생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
41(4) : 282 ~ 288 (2010)

제2형 당뇨모델 *db/db* 마우스에서 밀순 물추출물의 항당뇨 효과

이선희 · 임성원 · 이영미[1] · 허정무[2] · 이회선[3] · 김대기*
전북대학교 의과대학 및 의과학연구소, [1]원광대학교 약학대학 한약학과, [2]종근당 건강(주),
[3]전북대학교 농업생과학대학 응용생물공학부

Anti-diabetic Effects of *Triticum aestivum* L. Water Extracts in *db/db* Mice as an Animal Model of Diabetes Mellitus Type II

Sun Hee Lee, Sung Won Lim, Young-Mi Lee[1], Jung-Mu Hur[2], Hoi-Seon Lee[3] and Dae-Ki Kim*
Department of Immunology and Institute of Medical Science, Chonbuk National University Medical School, Jeonju, Jeonbuk, 561-180
[1]Department of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk, 570-749
[2]Chong Kun Dang Healthcare Corp. Research Center, Dangjin-gun, Chungnam, 343-827
[3]Faculty of Biotechnology and Center for Agricultural Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Chonbuk National University, Jeonju, Jeonbuk, 561-756, Korea

Abstract − We evaluated the anti-diabetic effects of *Triticum aestivum* sprout water extract (TA) in diabetes mellitus type 2. For the experiments, the diabetic animal model *db/db* mice were divided to 3 groups: diabetic control (*db/db*) and two experimental groups orally treated with 25 and 100 mg/kg single dose of TA (TA-25 and TA-100, respectively). The lean mice were used as the non-diabetic normal control. All mice have free access to water and AIN-93 diet. TA was administrated to diabetic mice for 5 weeks and the diabetic clinical markers, including blood glucose level, body weight, food intake and insulin level, were measured at a time. After administration for 5 weeks, the blood glucose level was decreased 1.10 and 1.98 folds in TA-25 and TA-100 groups, respectively, compared with *db/db* group. The body weight and diet consumption were significantly reduced by TA treatment in dose-dependent manner. The treatments of TA-100 also significantly decreased remarkedly liver weight and slightly serum insulin levels when compared with them of the diabetic control group. However the immunohistochemical staining for insulin clearly showed high expression of insulin in the pancreatic islet cells derived from all *db/db* mice, even if TA was administrated. Moreover, TA-100 treatment significantly improved impaired glucose tolerance in diabetic *db/db* mice. The results suggest that TA has anti-hyperglycemic effect attenuating blood glucose in the animal model of type 2 diabetes and might be useful as a functional diet for human diabetic diseases.

Key words − *Triticum aestivum* sprout, diabetes mellitus, *db/db* mice, blood glucose, insulin

당뇨병은 전 세계적으로 3번째로 위험한 질병으로 분리되며, 합병증을 포함하여 현재 우리나라 사망원인 5위를 차지하고 있는 근본적인 치유가 불가능한 만성퇴행성질환중의 하나이다.[1)] 또한 2007년 보고된 국내 당뇨병 환자는 전체인구의 8.29%에 해당하는 약 400만 명에 이르고, 통계적으로 한국인 10명 중 1명은 당뇨병 환자로 알려져 있다.[2)] 당뇨병은 탄수화물 신진대사 장애로 고혈당 증상과 인슐린의 생산, 분비 혹은 이용의 이상으로 발생하게 된다. 당뇨병의 유형에는 크게 인슐린 의존성 또는 소아 당뇨병이라고도 불리는 제1형 당뇨병과 전체 당뇨병의 90%이상을 차지하는 인슐린 비의존성 또는 성인 당뇨병라고도 불리는 제2형 당뇨병으로 나뉜다. 제1형 당뇨는 자가 면역질환으로 발생하는 당뇨병으로 주로 유전적 소인과 바이러스와 관련되어 췌장의 베타세포가 파괴되면서 인슐린 분비가 저하되어 발생하는 대사성질환이며 제2형 당뇨는 주로 비만 환자에게 나타나는 인슐린 저항성과 상대적 인슐린 결핍이 복합적으로 작용하여 포도당의 대사 장애를 초래하는 만성적인 당뇨병이다. 제2형 당뇨병으로 인하여 발생하는 합병증은 임상학적으로 중요하다. 이는 성인의 사망률 증가로 이어지고 있으며, 발병 원인은 다양하고 정확하게 알려져 있

*교신저자(E-mail) : daekim@jbnu.ac.kr
(Tel) : +82-63-270-3080

지 않아 치료가 더욱 어렵다. 발병 초기부터 적극적인 혈당 조절을 하지 않을 경우 약 10년 후에 혈관 합병증으로 발전한다는 보고가 있다.[3] 이를 고려할 때 당뇨 합병증 예방에 당뇨 초기의 적극적인 혈당 관리 및 조절이 요구되고 있다. 현재 제2형 당뇨병에서의 혈당 조절 방법은 식사 요법 및 운동 요법과 체중 조절 등의 생활습관 개선을 기반으로 하고 작용 기전에 따라 설폰요제로 알려진 인슐린분비 촉진제, 인슐린감수성 개선제, 소장에서 탄수화물 흡수를 억제하는 알파-글루코시데이즈 억제제 등의 경구약물과 인슐린 주사제를 단독 또는 복합으로 사용하게 된다. 이와 같은 항당뇨 약물들에 의한 치료효과는 뛰어나지만, 장기복용에 대한 저혈당 유발, 간독성, 젖산뇨증 등의 다양한 부작용을 야기한다. 이를 개선하고자 최근에는 천연물에서 항당뇨 생리활성 물질을 찾고자 유효물질을 분리 정제하여 당뇨병 치료제에 활용하고자 연구가 활발히 진행되고 있으며 또한 다양한 기능성 식품의 소재로 하는 당뇨개선 제품개발에도 많은 관심대상이 되고 있다.[4,5]

밀(*Triticum aestivum* Lamarck)은 전 세계적으로 재배되는 작물중의 하나로서 한방에서는 보허(補虛), 양기(養氣), 이대장(利大腸) 등의 효능이 있으며, 이뇨 및 간기를 보하며 혈액순환을 좋게 한다고 알려져 있다.[6] 지금까지 밀순에서 밝혀진 다양한 영양성분과 생리활성물질에는 단백질, 탄수화물, 유리아미노산, 비타민 및 클로필 등[7]과 다수 무기물 및 항산화물질이 있다.[8] 또한 밀순 주스는 종증성 지중해 빈혈 (Thalassemia Major) 환자에게 수혈요구 줄이고,[9] 말초성 궤양성 대장염 개선[10] 및 녹색식물에 함유된 클로로필이 발암을 억제한다는 약리학적 효능이 보고되었다.[11]

최근에 우리는 streptozotocin으로 유발한 제1형 당뇨흰쥐에서 밀순 물추출물을 투여하여 혈당강하 등의 항당뇨 효과가 있음을 보고하였다.[12] 그러나 제2형 당뇨에서의 밀순 물추출물 투여에 대한 효과는 아직 보고된 바가 없다. *db/db* 마우스는 leptin 수용체 유전자의 돌연변이로 인해 다식, 비만, 인슐린 저항성, 고혈당, 고인슐린혈증 등 인슐린 비의존형 당뇨병의 임상적 소인을 보인다. 즉 인간의 제2형 당뇨병과 유사한 임상학적 특징을 나타냄으로써 당뇨병 및 인슐린 저항성에 대한 연구에 이용되는 대표적인 동물 모델[13]이다.

본 연구에서는 제2형 당뇨에 대한 밀순 물추출물 투여효과를 알아보고자 *db/db* 마우스를 사용하여 5주간 밀순(*Triticum aestivum* L.; TA)을 투여한 후 당뇨의 임상적 지표로 알려진 혈당, 체중, 식이섭취량의 변화와 인슐린 분비능, 포도당내성능을 분석하였고, 조직화학적 염색검사를 실시 하였다.

재료 및 방법

실험 재료 – 본 실험에 사용된 시료는 국립식량과학원에서 공급받은 우리밀(금강밀) 품종을 수정우리밀 농원(경기도, 수원)에서 평균 온도 20 ± 1°C를 유지하며 온실에서 무균 유기농 발아용 피트머스 위에서 발아시켰다. 발아 후 2주간 자란 어린 밀순을 수확하였다. 어린 밀순을 동결건조하고 분쇄하여 분말화 하였다. 분말 시료 100 g과 정제수 1 L를 환류 냉각하에 1시간 열탕 추출하였다. 그 추출물을 Whatmann paper filter로 여과한 후, 회전감압농축기(EYELA사)로 감압농축 후 동결 건조하여 본 실험에 사용하였다.

당뇨실험동물 및 실험설계 – 제2형 당뇨의 대표적인 동물모델인 7주령 수컷의 C57BL/KsJ-lepr^{db}/lepr^{db} (*db/db*) 당뇨마우스와 비당뇨 Lean 마우스들을 중앙실험동물(주)을 통하여 공급받아 사용하였다. 본 사육실에서 약 7일 이상 검역순화 및 적응기간 후 체중과 혈당을 측정하여 실험실시에 적합하고 병리적 소견이 없다고 판단되는 마우스들을 선별하여 사용하였다. 본 연구에 사용한 정상대조군 Lean 마우스는 초기체중 8.27 ± 2.67 g, *db/db* 마우스는 26.97 ± 1.47 g였다.

실험동물은 각각 혈당 및 체중이 균등 하도록 선별하였고 정상대조군(Lean), 당뇨대조군(db/db), 25 mg/kg 밀순 물추출물 투여군(TA-25) 그리고 100 mg/kg 밀순 물추출물 투여군(TA-100)으로 나누어 5주 동안 사육하였다. 각 투여물질은 정제수에 녹여 매일 1회 동일한 시간에 경구투여 하였으며, 음성대조군에는 정제수를 경구투여 하였다. 실험동물의 식이는 시판용 실험동물 AIN-93 조제식이[14]를 중앙실험동물(주)를 통해 구입하여 공급하였고, 물은 자유 섭취시켰다. 동물사육실의 사육조건은 12시간 명암주기, 온도 22 ± 2°C, 상대습도 50 ± 10%가 되도록 하였다.

혈중 포도당 및 인슐린 농도 측정 – 실험동물의 혈당의 변화를 분석하기 위해 매주 1회 일정시간에 꼬리정맥에서 혈액을 취하여 test machine (Abbott Diabetes Care Ltd.) 측정키트를 이용하여 혈당을 측정하였다.

혈중 인슐린 농도는 ELISA법으로 Mouse insulin ELISA kit(Shibayagi Co., Japan)을 이용하여 측정하였다. 시료를 5주간 투여한 후, 각각 실험군을 에테르로 마취하고 심장채혈을 통하여 안락사 시켰다. 채취한 혈액은 실온에서 방치한 후 4°C에서 3000 rpm으로 원심분리 후 혈장만을 취해 인슐린 농도를 측정하였다.

체중 및 식이섭취량 측정 – 실험동물의 체중 증가량은 7일 간격으로 일정시간에 전 실험기간동안 측정하였으며, 실험개시일의 체중을 5주후의 최종 체중을 감하여 체중변화를 산출하였다.

식이섭취량은 실험기간에 각 실험군을 1주일 동안 제공된 사료량에서 잔량을 감하여 하루 평균 섭취량을 계산하였다.

면역조직화학염색 – 면역염색은 췌장조직을 적출하여 4% paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 고정시고, 파라핀 포매 한 후 절편기를 사용하여 조직을 5 μm두께로 절편

하였다. 절편 한 조직을 slide glass위에 부착시킨 다음 xylene으로 파라핀을 제거하고 100, 90, 80% ethanol 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담가 함수 하였다. 15분간 PBS로 세척한 뒤 Vectastain universal quick kit(Vector Lab, CA, USA)를 이용하여 회사에서 제공한 실험 조건에 따라 blocking solution을 사용하여 blocking을 실시한 후 PBS로 세척하였다. 각각의 조직위에 인슐린 항체(Santa Cruz Biotechnology, USA)를 처리하고 4°C에서 밤새 반응을 시킨 후 PBS로 세척하였다. 이를 biotinylated universal secondary antibody(Vector Lab)를 처리하여 20분 동안 반응시킨 후 PBS를 이용하여 세척하였다. 이에 avidin/peroxidase performed complex reagent(Vector Lab)를 조직에 처리 30분간 반응 시키고 다시 PBS용액에서 세척하였다. DAB 시약으로 발색시켜 광학현미경으로 조직을 관찰 하고 사진을 촬영하였다.

당부하 검사 (Oral glucose tolerance test) – 포도당 내성능을 평가하기 위하여 당부하 검사를 실시하였다. 당부하 검사는 실험 개시일와 종료일에 실시하였다. 실험동물들을 검사 전 12시간 절식 후 glucose를 2 g/kg의 용량으로 경구 투여하였다. 혈액을 0, 30, 60, 120분 간격으로 꼬리 정맥을 통하여 취하고 혈중 포도당 농도를 측정하였다.

β-glucan 분석 – 식이섬유 수용성 β-glucan 을 분석하기 위해 Megazyme International Ireland(Ireland)의 β-glucan assay kit를 사용하여 회사에서 제공되는 실험조건을 토대로 응용 실시하여 분석하였다. Mixed-linkage β-glucan에 Linchenase를 첨가하여 β-gluco-oligosaccharides로 만들어 준다. β-glucosidase를 첨가하여 최종 D-glucose를 반응시약 GOPOD을 넣어 반응 시켜 흡광도 510 nm에서 측정하여 함량을 계산하였다.

통계처리 – 실험을 통하여 얻어진 결과는 통계 처리하여 평균치와 표준오차(mean ± SE)를 계산하였고, 각 당뇨 대조군과 실험군간의 유효성 검정을 위하여 Student's *t*-test를 사용하였다.

결과 및 고찰

혈당에 미치는 영향 – 본 연구에 사용된 *db/db* 마우스들은 leptin에 대한 저항성이 발생되어 식욕이 조절되지 않아 결과적으로 비만이 나타나며, 성장에 따라 혈당이 높아지는 특징을 갖는 제2형 당뇨모델로 알려져 있다.[15] 본 실험에서 10주령 *db/db* 마우스를 12시간 절식 후 혈당과 체중을 측정하였으며, 실험군에 밀순 물추출물(TA) 25 mg/kg와 100 mg/kg을 1일 1회 경구 투여하였다. 혈당과 체중은 1주 간격으로 일정시간에 동일방법으로 측정하였으며, 측정값은 Fig. 1에 나타내었다. TA투여 개시전에 *db/db* 마우스들의 평균 혈당은 364 ± 14 mg/dl 이며, 정상 혈당치를 비교하고자 동시에 유지한 정상대조군은 134 ± 14 mg/dl을 보였다. *db/db* 마우스 당뇨대조군의 경우 15주령이 되는 실험 종료일에 혈당치가 455.5 ± 12.69 mg/dl으로 5주간 30.1% 증가하였다. 반면, TA투여 실험군에서는 투여 2주째부터 혈당치가 감소하기 시작하여 투여기간 경과에 따라 지속적인 감소를 보였으며, 5주후 종료일에는 TA-100투여군에서 혈당치가 395.5 ± 13.09 mg/dl으로 투여전에 비해 17.3% *db/db* 당뇨대조군에 비하여 32.8% 유의적으로 감소함이 관찰 되었다. 그러나 TA-25투여군에서 혈당치는 투여전에 비해 지속적으로 증가하였으며 5주후 당뇨대조군에 비해서 약간 혈당치를 감소시켰다. 이상의 결과로서 TA가 농도 의존적으로 제2형 당뇨에서 혈당 감소에 효과가 있음을 확인하였다.

체중 및 식이 섭취량에 미치는 영향 – *db/db* 당뇨마우스에서 5주간 TA투여하고 체중 및 식이섭취량에 대한 변화를 관찰하였다. 실험동물의 체중 측정치는 Table I에, 식이섭취

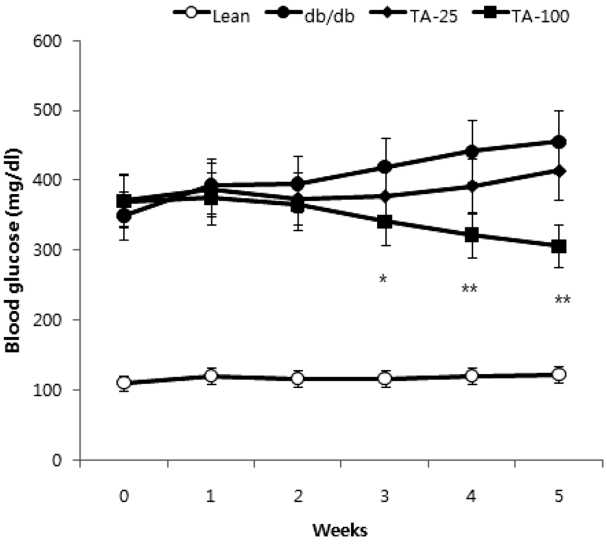

Fig. 1. The blood glucose levels in TA-treated *db/db* mice. The blood glucose levels of all groups were measured for 5 weeks. The mice were divided as 4 groups; 1)Lean, Non diabetic control group; 2)db/db, Diabetic control group; 3)TA-25, *Triticum aestivum* L. water extract(25 mg/kg) treated *db/db* mice group; 4)TA-100, *Triticum aestivum* L. water extract(100 mg/kg) treated *db/db* mice group. All values are given as means±SE (n=5, $p<0.05$).

Table I. Change of body weights in TA-treated *db/db* mice

Groups	Initial Weight (g)	Final Weight (g)	Weight gain (g)
Lean	26.97±1.47	30.21±2.01	3.24±2.10
db/db	38.27±2.67	53.38±2.45	15.11±2.77
TA-25	38.56±2.69	49.44±2.93	10.88±2.36
TA-100	38.87±2.74	44.35±2.37	5.48±2.54

1)Values are expressed as mean±SE (n=5, $p<0.05$).
2)Abbreviations are the same as those of Fig. 1.

Table II. Change of diet consumption in TA-treated *db/db* mice

Groups	Diet consumption (g/day/head)					
	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week	Mean±SD[3)]
Lean	3.61±0.27	4.03±0.30	4.21±0.29	4.39±0.33	4.44±0.31	4.14±0.34
db/db	5.48±0.24	5.69±0.22	5.83±0.28	6.05±0.31	6.24±0.16	5.86±0.30
TA-25	5.46±0.21	5.55±0.16	5.71±0.27	5.89±0.20	6.07±0.24	5.74±0.25
TA-10	5.42±0.13	5.21±0.17	5.02±0.20	4.92±0.24	5.07±0.16	5.13±0.19

1)Values are expressed as mean ± SE (n=5, $p<0.05$).
2)Abbreviations are the same as those of Fig. 1.
3)Values are respected as mean ± SD of days of diet comsumption for 5 weeks.

Table III. Change of the weight of liver, spleen, kidneys and heart in TA-teated *db/db* mice

Groups	Organ weight (g/100 g body weight)			
	Liver	Spleen	Kidney	Heart
Lean	1.21±0.14	0.054±0.01	0.347±0.03	0.121±0.01
db/db	4.07±0.14	0.054±0.05	0.454±0.05	0.121±0.02
TA-25	2.85±0.26	0.056±0.05	0.431±0.05	0.119±0.01
TA-100	2.75±0.14	0.057±0.06	0.425±0.06	0.120±0.01

1)Values are expressed as mean±SE (n=5, $p<0.05$).
2)Abbreviations are the same as those of Fig. 1.

량은 Table II에 나타내었다. 모든 실험군에서 체중은 실험기간동안 증가하였지만 각 실험군의 5주후 체중 증가율은 정상대조군 12.01%, 당뇨대조군 39.48% 증가하였고, TA-25투여군에서 28.21%, TA-100투여군에서 14.09% 증가 하였다. 특히 당뇨대조군과 비교하여 TA-100투여시 체중 증가율을 약 64% 감소시켰다.

식이섭취량은 일정시간에 사료 감소량을 측정하여 1주일 동안의 평균 1일 식이섭취량을 환산하였다. 각각의 식이섭취량은 정상대조군 4.14 ± 0.34 g, 당뇨대조군 5.86 ± 0.30 g, TA-25투여군 5.74 ± 0.25 g, TA-100투여군 5.13 ± 0.19 g을 보였으며, 당뇨대조군에 비해 TA-100투여시 유의적으로 식이섭취량을 12.5% 감소시켰다. 이러한 결과는 TA 투여가 당뇨의 특징적인 임상증상인 과다한 식이섭취를 개선하고, 제2형 당뇨모델의 체중증가를 유의적으로 억제 및 완화 하는 효과가 있음을 확인하였다.

장기무게에 미치는 영향 – 당뇨병 발병초기에 신장은 사구체 여과율의 증가와 함께 크기와 용적이 증가하고 이로 인한 신장의 비대가 나타나게 되는데, 신장의 비대는 혈당조절 정도와 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다.[16,17)] 또한 당뇨가 발생하면 간장의 크기는 정상에 비해 비대해 진다고 보고가 있으며,[18,19)] *db/db* 마우스의 경우 10-14주령이 되면 심장무게가 감소하는데 생체내 당의 이용성이 감소되고, 지방산 산화가 증가되어 심장수축이 발생하게 된다. 이로써 당뇨병성 심근증이 유발되기도 한다고 알려져 있다.[20,21)] TA투여에 의한 실험동물의 주요장기에 대한 미치는 영향을 보고자 *db/db* 당뇨 마우스에 TA투여 후 체중 100g 당 간, 신장, 비장 및 심장 등의 장기무게들을 측정하고 Table III에 나타냈다.

본 연구에서 *db/db* 마우스 당뇨대조군의 장기무게는 정상대조군과 비교할 때 다른 경향을 보였다 간은 3.36배 증가하였으며, 비장 2.4배, 신장 1.35배, 심장 1.8배로 무게가 감소함을 보였다. TA를 5주간 투여한 TA-25와 TA-100 투여군에서는 당뇨 대조군에 비해 비장, 신장 및 심장의 경우에 정상대조군 및 실험군간의 유의적인 무게차이는 나타나지 않는 것으로 나타났다. 그러나 간에서는 각각 29.97%, 32.4% 무게가 감소하였다. 이상의 실험 결과는 TA가 간 조직 비대를 감소시키는 효과가 있음을 보였다.

혈중 인슐린에 미치는 영향 – TA투여에 의한 *db/db* 마우스의 혈당 감소 효과에 대한 인슐린분비와의 연관성을 확인하였다. 5주후 실험 종료일에 마우스의 혈액에서 인슐린 농도를 분석하여 Table IV에 나타내었다. *db/db* 당뇨대조군의 혈중인슐린농도는14.66 ± 0.15 ng/ml이었고 TA를 투여한 TA-25실험군에서 13.33 ± 0.18 ng/ml, TA-100실험군에서

Table IV. The serum insulin levels in TA-treated *db/db* mice

Groups	Insulin (ng/ml)
Lean	4.06±0.11
db/db	14.66±0.15
TA-25	13.33±0.18
TA-100	12.57±0.17

1)Values are expressed as mean± SE (n=5, $p<0.05$).
2)Abbreviations are the same as those of Fig. 1.

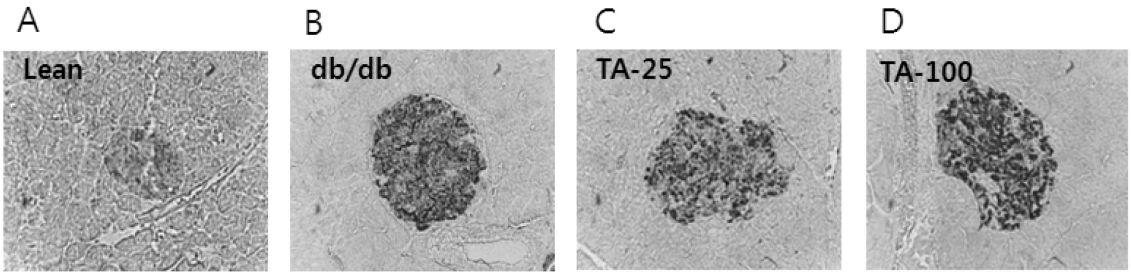

Fig. 2. Insulin expression levels in islet cells of pancreas of TA-treated in *db/db* mice by immunohistochemistry. A few of insulin-expressing beta-cells were observed in the pancreatic islet of all groups. *db/db* mice showed high expression of insulin in beta-cells. (Immunostain-microscopy, ×200).

12.57 ± 0.17 ng/ml이었다. TA투여군들에서 혈중 인슐린 농도가 당뇨대조군에 비해 감소하는 경향을 보였지만, 정상대조군과 비교할 때 약 3배 이상 높은 농도를 보였다. 한편 베타세포의 기능 저하는 인슐린저항성 제2형 당뇨병의 대표적인 병인이므로, 인슐린 항체를 이용한 면역조직학적 염색을 통해 췌장 내 베타세포의 형태학적 구조와 인슐린 생산 경향을 살펴보았다(Fig. 2). *db/db* 당뇨대조군 및 TA투여 실험군에서 취한 췌장의 베타세포에서 인슐린발현 경향은 혈중인슐린농도의 측정 결과와 유사한 결과를 보였다. 이 결과는 Hue 등[22]이 보고한 제2형 당뇨모델인 *db/db* 마우스에서 카르노신의 투여로 인해 인슐린 분비가 유의적으로 감소하는 경향과 일치하지만, 혈당 감소효과와 연관성을 설명하기에 어려움이 있다. 일반적으로 당뇨환자에서 1차적 자율신경의 조절에 의한 혈당 감소하고, 이후 낮아진 혈당에 의한 인슐린 분비 감소로 나타나는 경우가 있지만, 고인슐린증에 기인하는 비만과 조직의 과잉 성장 유발, 혈압상승, 그리고 동맥벽 대사장애에 의한 동맥경화 등이 악화되어 오는 심혈관계 질환, 신증, 망막증 등[23]을 TA가 조절할 수 있을지의 여부는 많은 추가연구가 필요하다.

포도당 내성에 미치는 영향 – *db/db* 당뇨마우스에서의 TA 투여에 의한 포도당 내성효과를 보기위해 TA투여전과 투여 5주경과 후 경구 당부하 검사를 실시하였다(Fig. 3). TA투여 전 당부하 검사 결과는 각 실험군간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그러나 5주간 TA투여 후 당부하 검사에서는 TA-100투여군에서 당뇨대조군과 비교하여 혈중 포도당 농도가 120분에 34.45% 감소하는 것으로 나타났다. 당부하 검사는 당 섭취 후 혈액 내 포도당 농도를 정해진 시간에 측정함으로써 간접적으로 인슐린 분비기능을 알아보는 방법으로 당뇨병 진단 검사법 중 하나이다. 당부하 검사를 통한 국제적으로 통용되는 당뇨병 진단의 기준은 공복 혈당치가 140 mg/dl 이상이거나, 당부하 검사상 2시간 혈당치가 200 mg/dl이상이고, 다른 시간에 한번 더 200 mg/dl 이상인 경우이다. 특히 경구 당부하 시험에서 고혈당이 나타날 경우 공복 시 보이는 고혈당보다 심혈관 질환 및 동맥경화에 더 중요한 위험인자라고 알려져 있어 식후 고혈당 의심 환자에게 경구 당부하 검사를 통하여 철저한 관리를 하도록 권장하고 있다.

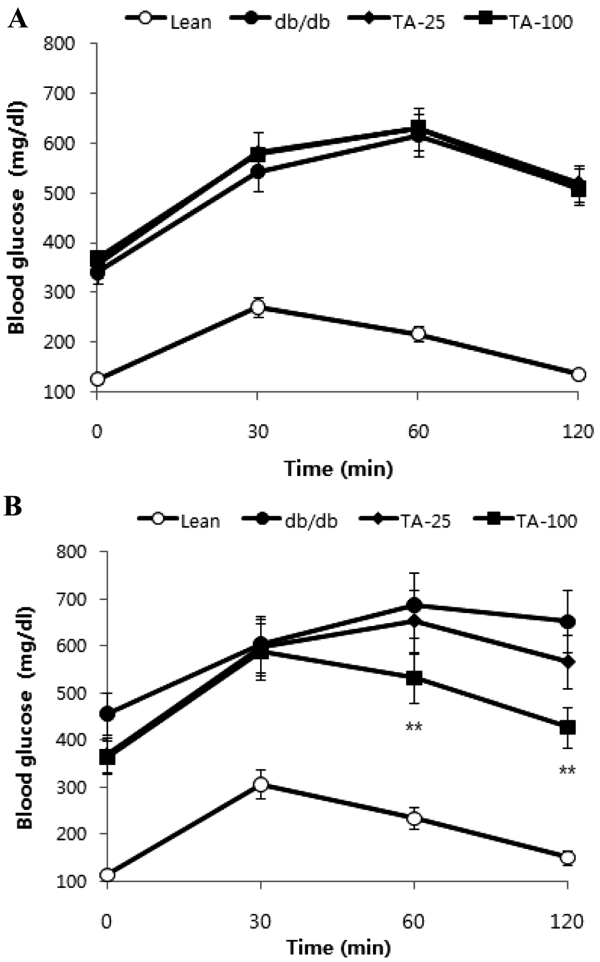

Fig. 3. The oral glucose tolerance test was performed at the initial (A) and final (B) days in all groups 60 and 120 min after oral glucose treatment (p<0.05). Abbreviations are the same as those of Fig. 1.

본 연구 결과들로 밀순 물추출물을 제2형 당뇨병 모델*db/db*마우스에 5주간 장기 투여할 경우 인슐린농도에 관계없이 임상적 특징으로 알려진 고혈당, 과체중, 과식을 감소시

키는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 본 연구자의 최근 연구에서 STZ으로 유발된 제1형당뇨 흰쥐에게 TA를 투여한 경우 인슐린분비증가와 더불어 혈당 저하효과 및 항산화효과를 보고한 바 있다.[12] 한편 본 연구의 제2형 당뇨모델 *db/db*마우스에서도 혈중인슐린농도와 무관하게 혈당 저하에 관여한다는 것은 TA가 모든 당뇨병 완화에 효과가 있음 보여주는 것으로 특히 사람에게서 주로 나타나는 제2형 당뇨병 적용시킬 수 있을 것으로 예측된다.

TA의 항당뇨효과는 함유하는 생리활성물질에 의해 조절될 것으로 판단된다. TA는 인슐린결핍 마우스에서 인슐린 분비를 증가시키는 효과뿐만 아니라 인슐린 저항성에 대한 조절효과를 갖는 물질을 함유하고 있다. 비록 실험결과는 없지만 TA에 함유하는 수용성 식이섬유 β-glucan은 중요한 후보물질로 예측된다. 본 연구에서 사용된 밀순 및 밀순 물추출물의 수용성 β-glucan 함유량을 분석한 결과 물추출물에 의해 수용성 β-glucan이 18.5% 함유하고 있음을 확인하였다. β-glucan은 불용성과 수용성으로 나뉘는데, 특히 수용성 β-glucan은 식후 혈당을 감소시키며[24], 점성이 높아 인체 내 소화기관에서 분해되지 않고 점도를 유지함으로서 인슐린에 대한 반응조절에 효과를 부여한다고 보고되었다.[25] β-glucan은 β-glycosyl unit가 β-(1→3)결합과 β-(1→4)결합으로 연결된 가지 없는 선형사슬로서 단백질 혹은 기타 세포벽 성분과 결합하여 분자구조와 크기가 다양하며[26] 혈중 포도당과 인슐린에 대한 반응을 조절하고 콜레스테롤 수치를 저하시키는 등의 인체건강에 유용한 생리적 작용이 있다고 알려져 있다.[27]

본 연구는 결론적으로 TA투여가 제2형 당뇨에서 인슐린의 감수성이나 저항성에 영향을 미치고, 혈당을 강하 시키는 것으로 사료된다. 특히 밀순 물추출물에 함유하는 수용성 식이섬유 β-glucan이 중요한 역할을 했을 것으로 보이며, 당뇨병환자의 혈당저하에 기여할 것이라 기대한다. 또한 밀순 같은 천연물은 오랫동안 경험을 통해 장기복용에 대한 부작용이 없고 안전성이 확보된 장점이 있다. 이에 본 연구는 천연물질을 이용한 당뇨병의 예방 및 치료에 밀순 물추출물을 사용할 수 있는 이론적 토대를 제공할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구는 밀순을 물추출하여 생산한 추출액을 제2형 당뇨동물모델인 *db/db* 마우스에게 5주간 경구 투여하여 항당뇨 효과에 대한 연구결과로써, *db/db* 마우스 당뇨대조군은 Lean 정상대조군과 비교하여 혈중 포도당농도, 체중 증가, 식이섭취량 등에서 높은 수치를 보였다. TA를 5주간 경구투여 결과 *db/db* 마우스의 혈당, 체중, 식이섭취량을 농도의존적으로 감소시켰으며, 정상대조군과 가장 가까운 수준으로 개선시키는 유의적인 차이를 보였다. 특히 TA-100실험군에서 당뇨대조군에 비하여 혈당치 32.8%, 체중증가율을 64%, 그리고 식이섭취량 12.5% 정도 감소시키는 효과를 보였다($p<0.05$). 실험동물의 체중 대비 장기무게(g/100 g BW)를 측정 결과 당뇨대조군과 비교하여 TA-100 투여군에서 간 무게를 32.4% 감소시키는 유의적인 효과($p<0.05$)를 보였으나, 당뇨대조군에서 낮은 신장, 비장 및 심장 무게에 대한 유의적인 차이가 보이지 않았다. 혈중 인슐린농도는 정상대조군에 비하여 *db/db*당뇨실험군에서 모두 높게 나타났다. TA-100 투여군에서는 약간 혈중 인슐린농도를 감소시켰다. 또한 *db/db*당뇨실험군의 췌장조직을 이용한 면역조직염색에서 인슐린을 생산하는 베타세포의 인슐린 발현정도에서도 높게 나타나는 경향을 보였다. 그러나 정상대조군과 비교시 TA-100 투여군에서도 3배 높은 인슐린농도를 나타내므로 제2형 당뇨병의 대표적인 인슐린저항성에 대한 평가를 위해 포도당내성능을 측정하였다. 내당능은 당뇨 대조군에서는 5주간 실험기간 동안 지속적으로 높은 당부하를 보인 반면에 TA-100 투여군에서 60분부터 당부하가 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다($p<0.05$).

사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(과제번호 :108156-03)의 지원에 의하여 수행되었음.

인용문헌

1. Korean national statistical office (2005) Annual report on the cause of death statistics 2004. Daejeon, *Korean National Statistical Office.*
2. Beak, S. H. (2007) Prevention of type 2 diabetes. *Medical postgraduates*. **3**: 128-131.
3. Holman, R. R., Bethel, M. A., Matthew, D. R. and Neil, H. A. (2008) 10 year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N. Eng. J. Med*. **359**: 1557-1589.
4. Tapsell, L. C., Hemphill, I., Cobiac, L., Patch, C. S., Sullivan, D. R., Fenech, M., Roodenrys, S., Keogh, J. B., Clifton, P. M., Williams, P. G., Fazio, V. A. and Inge, K. E. (2006) Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Med. J. Aust.* **185**: S4-24.
5. Shokuhin to Kaihatsu Henshubu (2000) Market trend of health foods and health ingredients. Shokuhin to Kaihatsu **35**: 18-34.
6. Vaaler, S., Hanssen, K. F., Dahl-Jorgensen, K., Frolich, W., Aaseth, J., Odegaard, B. and Aagenaes, O. (1986) Diabetic control is improved by guar gum and wheat bran supplementation. *Diabet. Med.* **3**: 230-233.
7. Nagaoka H. (2005) Treatment of Germinated Wheat to

Increase Levels of GABA and IP6 Catalyzed by Endogenous Enzymes. *Biotechnol. Progr*. **21**: 405-410.
8. Kulkarni, S. D., Tilak, J. C., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Devasagayam, T. P. and Reddy, A. V. (2006) Evaluation of the antioxidant activity of wheat grass (Triticum aestivum L.) as a function of growth under different conditions. *Phytotherapy Research*. **203**: 218-227.
9. Marawaha, R. K., Bansal, D., Kaur, S. and Trehan, A. (2004) Wheat grass juice reduces transfusion requirement in patients with thalassemia major: a pilot study. *Indian Pediatr*. **41**: 716-720.
10. Ben-Arye, E., Goldin, E., Wengrower, D., Stamper, A., Kohn, R. and Berry, E. (2002) Wheat grass juice in the treatment of active distal ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Scand. J. Gastroenterol*. **37**: 444-449.
11. Lai, C. N. (1979) Chlorophyll: The active factor in wheat sprout extract inhibiting the metabolic activation of carcinogens in vitro. *Nutrition and Cancer* **3**: 19-21.
12. Lee, S. H., Lee, Y. M., Lee, H. S. and Kim, D. K. (2009) Anti-oxidative and anti-hyperglycemia effect of *Triticum aestivum* wheat sprout water extracts on the streptozotocin-induced diabetic mice. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 408-414.
13. Stanley, M. and Lee, S. B. (1986) Chronic effects of an inhibitor (Bay O 1248) on intestinal disaccharidase activity in normal and diabetes mice. *J. Pham. Exper. Therap*. **240**: 132-137.
14. Reeves, P. G. (1997) Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J. Nutr.* **127**: 838-841.
15. Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Marco, C. C., McKee, L. J. and Bauer T. L. (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med*. **334**: 292-295.
16. Mogensen, C. E. and Anderson M. J. F. (1973) Increase kidney size and glomerulal filtration rate in early juenile diabetes. *Diabetes* **22**: 706-712.
17. Gallaher, D. D., Casallany, A. S., Shoeman, D. W. and Olson, J. M. (1993) Diabetes increases excretion of urinary malonaldehyde conjugates in rats. *Lipids* **28**: 663-666.
18. Shon, K. H., Kim, S. H. and Choi, J. W. (1992) Pretreatment with nicotinamide to prevent the pancreatic enzymes changes by streptozotocin in rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**: 117-123.
19. Niall, M. G., Rosaleen, A. M., Daphne, O., Patrick, B. C., Alan, H. J. and Gerald, H. T. (1990) Cholesterol metabolism in alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes* **39**: 626-636.
20. Aasum, E., Hafstad, A. D., Severson, D. L. and Larsen, T. S. (2003) Age-dependent changes in metabolism, contractile function, and ischemic sensitivity in hearts from db/db mice. *Diabetes* **52**: 434-441.
21. Aasum, E., Belke, D. D., Severson, D. L., Riemersma, R. A., Cooper, M., Andreassen, M. and Larsen, T. S. (2002) Cardiac function and metabolism in type 2 diabetic mice after treatment with BM 17.0744, a novel PPAR-alpha activator. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **283**: H949-H957.
22. Hue, J. J., Kim, J. S., Kim, J. H., Nam, S. Y., Yun, Y. W., Jeong, J. H. and Lee, B. J. (2009) Antiglycemic Effect of Carnosine in Diabetic Mice. *J. Fd. Hyg. Safety* **24**: 391-397.
23. Young, I. R. and Stout, R. W. (1987) Effects of insulin and glucose on the cells of the arterial wall : Interaction of insulin with dibutyryl cyclic AMP and low density lipoprotein in arterial cells. *Diabetes* **13**: 301-306.
24. McIntosh, G. H., Newman, R. K. and Newman, C. W. (1995) Barley foods and their influence on cholesterol metabolism. *World Rev. Nutr. Diet*. **77**: 89-108.
25. Wood, P. J., Braaten, J. T., Scott, F. W., Riedel, K. D., Wolynetz, M. S. and Collins, M. W. (1994) Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *Br. J. Nutr.* **72**: 731-743.
26. Zvonko, B. and Feral, T. (1998) Effect of extraction conditions on yield, composition and viscosity stability of barley gum. *Cereal Chern.* **75**: 805-809.
27. Lee, Y. T., Yoo, J. W., Yoo, M. S., Choi, K. H., Kim, J. H. and Seog, M. H. (2003) Retarding effects of •,-glucans separated from barley bran on in vitro transport of bile acid and glucose. *Food Sci. Biotechnol*. **12**: 298-302.

(2010. 9. 15 접수; 2010. 10. 15 심사; 2010. 10. 28 게재확정)