

오미자 부탄올 분획물이 고지혈증이 유도된 생쥐의 지질대사 및 간조직 유전자 발현에 미치는 영향

권태우, 김영균, 김경민
동의대학교 부속한방병원 한방내과학교실

Schisandra Fructus Butanol Fraction Reduces Serum Total Cholesterol and Triglyceride Levels in Hyperlipidemic Mice

Tae-woo Kweon, Young-kyun Kim, Kyoung-min Kim
Dept. of Oriental Internal Medicine, College of Korean Medicine, Dong-Eui University

ABSTRACT

The berries of *Schisandra chinensis* (*Schisandra fructus*) are given the name Omiza in Korean (五味子), which translates as "five flavor fruit" because they possess all five basic flavors in Korean traditional herbal medicine: salty, sweet, sour, pungent (spicy), and bitter. It is used as a remedy for many ailments: to resist infections, increase skin health, and cure insomnia, coughing, and thirst. This study was designed to investigate the effects of *Schisandra fructus* butanol fraction (SFB) on serum lipid levels in hyperlipidemic mice. In this experiment, effects on total cholesterol, HDL-cholesterol, and triglyceride in serum were measured. In our results, SFB did not affect weight gain in hyperlipidemic mice. Oral administration of SFB lowered levels of total cholesterol and triglyceride, which were elevated by induction of hyperlipidemia. Finally, administration of SFB regulated changes in gene expression which were related to cell growth and differentiation.

Key words: *Schisandra Fructus*, butanol fraction, hyperlipidemia

1. 서론

고지혈증은 최근에는 이상지혈증(dyslipidemia)이라는 용어로 많이 불리어지고 있으며, 여러 원인에 의해 발생될 수 있으나 고콜레스테롤혈증, 고중성지혈증 및 저 HDL 콜레스테롤혈증이라는 공통적인 증상을 가지는데, 이들을 구성하는 지질 단백질이 심혈관 질환을 일으키는 주요한 요인들로 알

려져 있다¹.

고지혈증, 고혈압 등과 같은 대사성 질환 및 심혈관계 질환은 최근 세계적으로 널리 만연되고 있는 질환군으로 생활환경의 변화 등으로 인한 식습관의 변화, 스트레스 등으로 인해 주로 발생하며, 이러한 질환의 유병률은 점차 증가하는 경향을 보이고 있다^{2,3}.

최근 식습관의 변화 및 영양 과잉 등으로 인해 고지혈증 등과 같은 인체 내 대사 이상이 증가하고 있으며 이로 인해 뇌졸중, 중양 등과 같은 2차적인 발병이 뒤따를 수 있으며 이는 사회적으로는 의료비의 증가, 개인적으로는 삶의 질의 저하 등이 수반되므로 향후 적극적인 치료 방법의 개발이 필

· 투고일: 2018.12.08, 심사일: 2018.12.29, 게재확정일: 2018.12.29
· 교신저자: 김경민 부산시 부산진구 양정로 62
동의대학교부속한방병원
TEL: 051-850-8622 FAX: 051-867-5162
E-mail: kusko@naver.com

요하며⁴⁵ 한의계에서도 이러한 질환에 유효한 약물의 연구가 필요할 것으로 생각된다.

고지혈증에 대한 서의학적인 치료를 살펴보면 국내의 2015년 이상지질혈증 치료지침에 따르면, LDL-콜레스테롤, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 중성지방에 대한 수치와 심혈관 질환의 유무에 따라 stain계로 알려진 HMG CoA 환원효소 억제제를 일차 권고하고 있으며, non-statin 중에서는 fibrate, niacin, ezetimibe, omega-3 fatty acid의 사용을 환자의 특성에 따라 각 제제들을 일차적으로 혹은 stain과 함께 병용투여 하도록 제안하였다⁶. 하지만, 최근의 관찰연구에 의하면 다용되고 있는 statin의 경우, 당뇨병 유병률을 증가시키고, 당뇨병 위험군 환자에 대한 statin투여는 유의한 위험인자라고 보고되고 있어 약물의 사용에 제한점이 있다고 볼 수 있다⁷.

한의학에는 고지혈증은 胸悶, 胸痛, 心悸, 頭暈 등 수반되는 증상의 유사성에 근거하여 痰證, 胸痺, 眞心痛 등의 범주에서 취급되고 있다⁸.

최근 대파⁹, 현초¹⁰, 산사¹¹, 인진¹², 조각¹³ 등의 약물이 고지혈증에 유효한 것으로 보고되었으나 대부분 조 추출물의 형태로 적용되었을 때의 결과를 관찰한 연구가 주류를 이루고 있다.

본 연구에서 재료로 사용된 오미자의 기원 식물로는 목련과(木蘭科, Magnoliaceae)에 속한 오미자(北五味子) *Schisandrae chinensis*(Turcz.) Baill.이며, 이들 식물의 성숙한 과실을 의약품으로 사용하고 있다¹⁴. 오미자는 의약품뿐만 아니라 식품으로도 다양하게 활용되는 약용 자원으로, 매우 낮은 독성을 가지고 있어 LD₅₀ 값이 5.1 g/kg으로 보고되어 있으며¹⁵, 이러한 안전성으로 인해 앞으로 활성 연구를 통해 다양한 분야에서 약물 개발 가능성이 높을 것으로 사료된다.

오미자에 관한 기존 연구들은 다양한 편이며, 고지혈증에 대한 본 연구와 직접적인 관련이 있는 연구로는 항산화 및 혈당 강하 작용 등이 있었고^{16,17}, 약침 제제의 형태로 활용하였을 경우에도 고지혈

증을 억제한다는 연구 결과도 있었다¹⁸. 이 외에도 다양한 생리 활성을 보고한 연구도 있었는데¹⁹, 이러한 연구들은 오미자가 고지혈증에 효과적으로 사용될 수 있다는 근거에 해당되기는 하나 조 추출물의 형태에서 적용된 연구로 물 추출방식을 사용하여 생리활성물질의 수율이 비교적 높지 않고 그 활성 또한 약하다는 단점이 있다²⁰. 이 때문에 다양한 추출방식을 통해 강한 활성물질을 얻고자 하는 노력이 있었으며, 오미자의 경우는 김 등²¹과 신 등²²에 의해 hexane, chloroform 분획물에 대한 연구가 있었다. 이에 저자는 예비 연구를 통해 고지혈증 억제 효과가 비교적 우수하게 나타난 오미자의 부탄올 분획을 재료로 지질 대사에 미치는 영향을 살펴보았다. 혈액 내의 total cholesterol 등과 같은 지질 대사에 관여된 생화학적 지표, 간 조직 내에서의 유전자 발현의 변화 등을 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험동물에 고지혈증을 유발하기 위하여, 6주령 체중 20-25 g의 수컷 C57B6 종(Samtako Inc., 한국)을 사용하였으며, KGLP의 비임상시험관리기준에 부합하도록 실험동물은 항온 및 항습 장치가 부착된 사육장에서 고품사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경(실내온도 24±2 °C, 습도 55±5%, 12시간 dark/light)에 1주일 이상 적응시킨 후 실험을 진행하였다.

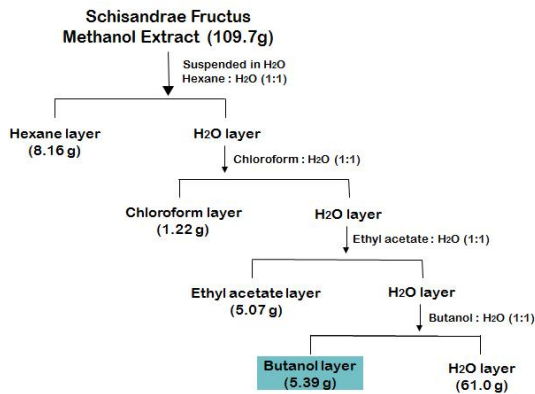
2) 약재

본 연구에 사용된 약재 오미자(*Schisandrae Fructus*)는 화림 제약(부산, 한국)에서 구입한 후 정선하여 사용하였으며, 관능검사를 통해 오미자(북오미자, *Schisandrae chinensis*)에서 기원한 약재인 것을 확인하였다.

2. 방법

1) 오미자 부탄올 분획물의 획득

구입된 약재 오미자 500 g을 분쇄기로 잘게 부순 다음 실온에서 5일 동안 메탄올에 담가 여과액을 얻는 과정을 2회 반복한 후 동결 건조시켜 109.7 g의 건조 추출물을 얻었으며 수율은 약 21.94%였다. 위의 메탄올 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 hexane, chloroform, ethyl acetate, 1-butanol, h₂O의 순서로 극성에 따라 순차적으로 용매 분획을 얻어 실험에 사용하였다(Scheme 1). 본 연구에서는 부탄올 분획물만을 사용하였으며, 이러한 분획 획득 과정을 거쳐 얻은 오미자 부탄올 분획의 최종 추출물(schisandrae fructus butanol fraction)은 5.39 g으로 건조 생약 상태의 오미자 500 g에 대한 수율은 1.08%에 해당하였다.



Scheme 1. Purification procedure for the fractions isolated from Schisandrae Fructus.

Hexane, chloroform, ethyl acetate, 1-butanol and water were used for solvent.

2) 고지혈증 유발 및 실험군 분류

고지혈증 유발을 위하여 4주간 30마리에 고지방 식이를 공급하였으며, 8마리의 정상 식이군(normal group 이하 NOR군)에는 일반 사료를 공급하였다. 실험 5주째에서의 체중을 기준으로 대조군(control group 이하 CTL군) 및 실험군(schisandrae fructus butanol fraction group 이하 SFB군)을 각각 8마리씩 선별하여 실험에 사용하였다.

실험 5주 째 부터 2주간동안 정상군은 계속 일반 식이를 공급하면서, 1차 증류수를 1일 1회 구강을 통해 투여하였고, CTL군은 고지방 식이를 사료로 공급하면서 1차 증류수를 1일 1회 경구 투여하였다. SFB군은 고지방 식이를 계속 공급하면서 SFB를 30 mg/kg body weight/day 농도로 경구 투여하였다. 실험 식이는 두얼바이오텍(대전, 한국)에 주문 제작하여 사용하였으며, 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Compositions of High Fat Diet

Ingredients	gm	kcal
Casein	200	800
Sucrose	68.8	275.2
Cellulose	50	0
Soybean Oil	25	225
Lard ^{a)}	245	2,205
Mineral mix	10	0
Vitamin mix	10	40
L-Cystine	3	12
Choline Bitartrate	2	0
Potassium Citrate	16.5	0
DiCalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	2	0
Maltodextrin	125	500
Total	773.85	4,057

a) Typical analysis of cholesterol in lard = 0.95 mg/gram

3) 체중, 식이량 및 음수량 측정

4주간의 고지혈증 유발 기간이 끝나고, 시료의 투여가 시작되는 날 전자저울을 이용하여 기준 체중을 측정하였으며, 이후 7일 간격으로 체중을 측정하였다. 2주간의 시료 투여기간 동안 주 1회 식이량(g) 및 음수량(ml)을 측정하였다. 측정 단위는 24시간으로 전일 오후 4시에 고형 사료와 음용수를 공급한 후, 다음 날 오후 4시에 남은 사료와 음용수의 양을 측정하여 그 차이를 하루 동안의 식이량 및 음수량으로 계산하였다.

4) 혈중 cholesterol 및 triglyceride 함량 측정

2주간의 약물 투여가 끝난 후, 생쥐의 복부 대동

맥에서 혈액을 채취하였다. 얻어진 혈액을 5,000×g 로 20분간 원심 분리하여 상청액을 구하여 혈중 cholesterol 및 triglyceride 함량을 측정하였다. 혈청 중 total cholesterol, HDL-cholesterol 및 triglyceride 은 각각의 측정용 키트(Fujifilm Corp., JAPAN)을 사용하였다.

5) microarray 실험

(1) RNA 분리, microarray 실험 및 데이터 분석
 각 실험동물로부터 간 조직을 적출하여 곧바로 액체 질소에 담겨 얼린 뒤 -70 °C에서 보관하였으며, 이로부터 얻은 RNA를 pooling한 후 약 45,000 올리고 프로브가 결합된 마이크로어레이(Agilent Technologies Inc., USA)에 반응시켰으며, 3DNA array detection system(Genisphere LCC, USA)을 이용하여 형광염색을 하였다. 마이크로어레이의 이미지 파일은 ScanArray scanner(Perkin-Elmer Inc., USA)을 이용하여 측정하였다. 마이크로어레이 이미지 파일은 IMAGE 4.0(Bio-discovery Corp., USA) 프로그램을 이용하여 수치화 하였으며, 발현의 증가 또는 감소의 기준은 정상 실험군에 비해 2배 또는 0.5 배의 변화를 보인 유전자만을 대상으로 결정하였다.

(2) Pathway 분석

Pathway 데이터베이스는 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)에서 제공하는 자료를 활용하였다. 개별 pathway의 통계적 유의성은 다중 비교 테스트를 이용하여 보정되었다.

3. 통계 처리

실험 성적은 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, 통계적 분석은 통계 패키지인 SPSS 12.0 ver. for windows를 이용하였다. 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 Kruskal-Wallis 분석을 통해 확인한 후 Dunnet의 분석방법을 사용해 사후 검정하였다. 유전자 발현과 관련된 실험성적은 Student t-test를 시행하여 비교하였다. p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 성적

1. 체중 변화에 미치는 영향

4주간의 고지방 식이를 통한 고지혈증 유발 기간이 끝난 후, 2주간 시료를 투여하면서 체중의 변화를 관찰한 결과, CTL군에서 경미한 체중 증가의 경향이 관찰되기는 하였으나 각 실험군 간의 통계적 유의성은 보이지 않았다(Fig. 1).

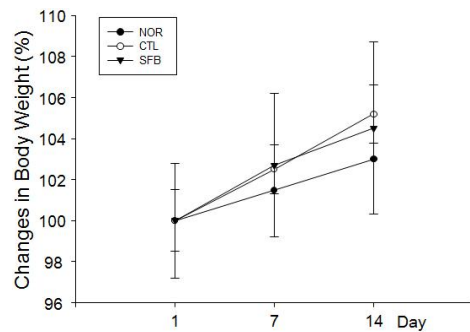


Fig. 1. Effects of SFB on changes in body weights in hyperlipidemic mice.

Body weights were measured on the day which SFB was firstly administered (day 1) and every 7 days. NOR group : naive mice (n=8), CTL group : hyperlipidemic mice (n=8), SFB group : SFB administered mice (n=8). Values are represented as mean±SD.

2. 식이량 및 음수량이 미치는 영향

2주 간의 실험 기간 동안 실험동물이 섭취한 사료 및 음용수 양의 변화를 관찰한 결과 각 실험군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Table 2).

Table 2. Effects of SFB on Changes of Food and Water uptake in Hypercholesterolemic Mice

Group	NOR ^{a)}	CTL	SFB
Food uptake (g)	6.08±0.52 ^{b)}	6.13±1.37	6.01±1.88
Water uptake (ml)	14.03±1.98	12.93±1.51	13.72±2.10

a) NOR : naive mice (n=8), CTL : hyperlipidemic mice (n=8), SFB : SFB administered mice (n=8)

b) Values are represented as mean±SD.

3. 혈청 중 total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol 함량 변화에 미치는 영향

2주간 SFB의 투여가 끝난 후, 실험동물의 혈액으로부터 얻은 혈청 중 total cholesterol 함량 변화를 관찰한 결과 CTL군에서 229.32±56.14 mg/dl로 나타나 134.25±24.37 mg/dl를 보인 NOR군에 비해 유의한 증가를 보였고, SFB군에서는 168.03±28.31 mg/dl로 나타나 CTL군에 비하여 유의한 감소를 보였다. 실험동물의 혈액으로부터 분리된 혈청 중 triglyceride 함량 변화를 관찰한 결과 CTL군에서 156.4±15.03 mg/dl로 나타나 112.5±27.57 mg/dl를 보인 NOR군에 비해 유의한 증가를 보였고, SFB군은 80.2±16.52 mg/dl로 나타나 CTL군에 비하여 유의한 감소를 보였다. SFB군을 NOR군과 비교하였을 경우에도 유의하게 낮은 수치로 관찰되었다. 실험동물의 혈액으로부터 HDL-cholesterol 함량 변화를 관찰한 결과 모든 실험군 사이에 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다. NOR군 151±32 mg/dl, CTL군은 154±48 mg/dl, SFB군은 162±21 mg/dl 측정되었다(Table 3).

Table 3. Effects of SFB on Total Cholesterol, Triglyceride, HDL-Cholesterol Levels in Hyperlipidemic Mice

Group	NOR ^{a)}	CTL	SFB
Total cholesterol (mg/dl)	134.25 ±24.37 ^{b)}	229.32 ±56.14 [#]	168.03 ±28.31 [*]
Triglyceride (mg/dl)	112.5 ±27.57	156.4 ±15.03 [#]	80.2 ±16.52 ^{#*}
HDL-cholesterol (mg/dl)	151 ±32.00	154 ±48.00	162 ±21.00

a) NOR : naive mice (n=8), CTL : hyperlipidemic mice (n=8), SFB : SFB administered mice (n=8)

b) Values are represented as mean±SD. Total cholesterol, Triglyceride, HDL cholesterol levels in serum were measured using spectrophotometry, significantly different when compared (p < 0.05). [#]P<0.05 vs. NOR group, ^{*}P<0.05 as compared to CTL group.

4. 간 조직 유전자 발현 변화에 미치는 영향

1) DNA 칩의 원본 이미지, 표준화

DNA 칩은 Agilent rat 45K 올리고칩을 사용하여 생쥐의 간 조직에서의 유전자 발현 변화를 관찰하였다. cy3와 cy5로 구성된 two colors system을 사용하였기 때문에, 적색과 녹색 스팟으로 표현되어졌으며, 대부분의 유전자는 의미 있는 변화를 보이지 않았기 때문에 대부분의 스팟이 노란색으로 나타났다. 적색과 녹색 스팟 색상의 강도는 정상군에 대한 SFB군에서의 유전자 발현 정도를 의미한다.

원본 이미지에서 얻어진 1차 데이터를 lowess 기법을 사용해 표준화하였으며, 그 후 유전자의 분포를 발현 비율(log 비)와 강도(log 강도)간의 관계로 나타내었다. 표준화 과정을 통해 유전자의 발현 비율이 0을 기점으로 하는 일직선 형태로 변화되었다(Fig. 2).

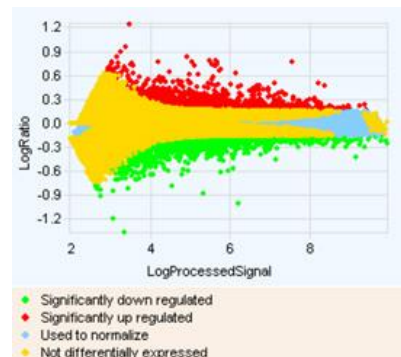


Fig. 2. Normalization of microarray (MA plot).

Primary data from raw image were normalized using lowess method. Vertical axis represents log ratio and horizontal axis represents log intensity of all spots after normalization.

2) 생물학적 과정, 분자기능 및 세포 구성 요소 항목에서의 발현 증가된 유전자의 기능 분석

발현이 증가된 유전자와 감소한 유전자의 수가 많기 때문에, ontology에 기초해 기능분석을 하여 유전자들을 평가하는 것이 적합하다. 발현이 증가한 유전자의 경우 1671개, 발현이 감소한 유전자는 1865개가 선별되었다. 발현증가의 경우 2배 이상, 발현감소의 경우 1/2이하의 발현량을 보일 때를

오미자 부탄올 분획물이 고지혈증이 유도된 생쥐의 지질대사 및 간조직 유전자 발현에 미치는 영향

증가 감소의 기준으로 삼았다. 발현이 증가된 유전자의 기능적 분포는 Fig. 3에 나타나 있다. Ontology 분석은 생물학적 과정(Fig. 3A), 분자적 기능(Fig. 3B), 세포 구성요소(Fig. 3C), 이 세가지로 구성되어 있다. 대부분의 발현 증가된 유전자는 세포의

일반적인 대사 과정에 연관되어 있었으며 주요 기능들이 단백질이나 핵산에 결합하는 것이다. 세포 내 유전자 산물의 분포도 세포막에 집중되어 있었는데, 이것은 발현이 증가된 유전자들이 신호 전달 경로 상에 있음을 의미한다.

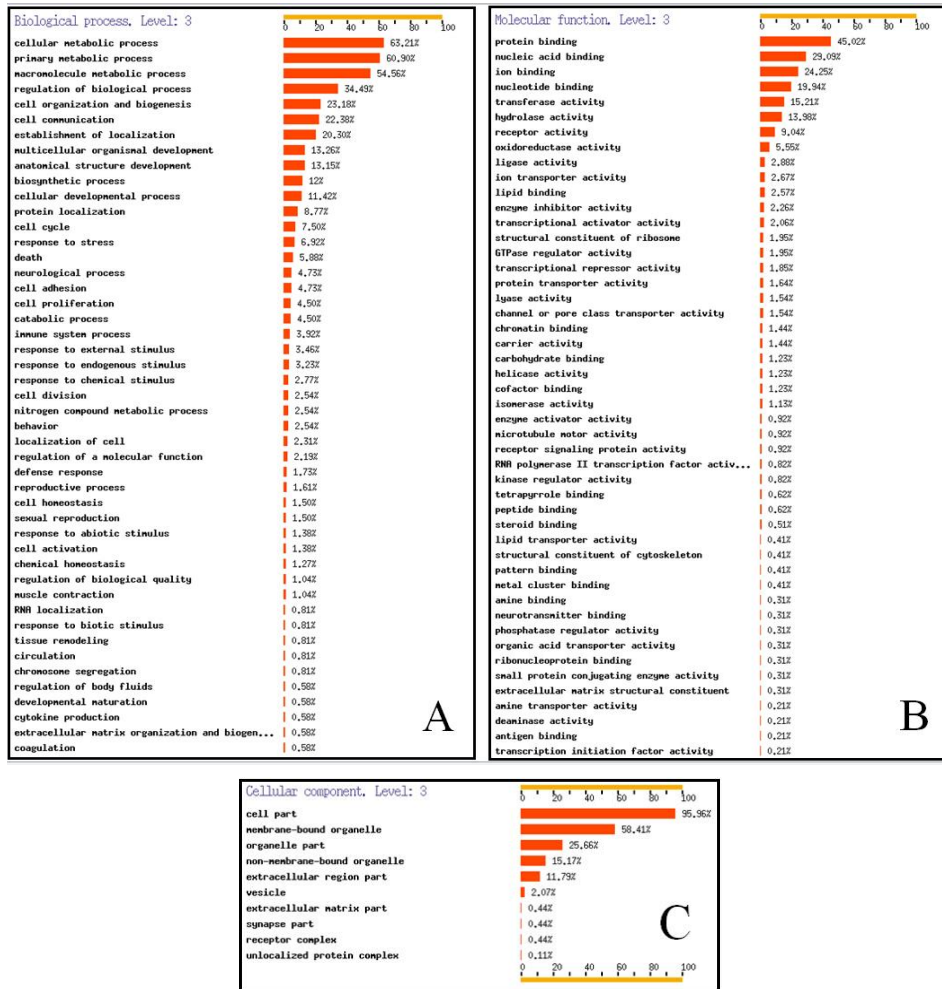


Fig. 3. Functional annotation of up-regulated genes in liver tissues in mice treated with SFB.

Total 1671 genes were up-regulated in liver tissues in mice treated with SFB. The functional distribution of these genes was analyzed in biological process category in ontology. The horizontal bar represents the percentage of specific functional category in biological process. The list was arrayed in decreasing percentage of functional category.

3) 생물학적 과정, 분자기능 및 세포 구성 요소 항목에서의 발현 감소된 유전자의 기능 분석

발현이 감소된 유전자의 기능적 분포는 Fig. 4에 나타나 있다. 대부분의 발현 감소된 유전자들은,

순위 상 약간의 차이는 있지만, 발현이 증가된 유전자의 경우와 마찬가지로 세포 내 일반적인 대사 과정 및 신호 전달 과정과 연관되어 있다. 세포 내

에서의 기능 및 위치 분포 또한 매우 유사하여, 단백질 및 이온과 결합하는 기능이 많았으며, 세포막에 존재하는 비율이 높았다.

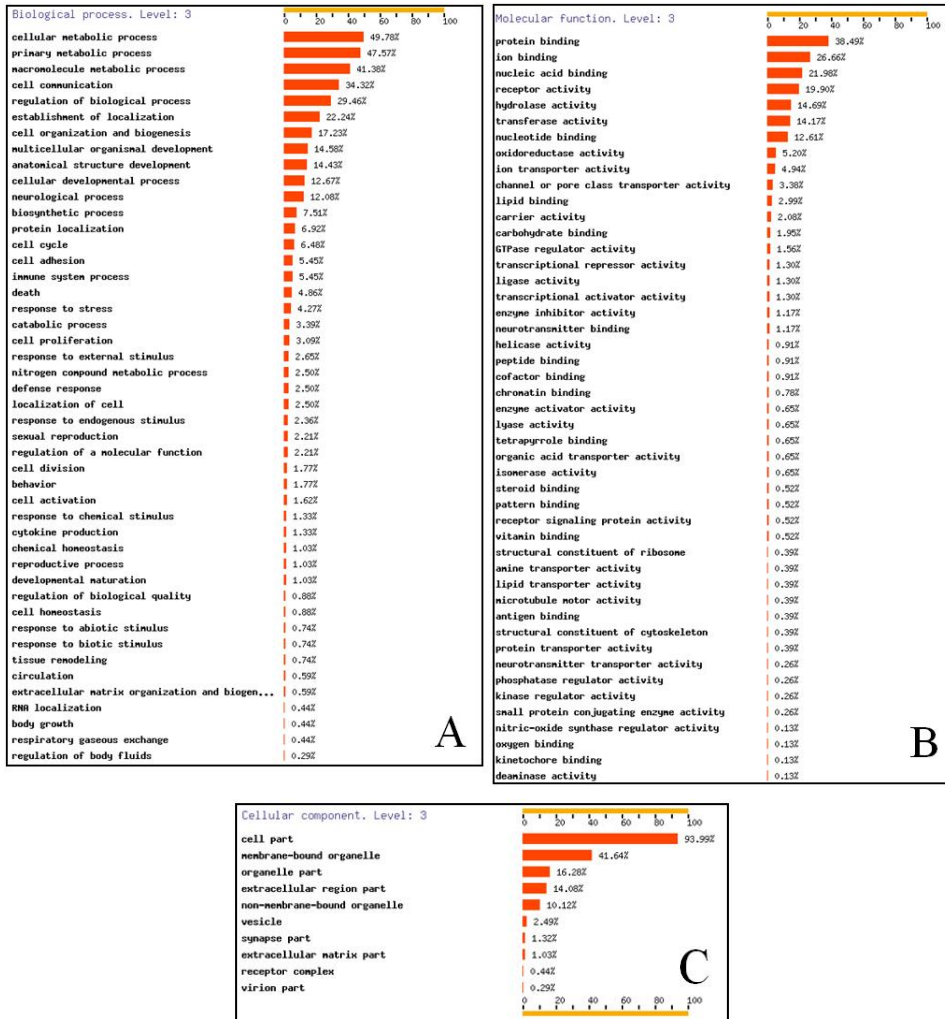


Fig. 4. Functional annotation of down-regulated genes in liver tissues in mice treated with SFB.

Total 1865 genes were down-regulated in liver tissues in mice treated with SFB. The functional distribution of these genes was analyzed in biological process category in ontology. The horizontal bar represents the percentage of specific functional category in biological process. The list was arrayed in decreasing percentage of functional category.

4) SFB에 의해 발현이 증가된 유전자들이 연관된 pathway와 발현이 감소된 유전자들이 연관된 pathway 분석

개별 유전자의 기능 분류에 의한 유전자의 기능 분석이 유용한 방법이지만, 개별 유전자가 직접적으로 관련되어 있는 pathway를 직접 조사하는 것

또한 유전자의 기능을 측정할 수 있는 매우 중요한 분석법이다. Fig. 5A에 SFB 투여에 의해 발현이 증가된 유전자들이 많이 속해 있는 대표적인 pathway 4개가 나와 있다(MAPK pathway, Regulation of actin cytoskeleton pathway, Focal adhesion pathway, Wnt pathway). MAPK 및 Wnt pathway는 세포의 성장 및 분열에 관련되어 있으며, 세포의 골격을 구성하는 actin 관련 pathway도 연관되어 있다는 점을 확인할 수 있다. SFB 투여에 의해 발현이 감소한 유전자들 중 가장 많은 수의 유전자가 Neuroactive ligand-receptor interaction과 관련되어 있었다. 비록 간 조직 차원의 결과이지만 약물에 의해 신경 전달 과정의 일부가 관련 될 수 있음을 보여 준다 (Fig. 5B). 또한 SFB 투여에 의해 발현이 증가된 유전자와 마찬가지로 발현이 감소된 유전자의 경우에도

MAPK pathway와 관련 되어 있었다. 하지만 실제로 pathway를 구성하는 단백질의 종류를 살펴보면 발현이 증가된 유전자와 발현이 감소된 유전자가 작용하는 위치가 상이하다는 것을 확인 할 수 있다.

개별 단백질이 전체 MAPK pathway에 어떤 기여를 하는지에 대해서는 좀 더 세심한 분석을 수행해야 하지만 전반적으로 볼 때 발현이 증가하는 유전자들의 많은 부분이 MAPK pathway의 윗부분(upstream)에 상대적으로 많이 분포하고 있는 반면 발현이 감소하는 유전자들은 중간 신호전달 과정에 많이 분포하고 있다는 것을 알 수 있다. 이 외에도 면역반응에 관련한 cytokine-cytokine receptor interaction pathway와 세포 간 연결 구조인 tight junction pathway에 발현이 감소한 유전자들이 많이 분포 하고 있었다.



Fig. 5. Pathway analysis of up-regulated genes and down-regulated genes in liver tissues in mice treated with SFB.

A. Total 1671 genes were up-regulated in liver tissues in mice treated with SFB. The involvement of these genes on pathway was analyzed. The horizontal bar represents the percentage of genes on each pathway. The list was arrayed in decreasing percentage of pathway involvement. Top 4 pathways were showed in detail in which the up-regulated genes were colored in red. The represented pathways were obtained from KEGG.

B. Total 1865 genes were down-regulated in liver tissues in mice treated with SFB. Top 4 pathways were showed in detail in which the down-regulated genes were colored in red. The represented pathways were obtained from KEGG.

5) 생물학적 과정, 분자 기능, 세포 구성 요소 항목에서의 기능 분포 비교

발현이 감소되었거나 증가된 유전자들의 기능을 분류하였을 때, 비슷한 기능별 분포를 보여주고 있다는 것을 확인할 수 있었지만, 이들 유전자 사이의 차이를 좀 더 세분화해서 살펴본 결과가 Fig. 6에 나타나 있다.

생물학적 과정의 경우 세포 대사, 세포 간 신호 전달, 신경 전달 과정 등의 기능과 관련된 항목들에서 증가 유전자와 감소 유전자간에 유의한 ($P < 0.05$) 인 차이를 보이고 있다(Fig. 6A). 세포 대사 기능은 발현이 증가 또는 감소한 유전자의 기능 분석에서 모두 제일 상위에 분포되어 있던 기능이었음을 고려해 볼 때, 비록 증가 또는 감소한 유전자

모두 대사가 주요 기능이긴 하지만 전체 유전자 중에서 차지하는 비중에서 서로 간에 차이를 보인다고 결론 내릴 수 있다.

분자 기능 분포의 경우에서도 비슷한 결과를 얻었다. 신호 전달 수용체(receptor) 활성화 및 핵산의 구성 성분인 뉴클레오티드에 결합하는 유전자의 분포가 서로 상이함을 확인할 수 있다($P < 0.05$)(Fig. 6B).

세포 성분에서의 분포도를 살펴볼 때 세포 내 소기관의 분포에서 발현 증가 및 감소한 유전자간에 차이를 보이고 있었다(Fig. 6C). 이런 결과들은 비록 증가 유전자와 감소 유전자간에 비슷한 기능 분포를 보이고 있다 하더라도 일부 유전자의 경우 기능의 분포 정도에 차이를 나타내고 있음을 보여준다.

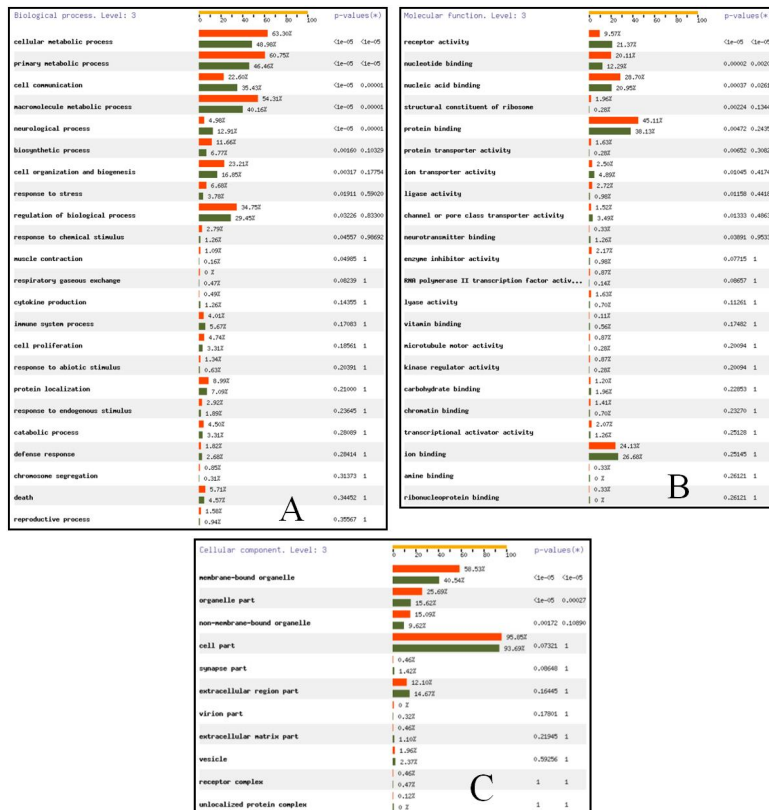


Fig. 6. Comparison of functional distribution in biological process.

Both up- and down-regulated genes were analyzed in biological process category in ontology. The horizontal bar represents the percentage of specific functional category in biological process. The list was arrayed in decreasing percentage of functional category. Red and Green color represent percentage of up-regulated and down-regulated genes, respectively, in each functional category. $P < 0.05$ was considered significant.

6) 발현 차이를 보이는 유전자 간의 pathway 비교. 발현이 증가한 유전자와 감소한 유전자간의 기능 분포의 차이뿐만 아니라 관련된 pathway 차이를 조사한 결과가 Fig. 7에 나타나 있다. Wnt pathway, Glycerophospholipid metabolism pathway, neuroactive ligand-receptor interaction pathway 등이 관련되어 있다. Fig. 7에서 알 수 있듯이 위의 3개 pathway 모두, 발현이 증가한 유전자는 빨간색으로, 발현이 감소한 유전자는 녹색으로 표시되어 있다. 증가하거나 감소한 유전자들의 개별 pathway 분석에서 확인하였듯이 위의 3개의 경우에도 동일한 pathway내에서 작용하는 위치가 확연히 다를 수 있다. 특히 Glycerophospholipid metabolism pathway에서는 감소한 유전자가 하나도 없는 반면 증가한 유전자는 다수 존재 하고 있다.



Fig. 7. Pathway analysis between up-and down-regulated genes in liver tissues in mice treated with SFB.

Involvement of these genes on different pathway was analyzed. The horizontal bar represents the

percentage of genes on each pathway. The list was arrayed in decreasing percentage of pathway involvement. Top 3 pathways were showed in detail in which the up or down-regulated genes were colored in red or green, respectively. The represented pathways were obtained from KEGG. P<0.05 was considered significant.

7) SFB 투여에 의해 발현이 증가 및 감소된 단백질의 네트워크 분석

앞서 SFB 투여에 의해 유전자들의 발현 변화가 있다는 것을 확인하였다. 더 나아가 이들 유전자들 간의 상호작용에 대해 알기 위하여 단백질 상호작용을 이용한 네트워크 분석을 수행하였다.

Fig. 8 및 9는 칩에 존재하는 유전자에 해당하는 단백질의 상호 작용을 보여주는 그림이다. 노란색으로 표시된 도형은 SFB 투여에 의해 발현이 증가 또는 감소한 단백질을 나타낸다. 증가된 유전자로부터 생성되는 단백질의 경우 JAK2, GRB2, CDC42와 SMAD4 단백질 등이 상호작용 네트워크의 중심부에 위치하고 있음을 알 수 있다. 발현이 감소되는 유전자들의 경우에는 GRB2, B2M, FOS와 ESR1 단백질이 네트워크 중심부에 있다. GRB2의 경우 스스로 발현이 증가하거나 감소하지는 않지만 증가하거나 감소하는 유전자 모두와 상관이 있다는 점에서 매우 특이하다. 네트워크 중심부에 위치한다는 것은 다른 여러 단백질과 상호작용을 한다는 것을 의미하며, 따라서 이들 단백질이 약물의 세포 내 작용에 매우 중요한 역할을 수행할 것으로 예측된다.

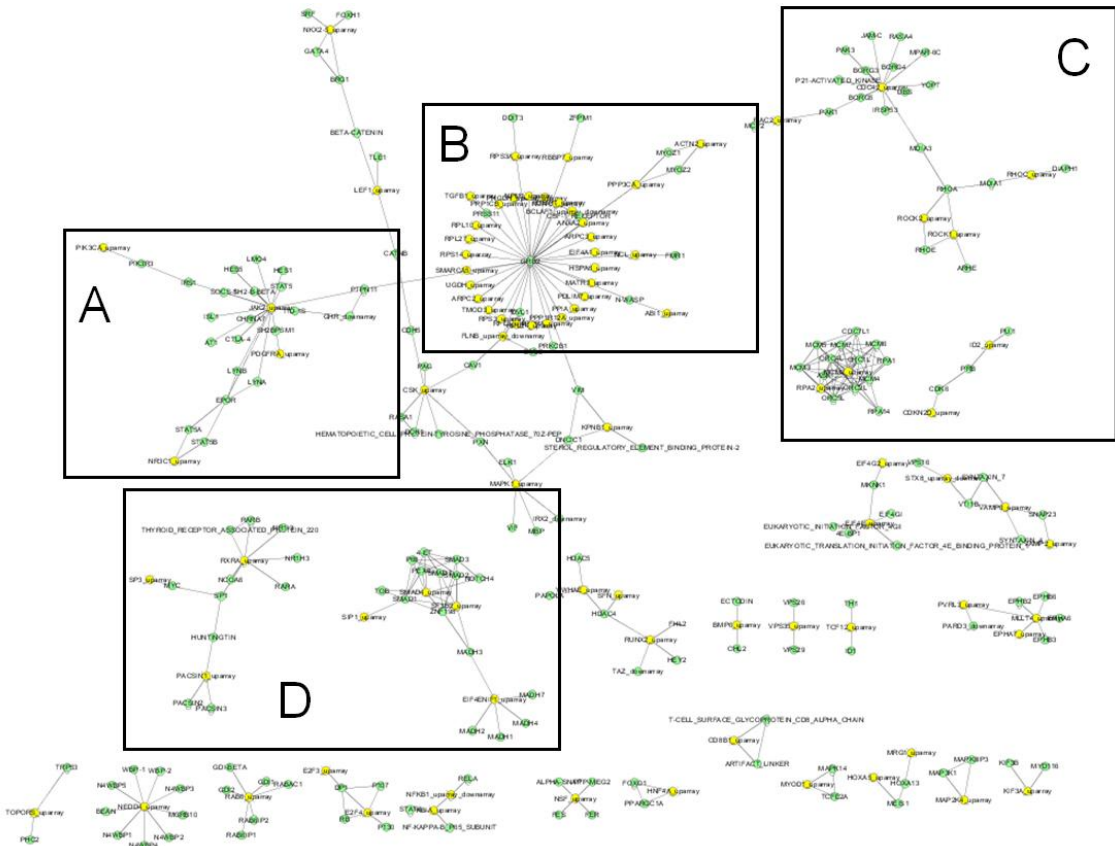


Fig. 8. Protein interaction network in human system.

The network of total protein interactions was measured using cytoscape program. The database was obtained in BOND database (<http://bond.unleashedinformatics.com>). Circles represent proteins that involved in interactions with other proteins. Yellow circles represent the proteins identified in this experiment to be up-regulated by treatment with SFB. Lines mean the protein-protein interactions. Yellow circles which have intensive network with other proteins were marked as A, B, C and D. Each circle have name of the protein. JAK2, GRB2, CDC42, and SMAD4 were placed on core positions with intensive interactions with other proteins.

오미자 부탄을 분획물이 고지혈증이 유도된 생쥐의 지질대사 및 간조직 유전자 발현에 미치는 영향

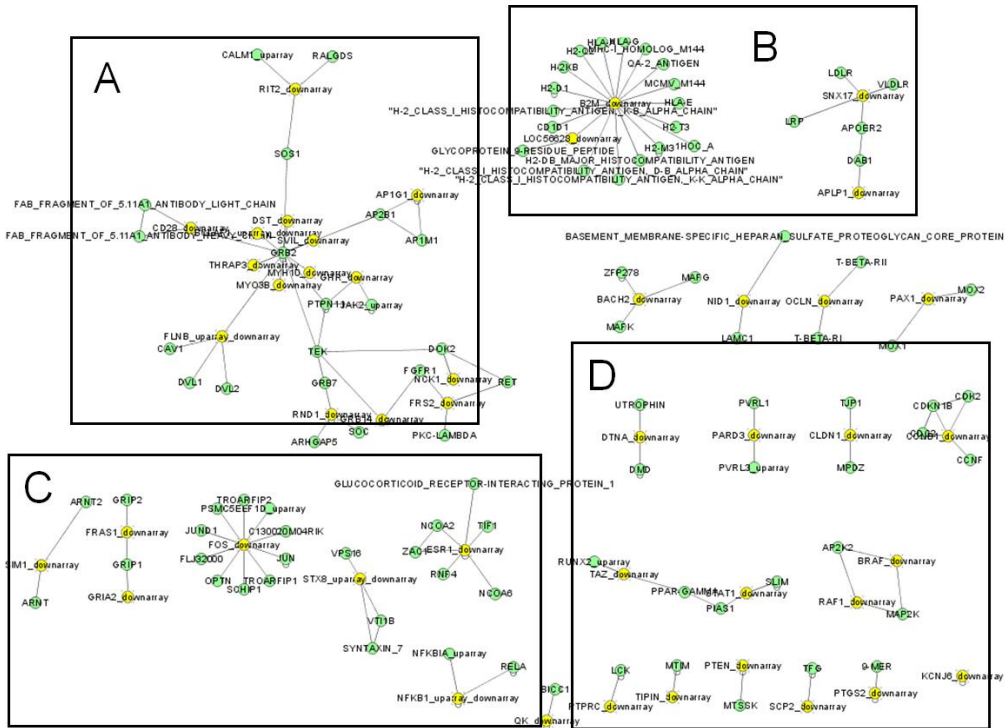


Fig. 9. Protein interaction network in human system.

The network of total protein interactions was measured using cytoscape program. The database was obtained in BOND database (<http://bond.unleashedinformatics.com>). Circles represent proteins that involved in interactions with other proteins. Yellow circles represent the proteins identified in this experiment to be down-regulated by treatment with SFB. Lines mean the protein-protein interactions. Yellow circles which have intensive network with other proteins were marked as A, B, C and D. Each circle have name of the protein. GRB2, B2M, FOS, and ESR1 were placed on core positions with intensive interactions with other proteins.

8) 전사 인자(transcription factor) 분석

발현이 증가되거나 감소되었다는 것은 이들 유전자들의 발현을 직접 결정하는 전사 인자의 활성이 증가 또는 억제되었다는 것을 의미한다. 특정 전사 인자는 다수의 유전자들의 발현을 조절할 수 있다는 점과 전사 인자의 경우 자체의 발현이 크게 변하지 않는다는 점에서 직접적인 발현의 양을 조사하는 것보다 관련 유전자들의 발현을 조사하여 역으로 전사인자의 활성을 유추하는 것이 더 정확할 수 있다.

Fig. 10에 발현이 증가된 유전자 및 발현이 감소한 유전자와 관련된 전사 인자들이 각각 나열되어 있다. 발현이 증가한 유전자의 경우 Sp1과 NF-Y 전사인자가 다수 포함되어 있으며, 이들 전사 인자가 SFB 처리에 의해 활성화 되어있을 가능성이 높다고 할 수 있다. 반면, 발현이 감소한 유전자의 경우에는 Oct-1과 C/EBP가 다수 포함되었는데 이 전사 인자의 경우에는 활성이 매우 떨어져 있다고 유추할 수 있다.

Up regulated genes

Rank	Matrix	TF	Info	GC	Location	P-value	nh	ns
1	VSSP1_Q6	Sp1	11.66	0.79	[-0216:-0007]	5.627e-140	584	71%
2	VSCDXA_Q2	CdxA	5.43	0.20	[-1001:+0494]	7.303e-102	791	74%
3	VSGC_Q1	GC box	11.54	0.68	[-0193:-0036]	3.464e-85	371	57%
4	VSSP1_Q1	Sp1	8.90	0.72	[-0195:-0005]	4.290e-59	304	53%
5	VSNFY_Q1	NF-Y	12.77	0.52	[-0202:-0034]	4.574e-34	137	28%
6	VSELK1_Q2	Elk-1	10.16	0.56	[-0126:-0002]	2.715e-26	138	29%
7	VSAF2_Q6	AP-2	10.34	0.79	[-0157:+0021]	9.790e-26	249	42%
8	VSNFGIC_Q1	NGFI-C	17.40	0.69	[-0181:-0038]	2.123e-25	194	39%
9	VSCAP_Q1	cap	4.67	0.49	[-1085:-0607]	4.081e-24	290	51%
10	VSCETS1P54_Q1	c-Ets-1(p54)	10.82	0.57	[-0082:+0000]	1.680e-22	105	25%
11	VSOCT1_Q3	Oct-1	6.89	0.36	[+0098:+0438]	1.299e-20	182	32%
12	VSNRF2_Q1	NRF-2	13.89	0.61	[-0090:-0002]	2.053e-20	120	28%
13	VSNFY_Q6	NF-Y	11.94	0.47	[-0172:-0026]	3.828e-19	108	22%
14	VSNFY_C	NF-Y	19.04	0.42	[-0384:-0033]	7.862e-19	166	38%
15	VSCBP_Q2	C/EBP	7.11	0.39	[+0093:+0408]	5.398e-17	158	26%
16	VSCAAT_Q1	CCAAT box	10.75	0.48	[-0166:-0041]	2.054e-16	95	21%
17	VSAEB6_Q4	AREB6	9.86	0.45	[-0852:-0761]	2.326e-16	86	17%
18	VSEBFB_Q2	C/EBPbeta	9.60	0.42	[+0232:+0460]	9.463e-16	109	23%
19	VSEGR1_Q1	Egr-1	17.46	0.68	[-0157:-0038]	5.232e-15	148	32%
20	VSCBPA_Q1	C/EBPalpha	7.12	0.38	[+0257:+0478]	1.225e-14	111	22%

Down regulated genes

Rank	Matrix	TF	Info	GC	Location	P-value	nh	ns
1	VSOCT1_Q4	Oct-1	10.35	0.32	[-0594:+0463]	5.713e-69	613	86%
2	VSHNF1_Q1	HNF-1	14.59	0.28	[-0589:+0466]	8.317e-58	423	78%
3	VSOCT1_Q3	Oct-1	6.89	0.36	[-0873:+0479]	1.706e-49	347	76%
4	VBRN2_Q1	Brn-2	12.89	0.35	[-0695:+0482]	1.086e-46	433	83%
5	VSNXK61_Q1	NRX6-1	15.97	0.19	[-0590:+0329]	1.097e-40	385	73%
6	VSCBEP_Q1	C/EBP	6.99	0.40	[-0758:+0486]	1.420e-39	332	81%
7	VSPBK1_Q1	Fbx-1	8.81	0.20	[-0586:+0488]	7.280e-37	370	78%
8	VSPAK4_Q2	Fax-4	8.47	0.30	[-0592:+0487]	2.356e-34	283	68%
9	VSMF2_Q3	MEF-2	18.54	0.33	[-0621:+0465]	1.545e-33	409	72%
10	VXFD3_Q1	XFD-3	16.97	0.26	[-0370:+0379]	1.736e-32	304	67%
11	VSCART1_Q1	Cart-1	15.18	0.31	[-0478:+0466]	5.312e-32	258	65%
12	VSMF2_Q4	MEF-2	26.51	0.28	[-0380:+0479]	1.979e-31	366	74%
13	VSCBPA_Q1	C/EBPalpha	7.12	0.38	[-0247:+0485]	4.392e-31	188	55%
14	VSCBEP_Q2	C/EBP	7.11	0.39	[-0430:+0485]	1.604e-30	219	61%
15	VSMF2_Q2	MEF-2	16.96	0.36	[-0558:+0466]	2.240e-29	373	78%
16	VSFREAC2_Q1	Freac-2	14.64	0.36	[-0587:+0402]	3.203e-29	375	79%
17	VSOCT1_Q7	Oct-1	17.16	0.21	[-0632:+0286]	2.372e-28	302	70%
18	VSSP1_Q6	Sp1	11.66	0.79	[-0189:-0044]	5.052e-28	142	52%
19	VSOCT1_Q2	Oct-1	11.80	0.35	[-0691:+0486]	2.723e-27	310	73%
20	VSS8_Q1	S8	12.23	0.30	[-0685:+0483]	1.763e-26	246	66%

Fig. 10. Transcription factor binding analysis.

The transcription factor binding site (TFBS) were predicted using 5' upstream of exons of up- or down-regulated genes. The transcription factor binding sequences were obtained by Transfac database. The list were ranked by P-value. Matrix and TF column represent transcription factor. The location information and number of TFBS were also shown in location and ns column, respectively.

IV. 고 찰

오미자(北五味子) *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill.는 한의학에서 溫, 酸甘한 性味の 약물로 收斂固澀, 益氣生津, 補腎寧心 등의 효능이 있으며, 肺虛喘咳, 口乾作渴, 自汗, 盜汗, 勞傷羸瘦, 夢遺, 滑精, 久瀉久痢 등과 같은 병증을 치료하는데 주로 활용하여 왔다¹⁴. 주요 약리 작용으로는 간 기능 보호, 면역 기능 촉진, 항노화 뿐만 아니라 심혈관 계통에도 작용하여 관상동맥에서의 혈류량 등을 향

상시키기도 하는 것으로 알려져 있으며, 오미자에 함유되어 있는 대표적 구성 성분들은 schisandrin, schisadran, gomisin A, gomisin N 등이 있다^{15,23}. 오미자에 대한 연구로는 간보호²⁴, 골격근 위축의 차단 효과²⁵, 항산화¹⁶, 혈당강화¹⁷, 고지혈증²⁶, 파골세포 분화에 미치는 영향²⁷ 등의 다양한 연구가 보고되고 있다.

이상지질혈증(dyslipidemia)은 혈액내에 total cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol의 농도가 높거나 HDL-cholesterol의 농도가 낮은 상태를 의

미하며, 심혈관질환의 대표적인 위험인자로 보고되고 있다¹. 최근 발표된 국내 및 미국의 이상지질혈증의 진단 및 치료에 대한 가이드라인을 보면, 국내의 경우 심혈관질환에 대한 주요 위험 인자의 개수 또는 심혈관질환의 과거력 등을 기준으로 환자군을 저위험군, 중등도 위험군, 고위험군, 초고위험군으로 나누고, 각 군의 치료목표로서 LDL-cholesterol 및 non-HDL-cholesterol 수치를 제시하고, 제시된 수치를 상회할 경우 statin 투약을 권고하고 있다. 미국의 경우 atherosclerotic cardiovascular disease(ASCVD)의 빈도가 감소될 수 있는 특정 환자들을 4개 군으로 분류하여 이에 해당되는 환자에게만 적절한 statin의 사용 강도를 제시하고, statin만으로 부족하거나 statin을 복용할 수 없는 환자에 대해 non-statin 제제의 사용 기준을 제시하였다⁶. 이와 같이 statin 사용의 제한은 그 부작용과 관련이 많으며, 그 중 가장 흔한 것은 간장애와 근육장애이며, 최근에는 당뇨병 유병률을 증가시키고, 당뇨병 위험군 환자에 대한 statin투여는 유의한 위험인자가 된다고 보고되고 있다⁷. 따라서, 고지혈증에 대해 안전성을 지닌 치료물질의 개발이 필요하다고 생각되어, 이 전부터 식품으로 다양하게 활용된 약용자원인 오미자를 이용하여 고지혈증에 대한 연구를 하게 되었다.

오미자 분획물을 이용한 기존의 연구를 살펴보면, 김 등²¹은 오미자 헥산 분획물을 통해 고지혈증 개선과 공복시 혈당조절, 간 조직내 항산화 효소 활성의 회복됨을 보고하였고, 신 등²²은 오미자 클로로포름 분획물을 통해 고지혈증 개선과 공복시 혈당조절 효과에 대해 보고하였다.

이에 본 연구에서는 오미자를 재료로 하여 예비 연구를 수행하였으며, 본 연구에 나타내지는 않았지만 선행 연구를 통해 실험동물인 생쥐에 고지방 식이를 적용함으로써 유발된 고지혈증에 오미자 용매 분획물들을 투여하여 혈청 중 콜레스테롤 함량 변화에 부탄을 분획이 비교적 강한 활성을 나타낸다는 것을 확인하였으며, 본 연구에서는 부탄

을 분획(SFB)만을 연구 재료로 사용하였다.

본 연구의 결과에서 6주간의 고지방식이의 공급을 통해 혈중 total cholesterol과 triglyceride가 정상 식이군에 비해 유의한 증가를 보이는 고지혈증이 유발되었다. 약물 투여가 진행되었던 마지막 2주간의 체중 변화는 각 실험군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 1). 그러나 체중의 변화와 관련 없이 SFB 투여는 CTL군에 비해 증가되었던 혈중 total cholesterol과 triglyceride 함량을 유의하게 감소시켰으며 이 중 혈중 triglyceride의 경우 정상 식이를 투여한 실험군인 NOR군에서 보다 유의하게 낮은 수치를 보였다(Table 3).

실험을 진행하는 동안 실험동물이 섭취한 사료와 음용수의 양이 연구 결과에 영향을 미칠 수 있으며, 인간의 경우에도 식습관의 변화가 비만, 당뇨, 고지혈증의 호전과 악화에 직접적으로 영향을 미칠 수 있으므로²⁸, 본 연구에서는 2주간의 실험 기간 동안 식이량과 음수량 변화를 살펴보았으며, 그 결과 모든 군에서 특별한 차이를 발견할 수 없었다(Table 2). 이는 고지방 식이를 통해 유발된 고지혈증의 임상 증상 개선에 오미자 부탄을 분획인 SFB가 식욕 억제 등의 방법으로 고지혈증을 조절하지 않았음을 나타낸다.

최근 마이크로어레이 기법을 응용한 유전자 전반에 대한 발현 변화 연구의 발전으로 인해 인간 유전학의 연구 분야들이 변화되고 있으며, 인간의 질병에 관련된 유전자의 발견을 주도하는 연구 분야로 각광받고 있다. 이러한 실험 방법들의 진보로 인해 마우스를 포함한 동물 모델에서도 다양하게 응용되고 있다²⁹. 약물학 분야에서 마이크로어레이 연구 방법은 약물에 대한 유전자 변화의 반응 또는 약물에 의한 유해 반응을 관찰하기 위한 수단으로 주로 응용되고 있다³⁰. 최근 현대 생물학을 이용한 침을 포함한 한의학의 연구가 활발하게 진행되고 있지만, 분자수준의 연구결과는 아직까지 많이 발표되고 있지 않다. 본 연구에서는 고지혈증에 대한 SFB의 효과를 분자 수준에서 파악하기 위하

여 DNA 칩을 이용하여 유전자들의 발현 정도를 측정하였다.

생물학 분야의 방대한 지식을 효율적으로 다루기 위하여 생물학 문헌에서 정보를 자동으로 추출하는 연구가 활발히 진행되고 있는데, 이러한 정보 추출 결과를 이용하여 유전자 ontology와 같은 유용한 지식베이스를 자동으로 확장함으로써 폭발적으로 증가하는 생물학 분야의 연구 결과들을 지식 베이스에 통합할 수 있게 되었다. 유전자 ontology에서 사용하는 상위 3종의 기술 항목으로 생물학적 과정, 분자 기능, 세포 내 구성이 사용되고 있다. 간단히 예를 든다면 항산화 기전에 관여하는 superoxide dismutase(SOD)의 경우 생물학적 과정에서는 '방어 기전', 분자 기능에서는 '항산화 작용', 세포 내 구성 항목에서는 '세포질 구성 물질'로 구분될 수 있는 것과 같다³¹.

약물처리에 의해 발현이 변화되는 유전자들 이들 기준에 의해 기능분류를 해본결과 많은 유전자들이 일반적인 세포 대사에 관련 되어 있었으며, 주요 기능들이 단백질이나 핵산에 결합하는 것들이었다. 세포 내 유전자 산물의 구성도 세포막에 집중되어 있었는데, 이것은 발현이 증가된 유전자들이 신호 전달 경로 상에 있음을 의미한다.

변화된 유전자들의 기능 분포 외에 직접적으로 이들 유전자들이 관련된 세포 내 pathway에 대해서 분석을 수행한 결과 MAPK 또는 Wnt pathway 같은 세포 내 성장 및 분열 등에 연관된 중요 pathway가 관련되어 있다는 것을 알 수 있었다. MAPK pathway는 세포의 성장과 분화에 작용하며, 세포 외부에서 오는 스트레스에 의해 인산화 연쇄 반응이 활성화되어 암, 당뇨, 퇴행성 뇌질환 등 다양한 질환 조절에 관여하고 있다³². 개별 단백질이 전체 MAPK pathway에 어떤 기여를 하는지에 대해서는 좀 더 세심한 분석을 수행해야 되어야 할 것으로 보인다. 이 외에도 면역반응에 관련한 cytokine-cytokine receptor interaction pathway와 세포 간 연결 구조인 tight junction pathway에

발현이 감소한 유전자들이 많이 분포하고 있었다. 한편 발현이 증가한 유전자와 감소한 유전자 간에 가장 상이한 pathway를 비교해본 결과 Wnt pathway, Glycerophospholipid metabolism pathway, neuroactive ligand-receptor interaction pathway 등이 선별되었다. 이들 pathway가 약물처리에 미치는 영향에 대해서는 앞으로 심도 있는 연구가 이루어 져야 할 것이다.

이전의 오미자 분획물 연구를 살펴보면 김 등²¹의 연구에 의하면 6주간의 고지방식이을 통한 고지혈증 유발에 의해 발현이 변화한 유전자들이 직접적으로 관여하는 생물학적 과정을 분석하여, 주로 sterol metabolic process, cholesterol metabolic process 등과 같은 지질대사와 관련 많음을 보고하였고, 오미자 핵산분획물 투여로 발현이 조절되는 유전자의 생물학적 기능은 DNA 복제, 전사와 관여하는 것으로 보고하였다. 신 등²²의 연구에 의하면 7주간의 고지방식이를 통한 고지혈증 유발에 오미자 클로로포름 분획물 투여로 인한 유전자 발현 변화의 조절에는 fatty acid biosynthesis, glycerolipid metabolism, glycerophospholipid metabolism 등 지질대사와 관련된 pathway를 통한 기전이 있음을 보고하였다. 이는 본 연구의 지질대사와 관련된 pathway의 유사한 결과를 보이지만, 오미자의 개별 분획물에 따라, 유전자들의 활성화가 약간씩 차이를 확인할 수 있었다.

이번 연구에서는 이전의 오미자 분획물 연구와 달리 SFB 투여에 의해 변화되는 유전자 중에서 향후 새로운 약물의 신규 타겟이 될 수 있는 유전자를 선별하기 위하여 단백질 상호 작용을 이용한 네트워크 분석을 수행하였다. 그 결과 증가된 유전자로부터 생성되는 단백질의 경우 JAK2, GRB2, CDC42, SMAD4 단백질 등이 중심체로 작용하여 다른 단백질과 상호 연결 되어 있음을 확인할 수 있었다. 발현이 감소되는 유전자들의 경우에는 GRB2, B2M, FOS, ESR1 단백질이 네트워크 중심부에 있었다. 이는 이들 단백질이 약물처리에 의해

변화되는 단백질의 네트워크에서 중심적인 역할을 수행할 수 있다는 것을 의미하며, 이들 단백질을 이용하여 신규 약물의 개발이 가능할 수 있을 것으로 사료된다.

특이하게도 GRB2의 경우 스스로 발현이 증가하거나 감소하지는 않지만 증가하거나 감소하는 유전자 모두와 상관성이 있다. GRB2 단백질은 Growth factor receptor-bound protein 2로 명명되어 있는데 세포에서의 신호 전달과 세포 간 상호 작용에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 인간에 있어서는 GRB2 유전자에 의해 조절되고 있는 단백질이다³³. 따라서 GRB2 단백질과 같이 신호 전달에 관여하는 단백질들이 고지혈증과 같은 질환의 발생과 치료에 관여하고 있음을 간접적으로 확인할 수 있었다.

마지막으로 SFB 투여처리에 의해 발현이 변화되는 유전자들을 직접적으로 조절하는 전사인자에 대한 분석을 수행하였다. 일반적으로 특정한 전사인자 하나에 의해 다수의 유전자가 발현이 조절되고 있기 때문에, 약물처리에 의해 어떤 공통적인 전사인자가 활성화 또는 비활성화 되는지 조사함으로써 변화되는 유전자의 역할을 좀 더 세분화하여 분석할 수 있다. Fig. 10에서 보듯이 발현이 증가한 유전자의 경우 Sp1과 NF-Y 전사 인자가 다수 포함되어 있으며, 발현이 감소한 유전자의 경우에는 Oct-1이 다수 포함되어 있다. 즉 Sp1과 NF-Y 전사인자의 경우 SFB 투여에 의해 활성화 되고, Oct-1의 경우 반대로 비활성화 된다는 것을 의미한다. 이들 특정 전사 인자를 포함하여 더 많은 전사 인자에 의해 공통적으로 조절 받는 유전자들을 좀 더 심층적으로 분석함으로써 SFB 투여에 의한 세포 내 유전자의 변화를 보다 명확하게 확인할 수 있을 것으로 생각된다.

이번 연구를 통하여 SFB 투여에 의해 유도되는 유전자의 발현 패턴을 확인하였으며, 발현이 증가되거나 감소한 유전자들은 대부분 대사 과정에 연관된 유전자들이었다. 발현이 증가하거나 감소하는 유전자들의 pathway 분석 및 기능 분포 비교 분석

을 수행한 결과 동일한 기능 및 pathway에 연관되었다 하더라도 작용하는 위치 및 정도에 차이가 있다는 것을 확인하였다. 또한 이런 유전자들의 발현 변화는 공통적으로 작용하는 전사 인자에 의해 조절될 가능성이 높다는 것을 확인하였다.

오미자 부탄올 분획물에 대해 이번 연구결과를 토대로 개개의 유전자에 대한 연구를 한다면, 고지혈증과 관련하여 새로운 기전의 치료제와 다양한 제형의 고지혈증 치료제 개발이 가능할 것으로 생각된다.

이번 연구의 단점으로는 오미자 부탄올 분획물의 구성 성분 조사가 이루어지지 않은 부분이 있으며, 향후 고지방식이로 유도된 고지혈증에 오미자의 헥산, 클로로포름, 부탄올 등의 분획물에 대해 동일 조건하에서 연구를 시행하여 서로간 비교 분석해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다.

위에서의 연구 결과들을 종합하여 보면, 오미자의 부탄올 분획인 SFB는 혈청 중 지질 함량을 유의하게 억제함으로써 고지혈증의 증상들을 개선하는 것으로 추정되며, 세포의 성장과 분열에 관여하는 유전자들과 관련함을 알 수 있었다.

V. 결 론

오미자 부탄올 분획물(SFB)이 고지혈증 생쥐에 미치는 영향을 확인하기 위하여 고지방식을 통해 고지혈증을 유발하고, 2주간 SFB를 투여한 다음 혈중 total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride 함량 변화를 관찰하고, 간 조직 내 유전자 발현 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

SFB는 고지혈증 유발에 의하여 상승된 혈청 중 total cholesterol과 triglyceride 함량을 유의하게 감소시켰으며, SFB 투여에 의해 발현이 증가된 유전자와 관련된 단백질 중 JAK2, GRB2, CDC42, SMAD4 단백질 등이 중심체로 작용하여 다른 단백질과 상호 연결되어 있었고, 발현이 감소되는 유전자들의 경우에는 GRB2, B2M, FOS, ESR1 단백

질이 네트워크 중심부에 있는 것으로 확인되었다. 또한, 발현이 변화된 유전자들을 조절하는 전사 인자에 대해 분석한 결과, 발현이 증가된 유전자의 경우 Sp1과 NF-Y 전사 인자가, 발현이 감소된 유전자의 경우에는 Oct-1이 다수 포함되어 있었다.

감사의 글

이 논문은 2018학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(과제번호 201802760001).

참고문헌

1. Koh KK, Quon MJ, Rosenson RS, Chung WJ, Han SH. Vascular and metabolic effects of treatment of combined hyperlipidemia: Focus on statins and fibrates. *International Journal of Cardiology* 2008;124(2):149-59.
2. Ghosh A. The metabolic syndrome: a definition dilemma. *Cardiovasc J Afr* 2011;22(6):295-6.
3. Jeong SH. Obesity research on how to obtain relevant information. *J Ori Rehab Med* 1998; 8(2):1-15.
4. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000;404(6778):635-43.
5. Department of Internal Medicine, Collage of medicine, Seoul University. Internal medicine. Seoul: Kunja company; 1996, p. 852-62.
6. Choi YJ, Lee S, KIM JU, Lee KE. Current guidelines on the management of dyslipidemia. *Korean J Clin Pharm* 2007;27(4):276-83.
7. Crandall JP, Mather K, Rajpathak SN, Goldberg RB, Waston K, Foo S, et al. Statin use and risk of developing diabetes: results from the diabetes prevention program. *BMJ Open Daib Res Care* 2017;5(1):1-8.
8. Cheng Zh. Chinese medicine prevention and treatment of hyperlipidemia. Beijing: People's Health Publishing House; 2002, p. 190-1.
9. Sung YY, Yoon T, Kim SJ, Yang WK, Kim HK. Anti-obesity activity of *Allium fistulosum* L. extract by down-regulation of the expression of lipogenic genes in high-fat diet-induced obese mice. *Mol Med Report* 2011;4(3):431-5.
10. Sung YY, Yoon T, Yang WK, Kim SJ, Kim HK. Anti-obesity effects of *Geranium thunbergii* extract via improvement of lipid metabolism in high-fat diet-induced obese mice. *Mol Med Report* 2011;4(6):1107-13.
11. Niu C, Chen C, Chen L, Cheng K, Yeh C, Cheng J. Decrease of blood lipids induced by Shan-Zha (fruit of *Crataegus pinnatifida*) is mainly related to an increase of PPAR α in liver of mice fed high-fat diet. *Horm Metab Res* 2011;43(9):625-30.
12. Yamamoto N, Kanemoto Y, Ueda M, Kawasaki K, Fukuda I, Ashida H. Anti-obesity and anti-diabetic effects of ethanol extract of *Artemisia princeps* in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *Food Funct* 2011;2(1):45-52.
13. Lai P, Du JR, Zhang MX, Kuang X, Li YJ, Chen YS, et al. Aqueous extract of *Gleditsia sinensis* Lam. fruits improves serum and liver lipid profiles and attenuates atherosclerosis in rabbits fed a high-fat diet. *J Ethnopharmacol* 2011;137(3):1061-6.
14. The co-textbook pubhshmg committee of Korean oriental medicine school. Seoul: Yeongrimsa; 2007, p. 682-4.
15. Kim HC. Herbal medicine pharmacology. Seoul: Jipmoomdang; 2001, p. 488-90.
16. Choi HS, Beik KY, Kim JB. Research Pape: Studies on Antioxidative Effects of Schisandra

- chinensis Seed Extract. *Journal of The Korean Society of cosmetology* 2012;18(4):908-15.
17. Kim SI, Sim KH, Ju SY, Han YS. A Study on Antioxidative and Hypoglycemic Activities of Omija(Schizandra chinensis Baillon) Extract under Variable Extract Conditions. *Korean J Food Nutr* 2009;22(1):41-7.
 18. Lee SH, Lee H. A Study on the Effect of Herbal-acupuncture with Schizandrae Fructus Solution on Hyperlipidemia in Rats Induced by High Fat Diet. *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society* 2011;28(2):143-53.
 19. Kwon HJ, Park CS. Biological Activities of Extracts from Omija(Schizandra chinensis Baillon). *Korean J Food Preserv* 2008;15(4):587-92.
 20. Kim HK, Na GM, Ye SH, Han HS. Extraction characteristics and antioxidative activity of Schizandra chinensis extracts. *J Korean Soc Diet C* 2004;19(5):484-90.
 21. Kim HY, Park SM, KIM YK. Effects of Schizandra Fructus hexane fraction on high fat diet induced hyperlipidemic mice. *The Journal of the Society of Stroke on Korean Medicin* 2014;15(1):13-28.
 22. Shin YR, Kim YK, Kim KM. The Effects of Schizandrae Fructus Chloroform Fraction on Gene Expression in Liver Tissue of Dyslipidemic Mice. *J Korean Med Obes Res* 2015;15(2):111-22.
 23. Choi EO, Lee BS, Park YS, Seo EO, Chung BW. Extraction condition from Schizandra chinensis Baillon for beverage development of high Schizandrin concentration. *Korean J Biotechnol Bioeng* 2008;23(3):271-5.
 24. Xing J, Guo Y, Hu H, Qu XL, Sun XZ, Liu SH, et al. A Herbal Composition of Semen Hoveniae, Radix Puerariae and Fructus Schisandrae Shows Potent Protective Effects on Acute Alcoholic in Rodent Models. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012:Article ID 638197:1-7.
 25. Choi YH. Effects of Schisandrae Fructus Supplementation on Apoptosis and Inflammatory Response in Gastrocnemius Muscle of Dexamethasone -Induced Muscle Atrophy Mice. *Herbal Formula Science* 2017;25(3):363-74.
 26. Park SY, Hwang HY, Seo EA, Kwon KB, Ryu DG. Inhibition Effects of Galla Chinensis Extract on Adipocyte Differentiation in OP9 Cells. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 2012;26(4):455-61.
 27. Lee Y, Lee HS, Jang SJ, Song JH. Effect of Water Extract of Schizandra Chinensis on Osteoclast Differentiation. *J Physiol & Pathol Korean Med* 2010;24(5):848-53.
 28. Park JA, Yoon JS. Comparison of Dietary Habits and Nutrient Intakes in Subjects with Obesity or Hyperglycemia Classified Metabolic Syndrome. *Journal of Nutrition and Health* 2005;38(8):672-81.
 29. Jonathan F, Eleazar E. Genome-wide association studies in mice. *Nat Rev Genet* 2012;13(11):807-17.
 30. Daly AK. Genome-wide association studies in pharmacogenomics. *Nat Rev Genet* 2010;11(4):241-6.
 31. Edda K, Ralf H, Axel K, Christoph W, Hans L. Systems Biology in Practice: Concepts, Implementation and Application. Berlin: John Wiley & Sons, US: 2008, p. 486.
 32. Arthur JS, Ley SC. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. *Nat Rev Immunol*

- 2013;13(9):679-92.
33. Matuoka K, Shibata M, Yamakawa A, Takenawa T (Oct 1992). Cloning of ASH, a ubiquitous protein composed of one Src homology region (SH) 2 and two SH3 domains, from human and rat cDNA libraries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(19):9015-9.