

Aloe vera의鉛誘導性神經系毒性低減機轉에 관한研究

정명규·곽영규*

선문대학교 환경공학과, *동의공업전문대학 환경공학과

A study on the mechanism for reduction of lead-induced toxicity in nervous system by *aloe vera*

Myung-Kiu Chung and Young-Kyu Kwack*

Department of Environmental Engineering, Sun Moon University

*Department of Environmental Engineering, Dong Ei Technical College

ABSTRACT

Effects of water extract of *aloe vera* on lead-induced neurotoxicity were investigated in sciatic nerve isolated from rat. The mechanism on toxicity reduction by measuring activities of axonal enzymes, metabolism of *myo*-inositol in nerve, lead concentration in several organs and so on were further examined. In the lead-treated rats, the transport rate of axonal enzyme, such as acetyl cholinesterase and choline acetyltransferase, was reduced by from 50% to 30% respectively. Reduction in *myo*-inositol concentration and Na^+/K^+ ATPase activity were also observed in sciatic nerve from lead-treated rat. However, the *aloe* extract administration significantly eliminated the impairment and maintained *myo*-inositol concentration to about 85% of normal level. Also *aloe* extract promoted the excretion rate of lead which is accumulated in blood, sciatic nerve and kidney. These results suggest that lead-induced neurotoxicity was significantly reduced by administration of *aloe* extract and the mechanism might be partly increase in kidney excretion rate of lead and partly normalization of Na^+/K^+ ATPase activity which is critical factor in order to keep nerve maintaining normal *myo*-inositol level.

Keywords : *aloe vera*, lead, neurotoxicity, acetyl cholinesterase, Na^+/K^+ ATPase activity.

I. 서 론

알로에는 백합과의 다년생 초본으로서 고대부터 약용 식물로서 오랫동안 민간에서 이용되어 왔으며 그 종류도 약 300여종에 달하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 그중에서 *aloe vera*(Linne), *aloe ferrox*(Miller) 그리고 *aloe perryi*(Baker) 등 3종은 다양한 생리 작용을 갖는 활성물질의 존재가 확인되어 제약산업 분야나 화장품 산업 분야의 원료로서 사용되어져 왔다.²⁾ 특히 *aloe vera*의 경우 생리 활성에 대한 다양한 연구가 지속적으로 진행되어 학계에 보고되고 있으며 한국에서도 피부 발진 완화, 위장관 통증 완화, 건위제, 지사제등 민간 요법적 차원에서 널리 사용되고 있는 실정이다. *Aloe vera*의 추출물중에 함유된 대

표적인 성분으로서는 혈액 응고 억제 작용을 갖는 salicylic acid, 항염증 작용을 나타내는 carboxypeptidase와 magnesium lactate 등을 비롯하여 다양한 성분들이 포함된 것으로 보고되고 있다.³⁻⁵⁾ *Aloe vera*의 지금까지 확인된 임상적 효능으로서는 화상으로 인한 피부 조직 손상의 회복 기능과 방사선 노출에 따른 피부 궤양 치료 기능 등이 주로 보고되고 있다.⁶⁾ 또한 이러한 조직 재생 효능은 동물을 대상으로 실험한 경우에도 확인되고 있으며 특히 급성의 방사능 노출에 따른 조직 궤양 억제 효과가 탁월한 것으로 보고되고 있다.⁷⁾ 따라서 최근에는 알로에의 피부 조직 재생 기전 및 관련 대사에 관한 연구에 관심이 집중되고 있는 실정이다. 아울러 *aloe vera* 처치에 의한 피부 세포 정상화는 피부 신경계 기능

의 정상화를 수반하기 때문에 여러 가지 화학 물질에 의하여 손상된 신경의 정상화 가능성에 대한 연구 역시 시도되고 있는 실정이다.⁸⁾ 이상의 *aloe vera*의 세포 정상화 및 재생 효과에 관한 그 동안의 여러 연구 결과들을 참고로 하여 본 저자는 환경 오염 물질에 의하여 손상된 신경 조직에 *aloe vera*를 투여할 경우 기대되는 여러 가지 개선 효과를 검토해 보고자 한다. 따라서 대기중 혹은 토양 중에서 흔히 발견되는 대표적 환경오염 물질인 납이 신경계에 미치는 독성에 대한 본 연구실의 연구 결과를 토대로^{9,10)} *aloe vera*가 납중독에 의한 신경 독성 저감제로서 작용할 가능성을 검토하고자 본 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용된 4주령 수컷 Sprague-Dawley rat(이하 "랫드"라 칭함)는 한미 실험 동물 사육 센터로부터 공급받아 일주간 실험 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공 조명에 의하여 조명 시간을 아침 7:00 부터 저녁 7:00까지 12시간으로 조절하였으며, 실내 온도는 $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였다. 사료는 고품 사료(삼양사)를 사용하였고, 그 조성은 조단백 21%, 조지방 3.5%, 조 셀룰로즈 5.0%, 무기질 8.0% 등이었으며 사료와 급수는 제한하지 않았다. 실험 동물은 정상군(NC), 10 mg 납투여군(LT), 10 mg 납+20 mg 알로에 물 추출물 투여군(AT1), 10 mg 납+200 mg 알로에 물 추출물 투여군(AT2)등 네군으로 분류하였다. 납은 초산 납을, 알로에는 물 추출물을 각각 체중 kg당으로 환산하여 경구로 3일 동안 투여하였으며 알로에 물 추출물은 납을 투여 한후 12시간 후에 투여하였으며 실험은 4일째 되는 날 실시하였다. 정상군의 경우 초산납이나 알로에 물추출물 대신 증류수를 같은 용량으로 투여 하였다. 납중독으로 인한 신경계 독성을 효과적으로 그리고 단기간 내에 관찰하기 위하여 중추 신경계보다는 말초 신경계를 선택하였다. 말초 신경계중 실험 동물인 랫드의 경우에는 신경 적출의 용이성과 대사의 상대적 활발성 그리고 주변 다른 조직으로부터의 분리성등을 고려하여 대퇴 신경을 선택하였다. 또한 실험 동물의 체온에 따라 신경의 전달 기능이 달라지는 것을 배제하기 위하여 직장 내로 온도계를 삽입하여 마취시 부터 대퇴 신경을 분리하여 실험을 실시하는 동안에 두시간 간격으로 측

정하여 체온 변화 유무를 확인하였다. 실험에 사용된 *aloe vera* Linne는 (주)한국 농장으로부터 구입하였으며 물 추출물을 얻기 위하여 알로에 무게의 20배 정도의 이온수를 가하여 24시간 동안 실온에 방치 한후 60°C로 6시간동안 가열하였다. 이 용액을 동결 건조하여 잔류물을 얻었다. 알로에 물 추출물의 수득율은 대략 24% 정도이며 실험 동물에 투여할 양은 사람의 경우와 비교 계산하여 Sakai 등의 방법¹¹⁾ 체중 kg당 저용량으로서는 20 mg을 고용량으로서는 200 mg을 설정하여 경구로 투여하였다. 그 외의 모든 시약은 미국의 Sigma사의 분석용 등급 이상을 사용하였다.

2 실험 방법

1) 신경 전달 기능 측정

(1) 지표의 선정과 실험 동물의 처치 : 말초 신경 병변의 대표적인 임상적 지표가 외부 자극에 대한 신경 전달 속도로서 판단하는데 이들 전달 속도를 지배하는 요인이 바로 신경조직 내의 axon을 따라 이동하는 여러 가지 물질들이다.¹²⁻¹⁵⁾ 따라서 이들 여러 가지 물질 중에서도 특히 신경의 자극 반응에 관여하는 효소들의 이동 속도를 측정함으로써 신경 병변 여부를 간접적으로 추정 할 수 있다. 신경 조직의 axon내에서 빠르게 이동하는 효소인 acetyl cholinesterase와 다소 느리게 이동하는 효소인 choline acetyltransferase를 axonal transport의 지표로 선정하고 이들 효소들의 이동 속도를 다음과 같은 방법으로 측정하였다.¹⁶⁻¹⁷⁾ 랫드를 pentobarbital (35 mg/kg) 마취 하에 대퇴 근육을 1 cm 정도 절개 후 신경을 노출시켜 위치를 확인한 다음 봉합사(0.7 mm)로 무릎 위 부분을 묶은 후 상처를 봉합하였으며 마취를 시작하면서 부터 봉합에 이르는 전 과정이 5분 이내에 이루어지도록 하였다. 이어서 12시간 동안 방치한 후 랫드를 치사시키고 양다리의 대퇴 신경을 신속하게 적출하여 무게를 측정한 후 동결 건조하였다. 동결 건조된 신경을 2 mm간격으로 4등분한 다음 각 분절마다 번호(묶은 부위에서 가장 가까운 순서로 A, B, C, D)를 붙여 무게를 달아 acetyl cholinesterase와 choline acetyl transferase의 활성을 측정하는데 사용하였다.

(2) Acetyl cholinesterase의 이동 속도 측정 : A-cetyl cholinesterase 활성의 측정법은 Ellman 등¹⁸⁾의 방법에 따라 실시하였다. 랫드의 대퇴신경 각 분절을 0.1 M-phosphate buffer(pH 8.0) 0.5 ml와 함께 조직

분쇄기로 균질화 한후 이중 0.4 ml를 취하여 0.017 M-NaHCO₃를 함유하는 0.01 M-dithiobisnitrobenzoic acid(DTNB) 0.1 ml, 0.1 M-phosphate buffer(pH 8.0) 2.6 ml가 들어있는 3 ml 용량의 photocell에 가하여 25°C에서 10분간 예비 배양후 기질인 acetylthiocholine iodide(0.075 M) 0.02 ml를 넣고 412 nm에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성을 산출하였다.

(3) Choline acetyltransferase의 이동 속도 측정 : Choline acetyl transferase 활성의 측정은 Glover 등¹⁹⁾의 방법에 따라 실시하였다. 140 μM-[¹⁴C] acetyl-CoA(5μCi/vial), 10 mM-choline iodide, 200 mM-KCl, 20 mM-phosphate buffer(PH 7.0), 0.2 mM-EDTA, 0.2 M- eserine sulfate를 포함하는 저장용 배양액을 조제한다. 뚜껑이 있는 원심분리 시험관에 배양액 20 μl를 넣고 37°C에서 5분간 가운한후 대퇴 신경 각 분절을 1% butanol을 포함하는 150 mM-NaCl용액 0.5 ml로 균질화한 용액 50 μl를 취하여 넣고 진탕 혼합하여 반응을 시작시킨다. 10분 동안 배양 한 후 20 μl의 1 N-formic acid를 가하여 반응을 중지시키고 0.1 M-K₂HgI₄와 octanone을 같은 양으로 혼합한 용액 200를 가하여 진탕 혼합 한후 원심 분리하여 층을 분리하였다. 유기 용매층 80 μl를 취하여 9 ml toluene과 1 ml methanol 그리고 40 mg의 2.5-diphenyloxazole 등을 함유하는 신틸레이션 용액과 합하여 액체 신틸레이션 측정기에 넣고 방사능을 측정하여 효소의 활성을 산출하였다.

(4) 조직내 myo-insitol의 농도 측정 : Laine²⁰⁾ 등의 방법을 이용하여 측정하였다

2) 조직중 납 농도의 측정

여러 조직중 납 농도는 원자 흡광광도계 (Atomspec-H 1580, London)를 사용하여 Yeager²¹⁾ 등의 방법에 따라 측정하였다.

3) ATPase 효소 활성 측정

신경 조직내 ATPase활성의 측정은 대퇴신경 균질액을 사용하여 Green²²⁾ 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 실험 동물로부터 적출한 대퇴 신경을 0.2 M sucrose/0.02 M Tris-HCl buffer(PH 7.5) 2 ml가 들어있는 시험관에 넣어 4°C에서 polytron 조직 분쇄기를 사용하여 균질화 한후 100 g에서 2분 동안 원심 분리하였다. 상층액 20 μl를 반응 시액 혼합물(100 mM-NaCl, 10 mM-KCl, 2.5 mM-MgCl₂, 1 mM-Tris-ATP, 1 mM-tri(cyclohexylammo-

nium) phosphoenol pyruvate, 30 mM-imidazole-HCl-buffer(pH 7.3), 0.15 mM-NADH, 50 μg lactate dehydrogenase, 30 μg의 pyruvate kinase) 1 ml가 들어있는 cuvette에 넣어 37°C에서 45분 동안 반응을 시켜 340 nm에서 흡광도를 측정하여 NADH가 산화되는 양으로부터 ATPase의 활성을 산출하였다. Sodium-potassium stimulated ATPase 활성은 sodium ion과 potassium ion이 존재하지 않는 경우와 존재하는 경우의 활성 차이로서 계산하였으며 ouabain inhibited ATPase 활성은 0.1 mM의 ouabain을 첨가한 후와 첨가하기전의 활성 차이로서 계산하였다. 여기서 사용한 ouabain 농도를 0.1 mM로 정한 이유는 0.05~1.0 mM의 농도 범위에서 ATPase활성을 억제하는 효과를 실험해본 결과 0.1 mM에서 최대 억제 효과를 나타내었기 때문이다. 또 sodium ion과 potassium ion이 없을 경우에는 ouabain을 첨가해도 더 이상의 억제 효과가 나타나지 않았다. 원심 분리한 pellet중의 ouabain-inhibited 혹은 sodium potassium stimulated ATPase 활성을 확인하기 위해 pellet을 sucrose buffer에서 재현탁 시키고 다시 초음파로 균질화 시킨 후 활성을 측정해본 결과 ATPase의 잔류 활성은 5% 이하인 것으로 확인되었다.

3. 통계분석

실험 결과는 평균±SE로 표시하였다. 실험에 사용한 각 동물군간의 유의성 검증을 위하여 Anova test와 Duncan's multiple range test를 실시하였으며 P값이 0.05 이하인 경우에만 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 실험 동물의 성장 및 조직학적 관찰

본 실험에서 사용한 실험 동물군의 몸무게, 식이량과 물섭취량, 체온 변화등을 Table 1에 제시하였다. Table 1에 제시된 바와 같이 실험 동물간에 중요 지표들에 대하여 어떤 유의성있는 변화도 관찰되지 않았다. 다만 납 투여군에 있어서 정상군에 비하여 몸무게가 20% 정도 감소하는 것으로 관찰되었다. 그러나 체중 감소에도 불구하고 식이 섭취 능력과 직장의 온도는 정상으로 유지되고 있어 이러한 현상이 급성의 중금속 중독 초기에 흔히 관찰되는 대사 이상에 기인한 체중 감소 현상으로 사료된다.

특히 알로에 물 추출물 투여로 체중 감소를 예방할 수 있을 가능성은 제시되고 있으나 이 문제는 신경 대사보다는 또 다른 체내 대사인 탄수화물과 단백질 대사와 관련이 있을 것으로 추정되어 본 연구의 범의에서 다루지는 않는다. 따라서 본 실험 조건 하에서 신경 전달 기능에 미치는 알로에의 효과를 확인하기 위하여 대퇴 신경의 독성 지표로 흔히 활용되고 있는 axon 내 acetylcholinesterase와 choline acetyltransferase 두 효소의 이동 속도(축적율로서 표시)를 측정하였다. Table 2에서 제시된 바와 같이 납을 처치한 랫드의 대퇴 신경내 axon을 따라 이동하는 acetyl cholinesterase 효소의 이동 속도가 204±13 nmoles/nerve/hr에서 105±14 nmoles/nerve/hr로 약 50% 정도 감소된 것을 알수가 있다. 일반적으로 신경 전달 속도는 체중에 영향을 받지

않지만 본 실험 조건의 안정화 여부를 판단하기 위하여 납 처치군과 몸무게가 비슷한 랫드를 대상으로 acetyl cholinesterase 효소의 이동 속도를 측정 한 결과 정상군과의 유의성이 있는 차이를 발견하지 못하였다. 또한 실험시 마취에 따른 체온의 변화에 의하여 신경 전달 능력의 감소 여부를 확인하기 위하여 전체 실험 동물 군을 대상으로 마취후부터 실험이 완료 될 때까지 두시간 간격으로 체온의 변화를 측정하였으나 역시 실험 동물군들 사이에 유의성 있는 변화를 관찰하지 못하였다.

2. 알로에 물 추출물이 acetylcholinesterase 이동 속도에 미치는 영향

따라서 이상의 실험 결과는 적어도 납처리 군에서 나타나는 신경 기능 저하가 체중이나 체온의 차이에

Table 1. General characteristics of experimental animals

Groups	Body weight (gr)	Water intake (ml/day/rat)	Food intake (g/day/rat)	Rectal temperature (°C)
NC (9)	170±14	42.5±5.5	32.2±6.2	37.5±0.3
LT (8)	125±14*	38.5±6.5	28.2±6.5	36.6±0.5
AT1(9)	174±14**	37.5±4.5	35.2±7.5	35.9±0.6
AT2(9)	170±14**	45.5±5.5	38.2±5.2	36.9±0.6

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr after lead treatment. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group (10 mg/kg), AT1; lead and *aloe* water extract (20 mg/kg)-treated group, AT2; lead and *aloe* water extract (200 mg/kg)-treated group.

* : Significantly different from normal control group at p<0.05.
 ** : Significantly different from lead-treated group at p<0.05.

Table 2. Effects of *aloe* water extract on acetylcholinesterase activitie and dry weights 12 hours after a tie in nerves of experimental animals

Groups	Acetylcholinesterase (mmoles/kg dry wt./hr)			Dry weight (ug)			Accumulation rate (nmoles/nerve/hr)
	average pieces 4 & 3	piece 2	piece 1	average pieces 4 & 3	piece 2	piece 1	
	A	B	C	D	E	F	
NC (8)	120±10	160±09	450±25	505±24	480±30	560±35	204±13
LT (9)	121±11	154±11	281±13*	499±23	501±24	554±34	105±14*
AT1 (6)	115±12	164±13	370±10**	505±20	488±22	570±36	152±17**
AT2 (4)	123±11	170±05	410±25**	510±22	495±22	570±30	188±18**

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr after lead treatment. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group(10 mg/kg), AT1; lead and *aloe* water extract (20 mg/kg)-treated group, AT2; lead and *aloe* water extract (200 mg/kg)-treated group. Accumulation rate=F(C-A)+E(B-A).

* : Significantly different from normal control group at p <0.05.
 ** : Significantly different from lead-treated group at p <0.05.

의한 것이 아니라 납 독성에 기인한 결과임을 전제로 실험이 진행되고 있음을 시사하고 있다. 계속하여 납 처치에 의하여 신경 전달 능력이 감소된 실험 동물군을 대상으로 알로에 물 추출물을 200 mg/kg 혹은 20 mg/kg을 투여하였다. 그 결과 납 독성에 의하여 감소된 효소의 이동 속도가 정상화 되는 경향을 보이고 있으며 이러한 병변 개선 효과는 농도의 의존성을 보이는 것으로 나타났다. 계속하여 두 번째 효소인 choline acetyltransferase 이동속도에 미치는 알로에 물 추출물의 영향을 살펴보았다.

Table 3와 제시된 바와같이 두 번째 효소인 cholineacetyltransferase 이동 속도 역시 납 처치군이 정상군에 비하여 30% 정도 감소된 것을 알수가 있다. 여기서 이 효소가 acetylcholinesterase 효소의 이동 속도에 비하여 감소되는 비율이 현저하게 작은 이유는 기본적으로 중추 신경계에서 말초 신경계로 두 효소가 이동하는 속도 차이(acetylcholinesterase:20 mm/day, cholineacetyltransferase:0.5 mm/day) 기인 한 것으로 사료된다.

3. 알로에 물 추출물이 cholineacetyltransferase 이동 속도에 미치는 영향

따라서 납 중독시 발생하는 독성은 일차적으로 acetylcholinesterase 효소 활성 감소에 따라 나타나는 임상적 증상이 선행하게 된다는 사실을 본 실험 결과를 통해서도 확인 할 수가 있었다. 계속하여 납 중독성 신경 병변이 있는 동물군에 알로에 물 추출

물을 200 mg/kg 혹은 20 mg/kg을 투여하면 감소된 이 효소의 이동 속도가 거의 90%까지 정상화되는 경향을 보였다. 다만 정상화 정도가 투여한 알로에 농도에 비례하는 것인지는 acetylcholinesterase 효소 활성의 경우와는 달리 농도에 따른 효과 차이가 없어서 의존성을 확인 할 수가 없었다. 따라서 농도 의존성 확인을 위하여 추가로 알로에 물 추출물 농도를 2000 mg/kg와 2 mg/kg를 투여 한 결과 각각 5.01 ± 0.5 nmoles/nerve/hr와 2.50 ± 0.2 nmoles/nerve/hr 실험 값을 얻었다. 이 결과로 적어도 알로에가 cholineacetyltransferase 효소 활성에는 농도 의존성을 갖지 않는 것으로 생각된다. 이상의 실험 결과는 알로에 물 추출물이 납 중독성 신경 병변을 유의성있게 개선 시킬 수 있음을 의미하며 그 개선 정도는 두 효소중 병변의 정도가 심하지 않은 cholineacetyltransferase 효소 활성을 보다 쉽게 정상화시키는 것으로 생각된다. 계속하여 지금까지의 실험 결과에서 나타난 알로에 물 추출물의 독성 저감 기전을 알고자 신경 조직, 혈중, 소변중 납의 농도를 측정하고 아울러 신경 조직내 전달 기능에 관련된 대사체들의 변화를 검토하였다.

4. 알로에 물 추출물이 여러 조직중 납농도에 미치는 영향

Table 4에 제시된 바와 같이 신경 조직내 납의 축적이 관찰되고 있으며 특히 혈중 혹은 소변중 농도에 비하여 신경 조직내 농도는 10%에 불과한 적은

Table 3. Effects of *aloe* water extract on cholineacetyltransferase activitie and dry weights 12 hours after a tie in nerves of experimental animals

Groups	Acetylcholinesterase (mmoles/kg dry wt./hr)			Dry weight (ug)			
	average	piece 2	piece 1	average	piece 2	piece 1	
	pieces 4 & 3			pieces 4 & 3			
	A	B	C	D	E	F	
						Accumulation rate (nmoles/nerve/hr)	
NC (8)	12.3±0.6	14.7±0.8	18.8±0.9	515±20	492±27	555±35	4.79±0.5
LT (9)	12.9±0.6	14.5±0.5	16.5±0.5*	510±20	520±29	560±25	3.29±0.3*
AT1 (6)	12.3±0.6	14.7±0.8	18.8±0.9**	515±20	492±27	555±35	4.29±0.5**
AT2 (4)	12.9±0.6	14.5±0.5	17.5±0.5**	510±20	520±29	560±25	4.79±0.3**

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr after lead treatment. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group(10 mg/kg), AT1; lead and *aloe* water extract (20 mg/kg)-treated group, AT2; lead and *aloe* water extract (200 mg/kg)-treated group. Accumulation rate=F(C-A)+E(B-A).

* : Significantly different from normal control group at $p < 0.05$.

** : Significantly different from lead-treated group at $p < 0.05$.

농도로 측정되었다. 이러한 결과는 Table 2와 Table 3에서 납 처치군의 대퇴 신경 병변의 정도와 비교하면 상관 관계가 다소 약한 것으로 생각 될 수도 있다. 그러나 이는 신경 조직이 혈중으로부터 유입되는 독성 물질을 차단하기 위한 방어막이 존재한다는 점과 신경 조직내 납 농도가 혈중 농도보다 현저하게 낮을지라도 신경의 정상적인 기능이 손상될 수도 있다는 점에서 해석이 가능하다. 아울러 혈액과 신경 조직 간에 납 농도 차이가 날 수 있는 또 다른 추정 은 납이 신경 세포 속으로 들어가기 위해서는 특별한 수송 기전이 필요하다는 것을 의미하고 있는데 이는 외부 물질이 신경 조직 내로 수송되기 위해서는 특별한 장치나 수단(예를 들면 능동적 수송 수단 등)을 통해야만 가능하기 때문에 혈중 농도보다는 훨씬 낮게 존재 할 수밖에 없는 것으로 사료된다. 계속하여 납 처치군에 알로에 물 추출물을 투여한 결과 신경과 혈중 납 농도가 유의성 있게 감소되었으며 감소된 납의 대부분이 신장을 통하여 배설되고 있음을 알 수가 있다. 이는 실험 동물내 여러 조직과 장기에 축적된 납이 알로에 물 추출물에 의하여 배설이 촉진되고 있다는 것을 의미하고 있다. 그러나 혈중 혹은 소변중 납 농도의 변화에 비하여 신경내 납 농도의 변화(54.9±3.6에서 38.3±2.6와 33.9±1.6)가 현저하게 작다는 점과 신경 조직내 납 농도의 감소 폭이 20%-30%에 불과한데 신경 전달 기능의 회복은 거의 70%~90%까지 정상화된다는 점에서 알로에의 납 중독성 신경 병변 개선 기전이

단순히 체내 납의 배설량 증가에 의해서만 이루어지고 있지 않고 또 다른 독성 저감 기전이 존재 할 가능성이 있음을 시사하고 있다. 따라서 신경 기능을 정상화시키는 또 다른 기전을 밝히고자 신경 조직내 존재하여 신경의 생리적 기능에 관여하고 있는 여러 가지 대사 활성체의 농도 변화를 살펴보았다.

5. 알로에 물 추출물이 신경 조직내 여러 활성 대사체에 미치는 영향

Fig. 1~Fig. 3은 일반적으로 신경 조직 병변시 변화가 예상되는 대사체들의 농도 변화를 나타낸 것이다. 이 가운데 glucose는 신경 전달시에 필요한 여러 가지 에너지 공급과 관련이 있으며, sorbitol은 신경 병변의 원인이 되는 물질 가운데 하나로서 신경 조직내 glucose 대사 이상으로 생기는 대사 산물이다. 또한 *myo*-inositol은 신경 조직내에 특히 고농도로(혈중에 비하여 100배정도) 존재하는 물질로 신경 전달 기능에 중추적인 역할을 하는 것으로 보고되고 있다.²³⁾

실험 결과에서 알 수 있듯이 납 처치에 의하여 신경 전달 기능에 관여 하는 것으로 추정되는 여러 가지 대사체중 glucose와 sorbitol 농도는 변화를 받지 않았으며 다만 *myo*-inositol의 농도만 현저하게 감소된 것을 관찰 할 수가 있었다.

Table 4. Effects of *aloe* water extract on lead concentration in several organs of experimental animals

Group	Sciatic Nerve (ug/kg)	Blood Serum (ppm)	Urea (ppm)
NC (8)	ND	ND	ND
LT (9)	54.9±3.6	0.21±0.015	0.18±0.024
AT1 (6)	38.3±2.6*	0.09±0.015*	0.23±0.018*
AT2 (8)	33.9±1.6*	0.05±0.016*	0.34±0.025*

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr before lead treatment. Control groups were administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group(10 mg/kg), AT1; lead(10 mg/kg) and aloe water extract (20 mg/kg)-treated group, lead(10 mg/kg) and aloe water extract (200 mg/kg)-treated group. ND : not detected

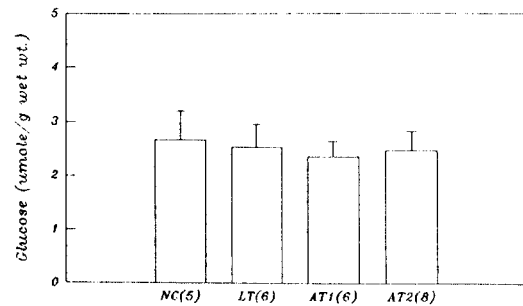


Fig. 1. Effect of *aloe* water extract on glucose concentration in sciatic nerve isolated from Sprague-Dawley rat.

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr after lead treatment. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group(10 mg/kg), AT1; lead and aloe water extract (20 mg/kg)-treated group, AT2; lead and aloe water extract (200 mg/kg)-treated group.

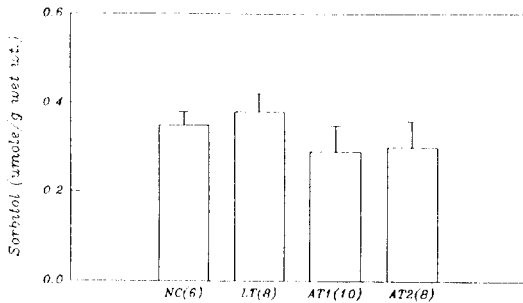


Fig. 2. Effect of *aloe* water extract on sorbitol concentration in sciatic nerve isolated from Sprague-Dawley rat.

Each value represents mean \pm SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr after lead treatment. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group (10 mg/kg), AT1; lead and *aloe* water extract (20 mg/kg)-treated group, AT2; lead and *aloe* water extract (200 mg/kg)-treated group.

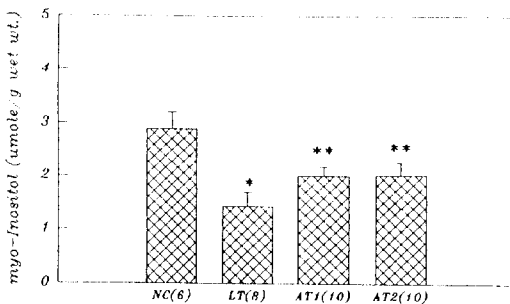


Fig. 3. Effect of *aloe* water extract on myo-inositol concentration in sciatic nerve isolated from Sprague-Dawley rat.

Each value represents mean \pm SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr after lead treatment. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group (10 mg/kg), AT1; lead and *aloe* water extract (20 mg/kg)-treated group, AT2; lead and *aloe* water extract (200 mg/kg)-treated group.

* : Significantly different from normal control group at $p < 0.05$.

** : Significantly different from lead-treated group at $p < 0.05$.

이상의 결과는 납에 의한 신경 병변은 적어도 myo-inositol 대사와 관련된 어떠한 변화가 초래되어 신경 병변이 야기되며, 알로에 물 추출물 역시 이 부분에 관여하는 것으로 추정된다. 따라서 계속하여 알로에 물 추출물을 여러 실험 동물군에 투여한 결과 납 처치군에서 감소된 myo-inositol의 신경 조직 내 농도가 유의성 있게 정상화 되는 것으로 나타났으며 정상화 정도 역시 물 추출물 농도 의존적인 경향을 알 수가 있다. 또한 이러한 결과를 Table 2와 Table 3의 대퇴 신경 병변의 정도와 비교하면 상관관계가 잘 설정되는 것을 알 수가 있다. 마찬가지로 알로에 물 추출물에 의한 신경 병변 개선 정도와 조직 내 myo-inositol 농도 개선 정도도 잘 일치하는 결과를 보여주고 있는데 이는 신경 조직 내 myo-inositol 농도 감소가 병변의 주 요인이 되고 있음을 의미하고 있다. 여기서 마지막으로 myo-inositol 농도는 혈중에 비하여 약 100배정도 높게 유지되는데 이는 혈중 myo-inositol을 신경 세포막에 존재하는 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 효소에 의하여 끊임없이 신경 조직 내로 유입시키기 때문이다. 따라서 납에 의한 신경 내 myo-inositol 농도 저하는 필연적으로 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 활성 변화와 관련성이 있을 것으로 사료되어 이 효소의 활성에 미치는 납과 알로에 물 추출물의 효과를 검토하였다.

Fig. 4에서 알 수 있듯이 myo-inositol의 수송을 담당하고 있는 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 효소의 활성이 납처리군에서는 현저하게 감소되어 있으나 알로에의 물 추출물로서 처리하면 감소된 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 활성이 정상화되며 이 효소 활성 정상화 정도는 알로에 물 추출물의 농도에 비례하여 증가하고 있다. 본 실험 결과를 Table 2와 Table 3에서 관찰한 결과와도 잘 일치하고 있음은 물론 Fig. 3에서 관찰된 myo-inositol 농도 변화와도 잘 일치하고 있다. 따라서 지금까지의 실험 결과를 요약하면 납은 신경 세포막에 존재하는 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 활성을 억제하여 신경 조직 내의 myo-inositol 농도를 낮추어서 병변을 유발하며 알로에는 납에 의하여 유발된 신경 병변을 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 활성 정상화와 조직 내 축적된 납의 배설을 증가시킴으로써 병변을 개선 시키는 것으로 생각 할 수 있다. 다만 납에 의한 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase 효소 활성 저하 기전과 알로에 물 추출물에 의한 회복 기전이 이 효소의 활성에 직접적으로 영향을 준 결과인지 혹은 관련된 다른 대사 활성 억제에 의한 간접적인 영향의 결과인지를 알아보기 위하여 10^{-4}M - 10^{-6}M

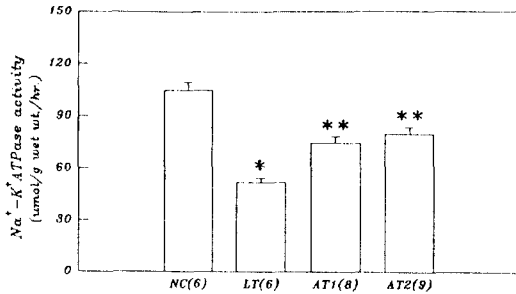


Fig. 4. *In vivo* effect of *aloe* water extract on Na⁺-K⁺ ATPase activity in sciatic nerve isolated from Sprague-Dawley rats.

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days in the 12 hr after lead treatment. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group, LT; lead-treated group(10 mg/kg), AT1; lead and aloe water extract (20 mg/kg)-treated group, AT2; lead and aloe water extract (200 mg/kg)-treated group.

* : Significantly different from normal control group at p <0.05.
** : Significantly different from lead-treated group at p <0.05.

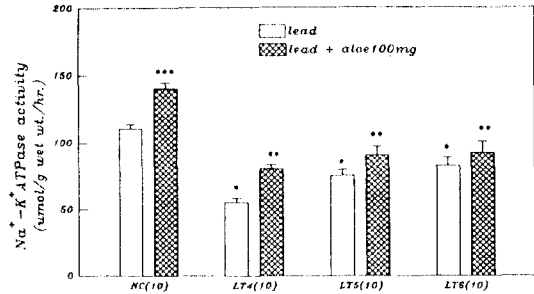


Fig. 5. *In vitro* effect of *aloe* water extract on Na⁺-K⁺ ATPase activity in sciatic nerve isolated from Sprague-Dawley rats.

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. *Aloe* water extract was administered per oral for 3 days before lead treatment by *in vitro*. Control group was administered the same volume of distilled water. NC; normal control group., LT4; lead-treated group (10⁴M), LT5; lead-treated group (10⁵M), LT6; lead-treated group (10⁶M).

.. *** : Significantly different from normal control group at p <0.05.
** : Significantly different from lead-treated group at p <0.05.

납 농도 범위에서 *in vitro* 실험을 실시하였다.

Fig. 5에서 알 수 있듯이 납 농도가 증가함에 따라 Na⁺-K⁺ ATPase 활성이 현저하게 감소되는 것을 알 수가 있으며 감소 경향이 다소간 농도 의존적 것으로 관찰되었다. 특히 일정 납 농도 이상에서는 활성 저하가 더 이상 일어나지 않는 것으로 보아 Na⁺-K⁺ ATPase 활성 억제에 대한 납의 포화 농도가 존재하는 것으로 사료된다. 또한 알로에 물 추출물이 납에 의하여 직접적으로 억제된 Na⁺-K⁺ ATPase 활성을 얼마나 회복시킬 수 있는지를 알아보기 위해서는 알로에 물 추출물 역시 일정 범위의 농도별로 *in vitro* 실험을 실시하여야만 한다. 그러나 이 경우 두가지 물질의 상호 작용 현상과 동시에 두 가지 화합물에 노출될 경우 조직의 신경 조직의 활성도가 현저히 감소하여 실험이 어려운 점등을 고려하여 알로에를 경구로 미리 투여 한후 대퇴 신경을 적출하여 여러 종류의 납 농도에 노출시키는 방법으로 간접적인 개선 효과를 관찰하였다. 그 결과 알로에를 미리 투여 한 군에서는 Na⁺-K⁺ ATPase 활성 저하가 방지되는 것으로 관찰되었다. 결론적으로 그 동안의 실험 결과를 요약하면 납은 신경 세포내 존재하는 Na⁺-K⁺

ATPase 효소의 활성을 직접적으로 억제하여 조직 내 신경 전달 기능에 중요한 역할을 하는 myo-inositol의 농도를 감소 시켜 병변을 유발하며 알로에 물 추출은 조직내 축적된 납의 배설을 증가 시키는 방법과 신경 세포내 납에 의하여 억제된 Na⁺-K⁺ ATPase 활성을 정상화 시키는 방법으로 납에 의한 신경 독성을 저감시키는 것으로 사료된다. 앞으로 보다 확실한 기전을 이해하기 위하여 신경 조직내에서 일어나는 myo-inositol 대사 이후 단계에 대하여 알로에 물 추출물이 갖는 효과에 관한 연구가 계속 필요한 것으로 생각된다.

IV. 사 사

본연구는 1996년도 선문대학교 교내 연구비로 수행된것입니다. 이에 감사의 뜻을 표합니다.

참고문헌

- 1) J.E. Morton : Major medicinal plants-botany, culture and uses. Springfield : Chares Thomas, 1972.
- 2) C. Cook, D. Baison : Ancillary use folk medicine by patients in primary care clinics in southwest-

- ern west virginia., *South. Med. J.*, **79**, 1098, 1986.
- 3) M.C. Robson, J.P. Hegggers : Myth,magic, witchcraft, or fact?. *J. Burn. Care Rehab.* **3**, 157, 1982.
 - 4) E.E. Collins, C. Collins : Histological demonstration of prostglandins and thromboxans in burned tissue. *J. Surg. Res.*, **28**, 110, 1979.
 - 5) K. Fujita, I. Shosike : Properties of carboxypeptidase from aloe. *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 1261, 1979.
 - 6) E.E. Collins, C. Collins : Rentgen dermatitis treated with fresh whole leaf of *aloe vera*. *AJR*, **33**, 396, 1935.
 - 7) C.C. Lushbaugh, D.S. Hale : EXperimental radiodermatitis following beta radiation. *Cancer* **6**, 690, 1953.
 - 8) J.S. Haller : A drug for all seasons medical and pharmacological history of aloe., *Bull. N.Y. Acad. Med.*, **66**(6), 647, 1990.
 - 9) 정명규 : Effects of lead on ATPase activity in the sciatic nerve of Sprague-Dawley rat., *Kor. J. Environ. Toxicol.*, **9**(1-2), 1, 1994.
 - 10) 정명규, 임경택, 정현옥 : A study on the toxic mechanism of heavy metal(1). *J. Kor. Soci. Environ. Eng.*, **16**(5), 601, 1994.
 - 11) K. Sakai, and Y. Saitoh : Effect of water extracts of aloe and some herbs in decreasing boold ethanol concentration in rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**(1), 155, 1989.
 - 12) D.A. Simmons, E.F. Kern, A.I. Wingrad and Martin D.B. : Basal phophatidylinositol turnover controls aortic sodium-potassium ATPase activity. *J. Clin. Invest.*, **77**, 503, 1986.
 - 13) P. Sidenius and J. Jakobsen : Retrograde axonal transport : A possible role in the development of neuropathy. *Diabetologia*, **20**, 110, 1981.
 - 14) A.K. Shama and P. K. Thomas : Peripheral nerve structure and function in experimental diabetes. *J. Neurol. Sci.*, **23**, 1, 1974.
 - 15) J. Jakobsen and P. Sidenius : Early and dose-dependent decrease of retrograde axonal transport in acrylamide intoxicated rats. *J. Neurochem.* **40**, 447, 1983.
 - 16) C. O. Hebb and A. Silver : Gradient of choline acetylase activity, *Nature*, **189**, 123, 1961.
 - 17) L.M. Partlow, C.D. Ross, R. Motwani, and D.B. McDougai : Transport of axonal enzymes in surviving segments of frog sciatic nerve, *J. Gen Physiol.*, **60**, 388, 1972.
 - 18) G.L. Ellman : A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. pharmacol.* **7**, 88, 1961.
 - 19) V. Glover : A simple quick microassay for choline acetyltransferase. *J. Neurochem.* **19**, 2465, 1972.
 - 20) R.A Laine : Analysis of trimethylsilyl O-methylloximes of carbohydrates by combined gas-liquid chromatography-mass spectrometry, *Anal. Biochem.* **43**, 533, 1971.
 - 21) D.W. Yeager, J. Cholak, E.W. Henderson : Determination of lead in biological and related materials by atomic asorption spectrophotometer. *Environ. Sci. Technol.* **5**, 1020, 1971.
 - 22) D.A. Greene and S.A. Lattimer : Impaired rat sciatic nerve sodium-potassium ATPase in actue streptozocin diabetes and its correction by dietary myo-inositol supplementation. *J. Clin. invest.*, **72**, 1058, 1983.
 - 23) D.A. Simmons, A.I. Wingrad, D.B. Martin : Significance of tissue myo-inositol concentrations in metabolic regulation in nerve. *Science*, **217**, 848, 1982.