

황기가 6-Propyl-2-thiouracil(PTU)로 유발된 rat의 갑상선기능저하증에 미치는 영향

이지혜^{1#}, 구진숙², 노성수¹, 박지하¹, 서부일^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 안동대학교 자연과학대학 생약자원학과

The Effects of Astragali Radix on Hypothyroidism Rat Model Induced by 6-Propyl-2-thiouracil(PTU)

Ji Hye Lee^{1#}, Jin Suk Koo², Seong Soo Roh¹, Ji Ha Park¹, Bu Il Seo^{1*}

1 : Department of Herbology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University

2 : Department of Bioresource Science, Andong National University

ABSTRACT

Objectives : In present study, we investigated a therapeutic effect of Astragali Radix on hypothyroidism rat model induced by 6-Propyl-2-thiouracil (PTU).

Methods : Six-week-old male Sprague-Dawley rats were divided into five groups : Group one included the normal mice. Group two was administrated PTU. Group three and four were administrated the aqueous extract of Astragali Radix 150 and 300 mg/kg before start of PTU treatment. Group five (Positive control) was administrated with levothyroxine 0.5 mg/kg. During this moment the body weight, liver H₂O₂ and catalase (CAT) amount, serum thyroid hormone, serum aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), gland weights were measured with histopathological changes of thyroid glands. These results were compared with levothyroxine 0.5 mg/kg treated rats.

Results : The PTU treatment lead to marked decreases of body weight, level of thyroid hormone in serum and liver CAT activation. Also, PTU treatment increased thyroid gland weight, thyroid gland hormone TSH, liver H₂O₂ amount and level of AST in serum. On the other hands, the administration of Astragali Radix extract increased body weight gains and ameliorated histopathological changes of thyroid such as hyperplasia of follicular cells with of follicular colloid contents and sizes. In addition, the administration of Astragali Radix extract increased level of T₄ in serum, CAT activation in liver. Moreover, the administration of Astragali Radix extract decreased levels of TSH and AST in serum and H₂O₂ amount in liver

Conclusions : This study suggests that Astragali Radix extract has therapeutic effects on hypothyroidism via promoting thyroid hormone production.

Key words : Astragali Radix, Hypothyroidism, 6-Propyl-2-thiouracil, PTU

I. 서 론

갑상선기능저하증이란 갑상선호르몬이 부족한 대사상태로

주로 여성에게서 호발하는 질환이다¹⁾. 갑상선호르몬 결핍은 갑상선 조직의 소실로 호르몬의 생합성이 불가능하거나, 상위 조절중추인 뇌하수체 또는 시상하부의 기능이상으로 인해 갑

*Corresponding author : Bu-Il Seo, Department of Korean Medicine, Daegu Haany University.

· Tel : +82-53-819-1876 · E-mail : seojangsan@naver.com

#First author : Ji Hye Lee, Department of Korean Medicine, Daegu Haany University.

· Tel : +82-53-819-1876 · E-mail : 2eejjhh@gmail.com

· Received : 23 April 2019 · Revised : 16 May 2019 · Accepted : 25 May 2019

상선 자극원이 사라져 발생하며, 임상증상은 병증의 정도에 따라 매우 다양하나 전형적 증상으로 쇠약감, 피로, 내한성감소, 체중증가, 무력감, 식욕감퇴, 기억력 감퇴, 발한감소, 관절통, 근육통 및 변비 등이 나타난다²⁻⁴).

갑상선기능저하증 치료의 목표는 말초조직에서의 갑상선호르몬 수치를 정상화하는 것으로, liothyronine (T₃)제제, thyroxine (T₄)제제 또는 thyroxine-liothyronine 복합제제를 투여하는 갑상선호르몬 치환요법이 사용되고 그 중에서도 T₄제제의 투여가 가장 많이 이용되고 있다⁵). 하지만 이런 호르몬 보충요법은 평생 약물을 복용해야 한다는 불편함이 있을 뿐 아니라, 약물 복용 후에 호르몬 수치는 정상이지만 증상은 호전되지 않는 등의 문제가 발생할 수 있다⁶). 또한 과량의 levothyroxine (LT₄)투여로 불안정성 협심증이나 급성 심근경색 등의 허혈성 심질환이나 골다공증의 위험성이 증가한다는 보고도 있다^{1,6}).

갑상선기능저하증 환자는 매년 점차 늘어나고 있는데, 건강보험심사평가원 자료에 따르면 '기타 갑상선기능저하증(질병코드 E.03)'으로 진단받은 환자는 2013년 404,313명에서 2017년 488,606명으로, 4년간 약 17% 증가하였고, 요양급여비 역시 2013년 약 5천 172만원에서 2017년 약 7천 357만원으로 크게 증가하였다⁷). 따라서 부작용이 적고 효과 있는 치료제의 개발연구가 요구되는 실정이다.

황기 (Astragali Radix)는 콩과 (Leguminosae)에 속한 단년생초본인 단너삼 (*Astragalus membranaceus* Bunge) 및 동속 근연식물의 뿌리로, 補氣升陽, 固表止汗 및 托毒排膿의 효능이 있어 한의학 방제에 다용될 뿐 아니라 면역기계에 작용하는 대표적인 약물이다⁸). 현재 황기의 유효성분으로 다양한 종류의 flavonoid와 saponin으로 astragaloside가 밝혀졌고⁹, 이외에 D-glucose, fructose 및 sucrose와 같은 당류와 셀레늄, 규소 등의 미량 금속 원소 역시 황기에 함유되어 있다¹⁰. 최근 여러 연구들을 통해 황기의 면역활성효과가 발표되었으며¹¹, 이외에도 항산화¹², 항암¹³, 항바이러스¹⁴, 골 손실 억제¹⁵ 및 항염¹⁶ 등의 다양한 효과가 논문을 통해 보고되었다.

갑상선호르몬은 신체의 분화, 성장, 대사 과정에서 중요한 역할을 지니며 그 결과로 산화적스트레스의 생성이나 항산화 효소작용에 영향을 미치는데, 최근 연구결과를 통해 갑상선기능저하증 소견이 항산화제의 투여에 의해 현저히 감소되는 것으로 알려져 있다¹⁷⁻¹⁹).

따라서 본 연구에서는 황기의 항산화 효과에 주목하고 황기 추출물의 갑상선기능저하증에 대한 영향을 알아보고자 하였다. propylthiouracil (PTU)로 유발된 갑상선기능저하증 rat 모델을 이용하여 혈중 갑상선호르몬, aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT)의 농도, 간 조직 내 H₂O₂ 및 catalase (CAT) 농도의 변화를 갑상선의 중량 및 조직병리학적 변화와 함께 관찰하였다. 또한 황기추출물 투여의 결과는 LT₄ 0.5 mg/kg 투여군을 양성대조군으로 설정하여 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 동물

모든 실험은 동물관리 규정을 준수하여 진행하였으며, 6주령 수컷 Sprague-Dawley rat (SLC, Japan) 40마리를 구입하여 7일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였다. 실험 전 기간 동안 일정하게 조절된 사육실 (20-25℃, 30-35%, 12hr light-dark cycle)에서 사육 상자 당 4마리씩 나누어 사육하였고, 음수 및 사료 (Samyang, Korea)는 자유롭게 공급하였다. 모든 실험동물은 약물투여 시작일 및 실험 마지막 날 18시간 전 절식시켰고 (단, 이 기간에도 음수는 자유롭게 공급함), 개체 식별에는 picric acid를 사용하였다.

2. 약재 및 추출

국내산 황기 (경북 영천)를 구입하여 실험 전 대구한의대학교 본초학교실에서 관능평가를 통해 약전규격에 적합한 것만을 정선하여 사용하였다. 황기 5 kg을 정제수 50,000 ml로 가열하여 추출하고 (60℃, 3시간, 3회), 흡인·여과한 여과액을 감압·증류장치로 농축한 후 동결 건조기로 완전 건조하여 총 582 g의 (수율 11.64%)의 연갈색의 추출물을 얻었다. 황기 추출 동결건조물은 -20℃로 냉동보관 하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 60 mg/ml의 농도까지 잘 용해하여 사용하였다.

3. 실험군 배정 및 약물의 투여

실험동물은 그룹 당 8마리씩 정상대조군, PTU대조군, LT₄ 투여군, 황기추출물 300 mg/kg 투여군 (AR300투여군) 및 황기추출물 150 mg/kg 투여군 (AR150투여군)으로 나누어 실험을 실시하였다. 황기추출물 600 또는 300 mg을 각각 10 ml의 멸균 증류수에 용해하고 5 ml/kg의 용량으로 zonde가 부착된 5 ml 주사기를 이용하여 PTU 투여 시작 2주전부터 42일 동안 매일 1회씩 경구투여 하였다. LT₄ (Sigma, MO, USA) 2.5 mg을 생리 식염수 10 ml에 용해하고 2 ml/kg의 용량으로 PTU 투여 시작일로부터 28일 동안 매일 복강 주사하였다. 한편 정상 및 PTU대조군에서는 동일용량의 멸균 증류수를 28일간 경구 투여하였다.

4. 갑상선기능저하증의 유발

PTU (Sigma, MO, USA) 50 mg을 10 ml 생리 식염수에 용해하여 사용하였고, kg 당 2 ml의 용량을 28일간 매일 1회씩 등쪽 경부에 피하주사하여 갑상선기능저하증을 유발하였다. 한편 정상대조군에는 PTU 대신 동일용량의 생리식염수를 동일한 방법으로 투여하였다.

5. 갑상선 중량 측정

실험 마지막 날에 좌측 갑상선을 적출하여 측정된 중량을 절대 중량 (absolute weight)으로 하였다. 체중변화로 인한 영향을 최소화하기 위해 체중에 대한 갑상선 절대중량의 비율인 상대 중량을 다음과 같이 산출하였다.

상대중량 (Relativerelative thyroid gland weights)
 = (Absolute kidney weight / Body weight at sacrifice) × 100

7. 채혈 및 혈청의 분리

실험 마지막 날 (day 42)에 실험동물을 18시간 이상 절식 시킨 후 후대정맥에서 6 ml의 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 상온에서 1시간 방치 후 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하고, 분석 전까지 -70℃의 초저온냉장고에 보관하였다.

8. 혈청 내 함량 분석

혈청 중 TSH, T₃ 및 T₄ 함량을 Radioimmunoassay 법²⁰⁾에 따라, Gamma count Cobra II (Packard Co., IL, USA) 및 Coat A count Total TSH, T₃ 또는 T₄ kit (DPC, CA, USA)를 이용하여 µg/ml 또는 ng/ml 단위로 측정하였다. 자동혈액분석장치 (Toshiba 200 FR, Japan)를 이용하여 혈청 중 AST 및 ALT 함량은 각각 IU/l 단위로 측정하였다.

9. 간 조직 내 H2O2 및 CAT 분석

Kavutcu 등의 방법²¹⁾에 따라, 적출한 간의 일부 조직을 얼음으로 냉각 (ice-cold) 한 0.01 M Tris-HCl (pH 7.4)을 이용하여 homogenize 한 다음, 800×g으로 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하고, 다시 12,000×g 으로 15분간 원심분리하여, mitochondrial fraction을 준비하였다. 이 후 단백질 함량을 Lowry 등의 방법²²⁾으로 bovine serum albumin을 이용하여 측정하였다. H₂O₂ 함량은 Pick and Keisari의 방법²³⁾에 따라 horseradish peroxidase (Sigma, MO, USA)와 phenol red (Wako, Japan)를 이용하여, nM/mgg protein 단위로 spectrophotometry로 측정하였으며, 이전의 방법²⁴⁾에 따라, H₂O₂ 분해능을 이용하여 CAT 함량을 흡광도 240 nm에서 측정하였다. 즉, pH 7.0, 온도 25℃하에서 1 µmol의 H₂O₂를 분해하는데 필요한 CAT를 1 unit (U)로 정의하여, CAT의 활성을 U/mg protein의 단위로 평가하였다.

10. 조직병리학적 분석

좌측 갑상선 조직을 적출하여 세포로 절단하고, 10% 중성 포르말린에 18시간 이상 고정한 후 탈수하고 파라핀에 포매하였다. 포매한 조직은 4 µm의 절편으로 잘라 hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 또한 세포 절단을 실시한 갑상선 전체 두께 (mm/central regions), 피막 두께 (µm/thyroid) 및 평균 갑상선 여포 직경 (µm/follicle)을 CCD image analyzer (DMI-300, DMI, Korea)를 이용하여 측정하였다.

11. 통계분석

모든 데이터는 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 다중비교 검증을 이용하여 통계처리를 실시하였으며, 분산동질성을 Levene test를 통해 검증 하였다. 등분산의 경우에는 one way

ANOVA test를 실시한 후 least-significant differences (LSD) test로 사후검증하여 군 간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하였으며, 유의성이 인정된 경우 Mann-Whitney U test로 군 간의 유의성을 측정하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows (Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하였으며, 통계적 유의성은 p-value <0.05에서 검증하였다.

III. 결 과

1. 체중의 변화

PTU대조군에서는 정상대조군에 비해 PTU 투여 2주 이후로 유의한 체중의 감소를 보였고, 실험기간동안의 증체량 역시 정상대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다. AR300 및 AR150투여군에서 약물 투여 후 41일에 국한되어 PTU대조군과 비교했을 때 유의한 체중의 증가를 나타내었고, 이외 유의성 있는 체중의 변화는 보이지 않았다. 또한 AR300투여군에서 PTU투여군에 비해 체중증체량의 유의한 증가를 볼 수 있었다. 한편 LT₄투여군에서는 약물투여 2주 후부터 PTU대조군에 비해 체중의 유의한 증가를 보였고 (p < 0.01), 실험 전 기간 동안의 증체량이 PTU대조군에 비해 유의하게 증가되었다 (Table 1, Fig. 1.).

Table 1. Changes on the body weight gains after LT₄ and AR extracts treatment in PTU treated rats.

Groups	Body weight gains during		
	2 weeks of AR extracts pretreatment	4 weeks of PTU treatment	6 weeks of total experiments
Controls			
Intact	124.38 ± 9.01	63.75 ± 11.02	188.13 ± 18.23
	127.00 ± 6.32	-15.38 ± 7.80 ^b	116.63 ± 9.84 ^a
LT ₄ treatedgroup			
0.5 mg/kg	125.00 ± 6.19	50.88 ± 14.59 ^d	175.88 ± 14.52 ^c
	AR extracts treated groups		
300 mg/kg	127.88 ± 9.36	-2.88 ± 5.74 ^{b,d}	125.00 ± 8.83 ^a
	150 mg/kg	132.25 ± 9.69	-11.88 ± 5.82 ^b

AR; Astragali Radix, PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil, LT₄; Levothyroxine. Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats. Significance: ^a p < 0.01 as compared with intact control by LSD test, ^b p < 0.01 as compared with intact control by MW test, ^c p < 0.05 as compared with PTU control by LSD test, ^d p < 0.05 as compared with PTU control by MW test.

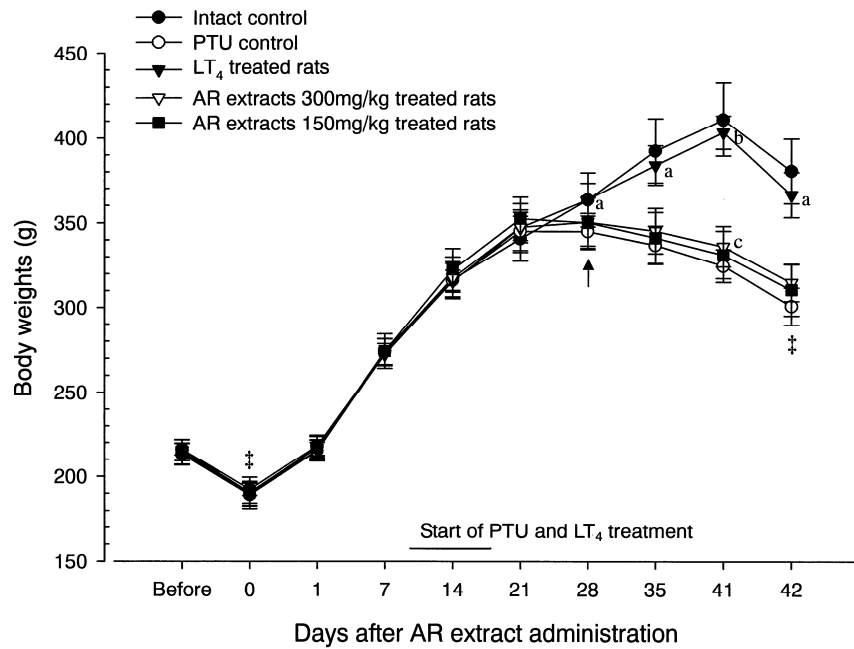


Fig. 1. Body weight changes after LT₄ and AR extracts treatment in PTU treated rats. Note that the body weights in PTU control were significantly decreased from 2 weeks after PTU treatment, at 28 days after AR extract administration (arrow). However, these body weight decreases were significantly inhibited by treatment of LT₄, from 2 weeks after treatment. In the both AR extract treated groups, no significant changes on the body weights were detected as compared with PTU control except for significant increases in 300 mg/kg treated rats at 41 days after treatment, respectively.

AR; Astragali Radix, PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil, LT₄; Levothyroxine. Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats. Significance: ^a p < 0.01 as compared with PTU control by LSD test, ^b p < 0.01 and ^c p < 0.05 as compared with PTU control by MW test. † means, at start of AR extracts administration. All rats at start of AR extract administration and sacrifice were overnight fasted (†).

2. 혈청 중 갑상선호르몬 함량의 변화

정상대조군에 비해 PTU대조군에서 혈청 중 TSH 함량이 유의성 있게 증가하였고, T₃ 및 T₄ 함량이 유의성있게 감소하

였다 (p < 0.01). LT₄ 및 AR300, AR150투여군에서는 PTU투여군에 비해 혈청 중 TSH 함량은 유의하게 감소하였고, T₄ 함량은 유의하게 증가하였다. 하지만 혈청 중 T₃ 함량은 PTU대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 2).

Table 2. Changes on the serum thyroid hormone levels after LT₄ and AR extracts treatment in PTU treated rats.

Groups	Serum levels		
	Thyroid stimulating hormone (ng/ml)	Tri-iodothyronine (ng/ml)	Thyroxine (µg/ml)
Controls			
Intact	15.08 ± 1.80	74.24 ± 2.71	4.20 ± 0.33
PTU	57.48 ± 11.54 ^a	17.33 ± 2.93 ^a	0.90 ± 0.20 ^a
LT ₄ treatedgroup			
0.5 mg/kg	12.05 ± 1.35 ^{ab}	18.23 ± 3.78 ^a	6.61 ± 1.22 ^{ab}
AR extracts treated groups			
300 mg/kg	39.14 ± 6.54 ^{ab}	17.55 ± 1.46 ^a	1.21 ± 0.17 ^{ad}
150 mg/kg	44.35 ± 3.99 ^{ac}	18.08 ± 1.39 ^a	1.11 ± 0.12 ^{ad}

AR; Astragali Radix, PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil, LT₄; Levothyroxine. Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats. Significance: ^a p < 0.01 as compared with intact control by MW test, ^b p < 0.01 and ^c p < 0.05 as compared with PTU control by MW test.

3. 혈청 중 AST 및 ALT 함량의 변화

정상대조군에 비해 PTU대조군에서 혈청 중 AST 수치가 유의하게 증가하였으나 ($p < 0.01$), LT₄, AR300, AR150의 투여는 AST 수치를 각각 유의성 있게 억제하였다. 한편 PTU 투여로 인한 유의미한 혈청 중 ALT 수치의 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 2.).

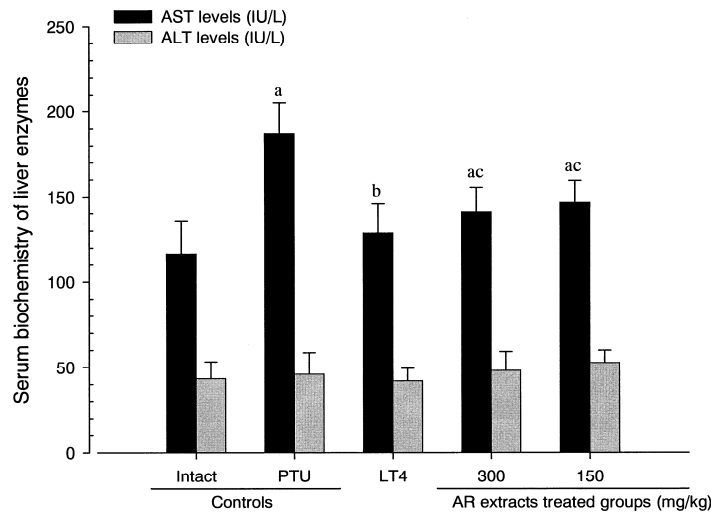


Fig. 2. Serum AST and ALT changes after LT₄ and AR extracts treatment in PTU treated rats.

AR; Astragali Radix, PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil, LT₄; Levothyroxine, AST; Aspartate aminotransferase, ALT; Alanine aminotransferase. Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats.

Significance: ^a $p < 0.01$ as compared with intact control by LSD test, ^b $p < 0.01$ and ^c $p < 0.05$ as compared with PTU control by LSD test

4. 간 조직 내 H₂O₂ 및 CAT 측정

PTU 투여로 간 조직 내 H₂O₂ 수치가 증가하였고, CAT 함량은 유의하게 감소하였다. LT₄투여군과 AR300투여군 및 AR150 투여군 모두 PTU대조군에 비해 H₂O₂는 감소하고, CAT는 유의하게 증가하였다 (Table 3).

Table 3. Changes on the liver antioxidant defense systems after LT₄ and AR extracts treatment in PTU treated rats.

Groups	Liver contents	
	H ₂ O ₂ (nM/mg protein)	Catalse (U/mg protein)
Controls		
Intact	112.75 ± 23.11	304.75 ± 52.50
PTU	195.38 ± 18.09 ^a	161.25 ± 18.17 ^c
LT ₄ treatedgroup		
0.5 mg/kg	93.38 ± 11.01 ^{bd}	210.38 ± 27.87 ^{cf}
AR extracts treated groups		
300 mg/kg	149.00 ± 17.16 ^{ad}	211.38 ± 13.90 ^{cf}
150 mg/kg	159.29 ± 13.97 ^{ad}	187.75 ± 17.53 ^{cg}

AR; Astragali Radix, PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil, LT₄; Levothyroxine, MDA; malondialdehyde, SOD; Superoxide dismutase. Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats. Significance: ^a $p < 0.01$ and ^b $p < 0.05$ as compared with intact control by LSD test, ^c $p < 0.01$ as compared with intact control by MW test, ^d $p < 0.01$ and ^e $p < 0.05$ as compared with PTU control by LSD test, ^f $p < 0.01$ and ^g $p < 0.05$ as compared with PTU control by MW test

5. 갑상선 중량의 변화

PTU대조군에서는 정상대조군에 비해 절대 및 상대 갑상선 중량이 유의하게 증가하였으나 ($p < 0.01$), LT₄ 및 AR300, AR150투여군에서는 PTU대조군에 비해 절대 및 상대 갑상선 중량이 유의하게 감소되었다 (Fig. 3.).

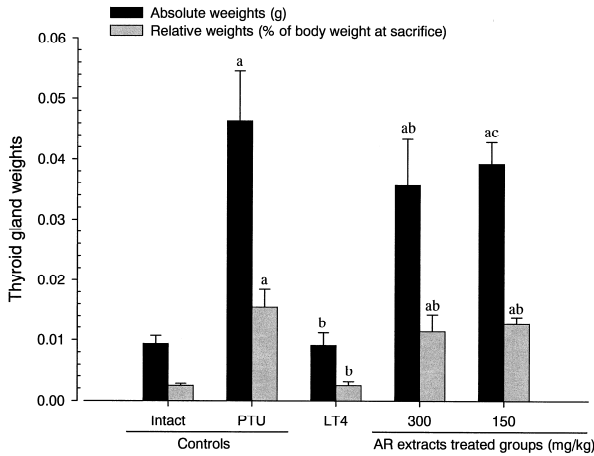


Fig. 3. Thyroid gland weight changes after LT₄ and AR extracts treatment in PTU treated rats.

AR; Astragali Radix, PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil, LT₄; Levothyroxine. Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats. Significance: ^a $p < 0.01$ as compared with intact control by LSD test, ^b $p < 0.01$ and ^c $p < 0.05$ as compared with PTU control by LSD test.

6. 조직병리학적 관찰

정상대조군과 비교하여 PTU대조군에서는 현저한 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견이 여포 직경 및 여포 내 colloid 물질의 감소와 함께 관찰되었으며, 갑상선 전체 두께 및 피막 두께의 증가와 갑상선 여포 직경의 감소를 함께 보였다. 한편 LT₄ 및 AR300, AR150 투여는 PTU대조군에 비해 갑상선 전체 두께 및 피막 두께의 감소 및 여포 직경의 증가를 보였다 (Fig. 4.).

IV. 고 찰

갑상선기능저하증이란 갑상선호르몬의 결핍으로 발생하는 임상증후군으로, 열 발생의 저하로 체온하강 및 내한성감소가 나타나고, 이화작용의 저하로 조직 내 대사산물의 축적이 유발되며, 모든 장기에서 기능저하현상이 나타나 나태감을 느끼게 된다²⁵⁾. 또한 태아 및 신생아의 경우에는 초기에 발견하여 치료하지 않으면 비가역적 뇌손상이나 성장 발육 지연의 원인이 되기도 한다²⁶⁾.

한의학에서는 갑상선기능저하증을 浮腫, 虛勞, 行遲, 語遲, 結陽證 등의 질병에 속한다고 보고 발병원인을 크게 氣血不足, 脾腎陽虛, 命門火衰, 心腎陽虛으로 나누어 補氣補血, 溫補脾腎, 溫補腎陽, 溫補心陽 등의 치법을 통해 치료한다²⁷⁾. 최근 갑상선기능저하증의 한의학치료에 대한 연구가 다수 이루어지고

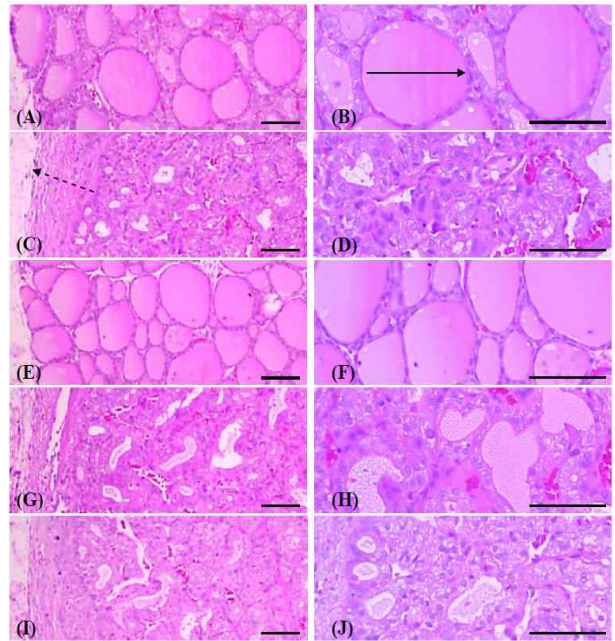


Fig. 4. Representative histopathological profiles of the left thyroid glands in the intact control(A, B), PTU control(C, D), LT₄(E, F), AR extracts 300(G, H) and 150(I, J) mg/kg treated rats. All H&E stain, Scale bars = 160 μm. Arrow indicated the mean capsule thickness measured. Dot arrow indicated mean follicle thickness measured. AR; Astragali Radix, PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil, LT₄; Levothyroxine.

있는데, 補氣血하는 十全大補湯²⁸⁾, 人蔘養榮湯²⁹⁾, 益氣補血湯³⁰⁾, 理中湯³¹⁾, 補陰하는 滋陰降火湯³²⁾과 大營煎³³⁾, 補腎陽하는 眞武湯³⁴⁾ 및 溫經散寒하는 當歸四逆湯³⁵⁾ 등의 복합방제 및 肉蓯蓉³⁶⁾, 淫羊藿³⁷⁾, 附子³⁸⁾ 등의 單味 약물이 갑상선기능저하증에 효과가 있는 것으로 실험을 통해 밝혀졌다.

黃芪는 대표적인 補氣藥으로 補氣固表하여 止汗하는 작용이 있고, 溫運陽氣하며 利水消腫하고 또한 正氣를 도와 托毒生肌한다³⁹⁾. 황기는 방제에 多用되며 갑상선기능저하증에 효과가 있는 것으로 밝혀진 十全大補湯, 人蔘養榮湯, 益氣補血湯의 구성약물이기도 하다. 하지만 이제까지 황기 단일 약재로 갑상선기능저하증에 미치는 효능을 연구한 결과는 없었다. 溫運陽氣, 利水消腫하는 황기의 한의학적 효능뿐만 아니라 최근 연구로 밝혀진 황기의 항산화능을 참고하여 황기가 浮腫, 虛勞, 行遲, 語遲, 結陽證에 대응되는 갑상선기능저하증에 효과가 있을 것으로 기대하고 본 실험을 진행하게 되었다.

실험에는 6주령의 수컷 Sprague-Dawley rat을 사용하였으며 PTU 피하투여를 통해 갑상선기능저하증을 유발하였다. PTU는 갑상선에서 요오드와 tyrosine의 결합을 경쟁적으로 억제함으로써 TSH의 분비를 증가시키고 말초조직에서 T₄가 T₃으로 전환되는 것을 억제하여 PTU는 비활동성 갑상선 종대 (simple goiter) 유발로 갑상선 기능을 억제하는 대표적인 항갑상선제로 갑상선기능저하증 동물모델제작에 사용되는 약물이다¹⁸⁾.

갑상선기능저하증의 주요 진단기준 중 하나는 갑상선호르몬 및 갑상선자극 호르몬의 혈청 중 농도 변화로, 일차성 갑상선기능저하증의 경우 TSH의 증가, T₄의 감소, T₃의 정상 내지 감소로 진단한다. 본 실험에서 PTU를 투여한 결과 TSH의

유의한 증가와 함께 T_3 및 T_4 의 유의한 감소가 관찰되어, PTU를 투여 동물모델에서 갑상선기능저하증이 효과적으로 유발되었음을 확인할 수 있었다. 한편 두 농도의 황기추출물이 갑상선호르몬에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험종로 후 혈청 중 TSH, T_4 , T_3 농도를 측정된 결과, 투여군에서는 TSH와 T_4 의 혈청 중 농도가 용량 의존적으로 유의하게 감소되었으며, T_3 농도에는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 황기가 갑상선호르몬의 합성 촉진에 효과가 있음을 시사한다. 혈청 중 T_3 농도는 두 농도의 황기추출물 및 LT₄ 투여군 모두에서 유의한 증가가 관찰되지 않았는데, 이는 PTU로 인한 결과로 추정된다. 혈중 T_3 의 80~90%는 5'-탈요오드화효소에 의해 T_4 로부터 전환된 것인데 PTU는 이 효소의 활성을 억제하기 때문이다⁵⁾.

갑상선기능저하 시 대사의 지연과 이화작용의 감소로 조직 내 당단백질이 침착해 일반적으로 체중의 증가가 나타난다²⁵⁾. 하지만 반대로 체중증가에 대한 보상으로 인한 leptin의 분비의 증가로 식욕이 저하되고 에너지 대사율이 증가되어 체중의 감소가 유발되기도 한다⁴⁰⁾. 또한 10 mg/kg 이상의 PTU 투여는 실험동물의 체중감소를 유발시키므로, 일반적으로 PTU 유발 갑상선기능저하증 rat 모델에서 체중감소가 관찰된다는 실험 결과가 발표되었다^{19,20)}. 본 실험에서도 PTU대조군에서는 PTU 투여로 체중 및 증체량이 유의하게 감소하였으나, 이러한 감소는 300 mg/kg 의 황기추출물 투여로 억제되었다. 본 결과는 고 용량의 황기 추출물이 PTU 투여로 인한 갑상선기능저하증으로 유발되는 체중의 감소를 효과적으로 억제하는 것을 보여준다.

갑상선기능저하증은 갑상선호르몬 감소와 함께 비활동성 갑상선 종대를 유발하며 조직병리학적으로 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견과 여포 내 colloid물질의 감소 및 여포 직경의 감소를 관찰할 수 있다^{19,20,41)}. 본 실험 결과 PTU투여에 따른 갑상선기능저하증으로 인해 갑상선의 중량이 유의하게 증가되고 여포세포의 증생, 여포 직경 및 여포 내 colloid 물질의 감소 등의 전형적인 비활동성 갑상선 종대 소견이 관찰되었으며, 이러한 변화는 두 용량의 황기 추출물 투여에 의해 용량 의존적으로 억제되었다. 따라서 황기 추출물은 PTU에 의한 갑상선의 변화를 직접적으로 억제할 수 있는 것으로 판단된다.

갑상선호르몬은 인체 항산화시스템과 관련이 있으며, 기존 몇몇 연구를 통해 갑상선기능저하증의 경우 산화적 스트레스가 증가하며, 갑상선기능저하증 소견이 항산화제의 투여에 의해 현저히 감소된다는 결과가 발표된 바 있다¹⁷⁻¹⁹⁾. 먼저 황기의 항산화 활성을 알아보기 위해 간 조직내의 CAT와 H_2O_2 의 농도를 측정하였다. CAT는 H_2O_2 를 H_2O 와 O_2 로 전환시켜 산화로 인한 손상을 방지하는 대표적인 항산화효소로, 갑상선기능저하증에서 CAT의 활성은 정확히 밝혀지지 않아 발표된 여러편의 연구 중 정상군에 비해 높은 결과⁴²⁾와 정상군에 비해 낮은 결과⁴³⁾가 혼재되어있는데, 이는 연구설계, 규모, 갑상선기능저하의 정도 및 타 질환유무 등의 차이에 따른 것으로 보인다. 본 실험에서 PTU 투여로 인해 간 조직 내 H_2O_2 의 농도가 유의하게 증가하였고, 이는 두 농도의 황기추출물 투여로 유의하게 감소하였다. 또한 PTU 투여로 감소한 CAT의 농도가 황기추출물 투여로 인해 유의하게 증가한 것을 관찰할 수 있었다.

간은 갑상선호르몬에 의해 영향을 받는 장기로 갑상선기능저하증시 간 손상이 수반되기도 한다⁴⁴⁻⁴⁶⁾. AST와 ALT 효소의 혈청 내 농도가 간 손상 평가지표로서 활용되고 있는데⁴⁷⁾, 갑상선기능저하증 환자들에게서 이 효소들의 혈청 내 상승이 관찰된다^{19,48)}. 한편 일부 연구에서는 ALT 수치의 상승 없이 AST 수치만 증가한다는 결과도 존재한다¹⁹⁾. 또한 PTU를 투여한 갑상선기능항진증 환자들 중 30%에서도 AST와 ALT의 증가가 관찰된다는 연구 보고가 있다⁴⁹⁾. 본 실험에서는 이전의 연구²⁰⁾와 유사하게, PTU 투여에 의해 유의한 혈중 AST 함량의 증가가 유발되었으나, ALT 함량의 증가는 나타나지 않았다. 반면 황기추출물 투여군에서는 PTU대조군에 비해 혈청 중 AST 함량의 현저한 감소가 관찰되었다.

황기추출물은 PTU로 갑상선기능저하증이 유도된 rat에서 갑상선호르몬의 분비기능이상과 혈청 AST농도 상승 및 갑상선의 조직병리학적 변화를 개선시켰다. 또한 갑상선기능저하증에 따른 간 조직 내 H_2O_2 및 CAT 변화를 개선시켰다. 이러한 효과는 황기의 항산화능과 관련이 있는 것으로 생각되나, 검증은 위해서는 추가적인 실험이 필요하다.

V. 결 론

본 연구에서는 갑상선기능저하증에서 황기 추출물의 효과를 확인하기 위해 PTU로 유발 갑상선기능저하증 동물모델에서 체중, 갑상선호르몬 변화, 갑상선 중량 및 조직병리학적 변화, 혈청 중 AST, ALT 함량 및 간 조직 내 H_2O_2 및 CAT 변화를 측정하여 얻은 결과는 다음과 같다.

1. 황기추출물은 갑상선기능저하증에 따른 TSH증가 및 T_4 결핍을 개선하였다.
2. 황기추출물은 갑상선기능저하증에 따른 혈중 AST농도의 증가를 억제하였다.
3. 황기추출물은 갑상선기능저하증에 따른 간 조직 내 H_2O_2 증가를 억제하고 감소된 CAT를 증가시켰다.
4. 황기추출물은 갑상선기능저하증에 따른 갑상선조직의 병리변화 및 갑상선종대를 억제하였다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때, 황기추출물이 갑상선기능저하증의 개선에 도움을 줄 수 있음을 확인할 수 있었으며, 추가 연구를 통하여 갑상선기능저하증 치료제 개발에 적극적으로 활용할 수 있으리라 사료된다.

References

1. Cho BY, Clinical Thyroidology, 2nd rev. ed. Seoul : Korea Medical Book Publishing Company, 2001 : 409-41.
2. Andreoli TE , Carpenter CJ , Plum F, Smith L, Cecil

- Essentials of Medicine, Philadelphia : WB Saunder's Company, 1986 : 436-7.
3. Guyton AC, Textbook of Medical Physiology, Philadelphia : WB Saunder's Company, 1986 : 906-8.
 4. Schmidt RF, Thews G, Human Physiology, Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 1989 : 385-6.
 5. Ahn SY, Thyroid Clinic, Seoul : Seongbosa, 2004 : 45-8, 132-59, 241-8.
 6. Wiersinga WM, Thyroid hormone replacement therapy, Horm Res, 2001 ; 56 : 74-81.
 7. Health Insurance Review & Assessment Service, Healthcare Bigdata Hub, 2013-2017, Available from : URL : <http://opendata.hira.or.kr/op/opc/olap3thDsInfo.do>
 8. Kim DH, Kim HM, Ryu JH, Eom JY, Kim SC, Yang JH, Cho MK, IM JP, Hong SH, Herbal Pharmacology, 2nd rev. ed, Seoul : Shinilbooks, 2006 : 758-61.
 9. Song JZ, Yiu HH, Qiao CF, Han QB, Xu HX, Chemical comparison and classification of Radix Astragali by determination of isoflavonoids and astragalosides, J Pharm Biomed Anal, 2008 ; 47 : 399-406.
 10. Zhang ZZ, Liang XM, Zhang Q, Lu PZ, Characterization and recognition key components in Astragalus membranaceus Yao Xue Xue Bao, 2001 ; 36 : 523-7.
 11. Wang RT, Shan BE, Li QX, Extracorporeal experimental study on immuno-modulatory activity of Astragalus membranaceus extract Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2002 ; 22 : 453-6.
 12. Chan JY, Lam FC, Leung PC, Che CT, Fung KP, Antihyperglycemic and antioxidative effects of a herbal formulation of Radix Astragali, Radix Codonopsis and Cortex Lycii in a mouse model of type 2 diabetes mellitus, Phytother Res, 2009 ; 23 : 658-65.
 13. Cui R, He J, Wang B, Zhang F, Chen G, Yin S, Shen H, Suppressive effect of Astragalus membranaceus Bunge on chemical hepatocarcinogenesis in rats, Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2003 ; 51 : 75-80.
 14. Sun Y, Yang J, Experimental study of the effect of Astragalus membranaceus against herpes simplex virus type 1, Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2004 ; 24 : 57-8.
 15. Kim C, Ha H, Lee JH, Kim JS, Song K, Park SW, Herbal extract prevents bone loss in ovariectomized rats, Arch Pharm Res, 2003 ; 26 : 917-24.
 16. Prieto JM, Recio MC, Giner RM, Máñez S, Giner-Larza EM, Ríos JL, Influence of traditional Chinese anti-inflammatory medicinal plants on leukocyte and platelet functions, J Pharm Pharmacol, 2003 ; 55 : 1275-82.
 17. Das K, Chainy GB, Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone, Biochim Biophys Acta, 2001 ; 1537 : 1-13
 18. Sarandöl E, Taş S, Dirican M, Serdar Z, Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism: effect of vitamin E supplementation, Cell Biochem Funct, 2005 ; 23 : 1-8.
 19. Subudhi U, Das K, Paital B, Bhanja S, Chainy GB, Supplementation of curcumin and vitamin E enhances oxidative stress, but restores hepatic histoarchitecture in hypothyroid rats, Life Sci, 2009 ; 84 : 372-9.
 20. O'Connor JC, Frame SR, Ladics GS, Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators, Toxicol Sci, 2002 ; 69 : 79-91.
 21. Kavutcu M, Canbolat O, Oztürk S, Olcay E, Ulutepe S, Ekinci C, Gökhan IH, Durak I, Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs : effects of vitamins E and C, Nephron, 1996 ; 72 : 269-74.
 22. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall R J : Protein measurement with the Folin phenol reagent, J Biol Chem, 1951 ; 193 : 265-75.
 23. Pick E, Keisari Y, Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages--induction by multiple nonphagocytic stimuli, Cell Immunol, 1981 ; 59 : 301-18.
 24. Aebi H, Catalase, In : Bergmeyer HU(Ed.), Methods in Enzymatic Analysis, New York : Academic Press Inc, 1974 : 673-686.
 25. Roti E, Minelli R, Gardini E, Braverman LE, The use and misuse of thyroid hormone, Endocr Rev, 1993 ; 14 : 401-24.
 26. Smith DW, Klein AM, Henderson JR, Myriantopoulos NC, Congenital hypothyroidism--signs and symptoms in the newborn period, J Pediatr, 1975 ; 87 : 958-62.
 27. Doo HK, Nephro-Endocrine system of Korean Medicine, Seoul : Korean Medicine Laboratory, 1993 : 729, 867-74, 1042, 1059-65.
 28. Choi JY, et al, Effects of Sipjeondaebotang on the white rat Hypothyroidism Induced by PTU (6-n-propyl-2-thiouracil), Official Journal of The Korean Medicine Society For The Herbal Formula Study, 2016 ; 24 : 131-52.

29. Park EY, Kim DC. Effects of Insamyangyoung-tang Aqueous Extracts on the Hypothyroidism Induced by Propylthiouracil in Rats. *J Korean Obstet Gynecol*. 2015 ; 28 : 55-75
30. on JH, Kim DC. Effects of Yikgeebohyul-tang Aqueous Extracts on the Rat Hypothyroidism Induced by Propylthiouracil. *J Korean Obstet Gynecol*. 2015 ; 28 : 54-73.
31. Yu-Rim Song, Kyung-Mi Park, Seung-Jeong Yang, Eun-Kyu Lee, Seung-Ho Lee, Seong-Hee Cho. Effects of Yijung-tang (YJT) on Experimental Hypothyroidism in Mice. *J Korean Obstet Gynecol*. 2017; 30 : 1-15.
32. Kim SJ, Kim DC. Effects of Jaeumkanghwa-tang on the Rat Hypothyroidism Induced by Propylthiouracil (PTU). *J Korean Obstet Gynecol*. 2014 ; 27 : 41-64
33. Kim DH, Choi JS, Kim CJ, Cho CS. The Effects of Daeyoungjeon (DYJ) on the Hypothyroidism in Rats. *Kor. J. Herbol*. 2007 ; 22 : 35-43.
34. Choi IG, Chae EY, Chang SK, Cho CS, Kim CJ. Effects of Jinmutang (JMT) on Hypothyroidism in Rats. *Korean J. Orient. Int. Med*. 2006 ; 27 : 879-87.
35. Cho CS, Kim DB, Kim CJ. The Effects of Danggwisaeyeoktang on the Hypothyroidism of Rats. *Kor. J. Herbol*. 2007 ; 22 : 95-102.
36. Lee SJ, Back SH, Ahn SY, Lee BC, Ahn YM. Effects of Cistanche Deserticola on Thyroid Function in Hypothyroidism Rat Model Induced by PTU(6-Propyl, 2-thiouracil). *Korea J. Oriental Physiology & Pathology*. 2011 ; 25 : 989-95.
37. Hong MJ, Ahn SY, Lee BC, Ahn YM. The Effects of Epimedii Herba on a Hypothyroidism Rat Model induced by PTU(6-Propyl, 2-thiouracil). *Journal of Pharmacopuncture*. 2011 ; 14 : 13-22.
38. Lee SH, Lee BC, Ahn YM, Doo HK, Ahn SY. The Effects of Aconiti Radix on Thyroid Function in Hypothyroidism Rat Model Induced by 6-propyl-2-thiouracil (PTU). *Korean J. Orient. Int. Med*. 2007 ; 28 : 275-83.
39. Textbook Compilation Committee of National University of Korean Medicine. *Herbology*. Seoul: Yeonglimsa, 2007 : 576-8.
40. Kim MS, Yoon CY, Cho YM, Jung HS, Shin CS, Park KS, Kim SY, Cho BY, Lee HK. Changes in Plasma Leptin Levels Relating to Short-Term Thyroid Manipulation in Rats. *Endocrinology and Metabolism*. 2002 ; 17 : 197-205
41. Yang Y, Gordon CJ. Regulated hypothermia in the hypothyroid rat induced by administration of propylthiouracil. *Am J Physiol*. 1997 ; 272 : 1390-5.
42. Santi A, Duarte MM, de Menezes CC, Loro VL. Association of lipids with oxidative stress biomarkers in subclinical hypothyroidism. *Int J Endocrinol*. (2012) 2012:856359. doi: 10.1155/2012/856359
43. Carmeli E, Bachar A, Barchad S, Morad M, Merrick J. Antioxidant status in the serum of persons with intellectual disability and hypothyroidism: a pilot study. *Res Dev Disabilities*. 2008 ; 29 : 431-8.
44. Feng X, Jiang Y, Melzer P, Yen PM. Thyroid hormone regulation of hepatic genes in vivo detected by complementary DNA microarray. *Mol Endocrinol*. 2000 ; 14 : 947-55.
45. Simon-Giavarotti KA, Giavarotti L, Gomes LF, Lima AF, Veridiano AM, Garcia EA, Mora OA, Fernández V, Videla LA, Junqueira VB. Enhancement of lindane-induced liver oxidative stress and hepatotoxicity by thyroid hormone is reduced by gadolinium chloride. *Free Radic Res*. 2002 ; 36 : 1033-9.
46. Laycock MA, Pascuzzi RM. The neuromuscular effects of hypothyroidism. *Semin Neurol*. 1991 ; 11 : 288-94.
47. Amin A, Hamza AA. Oxidative stress mediates drug-induced hepatotoxicity in rats: a possible role of DNA fragmentation. *Toxicology*. 2005 ; 208 : 367-75.
48. Chattopadhyay S, Sahoo DK, Subudhi U, Chainy GB. Differential expression profiles of antioxidant enzymes and glutathione redox status in hyperthyroid rats: a temporal analysis. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2007 ; 146 : 383-91.
49. Williams KV, Nayak S, Becker D, Reyes J, Burmeister LA. Fifty years of experience with propylthiouracil-associated hepatotoxicity: what have we learned? *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 ; 82 : 1727-33.