

加味除濕順氣湯이 高脂血症을 유발시킨 高血壓 白鼠에서의 血液學的 變化에 미치는 影響

박종광 · 최학주 · 김동희*

A study on the Effect of Kamijesubsungitang on Hyperlipidemia

Jong-kwang Park, Hak-Joo Choi, Dong-Hee Kim

Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, Graduate school of Daejeon University

KJST is the oriental herbal medicine of hyperlipemia which consisted of a herb of 17. We induced hyperlipemia to Spontaneous Hypertensive Rat(SHR) and studied the treatment effect by KJST. Hyperlipidemia was induced by hyper-lipidemic diet fed for 4weeks. Total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, Triglyceride, Total bilirubin, Lactic dehydrogenase(LDH), Glucose and Total protein were measured on the serum after an oral administration of KJST. Total cholesterol, LDL-cholesterol, Glucose and LDH was significantly lower in the KJST treated animals, and HDL was significantly raised in the KJST treated animals. These results suggest that KJST is effective for the treatment of hyperlipidemia.

Key words Kamijesubsungitang(KJST), Spontaneous Hypertensive Rat(SHR), Hyperlipidemia, Total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol

I. 序 論

최근 생활환경의 변화와 식생활의 서구화로 인하여 고칼로리 음식과 동물성 식품의 섭취가 증가함에 따라 高脂血症 발생률이 큰 폭으로 증가하고 있다.

高脂血症은 혈중 콜레스테롤(240mg/dl 이상)과 중성지방(200mg/dl 이상)이 정상 범위 이상으로 증가된 상태로 혈청 총콜레스테롤(total cholesterol), 저밀도콜레스테롤(LDL-cholesterol)의 증가와 고밀도 콜레스테롤(HDL-cholesterol)의 감소, 혈청 중성지방, 인지질, 지방산 등으로 구성된 혈장지질 중에서 일종 또

는 다종의 성분 함량이 비정상적으로 상승 또는 저하되는 병리 기전을 가지고 있다^{1~3)}.

이러한 高脂血症은 협심증, 심근경색, 뇌졸중, 동맥경화증 등의 순환기 질환의 직접적인 원인이 되고, 지방간, 췌장염의 주범이 됨으로써 의학적 문제를 넘어 사회적 문제가 되고 있다³⁾. 특히 高血壓 환자에게서 高脂血症 동반은 병리적 상승작용으로 인하여 더욱 높은 사망률을 초래하는데, 최근 들어 이러한 환자의 발생률이 지속적인 증가 추세에 있다.

高脂血症 치료에 관한 연구는 고콜레스테롤 혈증과 동맥경화에 의한 질환과의 관련성이 제기된 이후에 식이요법이나 운동요법과 같은 비약물요법이나 niacin, fibrate, resin 등의 약제를 사용하여 콜레스테롤을 낮춤으로써 관상동맥질환을 예방하고자 하는 많은 연구^{4~6)}들이 시행되어왔다.

* 대전대학교 한의과대학 병리학교실
교신저자 : 김동희 · E-mail : dhkim@dju.ac.kr
· 채택일 2006년 4월 20일

이같은 다양한 연구 결과로 최근 콜레스테롤 합성의 반응조절 단계효소인 HMG-CoA reductase를 억제하는 치료제인 statins 계열의 약물의 유의성 있는 임상 결과가 보고되었다⁷⁾. 그러나 생체 내에서의 기전이 아직 확실히 증명되지 않고 있으며, 장기 복용시 간과 신장 중대 등 부작용이 보고됨으로써 천연물로부터 高脂血症 치료제의 개발에 관심이 높아지고 있다.

본 시료인 加味除濕順氣湯은 임상에서 부종, 비만 등에 활용되는 처방으로, 除濕順氣湯에 高血壓에 유의적인 결과가 보고된 석창포, 죽여, 우슬, 회침, 조구등이 가미된 처방이다

이와 관련된 실험으로 김 등^{8~10)}은 이미 본장과 구성이 유사한 처방인 한인진호탕, 청신도담탕, 순기활혈탕 등이 高脂血症에 미치는 영향을 보고하였고, 김¹¹⁾과 문¹²⁾은 각각 본 시료의 高脂血症과 高血壓에 미치는 영향을 실험적으로 규명한 바 있다. 이 같은 상기 시료의 선택은 高脂血症의 주요 병인과 병기가 이치적 병리 산불인 담음과 유관성이 있다는 인식^{13,14)}에 기초를 두고 있다.

이 밖에 가미된 약물에 대한 연구로 권¹⁵⁾은 가미된 석창포의 혈압 및 국소뇌혈류에 미치는 영향을, 권¹⁶⁾은 白鼠의 국부 뇌경색에 대한 조구 등의 신경보호 효과를, 강¹⁷⁾은 조구등이 뇌허혈을 유발시킨 白鼠에서의 뇌신경보호효과를, 조¹⁸⁾는 회침이 혈압과 혈당에 미치는 영향을, 김¹⁹⁾은 회침이 생쥐의 혈관내피 세포성 이완인자에 미치는 영향을 각각 보고한 바가 있다.

따라서 본 연구에서는 기존의 연구 결과를 바탕으로, 高血壓과 高脂血症이 동시에 진행되고 있는 환자의 유의성 있는 신규 한방 치료제 개발을 위하여 SHR(Spontaneous Hypertensive Rat.)에 고콜레스테롤 식이를 급여한 후 加味除濕順氣湯(KJST)을 투여하여 혈액학적 변화에 미치는 영향을 검색하였다.

II. 實驗

1. 材料

1) 動物 및 飼育條件

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 180~220g의 음성 SHR(Spontaneous Hypertensive Rat, 自發性高血壓白鼠 - 중앙실험동물센터)은 실험 당일까지 고형사료와 고콜레스테롤 식이사료(Bio-serv, USA)를 자유 식이하면서 물을 충분히 공급하였다. 실온 22±2℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 쥐만을 선별하여 실험에 사용하였다. 일반 사료와 고콜레스테롤 식이 사료의 조성 내용과 분량은 다음과 같다(Table 1,2).

Table 1 Composition of Basal Diet

조단백질	22.1%
조지방	8.0%
조섬유	5.0%
조회분	8.0%
칼슘	0.6%
인	0.4%

Table 2 Composition of Hyperlipidemic Diet (Telklad Premier Lab Diet, No TD 90221 . paigen high Fat Diet)

Total High Fat	17%
Cholesterol	1.25%
Cholic acid	0.5%
Normal diet	81.25%

2. 藥材

본 실험에 사용한 加味除濕順氣湯 (Kamijesub-ungitang, 이하 KJST로 지칭함)의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입하여 정선한 후 사용하였다. 한 첩의 내용과 용량은 다음과 같다(Table 3)

Table 3. The Compositions of Kamijesub-
ungitang (KJST)

韓藥名	學名	(g)
창출	Atractylodis Rhizoma	8
향부자	Cyperus rotundus	8
귤피	Citri Pericarpium	6
반하	Pinellia ternata	6
적복령	Hoelen rubra	6
지각	Aurantii fructus	4
오약	Linderae Radix	4
길경	Platycodi Radix	4
방풍	Ledebouriellae Radix	4
백지	Angelica dahurica	2.8
목향	Inula helenium	2.8
감초	Glycyrrhiza uralensis	2
석창포	Acorus gramineus	4
죽여	Gryllotalpa orientalis	4
우슬	Achyranthis Radix	8
회침	Siegesbeckia glabrescens	8
조구등	Uncariae Ramulus Et Uncus	6
Total amount		87.6

3) 시약 및 기기

Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A; Sigma Co., U.S.A.), Normal saline (중외제약, Korea), 3.8% Sodium citrate (Sigma Co., U.S.A), Cholesterol, glucose 측정용 strips (Roche. Co., Germany), 이 밖에 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다. 본 연구에 사용된 기기는 Accutrend GC (Roche, Germany), Blood glucose meter (LifeScan, U.S.A), Ice-maker (Vision, Korea), Serum separator (녹십자, Korea), Minos-ST (Cobas Co, France), Centrifuge (Beckman Co., U.S.A), Rotary vacuum evaporator (Buchi 461, Switzerland), Deep freezer(Sanyo Co, Japan), Freeze dryer(Eyela Co, Japan), Autoclave(Hirayama, Japan), Ultrasonic cleaner(Branson Ultrasonics Corp., U.S.A.), Roller

Mixer(Gowon scientific technology Co., Korea), 한약유출기(S-15000, 새일메디칼, Korea) 등을 사용하였다.

2. 方法

1) 시료 추출

시료 추출 방법은 KJST 5첩을 한약유출기(S-15000, 새일메디칼)에 넣고, 정제수 (폴무원샘물) 3,000ml와 같이 혼합하여 3시간 전탕하였다. 처음 30분간은 약 100℃에서 0.5kgf/cm² 압력으로 전탕하고, 2시간 30분간은 121℃에서 1.5kgf/cm² 압력으로 전탕한 후, KJST 추출액을 rotary vacuum evaporator(Buchi 461, EYELA)에서 감압 농축하여 KJST를 분리하였다. 이 KJST를 다시 동결건조기(EYELA, FDU-540, Japan)에서 24시간 동결 건조하여 분말 11.4g을 얻었으며, 얻어진 분말은 초저온냉동고 (80℃)에서 보관하면서, 실험에 따라 필요한 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다

2) Human fibroblast cells (hFCs) 배양

피부 조직을 cool D-PBS로 3회 세척한 후 작은 조각으로 절단한 다음, conical tube(15ml)에 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 이 tube에 RPMI 1640(containing collagenase A(5mg/ml, BM, Indianapolis, IN, USA)와 DNase type I (0.15mg/ml, Sigma. Co., U.S.A.), antibiotics(penicillinm 104U/ml, streptomycin 10mg/ml, amphotericin B 25µg/ml)를 넣고 37℃ CO₂ 배양기에서 hFCs를 2시간 동안 배양하였다 여기에 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가하여 30분간 배양하고, 인산완충생리식염수 (PBS)로 약 2회 1,500rpm에서 원심분리한 후 RPMI1640-10% FBS로 1주일 동안 배양하였다. 이를 다시 0.5% trypsin-0.2% EDTA로 분리하여 연속으로 1주일 씩 3회 반복하여 살아있는 부착세포를 RPMI 1640-10% FBS 배양액에서 배양하였다.

3) 세포독성 측정

세포독성 측정은 MTT assay로 하였다. 배양한 Human fibroblast cells를 96 well plate에 2×10^4 cell 씩 분주한 후 배양하고, 24시간 후 KJST를 500, 250, 100, 50, 25($\mu\text{g/ml}$)의 농도를 투여하였다. 다시 48시간 배양 후 부유액을 제거하고, 각 well에 MTT solution 100ul 씩 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 부유액을 제거하고 각 well에 100ul의 DMSO를 첨가하여 37°C CO₂ 배양기에서 30분 동안 반응 시킨 후 ELISA reader를 사용하여 wave length 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

2) 식이와 검액의 투여

실험군은 SHR에 일반 고형 사료를 투여한 일반 대조군(SHR-C), SHR에 고콜레스테롤 사료를 투여한 실험 대조군(H-SHR)과 실험 대조군에 KJST를 투여한 실험군(KJST)으로, 크게 세 가지 군으로 나누어 6주 동안 자유식이 하였다. KJST 투여군은 고콜레스테롤 자유 식이와 함께 89.6mg/kg 농도의 KJST를 4주간 매일 1회씩 경구 투여하였다. 실험군의 동물 수는 각 5마리로 하였다.

3) 혈중 cholesterol과 glucose 측정

(1) Cholesterol 측정

각 군의 실험동물을 1주일 간격으로 6주간 꼬리 정맥에서 0.1 ml씩 채혈한 후 cholesterol 측정 기기인 Accutrend GC(Roche, Germany)의 strips로 혈중 cholesterol의 변화량을 측정하였다.

(2) Glucose 측정

6주 후 꼬리 정맥의 혈액을 소량 채취하여 blood glucose meter(LifeScan, U.S.A)로 혈당량을 측정하였다.

4) 혈청 성분 측정

Total cholesterol, HDL-Cholesterol, Triglyceride, LDL-Cholesterol의 활성도는 JSCC UV method의 원리를 이용하여 생화학 자동분석기로 측정하

였다.

5) 통계학적 분석

최종적으로 실험을 실시한 후, 모든 자료는 means \pm S.D.로 나타내었다. 통계학적 분석은 student's t-test를 통하여 검증하며 p<0.05 이상인 것을 유의하다고 인정하였다.

III. 結果

1. Human Fibroblast Cell(hFCs)에 대한 세포독성

細胞毒性을 觀察한 結果 hFCs에서는 對照群의 細胞 生存率 100%에 대하여, KJST의 500, 250, 100, 50, 25, 10 $\mu\text{g/ml}$ 濃度에서 각각 81.6 \pm 1.8, 92.4 \pm 3.2, 92.7 \pm 3.6, 91.7 \pm 1.3, 95.2 \pm 4.6, 96.3 \pm 3.2(%)로 나타났다(Table 4).

Table 4. Cytotoxicity of KJST on Human Fibroblast Cells(hFCs)

Drug	Dose ($\mu\text{g/ml}$)	% of Control Data hFCs
Control	0	100
KJST	500	81.6 \pm 1.8
	250	92.4 \pm 3.2
	100	92.7 \pm 3.6
	50	91.7 \pm 1.3
	25	95.2 \pm 4.6
	10	96.3 \pm 3.2

2. 高脂血症 유발에 따른 total cholesterol (T-Chol.)의 변화에 미치는 영향

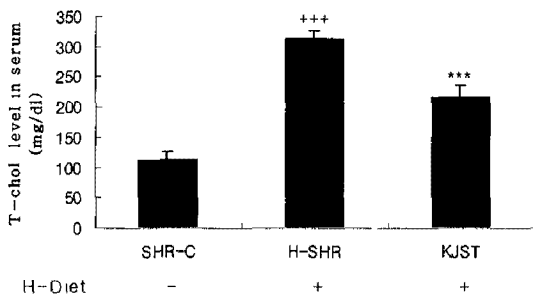
실험 종료 후 rat의 혈청 내 T-Chol.를 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)에서는 113.0 \pm 13.4(mg/dL), 실험대조군(H-SHR)은 315.0 \pm 11.5(mg/dL), KJST 투여군은 216.8 \pm 18.6(mg/dL)으로, SHR-C군에 비하여 H-SHR군에서 높게(+++: P<0.001) 증가하였고, KJST군에서는 H-SHR군에 비하여 有意性 있는(***: p<0.001) 감소 효과를 나타내었다. (Table 5, Fig. 1).

Table 5. Effect of KJST on the T. Chol. Level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

Group		Parameter of serum level
		T Chol.(mg/dL)
SHR-C		113.0 ± 13.4
Hyperlipidemic diet	H-SHR	315.0 ± 11.5+++
	KJST	216.8 ± 18.6***

Statically significant value compared with SHR-C(+++: P<0.001) or H-SHR (***: p<0.001) data by T test.

Fig. 1. Effect of KJST on the T. Chol. level in SHR induced hyper-lipidemic diet.



SHR-C : Normal saline (day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline (day/0.2ml)treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST (22.4mg/day/0.2ml) treated group. Values represent the means ± SD of 5 rats. Statically significant value compared with SHR-C(+++: P<0.001) or H-SHR (***: p<0.001) data by T test.

3. 高脂血症 유발에 따른 LDL-Cholesterol(LDL-Chol.) 변화에 미치는 효과

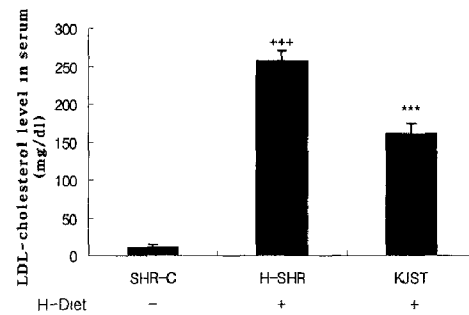
실험 종료 후 rat의 혈액 및 혈청 내 LDL-Chol.를 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)은 11.0±3.6(mg/dL), 실험대조군(SHR-C)은 258.0±13.0(mg/dL), KJST 투여군은 160.2±14.3(mg/dL)으로 나타나, SHR-C 실험군에 비하여 H-SHR 실험군에서 현저하게(+++: P<0.001) 증가하였고, KJST 투여군에서는 H-SHR 실험군에 비하여 有意性 있는(***: p<0.001) 감소 효과를 나타내었다. (Table 6, Fig. 2).

Table 6. Effect of KJST on the LDL-Chol. Level in in SHR induced hyper-lipidemic diet.

Group		Parameter of serum level
		LDL-Chol.(mg/dL)
SHR-C		11.0 ± 3.6
Hyperlipidemic diet	H-SHR	258.0 ± 13.0+++
	KJST	160.2 ± 14.3***

Statically significant value compared with SHR-C(+++: P<0.001) or H-SHR (***: p<0.001) data by T test

Fig. 2. Effect of KJST on the LDL-Chol. level in SHR induced hyper-lipidemic diet



SHR-C : Normal saline(day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline(day/0.2ml)treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2ml) treated group, Values represent the means ± SD of 5 rats. Statically significant value compared with SHR-C(+++: P<0.001) or H-SHR (***: p<0.001) data by T test.

4. 高脂血症 유발에 따른 HDL-Cholesterol (HDL-Chol.) 변화에 미치는 효과

실험 종료 후 rat의 혈액 및 혈청 내 HDL-Chol.를 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)은 55.6±0.1(g/dL), 실험대조군(H-SHR)은 36.5±2.0(g/dL), KJST 투여군은 48.3±3.4(g/dL)로 나타나, SHR-C 실험군에 비하여 H-SHR 실험군에서 有意性 있게(+++: P<0.001) 감소하였으며, KJST 투여군에서는 H-SHR 실험군에 비하여 有意性 있는(** p<0.01) 증가 효과를 나타내었다.

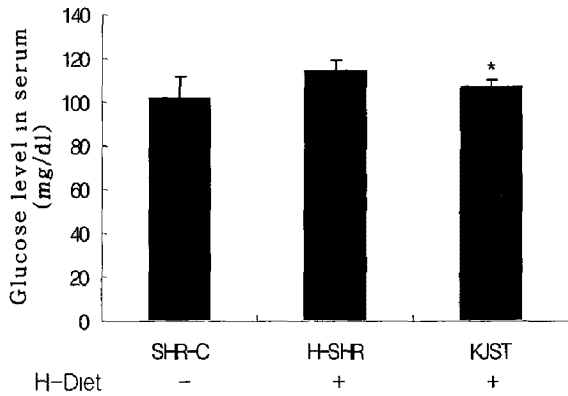
(Table 7, Fig 3).

Table 7. Effect of KJST on the HDL-Chol. Level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

Group		Parameter of serum level
		HDL-Chol.(mg/dL)
SHR-C		55.6 ± 0.1
Hyperlipidemic diet	H-SHR	36.5 ± 2.0+++
	KJST	48.3 ± 3.4**

Statically significant value compared with SHR-C(+++: P<0.001) or H-SHR (**. p<0.01) data by T test

Fig. 3. Effect of KJST on the HDL-Chol. level in SHR induced hyper-lipidemic diet.



SHR-C : Normal saline(day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline(day/0.2ml)treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2ml) treated group, Values represent the means ± SD of 5 rats. Statically significant value compared with SHR-C(+++. P<0.001) or H-SHR (**: p<0.01) data by T test.

5. 高脂血症 유발에 따른 glucose의 변화에 미치는 영향

실험 종료 후 rat의 혈청 내 glucose를 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)은 102.0±9.8(mg/dL), 실험

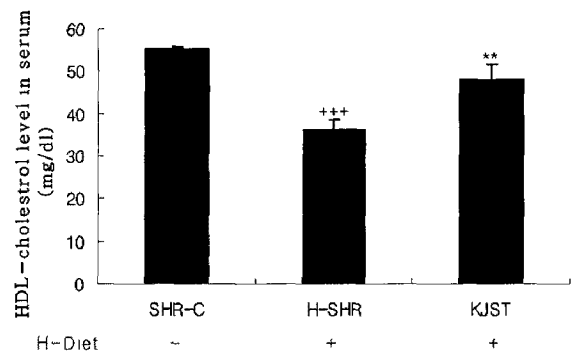
대조군(H-SHR)은 115.0±4.1(mg/dL), KJST 투여군은 107.4±2.7(mg/dL)로 나타나, H-SHR 실험군에 비하여 KJST 투여군에서 유의성 있는 (*: p<0.05) 감소 효과를 나타내었다(Table 8, Fig. 4).

Table 8 Effect of KJST on the Glucose Level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

Group		Parameter of serum level
		Glucose(mg/dL)
SHR-C		102.0 ± 9.8
Hyperlipidemic diet	H-SHR	115.0 ± 4.1
	KJST	107.4 ± 2.7*

Statically significant value compared with H-SHR (*: p<0.05) data by T test.

Fig. 4. Effect of KJST on the glucose level in SHR induced hyperlipidemic diet.



SHR-C : Normal saline (day/0.2 ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline (day/0.2ml) treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2 ml) treated group, Values represent the means ± SD of 5 rats. Statically significant value compared with H-SHR (*: p<0.05) data by T test.

6. 高脂血症 유발에 따른 triglyceride 변화에 미치는 영향

실험 종료 후 rat의 혈청내의 triglyceride를 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)은 83.0±11.1

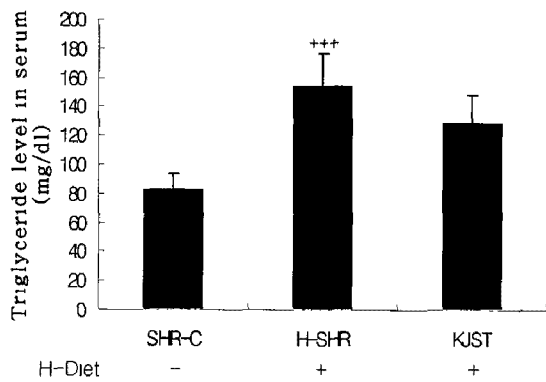
(mg/dL), 실험대조군(H-SHR)은 154.1±22.0 (mg/dL), KJST 투여군은 128.8±18.6(mg/dL)으로 나타나 감소 효과를 나타내었으나 유의성은 나타나지 않았다(Table 9, Fig. 5).

Table 9. Effect of KJST on the Triglyceride level in SHR induced hyper-lipidemic diet

Group		Parameter of serum level
		Triglyceride(mg/dL)
SHR-C		83.0 ± 11.1
Hyperlipidemic diet	H-SHR	154.1 ± 22.0 ⁺⁺⁺
	KJST	128.8 ± 18.6

Statically significant value compared with SHR-C(⁺⁺⁺ P<0.001) data by T test.

Fig. 5. Effect of KJST on the triglyceride level in SHR induced hyperlipidemic diet.



SHR-C : Normal saline(day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline(day/0.2ml) treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2ml) treated group, Values represent the means ± SD of 5 rats. Statically significant value compared with SHR-C(⁺⁺⁺ P<0.001) data by T test.

7. 高脂血症 유발에 따른 LDH 변화에 미치는 영향

실험 종료 후 rat의 혈청내의 LDH 를 분석한

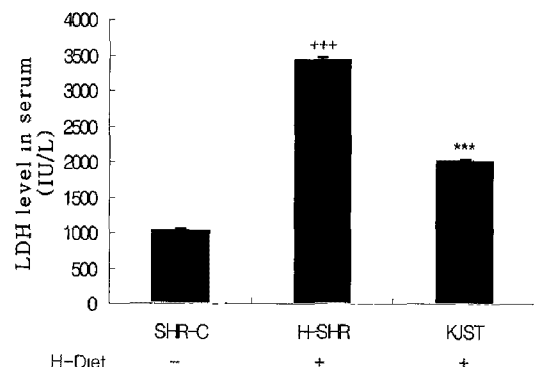
결과, 일반대조군(SHR-C)은 1044.0±15.1(mg/dL), 실험대조군(H-SHR)은 3448.4±28.4(mg/dL), KJST 투여군은 2018.4±31.5(mg/dL)로 나타나, SHR-C 실험군에 비하여 H-SHR 실험군에서 현저하게 (⁺⁺⁺ P<0.001) 증가하였으며, H-SHR 실험군에 비하여 KJST 투여군에서 유의성 있는 (^{***}: p<0.001) 감소 효과를 나타내었다 (Table 10, Fig. 6)

Table 10. Effect of KJST on the LDH Level in SHR induced hyper-lipidemic diet

Group		Parameter of serum level
		LDH(IU/L)
SHR-C		1044.0 ± 15.1
Hyperlipidemic diet	H-SHR	3448.4 ± 28.4 ⁺⁺⁺
	KJST	2018.4 ± 31.5 ^{***}

Statically significant value compared with SHR-C(⁺⁺⁺: P<0.001) or H-SHR(^{***}: p<0.001) data by T test

Fig. 6. Effect of KJST on the LDH Level in SHR induced hyperlipidemic diet



SHR-C : Normal saline(day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline(day/0.2ml)treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2ml) treated group, Values represent the means ± SD of 5 rats. Statically significant value compared with SHR-C(⁺⁺⁺ P <0.001) or H-SHR(^{***}: p <0.001) data by T test.

8. 高脂血症 유발에 따른 Total bilirubin 변화에 미치는 효과

실험 종료 후 rat의 혈청내의 Total bilirubin을 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)에서는 0.22±0.3 (mg/dL), 실험대조군(H-SHR)은 0.31±1.21(mg/dL), KJST 투여군은 0.23±0.10(mg/dL)으로 나타나 실험군 간의 큰 차이는 보이지 않았다 (Table 11, Fig. 7)

Table 11. Effect of KJST on the Total bilirubin Level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

Group		Parameter of serum level Total bilirubin(mg/dL)
SHR-C		0.22 ± 0.30
Hyperlipidemic diet	H-SHR	0.31 ± 0.12
	KJST	0.23 ± 0.10

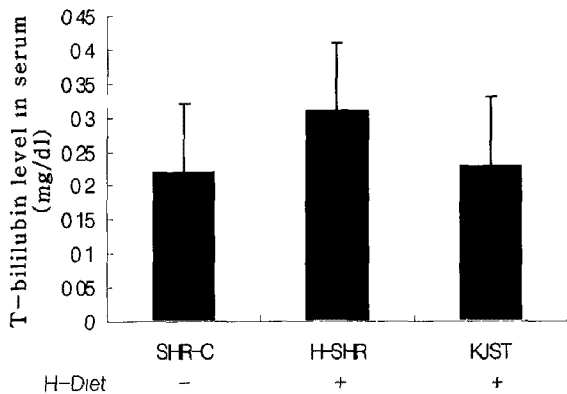


Fig. 7. Effect of KJST on the Total bilirubin Level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

SHR-C : Normal saline(day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline(day/0.2ml)treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2ml) treated group. Values represent the means ± SD of 5 rats.

9. 高脂血症 유발에 따른 Albumin 변화에 미치는 효과

실험 종료 후 rat의 혈청내의 Albumin을 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)에서는 2.90±0.80(g/dL), 실험대조군(H-SHR)은 3.02±1.85(g/dL), KJST 투여군은 2.92±0.98(g/dL)로 나타나 각 실험군 간의 차이는 거의 없었다(Table 12, Fig. 8)

Table 12. Effect of KJST on the Albumin Level in SHR induced hyper lipidemic diet.

Group		Parameter of serum level Albumin(g/dL)
SHR-C		2.90 ± 0.80
Hyperlipidemic diet	H-SHR	3.02 ± 1.85
	KJST	2.92 ± 0.98

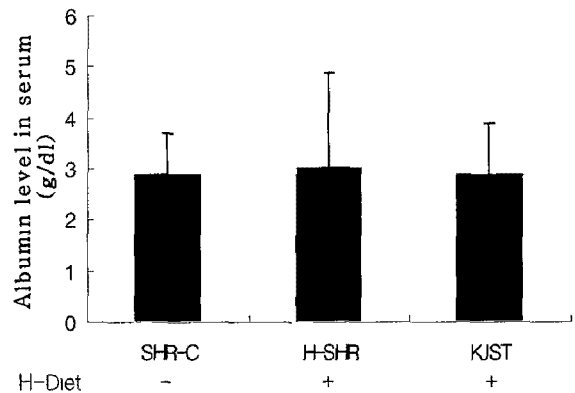


Fig. 8. Effect of KJST on the Albumin Level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

SHR-C : Normal saline(day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline(day/0.2ml)treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2ml) treated group. Values represent the means ± SD of 5 rats.

10. 高脂血症 유발에 따른 Total protein 변화에 미치는 효과

실험 종료 후 rat의 혈청내의 Total protein을 분석한 결과, 일반대조군(SHR-C)은 6.91±3.20(g/dL), 실험대조군(H-SHR)은 8.15±3.47(g/dL), KJST 투여군은 7.14±2.70(g/dL)으로 나타났다(Table

13, Fig. 9).

Table 13. Effect of KJST on the Total protein Level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

Group		Parameter of serum level
		Total protein (g/dL)
SHR-C		6.91 ± 3.20
Hyperlipidemic diet	H-SHR	8.15 ± 0.55
	KJST	7.14 ± 2.70

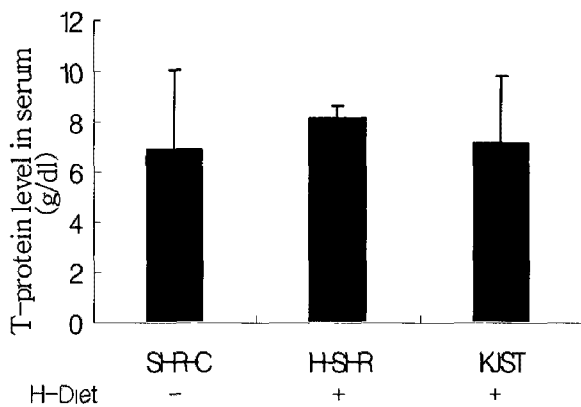


Fig. 9. Effect of KJST on the Total protein level in SHR induced hyper-lipidemic diet.

SHR-C : Normal saline(day/0.2ml) treated group, H-SHR : Hyperlipidemic diet and normal saline(day/0.2ml)treated group, KJST : Hyperlipidemic diet and KJST(22.4mg/day/0.2ml) treated group. Values represent the means ± SD of 5 rats.

IV. 考 察

高脂血症(Hyperlipidemia)은 여러 가지 질병과 관계가 있고, 특히 동맥경화증의 발병과 관계가 매우 깊어 이에 대한 연구들이 오래전부터 진행되어 왔다. 이는 혈액내로 흡수된 지방 즉 중성지방, 콜레스테롤, 인지질, 유리지방산 등이 단백질과 결합하여 물에 용해된 형태의 리보단백으로 되는데, 이 혈청지질이 정상보다 증가하는 것을

말한다. 이러한 상태가 지속되면 지질이 혈관 내측에 쌓여서 동맥경화를 일으키고, 혈액 순환장애를 일으켜 高血壓 동맥경화, 뇌졸중, 허혈성 심장질환 등의 직접적인 원인이 될 수 있다²⁰⁾. 허²¹⁾에 의하면 高血壓 환자나 뇌졸중 환자의 혈중 total cholesterol 등 지질의 함량이 평균치보다 높다는 보고는 이를 말해주고 있다.

본 논문에서 혈청중에 나타난 다양한 고지혈증 지표인 total cholesterol, LDL-cholesterol, glucose, triglyceride, LDH은 일반 대조군(C-SHR)에 비하여 모든 실험 대조군(H-SHR)에서 유의성있는 증가를 나타내고, HDL-cholesterol은 유의성있는 감소를 나타냄으로써, 고혈압 상태에서 고지혈증 발생은 병리적 상승작용으로 인하여 더욱 높은 사망률을 초래할 수 있다는 임상 결과와 부합된다. 이 같은 결론은 이미 문²²⁾의 논문에서 본 논문과 동일한 시료를 사용하여 고혈압과 고지혈을 동시 유발한 후 항고혈압 작용을 검색한 결과, 단순 고혈압 실험군보다 고지혈이 동반된 고혈압 실험군이 상대적으로 혈압 상승률이 높다는 보고에도 잘 나타나 있다.

따라서 본 연구에서는 高血壓과 高脂血症이 동시에 진행되고 있는 환자의 유의성 있는 신규 한방 치료제 개발을 위하여 高血壓 실험 모델인 Spontaneously Hypertensive Rats(SHR)에 고콜레스테롤 食餌 급여를 통하여 高脂血症을 유발시켰다. 본태성 高血壓 모델 白鼠인 SHR은 7~15주령에서 100% 高血壓을 자연적으로 일으키며 10주령에서 수축기의 혈압이 170~200(mmHg)을 유지하여 高血壓 실험에 널리 사용되고 있으며, 고콜레스테롤 식이 급여에 의한 高脂血症 실험 모델로도 널리 사용되고 있다²³⁾. 高血壓 白鼠에 콜레스테롤 식이 급여가 혈압과 혈청지질 등에 미치는 영향과 한약 처방의 효과는 김²⁴⁾, 이 등²⁵⁾의 연구를 통해 이미 입증된 바가 있다.

생체 내 콜레스테롤의 60~70% 이상은 생체 내에서 새롭게 합성이 되고 나머지는 식이에 의해 흡수 된다²⁶⁾. 高脂血症은 생체 내의 cholesterol의 비정상적인 합성과 혈장 내 증가에 의해서 나타남으로 생체 내에서 생산되는 콜레스테롤의 양을

감소시키면 혈장 내의 콜레스테롤의 수치를 낮출 수 있다는 결론에 도달할 수 있다. 생체 내에서는 acetyl CoA를 시작으로 20여가지의 다른 효소 반응을 거쳐서 콜레스테롤이 합성 된다²⁷⁾. 따라서 최근 acetyl CoA에서 콜레스테롤로 합성되는 과정의 어느 단계를 저해해서 콜레스테롤의 수치를 낮추려는 연구들이 행해지고 있다^{26,28)}.

본 연구에서 혈중의 총 콜레스테롤의 함량은 SHR-C 실험군에서 113.0 ± 13.4 (mg/dl), H-SHR 실험군에서 315.0 ± 11.5 (mg/dl), KJST 투여군에서 216.8 ± 18.6 (mg/dl)로 나타나(Table 5, Fig. 1), KJST가 高脂血症의 가장 기본적인 검사 지표인 콜레스테롤을 유의성 있게 억제시킴을 알 수 있다.

생체 내에서 저밀도 지질단백질(low density lipoprotein, LDL)은 간에서 생합성된 콜레스테롤을 간 이외의 세포에 공급하는 역할을 한다. 혈장 내 LDL-콜레스테롤의 증가는 高脂血症과 깊은 관계가 있다. LDL이 동맥벽의 내피에서 산화되어 순환중의 monocytes를 동맥벽으로 유도함으로써 동맥경화를 일으키는데 산화된 LDL은 혈관 내피세포를 동맥벽에 침윤한 monocytes를 macrophages로 분화시킨다 또한 산화된 LDL은 macrophages를 foam cell화하여 혈관에 경화를 가져오며 smooth muscle cell을 분화시켜 세포의 이상 증식을 통해 동맥경화의 원인이 되기도 한다²⁹⁾. 따라서 LDL-콜레스테롤의 수치는 高脂血症의 중요한 지표가 된다. 본 실험에서 혈중의 LDL-콜레스테롤의 함량은 SHR-C 실험군에서 11.0 ± 3.6 (mg/dl), H-SHR 실험군에서 258.0 ± 13.0 (mg/dl), KJST 투여군에서 160.2 ± 14.3 (mg/dl) 나타나, 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(Table 6, Fig. 2).

혈관 내의 콜레스테롤을 제거하는 기능을 가진 고밀도지단백 콜레스테롤(high density lipoprotein, HDL)은 동맥경화를 예방하는 유익한 콜레스테롤이다. 혈관에 부착된 콜레스테롤을 간장으로 운반하여 소화시키게 되는데, 혈액중의 HDL-콜레스테롤의 수치가 높을수록 동맥경화나 심장질환이 될 위험성이 낮은 것으로 보고되고 있다^{28~30)}. 본 실험에서 혈중의 HDL-콜레스테롤의 함량은 SHR-C 실험군에서 55.6 ± 0.1 (mg/dl), H-SHR 실험

군에서 36.5 ± 2.0 (mg/dl), KJST 투여군에서 48.3 ± 3.4 (mg/dl)로 나타나, KJST 투여가 HDL-콜레스테롤의 수치를 有意性 있게($p < 0.001$) 증가 시킴을 알 수 있다(Table 7, Fig. 3). 이 같은 결과는 기존의 결과와 모두 부합됨으로써 KJST가 高脂血症에 有의적으로 활용될 수 있음을 입증하고 있다.

혈중 glucose는 여러 호르몬에 의해 조절되며, glucose의 세포막 투과나 효소계를 촉진하는 인슐린은 혈중 glucoses 농도를 저하시키며, 대사 이상 장애로 高脂血症을 비롯한 고지방 섭취와 비만 등에 의해서 발생되기도 하는 당뇨병에 있어서 glucose의 농도가 상승하는 것으로 알려져 있다^{31,32)}. 본 실험에서 glucoses 함량은 유의성은 없었으나 H-SHR 실험군에 비하여 낮은 수치를 보였다(Table 8, Fig. 4)

Triglyceride는 지방산이 글리세롤과 에스테르 결합한 것으로 에너지원으로 사용되고, 여분의 것은 脂肪조직(皮下脂肪)이나 간에 축적된다. 음식으로 섭취되는 지방의 대부분이 triglyceride로 장관에서 소화 흡수된 혈액 중에서는 카이로마이크론으로 존재한다 또한 간에서 합성된 triglyceride는 단백질과 결합하여 초저밀도지질단백질(very low density lipoprotein, VLDL)으로써 혈중에 방출되는데, 이것은 지질의 운반을 담당한다. 대부분 중성 지방과 콜레스테롤로 이루어진 VLDL은 LDL로 변환되어 혈중에 유리하며 동맥경화를 일으키는 요인으로 작용하고 있는데^{33,34)}, 본 실험에서는 유의성은 나타나지 않았으나, 이 역시 H-SHR 실험군에 비하여 감소 효과를 나타냈다(Table 9, Fig. 5).

Lactic dehydrogenase(LDH)는 lactate와 pyruvate 간의 가역성 산화 반응을 촉매 하는 효소로 탄수화물 대사에 관여하는 모든 장기의 세포내에 여러 가지 분자형태로 함유되어 있다. 그래서 심장이나 간질환이나 혈액 및 신장질환 등 각종 질환에서 그 활성이 상승 된다^{35,36)}. 본 실험에서 LDH 함량은 H-SHR 실험군에 비하여 KJST 투여군에서 유의성 있는($p < 0.001$) 감소 효과를 나타내었다(Table 10, Fig. 6).

혈청 total bilirubin의 상승은 체내 용혈의 향진, 간세포의 bilirubin 처리 과정의 이상에서 나타나는데³⁷⁾, 본 연구에서는 모든 실험군 간에 큰 차이가 나타나지 않았다(Table 11, Fig. 7).

혈청 지질의 주요 성분은 cholesterol, triglyceride 유리지방산 등으로 이루어지고, 유리지방산은 주로 albumin과 결합하나, 그 밖의 지질은 apoprotein과 함께 lipoprotein을 형성하여 혈액 속을 순환 한다³⁸⁾. 따라서 본 연구에서는 albumin 함량과 total protein 함량을 측정하였는데, 모두 H-SHR 실험군에 비하여 KJST 투여군에서 감소하였으나, 유의성은 나타나지 않았다(Table 12, Fig. 8).

이상의 결과로 보아 加味除濕順氣湯이 高血壓과 高脂血症의 주요 인자인 콜레스테롤과 유관인자들의 조절을 통하여 抗高脂血症 작용이 있음이 증명됨으로써, 본 처방이 高脂血症 환자와 콜레스테롤 수치가 높은 高血壓 환자에게서 효과적인 일 것으로 응용될 수 있을 것으로 사료된다

V. 結 論

加味除濕順氣湯이 高脂血症에 미치는 효능을 실험적으로 규명하고자, 동물 병태 모델을 통한 혈액학적 검색을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Human Fibroblast Cell에 대한 세포독성은 加味除濕順氣湯 250 μ g/ml 이하의 농도에서 90% 이상의 생존율을 나타내었다
2. 高脂血症 유발에 따른 total cholesterol 변화는 加味除濕順氣湯 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다.
3. 高脂血症 유발에 따른 LDL cholesterol 변화는 加味除濕順氣湯 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다.
4. 高脂血症 유발에 따른 HDL cholesterol 변화

는 加味除濕順氣湯 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다.

5. 高脂血症 유발에 따른 glucose 변화는 加味除濕順氣湯 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다.
6. 高脂血症 유발에 따른 triglyceride 변화는 加味除濕順氣湯 투여군에서 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다.
7. 高脂血症 유발에 따른 LDH의 변화는 加味除濕順氣湯 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다.
8. 高脂血症 유발에 따른 albumin, total bilirubin, total protein 변화는 加味除濕順氣湯 투여군에서 대조군과 비슷한 수치를 나타내었다

이상의 기본적인 결과로 보아 임상에서 활용되는 加味除濕順氣湯의 항고지혈 작용이 실험적으로 검증되어, 보다 효과적인 처방 개발을 위한 기초적 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

參 考 文 獻

1. Lee, YC, (1991) Hypercholesterolemia In Korea and nutritional factors. Korea Soc. Lipidol. atherosc. 1(1), 111~122.
2. Spady, DK, Woollett, L A (1993) Regulation of plasma LDL-cholesterol level by dietary cholesterol and fatty acids Annu. Rev. Nutr. 13, 355~381.
3. Sanders, TA Oakley, FR Miller, GJ. Mitropoulos, KA (1997) Influence of n-6 versus n-3 polyunsaturated fatty acids in diets low in saturated fatty acids on plasma lipoproteins and hemostatic factors. Arterioscler Thromb. Vasc. Biol. 17(12),

- 3449~60.
4. Judd, JT. BAER, DJ. Clevidence, BA. Muesing, RA. Chen, SC. Weststrate, JA. Mejer, GW. Wittes, J. Lichtenstein, AH. Vilella-Bach, M (1998) Effects of margarine compared with those of butter on blood lipid profiles related to cardiovascular disease risk factors in normolipemic adults fed controlled diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(4), 768~777.
 5. Law, MR, (1994) By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ* 308, 367~372.
 6. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. (1994) Randomised trial of cholesterol lowering in 444 patients with coronary heart disease. *Lancet* 344, 1383~9.
 7. Hong, SH. Chai, HY. Kim, TM. (2005) Therapeutic effects of mulberry root-bark ethanol extract on atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Lab. Anim. Res.* 21, 273~9.
 8. 김주곤, 서부일, 최선미 (2005) 한인진호탕(韓茵蔞蒿湯)이 알코올 투여로 유발된 흰쥐의 고血壓과 간 손상의 예방에 미치는 영향 대한 본초학회지.
 9. 이원구, 이용구, 남궁옥, 김동희 (2004) 청신도담탕(淸神導痰湯)이 식이성(食餌性) 고지혈증 동물 병태에 미치는 영향 대전대학교 한의학연구소 논문집.
 10. 이기서, 강탁림, 남궁옥, 김동희(2004) 순기활혈탕(順氣活血湯)이 고지혈증(高脂血症)에 미치는 영향 대전대학교 한의학연구소 논문집.
 11. 김종원 (2006) 加味防風通聖散이 고cholesterol 식이 白鼠의 高血壓에 미치는 영향 석사논문.
 12. 문형권 (2006) 加味除濕順氣湯이 高血壓에 미치는 영향. 석사논문.
 13. 박원환, 최달영, 문준전, 윤상주 (1993) 담음에 (痰飲) 응용되는 소주중탕이 (小調中湯) 고지혈증에 (高脂血症) 미치는 영향. 동의병리학회지.
 14. 홍천일, 이철원, 배형섭 : 담음에 대한 문헌적 고찰. 대한한방내과학회지 9. 1980.
 15. 권석용 · 석창포가 혈압 및 국소 뇌혈류량에 미치는 영향, 동신대학교 대학원 석사학위논문, 1999.
 16. 권형수, 오용성, 장우석, 이소연, 박치상, 박창국 (2003) 白鼠의 國部 뇌경색에 대한 조구등의 신경보호 효과. 내과학회지 24(2) 181~189.
 17. 강상렬, 강승준, 금현수, 전연이, 이은주, 박치상, 박창국, 허진화, 양재하, 조정숙, 김영호 (2002) 조구등이 뇌허혈을 유발시킨 白鼠에서의 뇌신경보호효과 대한한학회지 23(1) 1~10.
 18. 조현모 : 희침이 혈압과 혈당에 미치는 영향, 대전대학교 대학원 석사학위논문, 1998.
 19. 김호철, 안덕균, 이상인 : 생희침과 주증희침 추출물이 자발성高血壓흰쥐의 항高血壓작용에 미치는 영향. 대한본초학회지 1998.
 20. Papadakis JA, Ganotakis ES, Jagroop IA, Mikhailidis DP, Winder AF.(1999)Effect of hypertension and its treatment on lipid, lipoprotein(a), fibrinogen, and bilirubin levels in patients referred for dyslipidemia. *Am J Hypertens.* 12(7):673~81
 21. 하일 (2001) 침등산이 자발성 高血壓쥐의 혈압 및 혈청에 미치는 영향 경희대학교 대학원
 21. 문형권 (2006) 가미제습순기탕이 고혈압에 미치는 영향 대전대학교 대학원 석사논문.
 23. Okamoto, K(1969). Spontaneous hypertension in rats. *Int. Rev. Exp. Pathol.* 7: 227~270,
 24. 김종원(2005). 加味防風通聖散이 고cholesterol 식이 白鼠의 高血壓에 미치는 영향. 석사논문.
 25. 이정수, 김정탁. (1997) 시령탕이 高血壓 및 高脂血症에 미치는 영향. 대전대 한의학연구소 논문집 5(2), 319~332.

26. Dietschy, JM and Wilson, JD. (1970) Regulation of cholesterol metabolism N. 투히 J. Med 282, 1179~1183.
27. Matthews CK van Holde, KE and Ahem, KG (2000) Biosynthesis of cholesterol, In Biochemistry 688~691.
28. 김한수 (2004) 백하수오 추출액이 高脂血症 및 Streptozotocin 유발 당뇨병 흰쥐의 혈청 지질성분 및 효소활성에 미치는 영향. 한국가정과학회지 7(2), 1~11.
29. Christopher, KG and Joseph, IW (2001) Atherosclerosis: The road ahead. Cell 104, 503~516.
30. 정태숙, 현병화, 이철호, 최양규, 박영배, 최명숙, 박용복, 배기환, 복성해(2000)Oxidative stress of lipid and HDL metabolism ; Citrus Bioflavonoids 를 이용한 高脂血症 및 동맥경화증의 예방 및 치료에 관한 연구. 한국지질동맥경화학회지, 10(1), 89~93.
31. Junyent M, Cofan M, Nunez I, Gilabert R, Zambon D, Ros E. (2006) Influence of HDL Cholesterol on Preclinical Carotid Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 26(5), 1107~13.
32. Arafa HM (2005)Curcumin attenuates diet-induced hypercholesterolemia in rats. Med Sci Monit. Jul;11(7):BR228~234.
33. 정은아. 김윤경. 김남재. 김동현. 이상인. 가미과루해백황금당의 항고지혈증 효과. 응용약물학회지. 9, 104~111.
34. Kjørholt C, Akerfeldt MC, Biden TJ, Laybutt DR. (2005) Chronic hyperglycemia, independent of plasma lipid levels, is sufficient for the loss of beta-cell differentiation and secretory function in the db/db mouse model of diabetes. Diabetes. 54(9):2755~63.
35. 강준권, 문상권, 고창남, 김영석, 배형섭, 이경섭 (1997) 高血壓 및 高脂血症에 대한 천마환의 실험적 연구. 경희의학 13(2) 202~216.
36. Stewart MW, Dyer RG, Alberti KGMM, Laker MF (1995) The effects of lipid lowering on metabolic control and lipoprotein composition in type 2 diabetic patients with mild hyperlipidemia. Diabetic Med 12, 250~257.
37. 홍진이. 윤수홍 (2004) 질환별 혈청 Lactate dehydrogenase Isoenzyme pattern에 관한 연구. J. Korean Soc. Hygienic Sciences 10(1), 43~54
38. 구광호, 이상병, 이기항, 유수호, 김종숙 (1976) 각종 질환에서의 혈청 LDH 및 LDH Isoenzyme에 관한 연구. 대한내과학회지 19(7), 593~599.