

저용량 스트렙토조토신 유도 당뇨 흰쥐에서 화살나무·상엽 복합 처방의 항당뇨 활성

김희자·이성현·정성현[#]

경희대학교 약학대학 약물학·임상약학교실
(Received July 23, 2004; Revised August 26, 2004)

Antidiabetic Activity of Formula Containing *Euonymus Alatus* (Thunb.) Sieb. and *Mori Folium* in Multiple Low Dose Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Hee Ja Kim, Sung Hyun Lee and Sung Hyun Chung[#]
School of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract — We investigated the hypoglycemic effect of formula containing *Euonymus alatus* (EA) and *Mori Folium* (MF) in multiple low dose (MLD) streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. In order to induce hyperglycemic state 25 mg/kg of STZ was injected intraperitoneally for 5 consecutive days. SD rats were randomly divided into diabetic control and treatment groups. Treatment groups were administered with either 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF (E1M1), or 500 mg/kg of EA mixed with same dose of MF (E2M2) for 3 weeks. Blood glucose levels and body weights were measured every 5th or 6th day. E1M1 and E2M2 both significantly reduced food intake, water intake, and fasting blood and urine glucose levels as compared to those in diabetic control group in a dose dependent manner. Body weight in diabetic control group was increased slightly after 3 weeks. Treatment group, however, showed gradual increase in body weights during 3 week-period. While plasma insulin levels of the diabetic control group were decreased to the level of 387 ± 14 pg/ml from 534 ± 36 pg/ml, those levels in E1M1 and E2M2-treated groups were both markedly increased by 13% and 26%, respectively. Urine glucose levels in E1M1 and E2M2-treated groups were also remarkably reduced by 17 and 26% compared to the levels of diabetic control group. While expression of membrane-bound glucose transporter-4 (GLUT-4) protein in skeletal muscle was reduced by 45% in diabetic control compared to the normal control, GLUT-4 protein expressions in E1M1 and E2M2-treated groups were augmented by 2 and 3.5 times compared to the diabetic control, respectively. Pancreatic HE staining experiments showed that E2M2-treated group revealed much less infiltrated mononuclear cells, indicating that E2M2 efficiently blocked insulinitis induced by multiple low dose streptozotocin. Taken together, we conclude that formula containing EA and MF may prevent or delay the development of hyperglycemia through overexpression of GLUT-4 protein in skeletal muscle and prevention of insulinitis.

Keywords □ *Euonymus alatus* (EA), *Mori Folium* (MF), MLD-STZ, HE staining, Glucose transporter-4 (GLUT-4), Insulinitis

지금까지 당뇨병의 치료와 예방을 위해 전세계적으로 많은 연구가 진행되었음에도 불구하고 당뇨병의 유병율은 꾸준히 증가하는 추세이다. 당뇨병 환자의 90% 이상을 차지하고 있는 2형 당뇨병은 인슐린의 작용에 문제가 있거나 혹은 인슐린 분비에 결함이 있어 발병되는 것으로 알려져 있으며 이의 치료를 위한 경구용 혈당강하제들이 개발되어 임상에 사용되고 있다.¹⁻³⁾ 1형 당뇨병에 비해 보다 복잡한 발병 기전을 가진 2형 당뇨병의 성공적인

치료를 위해서는 한가지 기전이 아닌 2~3가지 기전을 같이 지니고 있는 약제의 개발이 어느 때 보다도 요구되는 실정이다. 이러한 관점에서 볼 때 다양한 성분을 지니고 있는 천연물로부터 항당뇨 치료제를 개발하는 것은 매우 매력적인 시도가 아닐 수 없다.

최근 칼로리의 과잉 섭취와 운동부족으로 인해 비만 인구가 급격히 증가하면서 당뇨의 특징적인 증상은 보이지 않으나 내당능시험(glucose tolerance test)에서 문제를 나타내는 사람이 증가일로에 있다.^{4,5)} 이러한 사람들을 내당능장애(impaired glucose tolerance, IGT)를 나타내는 사람이라고 지칭하는데, 문제는 이들 중 상당수의 사람들이 중국에는 당뇨병을 앓게 된다는 사실

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-957-0384 (팩스) 02-966-3885
(E-mail) suchung@khu.ac.kr

이다. 따라서 이들을 조기에 발견하는 것도 중요하지만 IGT를 가진 사람들이 당뇨병으로 진행되는 것을 차단하거나 지연 시킬 수 있는 약제를 개발하는 것 또한 매우 중요하다.

상엽은 한방에서 소갈증에 사용되어 온 약제 중 대표적인 것으로 혈당 강하 활성은 소장에서 탄수화물의 소화와 관여하는 효소인 α -glycosidase 활성을 억제하는데 기인하는 것으로 알려져 있다.⁶⁻⁹⁾ 귀전우로 알려진 화살나무는 민간에서 혈액순환 조절, 고통 경감, 울혈 제거, 월경불순을 치료하는데 사용되어 왔으며 간혹 당뇨병환자에게 쓰여왔으나 이에 대한 자세한 연구가 보고되지 않은 실정이다.

본 연구에서는 한방에서 그동안 당뇨 환자에 사용되어온 처방 중 화살나무와 상엽을 주약으로 하는 처방의 항당뇨 약효를 평가할 목적으로 먼저 주약인 화살나무와 상엽의 최적 비율을 결정하고 그 후 최적 비율의 화살나무·상엽 복합처방을 multiple low dose streptozotocin(MLD STZ) 유도 당뇨 질환 모델에 투여한 후 항당뇨 활성을 규명하고자 하였다.

실험방법

실험재료

본 실험에 사용된 화살나무 및 상엽은 경동시장에서 구입하여 다음과 같이 추출하였다. 화살나무와 상엽 각 500 g을 4l의 증류수로 80°C에서 환류냉각하에서 5시간 씩 2회 가온 추출하여 여과 한 다음 여액을 감압 농축 및 동결 건조한 후 본 실험에 사용하였다.

Oral Glucose Tolerance Test(OGTT)

실험 시작 30분 전에 준비된 화살나무와 상엽 시료를 경구 투여한 후 0분에서 각 군마다 glucose(1.5 g/kg)를 투여하고 투여와 동시인 0분에서 안와 채혈을 하고 계속해서 30분, 60분, 90분, 120분에 안와 채혈을 하여 혈당을 측정해 봄으로써 혈당변화를 관찰하였다. 각 군은 NC(normal control), EA1000(화살나무 1000 mg/kg), E3M1(화살나무 750 mg/kg과 상엽 250 mg/kg), E2M2(화살나무 500 mg/kg과 상엽 500 mg/kg), E1M3(화살나무 250 mg/kg과 상엽 750 mg/kg), MF1000(상엽 1000 mg/kg)으로 명명하였다. 본 실험에서는 대한바이오링크(충북 음성, 대한민국)에서 구입한 수컷 ICR mouse(6 주령, 20~25 g)을 사용하였으며 실험에 임하기 전 적어도 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

Multiple Low Dose Streptozotocin 유도 당뇨쥐에서 항당뇨 활성 검색

5 주령의 수컷 Sprague-Dawley(SD) rat을 대한바이오링크(충북 음성, 대한민국)로부터 구입하여 본 실험실에서 1주일간 적응

시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 습도 50%, 온도 24~26°C로 유지되는 동물 사육장에서 사육하였으며 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다. 실험군은 normal control(NC), STZ 투여하여 당뇨를 유발시킨 diabetic control(DC), 화살나무와 상엽 각각 250 mg/kg 투여군(E1M1), 화살나무와 상엽 각각 500 mg/kg 투여군(E2M2)의 네 군으로 나누었다.

6시간 절식 후 100 mM citrate buffer(pH 4.5)에 녹인 20 mg/kg의 STZ를 5일간 매일 오후 3시에 복강 투여를 하여 당뇨를 유도하였고, 시료 투여는 STZ 투여와 동시에 시작하여 3주간 매일 오후 4시에 경구 투여하였다. 혈액지표 분석을 위해 혈액 채취는 6일마다 실시하였으며 요당 농도 측정을 위한 시료 채취는 시료투여 둘째 및 셋째 주에 실시하였다.

혈액지표 분석

혈액지표 분석을 위한 혈액 채취는 fasting glucose level은 6시간 절식 후 오후 3시에 실시하였고 non-fasting glucose level은 오후 3시에 실시하였다. 안와 정맥으로부터 혈액을 채취하여 5,000 rpm에서 5분간 원심 분리한 후, 혈장을 분석에 사용하였다. 혈중 포도당 농도는 glucose oxidase method를 이용한 Trinder kit(Sigma Diagnostic, St. Louis, USA)을 사용하여 측정하였고 혈장 insulin 농도는 anti-rat insulin antibody를 사용한 insulin enzyme immunoassay kit(Rat Insulin ELISA KIT, Shibayagi, Japan)를 이용하여 측정하였다.

뇨 지표 분석

본 실험에서는 metabolic cage에서 24시간 동안 얻어진 요를 사용하여 요 지표를 분석하였다. 요 중 포도당 수치는 요를 20배 희석한 후 혈당과 마찬가지로 glucose oxidase method(Trinder 법)을 이용하여 요당을 측정하였다.

체중 및 식이 음수량 측정

체중은 일주일마다 측정하였으며 실험 둘째 주 이후부터는 2일마다 측정하였다. 식이 음수량은 실험 둘째 및 셋째 주에 24시간 동안의 식이 음수 섭취량을 측정하였다.

Western blotting

단백질 분석을 위해 근육 조직을 ice-cold lysis buffer로 균질화 한 후, 10,000 g에서 20분 동안 원심분리하였다. 상등액을 1:50,000 g에서 60분 동안 초 원심분리 한 후, 상등액을 total protein extract로 사용하였으며 침전물은 PBS buffer에 용해시켜 membranes 분획으로 사용하였다. 단백질 정량은 Bradford assay 법을 사용하여 측정하였다. 정량한 단백질 50 μ g을 10% SDS-PAGE로 분리하였다. Gel을 Nitrocellulose membrane(Hybond N, Amersham Pharmacia Biotech, England)에

transfer한 후 5% non-fat dry milk로 상온에서 1시간 blocking 하고 TBS/T(20 mM Tris, 500 mM NaCl, pH 7.5 containing 0.1% tween-20)로 5분간 3번 세척하였다. Membrane을 1 : 1000 비율로 희석된 primary antibody(GLUT4)와 상온에서 1.5시간 반응시키고 같은 방법으로 washing 한 후, 1 : 3000 비율로 희석된 secondary antibody와 상온에서 1시간 반응시켰다. 다시 같은 방법으로 세척한 후, Enhanced chemiluminescence system (Pierce, Rockford, USA)으로 peroxidase의 luminescence detection을 실시하여 얻어진 immunoreactive protein의 상대량을 GS-700 imaging densitometer를 이용하여 분석하였다.

체장의 형태학적 관찰

조직학적 관찰을 위해 실험동물에서 체장을 0.1 M PBS로 perfusion하여 혈액을 제거한 후, 10% neutral buffered formalin 을 12시간 고정 후 유수에 수세하고 알코올 농도 차이에 따라 단계별로 1시간씩 탈수하였다. 이어 xylene으로 치환 후, paraplast(60°C)로 침투시킨 다음 포매하였다. 포매된 조직을 microtome을 이용해 5 μm의 두께의 절편을 제작한 후 hematoxylin, eosin 염색을 하였다.

통계학적 분석

모든 실험 결과는 평균±평균 오차로 나타내었고 통계처리는 Student's t-test를 실시하여 p<0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

결과 및 고찰

경구당부하 실험

화살나무와 상업 열수 추출물의 단독 및 복합 처방의 농도 비율 결정을 위해서 경구당부하 실험을 실시한 결과 EA1000과 E3M1은 각각 46%(p<0.01), 41%(p<0.05)의 혈당 상승 억제 효과를 유의성 있게 나타냈고, E1M3, MF1000은 혈당 상승 억제 효과가 54%, 55%로 나타났다(p<0.01). 화살나무보다는 상업이 더 큰 혈당 강하 효과를 나타냈으며 화살나무와 상업 단독 보다는 화살나무, 상업 1 : 1 비율의 복합처방(E2M2)이 혈당 상승을 억제하는 효과가 62%로 가장 뛰어남을 확인 할 수 있었다 (p<0.01). 따라서 이후의 실험에서는 화살나무와 상업을 1 : 1 비율로 섞은 처방을 두가지 용량 (총합이 500과 1000 mg/kg 용량임)으로 투여한 후 당뇨대조군과 혈당강하 활성을 비교하였다.

MLD-STZ SD rat에서 화살나무·상업 1 : 1 복합처방의 약효 평가

식이 및 음용수 섭취량에 미치는 영향 - 고혈당이 유도되는 과정에서 당뇨의 특징적인 증상인 다식(polyphagia)과 다갈(polydipsia)

Table I – Effects of EA and MF on food and water intakes in MLD STZ-induced diabetic rats

	Food intake (g/day/rat)	Water intake (ml/day/rat)
NC	17.6±3.5	26.0±5.2
DC	38.2±5.2 ^{††}	102.5±14.2 ^{††}
E1M1	26.2±4.0	67.5±18.4
E2M2	22.8±1.2	50.0±4.5*

Each value represents the mean±S.E. Significantly different from control group : ^{††}P<0.01 vs NC; *P<0.05 vs DC. NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

현상에 시료들이 미치는 영향을 시료 투여 2주 3주째에 비교한 결과를 Table I에 나타내었다. 정상 대조군은 실험 전기간에 걸쳐 식이량과 음용수 섭취량에 커다란 차이를 보이지 않은 반면 당뇨 대조군은 고혈당이 유도되면서 식이량과 음용수 섭취량이 큰 폭으로 증가함을 알 수 있다. 3주째에 당뇨 대조군의 경우 38.2±5.2 g/rat/day로서 정상 대조군에 비해 유의적으로 증가된 (p<0.01) 식이량이 약물 투여에 의해 각각 26.2±4(31.4%), 22.8±1.2(40.3%)로 감소되었다. 음용수 섭취량에서 보면 103.1±10.1 ml/rat/day를 나타내는 당뇨 대조군에 비해 약물 투여를 한 군 E1M1, E2M2은 용량 의존적으로 67.5±18.4(34.5%), 50±4.5 ml/rat/day(51.5%) (p<0.05)로 감소하였다. 이 결과로부터 우리는 화살나무 · 상업 복합처방이 고혈당으로 인해 발생하는 다식과 다갈 증세를 뚜렷하게 완하시킨다는 결과를 얻을 수 있었고 이러한 활성은 투여 용량이 커질수록 비례하여 커짐을 알 수 있었다.

체중에 미치는 영향 - 시료 투여 기간 동안의 체중 변화 및 체중 증감은 Fig. 1과 같다. Figure에서 보듯이 정상 대조군은 체

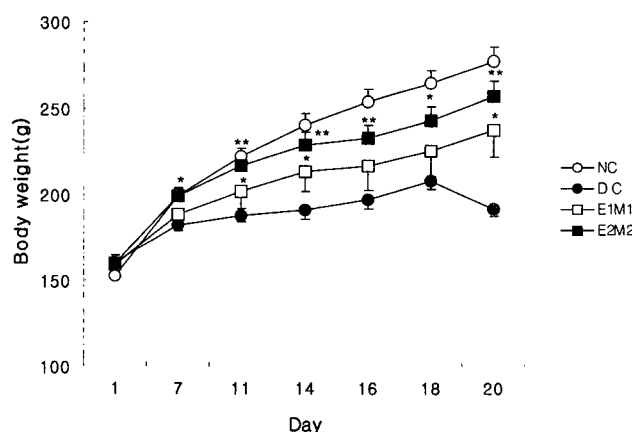


Fig. 1 – Effects of EA and MF on body weights in MLD STZ induced diabetic rats. Each value represents the mean±S.E. of 5 rats. *P<0.05, **P<0.01 vs. DC. NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

중이 꾸준히 증가하여 마지막 날에 278 g을 나타낸 반면 당뇨 대조군은 체중이 192 g을 나타내어 정상 대조군에 비해 86 g이나 감소하는 현상을 보여주었다. 이에 비해 시료 투여군은 당뇨 대조군에 비해 체중이 꾸준히 증가하여 정상 대조군에 가깝게 유의적으로 증가하였다. E1M1 투여군과 E2M2 투여군의 경우는 시료 투여 전에 비해 각각 78 g, 98 g의 체중이 증가하였다. 3주간의 weight gain을 그룹간 비교해 보면 정상 대조군, 당뇨 대조군, E1M1 투여군, E2M2 투여군의 순으로 125, 31, 78, 98 g으로 STZ 투여로 인한 체중증가 억제에 시료 투여로 인해 상당 부분 개선되었음을 알 수 있다. 화살나무·상엽 복합처방의 체중 감소 억제 활성 역시 용량 의존적으로 커짐을 알 수 있었다.

혈액 지표에 미치는 영향 - 공복시 혈당의 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 당뇨 대조군은 STZ 투여 5일부터 꾸준히 증가하여 12일째 300 mg/dl로 실험 기간 동안에 고혈당이 유지되었다. 약물 투여군은 당뇨 대조군과 같이 상승하다가 6일째부터는 용량 의존적으로 혈당 상승 억제 효과를 나타내었다. E2M2군은 실험 시작 후 5일 동안은 당뇨 대조군과 비슷한 경향으로 혈당이 상승하다가 그 이후에는 오히려 혈당이 조금씩 떨어지는 경향을 보여 투여 12일째에는 181±24 mg/dl로 당뇨 대조군과 유의적인 차이(p<0.01)를 보였고 투여가 끝난 20일째에는 153±23 mg/dl의 혈당치를 나타내어 당뇨 대조군과 비교시 49%의 혈당강하 활성을 보여주었다. 반면 E1M1 투여군은 투여 6일째까지 당뇨 대조군과 비슷한 경향으로 혈당이 상승하다가 그 이후 혈당 상승이 둔화되어 투여 마지막 날에는 187±28 mg/dl(p value 0.06)의 혈당치를 나타내었다.

시료 투여가 종료된 후 마지막 날에 그룹간 체중증가율, 혈당 및 인슐린 수치를 비교한 결과는 Table II와 같다. 표에서 보듯이 E1M1, E2M2군은 당뇨 대조군에 비해 각각 38%, 49% 혈당

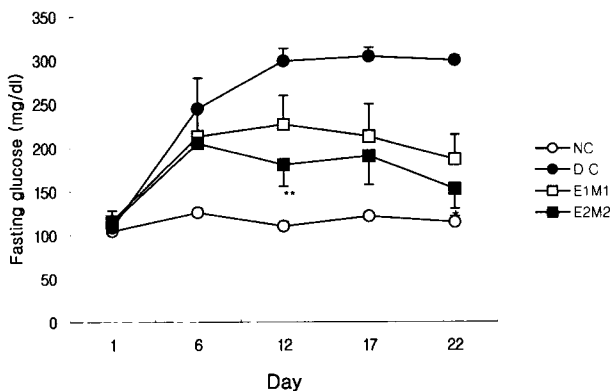


Fig. 2 - Effects of EA and MF on fasting blood glucose levels in MLD STZ induced diabetic rats. *P<0.05, **P<0.01 vs DC. NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

Table II - Effects of EA and MF on body weight gain, fasting blood glucose and insulin levels in MLD STZ induced diabetic rats

	Weight gain (g)	Blood glucose (mg/dl)	Insulin (pg/ml)
NC	119	115±7	534±36
DC	31	300±5 ^{††}	387±14 [†]
E1M1	78	187±28	438±39
E2M2	98	153±23*	488±26*

Each value represents the mean±S.E. Significantly different from control group : [†]P<0.01, ^{††}P<0.01; *P<0.05 vs. DC. NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

상승을 억제한 결과를 보여주었다. 당뇨 대조군의 경우 정상 대조군에 비해 혈액 중 인슐린 수치가 28% 감소하였다. 이는 STZ 투여로 인해 췌장 베타세포가 파괴된 결과라 사료된다. 한편 시료 투여군의 경우 E1M1과 E2M2군에서는 인슐린 수치가 당뇨 대조군에 비해 각각 13%, 26% 상승하여 용량 의존적으로 화살나무·상엽 복합체가 STZ 투여로 인한 췌장 베타세포의 파괴를 효과적으로 차단시키는 활성을 나타내었다.

요당에 미치는 영향 - 고혈당이 유지되는 동안 나타나는 당뇨의 특징적인 증상으로 요당(glycosuria)이 있다. 본 결과는 그룹간 요 당 수치를 투여 2주, 3주에 비교한 것으로 Table III에 나타내었다. 표에서 보듯이 당뇨 대조군은 정상 대조군에서 전혀 나타나지 않았던 요당이 상당량 나타남을 알 수 있었다. 반면 E1M1 group은 당뇨 대조군에 비해 요 중 포도당의 농도가 2주, 3주째 각각 14%, 17%로 감소되었으며, E2M2 group은 당뇨 대조군에 비해 포도당의 농도가 각각 17%, 26%로 유의적으로 감소되었으며, 요 당 배설을 억제하는 활성을 용량 의존적으로 나타내었다.

근육조직에서 GLUT-4 발현에 미치는 영향 - 2형 당뇨 환자의 주요 병태생리학적 특징은 말초조직에서 인슐린 저항성으로 주로 근육조직에서 인슐린 반응의 결함으로 인해 발생하는 것으로 알려져 있다. 근육에서 이러한 인슐린 저항성을 일으키는 요인으로 포도당 수송 담체의 결함에 의한 포도당 수송의 결함을 들

Table III - Effects of EA and MF on urine glucose levels in MLD STZ-induced diabetic rats

	Urine glucose (mg/dl)	
	2nd week	3rd week
NC	0	0
DC	458±25	457±11
E1M1	395±14	379±38
E2M2	380±25*	339±8*

Each value represents the mean±S.E. Significantly different from control group : *P<0.05 vs. DC. NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

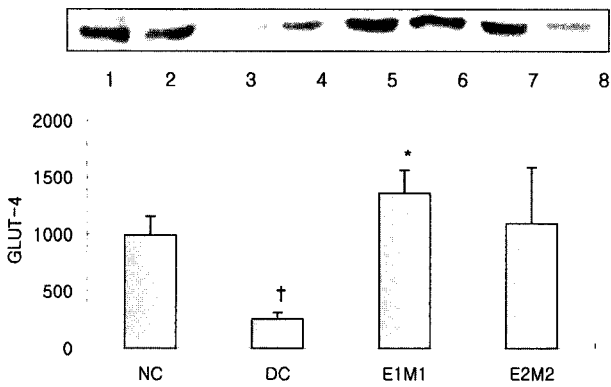


Fig. 3 – Effects of EA and MF on cytosolic GLUT-4 protein expression in skeletal muscles in MLD STZ induced diabetic rats. Lane 1 and 2 represent normal control; Lane 3 and 4 represent diabetic control; Lane 5 and 6 represent E1M1 group; Lane 7 and 8 represent E2M2 group. [†] $P < 0.05$ vs. NC; ^{*} $P < 0.05$ vs. DC. NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

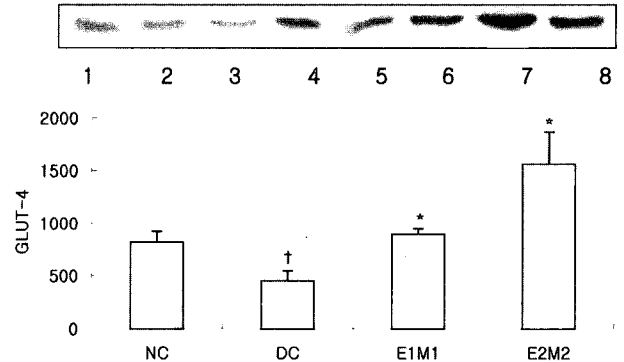


Fig. 4 – Effects of EA and MF on membrane GLUT-4 protein expression in skeletal muscles in MLD STZ induced diabetic rats. Lanes 1 and 2 represent normal control; Lanes 3 and 4 represent diabetic control; Lane 5 and 6 represent E1M1 group; Lanes 7 and 8 represent E2M2 group. [†] $P < 0.05$ vs. NC; ^{*} $P < 0.05$ vs. DC. NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

수 있는데, 이는 인슐린 의존성 조직인 근육과 지방조직에서 인슐린 자극에 의한 조직 내로의 포도당 수송 이용 속도를 결정 짓

는 율속 단계로 생각되기 때문이다. 근육이나 지방조직에서 인슐린 의존성 포도당 수송을 담당하는 것은 hexose carrier 중 glucose transporter-4(GLUT-4)형으로, db/db 마우스나 STZ 유

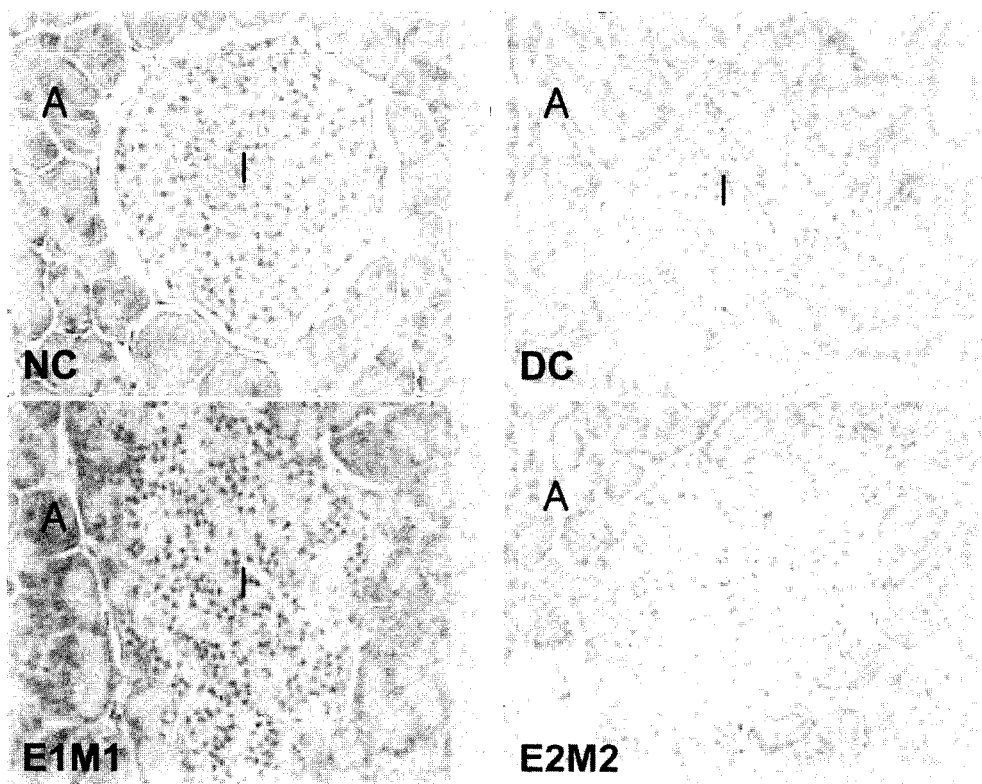


Fig. 5 – The effects of EA and MF on the morphology of pancreas. Figures show the islets of Langerhans of the exocrine tissues and the general arrangement of the glandular acini; hematoxylin and eosin (H-E) $\times 200$. Islets of Langerhans (I), Glandular acni (A). NC, normal control; DC, diabetic control; E1M1, treatment with 250 mg/kg of EA and 250 mg/kg of MF; E2M2, treatment with 500 mg/kg of EA and 500 mg/kg of MF.

도 고혈당 흰쥐의 근육조직에서 GLUT-4의 mRNA 및 단백질 함량이 감소함이 보고되었다. 또한 Gibbs 등은 db/db 마우스에 human GLUT-4를 overexpression 시킨 마우스에서 혈당이 감소함을 보고하여 GLUT-4의 증가가 인슐린 저항성을 개선시킬 수 있음을 확인하였다.

분비된 인슐린에 의해 세포질에 존재하는 GLUT-4는 세포막으로 이동하여 혈중 포도당을 세포 내로 유입 시킨다. 따라서 근육조직 내 세포질 및 세포막에 존재하는 GLUT4의 양을 분리하여 측정해 봄으로써 본 시료의 혈당강하 기전을 구체적으로 살펴보고자 하였다. Fig. 3과 4는 세포질과 세포막에 존재하는 GLUT-4의 발현을 측정한 결과이다. Fig. 3에서 보듯이 당뇨 대조군은 정상 대조군에 비해 GLUT4의 발현이 약 45% 정도 감소하였다(lanes 3, 4). 반면 E1M1, E2M2군에서는 당뇨 대조군과 비교시 각각 5.3배, 4.3배 GLUT-4의 발현이 증가하였다. 화살나무·상엽 복합체 투여로 인해 근육 조직 세포질내의 GLUT-4 단백질 발현이 큰 폭으로 증가한 결과 세포막으로 이동한 GLUT-4의 절대량이 증가하여(Fig. 4) 혈 중 포도당을 근육조직으로 이동시키는 활성이 증가하여 혈당 강하효과를 나타낸 것으로 보여진다.

Fig. 4는 근육조직 세포막에 존재하는 포도당 수송체인 GLUT-4의 발현을 그룹간 비교한 그림이다. 그림에서 보는 바와 같이 당뇨 대조군에서는 정상 대조군에 비해 GLUT4의 발현이 45% 감소한 반면 E1M1, E2M2 투여군에서는 당뇨 대조군에 비해 각각 2배, 3.5배 큰 폭으로 발현이 증가되었다. 이 결과는 Fig. 4에서 보여진 세포질내 GLUT-4의 발현 증가가 반영된 결과라 보여지며 실제 혈중 포도당의 조절은 세포막에 존재하는 GLUT-4의 농도에 의해 결정되므로 본 결과가 보다 중요한 의미를 갖는다. E1M1 투여군에서 이미 GLUT-4의 발현이 정상 대조군의 수준을 회복하였으며 E2M2 투여군에서는 정상 대조군과 비교해도 2배 가량 높은 발현율을 보여주어 이 그룹에서 보여진 탁월한 혈당 강하 활성이 이 기전에 기인되는 것이 아닌가 사료된다.

췌장에 미치는 영향 - Fig. 5는 MLD STZ model에서 췌장의 morphology를 그룹간 비교한 그림이다. 정상대조군(NC)에 비해 당뇨 대조군(DC)에서는 islet의 염증 정도를 나타내는 많은 침윤 단핵세포(infiltrated mononuclear cell)가 관찰되고있다. E2M2 투여군에서는 당뇨 대조군에 비해 침윤 단핵세포가 현저히 줄었으며 islet의 형태가 그대로 유지되고 있음을 알 수 있었다.

결 론

경구 내당능시험과 MLDSTZ 유도 당뇨 흰쥐에서 화살나무·상엽 복합체투여의 항당뇨활성 및 기전을 연구한 결과를 종합하면

다음과 같다.

1. 화살나무와 상엽의 최적 비율을 규명하기 위해 경구 내당능 시험을 실시한 결과 화살나무보다는 상엽 단독이 혈당강하 활성이 더 컸으며 최적 비율은 화살나무와 상엽을 1 : 1 동량 섞은 처방이 가장 우수한 활성을 나타내었다.
2. 화살나무와 상엽을 동량(250과 500 mg/kg)으로 섞은 E1M1, E2M2 복합물에 대한 MLDSTZ model에서의 혈당강하 활성을 살펴본 결과 용량의존적으로 STZ에 의해 유발되는 고혈당을 효과적으로 차단시킴을 알 수 있었다.
3. 본 처방의 혈당강하 활성은 STZ 투여에 의한 췌장 베타세포의 파괴를 차단시키는 작용과 근육 및 지방세포에서 포도당 수송체인 GLUT-4의 발현을 증가시켜 나타난 결과가 아닌가 추측된다.
4. 앞으로 유전적 당뇨 질환모델에서 본 처방을 장기간 투여한 후 대사증후군(고혈당, 고혈압, 고지혈증, 비만)에 개선효과가 있는지를 규명하는 실험이 추가되면 매우 흥미로운 결과가 있으리라 기대한다.

감사의 말씀

본 연구는 한사랑한의원(이성현 원장)과 21세기 프론티어 연구개발사업인 자생식물이용기술개발사업단의 연구비지원(M103KD010031-03K0401-03110)에 의해 수행되었습니다.

문 헌

- 1) American Diabetes Association : Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **26**, 5S (2001).
- 2) Cavaghan, M. K., Ehrmann, D. A. and Polonsky, K. S. : Interactions between insulin resistance and insulin secretion in the development of glucose intolerance. *J. Clin. Invest.* **106**, 329 (2000).
- 3) Inzucchi, S. E. : Oral hypoglycemic therapy for type 2 diabetes. *J. Am. Med. Assoc.* **287**, 360 (2002).
- 4) Mokdad, A. H., Ford, E. S., Bowman, B. A., Dietz, W. H., Vinicor, F., Bales, V. S. and Marks J. S. : Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *J. Am. Med. Assoc.* **289**, 76 (2003).
- 5) Friedman, J. M. : A war on obesity, not the obese. *Science* **299**, 856 (2003).
- 6) Chung, S. H., Choi, M. H. and Ryu, J. H. : Rat intestinal α -glycosidase inhibitory activities of mulberry leaves (Folium Mori) water fraction. *The Kyung Hee J of Genet & Mol Biol.* **8**, 38 (1996).
- 7) Chung, S. H., Kim, M. S. and Choue, R. W. : Effect of Mori

- folium column fraction on intestinal α -glycosidase activity in mice administered with a high carbohydrate-containing diet. *Yakhak Hoeji* **41**(4), 484 (1997).
- 8) Ryu, J. W., Yook, C. S. and Chung, S. H. : Effects of Mori folium ethanol soluble fraction on mRNA expression of glucose transporters, acetyl-CoA carboxylase and leptin. *Yakhak Hoeji* **42**(6), 589 (1998).
- 9) Kim, S. Y., Yoon, S. H. and Chung, S. H. : Antidiabetic effects of ginseng Radix Alba (GRA) and Mori Folium (MF) on MLD STZ-induced diabetic rats. *Yakhak Hoeji* **46**, 411 (2002).