

동맥경화유발 토끼와 형질전환 마우스에서 산마늘 추출물의 항동맥경화 효과

김태균, 김승희, 강석연, 정기경, 최돈하,¹ 박용복,² 류중훈,³ 한형미*

식품의약품안전청 국립독성연구소, ¹임업연구소 천연물화학연구소,
²경북대학교 유전공학과, ³경희대학교 한약학과

Antiatherogenic Effect of the Extract of *Allium victorialis* on the Experimental Atherosclerosis in the Rabbit and Transgenic Mouse

Tae Gyun Kim, Seung Hee Kim, Soeg Youn Kang, Ki Kyung Jung, Don Ha Choi,¹
Yong Bok Park,² Jong Hoon Ryu³ and Hyung Mee Han*

National Institute of Toxicological Research,
Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea,

¹Lab. of Natural Products Chemistry, Forestry Research Institute, Seoul 130-012, Korea,

²Department of Genetic Engineering, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea,

³Department of Oriental Pharmaceutical Science, Kyung-Hee University, Seoul 130-702, Korea

Abstract—Atherosclerosis is emerging as one of the major causes of death in Korea as well as Western societies. In the present study, hypocholesterolemic and antiatherogenic effects of the ethanol extract of *Allium victorialis* Makino was investigated using the conventional rabbit and the cholesteryl ester transfer protein (CETP)-transgenic mouse model. Hypercholesterolemia was induced by feeding high cholesterol diet to the animals for 30 days and they were then fed with high cholesterol diet containing 0.5% of the *A. victorialis* extract for additional 30 (or 40) days. In the experiment using rabbits, treatment with the *A. victorialis* extract significantly decreased plasma total cholesterol, low density lipoprotein (LDL)-cholesterol, triglyceride levels and lipid peroxidation compared to those in the control group. Total cholesterol contents in the liver and the heart were also significantly decreased. Lipid staining of the aorta isolated from the rabbits showed that treatment with the *A. victorialis* extract decreased formation of atheromatous plaques on the intima of the aorta. In the experiment employing CETP transgenic mouse model, treatment with the *A. victorialis* extract decreased the levels of plasma total cholesterol and the tissue triglyceride levels in the heart. These results demonstrated that the ethanol extract of *A. victorialis* lowered serum cholesterol levels, tissue lipid contents and accumulation of cholesterol in the artery.

Key words—Atherosclerosis; hypercholesterolemia; *Allium victorialis*; rabbit; cholesteryl ester transfer protein (CETP)-transgenic mouse

순환기계 질환은 미국, 유럽뿐만 아니라 우리나라에서도 주요 사망원인으로 대두되고 있으며, 특히 동맥경화성 질환인 허혈성 심질환 (협심증, 심근경색증)

과 뇌혈관 질환에 의한 사망률이 큰 폭으로 증가되고 있다.¹⁾ 현재 가장 많은 지지를 받고 있는 동맥경화증 발생 이론은 “손상반응설 (response-to-injury hypothesis)”이며, 이는 동맥 내피세포의 손상 및 증식, 혈중 단핵구(monocyte)의 혈관벽내 이동과 대식세포

*교신저자 : Fax 02-380-1811

(macrophage)로의 변형, 지질과 죽은 세포조각의 침착, 평활근 세포의 증식 및 섬유화 과정, 혈소판 흡착 및 응집반응으로 인한 혈관수축과 협착을 거쳐 일어나며, 이에 따라 혈관이 비후되어 좁아지고 동맥벽이 경화되는 것으로 설명되고 있다.²⁾

구미에서 수십만 명을 대상으로 한 연구에서 고콜레스테롤혈증과 혈중 저밀도 지단백질 (low-density lipoprotein, LDL)의 농도 증가가 가장 중요한 동맥경화증의 발병요인이며, 그 외에도 흡연, 고혈압, 비만, 당뇨, 스트레스, 나이 등이 위험인자 (risk factor)임이 밝혀졌다.^{3,4)} 현대인의 생활환경의 향상에 따른 과다한 영양섭취는 콜레스테롤을 과다 섭취하게 되고 신체내의 세포 요구를 충족시키고 남게 된다. 이러한 콜레스테롤은 곧 저밀도 지단백질 내에서 혈액 속을 떠돌다가 변형된 형태로 비껴어 혈관 내막에 흡착되어 거품세포 (foam cell), 지방반 (fatty streak), 아테롬 (atheroma)으로 전환되는 원인이 되고, 혈관의 수축, 팽창 능력을 떨어뜨려 관상동맥 질환, 뇌졸중, 말초혈관 협착, 고혈압 등을 일으키는 원인이 되고 있다.^{2,5)}

불과 20년 전만 하더라도 동맥경화증은 나이가 들면서 자연히 생기는 퇴행성(degenerative) 과정이라고 생각했으나 수십 년에 걸친 역학적인 조사에서 여러 위험인자들이 복합적으로 작용하여 동맥경화 병변을 만들며,⁴⁾ 많은 종류의 세포들과 이들이 분비하는 각종 성장인자와 cytokine들이 복잡한 과정으로 병변에 관여한다.²⁾ 부검을 통한 연구 결과에서 보면 동맥경화는 소아기 시절부터 이미 생기기 시작하고,⁶⁾ 사춘기에 급속히 증가하기 시작하여 이후 계속 진행하면서 여러 위험인자에 의해 동맥경화증의 발생이 가속화된다.⁷⁾ 동맥경화증에 대한 연구는 고콜레스테롤혈증과 여러 위험인자들의 복잡한 반응에 의한 동맥경화로의 진행을 차단하여 예방하자는 것이 주목적인데 현재의 의학수준에서 모두 제거하지는 못하는 실정이다.

동맥경화증 연구에는 일반적으로 토끼가 실험모델로 쓰이는데 이는 단기간에 고콜레스테롤혈증과 동맥경화성 병변의 형성이 유도되며,⁸⁾ 동맥경화 유발인자 (atherogenic factor)인 cholesteryl ester transfer protein (CETP)⁹⁾의 효소 활성도가 사람에게 비해 2.8배나 높기 때문이다.¹⁰⁾ CETP는 최근 혈중 콜레스테롤 조절에 있어서 중요한 효소로 주목받고 있으며, 고밀도 지단백질 (high-density lipoprotein, HDL)로부터 저밀도 지단백질로 콜레스테롤을 이동시키는데 관여하는 효소이다. 혈중 CETP 활성이 거의 없는 것으로 알려진 돼지나 흰쥐를 이용한 연구와¹⁰⁾ 일본에서 수

행된 혈중 CETP 결핍 가계에 관한 연구에서¹¹⁾ 공통적으로 혈중 LDL 농도는 현저히 낮아지고, high-density lipoprotein (HDL)의 농도는 현저히 높아지는 결과를 보이며 혈중 총 콜레스테롤 농도는 정상인에 비해 2~3배 가량 높으나 동맥경화는 발병하지 않은 것으로 보고되었다. 이러한 점에 주목하여 CETP 효소의 저해를 통한 새로운 개념의 동맥경화 치료제 개발이 이루어지고 있으며, 새로운 동맥경화 질환 동물모델로서 이러한 CETP 효소의 유전자를 CETP의 발현이 없는 것으로 알려진 생쥐에 형질전환시킨 transgenic mouse (C57BL/6 UCTP-20)가 미국의 Upjohn사에서 개발되었다.¹²⁾

동맥경화증을 예방하기 위한 여러 가지 민간요법 혹은 식이요법들이 권장되고 있고 특히 생약재나 천연물 혹은 그 추출물들은 우리나라를 비롯한 동양권에서 과거로부터 현재까지 민간적으로 널리 사용되고 있으며 부작용이 적은 잇점이 있는 반면, 기초적, 과학적 연구가 많이 되지 않고 있는 실정이다. 이에 본 연구에서는 백합과 다년초 식물의 일종인 산마늘 (*Allium victorialis* Makino)의 항동맥경화성 효능에 대하여 시험하였다. 산마늘은 동북아시아 지역에 분포하고 있으며 우리 나라에서는 주로 울릉도 및 강원도 북부 산간의 고산지대에서 많이 자라고 있다. 산마늘은 예로부터 강장 및 생리장에 완화효과와 해독작용이 있는 것으로 전해 왔으며,¹³⁾ 특히 산마늘의 에탄올 추출물은 *in vitro*에서 섬광근점분석방법(scintillation proximity assay)을 이용한 CETP 효소활성 저해도 측정실험에서 높은 CETP 억제활성을 나타내었다(81%이상, unpublished). 본 연구에서는 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼와 CETP 형질전환 마우스에 산마늘 추출물을 투여하여 여러 가지 동맥경화성 변수에 미치는 영향을 살펴봄으로서 산마늘 추출물의 항동맥경화성 효능을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 산마늘은 울릉도에서 채집한 전초를 실내에서 건조시키고 추출을 위해 Wiley mill을 사용하여 40~60 mesh로 분쇄하였다. 분쇄된 전초를 실온에서 시료 부피의 3배 용량의 에탄올에 72시간 침적한 후 연속하여 3회 추출하고 추출액은 rotary evaporator에서 추출액 부피의 5%까지 진공 농축시킨 후 4°C에 보관하여 사용하였다.

시약 및 기기 - 식이용 콜레스테롤, sodium cho-

late, lard는 TEKLAD사 (미국), lovastatin은 중외제약, ketamine hydrochloride는 유한양행의 제품을 사용하였으며, triglyceride (TG) 측정 kit, 총콜레스테롤 측정 kit, high density lipoprotein (HDL)-콜레스테롤 측정 kit, alkaline phosphatase (ALP) 활성 측정 kit, thiobarbituric acid (TBA), malondialdehyde (MDA), trichloroacetic acid (TCA), tetramethoxypropane (TMP) 및 oil red O dye는 Sigma사 (미국)의 제품을 사용하였고, 그 외의 시약은 시판 특급 혹은 일급시약을 사용하였다. Spectrophotometer는 Molecular Devices사 (미국)의 SPECTRAMax 190 모델을 사용하였으며, polytron homogenizer는 Janke & Kunkel사 (독일)의 Ultra-turrax T25 모델을 사용하였다.

실험동물 - 토끼는 삼육실험동물농장(오산, 경기도) 으로부터 구입한 2.2~2.6 kg의 수컷 New Zealand White종을, CETP 형질전환 마우스 (C57BL/6 UCTP-20)는¹²⁾ 대전 생명공학연구소 유전자 자원 센터에서 공급받아 사용하였다. 사육조건은 온도 23±1°C, 상대 습도 55±5%, 명암교대 12시간으로 하였고, 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 충분히 공급하였다.

고콜레스테롤혈증 유발 - 토끼는 2주간의 순화기간 동안 펠렛사료 (육성용, 신촌사료)를 분쇄한 분말사료에 적응하게 하였고, 동맥경화증 유발을 위해서 분말사료에 1%의 콜레스테롤, 0.3%의 sodium cholate를 섞은 고콜레스테롤 식이 (high cholesterol diet, HCD)를 30일간 섭취시켰다.^{8,14)} 이후 토끼를 12시간 절식시키고 귀정맥에서 채혈하여 혈중 콜레스테롤 농도가 1,000 mg/dl 이상으로 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼를 선별하여 시험에 사용하였다. CETP 형질전환 마우스는 정상 식이용 마우스 분말사료 (퓨리나 1호)에 1% 콜레스테롤, 0.3% sodium cholate와 5% lard를 섞은 후 펠렛 형태로 제조하여 30일간 섭취시켰다. 이후 마우스의 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 고콜레스테롤혈증 유발을 확인한 후 시험에 사용하였다.

산마늘 추출물 투여 - 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼는 혈중 콜레스테롤 농도를 기준으로 하여 무작위로 산마늘 추출물 투여군, 양성대조군, 대조군으로 분리하였다. 산마늘 추출물 투여군은 이후 30일 동안 0.5%(v/w) 산마늘 추출물을 고콜레스테롤 분말식이에 섞어 투여하였으며, 매 10일마다 토끼의 귀정맥에서 채혈하여 혈장을 분석하였다. 양성 대조군에는 콜레스테롤 저하제로 잘 알려져 있는 lovastatin을 사료 kg당 0.05 g씩 섞어 투여하였다. CETP 형질전환 마우스는 고콜레스테롤 식이를 30일간 섭취시킨 후

0.5%(v/w) 산마늘 추출물을 첨가한 고콜레스테롤 펠렛사료를 이후 40일 동안 섭취시키면서 매 10일마다 마우스의 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 분석하였다.

혈장지질분석 - TG는 glycerol oxidase를 이용한 효소법으로, 총콜레스테롤은 cholesterol oxidase를 이용한 효소법으로, 그리고 HDL-콜레스테롤은 phosphotungstic acid-MgCl₂ 침전법¹⁵⁾을 이용한 kit를 이용하여 정량하였으며, 토끼의 LDL-콜레스테롤은 Fridwald식¹⁶⁾을 이용하여 계산하였다. ALP의 활성은 kinetic 방법¹⁷⁾을 이용하여 측정하였다.

혈장 지질과산화 상태 측정 - 혈장 과산화물 측정에 있어서는 Gutteridge의 방법¹⁸⁾을 적용하여 TBA 반응으로 형성되는 MDA를 정량하였다. 혈장 50 µl에 5% TCA 용액 300 µl와 60 mM TBA 100 µl를 넣어 잘 혼합한 후, 80°C 수조에서 90분간 가열하였다. 이 반응액을 실온으로 식혀 500×g에서 15분간 원심 분리한 다음 상층액을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. MDA 표준용액은 TMP를 가수분해하여 조제하였으며 이를 혈장과 동일한 조건에서 반응시켜 TBA-MDA chromopore 표준곡선을 얻고, 이 곡선으로부터 TBA 반응물질의 양을 MDA equivalent로 산출하였다.

조직지질 분석 - 실험종료 12시간 전에 모든 군의 토끼를 절식시킨 후 300 mg/kg ketamine hydrochloride를 복강내 주사하여 마취시키고 간과 심장조직을 적출하였다. 조직을 생리식염수로 씻어 혈액을 제거한 후 1g을 달아 10 ml의 완충액 (0.1M Tris-HCl, pH 7.4, 1 mM EDTA, 0.01% sodium azide)에 넣어 polytron homogenizer를 사용하여 분쇄하였다. 분쇄된 조직균질액은 10배 용량의 chloroform/methanol 용액 (2 : 1, v/v)에 넣어 조직내 전체 지질을 추출하였다. 2차 추출은 Folch 방법¹⁹⁾을 사용하였으며, 추출된 지질은 질소 gas로 말린 다음 isopropyl alcohol에 다시 녹인 후 총 콜레스테롤 농도와 triglyceride 농도를 전술된 방법으로 측정하였다.

대동맥의 지질침착정도 분석 - 실험 종료후 부검한 토끼의 대동맥 (aorta)을 적출하여 생리식염수로 씻어 동맥주위의 지방질을 제거한 후 고정액 (4% paraformaldehyde, 50 mM phosphate buffered saline (PBS), pH 7.4)에 24시간 고정시켰다. 고정된 동맥은 20% sucrose 용액에 침적시킨 후 보관액 (30% glycerin, 30% ethylene glycol in 20 mM phosphate buffer pH 7.4)에 다시 침적시켰다. 침적된 동맥을 PBS로 씻은 후 동결절편기를 사용하여 16 µm의 두께로 박

절한 후 gelatin으로 표면처리된 슬라이드에 부착시켰다. 이 슬라이드에 PBS 용액을 가한 다음 무수 propylene glycol 용액에 2분간 행군 후 0.5% oil red O 용액에 1시간 동안 염색하였다. 이후 85% propylene glycol 용액에 1분간 감별시키고 증류수로 두 번 세척한 후 ploymount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.²⁰⁾

통계학적 분석 - 모든 시험결과는 mean±S.E.로 표기하였으며, Kruskal-Wallis one way analysis of variance (ANOVA)를 사용하여 통계처리 하였고, 각군간의 차이를 비교할 경우에는 Bonferroni's modified t-test를 사용하여 P<0.05 혹은 P<0.01 수준에서 유의성을 검정하였다.²¹⁾

실험결과

토끼 혈장 분석 - 토끼에 고콜레스테롤 식이를 30일 동안 섭취시켰을 때, 혈중 콜레스테롤 농도는 섭취전 60 mg/dl에서 급속히 증가하여 1284 mg/dl로 높아졌으며, TG의 농도도 87 mg/dl에서 135 mg/dl로 높아져 고콜레스테롤혈증이 유발되었다. 이후 시험물질을 첨가한 고콜레스테롤 식이를 30일 동안 섭취시키면서 혈액의 동맥경화성 변수들을 살펴보고 실험종료 후 간과 심장조직의 지질 농도를 측정하였다. 실험

기간 동안에 토끼의 체중의 감소는 관찰되지 않았다 (data not shown).

Table I에는 각 실험군별 토끼의 혈장 지질 및 과산화지질의 농도와 ALP 활성도 변화를 제시하였다. 산마늘 투여군에서 혈중 총콜레스테롤 농도는 투여 30일째에 대조군에 비해 유의하게 20.8% 감소하였고 (대조군: 1373±38 mg/dl, 투여군: 1087±48 mg/dl, P<0.01), LDL-콜레스테롤 농도는 유의하게 21.8% 감소하였다 (대조군: 1293±36 mg/dl, 투여군: 1010±49 mg/dl, P<0.01). HDL-콜레스테롤의 농도는 변화가 없었으며, TG 농도는 유의하게 22.1% 감소하는 것으로 나타났다 (대조군: 172±24 mg/dl, 투여군: 134±12 mg/dl, P<0.05). ALP의 활성은 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적인 유의성은 없었고, 혈장 지질의 과산화 정도를 malondialdehyde (MDA)의 농도로 측정하였을 때 유의하게 51.7% 감소되었다 (대조군: 5.6±1.3 nmol/ml, 투여군: 2.7±0.4 nmol/ml, P<0.05). 한편 양성대조군인 lovastatin 투여군에서는 강력한 혈중 지질 강하효과가 관찰되었다.

토끼 조직 분석 - Table II는 실험종료후 토끼로부터 적출한 간과 심장조직에서의 지질함량을 보여주고 있다. 산마늘 투여군에 있어서는 간 조직의 총콜레스테롤 (대조군: 53.4±6.6 mg/g, 투여군: 29.3±1.8 mg/g, P<0.05) 및 TG 함량 (대조군: 20.6±3.4 mg/g,

Table I. Effect of the extract of *A. victorialis* on serum lipid and enzyme levels in hypercholesterolemic rabbits

Treatment	Days ^a	Total cholesterol (mg/dl)	LDL-cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Alkaline phosphatase (U/L)	Malondialdehyde (nmol/ml)
HCD ^b (n=11)	0	1233 ± 69	1162 ± 66	47 ± 5	119 ± 18	73 ± 9	3.2 ± 0.3
	10	1342 ± 47	1241 ± 40	50 ± 5	255 ± 54	108 ± 16	3.4 ± 0.5
	20	1313 ± 65	1226 ± 62	48 ± 2	196 ± 23	77 ± 9	5.3 ± 0.8
	30	1373 ± 38	1293 ± 36	45 ± 1	172 ± 24	96 ± 13	5.6 ± 1.3
HCD + <i>A. victorialis</i> (n=7)	0	1321 ± 55	1257 ± 54	34 ± 4	151 ± 23	57 ± 7	3.1 ± 0.2
	10	1298 ± 29	1220 ± 27	46 ± 3	157 ± 17	57 ± 19	3.9 ± 0.1
	20	1108 ± 57*	1034 ± 58*	49 ± 2	128 ± 18*	75 ± 22	3.9 ± 0.3
HCD+lovastatin (n=6)	0	1087 ± 48**	1010 ± 49**	50 ± 2	134 ± 12*	58 ± 11	2.7 ± 0.4*
	10	1297 ± 80	1223 ± 75	48 ± 4	135 ± 22	66 ± 8	2.9 ± 0.2
	10	1253 ± 64	1170 ± 63	54 ± 6	141 ± 11	114 ± 24	3.2 ± 0.4
Normal diet(n=3)	0	985 ± 27**	912 ± 24**	54 ± 5	92 ± 6**	71 ± 12	4.1 ± 0.7
	20	972 ± 54**	903 ± 53**	52 ± 2*	85 ± 5**	97 ± 31	3.9 ± 0.7
	30	54 ± 8	26 ± 7	17 ± 5	55 ± 7	39 ± 7	2.1 ± 0.2

Values represent means ± S.E.

^a: Days of sample treatment after feeding high cholesterol diet for 30 days.

^b: High cholesterol diet

*: Significantly different from the control group of the corresponding day at P<0.05

** : Significantly different from the control group of the corresponding day at P<0.01

Table II. Tissue lipid levels in the wet tissues of hypercholesterolemic rabbits

Treatment	No. of Animals	Liver(mg/g)		Heart(mg/g)	
		Total cholesterol	Triglyceride	Total cholesterol	Triglyceride
HCD ^a	11	53.4 ± 6.6	20.6 ± 3.4	16.4 ± 1.9	12.6 ± 2.6
HCD+A. victorialis	7	29.3 ± 1.8*	12.5 ± 1.1*	5.5 ± 1.0**	14.0 ± 3.8
HCD+lovastatin	6	26.4 ± 1.8*	10.4 ± 2.4**	8.9 ± 2.0*	6.7 ± 2.0*
Normal diet	3	23.5 ± 3.3	8.2 ± 3.1	8.7 ± 1.8	6.1 ± 2.5

Values represent means ± S.E.

^a: High cholesterol diet

*: Significantly different from the control group at P<0.05

** : Significantly different from the control group at P<0.01

투여군: 12.5 ± 1.1 mg/g, P<0.05)의 유의성 있는 감소가 관찰되었다. 심장조직에서는 총콜레스테롤 함량은 유의성 있게 감소되었으나 (대조군: 16.4 ± 1.9 mg/g, 투여군: 5.5 ± 1.0 mg/g, P<0.01), TG 함량은 변화되지 않았다. 한편 양성대조군인 lovastatin 투여군에서는 간과 심장조직 모두에서 총콜레스테롤 및 TG 함량의 유의성 있는 감소가 관찰되었다.

토끼 대동맥 plaque 침착 - Fig. 1은 실험종료 후 토끼의 대동맥을 적출하여 지질을 염색한 후 atheromatous plaque의 형성 정도를 관찰하여 각 군별 지질침착 상태를 보여주고 있다. Fig. 1의 panel A에

나타난 바와 같이 정상적인 식이를 공급한 토끼의 대동맥 내벽에는 지질 plaque의 침착이 전혀 관찰되지 않았으나, 고콜레스테롤 식이 투여군에서는 동맥내벽에 지질 plaque이 동맥의 혈관벽 두께 이상으로 침착되었다(Fig. 1, panel B). 산마늘 추출물 투여군(Fig. 1, panel C)에서는 침착된 atheromatous plaque의 형성이 현저히 줄어들었으며, 양성대조군인 lovastatin 투여군(Fig. 1, panel D)에서도 지질침착 감소가 관찰되었다.

CETP 형질전환 동물실험 - Table III는 동맥경화 유발 CETP 형질전환 마우스에서 산마늘 추출물의 투

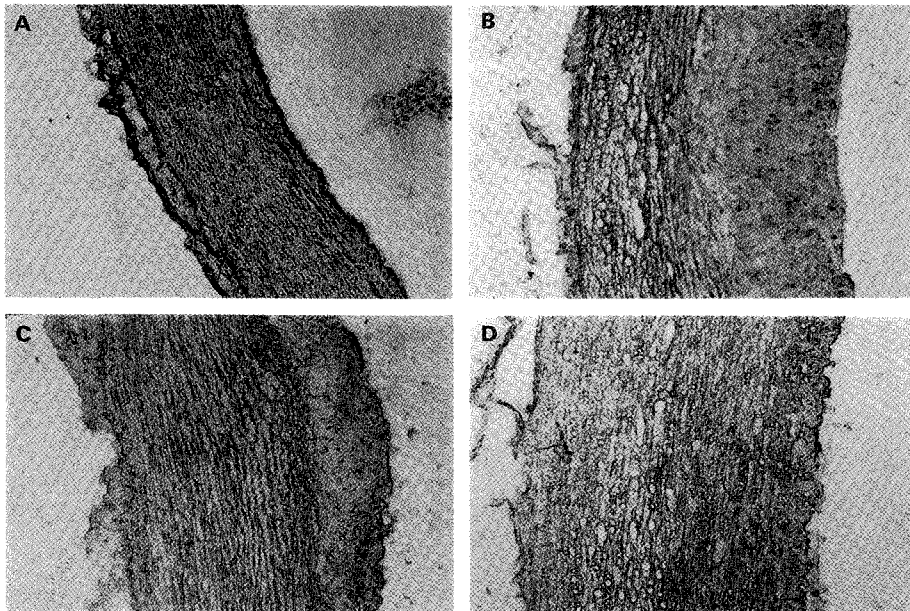


Fig. 1. Lipid staining of the aorta of rabbits given normal diet (A), cholesterol diet for 60 days (B), cholesterol diet for 30 days followed by the treatment of 0.5% *Allium victorialis* extract (C), or lovastatin (D) for additional 30 days. Oil red O staining. $\times 100$.

Table III. Effect of *A. victorialis* on serum lipid and enzyme levels of hypercholesterolemic CETP transgenic mice

	No. of animals	Days ^a	Total cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Alkaline phosphatase (U/L)
HCD ^b	7	0	152.0 ± 5.2	41.7 ± 3.7	67.7 ± 7.4	152.0 ± 5.2
		40	235.9 ± 31.3	64.5 ± 5.4	81.1 ± 1.8	96.0 ± 20.8
HCD + <i>A. victorialis</i>	7	0	152.0 ± 10.4	42.0 ± 1.5	55.4 ± 2.5	152.0 ± 10.4
		40	213.8 ± 20.9*	65.0 ± 8.2	71.6 ± 5.2	49.7 ± 2.8**
HCD + lovastatin	5	0	145.2 ± 14.9	40.1 ± 2.3	46.5 ± 8.4	145.2 ± 14.9
		30	209.8 ± 4.9*	63.7 ± 8.5	67.5 ± 7.3*	67.7 ± 11.7**

Values represent means ± S.E.

^a: Days of sample treatment after feeding high cholesterol diet for 30 days.

^b: High cholesterol diet

*: Significantly different from the control group at P<0.05

** : Significantly different from the control group at P<0.01

여가 혈장 지질 및 ALP 활성도에 미치는 영향을 보여주며, Table IV는 마우스의 간과 심장조직에서 지질의 함량에 미치는 영향을 보여주고 있다. 산마늘 투여군에서 혈중 총콜레스테롤 농도는 투여 40일째에 대조군에 비해 9.4% 감소하였으며 (대조군: 235.9 ± 31.3 mg/dl, 투여군: 213.8 ± 20.9 mg/dl, P<0.05), HDL-콜레스테롤이나 TG의 농도에 있어서는 변화가 관찰되지 않았다. 한편 ALP의 활성은 유의하게 48.2% 감소되었다 (대조군: 96.0 ± 20.8 U/L, 투여군: 49.7 ± 2.8 U/L, P<0.01). 실험종료 후 CETP 형질전환 마우스의 간 조직을 분석한 결과 총콜레스테롤과 TG 함량은 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성이 없었고, 심장조직의 TG 함량은 유의성 있게 63.7% 감소하였다 (대조군: 39.1 ± 9.8 mg/g, 투여군: 14.2 ± 0.9 mg/g, P<0.01).

고 찰

동맥경화증은 죽상경화 (atherosclerosis), 증막경화

(medial calcification), 세동맥경화 (arteriosclerosis)의 3가지 질환으로 나눌 수 있으며, 흔히 동맥경화증이라고 부르는 질환은 죽상동맥경화증을 지칭하며 그 외는 임상적으로 혼하지 않으므로 대개 무시되고 있다.²²⁾ 동맥경화증의 가장 중요한 병인은 고콜레스테롤혈증이며 그 중에서도 LDL-콜레스테롤 농도가 높을수록 동맥경화증이 쉽게 유발된다.³⁾ 혈액에서 콜레스테롤 (혹은 다른 지질들)을 운반하는 지단백질 대사 경로의 복잡한 과정들은 크게 세포의 콜레스테롤 수요를 충족시키는 경로와 세포에서 사용하고 남은 콜레스테롤을 수거하여 제거하는 경로로 나눌 수 있다. 이 중 후자를 콜레스테롤 역수송 (reverse cholesterol transport) 경로라고 부르며,²³⁾ 이 과정에서 CETP 효소는 HDL의 콜레스테롤을 LDL로 옮기는 작용을 한다. 이러한 작용의 결과로 HDL을 통해 간으로 전달되어 체외로 배출되어야 할 콜레스테롤은 LDL로 전달되어 혈중에서 효과적으로 제거되지 못하고 동맥경화증의 병인으로 작용하므로 CETP는 동맥경화 유발인자 (atherogenic factor)로 작용한다.⁹⁾ 이와 같은 배경을 바탕으

Table IV. Tissue lipid levels in the wet tissues of hypercholesterolemic CETP transgenic mice

	No. of animals	Liver(mg/g)		Heart(mg/g)	
		Total cholesterol	Triglyceride	Total cholesterol	Triglyceride
HCD ^a	7	44.6 ± 5.8	42.0 ± 8.1	7.9 ± 0.9	39.1 ± 9.8
HCD + <i>A. victorialis</i>	7	38.8 ± 2.4	35.3 ± 4.0	10.5 ± 1.3	14.2 ± 0.9*
HCD + lovastatin	5	32.5 ± 3.5	46.9 ± 15.4	13.8 ± 4.7	11.0 ± 2.1*

Values represent means ± S.E.

^a: High cholesterol diet

*: Significantly different from the control group (p<0.05)

** : Significantly different from the control group of the corresponding day (p<0.01)

로 새로운 개념의 동맥경화 치료제를 개발하기 위해 CETP 효소활성 억제제 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

산마늘 추출물을 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼에 투여하였을 때 혈중 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, TG의 농도감소와 ALP의 활성감소와 과산화지질의 농도의 감소가 관찰되었다 (Table I). Alkaline phosphatase (ALP) 효소는 간이나 신장 등의 기능에 이상이 있을 시 혈중에 이 효소가 증가된다고 보고되었으며,^{24,25)} 본 연구에서는 고콜레스테롤혈증 유발과 산마늘 추출물의 투여가 실험동물의 간 등의 기능에 미치는 영향을 알아보기 위한 지표로 이 효소의 활성을 측정하였다. 고콜레스테롤혈증이 유발된 토끼의 혈중 ALP 활성은 지속적으로 증가하였으나 산마늘 추출물을 투여한 토끼의 ALP의 활성은 시험 시작시와 변화가 없는 것으로 나타났다. 실험종료 후 토끼의 간과 심장조직의 지질함량을 살펴보았을 때 산마늘 추출물 투여군에서 콜레스테롤의 농도가 감소된 것으로 나타났으며 (Table II), 대동맥을 적출하여 지질을 염색하였을 때 산마늘 추출물을 투여한 토끼의 대동맥 내벽에 지질 침착이 감소된 것으로 나타났다 (Fig. 1). 또한 CETP 형질전환 마우스 동물모델을 이용하여 산마늘 추출물의 항동맥경화성 효능을 관찰한 결과, 혈중 콜레스테롤과 TG의 농도감소와 (Table III) 조직의 지질 함량을 감소시키는 것으로 나타났다 (Table IV). 이러한 혈중 지질과 과산화지질 농도의 감소 효과를 양성대조군인 lovastatin 투여군과 비교하였을 때, 본 실험에 사용된 산마늘이 1차 추출물임을 감안하면 혈중 지질의 농도저하 효과가 상당히 높은 약리활성 물질이 함유되어 있으리라 사료된다.

산마늘 (*Allium victorialis* Makino)은 백합과 다년초로서 우리나라를 비롯하여 중국과 일본 등지에 분포하고 있으며, 우리나라에서는 주로 고산지대에서 많이 자라고 있는데 울릉도에서는 사람의 생명을 잇는 식물이라 하여 “명(命)”이라고 하며, 시중에 보통 접할 수 있는 마늘과는 다른 것이다. 또한, 본 실험에서는 뿌리뿐만 아니라 산마늘의 지상부를 포함하는 전초를 사용하였다. 산마늘의 일반 성분은 수분 77.3%이며, 마른상태에서 조단백 11.65%, 조지방이 10.2%, 무기질 46.3%, 섬유소 22.18%로 분석되었고 잎과 줄기 부위에는 건조물 중량으로 과당이 7.86%, 포도당이 8.89%, 자당이 1.69% 함유되어 감미가 높으며, 비타민 함량도 B₂가 0.017%, 니아신 함량은 0.8%로 분석되었고 무기물 함량은 칼륨이 3.2%로 가장 많은

함량을 보이고 있다.¹³⁾ 산마늘은 예로부터 강장 및 생리장애 완화효과와 해독작용이 있는 것으로 전해 왔으며 또한 독특한 맛을 지니고 있으므로 봄철에 미각을 돋우는데 적합하며,¹³⁾ 이와 같은 특이한 맛과 약리작용이 있는 산마늘은 기능성 식품으로서 상품화가 유망한 품목으로 생각된다.

본 연구결과에서 산마늘은 혈액과 조직에서 동맥경화의 병인인 지질과 과산화지질의 농도를 낮추는 것으로 나타났으며, 이러한 작용을 나타내는 약리활성 물질의 확인과 기전을 밝히기 위하여는 좀 더 심도 있는 연구가 수행되어야 할 것이다.

결 론

고콜레스테롤 혈증이 유발된 토끼와 CETP 형질전환 마우스에 산마늘 추출물을 투여하고 혈액과 조직의 동맥경화성 변수들을 측정하여 항동맥경화성 효능을 살펴보았다. 산마늘 추출물의 투여는 토끼의 혈액과 조직에서 지질과 과산화지질의 농도를 낮추었고 대동맥 내벽에 동맥경화증의 지표인 plaque 형성을 억제하였고, CETP 형질전환 마우스의 혈액과 조직의 지질 농도를 유의하게 낮추었다.

참고문헌

1. 송영득 (1996) 고콜레스테롤증 환자의 임상적 접근. 韓國脂質學會誌 6(2): 163-170.
2. Ross, R. (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362: 801-809.
3. Naito, H. K. (1995) The 18th annual NACB symposium. Atherogenesis: current topics on etology and risk factors. *Clin. Chem.* 41(1): 132-133.
4. Wong, N. D., Cupples, L. A., Ostfeld, A. M., Levy, D. and Dannel, W. B. (1989) Risk factors for long-term coronary prognosis after initial myocardial infarction: The Framingham Study. *Am. J. Epidemiol.* 130: 469-480.
5. Witztum, J. L and Steinberg, D. (1991) Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J. Clin. Invest.* 88: 1785-1792.
6. Newman, W. P. III., Wattigney, W. and Berenson, G. S. (1991) Autopsy studies in United States children and adolescents. Relationship of risk factors to atherosclerotic lesions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 623: 16-25.

7. Strong, J. P. (1995) Natural history and risk factors for early human atherogenesis. *Clin. Chem.* 41(1): 134-138.
8. Vesselinovitch, D. (1988) Animal models and the study of atherosclerosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 112: 1011-1017.
9. Tall, A. R. (1993) Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J. Lipid Res.* 34: 1255-1274.
10. Ha, Y. C. and Barter, P. J. (1982) Differences in plasma cholesteryl ester transfer activity in sixteen vertebrate species. *Comp. Biochem. Physiol.* 71B: 265-269.
11. Koizumi, J., Mabuchi, H., Yoshimura, A. and Takeda, R. (1985) Deficiency of serum cholesteryl ester transfer protein activity in patients with familial hyperalphalipoproteinemia. *Atherosclerosis* 58: 175-186.
12. Marotti, K. R., Castle, C. K., Boyle, T. P., Lin, A. H., Murray, R. W. and Melchior, G. W. (1993) Severe atherosclerosis in transgenic mice expressing simian cholesteryl ester transfer protein. *Nature* 364: 73-75.
13. 산림청 임업연구원 (1993) 새로운 단기 임업소득, 17-18. 서광문화인쇄사, 서울.
14. Manning, P. J., Ringler, D. H. and Newcomer, C. E. (1994) *The Biology of the Laboratory Rabbits*, 2nd ed., 367-372. Academic Press, San Diego.
15. Assmann, G., Schriewer, H., Sohmitz, G. and Hagete, E. D. (1983) Quantification of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl₂. *Clin. Chem.* 28: 2026-2030.
16. Friedewald, W. T., Levy, R. I. and Fredrickson, D. S. (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18(6): 499-502.
17. Bowers, G. N. Jr. and McComb, R. B. (1966) A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. *Clin. Chem.* 12: 70-89.
18. Gutteridge, J. M. C. and Tickner, T. R. (1978) The characterization of thiobarbituric acid reactivity in human plasma and urine. *Anal. Biochem.* 91: 250-257.
19. Folch, J., Lees, M. and Slona, G. H. (1952) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
20. Luna, L. G. (1968) *Manual of histological staining methods of the AFIP*, 140-141. Kiemen.
21. Sylvan, W., Christine, L. and Joseph, L. (1980) Some statistical methods useful in circulation research. *Circ. Res.* 47: 1-9.
22. 김치정 (1994) 동맥경화증의 정의와 역사. *醫藥情報*, 12월호: 24-28.
23. Tall, A. R. (1998) An overview of reverse cholesterol transport. *Eur. Heart J.* 19(Suppl A): A31-A35.
24. Schlaeger, R., Haux, P. and Kattermann, R. (1982) Studies on the mechanism of the increase in serum alkaline phosphatase activity in cholestasis: significance of the hepatic bile acid concentration for the leakage of alkaline phosphatase from rat liver. *Enzyme* 28: 3-13.
25. Leibovitch, I., Ben-Chaim, J., Ramon, J. and Goldwasser, B. (1991) Increased serum alkaline phosphatase activity: a possible indicator of renal damage. *J. Clin. Lab. Anal.* 5: 406-409.

(2000년 3월 15일 접수)