한국전자현미경학회지 제 36 권 제 4 호 2006
Korean J. Electron Microscopy 36(4), 279~289(2006)

척중 및 태백의 침자가 Streptozotocin(STZ)으로 유발된 고혈당 생쥐에 미치는 영향

박 현 정, 김 정 상*
동신대학교 한의과대학

Effects of SP3 and GV6 Acupuncture on the STZ-treated Rats for Induction of Diabetes

Hyun Jeong Park and Jeong Sang Kim*
College of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju 520-714, Korea
(Received November 29, 2006; Accepted December 21, 2006)

ABSTRACT

This study has been carried out to understand the effect of SP3 and GV6 acupuncture on the hyperglycemic rat induced with Streptozotocin (STZ).

Diabetes was induced in experimental groups by intraperitoneal injection of STZ (50 mg/kg of body weight) twice by 24 h interval and the additional 100 mg/kg 3 days after the earlier treatment. Control group was treated with tail-non acupoint, and experimental groups were treated SP3, GV6 and SP3+GV6 after hyperglycemic induction for 6 weeks.

The body weight of control was lower than the experimental groups. The blood glucose was decreased significantly in the experimental groups. Glucose tolerance in acupuncture treated groups was improved. Blood cholesterol level and transaminase activites were lower in the experimental groups than in the control. In the SP3 or GV6 treated rats, hepatocyte degeneration were apparently decreased and the organelles were properly arranged. Furthermore, decrease in liver IGF-I mRNA expression was improved by the acupuncture in STZ-induced diabetic rats.

In conclusion, our observation indicate that SP3 or GV6 acupoints treatment can exert beneficial effects in diabetes, with preservation of β-cell function and liver function.

Keywords : Acupuncture, Diabete, GV6, Rat, SP3, STZ

서 론

당뇨병은 인슐린의 분비부족이나 인슐린의 작용 저하로 유발되는 고혈당 및 이에 수반되는 대사 장애가 장기간 지속되는 질환으로 췌장 β-세포의 선택적 파괴로 인한 절대적 인슐린 부족을 나타내는 인슐린 의존성 당뇨병(제I형)과 인슐린의 상대적 결핍으로 인한

* Correspondence should be addressed to Jeong Sang Kim, College of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju 520-714, Korea. Ph.: (061) 330-3512, FAX: (061) 330-3499, E-mail: jskim@dsu.ac.kr

인슐린 비의존성 당뇨병(제II형)으로 분류된다(Min, 1990). 당뇨병은 췌장의 β-세포에서 생산된 인슐린의 분비와 반응의 변화에 의해서 발생되는 대사질환으로 당대사(John et al., 1972), 비만(Jung et al., 2000), 지질대사(Lijun et al., 2002)의 이상으로 초래된 중성지방의 이상축적이나 고지혈증 등이 원인으로 동맥경화, 관상동맥질환, 졸중과 말초혈관성질환 등을 포함한 많은 혈관성질환(Wolf et al., 1983)의 합병증을 유발한다. 최근에는 당뇨병 환자에서 간암의 발생확률이 비교적 높은 것으로 보고되고 있다(La et al., 1994).

일찍이 한의학의 문헌상에 당뇨병은 消渴의 범주에 해당되어 外感, 飮食不節, 藥物服用, 飮酒, 精神過度, 勞役, 體虛, 失血 등으로 津液이 손상된 경우 陰盡虧損하여 燥熱內生하므로 발생한다고 보았다.

척중혈(GV6)은 독맥경의 경혈이며, 제11등뼈 아래에 위치하는 혈이다. 태백혈(SP3)은 족태음비경의 원혈이며, 유토혈로 취혈은 첫째발 허리뼈 내측 바닥 쪽에 위치하는 혈이다(Wang, 2004).

최근 실험적 당뇨에 대한 침 시술의 효과에 관한 연구로는 대포혈(SP21)에 대한 자극이 혈당을 조절한다고 보고하였으며(Park et al., 2002), 여러 가지 생약을 투여해 혈당을 감소시키는 효과가 있다는 연구는 수년간 보고되고 있으나 침 시술을 통해 혈당의 조절 및 간 기능에 미치는 영향에 관한 연구는 아직 없었다.

본 연구에서는 임상적으로 당뇨병 치료에 자주 사용되고 있는 경혈 중 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)을 실험적으로 유발된 당뇨흰쥐에 자극하여 체중, 혈당량 변화, 당내성변화, 간효소치 활성도, 지질대사에 미치는 영향을 관찰하였다. 또한 간세포에서 IGF-ImRNA 유전자 발현변화와 조직학적 관찰 및 전자현미경을 통해 간세포재생에 관해 관찰하였다.

이에 저자는 임상에서 당뇨병 치료에 많이 활용하고 있는 태백혈과 척중혈에 대한 자극이 당뇨 치료 효능과 간 기능 보호 효과에 관여함을 관찰한 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 당뇨 유발

동물은 체중 200±5 g 내외의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐(Daehan Lab. Korea)를 사용하였다. 흰쥐를 항온항습 및 주야조절(주간 14시간, 야간 10시간)이 가능한 사육장에서 고형사료(Samyang Co. Korea)와 물을 충분히 자유급식하면서 실험실 환경(실내온도 25±1°C, 습도 55±5%, 12시간 dark/light)에 1주일간 적응시킨 후 사용하였다. 12시간 동안 절식시킨 다음 Streptozotocin (이하 STZ, Sigma, ST. Louis, MO., USA)을 10 mM citrate buffer에 녹여 pH를 4.5에 맞추었고, 50 mg/kg을 24시간 간격으로 2회 투여한 다음 3일 후에 100 mg/kg을 복강 투여하여 고혈당 흰쥐 모델을 구축하였다.

2. 침 치료 방법

1회용 호침(0.25×40 mm, steinless steel, 동방침구제작소)을 사용하여 1일 1회 인체의 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)에 상응하는 부위에 일주일에 2회 6주간 시술하였다. 정확한 시술부위는 실험동물의 체적이 여타 동물에 비해 작아 척중혈(GV6)은 제11흉추하에서, 태백혈(SP3)은 제1중족골의 원위부 하연부로 정하였다. 침 시술은 흰쥐의 피부로부터 10 mm 직경 내외의 깊

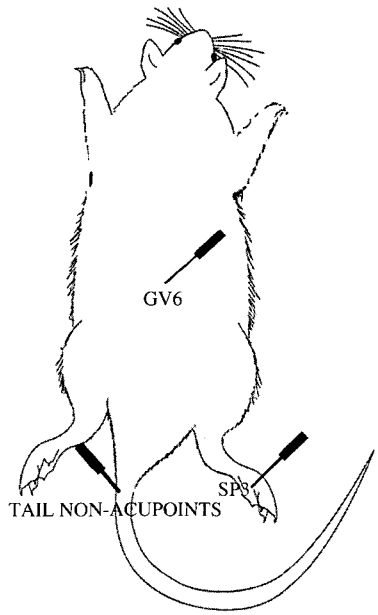

Fig. 1. Schematic localization of acupuncture points stimulated in diabetic rat.

이로 자입하여 3분간 유침하였다(Fig. 1).

3. 실험군 분류

실험군은 당뇨병을 유도한 대조군, 당뇨병 유도 후 척중혈(GV6)만을 자극한 군, 당뇨병 유도 후 태백혈(SP3)만을 자극한 군, 당뇨병 유도 후 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)을 동시에 자극한 군으로 나누었으며, 각 군에 7마리씩 배정하였다.

4. 체중 측정

각 군의 체중은 침 시술 후 매주 6주간 측정하였다.

5. 혈당 및 당내성 측정

혈당은 12시간 동안 절식 후 실험 동물의 꼬리부분에서 정맥혈을 채집하여 Glucometer (LIFESCAN, USA)로 측정하였고, 6주 동안 매주 1회에 걸쳐 측정하였다. 당 내성은 12시간 절식 후 glucose (1.0 g/kg body weight)를 복강내 주사하고 30, 60, 90, 120분에 각각 혈액을 채집하여 측정하였다. 혈당 농도는 당산화 기법에 따라 당분석기(MS-GR101; Terumo, Tokyo)로 측정하였다.

6. 채혈 및 혈청 지질함량 측정

희생하기 12시간 전에 절식한 흰쥐를 혈청 검사를 위하여 심장 채혈을 실시한 다음 EDTA로 응고를 방지하고, 상온에서 30분 방치한 후 3,000 rpm에서 15분 원심분리 하였다. 혈장성분은 별도로 준비한 깨끗한 용기에 분리 보관하였다. Total cholesterol은 혈장에서 Boehringer Mannheim Cholesterol/HP system pack (Boehringer Mannheim Diagnostic laboratory Systems, Indianapolis, IN)과 Boehringer Mannheim Hitachi 911 Analyzer를 이용하여 측정하였다. HDL-cholesterol은 혈장에서 phosphotungstic acid/magnesium chloride 침전법으로 침전된 LDL-cholesterol과 VLDL-cholesterol로부터 얻었으며, HDL-Cholesterol system pack (Boehringer Mannheim Diagnostic laboratory Systems)의 방법을 따랐다. Triglyceride와 fatty acid는 200 μL의 혈장성분을 500 μL의 침전시약과 혼합한 뒤, 배양실에서 10~30분간 배양한 뒤 원심분리여 Boehringer Mannheim triglyceride, free fatty acid kit (Boehringer Mannheim Diagnostic laboratory Systems, Indianapolis, IN)로 조사하였다.

7. Transaminase (GOT & GPT) 활성도 측정

심장 천자하여 채혈한 후 혈청을 분리한 다음 glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT)와 glutamic-pyruvic transaminase (GPT) 효소활성도 측정용 kit 시약(Elitech, France)을 사용하여 340 nm에서 photometer (photometer 5010, Germany)로 측정하였다.

8. 광학현미경 관찰

흰쥐의 간 조직을 적출한 다음 10%의 포르말린을 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, 30, 50, 70, 80, 90, 95, 100 I, 100 II와 같이 알코올 농도를 상승시켜 탈수를 한 다음 xylene으로 투명화 과정을 거친 후 paraffin으로 포매 하였다. 포매된 조직은 microtome을 사용하여 5 μm 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100, 90, 80% ethanol과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수과정을 거치게 하였다. Hematoxylin과 Eosin으로 이중염색을 한 다음 탈수를 하였다. Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경 (Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

9. 간세포의 역전사 중합반응 (RT-PCR) 분석

흰쥐 간조직을 파쇄하고 TRI-zol (Sigma, USA)를 이용하여 RNA를 추출한 뒤, 75 mM KCl, 50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 6 mM $MgCl_2$, 10 mM DTT, 각각 0.6 mM의 dATP, dTTP, dGTP, dCTP mixture, 10 U of RNase inhibitor (Promega Corp, Madison, WI), 100 pmol random hexmer, 600 U의 M-MLV reverse transcriptase (Life Technologies, Inc., Berlin, Germany)과 3 μg of RNA를 역전사하여 cDNA를 합성하고 94°C에서 30 sec, 65°C에서 30 sec, 72°C에서 60 sec, 72°C에서 5 min 30 cycles로 역전사중합효소반응을 시켰다. 인슐린

성장인자 oligo-nucleotide primer는 Bionia (Daechun, Korea)에서 구입하였으며 Sequences는 IGF-I (5′-CACAGGGTATGGCTC-3′, antisense: 5′-CTTCTGG-GTCTTGGG-3′)이다. Internal control로서 GAPDH의 Sequences는 5′-TGCATCCTGCACCACCAACT-3′, 5′-CGCCTGCTTCACCACCTTC-3′)이며 562-bp fragment의 product를 얻었다. 증폭된 fragments는 1.5% agarose gel electrophoresis하여 확인하였다.

10. 간세포의 전자현미경 관찰

간조직의 일부를 절취하여 전고정액 속에서 1 mm^3 크기로 세절한 후 2.5% glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.4)로 2시간 동안 전고정하였다. 전고정이 끝난 조직은 동일 완충액을 사용 10분 간격으로 3회 세척한 후 1% osmium tetroxide (OsO_4)로 2시간 후고정 한 다음 동일 완충액으로 3회 세척하였다. 세척 후 시료들은 상승농도 순의 에탄올로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 Epon-Araldite 혼합액으로 포매하였고 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 60 nm 두께로 초박절편을 제작하여 silver grid에 부착하였고, uranyle acetate와 lead citrate로 이중 염색한 다음 Hitachi H-7600 투과형 전자현미경 (80 kV)으로 관찰하였다.

11. 통계처리

실험 성적은 평균±표준오차 (mean±S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군들 사이의 통계적 유의성 검정을 위하여 one-way ANOVA를 실시한 뒤 P-value값이 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 체중 변화

당뇨병 유발 후 6주 동안 대조군과 각 처치군의 체중변화는 다음과 같았다 (Fig. 2). 대조군은 유발 직후에서 2주후 217±12.1 g으로 10 g 이상 감소하였다가 4주부터 증가하여 유발 전의 체중을 나타내었다. SP3군과 SP3+GV6군은 당뇨병을 유발한 직후부터 점차 증가하여 SP3군은 232±3.4 g에서 247±21.2 g로 SP3+GV6군은 232±7.0 g에서 242±15.8 g로 증가하였다. GV6군은 당뇨병 유발직후 큰폭으로 증가하여 다른 군에 비해 유의하게 체중이 증가하였다.

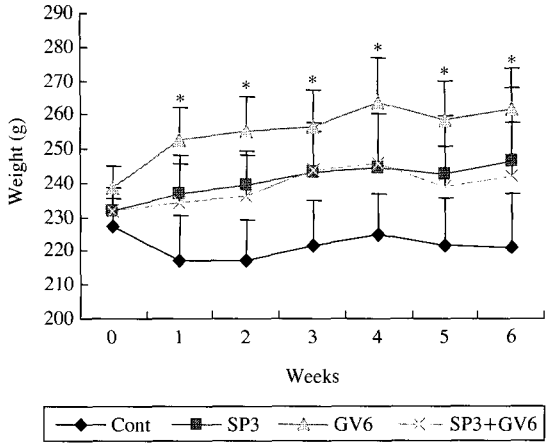

Fig. 2. The changes of body weight. Rats were treated with streptozotocin and acupuncture was treated twice a week to diabetic rats for 6 weeks. The groups were divided untreated (cont), acupuncture with SP3, acupuncture with GV6, acupuncture with SP3 plus GV6 supplementation. Data are mean±SEM, where n=7 from two independently performed experiments. * : statistically significant as compared with control group ($P<0.05$).

2. 혈당량의 변화

STZ를 투여한 다음 흰쥐의 혈당량이 약 113 mg/dL인 것을 대조군과 실험군으로 구분하였다. 대조군의 혈당량은 유발 후 급격히 증가하여 3주에 가장 높은 수치를 나타내었고, 6주까지 실험군에 비하여 높은 혈당을 유지하였다. SP3군은 당뇨병 유발 후 혈당이 193±28.5 mg/dL에서 점차 증가하여 2주에 359±78.7 mg/dL로 나타났으며, 이후 6주까지 큰 변화가 없었고, GV6군은 당뇨병 유발 후 혈당이 192±34.3 mg/dL에서 1주부터 서서히 증가되어 2주에 262±103.0 mg/dL,

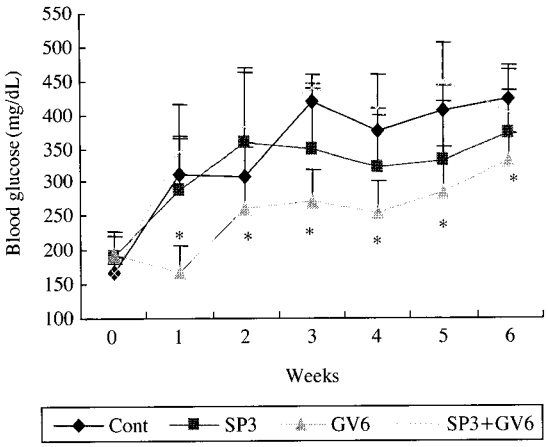

Fig. 3. Blood glucose levels in diabetic rats. Rats were treated with streptozotocin and acupuncture was treated twice a week to diabetic rats for 6 weeks. Other legends are the same as Fig. 2.

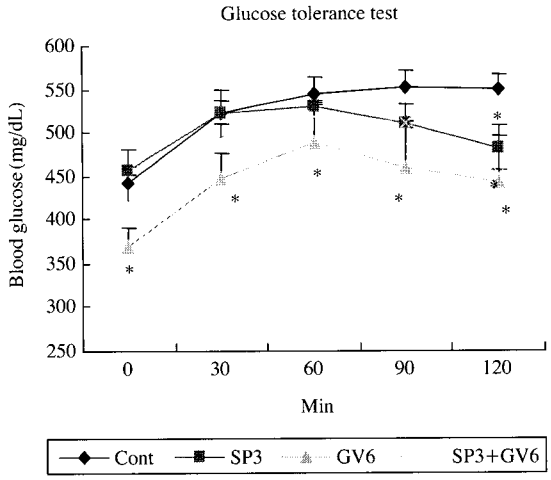

Fig. 4. Glucose tolerance in streptozotocin-induced diabetic rats treated with acupuncture. Intraperitoneal glucose tolerance tests were performed in diabetic rats in each group at 6 weeks. After an overnight fast, glucose was injected intraperitoneally at a dose of 1 g/kg, and blood glucose level was measured. The groups were divided untreated, acupuncture with SP3, acupuncture with GV6, acupuncture with SP3 plus GV6 supplementation. Data are mean±SEM, where n=7 from two independently performed experiments.

4주에 254±55.6 mg/dL, 6주에 333±45.9 mg/dL로 대조군에 비해 유의하게 감소되었다. SP3+GV6군은 당뇨병 유발 후 혈당이 166±25.1 mg/dL에서 2주 382±100.4 mg/dL, 4주 409±59.8 mg/dL, 6주 404±75.5 mg/dL로 대조군에 비해 감소되었으나 유의하지 않았다(Fig. 3).

3. 당내성 검사

STZ를 투여하여 췌장의 Langerhan's islet을 파괴한 흰쥐에 GV6와 SP3을 6주 동안 자극한 다음 β-세포의 재생 또는 기능의 회복 정도를 밝히기 위하여 당내성 검사를 시행하였다. 포도당(1.0 g/kg body weight)을 흰쥐에 복강주사 한 후 30, 60, 90, 120분에서 대조군과 각 실험군의 당내성 정도를 검사한 결과 다음과 같았다(Fig. 4). 대조군에서는 투여 90분 후에 혈당이 550±21.2 mg/dL로 가장 높게 나타났고, 120분 후에도 548±17.7 mg/dL로 높은 혈당치를 나타냈다. SP3군은 투여 60분 후에 530±7.9 mg/dL로 가장 높았고, 120분후에 482±18.0 mg/dL로 유의하게 감소하였고, GV6군은 전 시간에 걸쳐 측정한 혈당치가 유의하게 낮았다. SP3+GV6군은 투여 60분 후에 518±16.3 mg/dL로 가장 높았고, 투여 120분 후에 451±6.9 mg/dL로 유의하게 낮게 측정되었다.

4. 혈청 Cholesterol, HDL-cholesterol, Triglyceride, Free fatty acid 함량 변화

STZ 유발 당뇨병 흰쥐의 혈청을 분석하여 혈청 Cholesterol, HDL-cholesterol, Triglyceride, Free fatty acid의 함량을 알아보았다(Table 1). 혈청 cholesterol은 정상군과 대조군의 차이가 뚜렷하지 않았으며, SP3+GV6군에서 67±2.9 mg/dL로 유의하게 감소하였다. HDL-cholesterol은 대조군이 26±3.0 mg/dL로 정상군에 비해 크게 감소하였으며, 각 실험군의 수치도 대조군과 비슷한 수준으로 유지가 되었다. Triglyceride는 대조군이 104±9.4 mg/dL로 정상군에 비해 감소하였으며, 각 실험군은 대조군 보다 더 감소된 것으로 나타났으나 유의하지는 않았다. Free fatty acid는 대조군이 966±121 μEq/L로 정상군에 비해 크게 증가하였으며, SP3군은 851±77 μEq/L, GV6군은 926±76 μEq/L, SP3+GV6군은 892±12.2 μEq/L로 대조군에 비해 다소 감소되는 경향이 있었으나 유의하지는 않았다.

Table 1. Mean levels of serum cholesterol, HDL cholesterol, triglyceride and free fatty acid for all groups

Lipids	Normal	Cont	SP3	GV6	SP3+GV6
TC (mg/dL)	94±10.6	96±4.5	69±19.0	79±8.3	67±2.9**
HDL-C (mg/dL)	64±10.1*	26±3.0	33±1.3	27±4.5	33±1.6
TG (mg/dL)	193±9.9	104±9.4	89±12.9	70±8.0	64.5±0.8
Free FA (μEq/L)	393±158.2*	966±121.2	851±77.1	926±76.2	892±12.2

Other legends are the same as Fig. 2.

TC means Total cholesterol (mg/dL), HDL-C means High density lipid cholesterol (mg/dL), TG means Triglyceride (mg/dL), Free FA means Free fatty acid (μEq/L).

* : statistically significant as compared with control group ($P<0.05$).

** : statistically significant as compared with control group ($P<0.01$).

Table 2. Mean Levels of GOT and GPT of Serum for all groups

Groups	Normal	Cont	SP3	GV6	SP3+GV6
GOT (U/L)	146±9	270±41	227±54	153±24*	204±14
GPT (U/L)	126±12	98±44	119±21	104±10	100±13

Other legends are the same as Fig. 2.

* : statistically significant as compared with control group ($P<0.05$).

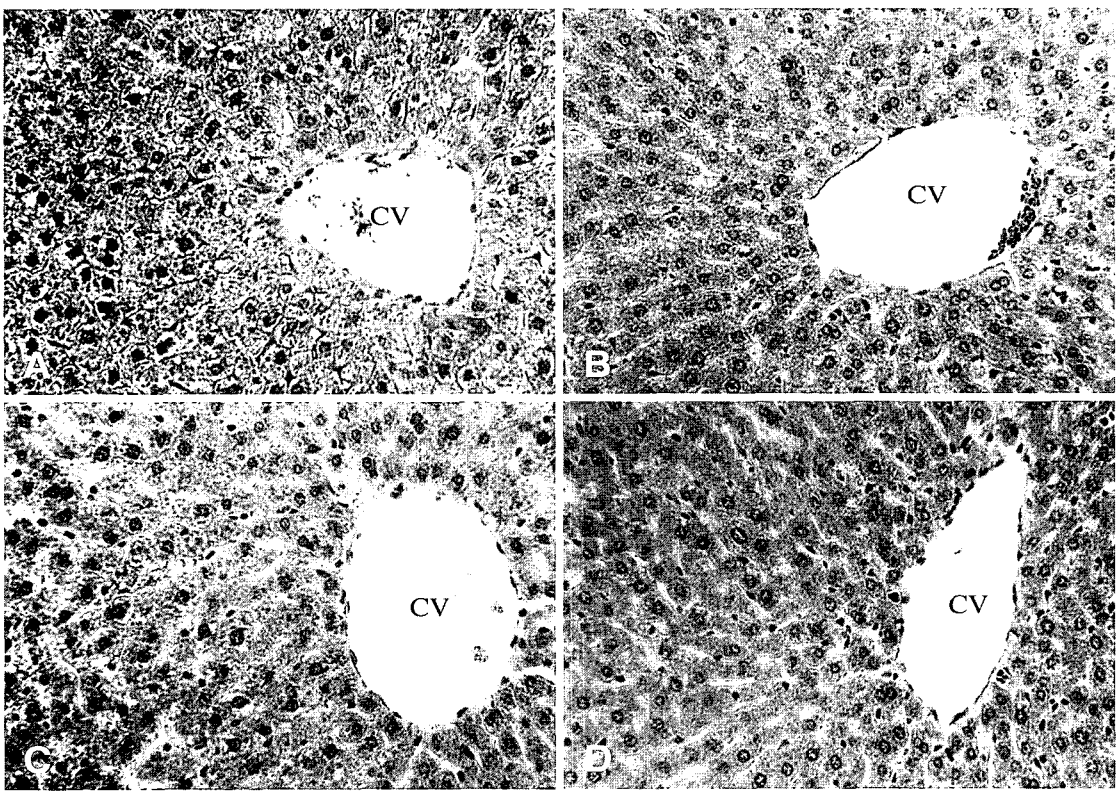

Fig. 5. Light micrographs of liver from the 6 weeks rat administered with STZ. Light micrographs showing control (A), SP3 (B), GV6 (C), and SP3+GV6 (D)acupuncture groups. CV, Central vein. Hematoxylin-Eosin stain. Original magnification ×200.

5. Transaminase 활성도 측정

STZ를 투여하여 고혈당을 유발시킨 흰쥐에서 GV6과 SP3의 침 시술이 간장에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈액학적 검사를 통해 GOT와 GPT의 수치를 조사해 보았다(Table 2). GOT는 정상군에 비하여 대조군에서 270±41 U/L로 증가되었으나, SP3군은 227±54 U/L, GV6는 153±24 U/L, SP3+GV6은 204±14 U/L로 GV6군으로 정상군과 유사한 수치까지 감소하였다. GPT는 대조군에서 98±44.9 U/L로 정상군에 비해 감소되었으며, SP3군은 119±21.1 U/L, GV6군은 104±10.4 U/L, SP3+GV6군은 100±13.2 U/L로 대조군에 비해 상승하였으나 유의하지는 않았다.

6. 간의 조직학적 관찰

고혈당이 유발된 대조군 흰쥐의 간조직의 중심정맥은 정상적인 형태로 관찰되었다. 중심정맥으로 방사형으로 연결된 동모양혈관의 구조가 매우 불규칙하고 뚜렷하지 않았다. 다수의 간세포에서 핵은 매우 응축되어 있고 세포질은 손상되어 eosin에 염색성을 보이지 않았다(Fig. 5A). SP3군의 간 조직에서 중심정맥은 타원형으로 뚜렷이 관찰되었으며, 중심정맥의 상피세포의 형태 또한 또렷이 관찰되었다. 동모양혈관들은 중심정맥을 축으로 방사형으로 뚜렷이 나타났다. 간세포는 대부분 하나의 핵을 갖고 있었는데 드물게 2개의 핵을 갖는 세포들도 있었다. 간세포의 핵들은 정상적인 소견을 보여 주었으며, 세포질 또한 eosin에 강한 염색성을 보여주는 정상적인 간세포의 소견을 나타냈다(Fig. 5B). GV6군의 간조직은 중심정맥이 원형으로 관찰되었으며 상피세포가 뚜렷이 관찰되었다. 동모양혈관의 구조는 다소 손상된 소견을 보여 주었다. 간세포의 핵은 대부분 정상적이었으나, 세포질의 손상은 다소 의심스러웠다(Fig. 5C). SP3+GV6군의 중심정맥은 횡타원형으로 관찰되었으며 상피세포의 일부분의 손상이 의심스러웠다. 간세포는 대부분 핵의 형태가 뚜렷하고, 세포질의 염색성이 강한 호산성으로 나타났다. 동모양혈관의 구조 또한 정상적인 소견을 보여주었다(Fig. 5D).

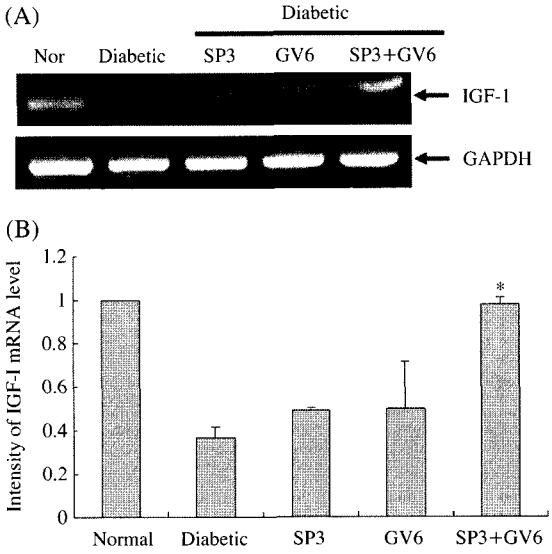

Fig. 6. Effect of acupuncture on diabetes-induced alteration of insulin-like growth factor (IGF)-I mRNA by reversetranscription polymerase chain reaction (RT-PCR) in liver (A) in rat. Rats were treated with streptozotocin and acupuncture was administered twice a week to diabetic rats for 4weeks. Panel (B) represents relative mRNA density compared to normal. The data are expressed as a ratio of basal value and are the 3 experiments.

7. 간에서 침자에 의한 IGF-I 유전자 발현 변화

정상 흰쥐의 간에서 발현되는 IGF-I mRNA 발현이 당뇨유발 후 침자에 의해 조절되는지 보고자 역전사 중합효소연쇄반응을 실시하였다. STZ 당뇨유발군인 대조군은 정상군에 비해 60% 정도 감소되었으며 SP3군과 GV6군은 50% 정도 감소된 양상으로 발현이 증가되었고, SP3+GV6군은 정상군과 동일한 수준까지 유의하게 IGF-I mRNA 발현이 증가되었다($P<0.05$) (Fig. 6).

8. 간세포의 전자현미경관찰

STZ를 투여하여 당뇨병이 유발된 흰쥐의 간세포를 전자현미경으로 관찰한 결과 다음과 같았다(Fig. 7). 대조군 간세포의 핵질의 발달이 미약하여 전자밀도가 매우 낮게 관찰되었다. 세포질에서는 다수의 사립체가 둥글게 관찰되었는데 다소 응축되어 있었으며, cristae

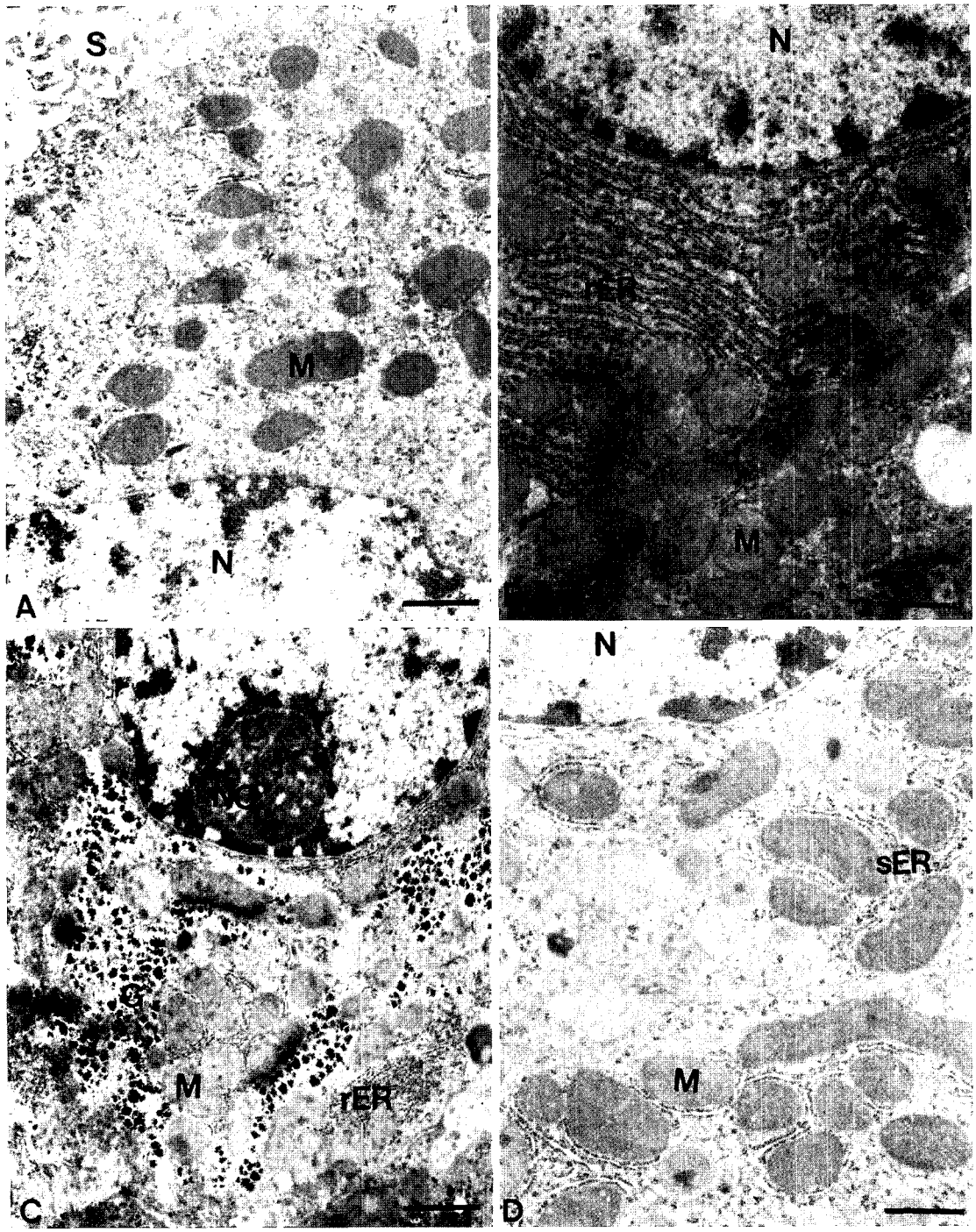

Fig. 7. Electron micrograph of hepatocyte from the STZ-induced diabetic rats treated with acupuncture. (A) untreated streptozotocin -diabetic rats (B) SP3 treated streptozotocin-diabetic rats (C) GV6 treated streptozotocin-diabetic rats (D) SP3+GV6 treated streptozotocin-diabetic rats for 6 weeks. N, nucleus; No, nucleolus; M, mitochondria; G, glycogen; rER, rough endoplasmic reticulum; sER, smooth endoplasmic reticulum;S, sinusoid; Bar=1 μm.

는 관찰되지 않았다. 핵 주변에서 관찰되는 조면소포체의 발달은 매우 미약하였으며, 전반적인 간세포 소기관의 발달은 미약하고 다소 손상되어 있는 소견을 보여주었다(Fig. 7A). SP3군의 핵은 핵막이 둥글고 핵질이 발달하였으며, 핵 속에서 커다란 핵소체(nucleolus)가 관찰되었다. 세포질에서는 구형 또는 난원형의 사립체들이 다수 관찰되었는데 cristae의 형태는 미약하나마 보였다. 조면소포체의 층판구조 발달은 뚜렷하고 세포질에서는 수많은 전이소낭 소포들이 관찰되었다. 두 간세포 사이에서는 담세관이 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 7B). GV6군은 핵안의 인이 발달해 있으며, 다수의 글리코겐이 관찰되었다. 수많은 미토콘드리아가 발달 되어 오히려 비대해져 보였다(Fig. 7C). SP3+GV6군의 간세포의 핵은 핵막이 둥글고 핵질이 발달해 있었으며, 핵소체가 뚜렷이 관찰되었다. 세포질에서는 다수의 mitochondria들이 관찰되었으며 cristae의 형태도 자세히 관찰되었다. 사립체 주변 세포질에서는 조면소포체들과 수많은 전이소낭들이 관찰되었다(Fig. 7D).

고 찰

당뇨병에 대한 기존 치료법이 확립되어 있음에도 기존 약물이 여러 가지 부작용을 가지고 있으며, 작용효과 또한 만족스럽지 못하여 한약, 침, 뜸, 전침, 약침 및 laser鍼 등 대체 요법에 대한 구미지역에서 선호도는 높은 편으로 미국의 경우 당뇨환자의 48%가 양방적인 치료와 더불어 대체 요법을 받고 있으며, 25%는 대체 요법만을 받고 있다(Park et al., 2002). 최근 수년간 한약재를 비롯한 침 시술과 관련된 연구도 다양하여, Donald (2006)가 중완(CV12) 및 족삼리(ST36)에 대한 전침 시술시 인슐린에 대한 민감도가 상승됨을, 장(Chang et al., 1999) 등이 일반적인 침시술이 당뇨에 대해 NO 생합성을 감소시킴을, 김(Jang et al., 2003) 등이 제II형 당뇨에 대한 침 시술이 세포 재생 및 대뇌의 신경단백 Y의 발현을 촉진한다고 보고하였다. 임상적으로도 Wang (2004)도 당뇨병성 위무력증에 대한 침 시술 병용이 약물 치료만을 시행한 대조군에 비해 94.2%의 상대적 호전을 보인다고 보고하였다. 이러한 다양한 시도에도 여전히 당뇨병과 인체 경혈에 대한 특이성과 기전에 대한 연구 결과는 부족한 실정이다.

당뇨병의 병증은 동양의학의 여러 문헌에서 찾아볼 수 있으며 소갈·피부소양·옹저·비통 등의 범주에 해당되며 이 중 가장 비슷한 병증은 소갈이다(Kang & Kim, 1998; Wang, 2004). 치료혈로는 비수(BL20), 위수(BL21), 삼음교(SP6), 족삼리(ST35) 등 비위경 및 비위 관련 배수혈이 사용되었다(Lee et al., 2001).

당뇨병 환자에서는 기본적으로 혈당의 상승과 함께 일차적으로는 체중의 감소가 나타난다(Lee et al., 2001). 본 연구의 실험결과 체중은 1주 이후 대조군에 비해 실험군이 전반적으로 낮게 나타난다. 이는 혈당 추이를 고려할 때 혈당의 상승으로 인한 체중의 감소가 아닌 대사의 항진으로 인한 체중의 감소로 사료되었다. 고혈당 유발 후 6주 동안 혈당의 변화를 측정한 결과 대조군에 비하여 침시술한 실험군 모두에서 대조군에 비하여 보다 효과적으로 조절되고 있음을 확인할 수 있었다. 6주 후 당내성 검사 결과 GV6군의 혈당이 전 시간에 걸쳐 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, SP3군과 SP3+GV6군도 120분후에는 대조군에 비해 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 이와 같이 침 시술이 β-세포의 재생 또는 기능의 회복에 긍정적인 영향을 미치며, 특히 GV6가 가장 효과적임을 알 수 있었다.

STZ 유발 당뇨 흰쥐의 경우 인슐린 분비가 저하되어 지질대사의 장애로 혈중 Cholesterol, HDL-cholesterol, Triglyceride, Free fatty acid의 수치가 상승하게 되며(Sugano et al., 2006; AlAmin et al., 2006), 인슐린 의존적인 간조직에서 글루코오스와 지질의 불균형을 초래한다(Stone et al., 1985). 본 실험에서 cholesterol은 모든 실험군에서 대조군에 비해 감소하였으며, 특히 SP3+GV6군의 경우 유의하게 감소된 것으로 나타났으며, HDL-cholesterol, triglyceride 및 free fatty acid도 모든 실험군에서 정상군 및 대조군에 비해 감소하여 STZ 유발 당뇨 흰쥐에 대한 침 시술이 혈중 지질 증가억제 효과가 있는 것으로 나타났다. 단, HDL-cholesterol과 triglyceride은 대조군의 수치가 동일한 식이 조건을 적용하였음에도 정상군에 비해 오히려 감소되어 기존 연구 결과와 달랐는데, 이에 대해서는 실험 대상이 흰쥐이며 체중, 식이 조건의 적용과 관련

된 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

혈중 GOT와 GPT는 주로 간세포의 파괴로 인해 세포내에서 혈중으로 유리되는 효소인데 (Jung et al., 2006)이 활성수치가 높다는 것은 간의 급성염증을 시사하며, 두 효소의 활성변화는 간세포 손상정도와 기능을 나타내는 지표로 활용된다. 본 실험 결과에서 대조군의 GOT 수치가 유의성 있게 증가되어 선행연구 결과와 일치하는 경향을 보였으며, 침 시술을 시행할 경우 GOT와 GPT 수치가 대조군에 비해 감소되었다. 특히, GOT는 GV6군에서 더욱 정상에 가깝게 감소되었고, GPT는 SP3+GV6군은 정상수치와 같은 수준으로 감소되었다. 이는 간세포의 염증성파괴로부터 보호 또는 억제하는 효과가 있는 것으로 사료되었다.

인슐린과 유사한 생물학적 활성을 지닌 인슐린양성장인자 (insulin-like growth factor, 이하 IGF)는 IGF-I과 IGF-II가 분류되며 주로 간에서 합성되어 순환되지만 췌장과 같은 대부분의 조직에서도 국소적으로 생산된다 (Swenne, 1983). 최근 Park (2006)에 의하면 STZ에 의해 유도된 당뇨 흰쥐의 간에서 IGF-I의 합성이 감소됨을 보고한 바 있다. 본 연구에서 IGF-I mRNA 유전자는 정상군 간조직과 비교시 대조군에서 60% 이상 발현이 감소되었고 침 시술 후 발현이 증가되었으며, SP3+GV6군의 경우 정상군과 동일한 수준까지 유의하게 증가하여 ($P<0.05$) STZ 유발 당뇨모델에 있어서 침 시술이 IGF-I에 의한 인슐린 분비조절에 관여함을 시사했다.

STZ에 의해 유발된 당뇨모델에서 간세포는 세포질의 변형을 나타내는데 이것은 종양세포의 형태와 유사하다는 보고가 있다 (Balazs, 1985). 간세포 미세구조는 비정상적으로 확대된 핵과 섬유화, 세포질에 무리를 짓고 있는 당원과립 (glycogen particle), 미토콘드리아와 조면소포체발달이 현저하게 감소하여 나타난다 (Balazs, 1985; Lenk et al., 1992). 이에 저자는 STZ유발 당뇨병 흰쥐의 침 시술시 간세포에 미치는 영향을 보고자 간세포를 채취하여 전자현미경을 통해 분석한 결과, 대조군은 정상군에 비해 소기관의 발달이 미약하고 다소 손상되어 있었으나, 침 시술 후 50% 이상 핵질이 발달되었고 미토콘드리아의 cristae의 형태가 대조군에 비해 뚜렷하였으며 무수히 많은 난원형 당원과립을 관찰하였다. 이는 GV6과 SP3에 대한 침 시술이 STZ에 의해 손상된 간세포를 재생시키는 효과가 있는 것으로 나타났다.

이상의 결과들을 참조하여 향후 침 시술시 염전, 보사 등의 전통 수기법, 다른 혈위에 대한 효과 등에 관한 지속적 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

AlAmin ZM, Thomson M, Al Qattan KK, Peltonen Shalaby R, Ali M: Anti-diabetic and hypolipidaemic properties of ginger (Zingiber officinale) in streptozotocin-induced diabetic rats. Br J Nut 96(4) : 660-666, 2006.

Balazs M, Halmos T: Electron microsocpic study of liver fibrosis associated with diabetes mellitus. Exp Pathol 27 : 153-162, 1985.

Chang SL, Lin KJ, Lin R, Hung PH, Lin JG, Cheng JT: Enhanced insulin sensitivity using electroacupuncture on bilateral Zusanli acupoint (St36) in rats. Life Sci 79(10) : 967-971, 2006.

Chang SL, Lin JG, Chi TC, Liu IM, Cheng JT: An insulin-dependent hypoglycaemia induced by electroacupuncture at the Zhongwan (CV12) acupoint in diabetic rats. Diabetologia 42(2) : 250-255, 1999.

Donald Garrow MD, Leonard E, Egede MD, MS: Alternative Medicine Use, Preventive Care Practices, and Use of Conventional Medical Services Among Adults With Diabetes. Diabetes Care 29 : 15-19, 2006.

Jang MH, Shin MC, Koo GS, Lee CY, Kim EH, Kim CJ: Acupuncture decreases nitric oxide synthase expression in periaqueductal gray area of rats with streptozocin-induced diabetes. Neurosci Lett 337(3) : 155-158, 2003.

John H, Exton, Jerry G, Corbin, Sandra C, Harper: Effects of fasing, diabetes and glucagon on latate and endogenous metabolism in the perfused rat liver. J Biol Chem 247 : 4996-5003, 1972.

Jung CH, Zhou S, Ding GX, Kim JH, Hong MH, Shin YC, Kim GJ, Ko SG: Antihyperglycemic activity of herb extracts on streptozotocin-induced diabetic rats. Biosci Biotechnol Biochem 70(10) : 2556-2559, 2006.

Jung YH, Park BJ, Lee TH, Choi KH, Chun SH: Effect of capsaicin on lipid metabolism in diabete rats. Korean J Obestic 9(4) : 246-255, 2000.

Kang SB, Kim KC: Clinical aspect on oriental medicine treatment in diabetes mellitus. The east and west medical science 23(4) : 21-40, 1998.

Kim EH, Jang MH, Shin MC, Lim BV, Kim HB, Kim YJ, Chung JH, Kim CJ: Acupuncture increase cell proliferation and neuropeptide Y expression in dentate gyrus of streptozotocin-induced diabetic rats. Neurosci Lett 327(1) : 33-36, 2002.

La Vecchia C, Negri E, Franceschi SD, D'Avanzo B, Boyle P: A case-control study of diabetes mellitus and cancer risk. Br J Cancer 70 : 950-953, 1994.

Lee BL, Cha JH, Park JW, Park YJ, Park PS: Effects of dietary restriction on the body weight and antioxidant enzymes in various organs of diabetic rats. Korea J Food Science and Nutrition 6 : 521-527, 2001.

Lenk SE, Bhat D, Blakeney W, Dunn Jr WA: Effects of streptozotocin-induced diabetes on rough endoplasmic reticulum and lysosomes of rat liver. Am J Physiol 263 : 856-862, 1992.

Lijun Sun, Nabil Halaihel, Weiping Zhang, Thomas Rogers, Moshe Levi: Role of Sterol Regulatory Element-binding Protein1 in Regulation of Renal Lipid Metabolism and Glomerulosclerosis in Diabetes Mellitus. J Biol Chem 277(21) : 18919-18927, 2002.

Min HG: Clinic of Endocrinology. Korea Medical 68-72, 266-270, 1990.

Park JY, You CG, Han JS, Kim HS, Lee YH, Park HS: The effects of acupuncture at Sp21 on serum glucose and urine glucose in diabetic patient, J. Korean. Acupuncture and Moxibustion 19(1) : 1-10, 2002.

Park SH, Min TS: Caffeic acid phenethyl ester ameliorates changes in IGFs secretion and gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats. Life Scien 78 : 1741-1747, 2006.

Stone BG, Van Thiel DH: Diabetes mellitus and the liver. Semin Liver 5 : 8-28, 1985.

Sugano M, Yamato H, Hayashi T, Ochiai H, Kakuchi J, Goto S, Nishijima F, Iino N, Kazama JJ, Takeuchi T, Mokuda O, Ishikawa T, Okazaki R: High-fat diet in low-dose-streptozotocin-treated heminephrectomized rats induces all features of human type 2 diabetic nephropathy: a new rat model of diabetic nephropathy. Nutr Metab Cardiovasc Dis 16(7) : 477-484, 2006.

Swenne I: Effect of aging on the regenerative capacity of the pancreatic β-cell of the rat. Diabetes 32 : 14-19, 1983.

Wang L: Clinical observation on acupuncture treatment in 35 cases of diabetic gastroparesis. J Tradit China Me 24(3) : 163-165, 2004.

<국문초록>

STZ 유발 당뇨병 흰쥐에 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)에 대해 침 시술을 하여 체중, 혈당량변화, 당내성변화, 혈액내 지질함량, transaminase 활성도 측정, 간조직의 조직학적 관찰, 간조직에서 IGF-I mRNA 유전자 발현변화 및 간세포의 미세구조변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

실험군에서는 대조군에 비하여 체중감소 억제 및 혈당강하의 효과가 있었고, 간의 조직학적 관찰 결과 STZ로 인하여 손상된 간장 조직이 상당부분 회복되었는데 이로써 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)에 대한 자침이 당뇨로 인한 간장조직의 회복에 임상적으로 유의한 효과를 나타낼 것으로 사료된다. 그러나 실험 결과 중 체간부 경혈인 척중혈(GV6)과 사지부 경혈인 태백혈(SP3)의 효과는 각각 차이가 있었는데, 체중감소 억제, 혈당량의 감소, 당내성 검사에서 혈당량의 감소, 혈청 HDL-cholesterol의 감소, 간효소치의 감소등에서는 척중혈(GV6)을 단독 시술하는 것이 가장 유효하였다. 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)의 병용 시술의 효과는 전체적으로 단독시술에 비해 떨어지거나 비슷하였으며, 간조직에서 IGF-I mRNA발현양상은 병용시술이 당뇨에 의해 감소된 IGF-I 유전자 발현의 증가를 유도하였다.

이상의 결과에서 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에서 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)의 침 시술이 당뇨병의 제증상을 유의하게 개선시키는 것으로 나타났으며, 척중혈(GV6)에 대한 시술이 태백혈(SP3) 또는 척중혈(GV6)과 태백혈(SP3)을 동시에 시술하는 것보다 유의한 효과가 있는 것으로 나타나 앞으로 임상에서 당뇨병 치료에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.