

원저

陽陵泉 五味子약침이 고지방식으로 유발된 고지혈증 흰쥐에 미치는 영향

이성환 · 이현

대전대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

A Study on the Effect of Herbal-acupuncture with *Schizandrae Fructus* Solution on Hyperlipidemia in Rats Induced by High Fat Diet

Lee Sung-hwan and Lee Hyun

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medecine,
Daejon University

Objectives : The purpose of this study is to observe the effects of herbal acupuncture with *Schizandrae Fructus* solution at GB₃₄(Yangneungcheon) on hyperlipidemia in rats.

Methods : In the present study, herbal acupuncture with *Schizandrae Fructus* solution was administered into hyperlipidemic mice. The author performed several experimental items to analyze the levels of various components and enzymes in serum, liver, as well as the histological changes of liver and aorta.

Results : 1. In the *Schizandrae Fructus* herbal-acupuncture group, serum total cholesterol and Atherogenic index were significantly decreased, and the ratios of HDL to total cholesterol, and phospholipid to total cholesterol in serum were significantly increased as compared with those of the control group.

2. In the *Schizandrae Fructus* herbal-acupuncture group, HMG-CoA reductase activity was significantly decreased as compared with those of the control group.

3. *Schizandrae Fructus* herbal-acupuncture reduced deposit of lipid in the liver tissue.

Conclusions : From the above results, it is suggested that *Schizandrae Fructus* herbal-acupuncture at GB₃₄ has a therapeutic effect on hyperlipidemia

Key words : hyperlipidemia, *Schizandrae Fructus* herbal-acupuncture, GB₃₄(Yangneungcheon)

· 접수 : 2011. 3. 17. · 수정 : 2011. 4. 6. · 채택 : 2011. 4. 6.
· 교신저자 : 이현, 충남 천안시 두정동 621 대전대학교 부속천안한방병원 침구과
Tel. 041-521-7579 E-mail : ih2000@hanmir.com

I. 서론

2008년 발표된 우리나라의 사망원인 통계결과를 보면 암, 뇌혈관질환, 심장질환, 당뇨병 등에 기인한 사망자가 전체의 51%를 차지하여 선진국형 질병양상을 보여주고 있다¹⁾.

심혈관질환 중 관상동맥질환의 중요한 독립적 위험인자인 고지혈증은 혈장 내 지질이 비정상적으로 증가하는 것이다. 콜레스테롤과 중성 지방을 포함한 주요한 혈장 지질은 혈장 내에서 용해된 상태로 자유롭게 이동할 수 없어 단백질에 결합되어 지단백으로 일컫는 고분자 복합체의 형태로 운반된다²⁾. 최근 지질저하 치료가 동맥경화성 심혈관질환의 합병증을 유의하게 저하시킨다는 사실이 알려지면서 뇌혈관질환, 심장질환 등 내과질환의 진단과 치료에 가장 중요한 영역이 되고 있다³⁾.

韓醫學에서는 고지혈증이란 병명은 없으나 《黃帝內經·靈樞·衛氣失常論》⁴⁾에서 “肥人多有膏, 有肉”이라고 하여 지질과의 연관성이 있다고 보고 있으며, 痰濁, 火熱, 氣滯血瘀, 脾胃濕熱 등의 病因에 기인하는 것으로 인식되는데⁵⁾, 陽陵泉은 膝蓋骨下 外側 1寸에 위치하며 足少陽膽經의 合土穴로 八會穴 중 筋會穴에 속하며 舒筋脈, 清泄濕熱, 疏經絡濕滯하는 穴性이 있어 본 연구에 穴位로 사용하게 되었다⁶⁾.

五味子是 肺·心·腎 三經에 들어가 上으로는 肺氣를 斂하고, 下로는 腎陰을 滋하며 아울러 澀精止澀, 生津, 止汗 등의 작용이 있으며⁷⁾ 그 중 약리적으로五味자에 함유된 성분 중 schizandrin, schizandran, ethamigrenal, gimisin 등의 lignan 화합물과 기름, 정유 및 색소는 콜레스테롤 저하⁸⁾, 고지혈증 완화⁹⁾ 등 다양한 생리적 활성을 나타낸다고 알려져 있다.五味자와 관련된 연구로는 국소 뇌혈류량 및 혈압¹⁰⁾, 혈당강화¹¹⁾에 미치는 영향에 대한 연구 등이 있었으나 고지혈증과 관련된 연구는 아직 없는 실정이다.

이에 저자는 실험적으로 고지방식이를 섭취하여 고지혈증이 유발된 흰쥐를 대상으로 陽陵泉에五味자 약침을 시술하여 체중, 간 무게, 혈청 성분, 간 내 효소, 간 및 대동맥의 조직학적 변화 등 고지혈증과 유관하리라 사료되는 지표들을 분석하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물 및 사료

동물은 6주령의 수컷 흰쥐(200±20g)를 (주)중앙실험동물로부터 공급받아, 실험 적응기간 동안에는 일반 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료)를 공급하며 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 이후 실험기간 동안에는 실험군에 따라 일반 고형사료 혹은 고지방식(AIN-76A diet, USA) 사료를 매일 일정한 시간에 물과 함께 공급하였으며, 실험실 환경은 실온(22±2℃)과 습도(50~60%)를 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리 규정을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 五味子(*Schizandrae Fructus*, SF)는 대전대학교 부속대전한방병원에서 구입하여 이용하였다.

2. 방법

1) 약침액의 제조

분쇄기를 이용해서五味子 55g을 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 500ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 여과액을 40µm여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축하였다. 농축액에 95% ethyl alcohol 30ml를 가하여, 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20ml가 되게 하였다.五味子 55g으로부터 얻은五味자약침액을 감압농축을 통하여 수분을 모두 날렸을 때 분말은 1.7g(수득률 3.09%)이었다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4℃에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filtering을 실시하였다. 여과된 농축액에 PBS를 첨가

하여 1%로 희석한 것을 약침액으로 사용하였다.

2) 실험동물 model

흰쥐에 alloxan(150mg/kg)을 복강투여하고 일주일 뒤 혈액 내에 총 콜레스테롤 수치가 180~220mg/dl로 증가된 것을 확인한 후, 고지방식으로 조제된 사료인 AIN-76A diet(Dyets INC. PA, USA)를 4주간 매일 일정시간에 공급하여, 자유식으로 섭취하게 하여, 고지혈증을 유발하였다¹²⁾. 실험기간 중 사료는 4℃에서 보관하였다.

3) 취혈

骨度分寸法에 의거하여 흰쥐의 좌우측 뒷다리에서 인체의 陽陵泉(Yangneungcheon ; GB₃₄)에 상응하는 부위를 매 시술마다 좌우 교대로 취하였다.

4) 실험군 분류 및 처치

흰쥐 8마리씩을 한 군으로 하여 정상군(normal), 대조군(control), NP군(needle prick), saline군(saline injection), SF 약침군(SF-HA)의 5군으로 나누었다.

정상군은 실험기간 동안 일반 사료를 섭취하였으며, 정상군 이외의 모든 실험군의 실험동물은 고지방식 사료를 섭취하였다. 대조군은 고지방식 섭취 이외에 아무런 처치도 하지 않았다. NP군은 陽陵泉(GB₃₄) 상응부위에 26gauge 주사기를 0.5cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. Saline군은 陽陵泉(GB₃₄) 상응부위에 saline 0.2ml를 주입하였다. SF-HA군은 陽陵泉(GB₃₄) 상응부위에 1%의 SF 약침액 0.2ml를 주입하였다. NP, saline 주입, SF 약침 처치는 모두 alloxan 투여 1주 이후부터 4주간 주 3회 시행하였다. NP, saline 주입, SF 약침 시술은 실험동물의 후지에서 陽陵泉(GB₃₄) 상응부위를 매 시술 때마다 좌우 교대로 취하여 시술하였다.

5) 고지혈증 평가

(1) 몸무게, 간 무게 및 liver index 측정

실험 종료 시까지 1주일 간격으로 각 실험군의 실험동물의 몸무게를 측정하여 기록하였다. liver index는 실험 종료 시, 실험동물의 몸무게와 간 무게를 측정하여 몸무게에 대한 간 무게의 백분율로 계산하였다.

(2) 혈청 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을

마취하고, 심장 채혈법으로 혈액을 채취하였다. 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, (주)Reference laboratory (DaeJeon, Korea)에 의뢰하여 혈청 중의 total cholesterol, free cholesterol, HDL cholesterol, Phospholipid를 측정하였다.

(3) 동맥경화지수 판정

Atherosclerosis index는 혈청에서 측정된 total cholesterol과 HDL cholesterol을 이용하여 계산하였다.

Atherosclerosis index(AI) =

$$= \frac{(\text{total cholesterol} - \text{HDL cholesterol})}{\text{HDL cholesterol}}$$

(4) 간 내 효소 분석

① HMG-CoA reductase 추출 및 분리

실험이 끝난 후, HMG-CoA가 가장 높은 시간인 밤 12시에 각 실험군 흰쥐의 간을 HBSS를 이용하여 적출한 뒤, 무게를 측정하였다. 적출한 간 1g당 ice cold buffer A(50mM phosphate buffer, pH 7.0 with 0.2 M sucrose, 2mM DTT) 2ml를 첨가하였다. Sonic dismembrator(Fisher Sci., USA)를 이용하여 균질화하고, 15,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액은 다시 100,000×g에서 75분간 초원심분리하여 상등액을 버리고, 얻어진 microsome pellet은 buffer A(with 50 mM EDTA)를 rat liver 1g당 1ml씩 첨가하여 세척하고 100,000×g에서 60분간 원심분리하였다. 이어서 상등액은 버리고 -20℃에서 2시간 이상 보관하고 microsome pellet을 실온에서 해동시킨 후 buffer B(50mM phosphate buffer, pH 7.0 with 0.1M sucrose, 2mM DTT, 50mM KCl, 30mM EDTA)를 3ml/1.5g rat liver를 가하여 균질화하였다. Buffer B를 7ml/1.5g rat liver 첨가하고 상온에서 15~30분간 방치하였다. 100,000×g, 20℃에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 취한 후, 효소원으로 사용하기 전까지 -70℃에서 보관하였다.

② HMG-CoA reductase 활성 측정

1ml cuvette에 0.5mM phosphate buffer(pH 7.0)와 20mM DTT 100μl를 분주하고, 3mM NADPH 100μl, 효소원 100μl를 첨가하였다. 37℃에서 10분간 preincubation을 실시하였다. 3mM HMG-CoA 100μl를 가하여 효소 반응 시작과 동시에 340nm에서 5분간 흡광도 변화를 확인하였다. HMG-CoA reductase의 억제 활성은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{HMG-CoA reductase activity(\%)} = \frac{\text{Sample O.D.}}{\text{Blank O.D.}} \times 100$$

(5) 간의 조직학적 검사

실험 종료 후, 각 군의 실험동물의 간 조직을 절취하여, 10%의 formalin에 고정하였다. 조직검사 전 gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4°C에서 조직을 침수하였다. 침수가 끝난 조직은 액체질소를 이용하여 급속 동결하여 냉동조직절편기(Cryostat Cryocut Microtome)를 사용하여 10µm의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시켰다. 100% propylene glycol 용액에서 10분간 처리하여 완전 탈수를 하였다. 60°C oven에 있는 Sudan black B 용액에서 10분간 염색을 시행하였다. 이어 85% propylene glycol 용액에서 5분간 감별하였다. 증류수로 여러 번 세척한 후, Nuclear fast red 용액으로 1분간 핵 염색을 실시한 다음 증류수로 여러 번 세척한 후 수용성 봉입제로 봉입하였다. 봉입을 끝낸 조직사진은 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰한 후, digital camera(DXM 1200F, Nikon, Japan)를 이용하여 사진을 촬영하고, ACT-1 program을 이용하여 분석하였다.

(6) 대동맥의 조직학적 검사

실험 종료 후 각 군의 실험동물의 동맥을 절취하여, 10%의 formalin에 고정하였다. 조직검사 전 gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4°C에서 조직을 침수하였다. 침수가 끝난 조직은 액체질소를 이용하여 급속 동결하여 냉동조직절편기(Cryostat Cryocut Microtome)를 사용하여 10µm의 두께로 박절한 후 gelatin으로 표면 처리된 슬라이드에 부착시켰다. 100% propylene glycol 용액에서 5분간 처리하여 완전 탈수를 하였다. 60°C oven에 있는 oil red O 용액에서 7분간 염색을 시행하였다. 이어 85% propylene glycol 용액에서 3분간 감별하였다. 증류수로 여러 번 세척한 후, 1%로 희석된 Harris' hematoxylin 용액으로 1분간 감별 염색한 다음 증류수로 여러 번 세척한 후 수용성 봉입제로 봉입하였다. 봉입을 끝낸 조직사진은 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)을 이용하여 관찰한 후, digital camera(DXM 1200F, Nikon, Japan)를 이용하여 사진을 촬영하고, ACT-1 program을 이용하여 분석하였다.

6) 통계처리

본 실험의 결과는 각 실험군에서 얻은 데이터의 평균과 표준편차로 나타내었다. 통계분석은 SPSS(14.0 KO) 통계프로그램을 사용하였다. 데이터 분석 결과, 정상군과 대조군의 비교에는 Wilcoxon rank sum test를 이용하였으며, 대조군, NP군, saline군, SF-HA군간의 비교는 Kruskal-Wallis 검정(SPSS 12.0 KO for Windows)을 시행한 후 유의확률 p<0.05일 경우에 한하여 Wilcoxon rank sum test를 시행하였다. 실험군간 유의확률이 p<0.05일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 고지혈증 평가

1) 몸무게

Alloxan을 복강투여하고 고지방식을 4주간 섭취하게 하면서 매주 몸무게를 측정하였다. Normal군에 비하여 control군에서 약간 높은 몸무게를 나타내었으며, SF-HA군에서 control군에 비하여 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 1).

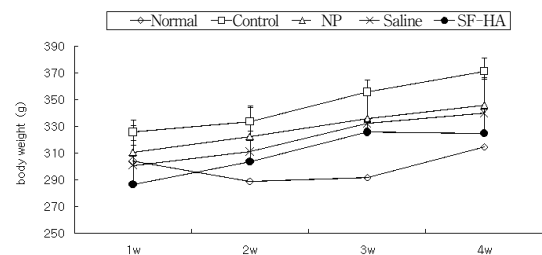


Fig. 1. Effect of SF-HA at GB₃₄ on body weight in rats with hyperlipidemia

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan (150 mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and methods. Animals were weighted weekly during the experimental period. Values represent the mean ± SD (n=8).

- Normal : normal wistar rats.
- Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150 mg/kg) challenge and high fat diet.
- NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.
- Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB₃₄.
- SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2 ml) at GB₃₄.

2) 간 무게

실험종료 후 실험동물의 간을 적출하여 무게를 측정하였다. Normal군에 비하여 control군에서 간 무게가 유의하게 증가하였다. NP군, saline군, 및 SF-HA군의 간 무게는 control에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2).

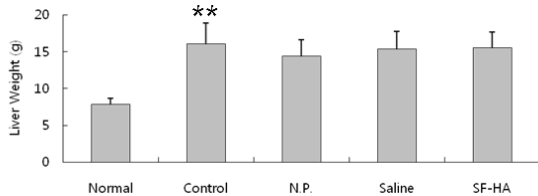


Fig. 2. Effect of SF-HA at GB₃₄ on liver weight in rats with hyperlipidemia

Normal : normal wistar rats.

Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150mg/kg) challenge and high fat diet.

NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2ml) injection at GB₃₄.

SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2ml) at GB₃₄.

** : $p < 0.01$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

2. 혈청 분석

1) Total cholesterol

혈중 total cholesterol level을 측정한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 SF-HA군

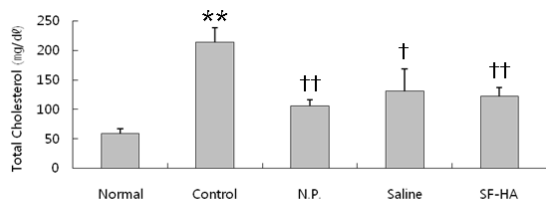


Fig. 3. Effect of SF-HA at GB₃₄ on serum total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

Normal : normal wistar rats.

Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150mg/kg) challenge and high fat diet.

NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2ml) injection at GB₃₄.

SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2ml) at GB₃₄.

** : $p < 0.01$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

† : $p < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

†† : $p < 0.01$.

에서 control군에 비하여 혈중 total cholesterol이 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

2) HDL/total cholesterol

혈청에서 total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비를 측정한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군 및 SF-HA군에서 control군에 비하여 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 증가하였다(Fig. 4).

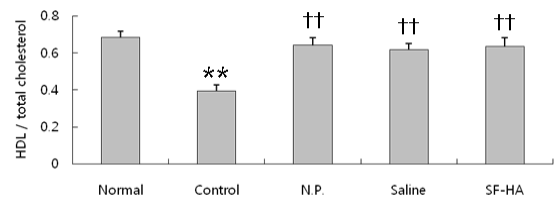


Fig. 4. Effect of SF-HA at GB₃₄ on serum HDL/total cholesterol level in rats with hyperlipidemia

Normal : normal wistar rats.

Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150mg/kg) challenge and high fat diet.

NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2ml) injection at GB₃₄.

SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2ml) at GB₃₄.

** : $p < 0.01$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

†† : $p < 0.01$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

3) 동맥 경화 지수(atherogenic index : AI)

혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과, normal군에

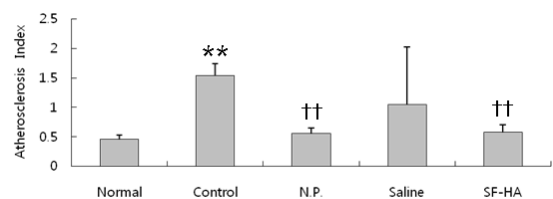


Fig. 5. Effect of SF-HA at GB₃₄ on atherosclerosis index in rats with hyperlipidemia

Normal : normal wistar rats.

Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150mg/kg) challenge and high fat diet.

NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.

Saline : hyperlipidemia and saline(0.2 ml) injection at GB₃₄.

SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2ml) at GB₃₄.

** : $p < 0.01$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

†† : $p < 0.01$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

비하여 control군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였다. NP군 및 SF-HA군에서는 control군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

4) Phospholipid/total cholesterol

혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비율 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군, SF-HA군에서는 control군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 6).

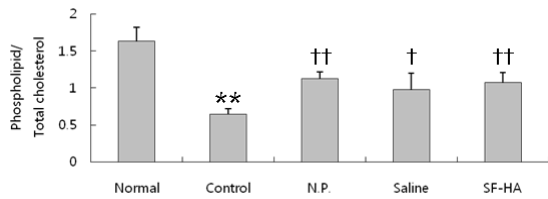


Fig. 6. Effect of SF-HA at GB₃₄ on serum phospholipid/total cholesterol in rats with hyperlipidemia

Normal : normal wistar rats.
 Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150mg/kg) challenge and high fat diet.
 NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.
 Saline : hyperlipidemia and saline(0.2ml) injection at GB₃₄.
 SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2ml) at GB₃₄.
 **: $p < 0.01$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.
 † † : $p < 0.01$, † : $p < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

5) Free cholesterol

혈중 free cholesterol level을 측정한 결과, normal

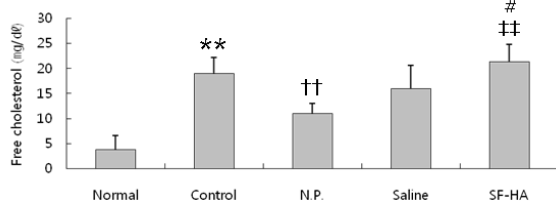


Fig. 7. Effect of SF-HA at GB₃₄ on serum free cholesterol level in rats with hyperlipidemia

Normal : normal wistar rats.
 Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150mg/kg) challenge and high fat diet.
 NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.
 Saline : hyperlipidemia and saline(0.2ml) injection at GB₃₄.
 SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2ml) at GB₃₄.
 **: $p < 0.01$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.
 † † : $p < 0.01$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.
 † † † : $p < 0.01$ compared to N.P. group by Kruskal-Wallis test.
 # : $p < 0.05$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

군에 비하여 control군에서 혈중 free cholesterol이 유의하게 증가하였다. NP군에서 control군에 비하여 혈중 free cholesterol이 유의하게 감소하였으나, SF-HA군에서는 control군에 비하여 혈중 free cholesterol에 유의한 변화가 없었다(Fig. 7).

3. 간 내 효소 분석

분획한 간 조직으로부터 HMG-CoA reductase activity를 측정하였다.

간에서 HMG-CoA reductase activity를 측정한 결과, Normal군에 비하여 control군에서 유의하게 증가하였다. Saline군에서는 NP군에 비하여 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 증가하였고, SF-HA군에서는 control군, NP군 및 saline군에 비하여 간 내 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

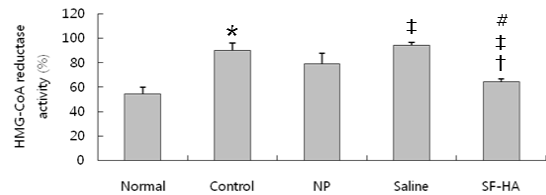


Fig. 8. Effect of SF-HA at GB₃₄ on hepatic HMG-CoA reductase activity in rats with hyperlipidemia

Normal : normal wistar rats.
 Control : hyperlipidemia induced with alloxan(150mg/kg) challenge and high fat diet
 NP : hyperlipidemia and single needle prick at GB₃₄.
 Saline : hyperlipidemia and saline(0.2ml) injection at GB₃₄.
 SF-HA : hyperlipidemia and herbal acupuncture with SF(1%, 0.2ml) at GB₃₄.
 * : $p < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.
 † : $p < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.
 † † : $p < 0.05$ compared to N.P. group by Kruskal-Wallis test.
 # : $p < 0.05$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

4. 조직학적 분석

1) 간 조직

간조직을 Sudan black B(SBB)로 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났다. SF-HA군의 간 조직에서는 흑갈색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 9).

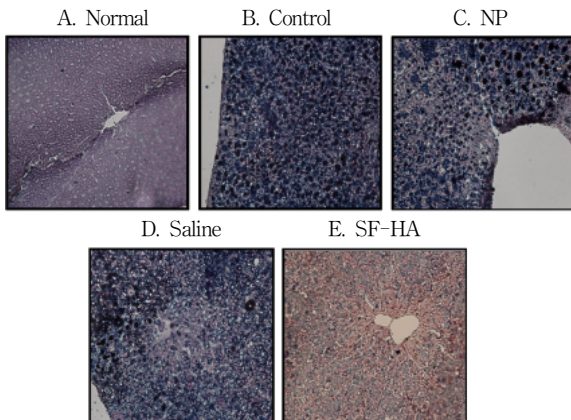


Fig. 9. Histological analysis of liver in rats with hyperlipidemia(SBB stain)×200

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan(150mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided into different experimental groups according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and methods. Rat liver was removed, sliced and embedded in OCT compound, and 10 μm sections were stained with Sudan block B-propylene glycol for the detection of fat and lipid(×200).

2) 대동맥

대동맥 절편을 oil red O로 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였다. SF-HA군에서는 붉은색의 착색

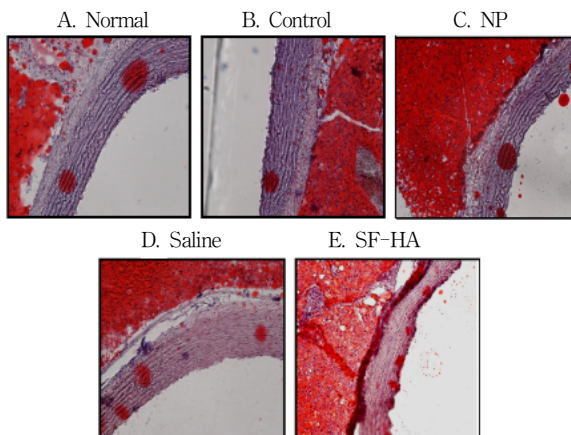


Fig. 10. Histological analysis of aorta in rats with hyperlipidemia(Oil red O stain)×200

The male wistar rats were injected intra-peritoneally with alloxan(150mg/kg) and fed with high fat diet. They were further subdivided according to the treatments given for 4 weeks as described in the materials and methods. After the animals were sacrificed, the aorta was removed, sliced and embedded in OCT compound, and 10 μm sections were stained with oil red O for the detection of fat and lipid(×200).

이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 10).

IV. 고찰

지단백은 체액과 조직 사이에서 트리글세리드, 에스테르형 콜레스테롤, 지용성 비타민 등 지질을 수송하는 대형 구상 복합체이다. 일반적으로 고지혈증이란 혈중 콜레스테롤이 240mg/dl 이상인 고콜레스테롤혈증이나 저비중 지단백 콜레스테롤(LDL) 혹은 중성지방이 많은 고중성지방증을 지칭하는 것으로, 혈장 내 지단백이 증가하는 것을 말한다¹³⁾. 지단백의 기능은 식이 중의 콜레스테롤, 장쇄지방산, 지용성 비타민 등의 흡수에 필수적이며, 간과 말초조직 사이에 트리글리세리드·콜레스테롤·지용성 비타민의 수송, 말초 조직에서 간으로 콜레스테롤의 수송 등인데 밀도에 따라 킬로미크론, 초저밀도지단백(VLDL), 중간밀도지단백(IDL), 저밀도지단백(LDL), 고밀도지단백(HDL)으로 분류된다³⁾. 고콜레스테롤 혈증은 VLDL의 과생산 또는 제거 결함과 VLDL에서 LDL로의 전환이 증가되어서 나타나는데 간에서의 VLDL의 과생산은 비만, 당뇨병, 알코올 과섭취, 신증후군 또는 유전적 결함에 의해 나타날 수 있다.

현대인들은 생활습관의 서구화, 영양섭취량의 증가, 운동량 감소, 스트레스 증가로 인한 비만, 당뇨, 흡연, 과음으로 대사 및 심혈관계통의 질병이 점차 증가하는 추세에 있는데 고지혈증은 심혈관질환 중 특히 관상동맥질환의 가장 중요한 독립적인 위험인자이며, 죽상경화증의 가장 중요한 인자이다¹⁴⁾.

서양의학에서 고지혈증의 치료에는 크게 식이요법과 약물요법을 권장한다. 식이요법의 경우 Adult Treatment Panel II¹⁵⁾가 제시하는 고콜레스테롤 혈증 환자의 식이는 1단계와 2단계로 나누어 시행하는데 1단계로 총 지방량을 총 열량의 30% 이하, 포화지방산을 8~10%, 콜레스테롤을 300mg/dl 이하로 유지하다가 목표치에 도달하지 않으면 2단계로 포화지방산을 7% 미만 콜레스테롤을 200mg/dl 미만으로 낮춘다. 약물요법은 식이 및 일반요법을 6개월간 시행하여도 저밀도 지단백 콜레스테롤 농도가 목표에 도달치 못하면 시행하게 된다¹⁶⁾. 널리 사용되는 지질저하제로는 HMG-CoA reductase 억제제, 음이온 교환수지, 니코틴산 유도체, 피브린산 유도체가 있다. 이 중 최근에 자주 이용되는 HMG-CoA 환원 억제제는 콜레스테롤 생합

성의 초기 단계에서 HMG-CoA를 mevalonate로 전화시키는 과정을 촉매하는 효소인 HMG-CoA reductase의 특이적인 저해제로, 실질적으로 총 cholesterol 및 LDL-cholesterol을 감소시키는 것으로 알려졌다¹⁷⁾.

한의학에서 고지혈증은 혈액순환 장애를 초래한다는 점에서는 서양의학의 개념과 유사하지만 다양한 병증 범주에서 다루어지고 있으며 痰飲, 瘀血 및 火熱 등을 주 유발 요인으로 보고 있으며⁵⁾ 治療法으로 滋補肝腎, 調理脾胃, 活血祛瘀, 利濕化痰하는 扶正祛邪의 治法과 체질에 따른 治療가 있다¹⁸⁾.

藥鍼療法은 다양한 방법에 의해 제조된 약침액을 질환과 연관된 경혈과 체표촉진에 의해 얻어진 양성 반응점 및 혈관에 약침주입용 주사기를 사용하여 시술하는 방법으로서 자침과 약물의 효능을 이용해 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료하는 新鍼療法이다¹⁹⁾.

五味子是五味를 가지고 있으나 酸味가 주가 되고 그 性이 溫하되 燥하지 않아 肺·心·腎 三經에 들어가 上으로는 肺氣를 斂하고, 下로는 腎陰을 滋하며 아울러 澀精止澀, 生津, 止汗 등의 작용이 있다⁷⁾.五味子是 anthocyanin뿐만 아니라 flavonoid 및 유기산류 등이 풍부하여 간장 보호⁸⁾, 고지혈증 완화⁹⁾ 등 다양한 생리적 활성이 나타난다. 이는五味子에 함유된 성분 중 schizandrin, schizandran, ethamigrenal, gimisin 등의 Lignan 화합물과 기름, 정유 및 색소에 기인한다고 보고 있다.

본 실험에서는 흰쥐에 alloxan을 투여하고 고지방 식 사료인 AIN-76A diet를 공급하여 고지혈증을 유발하였다. Alloxan은 C₄H₂N₂O₄의 강한 산화력 화합물로 Langerhans' islet β-세포 내의 SH기 의존 ATPase를 특히 예민하게 억제 및 소실시킴으로 인해 세포손상을 야기시키고 이로써 인슐린 결핍을 초래하여 당뇨병을 유발시킨다. 흰쥐에 glucokinase의 불활성화로 인하여 당대사와 인슐린 분비 조절에 이상을 초래하여 당뇨병을 유발하고 이는 곧 탄수화물의 대사뿐만 아니라 지방과 단백질의 대사에도 변화를 초래한다²⁰⁾.

간은 항상성과 건강 유지를 위해 필수적인 많은 작용을 하는데, 그 중에서 생체에 대해 유해한 이물질들을 무해한 것으로 바꾸는데 주된 역할을 담당한다. 이러한 해독작용의 근본은 주로 인체 내에서 생성되거나 유입되어 온 산물들을 수용성 형태로 바꾸어 체외로, 주로 소변을 통하여 배출하는 것이다⁵⁾. 또한 간은 탄수화물 대사와 지방대사, 단백질 대사를 수행하는데 신체의 모든 세포들이 지방을 대사할 수 있지만,

지방 대사의 특정한 부분은 주로 간에서 일어난다. 간에서는 에너지를 공급하기 위한 지방산의 산화와 많은 양의 콜레스테롤, 인지질 및 대부분의 지질단백을 합성하고 단백질 및 탄수화물로부터 지방의 합성을 한다²¹⁾.

본 연구에서는五味子약침을 처치했을 때 고지혈증이 유발된 실험동물에 미치는 영향을 알아보기 위해, 실험동물의 체중 변화 및 간 무게의 변화를 관찰하였으며, 혈액학적 분석 및 분획한 간 조직으로부터 HMG-COA reductase activity 농도를 측정하였고, 간세포의 조직학적 변화를 살펴보았다.

혈중지질은 신체 비만도와 밀접한 관련이 있어서 미국 스포츠의학회²²⁾에서는 혈중지질을 개선하기 위한 체중과 비만도를 낮추는 데 주력해야 한다고 강조하고 있다. 특히 체지방은 심혈관 질환과 밀접한 관련이 있는 중성지방과 저밀도 지단백(LDL)의 증가를 야기하기 때문에 혈중지질을 개선하기 위해서는 체지방의 감소가 선결되어야 함을 강조하고 있다²³⁾. 본 실험에서 체중은 매주 몸무게를 측정한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 몸무게가 증가하였으며, SF-HA군에서 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 1). 식이로 섭취한 과량의 콜레스테롤은 체외로 정상적으로 배출되지 못하고 간장 내에 축적되어 간장이 비대해진다. 이처럼 과량의 콜레스테롤을 식이에 첨가하였을 때 흰쥐 장기 무게에 영향을 미친다는 보고²⁴⁾가 수행되었는데, Turley²⁵⁾ 등도 고콜레스테롤을 장기간 급여할 때 간비대증을 유발한다고 하였다. 실험 종료 후 간을 적출하여 무게를 측정한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 간 무게가 유의하게 증가하였으나五味子약침군의 간 무게는 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2). 이상의 결과에서五味子약침이 고지혈증 유발로 인한 간 무게에는 큰 영향을 미치지 못한 것으로 나타났다.

혈중의 총 콜레스테롤 농도는 주로 간, 장관에서의 총 콜레스테롤 생성과 흡수 및 이상에 관여하는 여러 인자에 좌우되고, 체내 지질대사 이상의 지표로서 중요하다. 말초조직에서의 이용이나 산화성 연료 이상의 과량 상태로 혈액 내에 필요 이상 많이 존재하면 고지혈증이 유발되고 죽상 동맥경화증의 주요 원인이 된다²⁶⁾.

본 실험에서 혈중 total cholesterol level을 측정한 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 SF-HA군에서 control군에 비하여 혈중 total

cholesterol이 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

고밀도지단백(HDL)은 크기가 가장 작고 간과 장에서 합성되며 Apo A-I와 Apo A-II가 있다. HDL은 혈장 전체 콜레스테롤의 20~30%를 운반하며, 레시틴 콜레스테롤 아실전달효소와 함께 유리형 콜레스테롤을 간으로 보내 담즙으로 배설하도록 한다²⁷⁾.

각 실험군의 total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군 및 SF-HA군에서 control군에 비하여 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 증가하였다(Fig. 4). 고밀도지단백(HDL) 저하는 비만, 고지혈증, 당뇨병, 담석증에서 흔히 나타나고, 허혈성 심질환이나 뇌졸중의 위험요소이므로²⁾ 五味子약침에서 나타난 HDL-cholesterol의 증가는 이들 질환을 예방하는 데 효과가 있으리라 생각된다.

동맥경화지수(AD)는 total cholesterol 수치에서 HDL-cholesterol 수치를 뺀 값을 HDL-cholesterol 수치로 나눈 값으로 total cholesterol 수치가 낮을수록 또 HDL-cholesterol 수치가 높을수록 지수가 낮아지게 된다²⁶⁾. 각 실험군에서 혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과, normal군에 비하여 control군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였다. NP군 및 SF-HA군에서는 control군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다(Fig. 5).

Phospholipid는 지단백의 구성 성분의 하나로 apo 단백과 함께 지단백 표면에서 cholesterol ester나 TG로 된 핵을 싸고 있다. 그러므로 인지질은 혈청 콜레스테롤 농도와 평행하게 변동하는 것이 일반적이다. 인지질과 혈청 콜레스테롤 비는 거의 1.0을 보이나 콜레스테롤이 증가할 때는 이 비율이 낮아지고, 반대로 콜레스테롤이 감소할 때는 상승한다²⁸⁾. 또한 동맥경화증에 있어서의 phospholipid의 역할은 cholesterol 등의 용해도를 높여서 동맥벽에 지질 침착을 억제시키는, 항동맥경화인자의 하나이므로, total phospholipid/total cholesterol 비의 감소는 동맥경화 촉진의 지표로 이용된다²⁹⁾. 각 실험군에서 혈중 total cholesterol에 대한 phospholipid의 비를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 감소하였으며, NP군, saline군, SF-HA군에서는 control군에 비하여 유의하게 증가하였다(Fig. 6).

실험동물의 혈중 free cholesterol level을 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 증

가하였다. NP군에서 control군에 비하여 유의하게 감소하였으나, SF-HA군에서는 control군에 비하여 혈중 free cholesterol에 유의한 변화가 없었다(Fig. 7).

이상의 결과에서 五味子약침군은 total cholesterol, total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비, total cholesterol에 대한 phospholipid의 비, 동맥경화지수에서 대조군에 비해 유의한 효과를 나타내어, 고지혈증의 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다. 또 五味子약침군은 total cholesterol, total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비, total cholesterol에 대한 phospholipid의 비, 동맥경화지수에서 대조군에 비해 유의한 효과를 나타내어, 고지혈증의 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다. 하지만 NP군과 saline군에서도 五味子약침군과 같이 대조군에 비해 유의한 효과를 나타내었다. 또한 free cholesterol 측정에서는 陽陵泉만 단순 자침했을 때 free cholesterol이 유의하게 감소하여, 藥鍼의 經穴자극과 약리적인 효과를 동시에 기대하지만, 經穴자극과 藥理효과가 늘 상승작용을 하는 것은 아닐 가능성이 있으며, 추후 이에 대한 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

HMG-CoA reductase 억제제를 사용할 경우 콜레스테롤 생합성을 억제하여 간의 LDL 수용체 활성을 증가시키며 순환 LDL 대사를 촉진하고 그 결과 용량의존적으로 혈장 LDL-cholesterol이 저하된다. 또한 HMG-CoA reductase 억제제는 혈장 트리글리세리드도 용량 의존적으로 저하시키며, 그 정도는 LDL-C 저하효과와 비례한다³⁾.

본 실험에서 간 내 HMG-CoA reductase activity를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의하게 증가하였다. SF-HA군에서는 control군, NP군 및 saline군에 비하여 간 내 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

HMG-CoA reductase는 cholesterol 대사를 조절하는 주요 효소로 HMG-CoA reductase 활성억제는 고cholesterol 혈증과 동맥경화를 예방·치료하는 데 유용한 것으로 보고되어 있다^{30,31)}.

본 실험에서, 五味子약침은 HMG-CoA reductase activity를 유의하게 감소시켰는데, 이는 五味子약침이 콜레스테롤 생합성을 억제하여 항고지혈증에 효과가 있음을 나타내는 것으로 사료된다.

각 실험군의 간조직을 Sudan black B(SBB)로 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났다. SF-HA군의 간 조직에서는 흑갈색의 착색이 control군에

비하여 감소하였다(Fig. 9). Sudan black B(SBB)는 지질과 지방세포만 보여주는 염색법으로 검정색으로 염색된 지방입자가 control군에서 간소엽 전체에 골고루 분포하는 양상을 보인 것은 간이 당대사, 지질대사, 단백질 대사 등³²⁾의 기능을 담당하기 때문에 세포 내 대사를 주관하는 핵이나 세포질의 형태가 변형시킨 것으로 추측된다.

각 실험군의 대동맥 절편을 oil red O로 관찰한 결과, normal군에 비하여 control군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였다. SF-HA군에서는 붉은색의 착색이 control군에 비하여 감소하였다(Fig. 10). 본 실험에서 五味子약침군은 대조군에 비해 지질침착이 감소하여 고지혈증으로 인한 간 조직 지질침착 억제와 동맥경화 억제에 효과가 있는 것으로 사료된다.

이상의 실험결과를 종합해 볼 때 五味子약침은 control에 비하여 total cholesterol과 동맥경화지수를 유의하게 감소시켰으며, HDL/total cholesterol, phospholipid/total cholesterol을 유의하게 증가시켰다. 또한 五味子약침군에서 대조군, NP군 및 saline군에 비하여 간 내 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 감소하였다. 이는 五味子の 약리적인 효과가 작용하여 HMG-CoA reductase activity가 저해된 것으로 볼 수 있다. 특히 최근에 양방에서 고지혈증 치료제로 자주 이용되는 HMG-CoA 환원 억제제는 그 효과가 입증되었으나 그에 따른 부작용이 있어 새로운 치료제 개발이 시급한 상황에서 五味子약침의 이러한 효과는 고지혈증의 예방과 치료에 도움이 될 것으로 생각된다.

이상의 결과로 보아 五味子약침은 고지혈증을 유발시킨 흰쥐에 지단백 대사의 조절을 향상시켜서 항고지혈증 효과를 발휘하는 것으로 생각되며, 향후 고지혈증 질환에 임상적인 응용 및 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

Alloxan 투여 후 고지방식으로 유발된 고지혈증 흰쥐를 대상으로 五味子약침을 시술하여 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 五味子약침은 대조군에 비해 혈중 total cholesterol, 동맥경화지수를 유의하게 감소시키고, HDL/total cholesterol, phospholipid/total cholesterol

을 유의하게 증가시켰다.

2. 五味子약침은 대조군, NP군 및 saline군에 비하여 간 내 HMG-CoA reductase activity를 유의하게 감소시켰다.
3. 五味子약침은 간조직의 지질침착을 감소시켰다.

이상의 결과로 五味子약침은 고지혈증에 대한 지단백 대사의 조절과 항고지혈증 효과가 있는 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

1. Korean National Statistical Association. Death of cause statical annual report. Seoul. 2008. Available from : URL: http://index.go.kr/egams/stts/jsp/potal/stts/PO_STTS_IdxMain.jsp?idx_cd=1012&bbs=INDX_001.
2. 강병철. 머크 매뉴얼. 서울 : 한우리. 2003 : 214-28.
3. 대한내과학회 편. 해리슨 내과학 16th Edition. 서울 : MIP. 2006 : 2500-12.
4. 楊維傑. 黃帝內經靈樞譯釋. 서울 : 일중사. 1991 : 296, 397, 416, 611-2.
5. 전국한의과대학 간계내과학교수 공저. 간계내과학. 서울 : 동양의학연구소. 2001 : 182-93, 236-7, 635, 764.
6. 대한침구학회 교재편찬위원회 편저. 침구학(中). 파주 : 집문당. 2008 : 244-5, 408-29.
7. 전국한의과대학 본초학교수 공저. 본초학. 서울 : 영림사. 2000 : 622-3.
8. Donald MW and Nell GH. Biological activities of lignans. Phytochem. 1984 ; 23 : 1207-13.
9. Mok CK. Quality characteristics of instant tea prepared from spray-dried Omija(Schizandra chinensis Baillon extract/grape juice mixture), Food Engineering Progress. 2005 ; 9 : 226-30.
10. 박성혜, 한종현. 五味子 열수추출물이 흰쥐의 국소 뇌혈류량과 혈압에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 2004 ; 33(1) : 33-40.
11. 고병섭, 박성규, 최수봉, 전동화, 최미경, 박선민. 五味子 추출물의 혈당 강하 효과에 관한 연구. 한국응용생명화학회지. 2004 ; 47(2) : 258-64.

12. Xie W, Wang W, Su H, Xing D, Cai G, Du L : Hypolipidemic mechanisms of Ananas comosus L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins, J pharmacol Sci. 2007 ; 103 : 267-74.
13. 박영배. 고지혈증. Medical Postgraduates. 2003 ; 31 : 160-5.
14. 전국한의과대학 심계내과학교실. 東醫心系內科學. 서울 : 書苑堂. 2001 : 209-14.
15. Expert Panel Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High blood Cholesterol in Adult Treatment Panel II. JAMA. 1993 ; 269 : 3015-23.
16. Wood D, De Backer G, Faergeman O et al with members of the task force. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendations of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Eur Heart. 1998 ; 19 : 1434-503.
17. 이현철. 고지혈증 치료제의 현황. 제7차한국지질학회지. 1994 ; 4(1) : 91-8.
18. 김성훈. 동의병리학. 대전 : 한림원. 1994 : 333.
19. 대한약침학회. 藥鍼療法 기술 지침서. 서울 : 한성인쇄. 1999 : 182.
20. Bedoya FJ, Wilson JM, Ghosh AK, Finegold D, Matsxchinsky FM. The glucokinase glucose sensor on Human pancreatic islet tissue. Diabetes. 1986 ; 35 : 61-7.
21. 의학계열 교수 27인. 의학생리학. 서울 : 정담. 2002 : 907-9.
22. Lippincott Williams & Wilkins. ACSM's Resource Manual for Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 4th ed. Philadelphia : American College of Sports Medicine. 2001 : 130-234.
23. National Institute Health(NIH). Detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults(adult treatment panel III). 2002 ; 02 : 5215.
24. Rhee SJ and Park HK. Changes of lipid concentration and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet. Korean J Nutr. 1984 ; 17 : 113-25.
25. Turley E, Armstrong NC, Wallace JMW, Gilore WS, Mckelvey-Martin JV, Allen TM and Strain JJ. Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female syrian hamsters. Ann Nutre Metab. 1999 : 43, 47-51.
26. 이삼열, 정윤섭, 권오녕, 손경순. 임상병리검사법. 서울 : 연세대학교 출판부. 2000 : 273-6, 281-3, 303-15.
27. 전국의과대학교수 편. Katzung's 임상약리학. 서울 : 도서출판 한우리. 1998 : 1059-68.
28. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일 제3판. 서울 : 의학문화사. 2003 : 193, 373, 374, 410.
29. Oxturk O, Gumuslu S. Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase. Copper zinc-superoxide dismutase and catalase activities glutathione and its metabolizing enzyme and lipid peroxidation in rat erythrocytes with age. Experimental gerontology. 2004 ; 39(2) : 2116.
30. Lee DH, Lee JW, Jeong JH, Lee JS. Production of an antihyperlipenial HMG-Coa reductase inhibitor from Bacillus cereus D-3. Kor J Microbiol. 2006 ; 34(1) : 52-7.
31. Bocan TM, Mueller SB, Borwn EQ, Lee P, Bocan MJ, Rea T, Pape ME. HMG-CoA reductase and ACAT inhibitors act synergistically to lower plasma cholesterol and limit atherosclerotic lesion development in the cholesterol-fed rabbit. Atherosclerotic. 1998 ; 139 : 21-30.
32. Schmucker, DL.. Liver function and phase I drug metabolism in the elderly. Drugs Aging. 2001 ; 18(11) : 837-8.