에서의 지질과산화는 정상군과 당뇨군에서 비슷한 수준이었다.

본 연구는 STZ에 의해 유발된 당뇨쥐의 신장 및 뇌조직에서의 MFO계 및 지질과산화에 미치는 녹차 catechin의 영향을 조사하였다. 약물대사 효소계에서 가장 중심이 되는 cytochrome P₄₅₀ 함량을 관찰한 결과 신장 조직에서는 정상군에 비해 DM-0C군이 77% 증가하였으나 DM-0.5C, DM-1.0C군에서는 각각 42, 49%씩 증가하였다. 뇌조직에서는 정상군에 비해 DM-0C군은 43% 증가하였으나 녹차투여군은 정상군 수준이었다. Astrom과 De Pierre(27)에 의하면 2-acetylaminofluorene(2-AAF)를 투여하면 발암물질을 대사시키기 위해 cytochrome P₄₅₀ 함량이 간장조직에서 증가된다는 보고와 같이 외인성 물질을 대사시키기 위하여 증가된 것

으로 생각된다. Cytochrome b₅는 cytochrome P₄₅₀과 함께 소포체에 존재하고, 분자량이 비교적 작은 단백질로 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase와 상호작용을 하여 이물질대사 및 지방산, hormone 등의 대사시에 여러가지 산화환원 반응에 관여하여 전자를 공급해주는 물질로 알려져 있다(28). 본 실험에서 신장조직의 cytochrome b₅함량은 DM-0C군은 정상군에 비해 78% 증가하였으며, DM-0.5C, DM-1.0C군은 정상군 수준이었고 뇌조직에서는 정상군과 당뇨군 사이에 유의적 차이가 없었다. 김과 최(9)의 보고에 의하면 쥐에 질산 납 투여를 증가시켰을 때 cytochrome b₅ 함량이 납 함량에 따라 간장조직에서 증가하였으나, 흉상추출물 급여시 정상군 수준으로 회복되었다. 이것은 microsomal 단백질들이 기질과의 활성화 및 비활성화 반응시 기질의 농도에 따라 적량의 흉상추출물이 비특이적인 작용으로 기인된 것이라고 보고하였다.

MFO계에 존재하고 endogeneous substance와 이물질 대사에 많은 작용을 하고, 분자내 산화환원 반응에 있어서 요구되는 두개의 전자 중 하나를 운반하는 것으로 알려져 있는 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase는 flavoprotein component로 전자를 terminal oxidase인 cytochrome P₄₅₀으로 전달하는데 촉매역할을 한다(29). 본 실험에서 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase활성은 신장에서는 정상군에 비해 DM-0C군은 27% 증가하였고, DM-0.5C, DM-1.0C군은 DM-0C군에 비해 다소 감소하였다. 뇌조직에서는 정상군에 비해 DM군은 31% 증가하였고 녹차투여군은 정상군과 비슷한 수준이었다. 이와 같이 식이내 catechin 공급에 따라 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase가 정상군 수준으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 지방의 종류를 달리 한 식이를 급여한 후 2-AAF 투여시 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase의 활성도가 간장조직에서 증가하였으나, 식이내 0.3%의 BHT를 첨가한 결과 활성도가 정상군 수준으로 회복되었다는 김과 최(9) 및 Astrom과 Di Pierre(27)의 보고와 유사하였다.

이상과 같이 STZ 유발 당뇨쥐 신장조직에서는 cytochrome P₄₅₀, cytochrome b₅, NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase 활성이 정상군 수준 이상으로 증가하였으나 catechin을 공급함에 따라 그 활성도가 감소하여 정상군과 비슷한 수준으로 되었다. 이러한 MFO계의 활성 증가는 전보(10)에서 당뇨쥐 간장조직에서의 결과와 비슷한 양상이며 체내 기질인 steroid, hormone 등과 외부의 환경물질이 들어 있을 때 해독작용에 관여하는 효소의 활성을 증가시켜 생체를 보호하려는 기능이라 생각되며(30), catechin이 항산화제로 작용하여 MFO계

의 활성을 다소 완화시켰으리라 여겨진다. 뇌조직에서는 MFO계 활성 변화가 크게 차이가 없었는데 이는 뇌조직의 모세혈관장벽의 물질 투과의 특수성 때문으로 생각되어진다.

신장조직 microsomes에서의 지질과산화 값을 관찰한 결과는 정상군에 비해 catechin을 투여하지 않은 DM군과 catechin을 투여한 DM-0.5C, DM-1.0C군에서 각각 147, 60, 59%씩 각각 증가하였으나, 뇌조직에서는 정상군과 당뇨군이 비슷한 수준이었고 유의적 차이가 없었다. 식이내 catechin 투여에 따라 지질과산화 값이 감소되는 것은 catechin의 free radical trapping activity와 chain-breaking antioxidative activity에 의해 억제됨을 의미하는 것으로 생각할 수 있다(31,32). 이와 같은 결과는 최와 이(33)의 STZ 유발 당뇨쥐에서 항산화제인 비타민 E를 급여시켰을 때 간조직에서의 지질과산화물의 축적이 감소되는 것과 같은 현상이라 보여진다.

이상의 결과에서 STZ 유발 당뇨쥐의 신장조직에서의 MFO계의 활성도가 증가됨에 따라 지질과산화 반응이 촉진되었으나, 녹차 catechin의 공급은 MFO계 활성 및 과산화적 손상이 완화되는 것을 알 수 있었다.

요 약

당뇨 유발쥐에서의 신장 및 뇌조직에서의 MFO계 활성과 지질과산화에 미치는 녹차 catechin의 영향을 관찰하기 위해 체중 140g 내외의 Sprague-Dawley 수컷을 정상군과 당뇨군으로 나누고, 다시 식이내 catechin 함량에 따라 DM-0C(0% catechin), DM-0.5C(0.5% catechin), DM-1.0C(1.0% catechin) 식이군으로 나누어 4주간 사육한 후 정상군을 제외한 실험군을 STZ로 당뇨를 유발시켰다. 당뇨유발 6일 후 쥐를 희생시켜 신장 및 뇌조직 microsomes 중의 mixed function oxidase (MFO) system과 과산화지질 함량을 관찰하였다. 신장조직 중의 cytochrome P₄₅₀ 함량은 정상군에 비해 DM-0C, DM-0.5C, DM-1.0C군에서 각각 77, 42, 49% 증가하였다. 한편 뇌조직 중의 cytochrome P₄₅₀ 함량은 정상군에 비해 DM-0C군이 43% 증가하였으나, DM-0.5C, DM-1.0C군은 정상군과 비슷한 수준이었다. 신장조직 중의 cytochrome b₅ 함량도 정상군에 비해 DM-0C군은 78% 증가하였고, DM-0C군에 비해 DM-0.5C, DM-1.0C군은 각각 38, 43% 감소하였다. 뇌조직 중의 cytochrome b₅ 함량은 정상군과 비슷한 수준이었다. 신장조직 중의 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase는 DM-0C군이 정상군에 비해 27% 증가하였고, DM-0.5C, DM-

1.0C군은 DM-0C군보다 13, 15% 감소하였다. 뇌조직 중의 NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase는 DM-0C군은 정상군에 비해 31% 증가하였고, catechin 투여군은 정상수준이었다. 신장 조직 중의 TBARS 함량은 정상군에 비해 DM-0C, DM-0.5C, DM-1.0C군에서 각각 147, 60, 59% 증가하였으며 뇌조직중의 지질과산화는 정상군과 당뇨군에서 비슷한 수준이었다. 따라서 녹차 catechin은 STZ 유발 당뇨군의 신장과 뇌조직에서의 MFO계 활성을 완화시키고, 지질과산화를 억제시킴을 알 수 있었다.

문 헌

1. Frielovich, I. : The biology of oxygen radicals, the superoxide radical as an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutase provides an important defense. *Sci.*, **201**, 875(1978)
2. McCord, J. M. and Fridovich, K. : Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, **224**, 6049(1969)
3. Prichard, K. A., Patel, S. T., Karper, C. W., Newman, H. A. I. and Panganamala, R. V. : Triglyceride-lowering effects of dietary vitamin E in streptozotocin induced diabetic rats. Increased lipoprotein lipase activity in livers of diabetic rats fed high vitamin E. *Diabetes*, **35**, 278(1986)
4. Karpen, C. W., Cataland, S., O'Doriso, T. M. and Panganamala, R. V. : Production of 12-hydroxyeicosatetraenoic and vitamin E status in platelets from type I human diabetic subjects. *Diabetes*, **34**, 526(1985)
5. Remmer, H. : The role of the liver in drug metabolism. *Am. J. Med.*, **49**, 617(1970)
6. Miller, J. A. : Carcinogenesis by chemicals: An overview - GHA Clowes memorial lecture. *Cancer Res.*, **30**, 559(1970)
7. Astrom, A. and Depierre, J. W. : Characterization of the induction of drug-metabolizing enzymes by 2-acetylaminofluorene. *Biochem. Biophys. Acta*, **673**, 225 (1981)
8. Bidlack, W. T. and Tappel, A. L. : Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids*, **8**, 177 (1973)
9. 김현아, 최혜미 : 2-Acetylaminofluorene과 choline 결핍이 서로 다른 지방을 섭취한 쥐간의 지질과산화 반응 및 glucose 6-phosphatase, glutathione S-transferase 활성도에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **23**, 418(1990)
10. 박영란, 이순재, 임영숙, 주길재 : 식이 vitamin E가 streptozotocin 유발 당뇨쥐의 간 및 폐조직에서의 microsomal mixed function oxidase system에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*, **25**, 96(1996)
11. Chen, J., Mabel, P., Goetchirs, T., Campbell, C. and Getald, F. C. JR. : Effects of dietary selenium and vitamin E on hepatic mixed function oxidase activities and *in vivo* covalent binding of aflatoxin B₁ in rats. *J. Nutr.*, **112**, 324(1982)

12. Nair, P. P., Murty, H. S., Cassi, P. I., Brooks, S. K. and Quartner, J. : Vitamin E regulation of the biosynthesis of porphyrins and heme. *Food Chem.*, **20**, 476(1972)
13. 박미리, 조수열 : 흰쥐 간에 있어 지질과산화에 미치는 식이성 비타민 E의 수준 및 카페인에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **23**, 561(1994)
14. Muramatsu, K., Fukuyo, M. and Hara, Y. : Effect of tea catechins on plasma cholesterol fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32**, 613(1986)
15. Toyoshima, Y., Okubo, S., Toda, M. and Shimamura, T. : Effect of catechin on the ultrastructure of *Trichophyton mentagrophytes*. *Kansenshogaku Zasshi*, **68**, 295(1994)
16. 林榮一 : 綠茶生藥の藥理效果 について. 浦上財團研究報告書, **1**, 25(1989)
17. Fujita, Y., Yamane, T., Tanaka M., Kuwata, K., Okuzumi, J., Takehashi, T., Fujiki, H. and Okuda, T. : Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin gallate on carcinogenesis with N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in mouse duodenum. *Japan J. Cancer Res.*, **80**, 503(1989)
18. Hayashi, E., Hayashi, M. and Yamazoe, H. : Pharmacological cation of tea extract on the central nervous system in mice. *Oyo. Yakuri*, **40**, 351(1990)
19. 김미지, 이순재 : 한국산 녹차, 우롱차 및 홍차 음료의 cadmium 제거작용에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, **23**, 784(1994)
20. 이주원, 신호선 : 녹차 추출물의 항산화 효과. *한국영양학회지*, **25**, 759(1993)
21. 池ヶ俗 賢次郎, 高柳博次, 何南農正 : 茶の分析法. *茶葉研究報告*, **71**, 43(1990)
22. Omura, T. and Sato, R. : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370(1964)
23. Master, B. S. S., Williams, C. H. and Karmin, H. : The preparation and properties of microsomal TPNH-cytochrome C reductase from pig liver. *Meth. Enzymol.*, **10**, 551(1967)
24. Satoh, K. : Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica. Chem. Acta*, **90**, 37(1978)
25. Lowry, O. H., Rosenbrouth, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Boil. Chem.*, **193**, 265(1951)
26. 채서일, 김범룡 : SPSS/PC를 이용한 통계 분석. 법문사(1988)
27. Astrom, A. and Di Pierre, J. W. : Characterization of the induction drug-metabolizing enzymes by 2-acetylaminofluorene. *Biochem. Biophys. Acta*, **673**, 225(1981)
28. 김기웅, 송용범 : 급성 납중독된 흰쥐의 이물질 대사효소의 활성도에 관한 연구. *한국생화학학회지*, **27**, 87(1994)
29. Gary, P. K. and Henry, W. S. : Preparation and characterization of FAD-dependent NADPH-cytochrome P₄₅₀ reductase. *J. Biol. Chem.*, **261**, 7824(1986)
30. Kitahara, A., Satoh, K., Nishimura, K., Ishikawa, T., Ruike, K., Sato, K., Tsuda, H. and Ito, N. : Changes in molecular forms of rat hepatic glutathione S-transferase during chemical hepato-carcinogenesis. *Cancer Res.*, **44**, 2698(1984)
31. Panganamala, R. V. and Corn, D. G. : The effect of vitamin E on arachidonic acid metabolism. *Ann. NY. Acad. Sci.*, **393**, 376(1982)
32. Gwebu, E. T., Trwyn, R. W., Cornwell, D. G. and Panganamala, R. V. : Vitamin E and inhibition of platelet lipoyxygenase. *Res. Common. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **28**, 361(1980)
33. 최원경, 이순재 : Streptozotocin 유발 당뇨병 쥐에 있어서 metallothionein 합성에 미치는 비타민 E의 영향. *한국영양식량학회지*, **24**, 183(1995)

(1997년 10월 9일 접수)