

Aralia contientalis가 고콜레스테롤 식이로 유발된 흰쥐 동맥경화에 미치는 영향

신승안 · 박선동¹ · 최달영² · 박원환*

동국대학교 한의과대학 심혈관계질환 천연물개발연구센터 및 진단학교실, 1: 심혈관계질환 천연물개발연구센터 및 방제학교실, 2: 병리학교실

Effect of *Aralia contientalis* water-extracts on the Level of Cholesterol Accumulation in Rat, which were Treated with High-cholesterol Diet

Sung Ahn Shin, Sun Dong Park¹, Dall young Choi², Won Hwan Park*

Department of Diagnostics and Cardiovascular Medical Research Center, 1: Department of Prescription and Cardiovascular Medical Research Center, 2: Department of Pathology, College of Korean Medicine, Dongguk University

Aralia contientalis show several beneficial effects including anti-oxidant effects. *Aralia contientalis* is used as a therapeutic agent to stop haemorrhages and a tonic to promoted health in Korean and Chinese medicine. The pharmacokinetic profiles of the main *Aralia contientalis* is still not accurately investigated. In present study, I examined the effects of water extracts of *Aralia contientalis* on high cholesterol diet atherosclerosis-induced rats in serum and abdominal aorta. A total of 3-week old 9 male rats of Sprague-Dawley were divided into 3 groups and fed with the basal diet (normal group), high cholesterol diet (atherosclerosis induced group) for 8 weeks, high cholesterol diet supplemented with water extracts of *Aralia contientalis* (*Aralia contientalis* group) for 2 weeks. And rats were sacrificed, serum lipid level, abdominal aortic anti-oxidant activities and lipid peroxide were measured. These results indicated that serum total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides concentration significantly lowered in *Aralia contientalis* group than high cholesterol diet group. But HDL-cholesterol concentraion significantly higher in *Aralia contientalis* group than high cholesterol diet group.

Key words : *Aralia contientalis*, atherosclerosis, total cholesterol, LDL, triglycerides HDL

서 론

심혈관계 질환의 대표적인 동맥경화증은 동맥혈관자체의 약화나 감염으로 인한 손상, hemodynamic stress에 의한 영향 및 lipoprotein으로 인한 콜레스테롤의 축적 등 여러 내인적, 외인적 요인으로 발생하는 것으로 알려져 있다¹⁾.

동맥경화의 확실한 원인은 아직 알려지지 않았으나 많은 환자를 대상으로 한 역학적인 연구를 통하여 어떤 요인이 동맥경화의 발생 또는 진행을 촉진하는 위험인자에 관해서는 많은 사실들이 알려져 있다. 위험인자에는 조절가능한 인자와 조절이 불가능한 인자 등 두 가지가 있다. 즉 동맥경화는 여자보다는 남자에서, 젊은 사람보다는 나이가 많은 사람에서, 동맥경화의 가족

력이 있는 사람에서 더 흔히 발생되므로 성별, 연령, 가족력 등이 중요한 위험인자가 되나 이러한 것들은 조절이 불가능한 것들이다. 조절가능한 위험인자 중 가장 중요한 것이 고지혈증, 고혈압 및 흡연 등 이다. 특히 고지혈증은 나이가 많은 환자에서는 정확도가 떨어지나 50세 이하에서는 혈청 cholesterol치와 동맥경화의 발생간에는 밀접한 관계가 있고 triglyceride가 단독으로 상승되어 있는 경우에는 영향이 적으나 cholesterol치의 상승에 병행하여 나타날 때는 의미가 크다. 최근 HDL-cholesterol이 상승되어 있으면 죽상경화의 위험이 오히려 감소한다는 사실이 알려지고는 혈청 cholesterol치 한 가지의 측정만으로는 불충분하다고 생각되고 있다. HDL cholesterol은 남자보다 여자에서 더 높고, 규칙적인 운동으로 상승되며 당뇨병자, 흡연자에서는 낮은 것으로 알려져 있다. 동맥경화와 관련하여 환자의 지질검사를 실시할 때는 total cholesterol, HDL-cholesterol 및 triglyceride 등 세 가지를 모두 검사하는 것이 좋다고 하였다²⁾.

* 교신저자 : 박원환, 경북 경주시 석장동 707, 동국대학교 한의과대학

· E-mail : diapwh@dongguk.ac.kr, · Tel : 054-770-2373

· 접수 : 2006/10/11 · 수정 : 2007/01/10 · 채택 : 2007/01/26

당뇨병이나 기타 고콜레스테롤혈증 환자에서는 LDL이 산화되어 동맥혈관벽의 내피세포를 손상시키고, 혈소판 등이 내벽에 달라 붙어 동맥경화증을 유발시킨다는 free radical과 lipid peroxide에 의한 조직의 상해설이 주목되고 있으며, 이러한 산화적 스트레스의 증가에 의한 조직의 손상이 만성합병증을 유발시키는 주된 원인으로 여겨진다^{3,4)}.

또한, Mantha등⁵⁾과 Del Boccio⁶⁾의 연구에서 고지방식이나 고콜레스테롤 식이와 같은 고열량의 식이 지방이나 콜레스테롤 섭취는 체내 조직의 산화적 손상을 초래한다고 보고하였다.

고콜레스테롤 상태에서 산화적 스트레스가 촉진된다는 여러 보고^{7,8)}에서 다양한 항산화 방어기전의 활성 변화를 관찰하였다. Jeon 등^{9,10)}도 고콜레스테롤 상태에서는 superoxide dismutase, glutathione peroxidase 및 catalase 등과 같은 항산화계 효소의 양은 감소되고 지질과산화물 함량은 증가되는 반면 항산화제의 보강에 의해 이들 값이 개선되는 것을 입증하였다. 고콜레스테롤 상태에서 산화적 스트레스를 방어하기에는 항산화 효소의 양과 활성이 불충분하고 항산화 방어계의 불균형 또한 중요한 병인으로 작용하며 특히 심혈관질환 유발과 관련이 있다고 보고되고 있다^{9,10)}.

독활은 맛이 맵고 쓰며 성질은 따뜻하며, 去風, 勝濕, 散寒, 止痛하여 鎮靜, 催眠, 鎮痛, 抗炎등의 작용이 있다고 하였으며, 또한 동물실험에서 혈압강하 및 혈관수축작용에 대한 실험을 통하여 심장, 혈관계통에 대한 작용이 있음이 보고된바 있다¹¹⁾.

이에 본 연구에서는 독활 열수추출물이 고콜레스테롤 식이로 인한 흰쥐 동맥경화의 혈청 지질 함량 및 혈관내피세포의 내막증식 억제효과에 관한 실험을 실시하여 유의한 결과를 얻었기에 다음과 같이 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

혈청 지질함량 측정에는 (주)영동제약(kit)의 제품을, cholesterol은 덕산사(Korea), L-glutahtione reduced (환원형 glutathione), glutathione reductase, β -Nicotinamide adenin dinucleotide phosphate (NADPH), Xanthine, Xanthine Oxidase 등은 Sigma 사(USA)의 제품을 사용하였으며 그 외 일반 시약들은 특급품을 사용하였다. 실험기기는 homogenizer, UV spectrophotometer, centrifuge, Rotary vaccum evaporator, incubator 및 실험실에서 사용하는 일반 기기를 사용하였다.

2. *Aralia contidentialis*의 제조

본 실험에 사용한 독활(*Aralia contidentialis*)은 동국대학교 한의과대학 방제학교실에서 제공한 것을 정선수치하여 사용하였다. 독활(*Aralia contidentialis*) 87.5g을 1ℓ의 물에 넣고 가열팬들에서 3시간 전탕 후 1 mm-pore-size filter를 통해 감압여과한 후, 불용성 물질들은 제거하였다. 상층액은 Rotary vaccum evaporator를 이용하여 약 50% 정도로 감압농축하였다. 또한, 독활(*Aralia contidentialis*) 농축액 (100 ml)을 freeze drying하여 독활(*Aralia contidentialis*) 동결건조분말을 얻었다 (수율 15%).

3. 실험동물처치

실험동물은 체중 3주령 50~70 g의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종 웅성 흰쥐를 효창 사이언스(Korea)로부터 구입 후, 사육실(온도 25℃, 상대습도 60%)에 1주일 동안 적응시켜 실험에 사용하였다. 각 실험군은 정상 대조군 (normal group), 식이 고콜레스테롤 투여로 동맥경화유발군 (cholesterol group), 식이 고콜레스테롤 투여로 인한 동맥경화유발 후 독활 열수추출 농축액 투여군(독활 투여군)으로 나누었으며, 각 5마리씩 분리 수용하였다. 실험기간동안 물과 사료(효창 사이언스, Korea)의 양은 제한없이 공급하였다. 식이 콜레스테롤은 olive oil과 4:1 비율로 혼합액을 만들어 8주간 투여하여 동맥경화증을 유도하였다. 독활 열수추출 농축액 투여군은 식이 고콜레스테롤 섭취군과 같은 방법으로 식이 고콜레스테롤을 투여하여 동맥경화증을 유도한 후, 독활 열수추출 농축액과 물을 3:7 비율로 희석하여 4주간 투여하였다. 모든 실험군은 처치 24시간 전부터 물만 공급하고 금식시켰다. 동물의 처치는 ether 마취 하에 개복한 후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시키고 일정량의 복부대동맥 혈관조직을 적출하였다. 4℃ 상태의 생리식염수로 간문맥을 통하여 간을 관류하고 조직 내의 남아 있는 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간과 복부대동맥 혈관조직은 생리식염수로 씻은 후 여과지로 압박하여 장기내에 남아있는 생리식염수를 제거한 다음 무게를 측정하여 항산화 및 산화적 스트레스 관련 실험 측정용 시료로 사용하기 위해 -80℃ 냉동보관 하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻고 혈청내의 지질 함량 측정용 시료로 사용하였다.

4. 혈청 내 지질함량 측정

1) 총콜레스테롤 함량 측정

혈청 내 total cholesterol은 영동제품 kit를 이용하여 혈청 0.02 ml에 효소용액 3 ml를 혼합한 후 37℃ water bath에서 5분간 반응시킨 후 증류수를 Blank로 하여 파장 500 nm에서 흡광도를 측정한다.

2) 고밀도 콜레스테롤 함량 측정

혈청 내 HDL-cholesterol은 영동 제품 kit를 이용하여 혈청 1 ml를 원심분리용 시험관에 넣고 침전시약 0.1 ml를 넣어 혼합하여 실온에서 5분간 방치한 후 10분간 원심분리하여 상층액을 새 시험관에 옮긴다. 상층액 0.02 ml와 효소용액 3 ml를 혼합한 후 37℃ water bath에서 15분간 반응시킨다. 반응이 끝나면 증류수를 Blank로 하여 파장 500 nm에서 흡광도를 측정한다.

3) 중성지방 함량 측정

혈청 내 Triglycerides는 영동 제품 kit를 이용하여 혈청 0.02 ml과 사용시약 3 ml를 시험관에 넣고 혼합한 후, 37℃ water bath에서 5분간 반응시킨다. 반응이 끝난 후 사용시약을 Blank로 하여 파장 546 nm에서 흡광도를 측정한다.

4) 저밀도 콜레스테롤 함량 측정

LDL-cholesterol의 농도는 total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides 측정치로부터 Friede-wald 방식을 이용하여 산출하였다.

LDL-cholesterol =
 $[\text{Total cholesterol} - (\text{HDL-cholesterol} + (\text{Triglycerides}/5))]$

5) 동맥경화지수 측정

동맥경화지수 (Atherosclerotic Index, AI)는 LDL-cholesterol, HDL-cholesterol 측정치로부터 동맥경화지수를 산출하는 방식을 이용하여 계산하였다.

$$AI = \Delta (\text{LDL-cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}) / \text{HDL-cholesterol}$$

5. 독활 열수추출액 투여군의 콜레스테롤식이 흰쥐에 대한 콜레스테롤 축적억제효과

혈관조직을 해부하여 육안으로 관찰하였다.

6. 독활 열수추출액 투여군의 콜레스테롤 식이 흰쥐에 대한 혈관 협착억제 효과

혈관조직을 해부하여 혈관내피세포 및 혈관 평활근세포를 Eosin염색하였다. 흰쥐 13주령(350g)의 좌측 장골 동맥 부위를 절개하여 장골동맥을 1/3정도 cutting 후 balloon catheter(2F size, Baxter Co.)를 삽입하고 상부로 약 15-20cm 전진시켜 우측 경동맥 부위까지 삽입한다. 생리식염수 약 0.2 ml를 주입하여 catheter의 balloon을 부풀린 후, catheter를 1-2cm정도 후퇴시켜 내피세포를 탈리(endothelial denudation) 시킨다. 이 동작을 2-3 회 반복한 후, catheter를 제거하고 좌측동맥을 결박하여 혈관 협착을 유발시킨다. 일정기간 생육후 동맥 적출 1시간 전에 미정맥에 evans blue를 주입한다. 동맥을 적출하기전, 좌심실에 syringe를 삽입 후 1분당 10ml의 용량으로 PBS를 100ml injection하여 혈액내의 성분을 perfusion한 후, 10% formalin용액 100ml를 주입하여 동맥조직을 환류고정 후, 동맥을 적출하고 침적 고정한다. 적출된 동맥은 3 um 절편을 작제후, hematoxylin-eosin액으로 염색하고, NIH image analysis 1.62 ver.의 화상해석 program으로 내막(intima), 중막(media), 혈강(lumen)의 면적, Intima/Media ratio를 각각 산출하여 협착의 정도를 평가하였다.

7. 통계분석

모든 실험결과를 평균±표준편차를 계산하였고, 각 실험군간 즉, 정상군, 식이 콜레스테롤 섭취군, 식이 콜레스테롤 섭취 후 독활 열수추출 농축액 투여군에 의한 효과의 유의성은 one-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 검증하였고, p<0.05 수준에서 유의성이 관찰된 경우 각 실험군간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05 수준에서 평가하였다.

결 과

1. 혈청내 총콜레스테롤 수치에 대한 독활 열수추출 농축액 투여군의 저해효과

실험군은 Sprague-Dawley 종 웅성 흰쥐 각 5마리씩 정상군, 동맥경화 유도를 위한 고콜레스테롤 식이 섭취군, 고콜레스테롤

섭취 후 (동맥경화 유도 후) 독활 열수추출 농축액 투여군으로 나누어 처리하였다. 혈청내 total cholesterol 수치는 정상군 65.4±23.3 mg/dl, 고콜레스테롤 식이 섭취군은 167.3±35.3 mg/dl, 독활 열수추출 농축액 투여군은 142.1±19.5 mg/dl 이다(Fig. 1). 독활 열수추출 농축액 투여군의 혈청내 total cholesterol 수치는 고콜레스테롤 식이 섭취군보다 21.6% 가량 유의적으로 감소하였다.

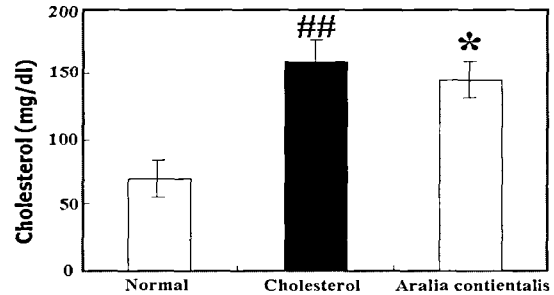


Fig. 1. Inhibitory effect of *Aralia contidentialis* water-extracts group on the level of serum total cholesterol in rat. Each Values are mean ± S.E. of 5 rats. ##, significantly different (p < 0.01) from normal group. *, significantly different (p < 0.05) from cholesterol group.

2. 혈청내 고밀도 콜레스테롤 수치에 대한 독활 열수추출 농축액 투여군의 활성효과

실험군은 Sprague-Dawley 종 웅성 흰쥐 각 3마리씩 정상군, 동맥경화 유도를 위한 고콜레스테롤 식이 섭취군, 고콜레스테롤 섭취 후 (동맥경화 유도 후) 독활 열수추출 농축액 투여군으로 나누어 처리하였다. 혈청내 HDL-cholesterol 수치는 정상군 39.7±8.7 mg/dl, 고콜레스테롤 식이 섭취군은 22.5±1.6 mg/dl, 여기에 독활 열수추출 농축액 투여군은 40.7±1.5 mg/dl 이다(Fig. 2). 독활 열수추출 농축액 투여군의 혈청내 HDL-cholesterol 수치는 고콜레스테롤 식이 섭취군보다는 54.2% 가량 유의적인 증가를 보여주었다.

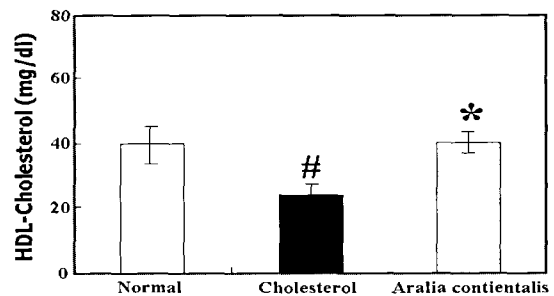


Fig. 2. Effect of *Aralia contidentialis* water-extracts on the level of serum HDL-cholesterol in rat. Each Values are mean ± S.E. of 5 rats. #, significantly different (p < 0.05) from normal group. *, significantly different (p < 0.05) from cholesterol group.

3. 혈청내 중성지방 수치에 대한 독활 열수추출 농축액 투여군의 저해효과

실험군은 Sprague-Dawley 종 웅성 흰쥐 각 5마리씩 정상군, 동맥경화 유도를 위한 고콜레스테롤 식이 섭취군, 고콜레스테롤 섭취 후 (동맥경화 유도 후) 독활 열수추출 농축액 투여군으로 나

누어 처리하였다. 혈청내 triglycerides 수치는 정상군 29.1±3.2 mg/dl, 고콜레스테롤 식이 섭취군 46.7±3.7 mg/dl, 고콜레스테롤군에 독활 열수추출 농축액을 투여한 군은 29.3±5.2 mg/dl 이다 (Fig. 3). 독활 열수추출 농축액 투여군의 혈청내 triglycerides 수치는 고콜레스테롤 식이 섭취군보다 20% 가량 유의적으로 감소하였다.

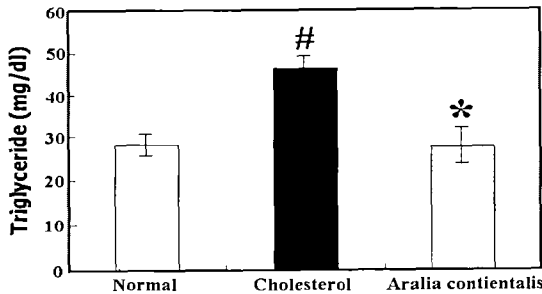


Fig. 3. Inhibitory effect of *Aralia contidentialis* water-extracts group on the level of serum triglycerides in rat. Each Values are mean ± S.E. of 5 rats. #, significantly different (p < 0.05) from normal group. *, significantly different (p < 0.05) from cholesterol group.

4. 혈청내 저밀도 콜레스테롤 수치에 대한 독활 열수추출 농축액 투여군의 저해효과

실험군은 Sprague-Dawley 종 웅성 흰쥐 각 3마리씩 정상군, 동맥경화 유도를 위한 고콜레스테롤 식이 섭취군, 고콜레스테롤 섭취 후 (동맥경화 유도 후) 독활 열수추출 농축액 투여군으로 나누어 처리하였다. 혈청내 LDL-cholesterol 수치는 정상군 17.8 mg/dl, 고콜레스테롤 식이 섭취군 91.5 mg/dl, 독활 열수추출 농축액 투여군 23.5 mg/dl로 독활 열수추출 농축액 투여군은 고콜레스테롤 식이 섭취군보다 76.2% 가량 유의적으로 감소하였다 (Fig. 4).

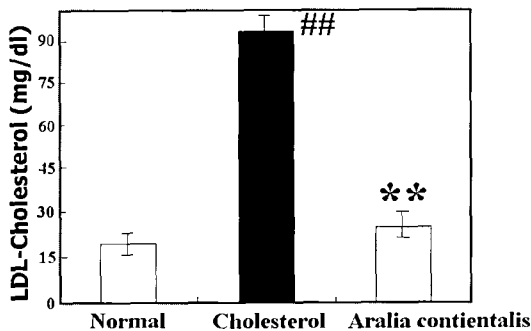


Fig. 4. Inhibitory effect of *Aralia contidentialis* water-extracts group on the level of serum LDL-cholesterol in rat. Each Values are mean ± S.E. of 5 rats. ##, significantly different (p < 0.05) from normal group. **, significantly different (p < 0.01) from cholesterol group.

5. 독활 열수추출 농축액 투여군의 혈청내 콜레스테롤의 동맥경화지수

실험군은 Sprague-Dawley 종 웅성 흰쥐 각 3마리씩 정상군, 동맥경화 유도를 위한 고콜레스테롤 식이 섭취군, 고콜레스테롤 섭취 후 (동맥경화 유도 후) 독활 열수추출 농축액 투여군으로 나누어 처리하였다. 혈청내 콜레스테롤의 동맥경화지수 (AI,

Atherosclerotic Index)를 구하는 공식에 의해서, $AI = \frac{LDL\text{-cholesterol} - HDL\text{-cholesterol}}{HDL\text{-cholesterol}}$ 으로 각 실험군의 동맥경화지수를 산출한다. 혈청내 콜레스테롤의 동맥경화지수는 정상군 0.61, 고콜레스테롤 식이 섭취군 1.54, 독활 열수추출 농축액 투여군 0.073 이다(Fig. 5). 이는 독활 열수추출 농축액 투여군이 고콜레스테롤 식이 섭취군보다 동맥경화지수가 55% 가량 유의적으로 감소하였다.

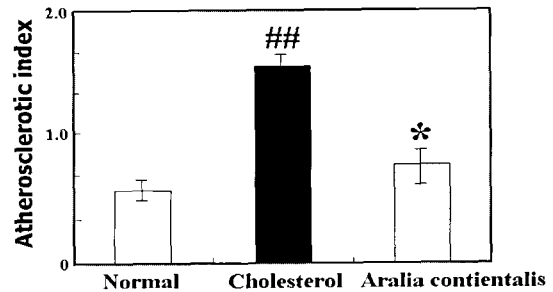


Fig. 5. Effect of *Aralia contidentialis* water-extracts group on the level of Atherosclerotic Index in rat. Each Values are mean ± S.E. of 5 rats. ##, significantly different (p < 0.05) from normal group. *, significantly different (p < 0.05) from cholesterol group.

6. 독활 투여군의 콜레스테롤식이 흰쥐에 대한 콜레스테롤 축적 억제효과

독활 열수추출액 투여군의 Cholesterol식이흰쥐에 대한 콜레스테롤 축적억제효과를 해부학적으로 검토한 결과, 혈청내 콜레스테롤의 축적정도는 고콜레스테롤 식이 섭취군에서 많은 콜레스테롤 축적이 육안으로 관찰되었다. 그러나, 고콜레스테롤 식이 섭취군에 독활 열수추출 농축액을 투여한 랫트에서는 정상군에 가까운 콜레스테롤 축적이 현저하게 억제되었다 (Fig. 6). 이는 독활 열수추출 농축액 투여가 고콜레스테롤 식이 섭취군에 대한 콜레스테롤 합성을 억제하고 축적을 방지하는 약리활성이 강함을 제시하는 것이다.

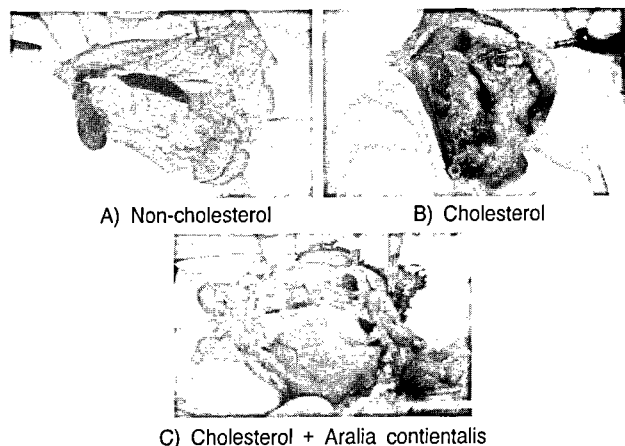
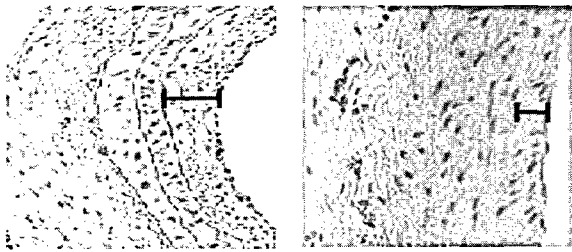


Fig. 6. Effect of *Aralia contidentialis* water-extracts on the level of cholesterol accumulation in rat, which were treated with high-cholesterol diet.

7. 독활 열수추출액 투여군의 콜레스테롤식이흰쥐에 대한 혈관

벽 내피세포와 평활근세포의 내막증식 억제효과

흰쥐 13주령(350g)의 좌측 장골 동맥 부위를 절개하여 장골 동맥을 1/3정도 cutting후 balloon catheter를 삽입하고 경동맥 부위까지 삽입한뒤, 혈관 협착을 유발시켰다. 수술후, 1, 2, 4, 8, 12주까지의 협착정도의 평가에서 시간의 경과와 더불어 혈강면적의 감소와 내막면적의 증가가 뚜렷이 확인되어 8주째에서는 혈강의 면적이 정상 혈관보다 1/2정도임이 확인되었으며 Wistar계 웅성 rat를 각 군 9마리를 기준으로 grouping을 실시하여 1주일 간의 적응 사육후, 실험에 이용하였다. 실험군은 정상군, 대조군, 독활200 mg/kg/day, 400 mg/kg/day, 800 mg/kg/day의 5개 group으로 나누어 경구투여를 실시하였다. 수술후 협착정도를 조직 병리학적으로 평가하고, 화학해석에 의해 동맥구획의 면적을 산출하였다. 독활투여량 증가에 따라 감소하는 경향을 보여 독활 800 mg/kg/day 군에 있어서는 대조군과 비교하여 유의하게 억제된 결과가 나타났다 (Fig. 7).



A) Cholesterol식이군 B) 독활 식이군 (Cholesterol+AC)
 Fig. 7. Cross sections of common carotid artery after Balloon injury and effect of *Aralia continentalis* on intimal thickening

고찰 및 결론

동맥경화증은 저밀도 지단백 (low density lipoprotein, LDL) 입자가 동맥내강을 빠져 나와 혈관내피세포하에 체류하여 염증을 일으키며 동맥벽이 굳어져서 탄력성이 감소하고, 동맥내면에 지방을 누적시켜 이상조직이 증식하여 동맥내경의 협착을 일으키는 질병이다¹²⁾.

동맥경화의 발생 원인으로는 동맥벽에 가해지는 손상으로 여겨진다. 동맥벽은 얇은 단층의 세포로 된 내막, 평활근세포로 동맥벽의 탄력성을 가지는 비교적 두꺼운 층으로 된 중간층, 동맥을 보호하는 역할을 하는 외막으로 되어 있다. 동맥내막에 물리적 또는 생물학적 손상이 반복하여 가해지면 내막층이 갈라지거나 얇아져서 혈액속의 단핵구, 임파구 등이 내막의 틈으로 들어가서 내막 아래에 자리잡게 된다. 이 세포들은 일단 조직에 들어가게 되면 지방분을 잡아먹는 식세포 역할을 하여 세포질속에 많은 기름기를 함유하며 동시에 증식인자를 분비하여 평활근 세포와 결합조직세포의 증식이 일어나 동맥벽이 두꺼워지며, 동맥내막마저도 혈액속의 혈소판들이 내벽에 들러붙어 증식인자를 분비하여 그 근처(황문근 전체를 싸고 있는 얇은 막)의 세포를 증식시켜서 기름을 많이 포함한 죽종을 형성하여 동맥내강으로 두드러져 올라와서 혈류의 장애를 일으키게 된다. 이런 동맥벽의 변화는 특히 혈류의 자극을 많이 받는 동맥의 굴곡부위 또

는 분기하는 부위에 주로 생기게 된다. 동맥벽의 손상과 변성을 일으키는 복합적인 요인들이 서로 동맥경화형성을 부추켜서 합병하게 만들지만, 위험요인들 중 고혈압, 고지혈증, 흡연은 독립적으로 동맥경화를 야기시킨다. 특히 동물성 지방의 과다섭취로 인한 혈액속의 콜레스테롤 수치가 높은 고지혈증일 경우는 동맥내막과 근육층 사이에 자리잡은 식세포들은 더 많은 기름기를 세포질속에 함유하게 되어 동맥벽에 지방이 축적된다¹³⁻¹⁶⁾.

Cholesterol은 세포막과 myelin의 주요 성분으로 대부분 체내에서 부신 피질과 스테로이드 호르몬과 비타민 D, 그리고 간에서 생성되는 담즙산의 전구체로 아세틸-CoA로부터 합성이 되고, 10%만이 동물성 식품을 통해 섭취된다. 보통 유리상태와 에스테르의 형태로 존재하는데, 소화관에서는 cholesterol 그대로 직접 흡수되고 배설된다. Cholesterol은 소수성으로 cholesterol 그 자체로는 혈장내에서 존재할 수 없으므로 혈액내에서 apoprotein과 결합하여 lipoprotein 상태로 운반된다. 고밀도 지단백(HDL, High Density Lipoprotein), 저밀도 지단백(LDL, Low Density Lipoprotein)와 과저밀도 지단백(VLDL, Very Low Density Lipoprotein)으로 분류되며, cholesterol은 LDL 및 HDL에 주로 함유되어 있고, triglycerides는 주로 VLDL에 함유되어 있다. 전체 cholesterol의 20~30% 가량은 HDL 형태로, 나머지 대부분은 LDL의 형태로 구성된다^{2,17,18)}.

총콜레스테롤은 관상동맥경화증의 위험인자로서 cholesterol 수치가 300 이상이면 심장마비를 일으킬 위험률이 3-4배 증가한다. Cholesterol은 혈액내에서 운반될 때는 apoprotein과 결합하여 lipoprotein 상태로 운반되며 주로 LDL 및 HDL에 함유되어 있고, triglycerides는 VLDL (과저밀도, Very Low Density Lipoprotein)에 함유되어 있다. 일반적으로 total cholesterol 농도는 LDL-cholesterol 농도와 밀접한 관련을 나타내며 변동하고 total cholesterol의 약 80% 정도는 LDL-cholesterol이 차지하고 있다. 혈청중에는 유리형 및 에스테르형 cholesterol이 존재한다. 에스테르형 cholesterol에 cholesterol ester hydrolase를 반응시키면 유리형과 지방산으로 분해되고, 유리형 cholesterol에 cholesterol oxidase를 반응시키면 H₂O₂와 4- δ -Cholestenone이 생성된다. 생성된 H₂O₂ peroxidase와 4-아미노안티피린 및 페놀을 동시에 반응시키면 산화적 축합반응으로 퀴논이 생성되며 이를 비색하여 cholesterol을 정량한다^{2,17)}.

Total cholesterol과 LDL-cholesterol은 관상동맥질환의 주요 위험인자로 LDL은 atherogenic LDL 또는 small dense LDL의 전구물질로 여겨진다. 간에서 apoB containing lipoprotein의 합성이 증가하거나 VLDL1로부터 비롯된 LDL의 apoB-100 단백질의 3차원적 구조 이상 등으로 LDL receptor의 친화력이 적어 LDL의 제거가 잘 되지 않을 경우 LDL receptor가 감당할 수 있는 한계를 넘게 되어 혈중내 LDL이 증가하게 된다. 제거되지 않는 LDL 중 일부는 subendothelial space로 유입되기 쉬우며, 산화에 의해 oxidized LDL이 되어 대식세포의 scavenger receptor에 의해 포식된다. LDL을 포식한 대식세포(fat-laden macrophage)는 염증세포를 주위로 불러들여 염증반응을 일으키고 자신은 과사하여 중심에 콜레스테롤로 이루어진 lipid core를 남긴다. 이것이

atherosclerosis의 초기단계인 fatty streak의 형성과정이다¹⁶⁾.

따라서 atherosclerosis의 예방과 치료에 중요한 목표는 현재까지는 HDL과 LDL이다. 임상에서는 LDL의 농도를 측정하기가 불가능하며 LDL-cholesterol의 농도는 LDL의 농도와 비례하므로, LDL-cholesterol을 참조한다. LDL-cholesterol의 농도가 높을수록 LDL의 농도가 높고 입자의 수가 많으므로 atherosclerosis의 위험이 증가한다.

저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol, Low Density Lipoprotein-cholesterol)은 간조직의 cholesterol를 혈액으로 운반하며 혈액중의 cholesterol 수치를 상승시키므로 동맥경화 등 심장 질환에 관련되는 것으로 생각된다. 전체 cholesterol의 20~30% 가량은 HDL 형태로 운반되고 나머지는 대부분 LDL 형태로 구성되어 있다. LDL은 비중이 1.019~1.063 kg/ℓ 분획 사이에 존재하는 lipoprotein 입자이다. 크기는 18~25 nm 정도이다. LDL은 다시 그 비중과 부유도 (buoyancy)에 따라 여러 분획으로 나뉘는데 많이 통용되고 있는 Griffin등의 방법에 의하면 LDL은 표면적이 넓고 밀도가 낮으며 부유도가 높은 LDL I (large bouyant LDL)과 중간단계의 LDL II, 표면적이 좁고 밀도가 높으며 부유도가 낮은 LDL III (small dense LDL)로 나뉘어진다. Friede-wald 공식에 의하여, 혈청내 LDL-cholesterol 수치를 구한다.

반면에, HDL-cholesterol이 높으면 관상동맥질환이 감소한다. 이것은 total cholesterol이나 LDL-cholesterol와는 독립적이다. HDL-cholesterol의 관상동맥질환 예방효과는 reverse cholesterol transport와 LDL 산화의 억제 때문인 것으로 생각된다.

고밀도 콜레스테롤 (HDL-cholesterol, High Density Lipoprotein-cholesterol)은 혈액중의 cholesterol을 간으로 운반시켜 혈액중의 cholesterol 수치를 낮추는 작용을 한다. HDL-cholesterol은 그 혈중 농도를 높일수만 있다면, 관상동맥경화증을 비롯한 각종 동맥경화증을 예방할 수 있는 인자로 여겨지고 있다. 반대로 그 혈중농도가 낮아지면 동맥경화의 위험신호로 여겨진다. 흡연, 고혈압, 비만등은 HDL-cholesterol의 감소 요인으로 알려져 있다. Dextran Sulfate와 Magnesium Sulfate를 이용하여 LDL과 VLDL의 lipoprotein을 침전시킨 후 상층에 남아 있는 HDL층의 cholesterol을 측정다. 남자의 HDL-cholesterol 정상범위는 26~66 mg/dℓ (0.68~1.72 mM/ℓ) 이며, 여자의 경우는 30~75 mg/dℓ (0.78~1.95 mM/ℓ)이다.

중성지방과 관상동맥질환의 상관관계는 중성지방이 많은 지단백과 콜레스테롤이 많은 지단백의 대사가 밀접하게 관련되어 있어서 간단하지 않으며 현재까지는 명확하게 밝혀져 있지 않다. 그러나 이론적으로 중성지방은 동맥경화증을 유발시킬 수 있는 여러 가지 작용을 할 수 있다.

중성지방은 에너지원이며, 외인성 triglycerides인 유리지립 (chylomicron, 장에서 형성되며 혈장내에 떠다니는 기름죽입자)로 식이성 triglycerides를 운반)은 대부분이 음식물로 섭취되어 장관에서 흡수되고, 간과 피하조직에 저장된다. 간에서의 triglyceride 합성 증가와 말초조직에서 처리기능의 감소는 내인성 Triglycerides가 높은 경우이다. 혈장중의 triglycerides 수치는 지방 섭취량, 장관의 흡수, 간의 합성 및 분비, 지방조직에서의 흡수 및 저장등 여러 가지 조건에 따라 달라진다. Triglycerides

는 lipase에 의해 glycerol과 fatty acid로 분해가 된다. 1차 분해산물인 glycerol은 APT와 반응하여 GK에 의해 Glycerol-1-Phosphate + ADP로 분해되고 2차 분해산물인 Glycerol-1-Phosphate는 O₂의 결합으로 GPO에 의해 Dihydroxyacetone Phosphate와 H₂O₂로 분해된다. 이 반응으로 생성된 H₂O₂는 4-AA (아미노안티피린), TOOS와 반응하여 산화적 축합반응으로 Quinoneimeine Dye (적색의 퀴논)과 물을 생성한다. 이를 비색하여 triglycerides량 100 mg/100 ml까지 정량한다고 하였다^{12,16)}.

동맥질환에는 죽종과 동맥경화증이 있는데, 죽종은 근본적인 병변은 지질의 반점상 침착으로, 이는 동맥내막 깊이 존재하며 섬유화 조직으로 덮이는데, 본질적으로 내막질환이다. 또한 동맥경화증의 근본적인 병변은 중막의 특수한 근조직과 탄력섬유의 전반적인 변성으로 이는 비탄력성의 섬유조직으로 대체되므로, 본질적으로 중막질환이라고 하였다. 그러므로 본 연구에서 언급하고 있는 동맥경화는 실제로는 죽상경화증이라고 하여 죽종과 동맥경화증 두 질환을 포함한 것을 대상으로 하였는데, 엄정하게 두 질환을 구분하여야 할 것으로 본다. 본 연구에서 살펴본 혈관내피세포의 내막증식에 대한 것은 그 관여하는 기전이 매우 많으며, 그중 내막 평활근 증식, 지질침착, 혈전형성 등이 중요한 기전으로 인식되고 있다. 지질침착은 혈액내 지질의 증가로 평활근세포에 섭취되고, 대사가 적절치 못할 때 불투과성의 탄력막에 지질이 과축적되어 비용해성 형태로 콜레스테롤 또는 저밀도의 지방단백질이 형성되는 것이다. 그러므로 내막증식을 확인하는 것은 죽상경화증이 진행되고 있음을 알수 있는 것이다¹⁷⁾.

이에 따라 동맥경화증에 대한 치료와 예방에 적용할수 있는 천연한약재를 발굴하고 이에 대한 유효물질을 분리 정제하여 새로운 유용선도물질을 개발하기 위한 한 단계로서 본 연구에서는 독활을 사용하였다. 독활¹¹⁾은 맛이 맵고 쓰며 성질은 따뜻하며, 去風, 勝濕, 散寒, 止痛하여 風寒濕痺와 허리와 무릎이 시큰시큰 쉬시고 아픈 병, 손발이 오르라라고 아픈 병, 만성 기관지염, 두통, 치통 등에 활용된다고 하였다. 또한 鎮靜, 催眠, 鎮痛, 抗炎症의 작용이 있으며, 심장, 혈관계통에 대한 작용이 있어서 동물실험에서 혈압강하 및 혈관수축작용이 나타났다고 하였다¹¹⁾.

본 실험의 혈청 내 총콜레스테롤과 중성지방 함량 측정결과 고콜레스테롤 식이 섭취군보다 독활 열수추출 농축액 투여군에서 유의적인 감소경향을 나타내었다. 이러한 결과는 탄닌이 혈중 중성지방 흡수 저해 및 조직내 중성지방 함성저해로 체내 중성지방 함량이 감소한다는 Yugarani 등¹⁹⁾의 보고, 혈중과 간의 콜레스테롤 수준을 감소시켰다는 Wursch²⁰⁾의 연구보고와 유사하였다.

혈청내 LDL-cholesterol 함량은 고콜레스테롤 식이 섭취군과 비교시 독활 열수추출 농축액 투여군이 LDL-cholesterol 함량을 유의적으로 낮추는 경향이였다. 따라서 독활 열수추출 농축액이 고콜레스테롤 혈청지질수준을 낮추어주므로 체내 지질대사를 개선시켜 체지방 함량을 낮추는데 효과적이었고 더 나아가 심혈관계 질환 예방에 효과적일 것으로 사료된다. 반면에, 혈청내 HDL-cholesterol 함량은 독활 열수추출 농축액 투여군에서 고콜레스테롤 식이 섭취군보다 유의적으로 높은 함량을 보였다. 이러한 혈청내 HDL-cholesterol 함량의 증가는 동맥경화의 진행을 억

제하거나 경감시키는 작용을 하여²¹⁾. 독활 열수추출 농축액 투여군의 동맥경화지수가 감소된 것으로 사료된다.

동맥경화증의 위험인자들이 세포내 산화 스트레스를 증가시키고, 혈관 염증 반응을 조절하는 유전자 발현을 변화시켜 동맥경화증을 발생시킬 것이라는 가설이 제시되면서 산화 스트레스가 동맥경화증의 발생에 관여할 것이라는 많은 연구 결과들이 보고되고 있다. 또한, 최근에는 동맥경화증의 만성 염증성 변화들이 산화 스트레스에 의한 혈관 내막 세포들의 redox state의 변화에 기인할 가능성이 주목을 받고 있다.

또한 독활 열수추출액 투여군의 콜레스테롤식이 흰쥐에 대한 콜레스테롤 축적억제효과를 해부학적으로 검토한 결과, 혈청내 콜레스테롤의 축적정도는 고콜레스테롤 식이 섭취군에서 많은 콜레스테롤 축적이 육안으로 관찰되었다. 그러나, 고콜레스테롤 식이 섭취군에 독활열수추출 농축액을 투여한 흰쥐에서는 정상군에 가깝게 콜레스테롤 축적이 현저하게 억제되었다. 이는 독활열수추출 농축액 투여가 고콜레스테롤 식이 섭취군에 대한 콜레스테롤 합성을 억제하고 축적을 방지하는 약리활성이 강함을 제시하는 것이다. 또한 혈관내피세포의 내막중식억제효과는 독활투여량 증가에 따라 감소하는 경향을 보이며 독활 800 mg/kg/day 군에 있어서는 대조군과 비교하여 유의하게 억제된 결과가 나타났다.

본 실험 결과로 독활은 고콜레스테롤 식이로 인한 흰쥐 동맥경화의 위험인자인 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증의 지질합량 조절 및 혈관내피세포의 내막중식억제의 유효성을 확인함으로써 동맥경화개선제로 활용가치가 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부/한국과학재단 기초과학연구센터육성사업의 지원으로 수행되었음 (과제번호 : R13-2005-013-01000-0)

참고문헌

1. Yong-Wook, Lee, Woo-Sup, Roh, Jong-Gyu, Kim and Pan-Gyi, Kim. Effects of Aloe Vera on the Cholesterol and Vitamin D2-induced Atherosclerosis in Rats, *J. Fd Hyg. Safety* 11(4):243-259, 1996.
2. 의학교육연수원. 가정의학. 서울; 서울대학교 출판부, pp 259-260, 2002.
3. Von, sonntag. 'The Chemical Basis of Radiation of biology' Tylor and Francis. (eds), London, 31, 1987.
4. Fridovich, I. Arch. Biochem. Biophys. 247, 1, 1986.
5. Mantha, S.V., Kalra, J., Prasad, K. Effect of probucol on hypercholesterolemia-induced changes in man, *Am J Clin Nutr* 17(5):281-286, 1965.
6. Del Boccio, G., Lapenna, D., Porreca, E., Penelli, A., Savini, F., Feliciani, P., Ricci, G., Cuccunillo, F. Aortic antioxidant defence mechanisms time-related changes in cholesterol-fed rabbits, *Atherosclerosis* 81(2):127-135, 1990.
7. Balkan, J., Kanbagli, O., Hatipoglu, A., Kucuk, M., Cevikbas, U., Aykac-Toker, G., Uysal, M. Improving effect of dietary taurine supplementation on the oxidative stress and lipid levels in the plasma, liver and aorta of rabbits fed on a high-cholesterol diet, *Biosci Biotechnol Biochem* 66(8):1755-1758, 2002.
8. Naito, M., Wu, X., Nomura, H., Kodama, M., Kato, Y., Kato, Y., Osawa, T. The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits, *J. Atheroscler Thromb* 9(5):243-250, 2002.
9. Jeon, S.M., Bok, S.H., Jang, M.K., Lee, M.K., Nam, K.T., Park, Y.B., Rhee, S.J., Choi, M.S. Antioxidative activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits, *Life Sci* 69(24):2855-2866, 2001.
10. Bok, S.H., Park, S.Y., Park, Y.B., Lee, M.K., Jeon, S.M., Jeong, T.S., Choi, M.S. Quercetin dihydrate and gallate supplements lower plasma and hepatic lipids and change activities of hepatic antioxidant enzymes in high cholesterol-fed rats, *Int Vitam Nutr Res* 72(3):161-169, 2002.
11. 김창민의 3인. 완역중약대사전, 서울, 정담, pp 1056-1064, 1999.
12. Hong Keun Cho, Yang Soo Jang, Small Dense LDL and Atherosclerosis, *한국지질동맥경화학회지*, 13(2):333-338, 2003.
13. Witztum, J.L. Role of oxidized low density lipoprotein in atherosclerosis, *Br Heart J* 69(supple) s:12, 1993.
14. Steinberg, D., Parthasarthy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., et al. Beyond cholesterol: Modification of low density lipoprotein that increase its atherogenicity, *N Engl J Med* 320, 915, 1989.
15. Steinbrecher, U.P., Parthasarthy, S., Leake, D.S., Witztum, J.L., et al. Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involve lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids, *Proc Natl Acad Sci USA* 81:3883, 1984.
16. 오구택. 형질전환모델동물을 이용한 동맥경화증의 연구 및 치료제 개발. *한국생화학분자생물학회*, 생화학 뉴스, 22(1):12-21, 2002.
17. 이종달. 그림으로 설명한 병리학. 서울, 고려의학, pp 221-229, 1991.
18. 생물화학연구회. 생물화학. 서울, 동명사, pp 260-283, 1984.
19. Yugarmi, T., Tan, B.K., Das, N.P. The effects of tannic acid on serum lipid parameters and tissue lipid peroxide in the spontaneously hypertensive and Wister Kyoto rats, *Planta Med* 59(1):28-31, 1993.
20. Wursch, P. Influence of tannin-rich Carob Pob fiber on the cholesterol metabolism in the rat, *J Nutr* 109(4):685-692, 1992.
21. Sung, I.S., Park, E.M., Lee, M.K., Han, E.K., Jang, J.Y., Cho, S.Y. Effect of acom extracts on the antioxidative enzyme system, *J Kor Soc Food Sci Nutr* 26(3):494-500, 1997.