

곰뱅이가 사염화탄소를 투여한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

강일준*, 정차권, 김수진, 남상명¹, 오성훈²
한림대학교 생명과학부, ¹정인대학 호텔조리과, ²안산공과대학 식품공업과

Effects of *Protaetia Orientalis* (Gory et Perchlon) Larva on the Lipid Metabolism in Carbon Tetrachloride Administered Rats

Il-Jun Kang*, Cha-Kwon Chung, Soo-Jin Kim,
Sang-Myung Nam¹ and Sung-Hoon Oh²

Division of Life Sciences, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

¹Dept. of Hotel Culinary Arts, Chung In College, Jungup 580-712, Korea

²Dept. of Food Engineering, Ansan College of Technology, Ansan 425-792, Korea

(Received December 14, 2000)

ABSTRACT

This study was designed to determine the effects of *Protaetia Orientalis* larva (Gory et Perchlon) on the *in vivo* lipid metabolism in Sprague Dawley rats with the administration of carbon tetrachloride to induce damage in the liver. At the end of 8th week, serum levels of GOP and GPT, hepatic cholesterol levels, HDL-cholesterol, triglycerides and phospholipids were determined. In addition, activities of antioxidative enzymes were also determined. The administration of carbon tetrachloride resulted in increase of serum GOT and GPT, liver triglyceride and total cholesterol. On the other hand, those fed in combination with carbon tetrachloride and *Protaetia Orientalis* larva decreased those lipid parameters. Carbon tetrachloride feeding resulted in decrease of liver phospholipid, whereas that of the rat fed in combination with carbon tetrachloride and *Protaetia Orientalis* larva was increased. In antioxidative defense system, carbon tetrachloride led to a significant decrease in activities of catalase, total SOD, Cu, Zn-SOD and glutathione-S-transferase. However, those activities of the rat fed in combination with carbon tetrachloride and *Protaetia Orientalis* larva was significantly increased. Hepatocytes of carbon tetrachloride administered rats showed increased lipid droplets and microfilaments. However, those of the rat fed in combination with carbon tetrachloride and *Protaetia Orientalis* larva were reduced in the number and the size.

Key words : Carbon tetrachloride, Lipid metabolism, Liver, *Protaetia Orientalis* larva

본 논문은 2000학년도 한림대학교 교비 학술연구조성비의 지원을 받아 연구되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Il-Jun Kang, Division of Life Sciences, Hallym University, 1 Okchon-Dong, Chuncheon, Kangwon-Do 200-702, Korea. Ph.: 033-240-1478, FAX: 033-255-4787

Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

곰벵이는 간에서 비롯되는 질병(간암, 간경화, 간염, 유방암, 누적된 피로의 해소), 월경불통, 시력감퇴, 백내장, 금창(金瘡), 산후풍(産後風), 악성종기, 구내염(口內炎), 파상풍, 치질과 치루, 중풍 등의 성인병을 치료하는데 탁월한 효과가 있다고 한다. 예전부터 알려진 이러한 곰벵이의 효능에도 불구하고 지금까지 곰벵이에 대한 약리적 효능에 대한 실험은 거의 이루어지지 않았다. 최근 흰쥐에 에탄올을 투여해 간 손상을 유도한 후 곰벵이를 투여해 곰벵이가 혈청과 간의 지질대사에 미치는 영향을 조사한 결과, 혈청지질 중에 에탄올에 의해 증가된 triglyceride, 총 cholesterol, LDL-cholesterol이 곰벵이를 섭취시킴으로써 이의 수치를 감소시켰으며 HDL-cholesterol은 곰벵이의 섭취로 증가되었다(Kang et al., 2000).

한편, 사염화탄소(CCl₄)는 유지, 고무, 수지의 용제 등에 이용되어 산업현장에서 쉽게 노출되는 환경공해물질의 하나로써 생체내에서 CCl₃로 전환되어 세포의 손상을 일으키는 대표적인 간 독소이다. 사염화탄소의 독성은 사염화탄소 자체보다 간조직의 내형질세막에 의해 생성되는 대사산물인 CCl₃에 의한 지질과산화와 관계가 있다. 사염화탄소는 내형질세막의 막에 영향을 주어 내형질세막의 cisternae가 팽창함으로써 단백질의 합성을 저해하고 지질의 과산화를 초래한다. 일반적으로 생체조직세포의 손상은 생체막의 구성성분인 다가 불포화지방산의 과산화가 하나의 원인으로 알려져 있다. 지질의 과산화는 생체외적인 요인뿐만 아니라 내적인 요인(Oxygen free radical generating system)에 의해 생성된 oxygen free radical이 관여함으로써 야기되지만 생체에는 이러한 free radical의 독작용을 제거시켜주는 free radical scavenging system이 존재함으로써 조직세포의 손상을 보호한다(Simon et al., 1981). 그러나 이들 system사이의 불균형에 의해 염증, 조직의 손상, 노화, 발암 등 독작용이 유발된다고 알려졌다(Edwin & Irwin, 1977; Richard et al., 1981).

따라서 본 실험에서는 곰벵이가 손상된 간에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 흰쥐에 사염화탄소를 투

여해 간 손상을 유도한 후, 곰벵이를 혼합한 식이를 섭취시켜 간의 지질대사 및 미세구조를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육

실험동물은 체중 100 g 정도되는 Sprague-Dawley 계의 수컷흰쥐를 대한동물센터로부터 분양 받아 일주일간 적응 사육시킨 후 체중에 따른 난피법에 의하여 각 군 당 10마리씩 3군으로 나누어 8주 동안 사육하였다. 본 실험군은 정상식이군, 사염화탄소 투여군, 사염화탄소와 곰벵이 병용투여군으로 구분하였다. 사육실의 조건 중 온도는 20~22°C, 습도는 50%, 채광은 12시간주기 조명이었으며, 물은 자유로이 먹을 수 있도록 하였다. 사료는 매일 일정한 시간에 일정량을 주었고, 체중은 일주일에 2번씩 측정하였다.

2. 식이조성

실험동물의 diet는 각각의 식이재료들을 혼합한 형태인 powdered mixed diet를 사용하였다. 대조군의 식이구성은 casein 17%, AIN-76 mineral mix 3.5%, AIN-76 vitamin mix 1%, DL-methionine 0.18%, α -cellulose 2.0%, corn starch 20%, corn oil 4%, sucrose 52.32%이었다. 실험동물의 칼로리 공급은 쥐가 마음대로 섭취할 수 있게 하였고(ad libitum), 섭취하는 칼로리에는 제한을 두지 않았다. 곰벵이는 동결건조하여 일반성분을 분석한 후, 그 수치로부터 casein과 starch의 양을 줄이는 대신 diet에 5% 첨가하였다. 실험동물의 간 손상 유도는 사염화탄소를 corn oil에 1:1의 비율로 용해시켜 체중 1 kg 당 1.2 mL을 8주 동안 6번 경구 투여하였다.

3. 시료의 수집 및 처리

사육이 끝난 실험동물을 12시간 동안 절식시키고 에테르로 마취시킨 후 경추탈골법에 의하여 도살하고, 심장에서부터 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 3,000 rpm (4°C)에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하고 기타 장기는 혈액채취 후 즉시 적출하여 생리식염수로 세척하고 여과지로 표면의 수분을 제거

한 후 무게를 측정하였다. 장기, 혈청의 시료는 분석 전까지 -70°C 냉동고에 보관하였다.

4. 간의 지질 분석

간의 총 지질은 Folch법으로 추출하였다. 즉 적출된 간조직은 무게측정 후 chloroform-methanol (2:1, v/v) 용매를 가하여 homogenizer로 균질화한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 상등액을 취하여 감압 건조시킨 후 무게를 측정하여 총지질 함량을 구하였다. 그 후 총지질을 chloroform 3 mL에 용해한 다음 total cholesterol, HDL-cholesterol, phospholipid는 효소비색법을 이용한 kit (Wako Co., Japan)를 사용하여 분광광도계 (Beckman DU series-70)로 505 nm에서 측정하였으며 triglyceride는 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. 혈청중 간의 기능성 지표효소 측정

GOT (Glutamic Oxaloacetic Transaminase)활성도는 37°C , 340 nm에서 5분간 측정하였고 GPT (Glutamic Pyruvate Transaminase)는 37°C , 340 nm에서 3분간 측정하였다. GOT 및 GPT활성은 Johnson and Johnson Ektachem분석기 (USA)를 이용하여 측정하였으며, 활성단위는 단백질 1 mg당 1unit로 나타내었다.

6. 간 항산화 효소시험을 위한 효소원의 조제

0.3M sucrose, 2 mM EDTA, 10% glycerol, 20 mM HEPES를 혼합해 pH를 7.5로 만든 buffer (Ahmed Masmoudi et al., 1989) 10 mL에 간 5g을 넣어 3,000 rpm에서 균질화시킨 후 total volume을 25 mL로 맞추고 거즈로 거른 다음 $1,000 \times \text{g}$ 에서 15분 (4°C)동안 원심분리시켰다. 원심분리시켜 얻은 상등액을 다시 $100,000 \times \text{g}$ 에서 1시간 (4°C)동안 초원심분리하여 상등액을 얻고, cytosolic fraction은 catalase, Total SOD, Mn-SOD, Cu, Zn-SOD, glutathione sulfur transferase, glutathione peroxidase, glutathione reductase의 효소원으로 사용하였다.

7. 항산화 효소 활성 측정

1) Catalase

pH를 7로 맞춘 50 mM phosphate buffer로 cytosol

을 100배 희석한 후 3.0 mL cuvette에 50 mM phosphate buffer 1.99 mL, 30 mM H_2O_2 1 mL, cytosol 10 μL 을 넣고 3번 정도 shaking한 후에 240 nm에서 20초 간격으로 3분간 측정하였다. 효소의 활성도는 H_2O_2 를 분해시킬 수 있는 효소의 양을 단백질 1 mg당 1분간의 반응정도로 나타내었다.

2) SOD (superoxide dismutase)

4배 희석한 cytosol 20 μL , 50 mM Tris-cacodylic acid buffer (pH 8.2) 1 mL, 0.03 M pyrogallol 20 μL 를 차례로 가한 뒤 420 nm에서 흡광도를 측정하였고, Mn SOD는 total SOD방법에 1 mM potassium cyanide (KCN)을 50 mM Tris-cacodylic acid buffer (pH 8.2)와 1:1 비율로 첨가해 측정하였으며, Cu, Zn-SOD는 total SOD의 활성에서 Mn-SOD활성을 감소하여 산출하였다 (Stefan & Gudrun, 1974; Shero et al., 1983).

3) Glutathione reductase

1 mL cuvette에 0.2 M potassium phosphate (containing 2 mM EDTA, pH 7.0) 0.5 mL, 2 mM NADPH (in 10 mM Tris-HCl, pH 7.0) 50 μL , 20 mM GSSG 50 μL , 20배 희석한 cytosol 70 μL 를 넣고, 3차 증류수로 최종 1 mL가 되도록 조정한 후 이를 30°C 에서 incubation시킨 다음 340 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) GST (Glutathione sulfur transferase)

GST는 200배 희석한 cytosol 0.5 mL, 1 mM reduced GSH 1 mL, 1 mM CDNB 1 mL을 3 mL cuvette에 넣고 shaking한 후 340 nm에서 20초 간격으로 3분간 측정한 다음 단백질 1 mg당 1분간의 반응정도로 나타내었다 (William et al., 1974).

5) Glutathione peroxidase

Reaction mixture는 한 sample 측정시 P-EDTA azide buffer 0.8 mL에 2.8 nM NADPH, 49.9 nM reduced glutathione이 함유되도록 조제하였다. 그 후 cytosol 0.1 mL에 reaction mixture 0.8 mL을 첨가한 다음 0.25 mM H_2O_2 0.1 mL을 가하여 shaking한 후 340 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Donald & Willam, 1967; Deagen et al., 1987). Glutathione peroxidase의 활성은 단백질 1 mg당 1분간의 반응정도로 나타내었다.

8. 간의 미세구조적 관찰

각 실험군의 쥐에서 간 조직을 적출하여 조직절편을 제작한 후, paraformaldehyde 1%와 glutaraldehyde 1%가 포함된 고정액에 2시간 전 고정하고 완충용액에 세척한 다음, 2% osmium tetroxide 용액에 후 고정하였다. 고정된 조직절편은 탈수 과정을 거쳐 Lowicryl HM20에 포매하여 Reicurt Yung ultramicrotome으로 초박 절편을 제작하였다. 제작된 조직의 초박절편들은 grid에 부착하여 lard citrate와 uranyl acetate에 이중염색하여 Zeiss EM 109 투과전자현미경 (Transmission Electron Microscope)으로 관찰하였다.

9. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SAS (statistical analysis system) program을 이용하여 실험군 당 평균 (Mean) ± 표준편차 (SEM)로 표시하였고, 각 군의 평균치의 통계적 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결 과

1. 장기무게와 증체의 변화

곰팡이의 섭취가 사염화탄소를 투여한 흰쥐의 증체 및 장기 무게에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 1과 같다. Body weight의 경우 유의적인 차이는 없었으나 사염화탄소 투여 시 대조군보다 약간 감소하였으며, 곰팡이와 병용투여함으로써 사염화탄소투여군에 비해 다소 증가하는 경향을 나타내었다. 한편

Table 1. Body weight and liver weight of the control and experimental rats

Group	Body weight (g)	Liver weight (g)	Liver wt./body wt. ratio (%)
C ¹⁾	332.6 ± 6.9 ^{a2)}	8.8 ± 0.6 ^b	2.6 ± 0.2 ^b
CCL	330.4 ± 10.6 ^a	11.6 ± 0.3 ^a	3.5 ± 0.3 ^a
CCLP	337.6 ± 3.1 ^a	9.9 ± 0.7 ^b	2.9 ± 0.1 ^b

¹⁾ C: Control group, CCL: Carbon tetrachloride treated group, CCLP: Carbon tetrachloride and *Protaetia Orientalis* larva administered group.

²⁾ Mean ± S.E.M. (Standard error of mean). Values within the same column with different alphabets are significantly different among groups by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

간의 무게는 사염화탄소 투여에 의해 유의적으로 증가하였고 곰팡이와 병용투여함으로써 유의성 있게 감소하였다. 따라서 체중에 대한 간 무게의 비율도 사염화탄소 투여군에서 유의적으로 증가하였다 (Table 1).

2. 간 지질대사

사염화탄소 및 곰팡이 투여가 간 지질대사에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 2와 같다. Total cholesterol함량은 정상식이군과 사염화탄소 투여군 간에 유의적인 차이가 없었으며, 사염화탄소와 곰팡이 병용투여군은 사염화탄소 단독 투여군에 비해 유의적인 감소를 나타내었다. Triglyceride는 정상식이군에 비해 사염화탄소투여군이 유의적인 증가를 나타냈으며, 사염화탄소와 곰팡이 병용투여군은 사염화탄소 단독 투여군에 비해 약간 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. HDL-cholesterol은 각 군간에 유의적인 차이가 없었으며 phospholipid는 정상식이군과 사염화탄소 투여군간에 유의적 차가 없었고 사염화탄소와 곰팡이 병용투여군은 사염화탄소 투여군에 비해 37%증가해 통계적 유의성을 나타내었다.

3. 혈청중의 간기능 지표효소 활성도

사염화탄소 및 곰팡이의 투여가 혈청의 간 기능 지표 효소인 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)

Table 2. Effect of *Protaetia Orientalis* larva (Gory et Perchlon) on the liver lipid parameters of experimental rats (unit: mg/g liver)

Group	Cholesterol	HDL-cholesterol	Triglyceride	Phospholipid
C ¹⁾	9.23 ± 0.43 ^{ab2)}	3.23 ± 0.35 ^a	3.78 ± 0.35 ^b	9.95 ± 0.76 ^{ab}
CCL	9.55 ± 0.37 ^a	2.84 ± 0.22 ^a	4.37 ± 0.19 ^a	8.74 ± 1.34 ^b
CCLP	8.28 ± 0.46 ^b	3.19 ± 0.26 ^a	4.03 ± 0.22 ^{ab}	11.96 ± 1.08 ^a

^{1) 2)} Refer to footnote in Table 1.

Table 3. Effect of *Protaetia Orientalis* larva (Gory et Perchlon) on the serum glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase activities in rats

Group	GOP (unit/mL serum)	GPT (unit/mg protein)
C ¹⁾	85.62 ± 3.54 ^{c2)}	44.26 ± 2.14 ^c
CCL	140.01 ± 9.20 ^a	58.75 ± 2.50 ^a
CCLP	119.33 ± 3.48 ^b	50.25 ± 1.11 ^b

^{1) 2)} Refer to footnote in Table 1.

와 glutamic pyruvic transaminase (GPT)활성에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 3과 같다. GOT의 활성은 정상식이군이 약 86 unit이었으나 사염화탄소투여에 의해 140 unit로 유의적인 증가를 보였고 ($p < 0.05$), 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군이 119 unit로 사염화탄소 단독투여군에 비해 유의적인 감소를 보였다. GPT 역시 GOT와 같은 경향으로 사염화탄소투여시 정상식이군에 비해 유의적인 증가를 보였고, 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군은 사염화탄소 단독투여군에 비해 유의적인 감소를 보였다($p < 0.05$).

4. 간 조직 중의 항산화 효소 활성도

사염화탄소와 굶餓이 투여가 간의 cytosolic fraction에 존재하는 항산화효소 활성에 미치는 영향은 Table 4와 같다. Catalase활성은 정상식이군에 비해 사염화탄소 투여시 15% 감소하였으며, 사염화탄소투여군에 비해 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군이 16%의 증가를 보였다. Total SOD활성은 정상식이군 0.277 unit인데 비해 사염화탄소투여군은 0.245 unit으로 유의적인 감소를 보였으며, 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군은 사염화탄소투여군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다. Cu, Zn-SOD활성도 정상식이군 0.227 unit인데 비해 사염화탄소투여군은 0.200 unit으로 유의적으로 감소하였으며, 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군은 사염화탄소 단독투여군에 비해 15% 증가해 통계적 유의성을 나타내었다. Mn-SOD활성은 정상식이군에 비해 사염화탄소투여군이 14% 감소하였으며, 사염화탄소 단독투여군과 사염화탄소와 굶餓

이 병용투여군은 거의 유사하였다.

GST (glutathione-S-transferase) 활성은 정상식이군에 비해 사염화탄소투여군이 28% 감소해 통계적으로 유의성이 있으며, 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군은 사염화탄소 단독투여군에 비해 유의적인 증가를 보였다 ($p < 0.05$). Glutathione peroxidase는 사염화탄소투여군이 정상식이군에 비해 유의적인 감소를 나타냈지만 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군과는 큰 차이가 없었다. Glutathione reductase활성은 사염화탄소투여군이 정상식이군에 비해 7% 감소하였지만 유의성은 없으며, 사염화탄소 단독투여군에 비해 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군이 25% 감소하였다 (Table 4).

5. 간의 미세구조적 특징

정상식이군의 간조직은 간세포 핵의 핵공 (nuclear pore)과 핵 주위에 조면소포체 (endoplasmic reticulum)가 잘 발달되었으며 이들 조면소포체 사이로 mitochondria가 균일하게 분포되어 있는 것이 관찰되었다 (Fig. 1). 사염화탄소 투여군의 간조직 세포는 세포질에 섬유화 현상이 관찰되었으며 직경이 다양한 형태의 섬유다발들이 세포질의 많은 부분에서 관찰되었다. 조면소포체와 mitochondria는 대부분 소실되었으며, 세포질의 괴사로 세포와 세포의 탈락된 조직이 관찰되었다 (Fig. 3). 사염화탄소와 굶餓이 병용투여군의 간조직 세포는 세포질에 지방소적이 다소 관찰되었으나 세포질의 괴사 현상은 감소하여 조직세포사이의 괴리 현상은 관찰되지 않았다. 부분적으로는 조면소포체와 mitochondria가 관찰되었으며 세포질의 섬유화 현상은 부분적으로만 관찰되었다 (Fig. 2).

Table 4. Specific activities of antioxidant enzymes in liver of rats fed *Protaetia Orientalis* larva (Gory et Perchlon)

Group	C ¹⁾	CCL	CCLP
Catalase	44.40 ± 1.40 ²⁾	34.50 ± 1.55 ^b	50.10 ± 4.10 ^a
Total SOD	0.277 ± 0.003 ^a	0.245 ± 0.005 ^b	0.268 ± 0.005 ^a
Cu, Zn SOD	0.227 ± 0.003 ^a	0.200 ± 0.009 ^b	0.229 ± 0.004 ^a
Mn SOD	0.051 ± 0.00 ^a	0.044 ± 0.002 ^b	0.043 ± 0.002 ^b
Glutathione peroxidase	459.87 ± 4.88 ^a	376.05 ± 3.75 ^b	386.33 ± 10.21 ^b
Glutathione-S-transferase	53.97 ± 1.37 ^a	39.01 ± 0.97 ^b	57.18 ± 0.93 ^a
Glutathione reductase	1.39 ± 0.02 ^a	1.30 ± 0.05 ^a	0.98 ± 0.05 ^b

¹⁾²⁾ Refer to footnote in Table 1.

고 찰

예로부터 곤충은 한약재로 이용되어 왔으며 약재로 이용하는 종류는 굶餓이, 누에, 꿀, 매미허물, 등충하초, 지네 등 약 30여종에 달한다. 그 중 점박이꽃무지 [*Protaetia Orientalis* (Gory et Perchlon)]는 몸길이가 16~25 mm로 등쪽이 비교적 넓적하며 녹색이 강한 점 외에는 흰점박이 꽃무지와 매우 유사하다. 생태적 습성도 매우 비슷하지만, 개체수는 흰점박이 꽃

무지보다 많은 편이다. 애벌레는 썩은 나무나 초가집의 지붕에서 썩는 짚, 낙엽 등을 먹고 자라며, 성충이 되기까지는 2년 이상이 걸린다. 이는 한국(중부, 남부, 제주도), 일본, 중국, 대만, 인도 북부, 미얀마 등에 주로 분포되어 있으며 요즘 우리 나라의 남쪽지방이나 제주도에서 간에 좋은 한약이라고 팔리는 굼벵이는 주로 이들의 애벌레이다. 그러나 지금까지 굼벵이의 약리적 효능에 대한 실험은 거의 이루어지지 않았으며, 따라서 본 실험에서는 흰쥐에게 사염화탄소(CCl_4)를 투여해 간손상을 일으키고 굼벵이를 투여해 굼벵이가 간의 지질대사를 개선시키는지의 여부와 노화를 방지하는 항산화효소의 활성화에 어떤 영향을 미치는지를 살펴보고자 본 연구를 수행하였다.

본 실험에서 사염화탄소를 투여한 군에서 간 무게가 유의적으로 증가하였으며, 이는 발암물질을 투여한 다른 연구들도 유사한 결과를 보여 주었다(Kim et al., 1995). 특히 간의 상태를 육안으로 살펴보았을 때도 사염화탄소 투여군에서 간이 비대해 있고 섬유질화되어 있었다. 한편, 사염화탄소의 투여로 증가된 간의 무게가 굼벵이의 섭취로 유의적으로 감소된 것은 사염화탄소에 의한 간 장애를 굼벵이가 보호하여 준 것으로 생각된다.

간 지질대사를 살펴본 결과 사염화탄소에 의해 증가된 총 콜레스테롤은 굼벵이의 투여로 감소되었으며 phospholipid는 반대로 유의성 있게 증가하였다. 콜레스테롤은 사염화탄소 등의 간 장애물질의 투여로 인한 간 손상의 유발로 축적되며, 심한 경우 지방변성이 일어나 혈중으로의 유출이 증가된다. 그러나 이렇게 증가된 총 콜레스테롤 함량이 굼벵이의 섭취로 감소됨에 따라 굼벵이는 사염화탄소가 유도하는 간 독성과 지방성분의 축적을 억제하는 효과가 있을 것이라 사료된다. Phospholipid는 지단백질의 구성요소일 뿐만 아니라 지질운반에 크게 관여하는 지질로서 이의 합성 또는 공급 장애가 있을 때는 지방간 등의 원인이 되는 것으로 알려져 있다(Wakefield & Calhoun, 1977; Narayan & McMullen, 1979). Phospholipid함량이 굼벵이 투여에 의해 증가한 것으로 보아 굼벵이에 의해 간지질 대사가 촉진되어 지방간 등의 원인을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다. 이와 같은 현상은 혈청의 간기능 지표 효소활성도를 측정한

결과와도 잘 일치하고 있다. 혈청 GOT와 GPT활성은 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 삼재성 간 장애의 분류 및 급성간염 발병의 조기진단에 불가결한 요소로 간조직 손상 시 다량 혈중으로 유출된다(Takeda et al., 1964). 본 실험에서 사염화탄소에 의해 간조직이 손상되어서 GOT, GPT활성이 증가하였고 굼벵이 투여시 GOT, GPT의 활성이 유의적으로 감소한 것은 굼벵이가 간 기능의 회복에 관여하고 있다는 사실을 입증하고 있다고 생각된다.

한편, 간의 cytosolic fraction에 존재하는 항산화효소 활성화에 미치는 영향을 살펴본 결과 사염화탄소에 의해 감소된 catalase, total SOD, Cu, Zn SOD, glutathione-S-transferase의 활성도가 굼벵이의 병용투여로 유의성 있게 증가하였다. H_2O_2 와 ROOH를 물과 알코올로 만드는 catalase는 peroxisome의 지표효소로서 β -oxidation에 의해 peroxisome에서 생성되는 H_2O_2 를 제거하여 생체를 방어하는 기능을 가지고 있다(Kvannes et al., 1995). 본 실험에서 Catalase활성이 정상식이군에 비해 사염화탄소의 투여시 감소했으며, 사염화탄소투여군에 비해 사염화탄소와 굼벵이 병용투여군이 유의적으로 증가됨에 따라 굼벵이의 섭취가 catalase를 활성화시켜 간 세포의 손상을 보호하는 것으로 생각된다. SOD는 superoxide free radical의 파괴를 촉매하여 이들의 해로운 영향에 대해 oxygen-metabolizing cell을 보호한다. SOD는 그 활성자리에 촉매적 보결금속(catalytic prothetic metal)이 다른 3종류인 Cu, Zn-SOD, Fe-SOD, Mn-SOD의 metallo-enzyme이 있고, 각각은 cyanide의 H_2O_2 에 의해 구별된다(Asada et al., 1974; Droillard & Paulin, 1990). Cu, Zn-SOD, Mn-SOD는 동물의 거의 모든 조직에 분포되어 있으며 그 중 간장에 가장 많이 존재한다(Rex & Christine, 1989). 본 실험에서 total SOD활성이 사염화탄소와 굼벵이 병용투여군에서 유의적으로 증가된 것은 굼벵이가 사염화탄소로부터 생성된 CCl_3 에 의한 SOD의 직접적인 손상 또는 단백질 합성의 저해를 억제하였기 때문으로 생각된다. Cu, Zn-SOD활성도 정상식이에 비해 사염화탄소투여군이 유의적으로 감소하였으며 이러한 결과는 사염화탄소 투여에 의해 간 조직 중 Cu, Zn-SOD활성이 감소하였다는 보고(Han, 1997)와 일치한다. Togashi et al. (1970)는

Cu, Zn-SOD활성은 간암세포에서 O_2^- 생성과 함께 감소되어 활성산소에 의한 유리라디칼 손상을 더 쉽게 받게 될 것이라고 보고하였다. 따라서 굼벵이의 섭취로 Cu, Zn-SOD활성이 증가됨에 따라 생성된 O_2^- 을 보다 효과적으로 제거해 주었을 것으로 생각된다. GST (glutathione-S-transferase)는 간세포의 원형질에 주로 존재하는 효소로 Selenium independent glutathione peroxidase이며 독성물질의 해독과정에 관여하는 다기능 효소로서 생체내에서 생성된 친전자성 물질을 glutathione과 포함시킴으로써 이를 무독화하여 생체를 보호하는 것으로 알려져 있다 (Prohaska & Ganther, 1977; William et al., 1983). 본 실험에서 GST활성이 정상식이군에 비해 사염화탄소 투여군이 유의적으로 감소하였으며, 이는 정상군에 비해 사염화탄소투여군의 효소활성이 현저히 감소되었다는 보고 (Yeo et al., 1996)와 일치한다. 한편, 사염화탄소와 굼벵이 병용투여군은 사염화탄소 단독투여군에 비해 유의적인 증가를 보였다. Glutathione peroxidase는 Se를 함유하는 항산화계 효소로서 (Helen et al., 1979) 생체내에서 H_2O_2 와 GSH로부터 물과 산화형 glutathione (GSSG)를 생성하는 반응과 기타 과산화물 (ROOH)과 GSH로부터 GSSG, alcohol (ROH) 및 물을 생성하는 반응을 촉매함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소 독을 해독한다. Glutathione peroxidase는 사염화탄소투여군이 정상식이군에 비해 유의적인 감소를 나타냈지만 사염화탄소와 굼벵이 병용투여군과는 큰 차이가 없었다. 이는 굼벵이가 사염화탄소에 의해 감소된 glutathione peroxidase (GSH-Px)의 구성 성분인 Se의 함량을 증가시키지 못했기 때문인 것으로 생각된다.

전자현미경 관찰에서 정상식이군의 경우 간조직에서 세포질 전 부위에 조면소포체와 mitochondria가 관찰되는 것은 단백질 합성이 일어나고 있으며 energy요구에 따른 mitochondria의 분포가 세포질에 균일하여 정상적인 세포로 생각된다. 그러나 사염화탄소 투여군의 간조직 세포는 세포질에 지방소적 형성으로 세포질의 괴사 현상이 나타나며, 세포의 괴사로 세포와 세포가 괴리되어 조직세포가 분리되는 간조직의 퇴행성 변화를 초래할 것으로 생각된다. 그 뿐만 아니라 세포질에 조면소포체와 mitochondria의 소

실과 세포질의 섬유화 현상은 세포의 기능을 상실시키고 세포질의 섬유화 및 세포질의 괴리를 가중시킬 것으로 예상된다. 사염화탄소와 굼벵이 병용투여군의 간조직 세포는 세포질에 지방소적은 관찰되었으나 수적 감소는 현저하게 나타났으며 세포질의 괴사도 다소 줄어드는 것으로 관찰되어 세포의 기능이 부분적으로 회복되는 것으로 생각되었다. 또한 세포질의 섬유화 현상은 부분적으로 관찰되었으나 조면 소포체와 mitochondria의 수가 증가하여 간세포의 세포질이 세포의 괴사 현상으로부터 부분적으로 복구되고 있는 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Asada K, Takahashi M, Nagate M: Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. *Agric Biol Chem* 38: 471-478, 1974.
- Deagen JT, Butler JA, Beilstein MA, Whanger PD: Effects of dietary selenite, selenocystine and selenomethionine on selenocysteine Lyase and glutathione Peroxidase activities and on selenium levels in rat tissues. *J Nutr* 117: 91-98, 1987.
- Donald EP, Willam NV: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med* 70: 158-169, 1967.
- Droillard M, Paulin A: Isoenzymes of superoxide dismutase in mitochondria and peroxisomes isolated from petals of carnation (*Dianthus caryophyllus*) during senescence. *Plant Physiol* 94: 1187-1205, 1990.
- Edwin WK, Irwin F: Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymically generated superoxide and hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 256: 6721-6727, 1977.
- Han EG, Sung IS, Moon HG, Cho SY: Effect of *Codonopsis lanceolata* water extract on the levels of lipid in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 1181-1186, 1997 (Korean).
- Helen WL, Ray LS, James JC: Glutathione peroxidase activity in intestinal and liver tissue of rats fed various levels of selenium, sulfur, and α -tocopherol. *J Nutr* 109: 444-452, 1979.
- Kang IJ, Kim HK, Chung CK, Kim SJ, Oh DH: Effects of *Protaetia Orientalis* (Gory et Perchlon) larva on the lipid

- metabolism in ethanol administered rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 29: 479-484, 2000 (Korean).
- Kim JH, Yoon HJ, Jang JJ: Effects of sardine oil feeding and vitamin E supplement on the preneoplastic hepatic lesion and cholesterol metabolism in hepatocarcinogenesis of rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 24: 848-858, 1995 (Korean).
- Kvannes J, Ekihom TS, Flatmark T: On the mechanism of stimulation of peroxisomal β -oxidation in rat heat by partially hydrogenated fish oil. BBA 1255: 39-49, 1995.
- Narayan KA, McMullen JJ: The interactive effect of dietary glycerol and diet corn oil on rat liver lipids and serum lipoproteins. J Nutr 109: 1836-1843, 1979.
- Prohaska JP, Ganther HE: Glutathione peroxidase activities of glutathione-S-transferase purified from rat liver. Biochem Biophys Res Comm 76: 487-493, 1977.
- Rex M, Christine CW: Reduced glutathione in combination with superoxide dismutase as an important biological antioxidant defence mechanism. Biochem Pharmacology 38: 4349-4357, 1989.
- Richard HS, Chalos HS, David P: Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. J Biol Chem 256: 7181-7187, 1981.
- Sheri ZC, Keen CL, Lonnerdal B, Hurley LS: Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat: Developmental correlations affected by manganese deficiency. J Nutr 113: 2498-2504, 1983.
- Simon RH, Scoggin CM, Patterson D: Hydrogen peroxide cause the fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. J Biol Chem 226: 7181-7189, 1981.
- Stefan M, Gudrun M: Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 47: 469-474, 1974.
- Takeda Y, Ichihara A, Tanioka H, Inove H: The effect of corticosteroids on leakage of enzyme from dispersed rat liver cell. J Biol Chem 239: 3590-3596, 1964.
- Togashi H, Shinzyvoa H, Wakabayoshi H, Nakamura T: Activites of free oxygen radical scavenger enzymes in human liver. J Hepatol 11: 200-205, 1970.
- Wakefield FA, Calhoun WK: Influence of dietary glycerol on the serum lipoprotein of rats fed a fat-free diet. J Nutr 107: 2153-2162, 1977.
- William HH, Michael JP, William BJ: Glutathione S-Transferase. J Biol Chem 249: 7130-7139, 1974.
- William RP, Jolene JW, John FM: Increased synthesis of glutathione S-transferase in response to anticarcinogenic antioxidants. J Biol Chem 258: 2051-2058, 1983.
- Yeo JY, Lee YJ, Han JP: Effect of pine pollen proteins on rat liver injury induced CCl₄. J Korean Soc Food Sci Nutr 25: 34-38, 1996 (Korean).

< 국문 초록 >

본 실험은 간염을 비롯한 간 질환에 그 동안 민간요법에서 임상적 효능이 우수한 것으로 알려진 굼벵이를 사용하여 그 약리적 효능을 밝히고자 흰쥐에 사염화탄소를 투여해 간 손상을 유도한 후 굼벵이를 투여해 굼벵이가 간 지질대사, 간기능 지표효소활성 및 항산화효소 그리고 간의 미세구조에 어떠한 영향을 미치는가를 조사하였다. 간 지질 중 사염화탄소에 의해 증가된 triglyceride, 총 cholesterol은 굼벵이를 섭취시킴으로써 그 수치가 감소되었으며, 반면 phospholipid함량은 유의적으로 증가되었다. GOT와 GPT의 활성은 사염화탄소투여시 정상식이에 비해 유의적인 증가를 보인 반면, 굼벵이의 섭취로 유의적인 감소를 나타내었다. 항산화효소의 경우, 사염화탄소 투여군은 catalase, total SOD, Cu-Zn SOD 및 glutathione-S-transferase의 활성도가 크게 감소하는 현상을 나타내었으나, 굼벵이와의 병용투여에 의해 유의적인 증가를 나타냈다. 간의 미세 구조적 특징에서 사염화탄소투여군의 간조직세포는 세포질에 섬유화 현상이 관찰되었으며 조면세포체와 mitochondria가 대부분 소실되었고 세포질 괴사로 세포와 세포의 탈락된 조직이 관찰되었다. 반면, 사염화탄소와 굼벵이 병용투여군의 간조직 세포는 세포질의 지방소적이 감소하였으며 세포질괴사도 다소 줄었고, 조면세포체와 mitochondria의 수는 증가하였다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** The electron micrograph of hepatocytes of experimental rat administered control diet ($\times 14,000$). M: Mitochondria, RER: Rough endoplasmic reticulum, NP: Nuclear pore.
- Fig. 2.** The electron micrograph of hepatocytes of experimental rat administered carbon tetrachloride and *Protoetia Orientalis* larva ($\times 14,000$). F: Lipid droplet.
- Fig. 3.** The electron micrograph of hepatocytes of experimental rat administered carbon tetrachloride ($\times 14,000$). RER: Rough endoplasmic reticulum, F: Lipid droplet.

