

구기자와 구기엽이 난소적출 흰쥐의 간에 미치는 영향

윤 중 식, 차 영 주, 김 정 상
동신대학교 한의과대학

The Effects of *Lycii fructus* and *Lycii folium* on the Liver in Ovariectomized Rat

Jung Sik Yoon, Young Ju Cha and Jeong Sang Kim

College of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju 520-714, Korea
(Received November 20, 2008; Accepted December 22, 2008)

ABSTRACT

We aimed to investigate whether the extracts of *Lycii fructus*, *Lycii folium*, and estradiol can attenuate on the level of cholesterol on serum and ultrastructure alteration of hepatocytes isolated from ovariectomized rats. Experimental groups are divided into five: Sham (sham-operated), OVX (ovariectomized animal), LCF (OVX, *Lycii fructus*), LCL (OVX, *Lycii folium*), and E₂ (OVX, estradiol).

The body weights of OVX group showed increase compared with Sham, LCF, and LCL groups. The levels of total cholesterol and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol were significantly decreased in the LCF and LCL groups compared with those of OVX group. Moreover, the High-density lipoprotein (HDL) cholesterol level was increased in the LCL group. As the results of electron microscopical observation, lipid droplets in the OVX group showed increase compared with Sham group. But in the LCF group not showed lipid droplets.

In conclusion, administration of *Lycii fructus* or *Lycii folium* lowers the serum cholesterol content of the ovariectomized rats and also the damage of the hepatocytes and formation of lipid droplets.

Keywords : *Lycii fructus*, *Lycii folium*, Ovariectomized rat, Cholesterol, Liver

서 론

통계청 2007년 한국의사회지표에 의하면 우리나라 국민의 질병에 의한 사망원인 중 하나인 간질환이 5위를 차지할 만큼 매우 높고 특히, 40~50대 성인남성의 경우는 간질환에 의한 사망률이 2위를 점유할 정도로 높은 수준이다. 간암에 의한 사망률 역시 2006년 기준 인구 10만 명당 남자 33.9명, 여자 10.9명으로 사망원인 중 매우 높은 수준이다 (Korea National Statistical Office, 2007). 간암을 포함한 만성

간질환에 의한 사망은 우리나라뿐만 아니라 전 세계 각국의 문제로 질병을 극복하고자 하는 노력이 세계 각국의 많은 연구자에 의해 활발하게 연구되고 있으며 이러한 간질환 치료와 예방을 위해 예로부터 한방이나 민간약으로 이용되어 온 약용식물자원에서 찾고자 관심을 두고 있다.

최근 급속한 생활수준의 향상과 웰빙 트렌드에 따른 건강에 대한 관심이 고조됨에 따라 다양한 가공식품과 의학의 발전에 따른 의약품이 개발되고 있다. 그러나 소비자의 오남용으로 오히려 건강에 심각한 영향을 미침에 따라 그 대처 방안으로 각종 질병의 치료와 예방을 위한 약용식물자원에

본 연구는 2005년도 중소기업청 산학공동기술개발지원사업에 의해 이루어졌음.

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

대한 관심이 높아지고 있어 이의 안전성과 효능평가를 위한 체계적인 과학적 검증이 필요하다고 생각된다.

구기자나무(*Lycium chinensis* Mill.)는 가지과(Solanaceae)에 속하는 낙엽송 소관목으로 성숙한 열매를 枸杞子(*Lycii fructus*), 뿌리의 껍질을 地骨皮(*Lycii cortex*), 잎을 枸杞葉(*Lycii folium*) 그리고 어린순을 天精草라 하여 예로부터 식용 및 약용으로 사용되어온 한약재의 일종으로써 간장보호, 허로, 무력감, 소갈, 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 결핵, 해소, 토혈 등에 사용되고 있다(Kim et al., 1994; Shin et al., 1997; Kim & Roh, 2000). 구기자와 구기엽은 補肝腎, 益精血, 明目 등의 효능이 있어 補養藥으로 쓰이며, 지골피는 高血壓, 解熱, 消渴 등의 치료에 쓰인다(Park et al., 2000).

구기자의 효능 연구에 대해서는 구기자 추출물의 항균효과(Park et al., 1992), 인체에 유익한 젖산균 생육촉진효과(Joo et al., 1997), 항산화효과(Cho et al., 2005; Park et al., 2005; Park et al., 2006), 항고혈압효과(Cho et al., 2005), 흰쥐 비장세포 증식능에 의한 면역조절 활성화(Park et al., 2000) 등이 보고되었으며 구기자 추출성분의 혈당강하작용(Kim et al., 1998), 항발암효과(Park et al., 2002) 등이 보고되었다. 한편 간에 대한 구기자의 효능 연구로는 인체 간암세포의 증식억제 효과(Park et al., 2002), 가토의 실험적 간장장애에 대한 구기자 추출물의 효과(Sheo et al., 1986), 구기자 알콜 추출물이 흰쥐 간조직의 유해산소 및 알콜대사 효소활성에 미치는 영향(Yoon et al., 2001), 구기자 투여 간손상 흰쥐의 GOT 및 GPT 상승 억제효과(Kim & Roh, 2000), 흰쥐 간손상에 의한 구기자의 유리자유기 소거능(Yoon et al., 2003), 사염화탄소(CCL₄)로 유발된 간손상에 대한 구기자 추출물의 효과(Kim et al., 1994; Cho et al., 2004)에 관련된 보고가 있었고 최근에는 구기자 추출물의 간독성 보호효과(Kang et al., 2006)에 대한 보고가 있었다.

본 연구는 구기자와 구기엽이 난소를 적출한 흰쥐의 간에 미치는 영향을 규명하고자 흰쥐의 양쪽 난소를 절취한 후 비만이 유발되어 가는 과정에서 각각의 추출물을 음용수에 혼합하여 8주간 투여한 후 체중, 혈청 지질, transaminase의 활성, 간세포의 미세구조 변화 등을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 실험동물

실험에 사용할 동물은 200±10 g의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 사용하며, 일반 고형사료(다물사이언스, Rat용)와 물을 충분히 공급하면서 1주간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 구기자와 구기엽의 추출 및 동결건조

본 실험에 사용한 구기자와 구기엽은 전남 진도군 진도 구기자유통영농조합에서 2005년도에 친환경유기농법으로 생산된 것을 제공받아 사용하였다. 구기자와 구기엽에 증류수를 가하여 대용약탕기(DWP-9900T, 한국)로 2시간 30분 전탕하였다. 전탕 후 감압 농축하였으며, 추출액은 부직포와 Whatman paper No.1으로 여과한 다음 동결 건조기(SFDSM06, 삼원, 한국)를 이용하여 동결 건조 후 분말 추출물을 얻었다.

2. 실험 방법

1) 흰쥐의 난소적출

생후 9주령의 Sprague-Dawley 흰쥐(SD계)를 무균 조작 하에 양측 난소 적출술을 시행하였다. 일반적인 수술 전 처치방법에 따라 10% 포비돈 요오드로 수술부위 및 주위를 소독한 후, 무균 조작 하에서 하복부의 피부, 근육, 복막의 절개를 시행하여 양측 난소를 모두 노출시킨 후 난소를 적출하고 절제부위는 결찰 및 봉합하였다.

2) 실험군의 설정 및 약물투여

구기자와 구기엽의 골다공증 예방효과에 관한 실험군은 정상군으로 난소적출하지 않고 하복부의 피부와 복막 절개 후 봉합한 가장수술군(Sham), 난소적출군(OVX), 난소적출 후 구기자 투여군(LCF)과 구기엽 투여군(LCL), 골다공증 예방 및 치료제인 에스트로겐 투여군(E₂)의 5개 군으로 분류하였다. 난소를 적출한 다음날부터 Sham군은 음용수로 물을 투여하였으며, LCF군과 LCL군은 음용수에 건조분말 100 mg/kg을 희석하여 매일 공급하였다. E₂군은 에스트로겐 0.01 mg/kg을 1일 1회 8주간 복강 주사하였다.

3) 체중측정

대조군과 실험군의 체중은 12시간 동안 절식시킨 다음 측정하였으며, 매주 1회 8주 동안 동일하게 측정하였다.

4) Total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, Triglyceride 함량측정

약물 투여 8주 후 흰쥐를 Pentobarbital sodium(Entobal, 한림제약)으로 마취(50 mg/kg/body weight, I.P.)한 다음 복부의 정중선을 따라 절개하고 심장 채혈을 시행하였다. 혈액은 시험관에 넣어 실온에서 30분간 방치하여 혈액을 응고시킨 다음 3,000 rpm에서 원심분리하여 혈청을 얻었다. Total cholesterol, Triglyceride는 Cholesterol-SL Kit, Triglyceride-SL Kit(ELITECH, France)를 사용하여 546 nm, 505 nm 파장에서 각각 측정하였다.

5) Transaminase 활성측정

혈청 중 GOT와 GPT의 활성 측정은 Reitman & Frankel

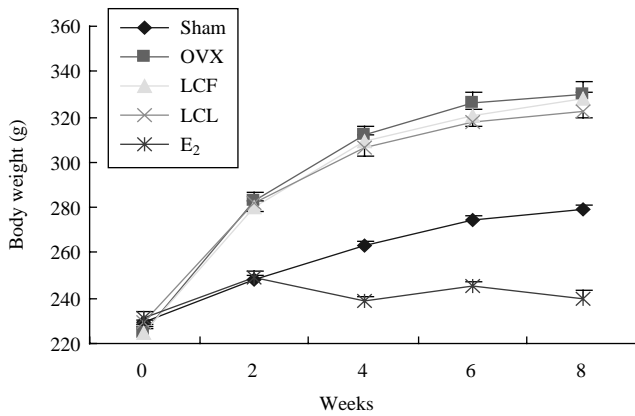


Fig. 1. Changes of body weight in rats. Sham: sham-operated, OVX: ovariectomized, LCF, LCL and E₂: ovariectomized and each of LCF, LCL and estradiol (E₂) administered group. Each point represents the mean value ± SD (n=7).

(1957)의 방법에 따라 kit 시약(아산제약)을 사용하여 측정하였다. GOT와 GPT 기질액 1.0 mL을 시험관에 넣고 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.2 mL을 넣어 잘 혼합한 다음 37°C에서 GOT는 60분, GPT는 30분간 반응시킨 다음 정색 시액 1.0 mL을 첨가하여 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시키고, 0.4 N NaOH 용액 10 mL을 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 505 nm에서 흡광도(Photometer 5010, Germany)의 변화를 측정하였다.

6) 전자현미경 관찰

간조직의 일부를 절취하여 전고정액 속에서 1 mm³크기로 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 (OsO₄)로 2시간 후 고정 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 nm두께로 초박절편을 제작하여 silver grid에 부착하였고, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 다음 Hitachi H-7600 투과형 전자현미경 (80KV)으로 관찰하였다.

7) 통계분석

모든 값은 mean ± standard deviation으로 나타낼 것이며, 통계처리는 SAS (Statistical analysis system, version 6.12) program에 의하여 각 실험군 별로 평균치와 표준오차를 계

Table 1. Total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, and triglyceride contents in the sera of sham-operated and ovariectomized rats treated with and without LCF, LCL and E₂

Group	Cholesterol (mg/dL)	HDL cholesterol (mg/dL)	LDL cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Sham	91 ± 4.5	59.3 ± 6.33	8.2 ± 0.65	38.0 ± 2.07
OVX	105 ± 4.2*	63.3 ± 5.21	12.6 ± 0.89	40.2 ± 2.03
OVX+LCF	86 ± 3.9	64.9 ± 4.04	8.8 ± 0.45*	36.2 ± 4.1
OVX+LCL	94 ± 4.3	70.4 ± 4.90	9.7 ± 0.52*	38.3 ± 0.9
OVX+E ₂	77 ± 1.3*	65.8 ± 3.55	3.3 ± 0.23*	52.0 ± 7.2*

Sham: sham-operated, OVX: ovariectomized, LCF, LCL and E₂: ovariectomized and each of LCF, LCL and estradiol (E₂) administered group. Each point represents the mean value ± SD (n=7). *indicates significant difference compared with Sham group at p < 0.05.

Table 2. The GPT and GPT activities in the sera of Sham-operated and ovariectomized rats treated with and without LCF, LCL and E₂

Group	GOT (U/L)	GPT (U/L)
Sham	92 ± 2.9	40 ± 5.1
OVX	93 ± 2.6	46 ± 1.7
OVX+LCF	94 ± 1.9	38 ± 4.7
OVX+LCL	90 ± 3.6	41 ± 4.2
OVX+E ₂	70 ± 2.9	45 ± 4.8

Sham: sham-operated, OVX: ovariectomized, LCF, LCL and E₂: ovariectomized and each of LCF, LCL and estradiol (E₂) administered group. Each point represents the mean value ± SD (n=7).

산하고 unpaired t-test를 시행하며, 유의수준은 0.05 이하인 경우로 한다.

결 과

1. 체중의 변화

체중의 계측은 수술 직전과 수술 후 2주, 4주, 6주, 8주째에 실시하였다. 실험에 사용한 모든 흰쥐는 12시간 동안 절식시킨 다음 측정하였다. Fig. 1에서 보여 주듯이 체중은 난소 제거 후 현저하게 증가하여 8주후 OVX군(330 ± 5.4 g)이 가장 높았으며, 구기자(328 ± 3.0 g)와 구기엽(322 ± 2.5 g)을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 약간의 감소하였으나 통계적인 차이를 보이지 않았다. E₂군(240 ± 3.3 g)은 정상 Sham군(279 ± 1.7 g)에 비하여 오히려 낮게 나타났다.

2. Total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, Triglyceride 함량

총 cholesterol의 농도는 난소 절제술을 통하여 난소가 제거된 OVX군(105 ± 4.2 mg/dL)에서 가장 높게 나타났는데 이와 같은 결과는 정상 Sham군(91 ± 4.5 mg/dL)에 비하여

유의성 있게 증가한 것이다. LCF군 (86 ± 3.9 mg/dL)과 LCL군 (94 ± 4.3 mg/dL)이 OVX군에 비해 낮게 나타났으며 유의성은 없었으나, E₂군 (77 ± 1.3 mg/dL)에서는 유의성 있게 감소하였다. 혈액 내 HDL cholesterol 함량은 OVX군 (63.3 ± 5.21 mg/dL)은 정상 Sham군에 비하여 약간 증가하였으며, LCL군은 OVX군에 비하여 다소 증가하여 정상 Sham군보다 높은 값을 나타냈다. LDL cholesterol 함량은 OVX군 (12.6 ± 0.89 mg/dL)이 가장 높았으며 LCF군, LCL군 그리고 E₂군은 OVX군에 비하여 유의성 있게 감소하였다. 구기자 추출액 섭취가 혈액 내 중성지방에 미치는 영향을 관찰한 결과 OVX군은 Sham군에 비하여 약간 증가하였으며, LCF군과 LCL군은 Sham군에 비하여 약간 낮게 나타났다. E₂군 (52.0 ± 7.2 mg/dL)은 Sham군과 OVX군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Table 1).

3. Transaminase의 활성

간 기능 활성을 검색하기 위하여 혈청 중 GOT와 GPT의 농도를 측정된 결과, GOT 활성은 Sham군 (92 ± 2.9 U/L), OVX군 (93 ± 2.6 U/L) 그리고 구기자를 투여한 LCF군 (94 ± 1.9 U/L)에서는 비슷한 수준을 나타냈다. 그러나 구기엽을 투여한 LCL군 (90 ± 3.6 U/L)에서 약간 감소하는 경향을 보여주었으나 유의적인 차이는 없었다. GPT 활성은 OVX군 (46 ± 1.7 U/L)이 Sham군 (40 ± 5.1 U/L)보다 높아지는 경향을 보였으며, LCF (38 ± 4.7 U/L)와 LCL군 (41 ± 4.2 U/L)에서는 Sham군과 비슷하게 감소하는 경향을 보였다(Table 2).

4. 간세포의 전자현미경 관찰

흰쥐 간 조직의 일부를 절취하여 전자현미경으로 간세포를 관찰한 결과, Sham군(Fig. 2A)의 핵은 핵막이 비교적 둥글게 나타났으며, 핵 주변에 조면소포체는 리보솜이 부착된 채로 층판구조가 분절된 형태를 이루고 있었다. 난소를 제거한 8주 후 OVX군(Fig. 2B, C)의 간세포에서 핵의 핵막은 둥글고, 핵 주변 세포질에서는 조면소포체가 관찰되었으나 전형적인 층판구조를 볼 수 없었다. 또한 조면소포체 표면에는 리보솜이 거의 탈락되어 있었다. 다양한 크기의 지방적들이 다수 관찰되었다. LCF군(Fig. 2D)에서 핵은 핵막이 비교적 둥글게 관찰되었다. 조면소포체는 Sham군에서처럼 층판구조가 분절된 형태로 관찰되었다. 그러나 OVX군에서 관찰되었던 지방적들은 거의 관찰되지 않았다. LCL군(Fig. 2E)의 핵은 핵막이 둥글게 관찰되었다. OVX군에서 관찰되었던 지방적들이 관찰되었는데 크기는 OVX군에 비하여 작았다. 조면소포체의 층판구조는 거의 관찰할 수 없었다. E₂군(Fig. 2F)은 핵막이 비교적 둥글게 관찰되었다. 핵 주변 세포질에서는 리보솜이 부착된 조면세포체가 전형적인 층판구조를 형성하였다.

고 찰

갱년기 여성은 급격한 생리적인 변화로 인해 50세 전후로 하여 필연적으로 폐경기에 도달함에 따라 에스트로젠(estrogen)의 생성과 분비가 억제되어 안면홍조, 불안, 우울, 신경과민, 기억력 감퇴, 혈액순환 부전, 체온조절 이상 등의 증상을 나타내며 갱년기 여성 70% 이상이 고통을 받고 있고 이들 중 10~20% 정도는 치료를 요한다(Bush & Barrett-Connor, 1985; Utian, 1989; Ogita, 1990).

에스트로젠은 난소에서 분비되며 여성의 성기발육과 2차 성징 발현에 관여하고, 난자성숙과 발육, 자궁내막 증식 및 골 생성을 촉진하는 작용을 가지고 있는 호르몬으로 골대사 및 심혈관계에 중요한 영향을 미치는데(Frawley & Neill, 1984), 폐경 후 에스트로젠의 급격한 감소는 골다공증과 비만을 유발시킬 뿐만 아니라 지질 대사에도 영향을 미쳐 동맥경화성 혈관질환 특히, 심혈관 질환을 유발할 가능성이 증가되는데, 폐경 여성의 사망률 증가 원인 중 심근경색증이 가장 큰 비중을 차지하는 것으로 보고되었다(Riggs, 1987; Rothmann & Simeone, 1992). 지질대사에 있어서 폐경이나 난소를 절제할 경우 에스트로젠 감소는 high-density lipoprotein (HDL) cholesterol 및 apolipoprotein (apo) A-1의 감소를 초래하고 low-density lipoprotein (LDL) cholesterol은 증가하여 심혈관계 질환의 발병 위험률이 증가한다고 보고하였다(Ross et al., 1989; Campos et al., 1990).

본 연구에 사용된 구기자나무(*Lycium chinensis* Mill.)는 가지과에 속하는 낙엽송 소관목으로 성숙한 열매를 구기자, 뿌리의 껍질을 지골피, 잎을 구기엽 그리고 어린순을 천정초라 하여 예로부터 식용 및 약용으로 사용되어온 한약재의 일종으로써 간장보호, 허로, 무력감, 소갈, 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 결핵, 해소, 토혈 등에 사용되고 있다(Kim et al., 1994; Shin et al., 1997; Kim & Roh, 2000). 구기자, 구기엽 그리고 지골피 중에는 betaine, zeaxanthin, β -carotene, rutin, kukoamine A, β -sitosterol, linoleic acid 등의 유효성분이 다량 함유되어 있어 항균효과, 항암효과, 항산화효과, 면역증진, 혈압강하 및 항당뇨 효과, 혈중 콜레스테롤 저하, 간기능 개선 효과 등의 다양한 생리·약리활성을 갖는다고 알려져 있다(Sheo et al., 1986; Park, 1995; Kim & Roh, 2000; Kang et al., 2006).

이에 본 연구에서는 흰쥐의 난소를 적출하여 에스트로젠 결핍으로 인한 인공 폐경 병태 모델을 만들고, 난소적출로 인하여 비만이 유발된 흰쥐에 있어서 구기자 추출물의 장기간 투여가 흰쥐의 혈청화학적 변화와 간 기능에 미치는 영향을 규명하고자 흰쥐의 양쪽 난소를 절취한 후 비만이 유발되어 가는 과정에서 구기자 추출물을 음용수에 혼합하여 8주간 투여한 후 체중, 혈청 지질, transaminase의 활성,

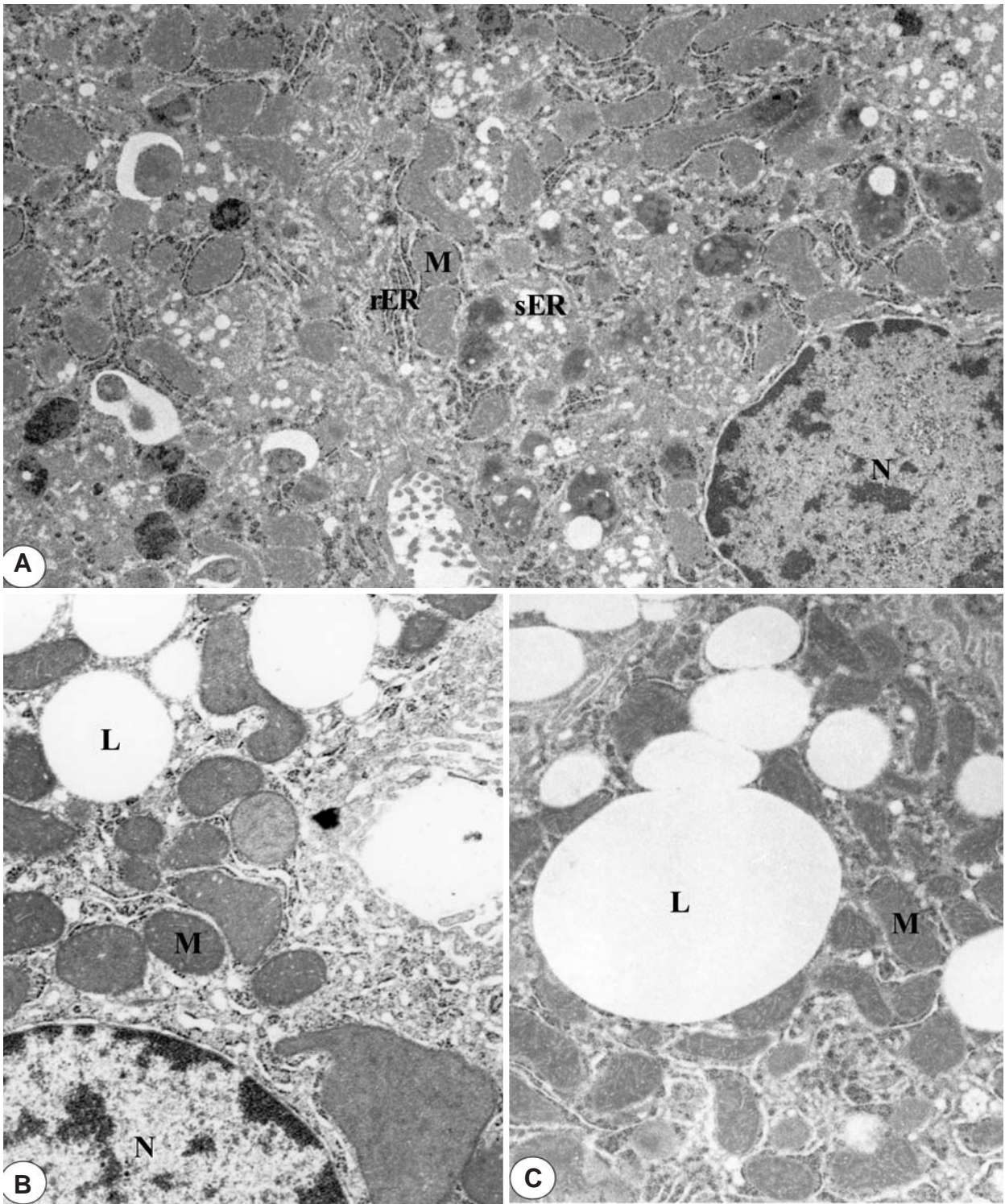


Fig. 2. Continued.

간세포의 미세구조 변화 등을 관찰하였다.

폐경기 실험모델로 가장 많이 사용하는 흰쥐의 난소적출 (OVX)군은 에스트로겐이 분비되지 않으므로, 체내 에너지

저장이 현저히 증가하는데 (Wade et al., 1985; Richard, 1986), 사람에서도 폐경기 이후 에스트로겐의 분비가 점진적으로 감소하면 체중, 특히 내장 지방의 증가가 폐경기 이

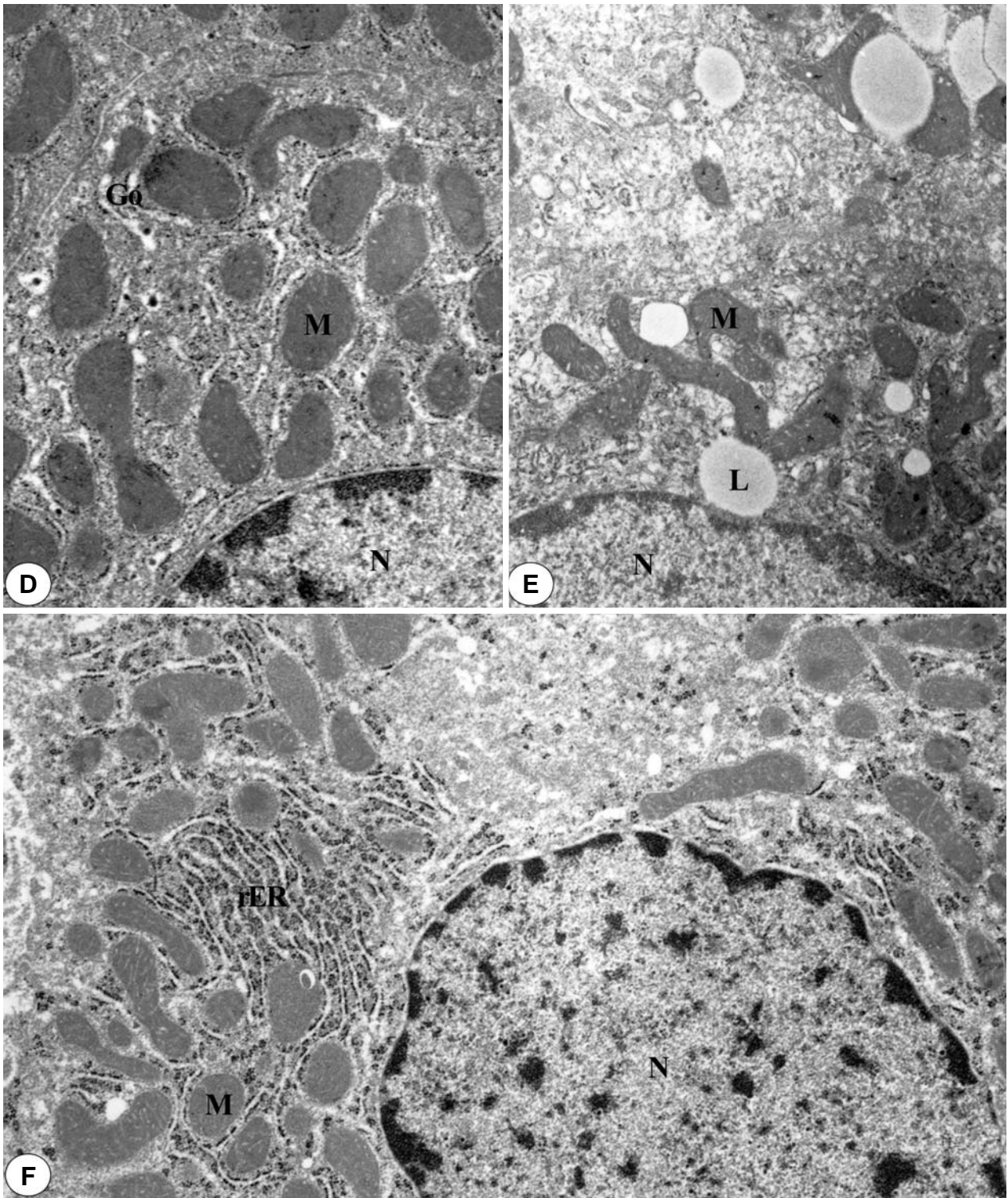


Fig. 2. Electron micrographs of Sham (A), OVX (B, C), LCF (D), LCL (E) and E₂ (F) group. A number of lipid droplet are observed in the OVX group. L, lipid droplet; M, mitochondria; N, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum; sER, smooth endoplasmic reticulum. A, C, E, $\times 12,000$; B, D, F, $\times 15,000$.

후의 여성들에서 보고되고 있다(Simkin-Silverman & Wing, 2000; Tchernof et al., 2000). 에너지 균형에 대한 에스트로

겐 손실의 결과는 고에너지 식이를 하는 사람들에게서는 건강상 문제를 야기하게 되는데, 실험동물 모델에서 OVX

나 고에너지 식이에 의하여 유발된 비만은 비정상적인 포도당과 지질대사를 유발한다는 보고가 있다 (Mantha et al., 1999; Picard et al., 2002). 한편 여러 연구자들에 의해 구기자 투여에 의하여 고지방 식이를 한 비만 흰쥐의 체중을 감소시켰음이 보고되었고 (Song, 1992; Kim et al., 1999; Kim & Roh, 2000; Yoon et al., 2003), 난소를 절제한 후 구기자 추출물을 투여한 결과 대조군 (OVX-control) 및 구기자 추출물 투여군이 Sham군보다 몸무게가 증가하는 경향을 보였음이 보고되었는데 (Kim, 2003), 본 실험에서도 OVX군이 체중증가가 가장 높았으며, OVX군 및 구기자와 구기엽을 투여한 LCF군과 LCL군이 난소를 절제하지 않은 Sham군보다 체중이 증가하는 것으로 나타나 Kim (2003)의 보고와 유사한 결과를 나타냈다. 이것은 난소의 에스트로겐 결핍에 의한 것으로 구기자 및 구기엽 추출물이 체중감소에는 크게 영향을 미치지 않았다. 한편 난소를 적출한 흰쥐에 에스트로겐을 투여한 E₂군은 정상 Sham군에 비하여 낮게 나타나 에스트로겐 투여가 체중의 증가를 억제하는 것으로 나타났다.

폐경으로 인해 여성에게서 나타나는 에스트로겐의 결핍은 심혈관계 질환의 위험을 증가시키는데 이러한 에스트로겐은 혈 중 동맥경화를 유발하는 LDL-cholesterol의 농도를 감소시키고 동맥경화를 억제하는 HDL-cholesterol의 농도를 증가시켜 심혈관 질환을 예방한다고 알려져 있다 (Bush & Barrett-Connor, 1985). 본 실험 결과 총 cholesterol의 농도는 난소 절제술을 통하여 난소가 제거된 OVX군에서 가장 높게 나타났는데 Sham군에 비하여 유의성 있게 증가하였다. 구기자 및 구기엽을 투여한 LCF군과 LCL군은 Sham군과 비슷한 수준이며 OVX군에 비해 감소를 나타냈고 E₂군에서는 유의성 있게 감소하였다. 한편 Kim (2003)은 난소 절제 후 구기자 추출물 투여군이 OVX군보다 혈중 HDL-cholesterol 농도가 유의적으로 높게 나타났으며, LDL-cholesterol의 농도는 OVX군이 Sham군보다 증가하였으나 구기자 추출물 투여군은 Sham군보다 높으나 대조군보다 낮은 경향을 나타냈다고 보고하였다. 본 실험에서도 혈액 내 HDL-cholesterol의 경우 OVX군은 Sham군에 비하여 약간 증가하였으나, 구기엽을 투여한 LCL군은 OVX군과 Sham군보다 높은 값을 보여주었다. 또한 LDL-cholesterol 함량은 OVX군이 가장 높았으며, OVX군에 비하여 구기자 및 구기엽을 투여한 LCF군과 LCL군 그리고 E₂군은 유의성 있게 감소하였다. 구기자 추출액 섭취가 혈액 내 중성지방에 미치는 영향을 관찰한 결과, OVX군은 Sham군에 비하여 약간 증가하였으며, LCF군과 LCL군은 대조군에 비하여 약간 낮게 나타났다. E₂군은 OVX군과 Sham군에 비하여 유의성 있게 증가하였다. 따라서 구기자 및 구기엽 투여군의 효과는 난소적출 후 혈중 지질을 개선시켜 관상동맥질환의 발생을 감소시키는데 역할을 할 것으로 사료된다.

간세포에 존재하는 효소인 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 및 glutamic pyruvic transaminase (GPT)의 활성치 증가는 세포장애 정도와 비교적 상관성이 좋을 뿐 아니라 다른 혈중 유출효소에 비하여 예민하게 변동한다. 또한 다른 조직보다 간은 transaminase의 조직 내 농도가 현저하게 높고 혈 중으로 유출이 쉬운 혈행구조를 갖고 있기 때문에 GOT와 GPT의 혈 중 농도를 간질환의 진단에 널리 이용하고 있다 (Reitman & Frankel, 1957). 본 실험에서 GOT 활성은 Sham군, OVX군 그리고 구기자를 투여한 LCF군은 비슷한 수준을 나타냈고 구기엽을 투여한 LCL군에서 약간 감소하는 경향을 보여주었으나 유의적인 차이는 없었다. GPT 활성은 난소를 적출한 OVX군이 Sham군보다 높아지는 경향을 보였으며, 구기자 및 구기엽을 투여한 LCF와 LCL군에서는 Sham군과 비슷하게 감소되었으며 유의적인 차이는 없지만 LCF군이 약간 더 감소한 경향을 보였다. 이러한 결과는 난소적출 흰쥐에서 구기자 및 구기엽 투여가 GOT와 GPT 활성을 약간이나마 감소시키는 것으로 보아 간 기능을 개선시킬 가능성이 있을 것으로 생각된다.

간은 생체 내에서 가장 큰 장기로서 외부로부터 유입된 다양한 화학물질과 음식물에 대하여 각종 소화 및 해독에 관련된 효소들을 생산하여 일차적인 대사를 담당하며 생명 유지에 있어 중요한 역할을 수행한다. 따라서 간장은 여러 가지 손상에 대하여 직접 반응함으로써 취약하게 된다 (Choi et al., 2004). Yoon et al. (2003)은 사염화탄소로 간의 손상을 유발한 흰쥐의 모델에 구기자를 투여한 결과 간손상에 주로 관여하는 것으로 알려진 cytochrome P450 2E1 (CYP2E1)이 사염화탄소를 처리한 군에서는 매우 높게 나타났으나 구기자 추출액을 전처리한 실험군에서는 거의 발현되지 않았으며 간조직을 절편으로 제작하여 hematoxylin and eosin 방법으로 염색한 후 광학현미경으로 관찰한 결과에서도 마찬가지로 구기자는 CCl₄로 유발된 실험적 간손상 모델에서 간 보호 활성을 가지고 있다고 하였다. 흰쥐의 난소를 절제한 후 간에 미치는 영향에 대한 보고로써, OVX 흰쥐에서 분리한 간세포의 변화에 있어서 산화적 스트레스 및 염증에 대해 에스트로겐을 투여함으로써 예방효과가 있다는 보고 (Castillo et al., 2005)와 OVX와 non-OVX 흰쥐에 카드뮴을 투여한 결과 간세포 괴사는 OVX 흰쥐에서만 발생하였고 신장독성 역시 현저하게 증가한다는 것을 관찰함으로써 카드뮴이 난소절제 흰쥐에 신장독성과 간독성을 증가시킨다는 보고 (Katsuta et al., 1993) 등이 있었다. 한편 Lee (2004)는 광학현미경으로 간조직의 형태를 관찰한 결과 고지방 식이만을 급여한 대조군의 간조직에서는 지방과립이 조밀하게 분포된 반면, 고지방 식이에 구기자 잎이 포함된 실험군에서는 정상대조군과 유사한 수준의 지방과립 형태를 관찰함으로써 지방축적 억제현상은 간조직 지질을 효과적으로 저하시킨 결과라고 보고하였다.

본 실험에서 Sham군의 핵 주변에 조면소포체는 리보솜이 부착된 채로 증판구조가 분절된 형태를 이루고 있었고, OVX군에서도 조면소포체가 관찰되었으나 전형적인 증판구조를 볼 수 없었다. 또한 조면소포체 표면에는 리보솜이 거의 탈락되어 있었다. 그리고 LCF군에서 조면소포체는 Sham군에서처럼 증판구조가 분절된 형태로 관찰되었다. E₂군은 핵 주변 세포질에서 리보솜이 부착된 조면소포체가 전형적인 증판구조를 형성하였다. OVX군에서는 다양한 크기의 지방적들이 다수 관찰되었다. LCF군에서 지방적들은 거의 관찰되지 않았다. LCL군에서는 지방적들이 관찰되었는데 크기는 OVX군에 비하여 작았다. 따라서 구기자와 구기엽이 잠재적으로 혈액 내 중성지방의 축적을 낮추고 항동맥경화 효과를 내포하고 있다고 사료되며, 이와 같은 결과는 전자현미경으로 관찰된 미세구조의 변화 결과와도 일치하였다.

이상의 결과로 보아, 구기자와 구기엽 추출액 섭취가 혈액과 간세포 내 지방성분을 개선하는데 효과적일 것이라 생각되었다.

참 고 문 헌

- Bush TL, Barrett-Connor E: Noncontraceptive estrogen use and cardiovascular disease. *Epidemiol Rev* 7 : 89-104, 1985.
- Campos H, Wilson PW, Jiménez D, McNamara JR, Ordovas J, Schaefer EJ: Differences in apolipoproteins and low-density lipoprotein subfractions in postmenopausal women on and off estrogen therapy: results from the Framingham Offspring Study. *Metabolism* 39(10) : 1033-1038, 1990.
- Castillo C, Salazar V, Ariznavarreta C, Vara E, Tresguerres JA: Effect of growth hormone and estrogen administration on hepatocyte alterations in old ovariectomized female wistar rats. *Endocrine* 26(1) : 11-18, 2005.
- Cho JH, Sin JS, Kim EJ, Shin SH, Jang JY, Shin KS, Kim YB, Kang JK, Hwang SY: Protective effect of *Lycii fructus* extract against hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride. *Korean J Lab Animal Science* 20(2) : 187-193, 2004. (Korean)
- Cho YJ, Chun SS, Cha WS, Park JH, Lee KH, Kim JH, Kwon HJ, Yoon SJ: Antioxidative and antihypertensive effects of *Lycii fructus* extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 34(9) : 1308-1313, 2005. (Korean)
- Frawley LS, Neill JD: Biphasic effects of estrogen on gonadotropin-releasing hormone-induced luteinizing hormone release in monolayer cultures of rat and monkey pituitary cells. *Endocrinology* 114(2) : 659-663, 1984.
- Joo IS, Sung CK, Oh MJ, Kim CJ: The influence of *Lycii fructus* extracts on the growth and physiology of microorganism. *J Korean Soc Food Nutr* 26(4) : 625-631, 1997. (Korean)
- Kang KI, Jung JY, Koh KH, Lee CH: Hepatoprotective effects of *Lycium chinense* Mill fruit extracts and fresh fruit juice. *J Korean Soc Food Nutr* 38(1) : 99-103, 2006. (Korean)
- Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J, Tsuchitani M, Umemura T, Marumo F: Ovariectomy enhances cadmium-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 119(2) : 267-274, 1993.
- Kim BW, Roh KS: Study on the activity of GOT and GPT in the hepatotoxic rat treated *Lycium chinense* Mill. *Korean J Miomed Lab Sci* 6(3) : 187-192, 2000. (Korean)
- Kim GJ, Kim HS, Lee YG: Effect of *Lycii fructus* extract on Pb levels of blood of the Pb-administered rats. *J Agri Tech & Dev Inst* 3 : 1-5, 1999. (Korean)
- Kim KS, Shim SH, Jeong GH, Cheong CS, Ko KH, Park JH, Huh H, Lee BJ, Kim BK: Anti-diabetic activity of constituents of *Lycii fructus*. *J Appl Pharmacol* 6 : 378-382, 1998. (Korean)
- Kim MH: The effects of *Lycii fructus* extracts on serum lipids content in ovariectomized rats. *Silla University J Natural Science* 12 : 29-36, 2003. (Korean)
- Kim NJ, Youn WG, Hong ND: Pharmacological effects of *Lycium chinensis*. *Kor J Pharmacogn* 25(3) : 264-271, 1994. (Korean)
- Korea National Statistical Office: Annual report on the cause of death statistics, each year, 2007.
- Lee JS: Effect of persimmon leaf, buckwheat leaf and flower, and Chinese matrimony vine leaf on body weight and lipid metabolism in rats and development of the functional sauce using these materials. *Kyungpook National University*, 2004.
- Mantha L, Palacios E, Deshaies Y: Modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integrative Comp Physiol* 277 : 455-464, 1999.
- Ogita S: Clinical effectiveness of Korea Ginseng on climacteric disturbances and its possible mechanism of action. *Korean J Ginseng Sci* 14(2) : 162-166, 1990.
- Park BH, Cho HS, Kim DH: Antioxidative effects of solvent extracts of *Lycii fructus* powder (LFP) and *Maejagwa* made with LFP. *J Korean Soc Food Nutr* 34(9) : 1314-1319, 2005. (Korean)
- Park JS, Park JD, Lee BC, Choi KJ, Ra SW, Chang KW: Effects of extracts from various parts of *Lycium chinense* Mill. on the proliferation of mouse spleen cells. *Korean J Medicinal Crop Sci* 8(4) : 291-296, 2000. (Korean)
- Park SJ, Park WJ, Lee BC, Kim SD, Kang MH: Antioxidative activity of different species *Lycium chinensis* Miller extracts by harvest time. *J Korean Soc Food Nutr* 35(9) : 1146-1150, 2006. (Korean)
- Park UY, Chang DS, Cho HR: Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 21(1) : 91-96, 1992. (Korean)
- Park WJ: Studies on chemical compositions and biological activities of *Lycium chinensis* Miller. *Konkuk University*, 1995.
- Park YJ, Kim MH, Bae SJ: Enhancement of anticarcinogenic effect by combination of *Lycii fructus* with vitamin C. *J Korean Soc Food Nutr* 31(1) : 143-148, 2002. (Korean)

- Picard F, Boivin A, Lalonde J, Deshaies Y: Resistance of adipose tissue lipoprotein lipase to insulin action in rats fed an obesity-promoting diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282(2) : 412-418, 2002.
- Reitman S, Frankel S: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 28(1) : 56-63, 1957.
- Richard D: Effects of ovarian hormones on energy balance and brown adipose tissue thermogenesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 250 : R245-R249, 1986.
- Riggs BL: Pathogenesis of Osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol* 156(5) : 1342-1346, 1987.
- Ross RK, Paganini-Hill A, Mack TM, Henderson BE: Cardiovascular benefits of estrogen replacement therapy. *Am J Obstet Gynecol* 160 : 1301-1306, 1989.
- Rothmann RH, Simeone FA: *The Spine*. 3th ed, WB Saunders Co., Philadelphia, pp. 1393-1404, 1992
- Sheo HJ, Jun SJ, Lee MY: Effects of *Lycii fructus* extract on experimentally induced liver damage and alloxan diabetes in rabbits. *J Korean Soc Food Nutr* 15(2) : 136-143, 1986. (Korean)
- Shin JS, Kim KS, Jeong GH, Cheong CS, Ko KH, Park JH, Huh H, Kim BK: Antidiabetic activity of *Lycii fructus*. *Kor J Pharmacogn* 28(3) : 138-142, 1997. (Korean)
- Simkin-Silverman LR, Wing RR: Weight gain during menopause. Is it inevitable or can it be prevented?. *Postgrad Med J* 108(3) : 47-50, 53-56, 2000.
- Song YS: Effect of Bangkihwanokitang, Bangkihwanokitang with *Lycii fructus* and *Lycii fructus* on the weight of obese rats. *The Journal of Wonkwang Oriental medicine* 2(1) : 102-120, 1992. (Korean)
- Tchernof A, Poehlman ET, Despoires JP: Body fat distribution, the menopause transition, and hormone replacement therapy. *Diabetes Metab* 26(1) : 12-20, 2000.
- Utian WH: Biosynthesis and physiologic effects of estrogen and pathophysiologic effects of estrogen deficiency: A review. *Am J Obstet Gynecol* 161 : 1828-1831, 1989.
- Wade GN, Gray JM, Bartness T: Gonadal influences on adiposity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1 : 83-92, 1985.
- Yoon CG, Kim HH, Chae SN, Oh MJ, Lee GH: Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. *J Korean Soc Food Nutr* 30(4) : 668-672, 2001. (Korean)
- Yoon SJ, Jung SY, Kim YM, Ha KT, Kim CH, Kim DW, Kim JK, Choi DY: The study of free radical scavenging effect of *Lycii fructus* by liver injury of rats. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 17(1) : 91-100, 2003. (Korean)

< 국문초록 >

구기자와 구기엽이 난소를 적출한 흰쥐의 간에 미치는 영향을 규명하고자 체중, 혈청 콜레스테롤, 간세포의 미세구조 변화를 관찰하였다.

실험군은 가상수술군 (Sham), 난소적출군 (OVX), 난소적출 후 구기자 투여군 (LCF)과 구기엽 투여군 (LCL), 에스트로겐 투여군 (E₂)의 5개 군으로 분류하였다. 난소를 적출한 다음날부터 Sham군은 음용수로 물을 투여하였으며, LCF군과 LCL군은 음용수에 건조분말 100 mg/kg을 희석하여 매일 공급하였다. E₂군은 에스트로겐 0.01 mg/kg을 1일 1회 8주간 복강 주사하였다.

체중은 OVX군이 가장 높았으며, E₂군이 가장 낮았다. 총 cholesterol의 농도는 OVX군 (105 ± 4.2 mg/dL)이 Sham군 (91 ± 4.5 mg/dL)에 비하여 유의성 있게 증가하였으며, LCF군 (86 ± 3.9 mg/dL)과 LCL군 (94 ± 4.3 mg/dL)이 OVX군에 비해 낮게 나타났다. HDL cholesterol 함량은 OVX군 (63.3 ± 5.21 mg/dL)에 비하여 LCF군 (64.9 ± 4.04 mg/dL)과 LCL군 (70.4 ± 4.90 mg/dL)이 다소 높았으며, LDL cholesterol 농도는 OVX군 (12.6 ± 0.89 mg/dL)에 비하여 LCF군 (8.8 ± 0.45 mg/dL)과 LCL군 (9.7 ± 0.52 mg/dL)이 낮았다. 간세포의 미세구조를 전자현미경으로 관찰한 결과 OVX군에서는 세포질에서 다양한 크기의 지방적들이 다수 관찰되었으나 LCF군에서는 지방적들이 거의 관찰되지 않았으며, LCL군은 세포질 전반에 걸쳐 지방적들이 관찰되었는데 크기는 OVX군에 비하여 작았다.

이상의 결과로 보아 구기자와 구기엽의 투여가 난소를 적출한 흰쥐의 혈청 콜레스테롤 함량을 낮출 뿐만 아니라 간세포의 손상과 지방적 생성을 억제하는 것으로 사료되었다.