

겨우살이 Lectin의 항당뇨 효과

김천대학 임상병리과*, 계명대학교 생물학과†

장철수* · 노광수†

국문초록: 겨우살이 (*Viscum album*)는 민간요법에서 여러 질환에 치료제로 쓰이고 있다. 이는 겨우살이가 가지고 있는 lectin의 약리작용에 의한 것으로 그 가능성을 알아보고자 겨우살이 lectin의 항당뇨 효과를 연구하였다. 이를 위해 streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 흰쥐에 국내 참나무류에 기생하는 겨우살이의 추출물과 정제된 lectin을 경구와 복강내에 투여하여 조사하였다. 추출물을 29일 동안 경구 투여시 혈당치가 36%까지 현저히 감소하였으나, 정제된 lectin을 경구 투여시 항당뇨 효과가 현저히 나타나지 않았다. 또한 정제된 lectin 0.4 mg/kg을 복강내에 주사시 당뇨군에서 2시간과 4시간에서 saline에 비해 혈당치가 각각 32%와 28% 감소하였으므로 lectin의 항당뇨 효과는 뚜렷하였다.

서론

적혈구 및 다양한 세포를 응집시키는 능력을 가진 단백질에 대해 처음에는 phytohemagglutinin, 또는 phytoagglutinin이라 불렀으나, 식물 이외 여러 생물에서 다양하게 발견되므로 Boyd와 Shapleigh⁴⁾는 이러한 응집소에 대해 lectin이라고 명명하였으며, Goldstein 등은¹²⁾ 이 lectin이 당단백질임을 밝혔다.

Caster bean 씨앗의 추출물인 ricin이 적혈구를 응집시키는 독성 단백질을 확인한 이래, 독성 연구, 혈액형과의 특이적 및 비특이적 성질을 이용하여 다당류, 당단백질 및 당지질 같이 당함유 물질의 측정, 분리^{3,24)}, 핵산의 분리 및 탄수화물과 세포막의 구조에 대한 연구 분야에도 활용되고 있다^{20,25,26)}. 그러나 더욱 관심을 갖는 것은 이를 이용한 백혈병, 악성종양, 면역계 질환, 염색체 이상, 간질환, 당뇨병, 심질환 및 알레르기 등의 임상적 응용에 많은 연구가 활발히 진행되고 있다는 것이다^{25,26)}.

겨우살이 (*Viscum album*)는 전 세계적으로 널리 분포하고 있는 기생식물로서²⁵⁾, 녹막염, 통풍, 심

장병, 고혈압, 매독, 간질 등의 여러 질환에서 치료제로 널리 사용하고 있으며^{5,11,13,16,19,21)}, 이를 이용한 과학적 치료 효과의 유용성을 위해 오래 전부터 다양한 연구가 진행되고 있다^{8,9,17,27)}. 아프리카산 겨우살이 추출물이 당뇨를 유발시킨 고혈당증에 혈당 상승 억제 효과가 있는 것으로 보고되고 있다^{8,9)}. 또한 concanavalin A의 인슐린 유사 활성을 발표함으로써¹⁴⁾ 이러한 혈당 상승 억제 물질이 겨우살이 lectin일 것으로 추측된다.

옛부터 우리나라에서는 한방과 민간에서 여러 질환의 만병통치제로 널리 사용되어왔으나 이를 위한 과학적 연구가 미흡하다. 본 실험에서는 국내 참나무류에 기생하는 겨우살이를 이용한 새로운 치료제의 가능성 검토의 일환으로, 인슐린 유사 작용 여부를 규명하고자 streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 쥐에 겨우살이의 추출액 및 정제된 lectin을 투여하여 항당뇨 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

겨우살이 (*Viscum album*)는 덕유산 백련사 부근에서 10~12월에 채취한 후, 냉동 보관하여 사용하였다.

2. 경구 투여용 추출물 제조

겨우살이 100 g에 액체 질소를 가해 급냉시키

* 논문접수: 2000년 5월 3일
수정재접수: 2000년 5월 31일

† 별책 요청 저자

고 약질구로 분쇄한 후, 1 l의 증류수로 실온에서 overnight으로 교반시켰다. 이에 여과지 (Whatman 3)로 여과한 용액을 추출물로서 4주 동안 경구 투여하였으며, 또한 정제된 lectin 10 mg을 수돗물 1 l에 용해하여 경구 투여하였다.

3. 복강용 추출물 제조

겨우살이 100 g을 경구 투여용 추출물과 같은 방법으로 분쇄한 후, 0.15 M NaCl 700 ml을 가해 실온에서 3시간 교반하였다. 교반 후 4점의 cheesecloth와 1점의 miracloth로 여과한 용액을 6000 g로 4°C에서 30분간 원심분리기로 침전물을 제거하였다. 이 상등액에 단백질 침전을 위해 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (60 g/100 ml)을 가하여 완전히 용해하고 overnight 시킨 현탁액을 10,000 g에서 30분간 원심분리하였다. 침전물을 0.15 M NaCl에 용해하고 이를 투석 후, 냉동건조기 (Labconco)를 사용하여 건조 후 복강용 추출물로 사용하였다.

4. Lectin의 정제 및 순도 확인

복강용 추출물을 sepharose 4B (Sigma)를 이용한 affinity chromatography 그리고 sephadex G-150 (Sigma) column을 이용한 gel filtration 과정을 통해 lectin을 Errson 등의 방법으로 정제하였으며²⁹⁾, HPLC와 PAGE를 이용하여 겨우살이로부터 정제된 lectin의 순도를 확인하였다⁶⁾.

5. Streptozotocin으로 당뇨 유도

Streptozotocin을 0.1 M citrate buffer (pH 4.5)에 용해하여 체중 kg 당 150 mg을 숫 흰쥐의 복강내에 주사하여 24 h 후 당뇨를 유도하였다.

6. 실험 동물에의 처리

외견상 건강한 Sprague-Dawley종의 숫 흰쥐 (B.W 152 g \pm 8.6)들을 2주간 안정화시킨 후, 외견상 건강하다고 판정된 쥐 6마리를 각군별로 나누었다. Streptozotocin을 처리하지 않은 비당뇨군과 streptozotocin을 처리한 당뇨군 각각에 수돗물, 추출물 및 정제된 lectin을 29일 동안 경구 투여하였다. 또한, 비당뇨군 및 당뇨군에 saline, 추출물 및 정제된 lectin 2 mg/kg-body weight와 0.4 mg/kg-body weight를 각각 복강내에 주사하여 2시간과 4시간에서 혈당의 변동을 측정하였다.

7. 검체의 채취

비당뇨군과 당뇨군 흰쥐로부터 24시간 후 채뇨하여 요량을 측정하고, 이를 3000 g에서 10분간 원심분리 시킨 후, 상등액으로 요당을 측정하였다.

혈액 채취는 비당뇨군 및 당뇨군 흰쥐를 ethyl ether로 마취시킨 다음, 복부 정중선을 따라 개복하고 복부 대동맥으로부터 채혈하여 3000 g에서 15분간 원심분리 후, 얻어진 혈청으로부터 혈당을 측정하였다.

8. 혈당과 요당의 정량

Glucose는 glucose oxidase에 의해 gluconic acid과 H_2O_2 가 생성된다. 이때 H_2O_2 가 peroxidase의 작용에 의해 phenol과 4-aminoantipyrine을 산화적으로 축합시켜 발색하는 glucose oxidase 법을 이용하여 분광광도계 (Humalyzer 2000)로 파장 500 nm에서 흡광도를 측정하여 혈당과 요당을 정량하였다.

9. 통계 분석

유의성 검정은 Student's t-test²³⁾로 하였으며 이때 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

당뇨 유발 효과를 보기 위하여, 비당뇨군과 streptozotocin을 0.1 M citrate buffer에 용해하여 흰쥐에 체중 kg 당 150 mg을 복강내에 주사하여 당뇨를 유발시킨 당뇨군의 혈당 및 요당치는 비당뇨군에서 31 ± 2.7 과 7.3 ± 0.6 mg/dl 비해 당뇨군은 221 ± 11.4 과 80 ± 4.5 mg/dl로서 각각 약 7배와 약 11배 높게 나타남으로서 유의한 증가를 ($p < 0.001$) 나타내었다 (Table 1).

혈당에 미치는 경구 투여 lectin의 효과를 측정하기 위하여 비당뇨군과 당뇨군에 수돗물, 경구 투여용 추출물 및 정제된 lectin (10 mg/L)을 15일과 29일 동안 각각 경구 투여하였을 때, 비당뇨군에서는 각 실험군 사이 혈당치의 큰 변화가 없으므로 유의한 차이를 보이지 아니하였다. 그러나 당뇨군에서는 추출물 경구 투여시 수돗물 대조군에 비해 29일 처리치가 141 ± 9.7 mg/dl로서 36%의 유의한 감소를 나타내었다 ($p < 0.001$). 정제된 lectin (10 mg/L)을 투여하였을 때는 209 ± 12.1 mg/dl로서 약간의 감소를 보였으나 유의한 차이

Table 1. Serum and Urine glucose levels in non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats

Group	Glucose/Serum (mg/dl)	Glucose/Urine (mg/ml/24 h)
Non-diabetic	31 ± 2.7	7.3 ± 0.6
Diabetic	221 ± 11.4*	80 ± 4.5*

The data are given as the mean SD (n=6)
*p<0.001; Statistically significant compared with the data of non-diabetic group (Student's t-test).

를 보이지는 않았다 (Table 2). 따라서 경구를 통해 투여할 경우에는 정제된 lectin 보다는 추출물을 사용하는 것이 효과적이라고 생각된다.

혈당에 미치는 복강 투여 lectin의 효과를 측정하기 위하여 비당뇨군과 당뇨군에 saline, 복강 투여용 추출물 및 정제된 lectin을 체중 kg 당 2 mg 과 0.4 mg을 복강내에 각각 주사하고 2시간과 4 시간 경과 후에 혈당치를 측정하였다. 비당뇨군에서는 각 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않

Table 2. Effect of extracts and purified lectin of *Viscum album* on the serum glucose levels in non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats treated with oral administration

Group	Serum glucose (mg/dl)		
	0 day	15 day	29 day
Non-diabetic			
Tap water	38 ± 1.9	42 ± 3.2	40 ± 3.9
Extracts	37 ± 0.6	34 ± 2.7	28 ± 1.8
Purified lectin	31 ± 1.4	29 ± 1.6	31 ± 2.2
Diabetic			
Tap water	225 ± 16.9	208 ± 12.1	240 ± 17.3
Extracts	222 ± 14.3	168 ± 6.8	141 ± 9.7*
Purified lectin	237 ± 9.6	219 ± 15.8	209 ± 12.1

The data are given as the mean SD (n=6)
*p<0.001; Statistically significant compared with the data of 0 day group (Student's t-test).

Table 3. Effect of extracts and purified lectin of *Viscum album* on serum glucose in non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats treated with peritoneal administration

Group	Injected amount (/kg)	Serum glucose (mg/dl)	
		2 hr	4 hr
Non-diabetic			
Saline		30 ± 4.4	32 ± 6.7
Extracts	2 mg	38 ± 4.0	42 ± 5.8
Purified lectin	0.4 mg	44 ± 4.6	36 ± 4.7
Diabetic			
Saline		219 ± 10.6	231 ± 12.3
Extracts	2 mg	210 ± 15.8	196 ± 10.3
Purified lectin	0.4 mg	148 ± 16.2**	166 ± 7.0*

The data are given as the mean SD (n=6)
*p<0.001, **p<0.01; Statistically significant compared with the data of saline group (Student's t-test).

았으나 당뇨군에서는 정제된 lectin의 경우 2시간과 4시간에서 혈당치가 saline 대조군에 비해 148 ± 16.2 와 166 ± 7.0 mg/dl로 각각 32%와 28%의 감소를 보여 유의 ($p < 0.001$)하였다. 또한 복강용 추출액을 투여하였을 때 saline 대조군에 비해 약간의 감소 현상을 보였으나 오차 범위에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다 (Table 3). 이는 경구 투여와는 달리 복강에 주사할 경우에는 추출물보다는 정제된 lectin을 사용하는 것이 효과적이라고 생각된다.

고 찰

광합성을 하지만 숙주 식물로부터 물과 무기물질을 공급받아야만 생활하는 반 기생체 식물인⁵⁾ 겨우살이에 대해 관심을 갖는 것은 생리적인 기능성 성분이 포함되어 있기 때문이다¹⁶⁾. 이 중에는 독성 물질도 포함되어 있는데, 이는 저분자량의 단백질인 viscotoxin으로서 세포에 강한 독성을 나타내지만, 알레르기, 심장병, 고혈압 및 동맥경화에 치료 효과가 있음이 밝혀졌고 항암제로의 작용도 규명하고 있다^{11,17,22,27)}.

Lectin은 식물에서 분리 정제되어 왔으나 현재는 미생물 뿐만 아니라 수많은 동물로부터도 추출 분리되고 있다. 식물에서는 이미 800여종 이상의 lectin이 발견되었는데, 이 중 concanavalin A와 soybean, wheat germ 및 peanut 등에서 분리한 60여종의 lectin은 이미 상품화되어 이용되고 있다.

Lectin의 여러가지 알려진 약리 효과 중에서 concanavalin A, wheat germ agglutinin 및 식물성 lectin의 인슐린-유사 활성은 분리된 지방세포에서 글루코스 산화와 6탄당의 수송을 자극하여 에피네프린에 자극된 지방의 분해를 저해하고, 또 손상되지 않은 지방세포 및 간세포막에 대한 insulin의 결합을 저해하는 능력이 알려져 있다. 즉, concanavalin A는 분리된 지방세포에서 호르몬 작용과 거의 구별되지 않는 방법으로 epinephrine, ACTH, theophylline이나 cholera toxin에 의해 자극된 지방의 분해를 저해할 뿐 아니라 glucose의 산화, 지방의 형성 그리고 3-O-methylglucose의 흡수를 자극한다¹⁴⁾.

Lectin이 갖는 인슐린-유사 효과에 대한 기작은 아직 잘 알려져 있지 않으나⁷⁾ concanavalin A의 인슐린-유사 활성이 직접적으로 당단백질인 인슐린 수용체와 상호 작용하에 의해 나타난다. 이는

concanavalin A와 인슐린이 결합부위내에 구조적인 유사성이 있기 때문이다. 인슐린의 생리 활성 및 지방세포에 대한 인슐린의 결합능이 trypsin 처리에 대해 민감하므로, lectin의 활성은 인슐린의 작용에 관련된 것과는 구별되는 수용체 부위에 의해서 증대된다는 보고도 있다¹⁵⁾.

국내에 서식하는 참나무류에 서식하는 겨우살이 lectin의 인슐린-유사 활성을 알아보기 위하여, streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 흰쥐에 겨우살이 추출물 및 정제된 lectin을 경구와 복강내에 투여하였다.

Streptozotocin에 의한 췌장의 손상은 혈당 및 요당을 측정함으로써 알 수 있는데, 당뇨군이 비당뇨군에 비해 증가하였다. 이는 Adoga와 Ibrahim²⁾, 그리고 David 등⁹⁾의 보고와 거의 일치하였다.

비당뇨군과 당뇨군에서 겨우살이 추출물 및 정제된 lectin을 29일까지 경구 투여시 비당뇨군에서는 유의한 차이를 보이지 않았으나, 당뇨군에서는 추출물 경구 투여에서 저혈당 효과는 투여 전에 비해 투여 29일 혈당치가 36%까지 현저히 감소하였으나, 정제된 lectin군에서는 감소 현상을 나타내지 않았다. 이는 lemon 및 guava 나무에 기생하는 아프리카산 겨우살이의 추출물이 항당뇨 효과가 뚜렷이 있다는 보고⁹⁾와 일치한다. 정제된 lectin을 경구 투여할 때 항당뇨 효과가 나타나지 않았으므로, 이는 위와 장에서 파괴로 인해 항당뇨의 기능이 상실된 것으로 추측된다.

복강내에 2 mg/kg의 추출물을 주사하였을 때는 생존하여 오차 범위에서 큰 차이가 없어 비효과적 이었으나, 동량의 정제된 lectin을 주사하였을 때 흰쥐가 생존하지 못하였다. 따라서 최적의 양인 0.4 mg/kg의 정제된 lectin을 주사하였을 때 2시간과 4시간에서 각각 28%와 32% 감소하여 정제된 lectin의 항당뇨 효과는 뚜렷하였다.

결론적으로, lectin의 항당뇨 효과는 뚜렷하여 추출물은 경구를 통해 투여할 경우 효과적이며, 정제된 lectin은 복강에 주사할 경우에 효과적이였다.

약초에는 당뇨 흰쥐 순환계의 인슐린 농도를 증가시킴으로서 저혈당 효과 있다는 보고가 있으나¹⁸⁾, 이들의 저혈당 효과에 대한 기전은 분명치 않다. 그러나 식물의 수용성 천연물인 tannin, flavonoid 등이 혈당치를 감소시키는 인자로서 작용할 수 있다는 보고¹⁰⁾가 있으므로 lectin과 더불어 이에 대한 연구도 요구되며, 또한 앞으로의 연구

에서는 유용한 lectin을 대량 생산할 수 있는 방법의 개발과 약리 및 생리 기작을 밝히는 연구가 병행되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 1) 김태정 (1996): 한국의 자원식물 I. 서울대학교 출판부, 140-141.
- 2) Adoga GI and Ibrahim MB (1990): Effect of garlic oil on some biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Medical Science Research*, **18**: 859-860.
- 3) Bhattacharyya L, Haraldsson M and Brewer CF (1987b): Concanavalin A interactions with asparagine-linked glycopeptides. Bivalency of bisected complex type oligosaccharides. *J Biol Chem*, **62**: 1294-1299.
- 4) Boyd WC and Shapleigh E (1954): Specific precipitating activity of plant agglutinins (Lectin). *Science*, **119**: 119.
- 5) Calder DM (1983): Mistletoes in focus: An introduction. pp. 19-46. In: M. Calder, and P. Bernhardt (eds.). *The biology of mistletoes. Academic, Sydney*.
- 6) Chang CS, Oh MJ and Roh KS (1999): Purification and biochemical characterization of lectin *Viscum album*. *Kor J Biotechnol. Bioeng*, **14**: 578-584.
- 7) Cuatrecasas P (1973): Interaction of concanavalin A and wheat germ agglutinin with the insulin receptor of fat cell and liver. *J Biol Chem*, **248**: 3528-3531.
- 8) Dalziel JM (1955): The useful plants of west tropical africa. Crown agents for overseas governments and administrations. *London UK*, pp. 297.
- 9) David K, Ewenodere O and Bikomo J (1994): Anti diabetic properties of the african mistletoe in streptozotocin-induced diabetic rats. *Jour of Ethnopharma*, **43**: 13-17.
- 10) Fukunaga T, Ide T and Yamashiro M (1989): Studies on pharmacological activity of the japanese and european mistletoe. *Yakugaku Zasshi*, **109**: 600-605.
- 11) Gill LS and Hawksworth FG (1961): The mistletoes: A literature review. U.S. Dept. Agr. Tech. Bul. 1242. U.S. Government Printing Office, Washington D.C.
- 12) Goldstein IJ, Hughes RC, Monsigny M, Osawa T and Sharon N (1980): What should be called a lectin? *Nature*, **285**: 66.
- 13) Griggs P (1991): Mistletoe, myth magic and medicine. *The Biochemistry*, **13**: 3-4.
- 14) Howard MK, Pasquale PV, Richard AM and Barbara GG (1981): Evidence that the insulin-like activities of concanavalin A and insulin are mediated by a common insulin receptor linked effector system. *Biochemistry*, **20**: 5800-5809.
- 15) Katzen HM, Vicario PP, Mumford RA and Green BG (1981a): Evidence that the insulin-like activities of Concanavalin A and insulin are mediated by a common insulin receptor linked effector system. *Biochemistry*, **20**: 5800-5809.
- 16) Kanner L (1939): Mistletoe, magic and medicine. *Bul Hist of Med*, **7(8)**: 875-936.
- 17) Kuttan G, Vasudesan DM and Kuttan R (1990): Effect of a preparation from *Viscum album* on tumor development in vitro and in mice. *J Ethno Pharmacol*, **29(1)**: 35-41.
- 18) Lamela M, Cadavid I, Gato A and Calleja JM (1985): Effect of lythrum salicaria in normoglycemic rats. *J of Ethnopharmacology*, **14**: 83-91.
- 19) Lamont B (1983): In: M. Calder and P. Bernhardt (eds.). *The biology of mistletoes. Academic, Sydney*.
- 20) Nicolson GL (1974): The interaction of lectins with animal cell surfaces. *Int Rev Cytol*, **39**: 89-190.
- 21) Paine L and Harrison H (1992): Mistletoe: Its role in horticulture and human life. *Horttechnology*, **2**: 324-329.
- 22) Samuelsson G (1974): Mistletoe toxins. Significance of proteins. *Plant and Soil*, **25**: 566-569.
- 23) Schfler WC (1980): Statistics for the biological sciences. USA. Addison-Wesley Publishing Com.
- 24) Sharon N and Lis H (1972): Lectins: Cell-agglutinating and sugar-specific proteins. *Science*, **177**: 949-959.
- 25) Sharon N (1977): Lectins. *Sci Ameri*, **6**: 108-119.
- 26) Sharon N and Lis H (1989): Lectins as cell recognition molecule. *Science*, **246**: 227-246.

- 27) Stein G and Berg PA (1994): Non-lectin component in a fermented extract from *Viscum album* L. grown on pines induces proliferation of lymphocytes from healthy and allergic individuals in vitro. *Pharmacodynamics Eur J Phamaco*, **47**: 33-38.
- 28) Takatsy G (1967): The use of a microtitrator in serological procedures. *International symposium on Immunological method of Biological std*, **4**: 275-280.
- 29) Ziska O, Franz H and Kindt A (1978): The lectin from *Viscum album* L. purification by bispecific affinity chromatography. *Experientia*, **34**: 123-124.

=Abstract=

Anti-diabetic Effect of *Viscum album* Lectin

Choul-Soo Chang* and Kwang-Soo Roh†

*Department of Clinical Pathology, Kimcheon College, Kimcheon, Kyungbuk 740-200,

†Department of Biology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

We investigated anti-diabetic effect of the crude extracts and the lectin purified from the leaves of *Viscum album* collected in Mt. Duk Yu. The induction of diabetes mellitus was confirmed by the presence of statistically significant greater serum glucose levels in streptozotocin-treated rats compared with the untreated non-diabetic group. There are no significant differences in the serum glucose levels compared extracts and purified lectin to tap water in the non-diabetic group after administration through the oral cavity in 29 day. But for streptozotocin-induced diabetic rats the serum glucose level in extracts after administration through the oral cavity was strikingly decreased to 36% than tap water in 29 day. Significantly lower glucose level was obtained at 2 hr and 4 hr after administration of purified lectin (0.4 mg/kg) through the peritoneal cavity. These results provide an evidence that *Viscum album* lectin has an anti-diabetic effect pharmacologically.

Key Words: Anti-diabetes, Lectin, Streptozotocin, *Viscum album*

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 6(2): 151-157, June, 2000]

† Corresponding author