한국전자현미경학회지 제 31 권 제 3 호 2001
Korean J. Electron Microscopy 31(3), 267~274(2001)

생진양혈탕가미방이 Streptozotocin으로 유발된 당뇨 생쥐의 췌장에 미치는 영향

김 정 상, 박 민 희, 정 해 만[1,*]
동신대학교 한의과대학 해부학교실, [1]조선대학교 치과대학

Effects of Saengchinyanghyoltang-gamibang on the Pancreatic Islets of the Mice Induced with Streptozotocin

Jeong Sang Kim, Min Hee Park and Hae Man Jung[1,*]
Dept. of Oriental Medicine, Dongshin University, [1]Dept. of Dentistry, Chosun University
(Received August 8, 2001)

ABSTRACT

This study was carried out to understand the effects of Saengchinyanghyoltang-gamibang (SGT) on pancreatic islets of the mice induced with streptozotocin (STZ).

In the control group, two times injected with 50 mg/kg STZ at 24-hour intervals, a few number of insulin immunoreactive-cells are observed at the pancreatic islets of the mice. In the experimental group which administered with extract of SGT during 21-day, a number of immunoreactive-cells are observed at the pancreatic islets. According to the electron microscopic observation, β-cells of the control group were contained a few of secretory granules, but also these granules were contained electro-lucent materials. In the experimental group, a lot of secretory granules and well developed cell organelles are observed at the β-cells. The level of glucose was significantly decreased in the experimental group compared with control group, but the level of BUN was similar in these two groups.

These results suggest that administration of SGT to the mice improved the damage of β-cells from injected with STZ.

Key words : β-cell, Glucose level, Insulin immunoreactive-cells, Saengchinyanghyoltang-gamibang (SGT)

서 론

사람 췌장섬은 과립의 유무와 염색성에 따라 α, β, δ 등의 과립세포와 과립이 없는 C세포로 구분된다. 특히 β세포는 내분비세포의 60~70%를 차지하며 인슐린을 생성하여 혈당치를 저하시키는 작용을 한다 (Like & Orci, 1972). 돼지 췌장섬의 미세구조와 내분

이 논문은 2000년 조선대학교 교내 학술비 지원에 의한 것임.
* Correspondence should be addressed to Dr. Jung Hae Man, Department of Oral Biology, College of Dentistry, Chosun University, E-mail: *hmjung@chosun.ac.kr*
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

비세포가 함유하고 있는 분비과립이나 호르몬 양도 사람의 것과 유사한 것으로 밝혀져 있다(Agneta & Olle, 2001). 췌장섬 내분비세포 중 β세포의 형태학적 특징은 당뇨병이 유발된 상태이거나 당뇨병 어미쥐에서 출산한 쥐들에서 변형되어 있으며(Alert & Acche, 1998), 췌장섬 β세포는 산화압(oxidative stress) 상태에서 유리산소에 의해 손상되며 그 결과 활성에 영향을 미치게 되며(Olejnicka et al., 1999), sucrose를 인위적으로 투여해도 이자섬 β세포의 활성에 영향을 미치게 된다(Camihort et al., 2000). 또한 면역억제제인 cyclosporin A를 흰쥐에 투여하였을 경우도 포도당과 인슐린의 혈중 농도에 영향을 미치게 되며(Neto et al., 1999), 인슐린염이나 당뇨병 상태에서는 β세포의 미세구조 변화가 일어난다(Kono et al., 2000; Westermark et al., 2000).

당뇨병이란 인슐린분비의 절대적 또는 상대적 부족이나 인슐린 표적세포에서 인슐린의 생물학적 효과 감소로 인하여 발생되는 고혈당 상태 및 대사장애가 지속되는 질환으로 원인에 따라 췌장 β세포의 파괴에 의한 인슐린 의존형 당뇨병(insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM)과 β세포에서의 인슐린 분비 이상 혹은 인슐린 표적세포에서의 인슐린 작용 이상에 의한 인슐린 비의존형 당뇨병(noninsulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM)으로 분류하고 있다(Rubin & Farber, 1999).

한의학에서는 당뇨병이 발현되는 증상이 소갈과 유사하기 때문에 "消穀善飢 渴而多飮"한 병증인 소갈의 범주로 해석하여,《內經》에 消渴, 消癉, 脾癉, 肺消, 鬲消, 風消, 消中 등 유사한 질병을 처음 기재하였다(마와 장, 1977). 生津養血湯은 瀉心肺之火하고 補陰血生津하는 작용으로 다음, 구갈하는 上消에 활용되는 처방으로 소갈의 치료에 사용되어 왔다(신, 1989). 한의학에서 당뇨병 치료에 사용하는 생진양혈탕에 관한 연구들이 소수 보고된 바 있으며(Kim et al., 1994; Kim et al., 1995; Kang, 1998), 玫瑰花(Rosa rugosa, Thunbergii)는 해당화라는 이름으로 더 잘 알려진 약으로 매괴화 뿌리가 당뇨치료 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Sohn et al., 1991).

따라서 본 연구는, 당뇨 치료에 유효한 생진양혈탕에 매괴화근을 가미한 처방으로 연구한 보고가 없어서, streptozotocin (STZ)을 투여하여 고혈당 생쥐를 유발시킨 다음 생진양혈탕가미방의 전탕액을 투여하여 당뇨치료 효과를 검색하고자 인슐린 면역조직화학적인 방법, β세포의 미세구조적 변화, 혈당치 및 BUN의 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험 동물 및 당뇨유발

실험동물은 체중 25 g 내외의 웅성 생쥐(ICR strain)를 사용하였다. 실험군은 대조군, 생진양혈탕 투여군으로 나누었다. 실험에 사용한 모든 생쥐는 정상적인 사육환경에서 2주 이상 적응시킨 후 12시간 동안 절식시킨 다음 STZ(50 mg/kg)을 24시간 간격으로 2회 복강 주사하였다.

2) 약제

생진양혈탕투여군의 약제 처방은 '方藥合編'에 수재된 生津養血湯에 玫瑰花를 가미하였으며 1첩의 처방내용과 분량은 다음과 같다.

韓藥名	生 藥 名	重量
當歸	Angelicae gigantis Radix	3.750
白灼藥	Paeoniae Radix	3.750
生地黃	Rehmanniae Radix	3.750
麥門冬	Liriopis Tuber	3.750
川芎	Cnidii Rhizoma	3.000
黃連	Coptidis Rhizoma	3.000
天花粉	Trichonsanthis Rhizoma	2.625
知母(蜜炒)	Anemarrhenae Rhizoma	1.875
黃柏(蜜炒)	Phellodendri Cortex	1.875
蓮肉	Nelumbo Semen	1.875
烏梅	Mume Fructus Praeparatus	1.875
薄荷	Menthae Folium	1.875
甘草	Glycyrrhizae Radix	1.875
玫瑰花	Rosa rugosa	36.750
總量		73.500

2. 방법

1) 약물 추출

본 실험에 사용하는 약물은 증류수 1,000 ml과 함께 약탕기에 넣고 3시간 동안 전탕하였다. 전탕액만을 취

하여 고속원심분리기 (Centricon T-42K, Kontron)로 원심분리(5,000 rpm)하여 침전물을 여별한 후 rotatory evaporator (Buchi, Netheland)를 사용하여 240 ml로 농축하였다.

2) 약물 투여

대조군은 췌장손상을 유발한 다음 약물을 처치하지 않고 자연 치유과정을 거치게 하였다. 약물처치군은 추출한 각각의 약물(0.4 ml/day)을 21일간 자연식이 하였다.

3) 면역조직화학적 검사

생쥐의 췌장조직을 적출하여 4%의 paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 고정시켰다. 췌장조직을 paraffin으로 포매한 후 microtome을 사용하여 조직을 5 μm 두께로 절편을 제작한 후 통상적인 방법에 따라 paraffin을 제거하였다. pH 7.2, 0.1 M의 phosphate buffer saline (PBS, 0.9% NaCl) 용액에 24시간 동안 배양시킨 다음 15분간 PBS로 세척한 뒤 10% horse serum을 함유한 blocking solution을 사용하여 20분 동안 배양시키고 다시 PBS용액으로 15분간 세척하였다.

세척된 각각의 조직위에 insulin 항체를 처리하고 상온의 배양접시에서 2시간 동안 배양시킨 뒤 15분간 PBS용액으로 세척하였다. Biotinylated anti-mouse IgG를 처리하여 30분간 배양시킨 후 15분간 PBS용액에 담구어 세척하였다. 이를 다시 avidin-biotinylated enzyme complex (ABC) regent (Vector Lab, CA, USA)를 조직에 처리 30분간 반응시키고 다시 PBS용액에서 15분간 세척하였다.

DAB 발색시약을 조직에 떨어뜨려 2분간 발색시키고 난 후 흐르는 물에 과량의 염색시약을 제거하였다. 물기를 제거한 후 여과시킨 hematoxylin에 20초간 대조염색을 한 후 통상적인 방법에 따라 영구 표본을 제작한 후 광학현미경으로 검경한 후 사진을 촬영하였다.

4) 전자현미경 관찰

췌장조직의 일부를 절취하여 전고정액 속에서 1 mm^3 크기로 세절한 후 2.5% glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.2)로 2시간 동안 전고정하였다. 전고정이 끝난 조직은 동일 완충액을 사용 10분 간격으로 3회 세척한 후 1% osmium tetroxide (OsO_4)로 2시간 후 고정한 다음 동일 완충액으로 3회 세척하였다. 세척 후 시료들은 상승농도 순의 에탄올로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 Epon-Araldite 혼합액으로 포매 하였고 60°C 오븐에서 30시간 중합시켰다. 포매된 조직들을 LKB-V형 ultramicrotome을 사용 1 μm 두께로 절편을 제작하여 1% toluidine blue로 hot plate (60°C)상에서 염색하였다. 염색된 시료를 광학현미경으로 관찰하여 조직을 확인한 다음 동일한 부위에서 50 nm두께로 초박절편을 제작하여 cooper grid에 부착하였고, uranyle acetate와 lead citrate로 이중 염색한 다음 JEM 100 CX-II 투과형 전자현미경 (80KV)으로 관찰하였다.

5) 혈당측정

4-amionantipyrin 17.5 mg과 0.2 ml의 glucose oxidase를 가한 것을 준비하고(A시약), phenol 0.2 g과 NaCl 0.9g을 100 ml의 증류수에 녹인 것을 준비하였다(B시약). glucose srandard는 glucose 400 mg/dl를 준비하여, serial dilution한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 각 sample 5 μl을 혼합하여 10분간 상온에 방치한 후, B시약 1,000 μl를 넣는다. 이 후 510 nm에서 흡광도를 spectrophotometer로 측정하였다.

6) BUN 측정

40 ml의 증류수에 NaOH 1.25 g을 녹인 다음 sodium hypochlorite 2 ml을 가하고 증류수로 총 50 ml을 만들었다(A 시약). Phenol 2.5 g과 sodium nitroprusside 14.25 mg을 증류수에 녹여 50 ml로 만들었다(B 시약). EDTA Na_2 500 mg을 glycerin 20 ml과 증류수 25 ml에 녹인 다음 4% NaOH로 pH 6.5로 맞춘 다음 증류수로 총 50 ml을 만들고, 이 중 10 ml에 urease type III 3 mg을 녹였다(C 시약). Urea strandard는 urea 200 mg/dl를 준비하여, serial dilution 한 620 nm에서 흡광도를 측정한다. 그리고 각 sample 5 μl에 C 시약 50 μl를 혼합하여 15분간 상온에 방치한 후, 여기에 A 시약 100 μl, B 시약 100 μl를 넣어 15분간 상온에 방치하였다. 여기에 증류수 1,000 μl를 넣은 후 흡광도를 spectrophotometer로 측정하였다.

결 과

1. Insulin-면역조직화학

정상군 생쥐의 이자섬에서는 insulin 면역반응성이 매우 높게 나타났으나(Fig. 1), 생쥐에 STZ을 복강 투여하여 당뇨를 유발시킨 대조군 췌장조직의 이자섬에서는 insulin에 면역반응성 보이는 β세포들이 소수 관찰되었다(Fig. 2). 생진양혈탕가미방 추출액을 투여한 실험군 이자섬들은 대조군에 비하여 보다 강한 insulin 면역반응성을 보여주었으며, 전반적인 반응정도는 정상군과 유사하였다(Fig. 3).

2. 전자현미경 관찰

정상군 생쥐의 insulin 분비세포는 핵의 이중막이 비교적 뚜렷이 관찰되었으며 핵소체가 발달해 있었다. 분비세포는 세포질소기관이 비교적 잘 발달하였고 세포질 내에는 많은 분비과립들이 함유되어 있었다. 분비과립의 형태는 구형 또는 타원형이었고 다양한 크기로 관찰되었다. 인슐린 분비과립은 전자밀도가 높은 것과 낮은 것이 혼재하였으며, 전반적으로 전자밀도가 낮은 물질속에 전자밀도가 높은 중심부분을 갖고 있었다(Fig. 4).

STZ으로 당뇨를 유발시킨 대조군 생쥐의 insulin 분비세포는 핵의 핵막이 정상군에 비하여 뚜렷하지 않았으며 세포질소기관의 발달도 미약하였다. 세포질 내에 함유되어 있는 분비과립의 수도 현저히 감소하였으며, 전자밀도가 높은 중심부분의 크기가 정상군에 비하여 현저히 작았다(Fig. 5).

STZ으로 당뇨를 유발시킨 후 생진양혈탕가미방 추출액을 투여한 실험군은 핵의 핵막이 정상군에 비하여 뚜렷하지 않았다. 세포질 내의 insulin 분비세포의 수는 정상군에 비하여 다소 적게 관찰되었으나 대조군에 비해서는 증가하였으며, 전자밀도가 높은 중심부분의 크기도 대조군에 비하여 다소 증가하였다(Fig. 6).

3. Glucose와 BUN의 변화

STZ으로 당뇨를 유발시킨 생쥐의 대조군과 각각의 약물을 투여한 실험군의 혈청을 얻어 glucose와 혈액요소질소(BUN)를 측정하였다. 그 결과 혈당은 대조군(365.33±91.01 mg/dl)에 비하여 생진양혈탕가미방 투여군(179.56±73.36 mg/dl)에서 현저히 감소하였다(Table 1). BUN은 대조군(32.77±2.16 mg/dl)과 실험군(32.31±2.99 mg/dl) 사이의 차이는 관찰되지 않았다.

Table 1. The effects of Saengchinyanghyoltanggamibang on the serum glucose and BUN levels in STZ-induced hyperglycemic mice

Drug / Group	Glucose (mg/dl)		BUN (mg/dl)	
	Mean±S.E	Prob>|T|	Mean±S.E	Prob>|T|
Control	365.33±91.01		32.77±2.16	
Exp.	179.56±73.36	0.2532	32.31±2.99	0.9111

Drugs were treated as described in materials and methods. Mean±S.E: Mean±standard error, Prob>|T|: Values in the T test. control; group of treated with streptozotocin, Exp; group of administered with Saengchnyanghyoltang-gamibang

고 찰

생진양혈탕은 當歸, 白芍藥, 生地黃, 川芎, 麥門冬, 黃連, 天花粉, 知母, 黃栢, 蓮肉, 烏梅, 薄荷, 甘草로 구성되는데, 當歸는 補血活血, 潤燥, 養腎血, 川芎은 活血行氣, 祛風止痛散瘀, 生地黃은 淸血養血, 白芍藥은 養血斂陰, 緩急止痛, 麥門冬은 生津, 潤肺, 瀉熱除煩, 黃連은 瀉心火, 淸熱, 天花粉은 降火潤燥解渴, 知母는 壯水淸金, 潤腎滋陰, 止渴除煩, 黃栢은 瀉腎火, 蓮肉은 益氣淸心, 補中養神, 烏梅는 斂肺, 生津止渴, 薄荷는 宣滯解鬱, 消散風熱, 甘草는 淸熱解毒 효능을 갖는 약물로써 上消의 熱結로 因한 消渴에 應用될 수 있는 것이다.

생진양혈탕이 STZ로 유발된 쥐에 미치는 영향에 관한 연구(Kim et al., 1994)에서 고혈당쥐의 혈중지질성분인 total lipid와 triglyceride를 감소시키며, STZ 투여로 증감되었던 lipase, trypsin, amylase등 췌장의 외분비샘에서 분비되는 소화효소들의 활성도 정상수준으로 회복 되어 생진양혈탕이 췌장의 기능에 효과가 있음을 밝혔으나 이자섬의 기능 및 미세구조의 변화에 대해서는 밝혀진 바 없어 본 연구를 수행하였다.

Aughsteen (2000)에 의하면 생쥐에 STZ (75 mg/kg)

을 정맥주사 한 결과 24시간에서 가장 높은 고혈당이 유도되어 지속된다고 하였는데, 본 실험에서는 STZ (50 mg/kg)을 24시간 간격으로 2회 복강 주사한 후 당뇨가 유발되었음을 확인하고서 3일 째부터 생진양혈탕 추출액 (0.4 ml/day)을 21일간 자연식이 한 후 약물의 효능을 검증하기 우하여 STZ으로 당뇨를 유발시킨 생쥐의 대조군과 생진양혈탕가미방을 투여한 실험군의 혈청을 얻어 glucose와 혈액요소질소 (BUN)를 측정하였다. 그 결과 BUN은 대조군 (32.77 ±2.16 mg/dl)과 생진양혈탕가미방 추출액 투여군 (32.31±2.99 mg/dl) 사이의 차이는 나타나지 않았지만, 혈당은 대조군 (365.33±91.01 mg/dl)에 비하여 생진양혈탕가미방 투여군 (179.56±73.36 mg/dl)에서 현저히 감소하였다. 이와 같은 결과는 신장의 기능과 관련된 BUN의 변화가 없는 것으로 보아 신장의 기능 개선에는 효능이 없는 것으로 사료되지만 생진양혈탕가미방이 고혈당 생쥐의 혈당을 조절하는 효능이 있음을 시사해 준다고 할 수 있을 것이다.

이자섬의 β세포는 세포소기관을 기준으로 어둡고 비활성인 β세포, 밝고 활성인 β세포로 구분되며 (Alerts & Assche, 1998), β세포들이 인슐린염과 당뇨병의 진행에 절대적으로 중요하다 (Kondo et al., 2000). 당뇨병 심한 어미 쥐로부터 출산된 흰쥐들의 β세포의 활성도는 밝은 세포와 어두운 세포질을 갖는 세포들의 비율이 대조군에서는 50/50으로 나타났으나, 정상 흰쥐들에서는 밝은 β세포가 훨씬 많이 관찰된다고 하였다 (Alerts & Assche, 1998). STZ에 반응하는 생쥐 이자섬의 형태학적 변화를 보고자 Aughsteen (2000)은 STZ (75 mg/kg)을 정맥 주사한 후 광학 및 전자현미경으로 β세포를 관찰한 결과 처치 후 2시간에서부터 염색질이 응축되기 시작하였고 중심에 존재하는 β세포에서는 세포질의 소포화가 나타나기 시작되었다고 하였다. 12시간 후에는 핵의 응축과 함께 사립체와 형질내세망이 팽창되면서 β세포들이 파괴되기 시작하였으며, 24시간 이후에는 큰포식세포가 용해된 β세포들 사이에서 관찰되기 시작하였다고 하였다. Mulder et al. (2000)은 이자섬 amylin 결핍 생쥐 병태 모델에 alloxan을 투여한 결과 β-cell의 수가 현저히 감소하였으며 β-cell의 기능장애가 나타났다고 하였다. 이와 같은 결과는 amylin의 결핍 원인은 alloxan에 의한 세포독성작용을 상승시키기 때문이라고 하였다. Reddy et al. (1999)은 STZ으로 유발한 당뇨생쥐에서 유도된 nitric oxide가 큰포식세포로부터 분비됨으로써 β세포의 파괴하는 중요한 매개 분자일 가능성이 있다고 하였다.

본 실험에서도 STZ에 의하여 파괴된 β세포의 활성 또는 회복정도를 검증하기 위하여 생진양혈탕을 21일간 투여한 후 인슐린-면역조직화학적 검색을 통하여 관찰한 결과 생쥐에 STZ을 복강 투여하여 당뇨를 유발시킨 대조군 췌장조직의 이자섬에서는 insulin에 면역반응성을 보이는 β세포들이 소수 관찰되었다. 전자현미경을 통하여 미세구조를 관찰 한 결과 대조군 생쥐의 β세포는 핵의 핵막이 정상군에 비하여 뚜렷하지 않았으며 세포질소기관의 발달도 미약하였다. 또한 세포질내에 함유되어 있는 분비과립의 수도 현저히 감소하였으며, 전자밀도가 높은 중심부분의 크기가 정상군에 비하여 현저히 감소된 결과를 보여주었다.

실험적으로 유발된 당뇨 동물모델에 대한 연구에서 흰쥐에 날콩을 먹인 결과 이자섬 β세포에서 insulin mRNA의 발현이 정상 흰쥐에 비하여 유의성있게 증가할 뿐만 아니라 STZ을 투여한 쥐에서도 극소수의 β세포들만 궤사하였으며, 대부분의 세포들은 insulin mRNA의 활성이 매우 높게 나타나고 혈당 수준도 일시적으로 고혈당 상태를 유지하다가 정상적인 범주를 유지하였다고 하였다 (Lee et al., 2000). Camihort et al. (2000)은 10% sucrose를 음용시킨 결과 이자섬의 β세포는 전자밀도가 높은 분비과립의 수가 감소한 반면 전자밀도가 낮거나 융합된 과립상과 분비된 과립들의 수가 증가하고 β세포 사이공간과 사립체 영역들이 증가하였다고 하였다. Olejnicka et al. (1999)은 이자섬의 β-cells를 분리하여 배양한 결과 산화압 (oxidative stress)에 매우 민감하게 반응을 보이나 28 mM glucose를 첨가한 결과 보다 안정된 상태를 유지하였으며, 특히 용해소체가 안정된 형태를 보여주었다고 하였다. 그러나 임신된 쥐에 STZ을 투여하여 당뇨를 유발시킨 다음 태아 췌장의 β-cell을 관찰한 결과 세포질에 비하여 핵의 영역이 증가 하였고, insulin을 투여하여도 치료가 되지 않았다고 하였다 (Calbo et al., 1988). 본 연구에서는 당뇨 유발후 약물 (0.4

ml/day)을 21일간 자연식이 한 결과 인슐린 면역조직화학 검색 결과에서 대조군에 비하여 현저히 높은 면역반응성을 보여주었으며, 전자현미경적 β세포의 미세구조 관찰에서도 세포질내의 insulin 분비소포의 수는 정상군에 비하여 다소 적게 관찰되었으나 대조군에 비해서는 뚜렷이 증가하였으며, 전자밀도가 높은 중심부분의 크기도 대조군에 비하여 다소 증가하였다.

이와 같은 결과로 보아 생진양혈탕가미방 추출액의 투여가 STZ에 의하여 손상된 이자섬 β세포 회복에 효능이 있어, β세포 활성을 통하여 인슐린의 합성에 관여하고 그 결과 혈당의 농도를 조절하였을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

馬蒔 · 張志聰: 黃帝內經素問靈樞合編, 台北, 台聯國風出版社: <소문> pp. 64, 128, 218, 266-7, 280, 324, <영추> pp. 30-4, 239, 291, 297, 1977.

申載鏞: 方藥合編解說, 서울, 成輔社: p138, 1989.

Agneta L, Olle K: The Transplanted Fetal Endocrine Pancreas Undergoes an Inherent Sequential Differentiation Similar to that in the Native Pancreas. Diabetes 50 : 962-971, 2001.

Alerts L, Van Assche FA: Ultrastructural Evalulation of B-cell Recruitment in Virgin and Pregnant Offspring of Diabetic Mothers. Diabetes Res Clin Pract 41(1) : 9-14, 1998.

Aughsteen AA: An Ultrastructural Study on the Effect of STZ on the Islets of Langerhans in Mice. J Electron Microsc 49(5) : 681-690, 2000.

Calbo RM, Forcen R, Obregon MJ, Escobar del Rey F, Moreale de Escobar G, Regadera J: Immunohistochemical and Morphometric of the Fetal Pancreas in Diabetic Pregnants; Effects of insulin administration. Ana Rec 251(2) : 173-180, 1988.

Camihort G, Del Zotto H, Gomez D, Gagliardino JJ: Quantitative Ultrastructural Changes Induced by Sucrose Administration in the Pancreatic B Cells of Normal Hamsters. Biocell 24(1) : 31-37, 2000.

Kang SB: The Comparative Study between the Transfromations of Sogal and Complications of Diabetes Mellitus. K.O.M.S. 19(2) : 137-152, 1998. (Korean)

Kim SS, Choi JW, Lee CW: Pretreatment with Saengchinyanghyoltang to Prevent the Pancreatic Enzymes Changes by Streptozoticin in Rats. K.O.M.S. 15(2) : 429- 444, 1994.

Kim SS, Choi, JW, Lee KH, Kim SK, Lee CW: Effect of Saengchinyanghyoltang on the Hepatic Metabolic Enzyme System in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. K.O.M.S, 16(2) : 320-336, 1995. (Korean)

Kondo S, Iwata I, Anzai K, Akashi T, Wakana S, Ohkubo K, Katsuta H, Ono J, Watanabe T, Niho Y, Nagafuchi S: Suppression of Insulitis and Diabetes in B Cell-deficient Mice Treated with Streptozotocin; B Cells are Essential for the TCR Clonotype Spreading of Islet-infiltrating T cells. Int Immunol 12(7) : 1075-83, 2000.

Lee SH, Park IS: Effects of Soybean Diet on the Beta Cells in the Streptozotocin Treated Rats for Induction of Diabetes. Diabetes Res Clin Pract 47(1) : 1-13, 2000.

Like, AA, Orci L: Embryogenesis of Human Pancreatic islets; A light and electron microscopic study. Diabetes 21(2) : 511-517, 1972.

Mulder H, Gebre-Medhin S, Betsholtz C, Sundler F, Ahren B: Islet Amyloid Polypeptide (amylin)-deficient Mice Develop a More Severe Form of Alloxan-induced Diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab 278(4) : 684-689, 2000.

Neto AB, Haapalainen E, Ferreira R, Feo CF, Misiako EP, Vennarecci G, Porcu A, Dieb SA, Goldenberg S, Gomes PO, Nigro AT: Metabolic and Ultrastructural Effects of Cyclosporin A on Pancreatic Islets. Transpl Int 12(3) : 208-212, 1999.

Olejnicka BT, Andersson A, Turberg B, Dalen H, Brunk UT: Beta-cells, Oxidative Stress, Lysosomal Stability, and Apoptotic/Necrotic Cell Death. Antooxid Redox Signal 1(3) : 305-15, 1999.

Reddy S, Yip S, Karanam M, Poole CA, Ross JM: An Immunohistochemical Study of Macrophage Influx and the Co-localization of Inducible Nitric Oxide Synthase in the Pancreas of Non-obese Diabetic (NOS) Mice During Disease Acceleration with Cyclophosphamide. Histochem J 31(5) : 303-314, 1999.

Rubin E, Farber JL: Pathology. Lippincott-Raven Publishers, 227 East Washington Square, Philadelphia. pp. 1209-1211, 1999.

Sohn NW, Yoo JH: Effect of Rosa Rugosae Radix on the Liver Glycogen Contents of Streptozotocin Induced Diabetic Rats. J. of Eastern Physiology 6(1) : 105-12, 1991. (Korean)

Westermark GT, Steiner DF, Gebre-Medhin S, Engstrom U, Westermark P: Pro Islet Amyloid Polypeptide (ProIAPP) Immunoreactivity in the Islets of Langerhans. Ups J Med Sci 105(2) : 97-106, 2000.

<국문초록>

Streptozotocin (STZ)을 투여하여 고혈당을 유발시킨 생쥐의 이자섬에 생진양혈탕가미방이 미치는 영향을 규명하고자, 전탕액 (0.4 ml/day)을 21일간 투여하여 혈당 및 BUN의 변화와 인슐린 면역조직화학적 검색 및 전자현미경을 이용한 β세포의 미세구조 변화를 관찰하였다.

STZ을 투여한 대조군 이자섬의 면역조직화학적 검사 결과 insulin에 양성반응을 보이는 세포가 거의 관찰되지 않았으나, 생진양혈탕가미방을 투여한 실험군의 β세포들은 대조군에 비하여 강한 양성반응을 보였다. 전자현미경 관찰에서, 대조군 생쥐의 β세포는 핵의 핵막이 정상군에 비하여 뚜렷하지 않았으며 세포질소기관의 발달도 미약하였다. 세포질내에 함유되어 있는 분비과립의 수가 현저히 감소하였으며, 전자밀도가 높은 중심부분의 크기도 정상군에 비하여 현저히 작았다. 실험군의 β세포에서는 insulin 분비소포의 수는 정상군에 비하여 다소 적게 관찰되었으나 대조군에 비해서는 증가하였으며, 전자밀도가 높은 중심부분의 크기도 대조군에 비하여 다소 증가하였다. 혈당은 대조군 (365.33±91.01, mg/dl)에 비하여 실험군 (179.56±73.36, mg/dl)에서 유의성있게 감소하였다

위와 같은 결과로 보아 생진양혈탕가미방이 STZ로 유발된 당뇨 생쥐의 치료에 효능이 있음을 확인할 수 있었다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Light micrograph of pancreatic islet of normal group. A lot of insulin-immunoreactive β-cells were observed in the islet of Langerhans (L). Insulin-immuonstain, × 200.

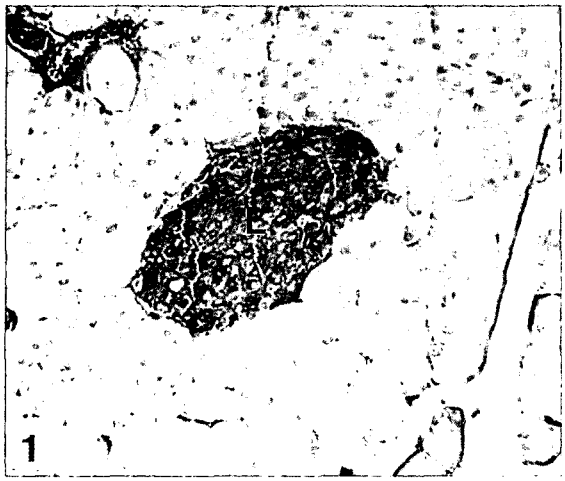
Fig. 2. Light micrograph of pancreas administered STZ to mouse. A few of insulin-immunoreactive β-cells were observed in the islet of Langerhans (L). I, intercalated duct. Insulin-immuonstain, × 200.

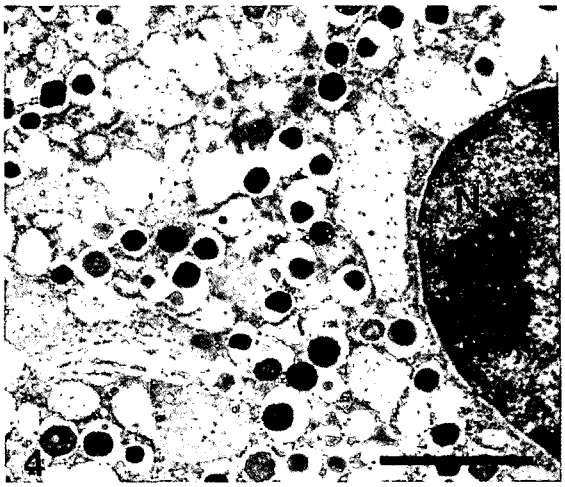
Fig. 3. Light micrograph of pancreas administered the extract of SGT to mouse following treatment with STZ. The most strongest staining for insulin can be found in the islet of Langerhans (L) near the vessel (V). I, intercalated duct. Insulin-immuonstain, × 200.

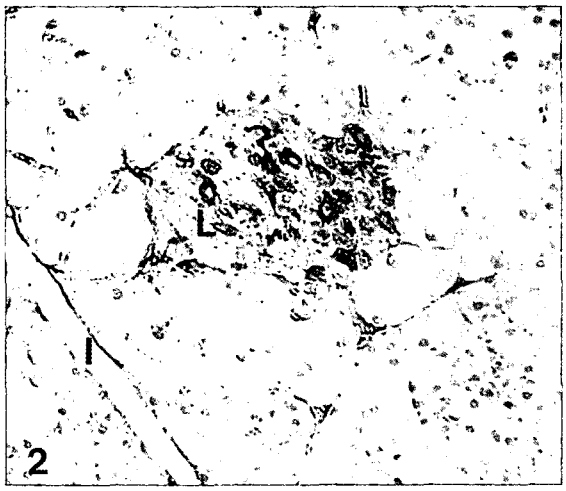
Fig. 4. Electron micrograph of pancreatic β-cell of normal group. The β-cell contained a lot of dense granules with colocalization of insulin. N, nucleus. Bar indicates 1 μm.

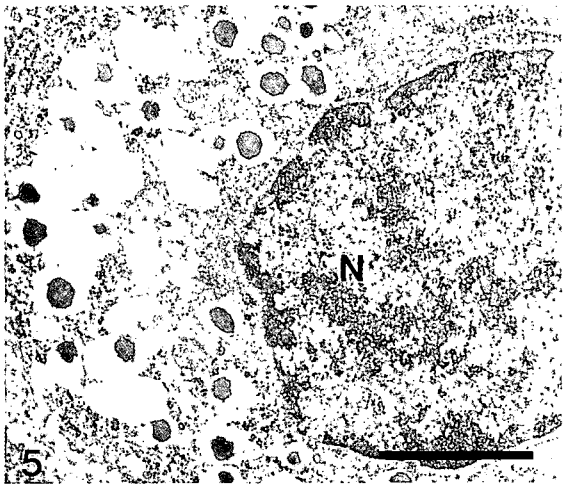
Fig. 5. Electron micrograph of pancreatic β-cell from the 21-day-old mouse following administered STZ. In the control group the less dense impression of the granules in comparison with the density of the granules in normal group were found. N, nucleus. Bar indicates 1 μm.

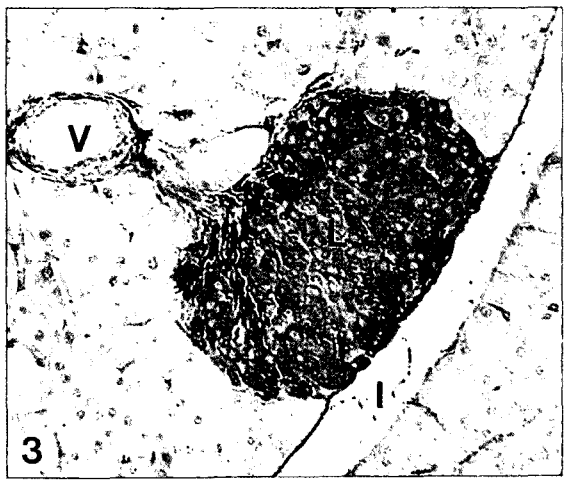
Fig. 6. Electron micrograph of β-cell which administered the extract of SGT following treatment with STZ. The β-cell contained a number of electron dense granules compared with control group. N, nucleus. Bar indicates 1 μm.

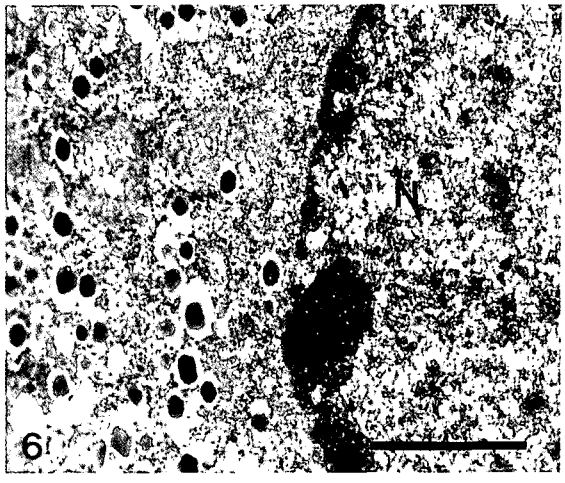

1


N
4


L
I
2


N
5


V
I
3


N
6