

Original Article

## 창출이 제 2형 당뇨병 흰쥐에 미치는 영향

이대훈, 한재민, 양웅모

경희대학교 한의과대학 융합한의학교실

### The effects of *Atractylodes japonica* Koidz. on type 2 diabetic rats

Dae Hoon Lee, Jae Min Han, Woong Mo Yang

Department of Convergence Korean Medical Science, College of Korean Medicine, Kyung Hee University

**Objectives:** Type 2 diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by insulin resistance and high blood glucose level from progressive insulin secretory defect. The rhizome of *Atractylodes japonica* Koidz. (AJ) has been used for treatment of retention of water in oriental medicine. The aim of this study is to examine the effects of AJ on type 2 diabetes rats.

**Methods:** Type 2 diabetes was induced by 60% high fat diet and low dose streptozotocin. Rats were divided into 4 groups (n = 6); Nor (normal control group), Con (diabetic group treated with vehicle), Met (diabetic group treated with 200 mg/kg metformin) and AJ (diabetic group treated with 100 mg/kg AJ). The body weights and food intakes were measured during the treatment period. After 4 weeks treatment, blood glucose level, HOMA-IR, and protein expressions of IRS-1, p-IRS-1, PPAR- $\gamma$ , and GLUT4 were measured, and histopathological examination of beta cell was performed.

**Results:** Compared with the control group, blood glucose level and HOMA-IR were reduced in rats treated with AJ. Impaired beta cells in pancreas of rats were recovered and phosphorylation of IRS-1 was increased in rats treated with AJ. And also, protein expressions of PPAR- $\gamma$  and GLUT4 were increased by treatment of AJ.

**Conclusions:** The results suggest that *Atractylodes japonica* Koidz. may have anti-diabetic effect on type 2 diabetic rats through regulation of blood glucose level and insulin resistance. Therefore *Atractylodes japonica* Koidz. may have positive effects on patients with type 2 diabetes.

**Key Words** : *Atractylodes japonica* Koidz., type 2 diabetes, insulin resistance, blood glucose, HOMA-IR, PPAR- $\gamma$ .

### 서론

최근 생활방식의 변화로 생긴 서구화된 식습관, 운동량 감소 등으로 인해 비만, 당뇨병 등의 대사성 질환이 늘어가고 있다<sup>1)</sup>. 2000년대 초반 세계적으로 1억 7천만 명 이상이 당뇨병 환자로 진단받았고 이 수치는 2030년 3억 6천만 명 이상이 될 것으로 예측된다<sup>2)</sup>. 질병관리본부와 보건복지부의 조사결과에

따르면 2010년 한국의 성인 10명 중 1명이 당뇨병 환자(유병률 10.1%)이고 성인 10명 중 2명이 당뇨병 전 단계인 공복혈당장애(유병률 19.9%)라고 보고되었다<sup>3)</sup>. 이는 성인 10명 중 3명이 당뇨병 및 잠재적 당뇨병으로 분류된다는 것을 의미한다. 또한 2050년도 우리나라 당뇨병 환자의 수는 약 600만 명일 것으로 추정된다<sup>3)</sup>. 이처럼 당뇨병의 유병률은 나날이 증가하고 있으며 이에 따라 당뇨병 치료에

• Received : 3 December 2014      • Revised : 31 March 2015      • Accepted : 31 March 2015  
• Correspondence to : 양웅모(Woong Mo Yang)  
서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 한의과대학  
Tel : +82-2-961-2209, E-mail : wmyang@khu.ac.kr

대한 관심이 점차 증가하고 있다.

대표적인 대사성 질환 중 하나인 당뇨병은 인슐린 부족이나 조직의 인슐린 민감도가 떨어져서 생기게 되는 고혈당과 이에 수반되는 대사 장애가 특징인 질환으로 제 1형 당뇨병과 제 2형 당뇨병으로 구분된다<sup>4)</sup>. 제 1형 당뇨병의 기전은 췌장의  $\beta$  세포 파괴로 인슐린을 전혀 생성하지 못하게 되는 것이고, 제 2형 당뇨병은 인슐린 저항성으로 인해 간, 근육, 지방 세포 등에서 인슐린 작용이 저하돼 포도당을 효과적으로 연소하지 못해 발생하게 된다<sup>5)</sup>.

당뇨병환자의 대부분(85.9%)은 의학적 치료를 시행하고 있으며, 이들 중 대다수(75.4%)가 경구혈당강하제를 이용한 치료를 받고 있다<sup>3)</sup>. 현재 사용되고 있는 경구혈당강하제의 종류로는 sulfonylurea계 약물, meglitinide계 약물, biguanide계 약물,  $\alpha$ -glucosidase 억제계통 약물, thiazolidinedion계 약물, DPP-4 억제 약물 등이 있다<sup>6)</sup>. 그러나 이런 약들은 저혈당, 체중 증가, 소화기 장애, 부종 등 다양한 부작용이 동반되는 것으로 보고되고 있다<sup>7)</sup>. 따라서 현재 기존 약제의 치료 효과를 유지하면서 부작용이 없는 치료제 연구가 필요한 상황이다. 이에 따라 부작용이 덜하고 개발 가능성이 높은 한약재에 대한 관심이 높아지고 있다.

한의학에서는 당뇨병을 多飮, 多渴, 多尿의 三多 증상이 있는 消渴의 범주로 본다<sup>8)</sup>. <黃帝內經 素問·脈要精微論>에서 消渴은 ‘痺謂濕熱也 熱積於內故變爲消中也 消中之症 善食而瘦’라 하여 消渴의 원인으로 濕熱이 안에 쌓여서 생긴다고 하였다<sup>9)</sup>. 또한 <黃帝內經>에서는 ‘肥滿은 內熱하게 만들고 甘味는 中滿하게 만들기 때문에 그 氣가 위로 넘치게 되어 消渴이 된다.’고 했는데, 이것은 제 2형 당뇨병이 현대생활에서 식습관의 변화에 따른 칼로리의 과다한 섭취로 인해 肥滿한 사람에게 발병률이 높다는 서양의학적 기전과 유사하다<sup>10)</sup>.

蒼朮은 국화과(菊花科: *Compositae*)에 속한 多年生 本草인 삼주(*Atractylodes japonica*)의 根莖으로 봄과 가을에 채취하여 햇볕에 말린 것이다<sup>12)</sup>. 한의학적으로 蒼朮의 性味는 溫 辛苦하며 燥濕健脾, 祛

風散寒, 明目 등의 효능이 있다<sup>13)</sup>. <東醫寶鑑>에서는 蒼朮을 ‘上中下焦의 濕을 제거하고 寬中, 發汗해 주며, 痰飲, 痲痺, 氣塊, 山嵐瘴氣 등을 없애고, 風寒 濕痺를 치료하며, 癰亂을 잡고 水腫과 脹滿을 없애 주는 약재’로 설명한다<sup>14)</sup>. 蒼朮의 대표적인 성분으로 *atractylon*, *sesquiterpenoids*, *diacetylactrylodil* 등이 알려져 있다<sup>15)</sup>. 최근 연구를 통하여 蒼朮의 항산화 효과 및 항염증 효과, 항비만 효과, 위장관 보호 효과 등 다양한 약리학적 효과들을 발견하였다<sup>16)</sup>. 이 밖에도 혈청 중 *cholesterol* 감소 효과, 혈압강하효과 등의 약리적 효과가 보고되었다<sup>17)</sup>.

하지만 蒼朮의 당뇨병 개선 효과에 대한 연구는 아직 보고되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 蒼朮을 투여하여 제 2형 당뇨병이 유발된 흰쥐에 미치는 영향을 알아보았다.

## 실험방법

### 1. 시료 조제

200 g의 蒼朮(*Atractylodes japonica* Koidz.)을 플라스크에 넣어 2000 ml의 30% 에탄올과 함께 24시간 냉침하고 추출액을 여과지로 여과하였다. 걸러진 여과액은 회전식 감압농축기를 통해 농축한 후 동결건조하여 30.16 g (수득율 15.08%)의 추출물을 얻었다. 시험약물은 냉동보관하면서 농도에 맞추어 증류수에 희석하여 사용하였다.

### 2. 동물

실험동물은 웅성 Sprague-Dawley계 5주령 흰쥐 (150-180 g)를 라온바이오(Youngin, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 사육실 온도는  $22 \pm 2$  °C, 습도는  $50 \pm 10\%$ 를 유지하였고, 조명은 12시간 주기로 밤낮이 교대되었다. 물과 사료는 제약없이 섭취하게 하였으며 모든 실험동물은 1주일의 적응기를 거친 후 실험에 사용하였다. 본 실험은 경희대학교 동물실험 윤리 규정을 준수하여 시행하였다(KHUASP (SE)-13-037).

### 3. 실험 모델 유발

제 2형 당뇨 실험 모델 유발은 Chen의 방법을 따라 시행되었다<sup>19)</sup>. 실험동물은 1주일의 적응기가 끝난 후 군당 6마리씩 4군으로 나누었다. 정상군(normal group)으로 설정된 6마리를 제외한 실험동물은 실험 기간동안 60% 고지방식이(fat 60%, carbohydrate 28%, protein 14% 포함)를 섭취하였고, 정상군은 일반식이를 섭취하였다. 제 2형 당뇨 유발을 위해 4주간의 고지방식이 섭취 후 저농도의 streptozotocin (STZ, Sigma Aldrich, S1030, USA)을 투여하였다. 16시간 절식 후 35 mg/kg b.w.의 STZ를 0.1 M citrate buffer (pH 4.5)에 희석하여 복강 주사하였으며 정상군에는 0.1 M citrate buffer (pH 4.5)만 복강 주사하였다. 당뇨 유발을 확인하기 위해 72시간 후 16시간 동안 절식시키고 꼬리에서 혈액을 채취하여 혈당측정검사지(Accu-chek, Roche Diagnostics, Germany)를 이용해 혈당을 측정하였다. 이 때 공복 혈당이 200 mg/dL 이상인 동물을 당뇨가 유발된 것으로 보고 선별하여 실험에 사용하였다.

### 4. 실험군 분류 및 약물 투여

실험군은 6마리씩 정상군, 음성 대조군(control group), 양성 대조군(metformin group), 창출 투여군(AJ group)으로 나누었다. 약물 투여는 STZ를 주사한지 1주일 후부터 투여하기 시작하여 총 4주간 진행되었다. 정상군과 음성 대조군에는 식염수를, 양성 대조군에는 metformin (200 mg/kg b.w.)을, 창출 투여군에는 蒼朮(100 mg/kg b.w.)를 매일 1회 경구 투여하였다. 모든 실험동물의 체중과 식이 섭취량은 주 3회 주기적으로 측정되었다.

### 5. 혈당 측정

실험의 마지막에 모든 실험동물들은 16시간 절식 하였고 심장천자법(cardiac puncture)를 통해 혈액을 수집하였다. 수집된 혈액에서 혈당측정검사지를 이용해 혈당을 측정하였고, 나머지는 14,000 rpm에 30분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 -80 °C에 보관

하면서 혈청분석을 위해 사용되었다.

### 6. 혈청 인슐린 및 HOMA-IR 측정

인슐린은 채취된 혈청을 ultra sensitive rat insulin ELISA kit (Morinaga Institute of Biological Science, Yokohama, Japan)를 사용하여 측정하였다.

HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance)은 인슐린 저항성을 나타내는 지표로 대사증후군의 예후관리에 널리 활용된다<sup>20)</sup>. HOMA-IR은 다음과 같은 공식으로 계산하였다<sup>21)</sup>.

$$\text{HOMA-IR} = [\text{fasting glucose (mmol/L)} \times \text{fasting insulin } (\mu\text{U/mL})] / 22.5$$

### 7. Western blot 분석

인슐린 저항성의 개선 효과를 확인하기 위하여 흰쥐의 간과 대퇴사두근을 채취하여 단백질 발현양을 확인하였다. 각 조직은 protease inhibitor가 포함된 RIPA buffer를 10 mg당 1 mL 넣어 homogenizer를 이용하여 단백질을 추출하였다.

그 다음 각 sample에 대한 단백질은 Bradford 정량법을 이용해 40  $\mu\text{g}$  단백질을 western blot 분석에 사용하였다. 정량한 단백질은 10% SDS-polyacrylamide gel 상에서 전기영동 시킨 후 PVDF membrane (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)에 전기가동시켰다. membrane을 washing한 후 blocking buffer로 blocking 하고 primary antibody(1:1000; Cell signaling, USA)를 정해진 비율로 희석하여 4 °C에서 하룻밤 반응시켰다. 그 다음 membrane을 washing하고 anti-rabbit IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA) 또는 anti-rabbit IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA) secondary antibody를 상온에서 1시간동안 반응시켰다. membrane에 부착된 단백질은 enhanced chemiluminescence (ECL) detection reagent (Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ, USA)을 사용하여 시각화하였다.

### 8. 병리조직학적 검사

흰쥐의 채장을 적출하여 10% formalin 용액에 고정한 다음 자동조직과정 처리기를 이용하여 탈수하였다. 파라핀 포매기를 이용하여 파라핀 블록을 제작하고 이를 조직절편기(microtome)으로 박절하여 5  $\mu$ m 두께의 절편을 제작하였다. 제작된 절편은 다시 xylene과 alcohol을 이용하여 탈파라핀 및 탈수 과정을 거친 다음 hematoxylin & eosin (H&E) 염색하고 함수시킨 후 광학현미경으로 관찰하였다.

### 9. 통계분석

본 실험에서 측정된 모든 실험 결과는 GraphPad PRISM 5 program (ver 2.00, Graphpad software inc., San Diego, USA)를 이용하여 Mean  $\pm$  S.E.M.으로 계산하였다. 각 군 간의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)를 시행하였으며,  $p < 0.05$  수준에서 Tukey's test로 사후 검정하였다.

## 결 과

### 1. 체중 및 식이섭취량 변화

제 2형 당뇨 유발 흰쥐에서 체중 변화를 관찰한 결과, 당뇨가 유발되지 않은 정상군에서는 4주간 지속적으로 체중이 증가한 반면, 당뇨가 유발된 음성 대조군에서는 체중이 지속적으로 감소하였고 2-4주에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 양성대조군은 실험 시작 전보다 체중이 약간 감소하였고 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다. 창출투여군은 초기에 체중이 약간 감소하였다가 다시 증가하여 결과적으로 실험 시작 전보다 체중이 증가하였고, 2주와 4주에서 통계학적 유의한 차이를 나타내었다( $p < 0.05$ ; Fig. 1A).

4주간의 식이섭취량을 측정한 결과, 음성 대조군에서 정상군에 비해 통계적으로 유의한 차이로 감소

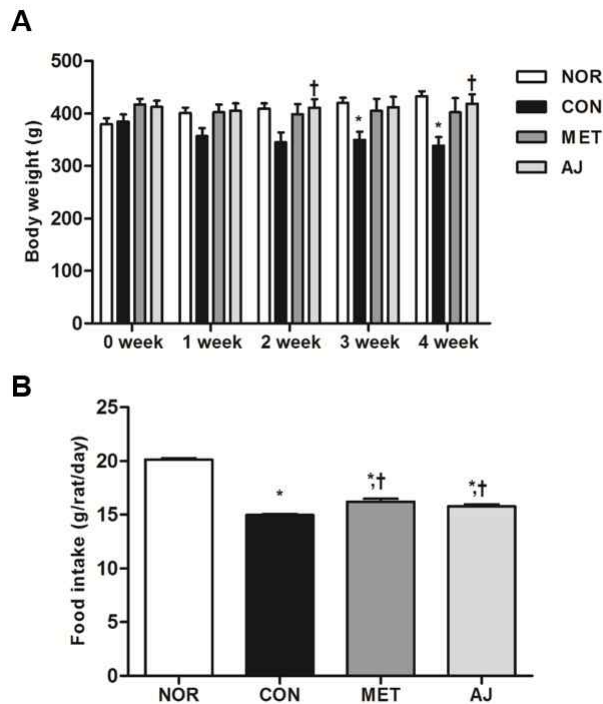


Fig. 1. Time change on body weight, food intake in diabetic rats. Each value is expressed as mean  $\pm$  S.E.M. (n = 6),  $p < 0.05$  when compared to the normal control, b,  $p < 0.05$  when compared to the negative control.

하는 것으로 관찰되었다( $p < 0.05$ ). 그리고 양성 대조군과 창출 투여군에서는 음성 대조군에 대비하여 식이섭취량이 증가하는 것을 관찰할 수 있었고, 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다( $p < 0.05$ ; Fig. 1B).

## 2. 혈당 변화

4주간의 실험이 끝난 후 제 2형 당뇨 유발 흰쥐의 공복혈당을 측정하였다. 혈당 측정 결과, 음성 대조군의 혈당은  $334.8 \pm 36.3$  mg/dL로 정상군의  $72.5 \pm 5$  mg/dL에 비해 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 그리고 창출 투여군에서는  $213.5 \pm 35.6$  mg/dL로 음성 대조군보다 통계적으로 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ; Fig. 2). 양성 대조군에서는  $279.7 \pm 37.6$  mg/dL로 창출 대조군에 비해 적은 혈당 감소를 보였으나 역시 통계적으로 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ ).

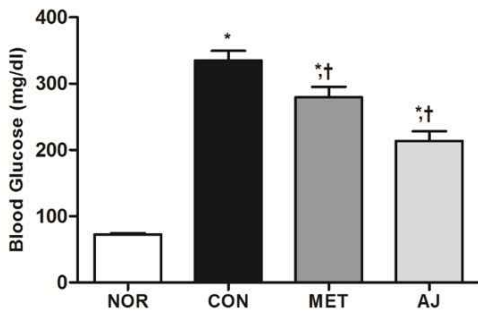


Fig. 2. Blood glucose level in diabetic rats. Each value is expressed as mean  $\pm$  S.E.M. (n = 6). a,  $p < 0.05$  when compared to the normal control. b,  $p < 0.05$  when compared to the negative control.

## 3. 인슐린 저항성 지표(HOMA-IR) 변화

혈당과 인슐린을 근거하여 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR 확인하기 위하여 일원분산배치한 결과 통계적으로 유의한 차이가 있었다. Tukey의 사후검정을 실시한 결과, 음성 대조군에서 HOMA-IR이 정상군에 비해 55.4% 증가하였고, 양성 대조군과 창출 투여군에서는 음성대조군에 비해 각각 25.2%, 40.2% 감소한 것을 관찰하였다(Fig. 3). 특히 창출

투여군에서는 양성 대조군에 비해 25.2% 감소한 것으로 나타났다.

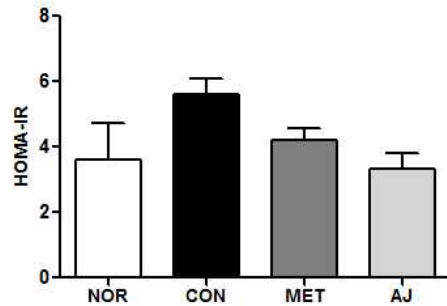


Fig. 3. Homeostatic model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) in diabetic rats. The results were calculated with following formula: fasting blood glucose (mmol/L)  $\times$  insulin ( $\mu$  U/mL) / 22.5. Each value is expressed as mean  $\pm$  S.E.M. (n = 6).

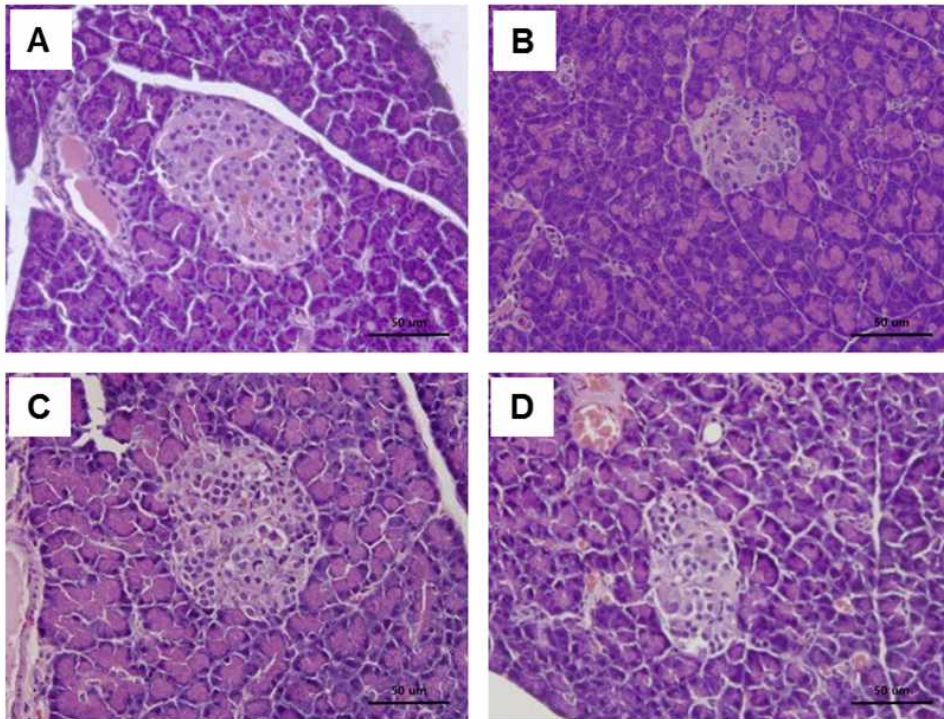
## 4. 췌장 $\beta$ 세포의 병리조직학적 변화

H&E 염색을 통하여 제 2형 당뇨 유발 흰쥐에서의 췌장의  $\beta$  세포 변화와 약물 투여로 인한 개선 효과를 관찰하였다. 정상군의 췌장에서는 비교적 원형의  $\beta$  세포가 관찰되었다. 하지만 음성 대조군의 췌장에서는  $\beta$  세포가 손상되어 크기가 작아지고 모양이 훼손된 것을 확인하였다. 양성 대조군과 창출 투여군에서는  $\beta$  세포가 회복되어 원형 모양을 유지하고 크기도 정상군과 비슷하게 증가하였음이 관찰되었다(Fig. 4).

## 5. 인슐린 저항성의 변화

인슐린 저항성의 변화를 관찰하기 위하여 간에서 IRS-1, p-IRS-1의 단백질 발현량을 관찰하였다. 제 2형 당뇨 유발로 인하여 음성 대조군이 정상군에 비해 IRS-1의 인산화가 감소하였다. 양성 대조군과 창출 투여군에서는 음성 대조군보다 통계적으로 유의한 차이를 보이며 발현되었다( $p < 0.05$ ; Fig. 5).

PPAR- $\gamma$ , GLUT4의 단백질 발현량을 관찰하기 위하여 대퇴사두근을 채취하여 분석하였다. PPAR- $\gamma$ 은 정상군에 비해 음성 대조군에서 약간 감소하는



**Fig. 4.** Histological examination of  $\beta$ -islet in rat pancreas. (A) normal rats, (B) diabetic rats treated with vehicle, (C) diabetic rats treated with metformin, (D) diabetic rats treated with AJ. The magnification was  $\times 400$ .

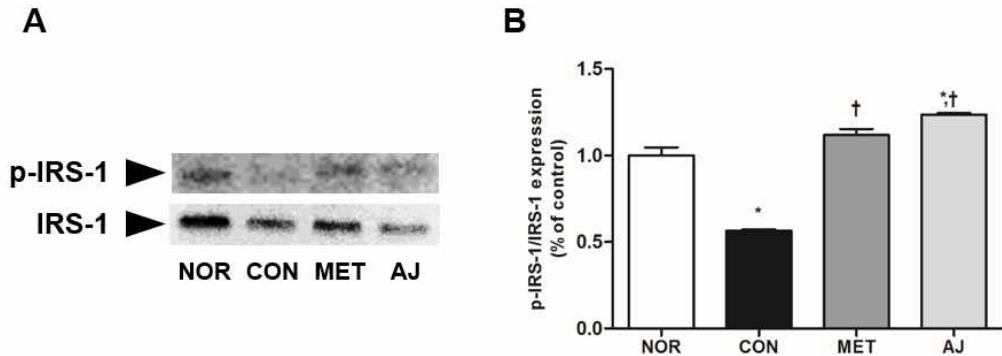
경향을 보였고, 양성 대조군에서는 약간 증가하였다. 창출 투여군은 음성 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ; Fig. 6). GLUT4는 제 2형 당뇨 유발군에서 모두 감소하였다. 음성 대조군은 정상군에 비해 통계적으로 유의한 차이로 감소하였고( $p < 0.05$ ), 창출 투여군은 음성 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다(Fig. 6).

### 고 찰

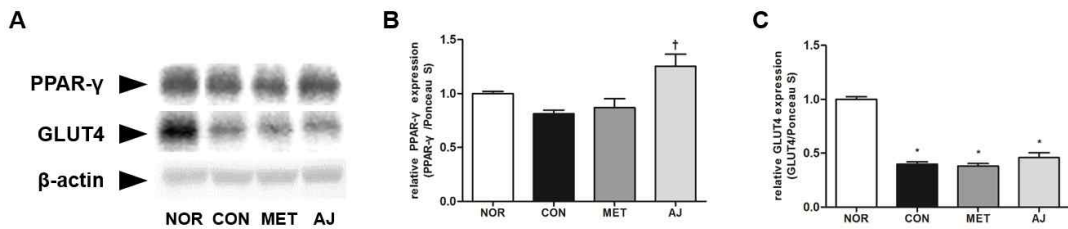
본 실험은 흰쥐에게 4주간 고지방 식이를 섭취시키고 저농도 STZ를 투여하여 제 2형 당뇨병을 유발시킨 이후 진행되었다. 본 실험에서 사용된 STZ는 췌장  $\beta$  세포만 선택적으로 파괴하여 인슐린 분비저하를 유도해 고혈당 상태를 유발하는 약물이다<sup>22)</sup>. 또한 본 실험에서 양성대조군으로 사용된 metformin

은 biguanide계 약물 중 대표적으로 사용되는 약으로 인슐린 저항성을 낮추는 용도로 사용된다. 그러나 식욕감퇴, 오심, 복부팽만, 설사 등의 소화기 장애 및 드물게 젖산산증 등의 부작용이 있으며 이를 지속적으로 복용하거나 복용량을 점차 늘렸을 때 부작용의 발생 빈도 역시 증가한다는 보고가 있다<sup>7)</sup>. 당뇨병의 평가에 있어서 중요한 것은 혈당, 인슐린 저항성, 췌장  $\beta$  세포의 상태 등이다<sup>23)</sup>. 따라서 본 연구에서는 제 2형 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 체중 및 식이섭취량 변화, 혈당 변화, 인슐린 저항성 지표(HOMA-IR) 변화, 췌장  $\beta$  세포의 병리조직학적 변화, 인슐린 저항성 변화를 통해 제 2형 당뇨병에 관한 蒼朮의 효과를 평가하였다.

제 2형 당뇨병이 유발된 흰쥐는 많은 에너지 섭취에도 불구하고, 인슐린 저항성과 인슐린 결핍으로 발생하게 된 지방과 단백질의 과다한 이화작용으로



**Fig. 5.** Effects of AJ on IRS-1 and p-IRS-1 in the liver of diabetic rats. The expression of IRS-1 and phosphorylated IRS-1 were determined by western blot analysis. a,  $p < 0.05$  when compared to the normal control. b,  $p < 0.05$  when compared to the negative control.



**Fig. 6.** Effects of AJ on GLUT4 and PPAR- $\gamma$  in the skeletal muscle of diabetic rats. The expression of PPAR- $\gamma$  and GLUT4 were determined by western blot analysis. a,  $p < 0.05$  when compared to the normal control. b,  $p < 0.05$  when compared to the negative control.

계속해서 근육 손실과 단백질 조직 감소가 나타나게 되고, 이로 인해 오히려 체중이 감소할 수 있다<sup>24</sup>. 본 실험에서도 음성 대조군의 체중이 정상군에 비해 감소한 것을 관찰할 수 있었다. 본 실험에서 체중 변화를 관찰한 결과 蒼朮 투여군은 음성 대조군에 비해 유의한 증가 효과를 보였다. 식이섭취량은 음성 대조군이 정상 대조군에 비해 감소되었다. 양성 대조군 및 蒼朮 투여군은 음성 대조군에 비해 식이섭취량이 증가된 것을 관찰할 수 있었다. 이는 흰쥐의 전반적 상태가 개선되면서 식이섭취량이 증가하였고 이에 따라 체중이 증가한 것으로 보인다. 따라서 蒼朮이 제 2형 당뇨병이 유발된 흰쥐의 체중 및 식이섭취량 조절에 관여한다고 사료된다. 또한 제 2형 당뇨병의 회복과 체중증가가 서로 연관되어 있을

것이며 제 2형 당뇨병의 회복 효과 및 체중 증가에 관해서 추가적 연구가 이루어질 필요가 있다.

당뇨병 치료에서 가장 필요한 것은 혈당, 지질, 혈압 등의 관리이며 이를 정상 수치로 유지해주는 것이 당뇨병 치료의 목표이다<sup>25</sup>. 혈당, 지질, 혈압 등이 제대로 관리되지 않으면 여러 가지 합병증을 동반할 수 있는데 특히 혈당 조절이 제대로 되지 않는다면 망막변증, 신증, 신경변증, 족상경화증, 뇌혈관질환, 관상동맥질환 등의 합병증 발생 가능성이 높아지게 된다<sup>26</sup>. 따라서 당뇨병 관리 및 치료에 있어 혈당 조절은 매우 중요한 역할을 한다<sup>27</sup>. 본 실험에서는 제 2형 당뇨병을 유발함으로써 흰쥐의 혈당이 상승한 것을 관찰할 수 있었다. 蒼朮 투여군은 혈당 변화에 유의한 감소 효과를 보였다. 蒼朮의 혈

당량 강하 작용은 당뇨병 치료에서 가장 중요한 증상을 완화시킨 것이라 볼 수 있으며 따라서 蒼朮은 당뇨병의 치료 약제로 응용할 수 있을 것으로 사료된다.

HOMA-IR은 인슐린 수용체에 대한 항상성을 평가하는 방법으로 현재 인슐린 민감도에 관한 추정치로 널리 쓰이고 있다<sup>20)</sup>. HOMA-IR 수치는 공복 인슐린( $\mu\text{U/ml}$ )  $\times$  공복혈당( $\text{mmol/l}$ ) / 22.5 로 계산한다<sup>21)</sup>. 최 등의 연구<sup>28)</sup>에서 HOMA 수치가 당뇨병 위험도를 평가해 줄 수 있는 중요한 지표임을 보고하였다. 본 실험에서 蒼朮 투여군의 HOMA-IR 수치는 음성 대조군에 비해 감소된 것을 볼 수 있었다. HOMA-IR 수치 감소는 인슐린 저항성이 감소했다는 것을 의미하며 이는 蒼朮의 투여가 인슐린 저항성을 감소시켜 이에 따른 항당뇨효과를 가지고 있다고 사료된다.

제 2형 당뇨병에서  $\beta$  세포내 소포체가 과도하게 활성화되면  $\beta$  세포가 필요 이상의 인슐린을 생산하게 되고, 이 과정에서 소포체 및 미토콘드리아에 산화스트레스가 발생하게 되어 결국  $\beta$  세포의 사멸을 유도하게 된다<sup>29)</sup>.  $\beta$  세포 사멸의 증가와  $\beta$  세포분화의 실패로 인해  $\beta$  세포량 감소가 나타나게 되고  $\beta$  세포의 기능 저하 및  $\beta$  세포량 감소로 인해 인슐린 결핍이 생기게 된다<sup>30)</sup>. 따라서 제 2형 당뇨병에서  $\beta$  세포의 손실을 막고 유지하는 것은 중요하다<sup>31)</sup>. 본 실험에서 蒼朮 투여군의  $\beta$  세포 형태는 음성대조군에 비해 비교적 원형을 유지하고 있었다. 이는 음성 대조군에 비해 蒼朮 투여군의  $\beta$  세포가 손상이 덜 되었거나 손상된 이후 어느 정도 회복이 되었다는 것을 알 수 있으며 이로 미루어 보았을 때 蒼朮은  $\beta$  세포의 손상을 막고 회복시키는 역할을 할 수 있을 것이라 생각된다.

IRS-1은 인슐린 신호전달계에서 핵심적인 역할을 수행하는 분자이고, 인슐린 수용체에서 인슐린의 자극을 받아 PI3K를 활성화시키는 역할을 해주고 있다<sup>32)</sup>. IRS-1에 의해 활성화된 PI3K는 다시 PKB를 활성화시켜 GLUT4 운반체를 세포막 표면으로 이동시켜 포도당 흡수를 촉진시킨다<sup>33)</sup>. 따라서 IRS-1과

PI3K의 활성화는 인슐린 저항성 개선에 매우 중요한 역할을 하고 있다<sup>34)</sup>. 본 실험에서는 인슐린 민감도를 확인하기 위하여 IRS-1과 p-IRS-1의 비율을 관찰하였다. 蒼朮 투여군의 비율은 음성 대조군에 비해 유의한 증가 효과를 나타내었다. 이것은 蒼朮이 IRS-1의 인산화를 통하여 인슐린 저항성을 개선시켰다는 것을 확인할 수 있으며 나아가 蒼朮이 인슐린 저항성을 조절함으로써 당뇨병 치료의 약제로 응용할 수 있을 것이라 사료된다.

PPAR- $\gamma$ 는 지방세포 분화, 인슐린 저항성, 염증 등의 조절에 중요한 역할을 하는 핵전사인자이다<sup>35)</sup>. GLUT4는 인슐린에 반응하여 세포 내에서 포도당을 내보내는 인자로 세포 내 포도당 흡수율을 낮춰주는 데 중요한 인자이다<sup>36)</sup>. Cline 등의 연구<sup>37)</sup>에서 포도당 인산화에 비해 인슐린 자극으로 생기는 포도당 흡수율의 감소가 제 2형 당뇨병 환자의 골격근 내 포도당 사용에 제어 반응이 될 수 있다는 사실을 확인하였다. 따라서 GLUT4의 상승은 포도당 흡수율을 감소시키는 효과가 있으며 이는 당뇨병 치료 기전과 밀접한 연관이 있다<sup>38)</sup>. 이에 본 실험에서는 PPAR- $\gamma$  및 GLUT4의 발현량을 관찰하였다. 蒼朮 투여군의 PPAR- $\gamma$  발현량은 음성 대조군에 비해 유의하게 증가 하였다. GLUT4 역시 蒼朮 투여군이 음성 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다. 따라서 蒼朮은 PPAR- $\gamma$ 의 발현량을 증가시켜 이를 통해 인슐린 저항성을 낮추었을 것이라 사료된다.

이상의 결과를 통해 蒼朮의 혈당량 감소, HOMA-IR 감소,  $\beta$  세포 손상 방지 및 회복, 인슐린 저항성 감소 등을 통한 제 2형 당뇨병 개선 효과를 관찰하였다. 또한 IRS-1의 인산화를 증가시켰으며 PPAR- $\gamma$ 의 발현 역시 증가시켰다. 결론적으로 蒼朮은 인슐린 저항성, 혈당량 등을 개선하는 천연물 항당뇨제로 응용할 가치가 있다고 평가된다. 따라서 용량별 효능 평가 및 투여 기간에 따른 효능에 관하여 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 결론



蒼朮이 제 2형 당뇨병 환위의 체중 및 식이섭취량 변화, 혈당 변화, 인슐린 저항성 지표(HOMA-IR) 변화, 췌장 β 세포의 병리조직학적 변화, IRS-1와 p-IRS-1, PPAR-γ, GLUT4를 통한 인슐린 저항성 변화에 미치는 효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 蒼朮은 음성대조군에 비하여 혈당량을 유의하게 감소시켰다.
  2. 蒼朮은 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR의 감소를 나타내었다.
  3. 蒼朮은 췌장 β 세포의 손상을 개선시켰다.
  4. 蒼朮은 인슐린 저항성을 조절해주는 인자인 PPAR-γ의 발현을 증가시켰다.
  5. 蒼朮은 인슐린 신호전달계에서 핵심적 역할을 수행하는 분자인 IRS-1의 인산화를 증가시켰다.
- 따라서 蒼朮은 인슐린 저항성, 혈당량 등을 개선하는 효능을 나타내었으며 천연물 항 당뇨제로 응용할 수 있을 것이라 사료된다.

**참고문헌**

1. Mccarthy MI. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *The New England Journal of Medicine*. 2010;363(24):2339-2350.
2. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444(7121):840-846.
3. Korean diabetes association. Korea centers for disease control and prevention. Diabetes fact sheet in korea 2012.
4. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. 1998;15(7):539-553.

5. American diabetes association. Standards of medical care in diabetes-2014. *Diabetes Care*. 2014;37(1):S14-S80.
6. Cheng AYY, Fantus IG. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canadian Medical Association journal*. 2005;172(2):213-226.
7. Yale JF. Oral antihyperglycemic agents and renal disease: New agents, new concepts. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2005;16:S7-S10.
8. Doo HK. *Internal Medicine of Kidney System*. Seongbosa. 2003:1131.
9. Kang SB, Kim GC. A pathological approach about symptoms of So-gal. *The Journal of East-West Medicines*. 1998;23(4):21-40.
10. Kang SB. The comparative study between the transformations of sogal and the complications of diabetes mellitus. *The Journal of Korean Oriental Medical Society*. 1998;19(2):137-152.
11. Editing commission of herbal medicine. *Herbal medicine*. Youngrimsa. 2007:331-332.
12. Ahn DK. *Illustrated guide to korean herbal medicine*. Kyohaksa. 2008:384.
13. Heo J. *Donguibogam*. Bubinmunhwasa. 2007:1952.
14. Choi KH, Jeong SI, Lee JH, Hwang BS, Kim SJ, Lee S, *et al*. Pharmacological mechanism responsible for the Atractylodes japonica-induced distal colonic contraction in rats. *Phytomedicine*. 2011;18:408-413.
15. Han YK, Jung HW, Park YK. The roots of Atractylodes japonica Koidzumi promote adipogenic differentiation via activation of the insulin signaling pathway in 3T3-L1 cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012;12:154
16. Han HK, Yoon SJ, Kim GH. Effects of

- compositae plants on plasma glucose and lipid level in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Korean Food Science and Nutrition*. 2009;38(6):674-682.
17. Chen F, Xiong H, Wang J, Ding X, Shu G, Mei Z. Antidiabetic effect of total flavonoids from *Sanguis draxonis* in type 2 diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2013;149(3):729-736.
  18. Vogeser M, König D, Frey I, Predel HG, Parhofer KG, Berg A. Fasting serum insulin and the homeostasis model of insulin resistance (HOMA-IR) in the monitoring of lifestyle interventions in obese persons. *Clinical Biochemistry*. 2007;40(13-14):964-968.
  19. Catalano PM, Presley L, Minium J, Mouzon SHD. Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero. *Diabetes Care*. 2009;32(40):1076-1080.
  20. Han YK, Park YK. Effect of *Atractylodis Rhizoma Alba* water extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Korean Herbology*. 2011;26(4):23-30.
  21. Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *The Lancet*. 2011;378(9):169-181.
  22. Adefegha SA, Oboh G, Adefegha OM, Boligon AA, Athayde ML. Antihyperglycemic, hypolipidemic, hepatoprotective and antioxidative effects of dietary clove (*Syzygium aromaticum*) bud powder in a high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes rat model. *Journal of the science of food and agriculture*. 2014;94(13):2726-2737.
  23. Colberg SR, Albright AL, Blissmer BJ, Braun B, Chasan-Taber L, Fernhall B, *et al.* Exercise and Type 2 Diabetes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2010;42(12):2282-2303.
  24. Hong SM, Park JH, Lim YH, Park YS, Kim DS, Choi WH, *et al.* The relationship between diabetic retinopathy and macrovascular complication in patients with type 2 diabetes. *The Korean Journal of Medicine*. 2011;81(3):351-358.
  25. Chae HJ, Lee IS, Moon HY. Effects of *Schizandra Cchinensis* fruit extract on the hyperglycemia and hyperlipemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*. 2011;26(2):126-130.
  26. Choi ES, Rhee EJ, Kim JH, Won JC, Park CY, Lee WY, *et al.* Insulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment and future risk of diabetes mellitus in Korean men. *Diabetes and Metabolism Journal*. 2008;32(6):498-505.
  27. Han JS, Back SH, Hur JU, Lin YH, Gildersleeve R, Shan J, *et al.* ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nature cell biology*. 2013; 15(5):481-490.
  28. Dor Y, Glaser B. Beta-cell differentiation and type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*. 2013;368(6):572-573.
  29. Imamura F, Mukamal KJ, Meigs JB, Luchsinger JA, Ix JH, Siscovick DS, *et al.* Risk factors for type 2 diabetes mellitus preceded by beta-cell dysfunction, insulin resistance, or both in older adults. *American Journal of Epidemiology*. 2013;177(12):1418-1429.
  30. Ryu HS, Park SY, Ma D, Zhang J, Lee W. The Induction of MicroRNA Targeting IRS-1 Is Involved in the Development of Insulin Resistance under Conditions of Mitochondrial Dysfunction in Hepatocytes. *PloS one*. 2011; 6(3):e17343.
  31. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the

- regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799-806.
32. Hemi R, Yochananov Y, Barhod E, Kasher MM, Karasik A, Tirosh A, *et al.* p38 mitogen-activated protein kinase-dependent transactivation of ErbB receptor family: a novel common mechanism for stress-induced IRS-1 serine phosphorylation and insulin resistance. *Diabetes*. 2011;60(4):1134-1145.
  33. Ohshima K, Mogi M, Jing F, Iwanami J, Tsukuda K, Min LJ, *et al.* Direct angiotensin II type 2 receptor stimulation ameliorates insulin resistance in type 2 diabetes mice with ppar $\gamma$  activation. *PloS one*. 2012;7(11):e48387.
  34. Olson AL, Pessin JE. Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family. *Annual review of nutrition*. 1996;16:235-256.
  35. Cline GW, Petersen KF, Krssak M, Shen J, Hundal RS, Trajanoski Z, *et al.* Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*. 1999;341(4):240-246.
  36. Kainulainen H, Breiner M, Schurmann A, Marttinen A, Virjo A, Joost HG. In vivo glucose uptake and glucose transporter proteins GLUT1 and GLUT4 in heart and various types of skeletal muscle from streptozotocin-diabetic rats. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1994; 1225(3):275-282.