

## 지골피, 산수유의 streptozotocin 유발 당뇨흰쥐에서의 효과 비교 연구

한윤경<sup>1#</sup>, 박용기<sup>1,2\*</sup>

1 : 동국대학교 한방신약개발센터, 2 : 동국대학교 한의과대학 본초학교실

### The comparisons of Lycii Radicis Cortex and Corni Fructus water extract effects on streptozotocin-induced diabetes in rats.

Yunkyung Han<sup>1#</sup>, Yong-Ki Park<sup>1,2\*</sup>

1 : Oriental Medicine R&D center, Dongguk University

2 : Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Gyeongju 780-714, Republic of Korea

#### ABSTRACT

**Objectives** : This study aimed to compare the anti-diabetic efficacy of Lycii Radicis Cortex (*Lycium chinense* Mill.) and Corni Fructus (*Cornus officinalis*) on streptozotocin (STZ)-induced diabetes in rats.

**Methods** : Male Sprague-Dawley rats were divided into four groups; normal, STZ-control, Lycii Radicis Cortex extract-administrated group (LRC) and Corni Fructus extract-administrated group(CF). Diabetes in rats was induced by intraperitoneal injection with streptozotocin (STZ) at doses of, 30 mg/kg (body weight) for 5 days (once per a day). STZ-induced diabetic rats were orally administrated LRC and CF extract daily for 4 weeks at doses of 300 mg/kg. Fasting blood glucose, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), blood urea nitrogen (BUN) and creatinine were measured in sera of rats. Histopathological changes of kidney, liver and lung tissues were observed by microscope after H&E staining.

**Results** : There were no differences in body and kidney weights, food intake and water intake in LRC- and CF-administrated groups compared with STZ control group. However, glucose, TC and TG levels in serum were significantly decreased in LRC-administrated groups compared with STZ-control group. In histopathological analysis of kidney, liver and lung, both LRC- and CF-administrated groups showed the inhibition of morphological damage.

**Conclusions** : These results suggest that LRC and CF have a biological action on STZ-induced diabetes in rats via decreasing the serum TG and TG levels and may protect the morphological changes of kidney, liver and lung.

Key words : Lycii Radicis Cortex, Corni Fructus, diabetes, streptozotocin

#### 서론

최근 경제성장과 더불어 국민소득이 증대됨에 따라 식생활 패턴의 서구화로 당뇨병, 비만, 고지혈증, 동맥경화증 및 고혈압과 같은 생활습관성 대사증후군에 노출되고 있다<sup>1-3)</sup>. 이 중 당질대사 이상을 초래하는 당뇨병은 인슐린의 절대적 또는 상대적 결핍으로 인하여 발생하는 고혈당 상태 및 이에 수반

되는 대사 장애가 장기간 지속되는 상태가 특징이며, 혈관장애, 망막증, 신증, 신경장애, 감염증 등이 당뇨합병증으로 나타날 수 있다<sup>1,4)</sup>. 당뇨병의 주요 대사 특징은 에너지 대사에 관여하는 포도당을 적극적으로 수용하여 세포대사에 사용하지 못하는 것으로, 세포내로 흡수되지 못한 포도당은 체내에 고혈당을 야기하게 되고 이 현상은 체내의 지질 중 중성지방과 콜레스테롤 위주로 농도를 증가시킨다<sup>5)</sup>. 따라서 당뇨병 관리

\*교신저자 : 박용기, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학 본초학교실

· Tel : 054-770-2661 · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr

#제1저자 : 한윤경, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한방신약개발센터

· Tel : 054-770-2658 · E-mail : hanyk1028@hotmail.com

· 접수 : 2013년 10월 23일 · 수정 : 2013년 11월 06일 · 채택 : 2013년 11월 09일

의 주요 목표는 정상혈당에 가깝게 혈당을 조절하는 것과 더불어 정상적인 혈중 지질 농도를 유지시키는 것이다<sup>1,5)</sup>. 현재 당뇨의 증세를 개선하기 위해 사용되는 약물요법 중 경구용 혈당 강하제로 설폰요소제(sulfonylurea), 비구아나이드(Biguanides)계 약물,  $\alpha$ -glucosidase 저해제, 티아졸리딘다이온(thiazolidinedion)계 약물이 사용되고 있으나 대부분 합성의약품으로 저혈당, 간독성, 체중증가, 복부팽만감, 젖산증 등의 부작용이 끊임없는 문제로 대두되고 있다. 따라서 최근에는 다양한 한약자원으로부터 당뇨병을 예방하거나 또는 억제할 수 있는 생리활성물질을 찾으려는 연구와 한방임상에서 사용하고 있는 당뇨처방과 한약재들의 항당뇨 효능을 과학적으로 밝히려는 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>6,7)</sup>.

한방에서 당뇨는 증세에 따라 상소(上消), 중소(中消), 하소(下消)로 분류되며, 상소는 다음(多飲), 중소(中消)는 다식(多食), 하소는 다뇨(多尿) 증상을 주요 증상으로 처방에 차이를 두고 있어 상소에는 청심연자음(淸心蓮子飲), 중소에는 생지팔물탕(生地八物湯), 하소에는 위기환(胃氣丸) 등을 사용하고 있다<sup>8)</sup>.

여러 한약 중 지골피(Lycii Radicis Cortex, LRC)는 가지과(Solanaceae)에 속한 구기자나무 *Lycium chinese* Mill.의 근피로 성미(性味)는 한(寒) 감(甘)하고 귀경(歸經)은 폐간신경(肺肝腎經)이며 량혈제증(涼血除蒸), 청폐강화(淸肺降火)하여 음허조열(陰虛潮熱), 골증도한(骨蒸盜汗), 폐열해수(肺熱咳嗽), 객혈(咯血), 녹혈(衄血), 내열소갈(內熱消渴) 등의 치료에 사용된다<sup>9)</sup>. 또한 지골피 성분으로는 cinnamic aldehyde와 다량의 phenol, betaine, alkaloid, kukoamine 등이 알려져 있으며<sup>10)</sup>, 실험연구로 항우울증<sup>11)</sup>, 항산화<sup>12)</sup>, 간 보호<sup>13)</sup> 등의 효과가 보고되었다. 한편 산수유(Corni Fructus)는 층층나무과(Cornaceae)에 속한 낙엽소교목인 산수유나무 *Cornus officinalis* Sieb. et. Zucc.의 성숙한 과실을 건조한 것으로 성미(性味)는 미온(微溫), 산습(酸澁)하고 귀경은 간신경(肝腎經)이며 효능으로 보익간신(補益肝腎), 삼정고탈(澀精固脫)하여 현훈이명(眩暈耳鳴), 요슬산통(腰膝酸痛), 양위유정(陽痿遺精), 유노(遺尿), 뇨의빈수(尿意頻數), 붕루대하(崩漏帶下), 대한허탈(大汗虛脫), 내열소갈(內熱消渴) 등의 치료에 응용하여 현대질환에서 당뇨증, 혈압강하, 항암, 항균, 요통, 이명, 신경쇠약 등에 사용한다<sup>10,14)</sup>. 산수유의 주성분은 triterpene 계열인 saponin, ursolic acid, stearic acid, linolenic acid, palmitic acid, oleic acid, morroniside, loganin, valine, tyrosine 등이 알려져 있으며<sup>15)</sup>, 생리활성으로 항알러지<sup>16)</sup>, 간 보호<sup>17)</sup>, 항당뇨<sup>18)</sup>, 항염증<sup>19)</sup> 등의 효과가 보고되었다. 본 연구에서는 streptozotocin(STZ)의 저용량 반복투여에 의해 인슐린 의존형 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 하소약물로 사용되는 지골피와 산수유의 물 추출물을 투여한 후 혈청 내 혈액마커의 변화 및 하소약물의 표적장부인 신장과 간 외 폐에 미치는 영향을 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 약재

지골피와 산수유는 (주)광명당계약(울산, 한국)으로부터 표준약재를 구입하여 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 감별한 후 정선하여 시료로 사용하였다.

#### 2) 동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 6주령 수컷 흰쥐(rat; 180-190 g)를 (주)오리엔트바이오(경기도, 한국)로부터 분양받아 1주일 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간동안 일반 고형사료(삼양사료주식회사, 서울, 한국)와 물을 자유 섭취시켰으며, 실내온도  $22 \pm 2$  °C, 습도  $55 \pm 5$  %, 명암 12시간(Day light 06:00~18:00)을 주기로 실험종료 시까지 일정한 사육조건을 유지시켰다.

## 2. 방법

### 1) 시료의 조제

지골피와 산수유 각각 200 g에 정제수 2 L를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 가열하여 얻은 추출물을 여과지(Whatman NO. 1)로 여과한 후 회전식 감압농축기로 감압 농축하여 동결 건조함으로써 물추출물을 제조하였다. 이때 수득율은 지골피와 산수유가 각 19 %, 66 %였으며, 시험약물은 냉장보관하면서 실험 전 생리식염수에 희석하여 사용하였다.

### 2) 당뇨유발

인슐린 의존형 당뇨병을 유발하기 위해 streptozotocin(STZ)을 0.01 M citrate buffer(pH 4.5)로 적정한 다음 30 mg/kg body weight(bw)의 용량으로 체중 100 g당 0.1 ml을 매일 1회씩 5일간 복강 내 주사 하였으며, 정상군은 동일한 양의 0.1 M citrate buffer를 복강 내 주사하였다. 당뇨병 유발을 확인하기 위해 STZ 마지막 투여 72시간 경과 후 12 시간 동안 절식시키고 꼬리정맥으로부터 혈액을 수집하여 혈당측정검사지(Accu-Check, Roche Diagnostics GmbH, Germany)를 이용해 혈당(blood glucose)을 측정하였다. 이때 혈당수치가 200 mg/dL가 넘는 동물을 당뇨병이 유발된 것으로 보고 선별하여 실험에 사용하였다.

### 3) 실험군의 선정

실험군은 각 그룹간의 혈당수치의 평균값을 맞추어 정상군은 체중 100 g 당 0.5 ml의 생리식염수를 구강대(oral zonde needle)를 이용하여 경구 투여 하였으며, 당뇨병 대조군은 STZ 투여로 당뇨병을 유발시킨 후 생리식염수를 경구 투여 하였다. 또한 실험군은 STZ로 당뇨병이 유발된 흰쥐에 지골피와 산수유 물 추출물을 각 300 mg/kg (bw) 용량으로 day 0부터 day 28까지 매일 1회 정해진 시간에 경구 투여하였다.

### 4) 체중 측정 및 혈액 수집

실험기간 동안 매일 체중을 측정하였고 투여 0일째 체중을 초기(initial) 체중으로, 28일째 체중을 마지막(final) 체중으로 하였다. 또한 day 29에 모든 동물을 희생시키고 신장을 적출하여 무게를 측정하였다. 혈액의 수집은 매주 1회에 최소 12시간 이상 절식시킨 후 꼬리정맥으로부터 수집하였으며, day 29에 모든 동물을 희생시키고 심장천자를 통해 혈액을

수집하였다. 수집된 혈액은 6,000 rpm에 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 -80°C에 보관하면서 혈청 분석을 위한 시료로 사용하였다.

5) 혈청 내 혈액마커 측정

혈청 내 총콜레스테롤(total cholesterol, TC)과 중성지방(triglyceride, TG)의 농도는 각각 효소시약 측정용 키트(에이치비아이(주), 안양, 한국)를 사용하여 각각 546 nm와 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 혈액요소질소(blood urea creatinine, BUN)의 농도는 BUN 측정용 키트(HiSens BUN, 에이치비아이(주))를 이용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 크레아틴(creatinine)의 농도를 크레아틴 측정용 키트(HiSens CREA, 에이치비아이(주))를 사용하여 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6) Hematoxylin & Eosin 조직염색

당뇨 유발 2주째와 4주째 동물을 희생시키고 신장, 간 및 폐 조직을 각각 적출한 후 4% paraformaldehyde 용액에 하루 동안 고정하고 10~30% sucrose 용액으로 가라앉히고 자동조직과정 처리기를 이용하여 탈수, 투명, 침투화 하였다. 이를 파라핀으로 포매한 후 조직절편기(microtome)를 이용하여 4~6 μm 두께로 박절하여 연속절편을 제작하였다. 이후 hematoxylin & eosin(H&E) 염색을 위해서 xylene으로 조직 외부에 포매된 파라핀을 제거한 후 흡수하고 hematoxylin 용액으로 3~6분간 염색하였다. 이를 다시 0.1~1% HCl이 포함된 75% 알코올로 수세한 후 eosin 용액으로 2~3분 염색하였으며 95~100% 알코올로 탈수, 투명과정을 시행한 후 permount 봉입제로 봉입(mounting)하여 광학현미경으로 조직의 형태적 변화를 관찰하였다.

7) 통계처리

모든 실험 결과는 GraphPadprism 5 program(GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)을 이용하여 각 실험군의 평균과 표준오차(mean ± SE)를 계산하고, p < 0.05 수준에서 Student t-test를 사용하여 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 체중, 식이섭취량, 음수량 및 신장무게 변화

지골피와 산수유 추출물의 당뇨병 흰쥐에서의 체중과 신장 무게의 변화에 대한 효과를 확인한 결과, 초기(initial) 체중은 정상군(normal)에서 200 ± 4 g, 당뇨병 대조군(STZ-cont)에서 204 ± 4 g, 지골피(LRC)와 산수유(CF)를 300 mg/kg 투여한 군에서는 각각 207 ± 3 g, 206 ± 3 g으로 모두 유사하게 나타났다. 그러나 4주 후 마지막(final) 체중을 측정한 결과, 정상군을 제외한 대조군과 약물 투여군에서 현저한 체중 감소가 나타났으며(Table 1), 지골피와 산수유의 투여는 대조군과 유사하게 체중이 감소함으로써 체중변화에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

한편, 신장조직 무게와 체중 비율의 변화를 측정한 결과 정상군이 6.07 ± 0.39 g, 당뇨병 대조군이 13.1 ± 1.1 g, 지

골피 투여군이 11.9 ± 0.1 g, 산수유 투여군이 13.5 ± 1.0 g으로 정상군에 비해 대조군과 약물 투여군에서 높은 비율을 나타내었다. 그러나 지골피 투여군(LRC)에서 신장조직 무게와 체중의 비율이 다소 감소하였으며, 산수유 투여군(CF)에서는 대조군에 비해 신장 조직 무게 변화에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

또한 섭취량(food intake)과 음수량(water intake)의 변화를 측정한 결과, 당뇨병 대조군은 정상군 보다 섭취량과 음수량의 증가가 나타났으며, 지골피와 산수유 투여군에서도 정상군에 비해 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 지골피 투여군에서 대조군에 비해 섭취량과 음수량의 감소가 관찰되었으며, 산수유 투여군에서는 대조군에 비해 섭취량과 음수량의 변화가 관찰되지 않았다.

Table 1. Effect of Lycii Radicis Cortex and Corni Fructus extract on the changes of body weight, food and water intake, and kidney weight in streptozotocin-induced diabetic rats.

Marker	Normal	STZ-Con	LRC	CF	
body weight (g)	initial	200 ± 4	204 ± 4	207 ± 3	206 ± 3
	final	394 ± 6	188 ± 22	171 ± 11	183 ± 18
Food intake (g)	26 ± 0.7	34 ± 7.2	21 ± 4.2	36 ± 3.6	
Water intake (ml)	50 ± 1	127 ± 12	104 ± 10	133 ± 9	
kidney/body weight ratio (g/kg)	6.07 ± 0.39	13.1 ± 1.1	11.9 ± 0.1	13.5 ± 1.0	

Normal, normal group; STZ-Con, streptozotocin-induced diabetic group; LRC, Lycii Radicis Cortex extract (300 mg/kg)-administrated group; CF, Corni Fructus extract (300 mg/kg)-administrated group. Values are represented as mean ± SE (n=7 per a group).

2. 혈당 변화

지골피와 산수유 추출물의 당뇨병 흰쥐에서의 공복 시 혈당변화를 측정한 결과, 정상군(normal)은 초기에서 마지막날까지 86.6 ± 4.2 mg/dl에서 88 ± 2.2 mg/dl 사이로 정상 혈당을 유지하였으나, 당뇨병 대조군(STZ-cont)에서는 정상군에 비해 1주째 부터 423 ± 30 mg/dl로 현저히 증가하기 시작하여 4주에는 473 ± 4 mg/dl로 고혈당 상태를 나타내었다(Table 2). 그러나 지골피 투여군(LRC)과 산수유 투여군(CF)에서는 혈당 수치가 당뇨 대조군에 비해 1주째부터 감소하기 시작하였으며 3주까지 감소하였고 특히 2주째 대조군에 비해 지골피 투여군이 408 ± 40 mg/dl, 산수유 투여군이 340 ± 51 mg/dl로 혈당 변화에서 가장 유의적인 감소를 나타내었다. 또한 지골피 투여군이 산수유 투여군 보다 효과적으로 혈당 감소 효과를 나타내었다.

Table 2. Effect of Lycii Radicis Cortex and Corni Fructus extract on serum levels of glucose in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	0 day	1 week	2 week	3 week	4 week
normal	86.6 ± 4.2	110 ± 4.3	95.8 ± 2.6	101 ± 0.2	88 ± 2.2
STZ-con	377 ± 24	423 ± 30	453 ± 41	520 ± 37	473 ± 4
LRC	281 ± 33	399 ± 42	408 ± 40*	437 ± 64*	483 ± 16
CF	305 ± 31	362 ± 35*	340 ± 51*	460 ± 20	485 ± 12

Normal, normal group; STZ-Con, streptozotocin-induced diabetic group; LRC, Lycii Radicis Cortex extract (300 mg/kg)-administrated group; CF, Corni Fructus extract (300 mg/kg)-administrated group. Values are represented as mean ± SE (n=7 per a group). \*Significantly different from STZ control (p < 0.05). Unit=mg/dl

### 3. 혈액학적 마커 변화

지골피와 산수유 추출물의 당뇨병 흰쥐에서의 혈액 내 성분 변화를 조사하기 위해 혈청 내 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), 중성지방(triglyceride, TG), 혈액요소질소(BUN) 및 크레아틴 등의 혈액마커의 양을 측정하였다 (Table 3). 그 결과, 혈청 내 TC의 양은 정상군(normal)이  $101 \pm 12$  mg/dl, 당뇨병 대조군(STZ-Con)이  $138 \pm 2$  mg/dl로 당뇨병 유발 후 증가하였으며, 당뇨병 흰쥐에 지골피 추출물(LRC)과 산수유 추출물(CF)을 투여한 군에서는 각각  $81 \pm 18$  mg/dl와  $110 \pm 13$  mg/dl로 대조군에 비해 감소하는 것으로 나타났다. 특히 지골피 투여군 보다 산수유 추출물 투여군에서 당뇨 대조군에 비해 유의적인 감소효과가 있는 것으로 나타났다.

한편, TG는 4주째 정상군이  $71.7 \pm 5$  mg/dl, 당뇨병 대조군이  $239 \pm 20$  mg/dl로 TC와 마찬가지로 당뇨병 유발 후 혈청 내 TG의 양이 증가하였으며, 지골피 추출물(LRC)을 투여한 후  $102 \pm 6$  mg/dl, 산수유 추출물(CF)을 투여한 후  $199 \pm 18$  mg/dl로 당뇨 대조군에 비해 감소하였다. 특히 산수유 추출물에서 보다 지골피 추출물을 투여하였을 때 당뇨 대조군에 비해 유의적인 TG의 감소를 나타내는 것으로 나타났다.

한편 신장의 기능적 마커인 혈액요소질소(BUN)과 크레아티닌(creatinine)의 변화를 측정한 결과 BUN은 정상군에 비해 당뇨 유발군에서 증가하였으며 지골피와 산수유 추출물 투여에 의해 미미한 감소를 나타내었다. 또한 크레아티닌의 경우도 정상군에 비해 당뇨 유발군에서 증가하였으며 두 추출물 모두 미미한 감소효과를 나타내었다.

Table 3. Effect of Lycii Radicis Cortex and Corni Fructus extract on the serum levels of total cholesterol, triglyceride, BUN and creatinine in streptozotocin-induced diabetic rats.

Group	normal	STZ-con	LRC	CF
Total cholesterol	$101 \pm 12$	$138 \pm 2$	$81 \pm 18^*$	$110 \pm 13$
Triglyceride	$71.7 \pm 5$	$239 \pm 20$	$102 \pm 6^*$	$199 \pm 18$
BUN	$28.6 \pm 0.3$	$29.5 \pm 0.5$	$28.5 \pm 0.4$	$28.6 \pm 0.4$
Creatinine	$0.74 \pm 0.01$	$1.29 \pm 0.20$	$0.99 \pm 0.08$	$0.92 \pm 0.08$

Normal, normal group; STZ-Con, streptozotocin-induced diabetic group; LRC, Lycii Radicis Cortex extract (300 mg/kg)-administrated group; CF, Corni Fructus extract (300 mg/kg)-administrated group. Values are represented as mean  $\pm$  SE (n=7 per a group). \*Significantly different from STZ control ( $p < 0.05$ ). Unit=mg/dl

### 4. 신장조직 변화에 미치는 영향

지골피와 산수유 추출물의 당뇨병 흰쥐에서 신장조직의 구조적 손상에 대한 효과를 확인하기 위해 2주와 4주 짜 신장조직을 적출하여 H&E 염색을 수행하였다(Fig. 1). 그 결과, 정상군(normal)의 신장조직은 정상적인 피질 부위 사구체와 세뇨관의 형태가 잘 관찰되었으며, 당뇨병 유발(STZ-Con)에 의해 사구체에서 세포외기질 비후, 세뇨관 섬유화 및 형태적 손상이 관찰되었다. 또한 당뇨 유발군에 지골피(LRC)와 산수유(CF) 추출물을 투여하였을 때 당뇨 대조군에 비해 신장조직의 병리적 변화가 감소하는 것으로 관찰되었으며 특히 지골피 투여군에서는 정상군의 신장조직에서의 형태와 유사하게 관찰되었다.

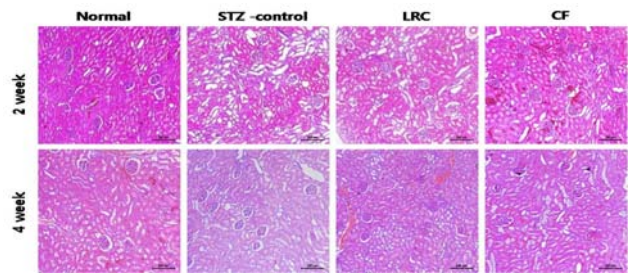


Fig 1. Effect of Lycii Radicis Cortex and Corni Fructus water extract on the histopathological change of kidney in streptozotocin-induced diabetic rats. Kidney tissues were isolated, sectioned and then stained with H&E. Normal, normal group; STZ-Con, streptozotocin-induced diabetic group; LRC, Lycii Radicis Cortex extract (300 mg/kg)-administrated group; CF, Corni Fructus extract (300 mg/kg)-administrated group. Original magnification x50.

### 5. 간 조직 변화에 미치는 영향

지골피와 산수유 추출물의 당뇨병 흰쥐에서 간 조직의 구조적 손상에 대한 효과를 확인하기 위해 2주와 4주 짜 신장조직을 적출하여 H&E 염색을 수행하였다(Fig. 2). 그 결과, 정상군(normal)의 간조직은 중심정맥 주변부와 문맥주변부의 간세포에서 세포질이나 세포핵 및 동양모세혈관 등에 병리적인 소견을 나타내지 않았으며, 간세포의 배열도 매우 규칙적이었다. 그러나 당뇨유발(STZ-con)에 의해 간세포의 세포질, 세포핵 및 동양모세혈관 등에 형태적인 손상을 나타내었으며, 간세포의 배열이 불규칙적으로 관찰되었다. 또한 당뇨 유발군에 지골피(LRC)와 산수유(CF) 추출물을 투여하였을 때 당뇨 대조군에 비해 간조직의 병리적 변화가 감소하는 것으로 관찰되었으며 특히 지골피 투여군에서는 정상군의 간조직에서의 형태와 유사하게 관찰되었다.

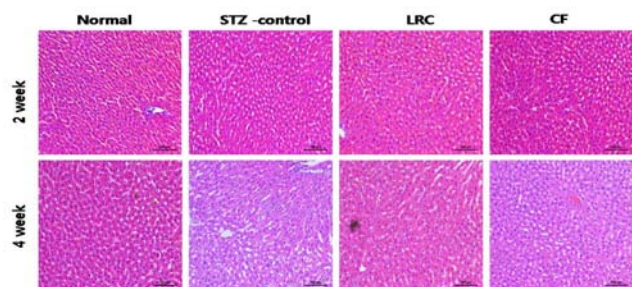


Fig 2. Effect of Lycii Radicis Cortex and Corni Fructus water extract on the histopathological change of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. Liver tissues were isolated, sectioned and then stained with H&E. Normal, normal group; STZ-Con, streptozotocin-induced diabetic group; LRC, Lycii Radicis Cortex extract (300 mg/kg)-administrated group; CF, Corni Fructus extract (300 mg/kg)-administrated group. Original magnification x50.

### 6. 폐 조직 변화에 미치는 영향

지골피와 산수유 추출물의 당뇨병 흰쥐에서 폐 조직의 구조적 손상에 대한 효과를 확인하기 위해 2주와 4주 짜 신장조직을 적출하여 H&E 염색을 수행하였다(Fig. 3). 그 결과,

정상군(normal)의 폐 조직은 조직세포의 규칙적인 배열로 세기관지 및 폐포의 내강이 관찰되었으며, 호산구, 호중구, 단핵구 등의 염증세포의 침윤은 관찰되지 않은 반면, 당뇨병 대조군에서는 세기관지 주변 및 혈관 주변에 염증세포의 심한 침윤과 세기관지 및 폐포의 이상형태 및 협착이 관찰되었다. 또한 당뇨 유발군에 지골피(LRC)와 산수유(CF) 추출물을 투여하였을 때 당뇨대조군에 비해 폐의 조직학적 변화가 감소함으로써 정상군과 유사하게 나타났다.

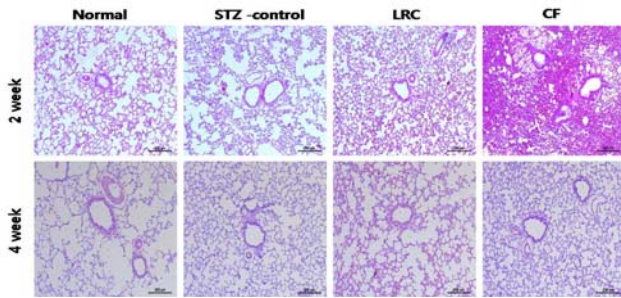


Fig 3. Effect of Lycii Radicis Cortex and Corni Fructus extract on the histopathological change of lung in streptozotocin-induced diabetic rats. Lung tissues were isolated, sectioned and then stained with H&E. Normal, normal group; STZ-Con, streptozotocin-induced diabetic group; LRC, Lycii Radicis Cortex extract (300 mg/kg)-administrated group; CF, Corni Fructus extract (300 mg/kg)-administrated group. Original magnification x50.

## 고찰

당뇨병은 인슐린 생성 분비장애와 말초조직에 대한 인슐린 저항에 의해 탄수화물, 지방 및 단백질 등의 생체 내 대사 기능의 이상을 초래하는 만성적인 대사성 질환이다<sup>20)</sup>. 당뇨병에서의 특징적인 지질대사의 이상은 혈중 중성지방의 증가와 HDL-콜레스테롤의 감소이며, 이 같은 지질대사 이상의 발생으로 인하여 고혈당, 고지혈증 등 여러 합병증을 동반한다<sup>1,21)</sup>. 현재 당뇨병 치료를 위해 여러 합성의약품들이 사용되고 있지만, 치료의 한계와 부작용으로 인하여 이와 유사한 효능을 가지면서도 안전하고 효과적으로 혈당을 조절할 수 있는 천연소재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>22)</sup>. 본 연구에서는 한방임상에서 하소약물로 알려진 지골피와 산수유의 물추출물을 제조하여 당뇨병에 대한 효과를 확인하였다. 즉 STZ 유발 당뇨 흰쥐모델을 제작하고 지골피와 산수유의 물추출물을 4주 동안 300 mg/kg 용량으로 경구 투여하였으며 실험기간 동안 체중과 신장 무게의 변화와 혈청 내 포도당(glucose), 총콜레스테롤(total cholesterol), 중성지방(triglyceride), 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌(creatinine) 등의 혈액마커 분석 및 신장, 간, 폐 조직의 구조적 변화를 조사하였다.

당뇨가 유발된 경우 인슐린 생성의 부족과 작용의 저하로 당대사에 의한 에너지 생산 부족을 초래하여 체중이 감소하게 된다고 보고되어 있다<sup>23)</sup>. 또한 일정수준 이상으로 혈당이 높아지면 걸러져나가는 포도당의 일부가 재흡수되지 못하고 소변이 배출되는데, 이렇게 빠져나가는 포도당은 체내수분을 같이 끌고 체외로 배출되기 때문에 소변량이 증가하며 따라서

체내수분의 손실도 많아지고 이를 보상하기위해 음수량도 증가하게 된다<sup>24)</sup>. 그리고 혈중 포도당 함량은 높으나 이를 세포 내에서 이용하지 못하여 에너지 부족현상을 초래하면 이로 인해 식이섭취량이 증가한다. 이런 이유에서 당뇨의 증상으로 다음(多飲), 다식(多食), 다뇨(多尿)의 현상이 나타나게 된다<sup>24)</sup>. 본 연구에서도 STZ에 의한 당뇨의 유발은 체중의 현저한 감소와 함께 섭취량(다식)과 음수량(다음)의 증가, 신장무게 감소 등의 생리적 변화를 유발하였다. 그러나 지골피와 산수유 추출물의 투여는 모두 당뇨에 따른 생리적 변화의 개선에 영향을 주지 못하는 것으로 나타났다.

한편 당뇨는 인슐린의 생리작용이 저조하거나 인슐린 리셉터의 수가 적어 인슐린의 생리적 기능의 불충분으로 인해 혈액 내 중성지방이 증가한다고 보고되어 있다<sup>1,5)</sup>. 또한 증가된 중성지방은 콜레스테롤 전달을 증가시켜서 결국에는 동맥경화와 같은 위험한 당뇨합병증을 유발시킨다고 알려져 있다<sup>25)</sup>. 본 연구에서 지골피 추출물은 당뇨 유발 흰쥐에서 혈액 내 중성지방과 총콜레스테롤의 수치를 유의적으로 감소시킴으로써 지방수치 조절에 효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 지골피의 지질이상 조절에 따른 당뇨병 개선효과를 판단하기 위해서는 향후 LDL-콜레스테롤이나 HDL-콜레스테롤과 같은 이상지질혈증 마커 변화에 대한 분석도 추가되어야 할 것으로 사료된다.

당뇨병의 신장 기능장애와 대사이상을 판단하는 중요 지표로서 혈액요소질소(BUN)와 크레아티닌을 사용하는데 이들은 사구체 여과율의 측정물질로서 체내에서 에너지로 사용되는 단백질들의 노폐물이며 신장 기능의 장애가 있으면 배설이 잘 안되어서 혈액 중에 정체되어 증가하게 된다<sup>1,26)</sup>. 본 연구에서 STZ 투여에 의한 당뇨의 유발은 혈청 내 BUN과 크레아티닌의 증가를 유도하였으며, 지골피와 산수유 추출물의 투여는 이들의 증가를 약하게 감소시키는 것으로 나타났고 신장의 조직학적 손상 또한 억제시켜주는 것으로 나타났다. 이는 지골피와 산수유 추출물이 당뇨병에 따른 신장조직의 가역적 손상을 지연시키거나 막아줄 수 있음을 의미하는 것으로써 향후 당뇨합병증으로써 당뇨병성 신장질환에서의 효능연구가 추가 되면 좋을 것으로 사료된다.

한편 한의학에서 하소 약물은 인체 내 어느 장부에 주로 작용하는가에 대한 귀경(歸經)으로써 간(肝)과 신장(腎)으로 보고 있다. 따라서 하소약물로서 응용되는 지골피의 귀경은 폐간신경이고 산수유의 귀경은 간신경이므로 이 두 약물의 귀경의 역할을 평가하기 위한 방법으로 장부에 작용하는 효능측적으로서 간과 신장 및 폐조직에서의 구조적 변화를 관찰하였다. 신장조직에서는 지골피와 산수유 추출물 모두 2주부터 당뇨에 따른 신장조직 손상이 억제되는 것을 확인하였다. 간조직에서도 역시 지골피와 산수유 추출물 모두 당뇨에 따른 간조직 손상이 억제되어 정상군과 유사하게 관찰되었다. 이는 지골피와 산수유가 귀경으로써 간과 신장에 작용함으로써 당뇨병을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

또한 당뇨병은 폐의 구조적 손상을 나타낸다고 보고되어 있다<sup>27)</sup>. 따라서 본 연구에서 지골피와 산수유 추출물 투여에 의한 폐 조직 손상에 대한 억제 효과를 확인한 결과, STZ에 의해 당뇨가 유발된 흰쥐의 폐 조직에서 나타나는 세기관지와 혈관 주변에 다량의 염증세포 침윤과 폐포의 형태적 이상과 협착 등의 병리적 변화가 이들 추출물 투여 후 개선되는 것을

확인하였다. 이는 지골피와 산수유 추출물이 폐 조직의 구조적 변화를 억제함으로써 당뇨병에 의한 폐 조직 손상과 폐 질환으로의 이행을 억제해 줄 수 있음을 의미한다. 그러나 당뇨병과 폐 조직 간 상호 연관성에 대해서는 아직 완전히 이해되지 않았으며 이에 대한 추가 분석이 필요할 것으로 사료된다.

결론적으로 지골피와 산수유 추출물은 STZ에 의해 당뇨가 유발된 흰쥐에서 고혈당 증상을 억제하고 혈청 내 총콜레스테롤과 중성지방 수치 증가를 유의적으로 감소시키며, BUN과 크레아티닌의 증가를 다소 감소시킴으로써 신장 조직 뿐 아니라 간과 폐 조직의 구조적 손상을 막음으로써 당뇨병 개선효과가 있는 것으로 보아진다. 또한 이러한 결과를 통해 지골피와 산수유는 한의학적으로 하소약물로서 귀경에 해당하는 간과 신장에서 주로 작용하고 있음을 의미하며 향후 하소에 해당한다고 볼 수 있는 현대 약리에서의 말기 당뇨병이나 당뇨병합병증의 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구에서는 하소약물로서 지골피와 산수유의 물추출물을 제조하고 STZ-유발 당뇨흰쥐에서의 효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 지골피와 산수유 추출물은 STZ-유발 당뇨병 흰쥐에서 체중감소, 신장무게감소, 섭식량과 음수량의 증가에 억제효과를 나타내지 않았다.
2. 지골피 추출물은 산수유 추출물에 비해 효과적으로 STZ-유발 당뇨흰쥐에서 혈청 내 포도당과 중성지방 및 총콜레스테롤 양을 유의적으로 감소시켰다.
3. 지골피와 산수유 추출물은 모두 STZ-유발 당뇨흰쥐에서 BUN과 크레아티닌 분비를 다소 감소시켰으나 유의적이지 않았다.
4. 지골피와 산수유 추출물은 모두 STZ-유발 당뇨흰쥐의 신장, 간, 폐 조직의 손상을 억제하였다.

이상의 결과로 볼 때 지골피와 산수유 추출물은 STZ에 의해 당뇨가 유발된 흰쥐에서 고혈당 증상을 억제하고 혈청 내 총콜레스테롤과 중성지방 수치 증가를 유의적으로 감소시키며, BUN과 크레아티닌의 증가를 다소 감소시킴으로써 신장 조직 뿐 아니라 간과 폐 조직의 구조적 손상을 막음으로써 당뇨병 개선효과가 있는 것으로 보여진다.

## 감사의 글

본 연구는 2013년 한국한의학연구원 한의이론과학화사업의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다 (K-2013-A0175-0003).

## References

1. Han YK, Park YK. Effect of atractylodis rhizoma alba water extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Kor J Herbology*. 2011 ; 26 : 23-30.
2. Park JH, Sung KS, Kim SS, Shim GS, Han CK. Effects of puffed and fermented red ginseng on blood glucose-related biomarkers in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012 ; 41 : 630-7.
3. Shin JH, Lee SJ, Seo JK, Lee HJ, Ju JC, Sung NJ. Effect of a combined extract of orostachys japonicus with medicinal plants on the lipid composition of the liver and kidney from streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012 ; 41 : 510-8.
4. Oh HG, Kim YR, Kim JH, Moon DI, Seo MI, Park SH, Choi KH, Kim CR, Kim SH, Oh JH, Kim SY, Kim MG, Chae SW, Kim OJ, Lee HY. Hypoglycemic effect of smallanthus sonchifolius (yacon) extracts on animal with streptozotocin-induced diabetes. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012 ; 41 : 759-65.
5. Chae HJ, Lee IS, Moon HY. Effects of schizandra chinensis fruit extract on the hypoglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Biotechnol Bioeng*. 2011 ; 26 : 126-30.
6. Park JH, Chu WM, Lee JM, Park HR, Park EJ. Antihyperglycemic of gleditschiae spina extracts in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2011 ; 40 : 321-6.
7. Han HK. Effect of artemisia wayomogi ethanol extract on hypoglycemic and antioxidant activities in diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012 ; 41 : 1716-26.
8. Ju YS, Ko BS. Screening of insulin-like substances from traditional herbs of diabetes prescription in donguibogam. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*. 2002 ; 45 : 47-52.
9. Sim EY, Lee TH. Effects of mixture of lycii radicis cortex and moutan cortex on corticotropin-releasing factor, c-fos, and tyrosine hydroxylase in forced swimming test. *Kor J Herbology*. 2011 ; 26 : 59-66.
10. Professors of herbology in college of oriental medicine. *Herbology*. Seoul : Younglimsa, 2004 : 687-8.
11. Kim SJ, Lee L, Kim JH, Lee TH, Shim I. Antidepressant-like effects of lycii radicis cortex and betaine in the forced swimming test in rats. *Biomol Ther(Seoul)*. 2013 ; 21 : 79-83.
12. Ahn BY, Gwak JS, Ryu SH, Moon GS, Choi DS, Park SH. Protective effect of water extract of lycii cortex radicis on lipid peroxidation of rat skin

- exposed to ultraviolet B radiation, *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*, 2002 ; 45 : 218-22.
13. Ye Z, Huang Q, Ni HX, Wang D. Cortex lycii radicis extracts improve insulin resistance and lipid metabolism in obese-diabetic rats. *Phytother Res*, 2008 ; 22 : 1665-70.
  14. Kim OK. Antidiabetic and antioxidative effects of corni fructus in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Oil Chemists' Soc*, 2005 ; 22 : 157-67.
  15. Seo YB, Kil GJ, Lee YK, Lee YC. Study on the effects of corni fructus about the anti-allergic action. *Kor J Herbology*, 2002 ; 17 : 1-12.
  16. Kim SH, Kim BK, Lee YC. Effects of corni fructus on ovalbumin-induced airway inflammation and airway hyper-responsiveness in a mouse model of allergic asthma. *J Inflamm(Lond)*, 2012 ; 9 : 9-21.
  17. Jiang ZQ, Li Y, Jiang LH, Gu H, Wang MY. Hepatoprotective effects of extracts from processed corni fructus against D-galactose-induced liver injury in mice. *Zhong Yao Cai*, 2013 ; 36 : 85-9.
  18. Kim OK. Antidiabetic and antioxidative effects of corni fructus in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Oil Chemists' Soc*, 2005 ; 22 : 157-67.
  19. Sung YH, Chang HK, Kim SE, Kim YM, Seo JH, Shin MC, Shin MS, Yi JW, Shin DH, Kim H, Kim CJ. Anti-inflammatory and analgesic effects of the aqueous extract of corni fructus in murine RAW 264.7 macrophage cells. *J Med Food*, 2009 ; 12 : 788-95.
  20. Han HK, Yoon SJ, Kim GH. Effects of compositae plants on plasma glucose and lipid level in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci*, 2009 ; 38 : 674-82.
  21. Han HK, Je HS, Kim GH. Effects of cirsium japonicum powder on plasma glucose and lipid level in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol*, 2010 ; 42 : 343-9.
  22. Park YH, Kwon CJ, Han HJ, Jeong HN, Kim KH, Ahn YS. Anti-diabetic and hypoglycemic effect of eleutherococcus spp. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2010 ; 39 : 1761-8.
  23. Lee SH, Lim SW, Lee YM, Kang CS, Cheong YK, Park CS, Song BJ, Kim DK. Effects of triticum aestivum sprout on blood glucose and lipid levels in the streptozotocin-induced diabetic mice. *Korean J Orient Physiol Pathol*, 2010 ; 24 : 1012-8.
  24. Yoon JA, Son YS. Effects of fruits and stems of opunita ficus-indica on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2009 ; 38 : 146-53.
  25. Won HJ, Lee HS, Kim JT, Hong CO, Koo YC, Lee KW. The anti-diabetic effects of kocat-d1 on streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol*, 201 ; 42 : 204-9.
  26. Bae HS, Nam JS, Jung JK, Oh SY, Park YK. Anti-diabetic effect of wen-pi-tang-hab-wu-ling-san extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Herbology*, 2008 ; 23 : 85-91.
  27. Popov D, Simionescu M. Structural and transport property alterations of the lung capillary endothelium in diabetes. *Ital J Anat Embryol*, 2001 ; 106 : 405-12.