

## 녹용 에탄올 추출물이 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin에 노출된 랫드의 일반 혈액 화학 지수 및 조직 병변에 미치는 효과

최경운<sup>1</sup>·황석연<sup>2</sup>·이수찬<sup>1</sup>·김시관<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>건국대학교 의료생명대학 생명과학부

<sup>2</sup>주성대학 임상병리과

### Effect of Antler Velvet Ethanol Extract on Common Serum Chemistry Panels and Histopathological Change in Rats Exposed to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin

Kyung-Yun Choi<sup>1</sup>, Seock-Yeon Hwang<sup>2</sup>, Su-Chan Lee<sup>1</sup> and Si-Kwan Kim<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Life Science, College of Biomedical & Health Science, Konkuk University, Chungbuk 380-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Clinical Lab. Science, Joosung College, Chungbuk 363-794, Korea

#### Abstract

This study was carried out to investigate the effect of ethanol extract of antler velvet (EAV) on common serum chemistry panels and histopathological change in rats exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). Administration of TCDD (50 µg/kg body weight) induced significant decrease in platelet count ( $p < 0.01$ ), creatine phosphokinase (CPK,  $p < 0.01$ ), lactate dehydrogenase (LDH,  $p < 0.05$ ) and glucose ( $p < 0.05$ ) levels and increase in hemoglobin ( $p < 0.05$ ), aspartate aminotransferase (AST,  $p < 0.01$ ), alanine aminotransferase (ALT,  $p < 0.05$ ) and lipase activities ( $p < 0.05$ ), and blood urea nitrogen (BUN,  $p < 0.05$ ), triglyceride ( $p < 0.01$ ) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C,  $p < 0.05$ ) levels. However, pretreatment of EAV at daily dose of 20 mg/kg b.w. from 1 wk before TCDD exposure for 5 wks attenuated the abnormality of the overall serum chemistry panels but statistical difference between TE and TA groups was observed only in testicular weight ( $p < 0.01$ ), LDH activity ( $p < 0.05$ ), glucose ( $p < 0.05$ ) and lipase activity ( $p < 0.01$ ). In addition, TCDD induced significant histopathological changes including swelling, fatty metamorphosis, and vacuolar degeneration in liver; edema in proximal and distal convoluted tubules, and glomerulus in kidney; severe atrophy of red purple and appearance of significant number of macrophage in spleen; prominent atrophy and decrease in immune cells in thymus. On the other hand, administration of EAV attenuated histopathological damage induced by TCDD. These results further suggest that administration of EAV attenuates TCDD-induced testicular, liver, pancreatic, hematopoietic and nephrotic toxicities in rats.

**Key words:** 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD), ethanol extract of antler velvet (EAV), protective effect

#### 서 론

전 세계 녹용 생산량의 80%를 한국에서 소비한다고 알려져 있을 정도로 한국은 녹용의 소비량이 높으며 2005년 말 현재 국내에서는 약 12만 5천두의 사슴을 사육하고 있으나 뉴질랜드, 러시아, 몽고, 중국 등의 국가로부터 엘크( elk ) 혹은 마룩( rheiddeer ) 녹용을 대량 수입하고 있다(농림부 2005년 기타 가축 통계). 국내산 녹용은 소비되지 않아 재고가 누적되는데 많은 양을 수입하는 현 시점에서 국산 녹용의 소비 장려를 위해서는 “녹용의 활성성분이 무엇이며 함량은 물론 효능 면에서 한국산이 외국산에 비해 우월하다”라는 연구 결과의 제시가 필요하리라 생각한다.

녹용은 인삼과 더불어 오래 전부터 가장 대표적인 강장 생약재로 한국, 중국, 일본을 중심으로 애용되어 왔다. 현대 과학적으로도 녹용은 혈압강하, 조혈기능, 고콜레스테롤 혈증 개선, 항스트레스 효과가 있다고 밝혀지고 있다(1-4). 인삼, 녹용과 같이 강장효과를 가진 생약재의 약성은 특정 장기에만 선택적으로 작용하여 강한 효과를 나타내는 것이 아니라 비록 그 효과는 단일 성분 의약품에 비해 약하나 신체 전반에 걸쳐 복합적으로 효능을 나타내는 것이 특징이다(5). 따라서 녹용의 보혈, 강장효과를 과학적으로 뒷받침하기 위해서는 생식기, 면역계, 조혈계 등에 미치는 효과는 물론, 항피로 시험, 항스트레스 시험, 기억력 증진 효과 등과 같이 다양한 분야의 연구를 수행하여야 할 것이다.

†Corresponding author. E-mail: skkim@kku.ac.kr  
Phone: 82-43-840-3574, Fax: 82-43-840-3929

본 연구팀은 녹용의 다양한 효능을 증명하기 위해 간 독성, 체중감소, 고지혈증, 당뇨, 생식독성 등 다양한 독성을 야기하는 것으로 알려진 TCDD(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, TCDD) 독성 모델을 이용하였다(6-11). 녹용의 TCDD-유발 고환 독성 방어 효과에 대해서는 이미 보고하였다(12). 본 연구에서는 TCDD에 노출된 랫드에 있어 녹용의 에탄올 추출물(EAV)이 TCDD 독성의 biomarker인 혈소판 수(감소)를 비롯한 혈액상(complete blood count), aspartate aminotransferase, triglyceride를 비롯한 일반 혈액화학지수(common serum chemistry panels) 및 장기별 조직 병변에 미치는 효과를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험 동물

체중 180±20 g의 수컷 랫드(Sprague-Dawley계)는 대한 바이오 링크(충북 음성)로부터 구입하여 1주간 당 연구실의 동물 사육실 환경에 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 사육 조건은 온도 23±1°C, 습도 50±10%, 명암주기 12시간으로 유지되는 항온, 항습 사육실에서 사육하였다. 랫드의 사육에 있어서는 제일제당(주)의 랫드용 고품사료 및 식수는 제한 없이 급여하였으며, 동물실험은 건국대학교의 동물실험 지침에 따라 수행하였다.

#### 녹용 에탄올 추출물 제조 및 투여

충주주 주변에서 방목 사육한 5년생 매화목으로부터 녹용(2 kg)을 채집하여 -70°C에서 동결한 다음 약 3 mm 정도의 두께로 절편을 만들어 동결 건조하였다. 건조한 절편 녹용 일부(50 g)와 에탄올 1 리터를 추출용 플라스크에 넣은 다음 85°C에서 3시간, 3회 환류 추출한 후 여과, 농축, 동결 건조(Labconco, Kansas city, MO, USA)함으로써 10 g의 에탄올 추출물(ethanol extract of antler velvet; EAV)을 얻었다. 실험군은 총 30마리의 랫드를 각 군 10마리씩 총 3개군 즉, 정상 대조군(control; CO), TCDD-단독투여군(TCDD alone; TA), 녹용 에탄올 추출물 투여군(TCDD+EAV; TE)으로 나누었다. EAV는 멸균수에 초음파 처리로 현탁시킨 다음 매일 복강주사(20 mg/kg body weight)하였다. 한편 CO와 TA는 EAV 대신 saline을 매일 시험군과 동일량을 복강주사하였다.

#### 주사용 TCDD 제조 및 투여

TCDD는 AccuStandard Inc.(New Haven, CT, USA)로부터 순도 99.1% 이상인 것을 구입하였다. TCDD(1 mg)는 미량(50 µL)의 DMSO와 소량(450 µL)의 아세트에 용해, 초음파 처리한 다음 대두유로 희석, 최종농도가 50 µg/mL이 되도록 하여 50 µg/kg body weight의 용량(투여액량 기준 1 mL/kg)으로 하는 한편 CO는 다이옥신 대신 vehicle(DMSO/아세트/대두유 혼합액)을 동일량을 복강 내 주사하였다. TCDD와 vehicle의 투여는 EAV 투여 시점부터 1주 후 1회 복강 내로 주사하였다.

#### 혈액상 및 일반 혈액 화학 지수 조사

혈액상(complete blood count) 및 일반 혈액화학지수(common serum chemistry panels)를 조사하기 위해서는 복대혈에서 채취한 혈액을 항응고제인 EDTA가 첨가된 CBC bottle과 혈장분리용 시험관인 SST tube(Becton Dickinson Co., USA)에 조심스럽게 분주한 후 응고 혹은 용혈이 일어나지 않도록 혼합한 다음 CBC bottle에 채취한 혈액에 대해서는 혈액자동분석기(Sysmex SE-9000, TOA medical, Japan)로 혈액상을 조사하였다. 한편, SST tube에 채취한 혈액 시료에 대해서는 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Hanil Co., Korea)한 후 상층액인 혈청을 생화학 자동분석기(Hitachi-747, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 일반 혈액화학지수를 조사하였다.

#### 장기 무게 및 장기별 조직 병리 소견 조사

희생 전 24시간 절식시킨 랫드를 에테르로 마취한 다음 장기를 적출하고 장기를 싸고 있는 지방 조직을 제거한 후 무게를 측정하였다. 적출 장기는 육안으로 병변 여부를 관찰한 다음 3~5 m<sup>3</sup> 크기로 잘라 NBF(neutral buffer formalin) 용액에서 72시간 동안 고정하였다. 고정한 장기는 자동침투기인 automatic tissue processor(Citable 2000, USA)를 이용하여 탈수, 투명 침투, 파라핀 포매과정을 거친 다음 회전 박절기를 이용하여 4 µm의 절편을 만들어 slides를 제작하였다. 제작한 조직 슬라이드는 hematoxylin & eosin(H&E)으로 염색한 후 광학현미경으로 병변 상태를 관찰하였다.

#### 간 조직의 병리학적 소견 관찰

간세포 상해 정도를 보다 객관적으로 평가하기 위해 간세포 괴사, 간소엽 파괴 및 지방변성 정도를 측정하여 등급화하였다. 즉, 소엽에 변화가 관찰되지 않으면 "0", 중심정맥의 주위(소엽의 1/3 범위)에 국한해서 병변이 관찰되면 "1", 소엽의 2/3(mid-zone)에 병변이 있으면 "2", 소엽 전체(소엽의 중심정맥에서 문맥 주변부)에 걸쳐 미만성으로 병변이 관찰되면 "3"으로 등급화 하였다.

#### 통계분석

각 실험군 10마리로부터 얻은 결과는 mean±SD로 나타내었고 실험군간 유의성 조사는 one-way ANOVA 및 Student's *t*-test를 이용하여 통계분석한 후 신뢰구간(p value)이 0.05보다 작은 경우 통계학적으로 유의차가 있는 것으로 판정하였다. 통계는 우선 CO군과 TA군간의 유의차를 분석하고 다시 TA군과 TE군과의 유의차 분석을 통하여 녹용의 효과를 판정하였다.

### 결 과

#### Complete blood counts에 미치는 영향

TA군에 있어서는 혈소판(p<0.01) 수가 유의하게 감소한

만면 헤모글로빈 수치( $p<0.05$ )는 오히려 유의하게 증가하였고 기타 지수에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다(Table 1). 한편, TE군에 있어서는 TCDD에 의한 혈소판 수 감소가 TA에 비해 비교적 약하게 나타났으나 유의성은 없었으며 헤모글로빈 수치의 증가는 유의하게 억제된다는 사실을 알았다( $p<0.05$ ). 이외에도 TA군에 있어서는 적혈구수의 증가, 백혈구수의 감소, 헤마토크릿 수치의 증가가 유도되었으나 CO 대비 유의성은 없었으며 TE군 역시 CO 및 TA 대비 유의차는 관찰되지 않았다.

간 기능 관련 혈액 화학 지수에 미치는 효과

TA군에 있어서는 간 기능 관련 혈액 화학 지수 중 aspartate aminotransferase(AST,  $p<0.01$ ), alanine aminotransferase(ALT,  $p<0.05$ ), creatine phosphokinase(CPK,  $p<0.01$ ) 및 lactate dehydrogenase(LDH,  $p<0.05$ )의 활성이 유의한 변화를 보였으며 CO 대비 각각 327.0%, 180.6%, 70.0%, 63.4%로 나타났다. 한편, TCDD에 노출된 랫트에 EAV를 투여함으로써 AST와 ALT 활성 증가가 다소 억제되었으나 유의성은 관찰되지 않았으며 LDH 활성 감소는 EAV 처리

Table 1. Effect of ethanol extract of antler velvet on organ function of rats exposed to TCDD

Organ function	Parameter	Group (n=10)			
		CO	TA	TE	
	Body weight	348.4±17.6	215.7±27.7 <sup>†</sup>	268.4±48.6 <sup>**</sup>	
Organ weight (g)	Liver	8.76±0.62	8.46±0.16	9.25±1.61	
	Testis	3.61±0.25	2.31±0.76 <sup>†</sup>	3.17±0.59 <sup>**</sup>	
	Lung	1.45±0.17	1.18±0.06	1.15±0.13	
	Kidney	2.05±0.57	1.97±0.07	2.02±0.21	
	Spleen	0.62±0.1	0.35±0.1 <sup>†</sup>	0.39±0.1 <sup>†</sup>	
	Thymus	0.53±0.05	0.02±0.01 <sup>†</sup>	0.08±0.10 <sup>†*</sup>	
Complete blood counts	RBC ( $\times 10^6$ )	7.92±6.70	9.81±0.57	8.93±0.57	
	WBC ( $\times 10^3$ )	5.34±0.63	4.01±0.46	3.39±0.51	
	Heb (g/dL)	15.4±0.4	17.4±0.9 <sup>†</sup>	15.8±0.6 <sup>*</sup>	
	Hct (%)	46.8±0.4	52.9±2.7	47.6±1.7	
	Plt ( $\times 10^6$ )	870±93	525±132 <sup>†</sup>	557±111 <sup>†</sup>	
Liver function	TP (g/L)	5.3±0.1	5.0±0.3	5.6±0.4	
	Alb (g/L)	2.2±0.7	2.2±0.1	2.2±0.3	
	AST (IU/L)	122±4.9	399±59 <sup>†</sup>	353±49 <sup>†</sup>	
	ALT (IU/L)	36±1.9	65±11 <sup>†</sup>	57±18	
	ALP (IU/L)	265±16	304±29	250±20	
	CPK (IU/L)	847±74	593±277 <sup>†</sup>	525±102 <sup>†</sup>	
	LDH (IU/L)	1,662±120	1,053±324 <sup>†</sup>	1,871±334 <sup>*</sup>	
Serum chemistry panels	Kidney function	Ca <sup>2+</sup> (mg/dL)	8.6±0.2	8.9±0.6	9.4±0.8
		P (mg/dL)	8.6±0.3	7.2±0.7	7.8±0.5
		Mg (mg/dL)	2.6±0.2	2.9±0.4	3.1±0.3
		Cre (mg/dL)	0.49±0.1	0.48±0.1	0.49±0.1
		BUN (mg/dL)	28±1.4	40±6.3 <sup>†</sup>	34±5.9
		UA (mg/dL)	1.3±0.1	0.9±0.4	1.7±0.2
Pancreas function	Glucose (mg/dL)	101±6.8	71±5.7 <sup>†</sup>	100±12	
	Amylase (mg/dL)	473±19	426±39	481±22	
	Lipase (mg/dL)	11±2.0	26±3.7 <sup>†</sup>	12±2.5 <sup>*</sup>	
Lipid metabolism	T. Cho (mg/dL)	112±4.2	136±33	117±12	
	TG (mg/dL)	55±1.4	133±33 <sup>†</sup>	117±62 <sup>†</sup>	
	HDL-C (mg/dL)	32±1.1	47±4.9	39±2.4	
	LDL-C (mg/dL)	21±1.0	39±2.0 <sup>†</sup>	20±6.7	

Thirty male rats were divided into three equal groups. The control group (CO) received vehicle (mixture of DMSO/acetone/soybean oil) and saline; single dose of 50 µg/kg body weight TCDD was injected intraperitoneally into the single TCDD-treated (TA) and test group (TE). Test group received ethanol extract of antler velvet (EAV) at daily dose of 20 mg/kg body weight for 5 weeks from one week before TCDD exposure. <sup>†</sup> and <sup>‡</sup> indicate  $p<0.05$  and  $p<0.01$ , respectively when compared with CO. \* and \*\* indicate  $p<0.05$  and  $p<0.01$ , respectively when compared with TA. Statistical analysis was carried out by one-way ANOVA and Student's *t*-test. Data were obtained from 10 animals for each group and expressed in mean±SD.

RBC, red blood cell; WBC, white blood cell; Heb, hemoglobin; Hct, hematocrit; Plt, platelet. TP, total protein; Alb, albumin; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; CPK, creatine phosphokinase; LDH, lactate dehydrogenase. Ca, calcium; P, inorganic phosphorus; Mg, magnesium; Cre, creatinine; BUN, blood urea nitrogen; UA, uric acid. T. Cho, total cholesterol; TG, triglyceride; HDL-C, high density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol.

로 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ).

혈중 무기를 함량 및 신장 기능 관련 혈액 화학 지수에 미치는 효과

TCDD의 투여는 혈중 무기를 함량에 현저한 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 신장 기능 관련 혈액화학 지수 중 uric acid는 CO 대비 약 30% 감소하나 유의차는 없었으며 creatine 수치는 전혀 영향을 받지 않았다. Blood urea nitrogen(BUN) 수치는 약 1.43배( $p < 0.05$ ) 증가하였으며 EAV 투여는 TCDD에 의한 BUN의 증가를 억제하나 유의차는 관찰되지 않았다.

췌장 기능 관련 혈액 화학 지수에 미치는 효과

TCDD의 투여는 지방 분해효소(lipase)의 활성을 2.36배( $p < 0.05$ ) 증가시켰으며 glucose의 함량은 약 30%( $p < 0.05$ ), amylase의 활성은 약 10% 감소시키는 것으로 나타났다. TCDD에 의한 glucose의 함량 감소와 lipase 활성 증가는 EAV 투여로 유의하게 억제되어( $p < 0.05$ ) 거의 정상에 가까운 수치를 나타냈으며 amylase 활성 역시 정상치와 유사한 값을 나타냈으나 유의차는 없었다.

지질대사 관련 지수에 미치는 효과

TCDD에 노출된 랫드에 있어서는 중성지질(triglyceride: TG)과 저밀도 지질단백질(low density lipoprotein cholesterol: LDL-C)의 함량이 현저히 증가하여 CO 대비 각각 242%( $p < 0.01$ )와 156%( $p < 0.05$ )를 나타냈다. 기타 총콜레스테롤(total cholesterol: T. Cho)과 고밀도 지질단백질(high density lipoprotein cholesterol: HDL-C) 역시 TCDD 투여로 증가하나 유의차는 관찰되지 않았다. TCDD로 야기되는

TG 및 LDL-C 함량 증가가 EAV 투여로 억제되기는 하나 그 억제 폭이 크지 않아 유의차는 없는 것으로 나타났다.

장기별 무게에 미치는 효과

TA군에 있어서는 흡선( $p < 0.01$ ), 고환( $p < 0.01$ ) 및 비장( $p < 0.05$ )의 중량 감소가 현저하게 나타났다. TA 흡선 무게는 가장 심하게 감소하여 CO 대비 3.8%에 불과하였으며 고환 및 비장 역시 각각 64.0%, 56.5%에 불과하였다. 한편, TE군에 있어서는 TCDD에 의한 장기의 무게 감소가 녹용 에탄올 추출물 투여로 다소 억제되었으나 고환(CO 대비 87.8%  $p < 0.01$ )과 흡선( $p < 0.05$ )에서만 유의성이 관찰되었다. TE 흡선의 경우 비록 TA 대비 유의하게 무게 감소가 경감되었으나 고는 하나 CO와 비교하면 현저히 낮았다.

간 조직 병변에 미치는 영향

TA에 있어서는 간세포의 일부가 팽윤됨으로서 간소엽의 가장 자리를 향하여 방사형 배열을 보여야 하는 정상적 간세포 배열이 흐트러졌으며, 세포의 과염색상, 호산성 세포징화, cytoplasmic vacuolation, fatty metamorphosis, 세포 크기의 불규칙성, 중심엽 지역의 sinusoid가 증가되는 양상을 보였다. 또한, 색소의 침착과 일부 간세포의 괴사, 지방성 변성(fatty degeneration)과 크고 작은 공포변성(vacuolar degeneration)도 일부 관찰되었다. 반면, TE에 있어서는 Table 2와 Fig. 1에서 보는 바와 같이 소엽의 구조(lobular structure)와 부분적인 지방공포변성이 관찰되나 TA에서 나타나는 소견에 비하여 현저하게 억제되는 경향을 보였다.

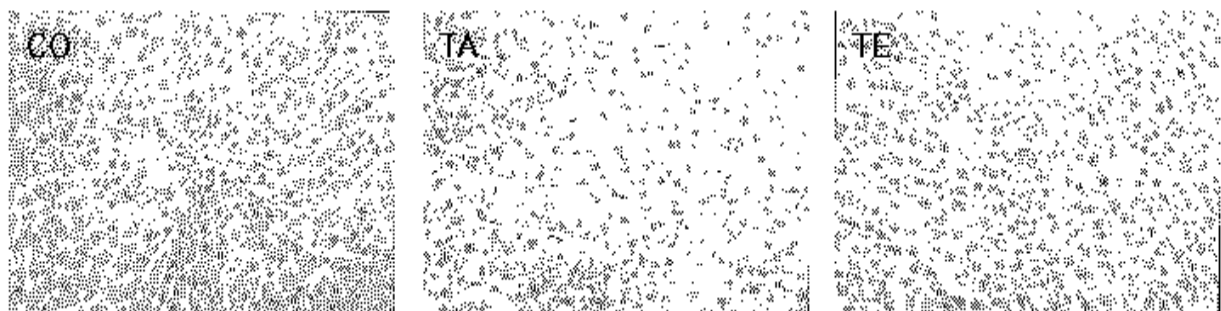
신장 조직 병변에 미치는 영향

TA에서는 근위 세뇨관(proximal convoluted tubules)을

**Table 2. Effect of ethanol extract of antler velvet on liver damage in rats exposed to TCDD**

Groups (n=10)	Cell necrosis	Destruction of lobular structure	Fatty change	Total
CO	0	0	0	0
TA	3	3	3	9
TE	0	1	1	2

Thirty male rats were divided into three equal groups. The control group (CO) received vehicle (mixture of DMSO/acetone/soybean oil) and saline; single dose of 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  body weight TCDD was injected intraperitoneally into the single TCDD-treated (TA); and test group (TE). Test group received ethanol extract of antler velvet (EAV) at daily dose of 20  $\text{mg}/\text{kg}$  body weight for 6 weeks from one week before TCDD exposure.



**Fig. 1. Microscopic appearance of rat's liver exposed to TCDD (H&E,  $\times 200$ ).**  
CO: control group, TA: single TCDD-treated group, TE: test group.

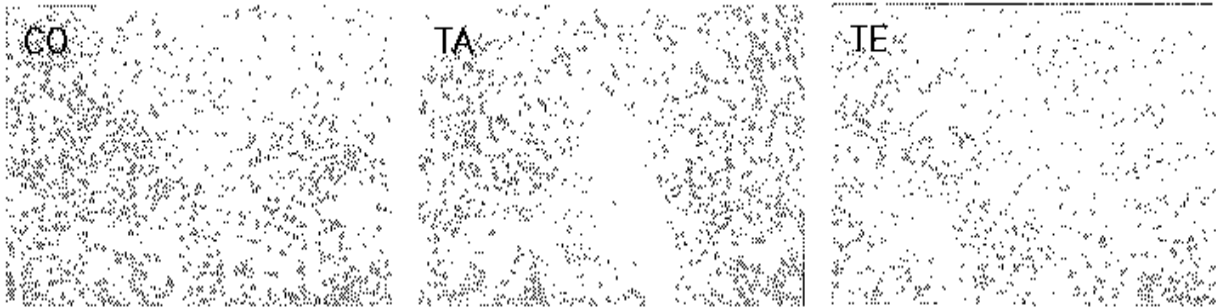


Fig 2. Microscopic appearance of rat's kidney exposed to TCDD (H&E, ×200).  
CO: control group, TA: single TCDD-treated group, TE: test group.

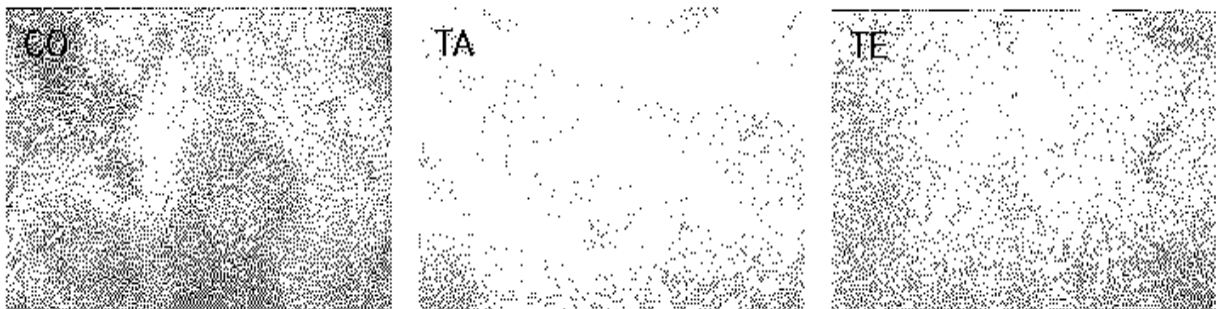


Fig 3. Microscopic appearance of rat's spleen exposed to TCDD (H&E, ×200).  
CO: control group, TA: single TCDD-treated group, TE: test group.

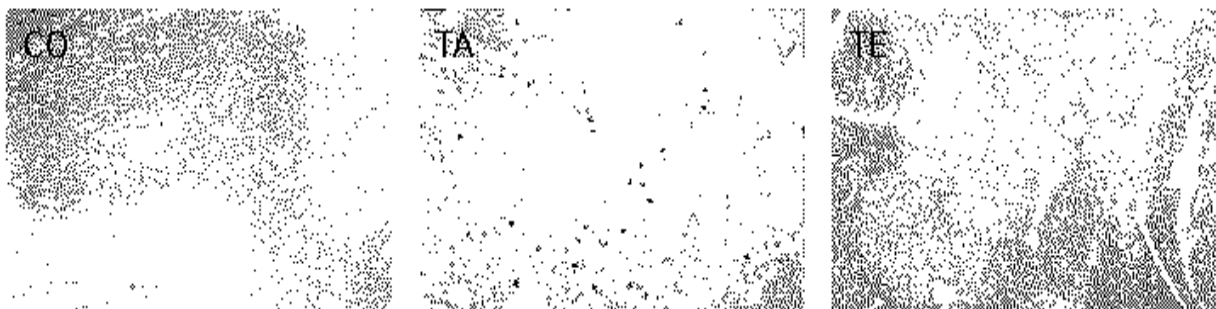


Fig 4. Microscopic appearance of rat's thymus exposed to TCDD (H&E, ×200).  
CO: control group, TA: single TCDD-treated group, TE: test group.

포함한 원위관(distal convoluted tubules) 그리고 사구체(glomerulus) 등의 상피(cortex) 세포에서 부종이 관찰되는 반면, TE에서는 TCDD에 의하여 유발되는 신장 조직의 병변이 일부 개선되는 것으로 나타났다(Fig. 2).

#### 비장 조직 병변에 미치는 영향

TA에서는 red purple의 심한 위축과 macrophage가 다수 관찰되는 반면, 면역세포의 밀도는 현저하게 감소한 것으로 나타났다. 반면 TE군의 비장 역시 red purple의 위축이 관찰되었으나 TA군의 비장에 비해 경미한 상태를 나타냈다(Fig. 3).

#### 흉선 조직 병변에 미치는 영향

TA군의 흉선은 심하게 위축되었을 뿐만 아니라 전체적으로 세포의 밀도와 가슴샘소체의 수가 현저히 감소하였다.

한편, TE에서는 부분적으로 세포의 밀도 감소와 위축이 관찰되나 TA에서 관찰되었던 정도에 비하여 현저하게 억제되는 경향을 보였다. 흉선에 있어서는 금후 면역조직화학적 염색을 통한 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다(Fig. 4).

#### 고 찰

본 연구팀은 이미 녹용의 에탄올 추출물이 TCDD에 노출된 랫드에 있어 체중 감소와 고환 독성을 유의하게 방어한다는 사실을 보고한바 있다(12). 본 연구에서는 TCDD에 노출된 랫드에 있어 녹용의 에탄올 추출물(EAV)이 혈액상(complete blood count) 및 임상화학지수(common serum chemistry panels) 및 장기별 조직 병변에 미치는 효과를 구명하기 위하여 수행되었다. 본 실험에 앞서 TCDD의 적정

투여량을 결정하기 위하여 랫드를 각 군 6마리씩, 총 4개군으로 나누어 0, 40, 50, 60 µg/kg body weight의 TCDD를 복강내 주사하였을 때 4주간 사망하지는 않으면서 체중감소와 같이 외형적으로 독성 증상이 현저하게 나타나는 투여량을 조사한 결과 50 µg/kg body weight이 가장 적절한 것으로 나타났다. 녹용의 적정 투여량 역시 예비실험을 통하여 TCDD에 노출된 랫드에 있어 20 mg/kg body weight가 다른 투여군(5, 10, 40 mg/kg body weight)에 비해 양호하였으므로 이를 적정 투여량으로 결정하였다.

녹용은 전통적으로 다려서 복용하는 것이 원칙이다. 따라서 본 실험에서도 녹용 추출물을 다려 내어 사료에 첨가하는 방법이 가장 이상적이라 사료되나 체중 증가에 따른 일일 섭취량을 정확하게 산출하여 사료에 첨가하는 것이 어려울 뿐만 아니라 TCDD에 노출된 랫드의 경우 식용감퇴로 인하여 사료 섭취가 현저히 저하되므로 원하는 양을 정확하게 투여할 수 없다는 문제점을 가지고 있다. 또한, 존대를 이용하여 EAV를 경구 투여하는 방법을 고려하였으나 TCDD에 노출된 랫드에게 매일 4주간 경구 투여하는 것은 식도에 염증을 유발할 수 있으므로 상대적으로 위험성이 적은 복강 투여 방법을 선택하였다.

TCDD에 노출될 경우 독성 반응은 실험동물의 종류에 따라 다소 상이하게 나타나며 랫드에 있어서는 간 독성이 현저하게 나타나며 고환 독성인 경우는 guinea pig에서 보다 현저하다(13,14). 본 연구에 있어서는 TCDD에 노출된 랫드의 혈액상 및 혈액화학적 지수 중 혈소판 수 감소(p<0.01), AST(p<0.01) 및 ALT(p<0.05) 활성 증가, CPK(p<0.01) 및 LDH(p<0.05) 활성 감소, BUN 활성 증가(p<0.05), glucose 함량 감소(p<0.05), lipase 활성 증가(p<0.05), TG(p<0.01) 및 LDH-cholesterol(p<0.05) 함량 증가가 대조군에 비하여 유의하게 변화한 것으로 관찰되었다. 특히 혈소판 수 감소, serum lipase 활성 증가, abdominal lipoprotein lipase(LPL) 활성 저하 및 male에서 serum estrogen 함량 증가는 동물 종과 관계없이 매우 재현성이 있게 나타나는 독성 반응(14)으로 본 실험에서도 대조군 대비 현저한 차이를 보였다. TCDD에 노출된 동물에 있어서는 체중 감소가 현저하게 나타나며 이는 복부 지방 조직에 있어 LPL의 활성 저하와 관련이 있는 것으로 알려져 있다(15). 또한, estrogen은 hormone sensitive lipase(HSL)의 활성을 증가시킴으로써 대퇴부(gluteofemoral)와 엉덩이(buttocks) 부분에 지방축적을 촉진하는 반면 복부 지방 조직에서는 지방분해를 촉진함으로써 체중 감소를 유발하는 것으로 알려져 있다(16). 본 실험에서 TCDD-노출 랫드의 체중 감소는 복부 지방 조직내 LPL 활성 저하와 serum에 존재하는 HSL의 활성 증가와 관련이 있을 것으로 사료된다.

또한 장기별 무게에 있어서는 TCDD는 고환의 무게를 현저하게 감소시켰다(p<0.01). 한편, 녹용의 에탄올 추출물(EAV)은 TCDD에 노출된 랫드에 있어 LDH의 활성 감소

(p<0.05), glucose 함량 감소(p<0.05), lipase 활성 증가(p<0.05), 고환 무게 감소(p<0.01)에 대하여 유의하게 억제하는 것으로 관찰되었다. 체중 감소 역시 녹용의 에탄올 추출물 투여에 의해 현저하게 개선되었으나 전보(12)에 보고하였으므로 본 논문에서는 언급하지 않았다. TA군의 흉선은 거의 퇴화되어 CO 흉선 무게의 3.8%에 불과하였다. TCDD에 노출된 랫드에 EAV를 전처리하면 TA군과 비교하여 비록 무게 감소는 유의하게 억제되나 CO군과 비교하면 현저하게 작은 값을 나타냈다(p<0.01).

녹용의 약리활성 성분으로는 갱글리오사이드(ganglioside), 판토크린(pantocrin: 70% 에탄올 추출물), 아미노산, 인산칼슘, 탄산칼슘, 콜라겐, 인지질, 콘드로이틴(chondroitin), 글루코사민(glucosamine), 하이알루론산(hyaluronic acid) 등이 알려져 있다(5). 그러나 이들 대부분은 녹용에만 특이적으로 함유되어 있는 성분이 아니며 판토크린 역시 구성 화합물이 구멍되지 않아 이들 성분이 녹용 특유의 성분인지 확인할 수 없다. 또한 대부분 다른 식품에도 다량 함유되어 있는 무기물과 단백질 및 지질 성분에 불과하므로 녹용의 다양한 약리효능을 대변하기는 어렵다. 따라서 녹용의 약리작용과 연계한 생리활성을 가진 지표물질 구멍에도 많은 연구가 필요하리라 생각한다.

환경호르몬은 내분비 조절인자들과 작용하여 호르몬에 민감한 조직과 생식기에 암과 같은 퇴행성 만성질환을 일으킬 수 있다는 점에서 그 심각성이 대두되고 있다(17). 내분비 교란성 화합물로는 dioxin, PCB, DDT, tributyltin, bisphenol A, 4-octyl phenol, atrazine, DES 등을 들 수 있으나, 이중 가장 대표적인 화합물이 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)으로 알려져 있다(14). 이들 화합물은 성호르몬 특히 에스트로겐과 유사한 작용을 하므로 내분비계를 혼란시키며, 그 결과 체중 감소, 생식기계 독성, 면역장애 및 암 발생 등을 유발한다고 보고되고 있다(13,18-21). TCDD와 같은 맹독성 환경호르몬은 자동차 매연, 쓰레기 소각장 등에서 매년 엄청난 양이 배출되고 있어 그 독성으로 인한 피해는 점점 더 누적되어 갈 것이다. 그러나 인류의 생활 패턴이 반세기 전으로 돌아가지 못하면 독성 피해는 가중될 것이다. 이러한 관점에서 우리가 할 수 있는 일이란 녹용, 인삼, 녹차 등과 같이 TCDD 독성에 대하여 방어 효과가 있다고 알려진 생약재를 섭취하는 것이 최선의 방법일 것으로 생각한다.

전보에 이어 본 연구에서도 녹용의 에탄올 추출물은 TCDD로 인하여 야기되는 독성을 전반적으로 개선한다는 사실을 알았다.

요 약

본 연구에서는 TCDD에 노출된 랫드에 있어 녹용의 에탄올 추출물(EAV)이 혈액상(complete blood count) 및 임상 화학지수(common serum chemistry panels) 및 장기별 조

직 병변에 미치는 효과를 구명하기 위하여 수행되었다. 본 연구 결과 TCDD에 노출된 랫드의 혈액상 및 혈액화학적 지수 중 혈소판 수 감소( $p < 0.01$ ), AST( $p < 0.01$ ) 및 ALT( $p < 0.05$ ) 활성 증가, CPK ( $p < 0.01$ ) 및 LDH( $p < 0.05$ ) 활성 감소, BUN 활성 증가( $p < 0.05$ ), glucose 함량 감소( $p < 0.05$ ), lipase 활성 증가( $p < 0.05$ ), TG( $p < 0.01$ ) 및 LDH-cholesterol( $p < 0.05$ ) 함량 증가가 대조군에 비하여 유의하게 변화한 것으로 관찰되었다. 특히 혈소판 수 감소, serum lipase 활성 증가, abdominal lipoprotein lipase(LPL) 활성 저하 및 male에서 serum estrogen 함량 증가는 동물 종과 관계없이 매우 재현성이 있게 나타나는 독성 반응으로 본 실험에서도 대조군 대비 현저한 차이를 보였다. 본 실험에서 TCDD-노출 랫드의 체중 감소는 복부 지방 조직내 LPL 활성 저하와 serum에 존재하는 HSL의 활성 증가와 관련이 있을 것으로 사료된다. 또한 장기별 무게에 있어서도 TCDD는 고환의 무게를 현저하게 감소시켰다( $p < 0.01$ ). 한편, 녹용의 에탄올 추출물(EAV)은 TCDD에 노출된 랫드에 있어 LDH의 활성 감소( $p < 0.05$ ), glucose 함량 감소( $p < 0.05$ ), lipase 활성 증가( $p < 0.05$ ), 고환 무게 감소( $p < 0.01$ )에 대하여 유의하게 억제하는 것으로 관찰되었다. TA군의 흉선은 거의 퇴화되어 CO 흉선 무게의 3.8%에 불과하였다. TCDD에 노출된 랫드에 EAV를 전처리하면 TA군과 비교하여 비록 무게 감소는 유의하게 억제되나 CO군과 비교하면 현저하게 작은 값을 나타냈다( $p < 0.01$ ). 이상의 결과로 보아 녹용은 랫드에 있어 다 이옥신에 의하여 야기되는 일반 혈액화학지수 및 조직 병변에 미치는 효과를 개선시킬 수 있다고 판단한다.

### 감사의 글

본 논문은 건국대학교 학술진흥연구비 지원에 의해 얻은 결과임.

### 문 헌

1. Tsujibo H, Miyake Y, Maruyama K, Inamori Y. 1987. Hypotensive compounds isolated from an alcohol extract of the unossified horn of *Cervis elaphus* L var xanthopyugus Milne-Edwang (Rokujo). Isolation of lysophosphatidylcholine as a hypotensive principle and structure-activity study of related compounds. *Chem Pharm Bull* 35: 654-659.
2. Kim KW, Park SW. 1982. A study on the hematopoiesis action of deer horn extract. *Korea Biochem J* 15: 151-157.
3. Yong JI. 1976. Studies on deer horn: The effect of deer horn on the liver and other organs of cholesterol administered rabbits. *J Korea Pharm Sci* 6: 26-42.
4. Han SH. 1970. Influence of antler (deer horn) on the enterochromaffin cells in the gastrointestinal mucosa of rats exposed to starvation, heat, cold and electric shock. *J Catholic Medical College* 19: 157-165.
5. Kang CK, Kim SW. 1989. A study on the biochemical and nutritional inquiry of antler. *Korea J Food Nutr* 2: 65-71.
6. Zinkle JG, Vos JG, Moore JA, Gupta BN. 1973. Hematologic and clinical chemistry effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in laboratory animals. *Environmental Health Perspectives* 9: 111-118.
7. Gasiewicz TZ, Neal RA. 1979. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin tissue distribution excretion and effect on clinical chemical parameter in guinea pigs. *Toxicol Applied Pharmacol* 51: 329-339.
8. Brewster DW, Matsumura F. 1989. Differential effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on adipose tissue lipoprotein lipase activity in the guinea pig, rat, hamster, rabbit and mink. *Comp Biochem Physiol* 93C: 49-53.
9. Enan E, Lui PCC, Matsumura F. 1992. 2,3,7,8-TCDD causes reduction in glucose uptake through glucose transports on the plasma membrane of the guinea pig adipocyte. *J Environ Sci Health B27*: 495-510.
10. Buu-Hoi NPH, Moore JA, Vos JG. 1972. Organism as targets of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in toxication. *Naturwiss* 59: 174-179.
11. Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL. 1993. Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: cross-species comparisons. *Crit Rev Toxicol* 23: 283-335.
12. Choi KY, Hwang SY, Kim SK. 2005. Ethanol extract of antler velvet attenuates testicular toxicity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in rats. *Korea J Food Sci Nutr* 34: 1169-1174.
13. Kim W, Hwang S, Lee H, Song H, Kim S. 1999. *Panax ginseng* protects the testis against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin induced testicular damage in guinea pigs. *British J Urol Int'l* 83: 842-849.
14. Poland A, Knuston JC. 1982. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 22: 517-554.
15. Safe S, Astroff B, Harris B. 1996. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and related compounds as antiestrogens: characterization and mechanism of action. *Pharmacol Toxicol* 69: 400-409.
16. Ley CJ, Lees B, Stevenson JC. 1992. Sex- and menopause-associated changes in body-fat distribution. *Am J Clin Nutr* 55: 950-954.
17. Wassom JS, Huff JE, Loprieno N. 1977/1978. A review of the genetic toxicology of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins. *Mutation Res* 47: 141-160.
18. Jones G, Butler WH. 1974. A morphological study of the liver lesion induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in rats. *J Pathol* 112: 93-97.
19. Yoo YS. 1999. Endocrine Disruptor. *Korea Society of Environmental Administration* 5: 331-337.
20. Kim YC. 2000. Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds. *J NERI* 5: 373-397.
21. McConnel BE. 1980. *Acute and chronic toxicity, carcinogenesis, reproduction, teratogenesis and mutagenesis in animals*. Eisevier/North-Holland Biomedical Press, New York. p 241-266.

(2006년 7월 6일 접수; 2006년 9월 14일 채택)