

## 加味地黃湯이 高脂血症 關聯 因子에 미치는 영향

박소애, 조현경, 유호룡, 김윤식, 설인찬, 안정조  
대전대학교 한의과대학 심계내과학교실

### The Effects of *Gamijihwang-tang*(GJT) on Hyperlipidemia in Rats

So-ae Park, Hyun-kyung Jo, Ho-ryong Yoo, Yoon-sik Kim, In-chan Seol, Jung-jo An  
Division of Circulatory System, Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dae-jeon University

#### ABSTRACT

**Objective :** *Gamijihwang-tang*(GJT) has been used as a therapeutic agent for hyperlipidemia in oriental medicine for several years. This study was performed to investigate the effects of GJT on hyperlipidemia in rats using diverse biological methods.

**Method :** Hyperlipidemia was induced by a hyper-lipidemic diet fed for 4 weeks. Total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, and glucose were measured in the serum after an oral administration of GJT. Lipid peroxidase, SOD, catalase, ACAT, and HMG-CoA were measured in liver after oral administration of GJT.

#### Result :

1. GJT showed safety against cytotoxicity and toxicity in liver.
2. GJT significantly decreased rat's body and liver weight.
3. GJT significantly decreased serum total cholesterol and LDL-cholesterol, but increased serum HDL-cholesterol.
4. GJT significantly decreased serum triglyceride and glucose.
5. GJT significantly decreased lipid peroxidation and increased SOD and catalase in liver.
6. GJT significantly decreased ACAT and HMG-CoA reductase of cholesterol manifestation in liver.

**Conclusions :** These results suggest that GJT might be effective in treatment and prevention of hyperlipidemia.

**Key words :** *Gamijihwang-tang*(GJT), SHR, Hyperlipidemia, Cholesterol

## 1. 서론

인구의 노령화와 생활습관의 서구화에 따라 순환기계 질환이 꾸준히 늘어나고 있으며 그 중에서 동맥벽이 비후하고 굳어지는 동맥경화성 순환기 질환이 큰 비중을 차지하고 있다. 동맥경화의 위험인자 중 고지혈증은 혈청 속 지방질 증가로 인해

혈액이 탁해져 발생하는 것으로<sup>1</sup> 고칼로리 음식과 동물성 식품의 섭취 증가가 주요 원인이 된다<sup>2</sup>.

한의학적 측면에서 고지혈증은 痰飲, 瘀血 등의 범주에 속하며, 頭暈, 頭痛, 氣短, 胸悶 등의 증상을 나타내고, 嗜食肥甘厚味の 外的要因과 肝脾腎機能失調의 內的要因에 의해 發病되는 本虛標實의 병리적 특성이 있다<sup>3</sup>. 최근 고지혈증에 대한 한의학 연구로는 인진호, 지실, 백하수오, 단삼 등의 한약재<sup>4-7</sup>와 防風通聖散, 加味除濕順氣湯, 柴苓湯 등의 처방에 관한 실험적 연구가 있다<sup>8-10</sup>.

이에 본 연구에서는 임상에서 순환기계 질환에

· 교신저자: 안정조 충북 청주시 상당구 용담동 173-9번지  
대전대학교 청주한방병원 심계내과  
TEL: 043-229-3702 FAX: 043-253-8757  
E-mail: andalna@dju.kr

다용되고 있는 처방인 加味地黃湯<sup>11</sup>을 시료로 이용하여 고혈압을 동반한 고지혈증 유발 백서에 투여한 후, 혈청 cholesterol, triglyceride, glucose, albumin, 간조직의 항산화 활성, 간 조직의 cholesterol 발현 인자 등에 대해 관찰한 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 연구 방법

### 1. 재 료

#### 1) 동물 및 사육조건

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 180~220g의 응성 WKY (Wister Kyoto rat) 와 SHR (spontaneously hypertensive rat)이며, 실험 당일까지 고형사료(Crude protein above 22.1%, Crude fat above 8.0%, Crude fiber below 5.0%, Crude ash below 8.0%, Calcium above 0.6%, Phosphorus above 0.4%) 와 고cholesterol 식이 사료 (Bio-serv, U.S.A.)를 자유 식이하면서 물을 충분히 공급하였다. 실온은 22 ± 2°C, 상대습도 50 ± 10%, 조명시간 12시간 (07:00~19:00), 조도 150~300Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 쥐만을 선별하여 실험에 사용하였다. 일반 사료와 고cholesterol 식이 사료의 조성 내용과 분량은 Table 1, Table 2와 같다.

Table 1. Composition of Basal Diet

Composition	Content(%)
Crude protein	above 22.1
Crude fat	above 8.0
Crude fiber	below 5.0
Crude ash	below 8.0
Calcium	above 0.6
Phosphorus	above 0.4

Table 2. Composition of High Cholesterol Diet

Diets ingredient	Concentration (g/kg)
Purina mouse cow	750.00
Casein	75.00
Cocoa butter	75.00
Dextrose	25.00
Dextrin	16.25
Cholesterol	12.50
Cellulose	12.50
Sucrose	16.25
Mineral mix #200000	8.75
Sodium cholate	5.00
Vitamin mix #310035	2.50
Choline chloride	1.25
Total	1000.00

#### 2) 약 재

본 실험에 사용한 가미지황탕 (*Gamijihwang-tang* : GJT)의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입하여 정선한 후 사용하였다.

Table 3. The Compositions of *Gamijihwang-tang* (GJT)

Herb name	Scientific Name	Amount(g)
熟地黃	<i>Rehmannia glutinosa</i>	20
山藥(炒)	<i>Dioscorea japonica</i>	8
茯苓	<i>Poria cocos</i>	8
當歸	<i>Angelica gigas</i>	8
白芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i>	8
天麻	<i>Gastrodia elata</i>	6
川芎	<i>Cnidium officinale</i>	4
陳皮	<i>Citrus unshiu</i>	4
炙甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	4
麻黃	<i>Ephedra sinica</i>	2
鷄血藤	<i>Spatholobus suberectus</i>	12
豨簽酒蒸	<i>Siegesbeckia glabrescens</i>	12
釣鈎藤	<i>Uncaria rhynchophylla</i>	6
石菖蒲	<i>Acorus gramineus</i>	6
牛膽南星	<i>Arisaema amurense var. serratum</i>	6
Total amount		104

### 3) 시약 및 기기

#### (1) 시약

본 실험은 dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS-A), DNase type I, amphotericin B, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), RPMI 1640, penicillin, pyrogallol, streptomycin, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), 3.8% sodium citrate, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), bovine serum albumin (BSA), lipopolisaccharine (LPS)(Sigma Co., U.S.A.), collagenase A (BM, U.S.A.), DNase I (Life technologies, U.S.A.), first strand cDNA synthesis kit (Amersham pharmacia, U.S.A.), trypsin, dimethyl sulfoxide (DMSO; Sowa chemical., Japan), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Dongyang chem., Korea), ethylacetate (Junsei., Japan), potassium phosphate monobasic (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)(Yakuri., Japan) 등을 사용하였고, 이 밖에 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

#### (2) 기기

본 실험은 ice-maker (Vision, Korea), serum separator (녹십자, Korea), minos-ST (Cobas Co., France), centrifuge (Beckman Co., U.S.A.), rotary vacuum evaporator (Büchi 461, Switzerland), deep freezer (Sanyo Co., Japan), freeze dryer (EYELA, FDU-540, Japan), autoclave (Hirayama, Japan), ultrasonic cleaner (Branson ultrasonics Co., U.S.A.), ELISA reader (molecular device., U.S.A.), roller mixer (Gowon scientific technology Co., Korea), 한약유출기 (DWP-1800T, 대웅, Korea), spectrophotometer (UV-2450, Shimazu, Japan), fluorescence activated cell sorter (FACS, Beckman Co., U.S.A.), balance (cass, Korea), 생화학기기 (AU300, Olimpus, U.S.A.) 등의 기기를 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 약재 추출

시료 추출 방법은 GJT 2첩(약 208g)을 한약 유

출기에 넣고, 증류수 1500ml와 같이 혼합하여 3시간 열탕하여 추출한 후 흡입 여과하였다. 이를 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하여 GJT 농축 물을 얻은 후, 다시 freeze dryer에서 24시간 동결 건조하여 분말 18g을 얻었으며, 얻어진 분말은 초저온 냉동고 (-80℃)에서 보관하면서, 실험에 따라 필요한 농도로 증류수에 용해한 후 사용하였다.

### 2) 독성 검사

#### (1) 세포 독성 검사

세포 독성 측정은 MTT assay로 하였다. 배양한 human fibroblast cell (hFCs) 96 well plate에 2×10<sup>4</sup>cell 씩 분주한 후 배양하고, 24시간 후 GJT를 500, 250, 125, 62.5, 32.15 (μg/ml)의 농도를 투여하였다. 다시 48시간 배양 후 부유액을 제거하고, 각 well에 MTT solution 100μl 씩 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 부유액을 제거하고 각 well에 100μl의 DMSO를 첨가하여 37℃ CO<sub>2</sub> 배양기에서 30분 동안 반응 시킨 후 ELISA reader를 사용하여 wave length 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (2) 간 독성 검사

실험 종료 후 혈액을 채취 해 혈청을 분리하여 AST, ALT 검사를 실시하였다.

### 3) *In vivo*

(1) 고cholesterol 사료에 의한 고지혈증 유발과 약물투여

각 실험군은 정상군으로 WKY와 SHR에는 표 1(table 1)의 일반 식이와 식수를 충분히 공급하였고, 대조군은 SHR에 고cholesterol 식이와 식수를 충분히 공급하였다 그리고 GJT투여군은 SHR에 표2(table 2)의 조성으로 만들어진 고cholesterol 식이와 식수를 충분히 공급하였으며 고cholesterol 식이 투여와 함께 4주간 GJT를 몸무게 60kg의 성인이 하루 2첩을 음용하였을 때를 기준으로 300mg/kg /0.5ml의 양으로 매일 정해진 시간에 투여하였다.

#### (2) 체중 및 간 중량 측정

##### ① 체중 변화 측정

체중 증가량은 고cholesterol 식이 투여를 시작한 주부터 4주간 매주 같은 시간에 측정하여 평균값을 산출하였다.

#### ② 간 중량 측정

6주간의 실험 종료 후 몸의 혈액을 제거한 후 간을 적출하여 중량을 측정하였다.

#### (3) 채혈 및 혈장 분리

GJT의 투여 종료 후 12시간 절식 후 ether로 마취시킨 다음 심장에서 12ml 이상의 혈액을 취하여 5ml를 15ml conical tube에 넣어 6,500rpm에 15분간 원심 분리시켜 혈청을 분리하였다. 나머지 6ml의 혈액을 EDTA가 첨가된 튜브에 넣어 혈장을 분리하였다.

#### (4) 혈청 및 혈장 성분 측정

분리한 혈청은 생화학기기를 이용하여 total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, glucose 그리고 albumin을 측정하였다.

#### (5) 간조직의 효소활성 측정

##### ① 효소원 제조

적출한 간은 PBS로 세척하여 수분을 제거하고 1g의 간 조직에 10ml의 0.25M sucrose / 0.5mM ethyl diamine tetraacetic acid (EDTA) / 5mM N-2-hydroxyethyl- piperazine-N-2-ethane sulfonic acid (HEPES) 용액을 가하여 ultra homogenizer를 이용하여 빙냉 하에서 마쇄하였다. 마쇄한 용액을 4°C, 600xg로 15분간 원심 분리하여 핵 및 미미체 부분을 제거한 후 4°C, 8000xg로 30분간 원심 분리하여 1ml의 상등액을 TBARS 함량측정에 사용하였다. 나머지는 4°C, 10000xg에서 30분간 원심 분리하여 상등액 중 일부를 취하여 0.4배 양의 ethanol :chloroform (5:3) 냉혼합액을 가하여 2분간 진탕한 다음 다시 4°C, 10000xg에서 30분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 superoxide dismutase (SOD) 활성도 측정에 사용하였다. Catalase활성은 마쇄액을 4°C, 10000xg로 30분간 원심 분리하여 얻은 침전물에 0.25M sucrose 용액에 현탁시킨 다음 다시 4°C, 10000xg에서 20분간 원심 분리하여 얻

은 침전물에 0.25M sucrose 용액을 가해 현탁시켜 측정하였다.

##### ② 과산화지질 (TBARS) 함량 측정

간조직의 과산화지질 정량은 Sato법<sup>12</sup>을 이용하여 측정하였다. 제조한 간 조직 효소원 0.5ml 에 TCA용액 2.5ml 를 가하여 잘 섞은 다음 실온에서 10분간 방치한 후 1500xg에서 10분간 원심분리하여 상등액을 버리고 침전물은 0.05M 황산으로 1회 세척 후 침전물에 0.05M 황산 2.5ml와 0.6% TBA 3.0ml를 가하여 잘 섞은 후 95°C의 항온 수조에서 30분간 가열하였다. 가열 후 n-butanol:pyridine (15:1) 혼합액 3.0ml를 가하여 잘 섞은 후 1500xg에서 10분간 원심 분리하고 상등액을 취하여 530nm에서 흡광도를 측정하였다.

##### ③ 항산화 효소 (SOD) 활성 측정

Oyanagui의 방법<sup>13</sup>에 준하여 Cytochrome c, 2μM xanthine sodium, 50mM sodium phosphate buffer의 기질액에 효소액을 넣고 안정화 시킨 후 xanthine oxidase 50μl를 넣고 흡광도를 사용하여 550nm에서 2분간의 흡광도를 측정하였다. Xanthine/xanthine oxidase 반응으로 생성된 superoxide anion에 의해 cytochrome c가 환원되는 것을 측정하는데, SOD에 의해 superoxide anion의 양이 감소하여 cytochrome c가 변화하는 현상을 이용하여 SOD 활성을 측정하였다. Cytochrome c의 환원을 50% 억제하는 양을 SOD의 1 unit로 정의 하였다.

##### ④ Catalase 활성 측정

Aebi의 방법<sup>14</sup>을 이용하여 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) 2.89ml에 기질 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100μl를 넣어 25°C에서 5분간 반응 시켰다. 여기에 효소액 10μl를 가하여 다시 25°C, 240nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 흡광도 변화와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 mole흡광계수로 농도를 구하여 효소활성도를 측정하였다. 효소활성의 단위는 1분당 1mg protein이 분해하는 hydrogen peroxide의 양을 μmole로 표시하였다.

##### (6) Real time quantitative RT-PCR

① RNA 추출

미량의 간조직에 RNAzolB 500 $\mu$ l를 넣고 homogenizer로 마쇄한 후 chloroform (CHCl<sub>3</sub>) 50 $\mu$ l를 첨가한 후 15초간 다시 혼합하였다. 이를 얼음에 15 분간 방치한 후 13,000rpm에서 원심 분리한 후 약 200 $\mu$ l의 상층액을 회수하여 2-propanol 200 $\mu$ l와 동량 혼합 후 천천히 흔들고 얼음에서 15 분간 방치하였다. 이를 다시 13,000rpm에서 원심 분리한 후 80% EtOH로 수세하고 3분간 vacuum pump에서 건조하여 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 20 $\mu$ l의 증류수에 녹여 heating block 75 $^{\circ}$ C에서 불활성화 시킨 후 first strand cDNA 합성에 사용하였다.

② 역전사-중합효소 연쇄반응

역전사 (reverse transcription) 반응은 준비된 total RNA 3 $\mu$ g을 DNase I (10U/ $\mu$ l) 2U/tube를 37 $^{\circ}$ C heating block에서 30분간 반응한 후 75 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 변성시키고, 여기에 2.5 $\mu$ l 10mM dNTPs mix, 1 $\mu$ l random sequence hexanucleotides (25pmole/25 $\mu$ l), RNA inhibitor로서 1 $\mu$ l RNase inhibitor (20U/ $\mu$ l), 1 $\mu$ l 100mM DTT, 4.5 $\mu$ l 5 $\times$ RT buffer (250mM Tris-HCl, pH 8.3, 375mM KCl, 15mM MgCl<sub>2</sub>)를 가한 후, 1 $\mu$ l의 M-MLV RT (200U/ $\mu$ l)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20 $\mu$ l가 되도록 하였다.

이 20 $\mu$ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000rpm에서 5초간 원심 침강하여 37 $^{\circ}$ C heating block에서 60분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성하였다. 이를 다시 95 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 사용하였다.

③ Real time quantitative RT-PCR

간 조직으로부터의 총 RNA는 TRI 시약으로 분리하고, DNase I로 염색체의 DNA를 제거하기 위해 digested 하였다. 75 $^{\circ}$ C에서 20분 동안 DNase 과 5 $\mu$ g을 넣어 total RNA는 first strand cDNA

synthesis kit를 이용하여 cDNA를 transcription하였다.

기술된 것에 따라 real-time PCR은 applied를 사용하면서 수행되었다. Probes는 6-carboxy-fluorescein 으로 라벨을 붙이고, beta-actin cDNA는 모든 cDNA 과 같은 양을 포함한 각 cDNA 표본을 AmpliTaq gold DNA polymerase을 포함시켜 TaqMan universal PCR로 증폭시켰다. PCR 조건은 40cycles를 위한 50 $^{\circ}$ C에서 2분, 95 $^{\circ}$ C과 10분, 60 $^{\circ}$ C에서 15초 수행하였다. 사용된 probe는 Table 4와 같다.

Table 4. Primer Sequence for Quantitative RT-PCR Analysis

ACAT	Sense	CCTCCCGGTTTCATCTGATA
	Antisense	ACACCTGGCAAGATGGAGTT
HMG-CoA reductase	Sense	TGCTGCTTTGGCTGTATGT
	Antisense	TGAGCGTGAACAAGAACCA

$y = x(1+e)^n$ . x = starting quantity y = yield, n = number of cycles  
e = efficiency로 계산하여 RQ(relative quantitative)를 측정하였다.

4) 통계 처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean  $\pm$  standard deviation으로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's *t-test* 분석 방법을 이용하여 결정하였다. 각 대조군을 정상군과, 실험군을 대조군과 비교하여  $p < 0.05$  일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 연구 결과

1. 독성 검사

1) 세포독성 평가

세포독성을 관찰한 결과 hFCs에서는 대조군의 세포생존율 100.1 $\pm$ 0.3 (%)에 대하여, GJT의 500, 250, 125, 62.5, 31.25 ( $\mu$ g/ml) 농도에서 각각 85.2 $\pm$ 0.9, 87.2 $\pm$ 1.3, 91.2 $\pm$ 0.4, 94.1 $\pm$ 1.4, 102.5 $\pm$ 1.0 (%)로 나타났다(Fig. 1).

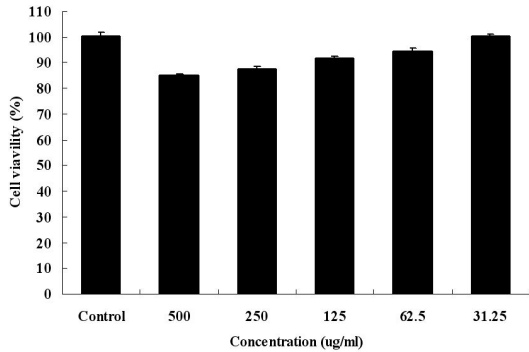


Fig. 1. Cytotoxicity of GJT on hFCs.

hFCs were treated with various concentration (500, 250, 125, 62.5, 31.25  $\mu\text{g/ml}$ ) of the GJT extract.

2) 간 독성 평가

간 기능 측정의 지표 성분인 AST는 WKY는  $235.7 \pm 6.7$  (I.U./L), SHR은  $202.7 \pm 7.6$  (I.U./L), HChol-SHR은  $349.7 \pm 8.5$  (I.U./L), GJT-SHR은  $297.7 \pm 17.2$  (I.U./L)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (+++ :  $P < 0.001$ , ### :  $P < 0.001$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\*\* :  $p < 0.01$ ) 감소를 나타냈다. ALT 수치에서는, WKY는  $41.0 \pm 2.6$  (I.U./L), SHR은  $43.7 \pm 8.1$  (I.U./L), HChol-SHR은  $263.3 \pm 30.1$  (I.U./L), GJT-SHR은  $179.3 \pm 53.1$  (I.U./L)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (+++ :  $P < 0.001$ , ## :  $p < 0.01$ ) 증가를 나타냈다(Fig. 2).

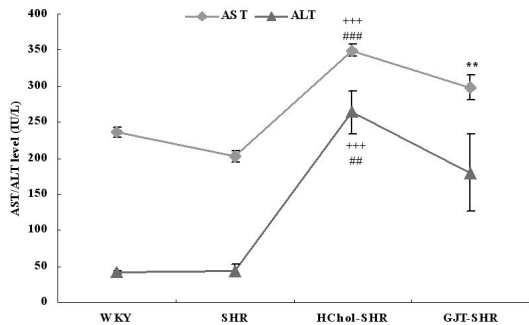


Fig. 2. Effect of GJT on the AST and ALT in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### :  $p < 0.001$ , ## :  $p < 0.01$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\*\* :  $p < 0.01$ ).

2. In vivo

1) 체중 및 간 중량에 미치는 영향

(1) 체중 변화에 미치는 영향

고cholesterol 식이를 시작한 주부터 4주간 매주 체중 변화를 측정한 결과, 각 1, 2, 3, 4주의 체중은 아래와 같이 나타내었으며 HChol-SHR군의 4주째에서 SHR군에 비하여 유의성 있는(# :  $p < 0.05$ ) 증가를 나타냈다(Fig. 3).

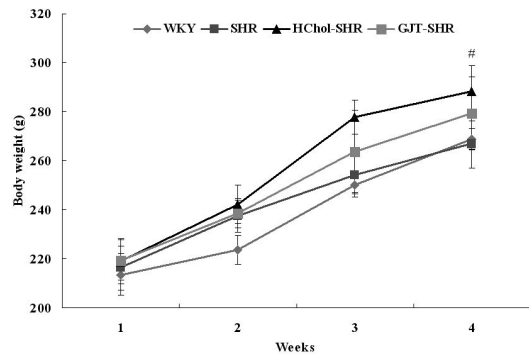


Fig. 3. Effect of GJT on the body weight in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (# :  $p < 0.05$ ).

(2) 간 중량 변화에 미치는 영향

간의 무게를 측정된 결과, WKY는 7.1±0.4 (g), SHR은 8.3±0.4 (g), HChol-SHR은 20.1±1.2 (g), GJT-SHR은 16.9±1.2 (g)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (+++ : P <0.001, ### : P <0.001) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\* : P <0.01) 감소를 나타냈다 (Fig. 4).

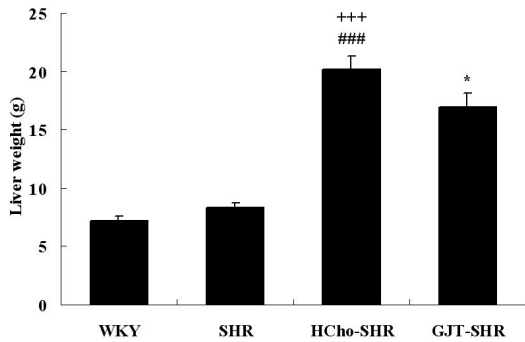


Fig. 4. Effect of GJT on the liver weight in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means ± SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ : p<0.001). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### : p<0.001). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* : p<0.01).

2) Cholesterol 변화에 미치는 영향

(1) Total cholesterol의 변화에 미치는 영향

혈청 내 total cholesterol의 변화를 분석한 결과, WKY는 99.0±3.6 (mg/dl), SHR은 59.0±2.0 (mg/dl), HChol-SHR은 114.0±8.9 (mg/dl), GJT-SHR은 87.7±8.5 (mg/dl)으로 나타나 HChol-SHR은 SHR에 비하여 유의성 있는 (### : P <0.001) 증가

를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\* : P <0.05) 감소를 나타냈다 (Fig. 5).

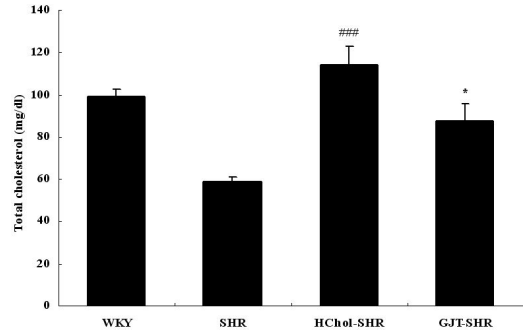


Fig. 5. Effect of GJT on the total cholesterol level in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means ± SD of 6 rats. Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### : p<0.001). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* : p<0.05).

(2) LDL-cholesterol의 변화에 미치는 영향

혈청 내 LDL-cholesterol의 변화를 분석한 결과, WKY는 16.4±0.9 (mg/dl), SHR은 8.7±0.6 (mg/dl), HChol-SHR은 72.0±16.6 (mg/dl), GJT-SHR은 49.1±5.6 (mg/dl)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (+++ : P <0.001, ### : P <0.001) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\* : P <0.05) 감소를 나타냈다 (Fig. 6).

(3) HDL-cholesterol의 변화에 미치는 영향

혈청 내 HDL-cholesterol의 변화를 분석한 결과, WKY는 82.2±4.0 (mg/dl), SHR은 47.5±2.7 (mg/dl), HChol-SHR은 37.7±2.7 (mg/dl), GJT-SHR은 47.5±3.5 (mg/dl)으로 나타나 HChol-SHR군은 WKY군과

SHR군에 비하여 유의성 있는 (+++ :  $P < 0.001$ , # :  $P < 0.05$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR군에 비하여 유의성 있는 (\* :  $P < 0.05$ ) 증가를 나타냈다(Fig. 7).

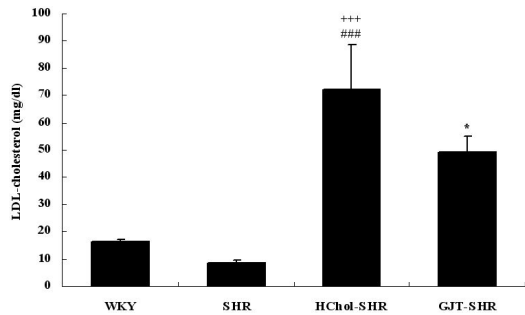


Fig. 6. Effect of GJT on the LDL cholesterol level in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* :  $p < 0.05$ ).

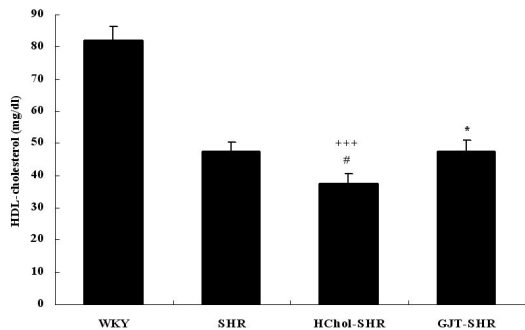


Fig. 7. Effect of GJT on the HDL cholesterol level in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline

(0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (# :  $p < 0.05$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* :  $p < 0.05$ ).

### 3) Triglyceride 변화에 미치는 영향

혈청 내 triglyceride의 변화를 분석한 결과, WKY는  $30.0 \pm 4.0$  (mg/dl), SHR은  $28.7 \pm 2.1$  (mg/dl), HChol-SHR은  $56.7 \pm 2.9$  (mg/dl), GJT-SHR은  $43.7 \pm 7.2$  (mg/dl)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (+++ :  $P < 0.001$ , ### :  $P < 0.001$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\* :  $P < 0.05$ ) 감소를 나타냈다(Fig. 8).

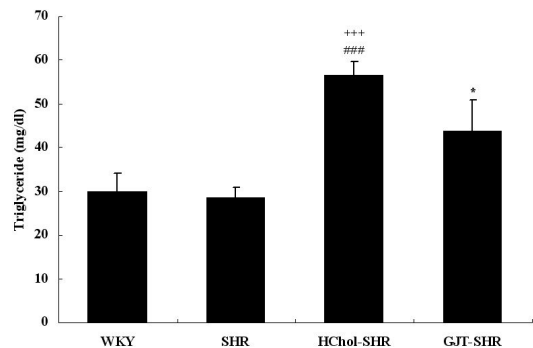


Fig. 8. Effect of GJT on the triglyceride level in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* :  $p < 0.05$ ).



4) Glucose 변화에 미치는 영향

혈청 내 glucose의 변화를 분석한 결과, WKY는 127.71±17.6 (mg/dl), SHR은 176.3±19.3 (mg/dl), HChol-SHR은 266.0±26.9 (mg/dl), GJT-SHR은 211.3±4.2 (mg/dl)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (++) : P <0.001, ## : P <0.001) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\* : P <0.05) 감소를 나타냈다(Fig. 9).

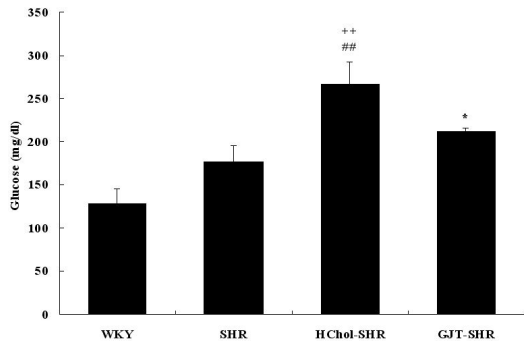


Fig. 9. Effect of GJT on the glucose level in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means ± SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (++) : p<0.001). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (## : p<0.001). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* : p<0.05).

5) Albumin 변화에 미치는 영향

고cholesterol 식이사료를 먹인 생쥐의 혈청 내 albumin을 분석한 결과, WKY는 3.4±0.1 (g/dl), SHR은 3.3±0.1 (g/dl), HChol-SHR은 3.5±0.2 (g/dl), GJT-SHR은 3.3±0.3 (g/dl)으로 나타나 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 감소는 나타냈으나 유의성은 없었다(Fig. 10).

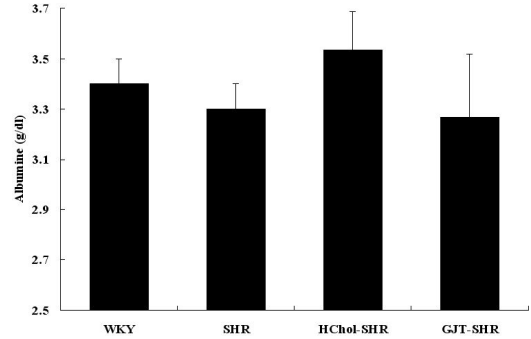


Fig. 10. Effect of GJT on the Albumin Level in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means ± SD of 6 rats.

6) 지질과산화도(TBARS) 변화에 미치는 영향

간조직에서 지질과산화도(TBARS)의 변화를 측정 한 결과, WKY는 6.6±0.9 (nmol/mg), SHR은 9.7±0.8 (nmol/mg), HChol-SHR은 24.3±2.3 (nmol/mg), GJT-SHR은 18.7±1.8 (nmol/mg)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (+++) : P <0.001, ### : P <0.001) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\* : P <0.01) 감소를 나타냈다(Fig. 11).

7) 간조직의 항산화 효소활성에 미치는 영향

(1) SOD의 활성에 미치는 영향

간조직에서 SOD의 활성을 측정한 결과, WKY는 8.2±0.3 (unit/mg protein/min), SHR은 6.4±0.3 (unit/mg protein/min), HChol-SHR은 5.3±0.2 (unit/mg protein/min), GJT-SHR은 5.9±0.1 (unit/mg protein/min)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (+++) : P <0.001, ## : P <0.01) 감소를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\*\* : P <0.05)

증가를 나타냈다(Fig. 12).

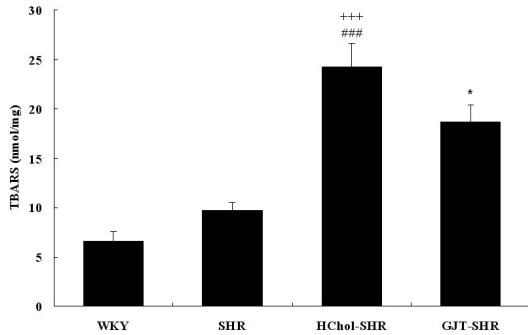


Fig. 11. Effect of GJT on hepatic thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) value in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* :  $p < 0.05$ ).

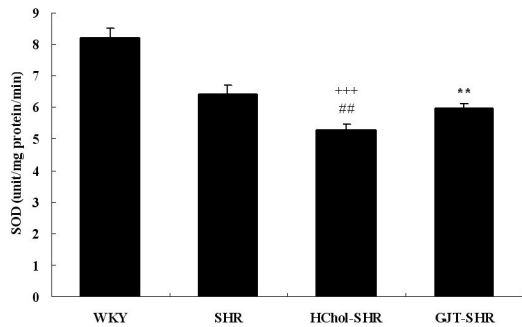


Fig. 12. Effect of GJT on hepatic SOD value in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT

(300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### :  $p < 0.01$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\*\* :  $p < 0.05$ ).

(2) Catalase의 활성에 미치는 영향

간조직에서 Catalase의 활성의 변화를 측정 한 결과, WKY는 18.3 $\pm$ 2.0 (unit/mg protein/min), SHR은 17.3 $\pm$ 1.9 (unit/mg protein/min), HChol-SHR은 7.2 $\pm$ 1.4 (unit/mg protein/min), GJT-SHR은 9.6 $\pm$ 0.8 (unit/mg protein/min)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 (++ :  $P < 0.01$ , ## :  $P < 0.01$ ) 감소를 나타냈고 GJT-SHR 군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 (\* :  $P < 0.01$ ) 증가를 나타냈다(Fig. 13).

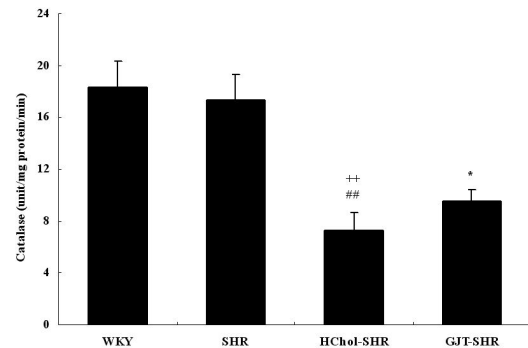


Fig. 13. Effect of GJT on hepatic catalase value in rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.  
 SHR : Normal SHR rat group.  
 HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.  
 GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test (+++ :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test (### :  $p < 0.001$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test (\* :  $p < 0.05$ ).

8) 간 조직의 cholesterol 인자 발현에 미치는 영향

(1) Hepatic ACAT의 변화에 미치는 영향

간 조직에서 ACAT의 mRNA 유전자 발현은 WKY는  $0.21 \pm 0.03$  (RQ), SHR은  $0.29 \pm 0.05$  (RQ), HChol-SHR은  $1.03 \pm 0.04$  (RQ), GJT-SHR은  $0.73 \pm 0.03$  (RQ)으로 나타나 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $++ : P < 0.01$ ,  $## : P < 0.01$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $* : P < 0.01$ ) 감소를 나타냈다(Fig. 14).

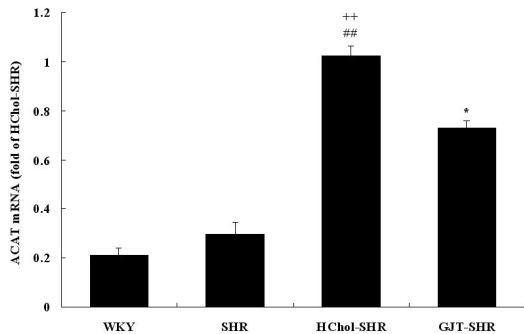


Fig. 14. Effects of GJT on the expression of ACAT mRNA level in the liver of rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.

SHR : Normal SHR rat group.

HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.

GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test ( $++ : p < 0.01$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test ( $## : p < 0.01$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test ( $* : p < 0.05$ ).

(2) Hepatic HMG-CoA의 변화에 미치는 영향

간 조직에서의 HMG-CoA reductase의 mRNA 유전자 발현은 WKY는  $0.4 \pm 0.03$  (RQ), SHR은  $0.47 \pm 0.03$  (RQ), HChol-SHR은  $1.01 \pm 0.01$  (RQ), GJT-SHR은  $0.67 \pm 0.03$  (RQ)으로 나타나 HChol-SHR

은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $++ : P < 0.01$ ,  $## : P < 0.01$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR군에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $** : P < 0.01$ ) 감소를 나타냈다(Fig. 15).

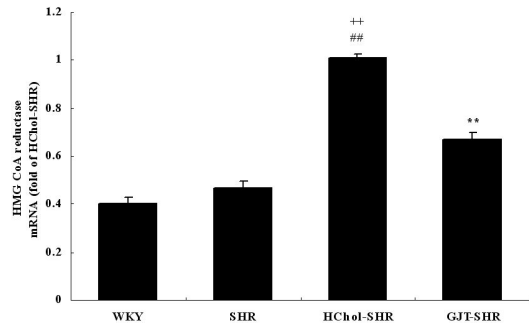


Fig. 15. Effects of GJT on the expression of HMG-CoA reductase mRNA level in the liver of rat fed high cholesterol diets.

WKY : Normal WKY rat group.

SHR : Normal SHR rat group.

HChol-SHR : High cholesterol diet and saline (0.5ml/day) treated group.

GJT-SHR : High cholesterol diet and GJT (300mg/0.5ml/day) treated group. Values represent the means  $\pm$  SD of 6 rats. Statistically significant value compared with WKY by *t*-test ( $++ : p < 0.01$ ). Statistically significant value compared with SHR by *t*-test ( $## : p < 0.01$ ). Statistically significant value compared with HChol-SHR by *t*-test ( $** : p < 0.01$ ).

#### IV. 고찰

고지혈증이란 혈중 total cholesterol이나 LDL-cholesterol, TG 농도의 증가를 의미하지만, HDL-cholesterol의 경우 농도가 감소하는 것으로 이상지질혈증을 의미하며 이를 조절하여 죽상경화증에 의한 관상동맥 질환의 발생을 예방하는 것이 치료의 목표가 된다. 혈청 지질은 지단백으로 부르는 다양한 크기의 구형 구조물을 형성하여 혈중에 존재하는데 지단백은 cholesterol, triglyceride(TG), 지용성 비타민 등의 수송에 필수적인 지방과 단백

의 복합체이다. 지단백은 밀도에 따라 chylomicron (CM), 초저밀도지단백(VLDL), 중간밀도지단백(IDL), 저밀도지단백(LDL), 고밀도지단백(HDL)의 5가지로 구분되는데 HDL은 가장 작고 가장 밀도가 높으며, chylomicron과 VLDL은 크고 밀도는 낮다. TG는 주로 chylomicron과 VLDL에 의해 수송되며, cholesterol은 LDL과 HDL에 의해 수송된다<sup>15,16</sup>.

National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III(NCEP ATP III)의 지침은 cholesterol, TG, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol을 측정하도록 권고하고 있는데<sup>17</sup>, 죽종 형성을 촉진하는 지단백의 증가와 죽상경화증의 진행 및 심혈관 질환의 발생은 밀접한 연관성이 있기 때문이다. 죽상경화증은 선진국에서 사망과 장애의 가장 중요한 원인으로 관상동맥에서는 심근경색증과 협심증을 일으키고, 뇌신경계에서는 뇌졸중이나 일과성 허혈발작을 일으킨다. 사지 동맥의 동맥경화는 간헐성 파행과 괴저를 일으키고, 사지의 생활력에 장애를 줄 수 있다<sup>15</sup>.

고지혈증은 한의학에서 中風, 頭痛, 眩暈, 肝陽上亢, 痺證, 胸悶, 胸痛 등과 관련이 있으며<sup>2</sup> 飮食失節, 運動不足, 七情損傷, 先天不足, 臟腑機能失調 등이 원인이다. 脾의 運化와 肝의 疏泄機能의 不足으로 濕濁의 重濁한 穢濁之氣가 體內에 停留되어 血脈에 濕濁, 瘀血 등이 발생하는 것으로 痰濁, 濕濁, 氣滯, 血瘀 등의 범주에 포함시킬 수 있다<sup>18</sup>. 또한 本虛標實證으로 볼 수 있는데 肝脾腎虛는 本虛에, 痰濕, 瘀血은 標實에 속한다. 治法에 있어서 滋補肝腎, 調理脾胃로 扶正하고, 活血化瘀, 利濕化痰으로 祛邪하여 標本同治, 補瀉兼施하므로 高脂血症의 治方은 補益藥, 利濕化痰藥, 活血化瘀藥 등이 相互組合되어 構成되어 있는 것이 많다<sup>19</sup>.

본 실험에 사용된 加味地黃湯(GJT)은 蒼濟證方에 기록된 加味地黃湯을 기본으로 하여 鷄血藤, 豨薟酒蒸, 鈞鉤藤, 石菖蒲, 牛膽南星을 가미한 처방으로 대전대학교 한방병원에서 순환기계 질환에 다

용되는 처방이다<sup>11</sup>. 이 처방은 주로 補益, 利濕化痰, 活血化瘀 등의 작용을 하는 약재로 구성된 것으로 六味地黃湯을 기본으로 한다. 熟地黃은 滋陰補血, 益精填髓하여 眞陰의 虛를 生하게 하는 主藥이고, 山藥은 脾陰을 補益하며, 固精하는 補助藥이다. 茯苓은 淡滲脾濕하게 하여 山藥의 益脾作用을 도와 眞陰을 補한다. 또한 方劑 中의 當歸, 熟地黃, 芍藥, 川芎은 四物湯의 概念과 脾胃를 制木補土하는 의미를 가지고 있으며 甘草는 調和諸藥하며 多用시 補脾益氣의 效能이 강해진다<sup>20</sup>. 陳皮, 石菖蒲는 化濕化痰하며, 牛膽南星은 祛痰작용 뿐 아니라 당지질대사에 효과가 있다<sup>21</sup>. 豨薟는 祛風濕, 通經絡, 清熱解毒하여 혈압강하 및 항산화작용을 가지며, 鷄血藤은 行血補血, 舒筋活絡하며 항염, 지질대사조절 및 면역 조절작용, 항산화활성 등에 효과가 있다는 보고가 있다<sup>22-4</sup>.

이에 저자는 GJT의 고지혈증에 미치는 영향을 연구하기 위하여 백서에 대해 WKY와 SHR, 그리고 SHR 대조군, GJT 투여군을 각각 나는 뒤 WKY, SHR 실험군에는 일반사료를 투여하고, 고cholesterol 식이로 유발된 고지혈증 백서모델을 이용하여 GJT를 투여하여 6주간 실험을 진행한 후 hFCs 배양세포에 대한 세포 독성 및 간 독성, 체중 및 간의 무게변화, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, glucose, albumin, 간 조직의 과산화지질 함량, 간조직의 SOD와 catalase, 간조직의 ACAT와 HMG-CoA reductase를 측정하였다.

본태성 고혈압 모델 白鼠인 SHR은 7~15주령에서 수축기의 혈압이 170~220mmHg을 유지하여 고혈압 실험에 널리 사용되고 있으며, 고cholesterol 식이 급여에 의한 고지혈증 실험모델로도 널리 사용되고 있다<sup>25,6</sup>. 고지혈증은 고혈압과 동반하여 죽상경화증을 촉진시키며, 고혈압 환자의 고지혈증 동반은 병리적 상승 작용으로 인하여 높은 사망률을 초래하게 된다<sup>27,8</sup>.

세포 독성을 관찰한 결과 GJT의 hFCs에 대한

세포 독성은 48시간 동안 투여했을 때 대조군의 세포 생존율에 대하여 세포의 생존 및 증식에 영향을 없었다. 실험 결과 모두 GJT를 투여한 군에서 AST와 ALT의 감소를 보여 GJT에 의하여 유발된 간 독성은 없는 것으로 나타났다.

고cholesterol 식이와 GJT가 체중 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 고cholesterol 식이를 시작한 주부터 4주간 매주 체중 변화를 측정된 결과 HChol-SHR군의 4주째에서 SHR군에 비하여 유의성 있는( $p<0.05$ ) 증가를 나타냈다. 혈중지질은 신체 비만도와 밀접한 관련이 있어서 BMI, %Fat이 증가함에 따라 HDL-cholesterol은 감소하고 total cholesterol, LDL-cholesterol 등 나머지 혈중지질 성분들은 뚜렷하게 증가하는 경향을 나타내는데<sup>29</sup> 이는 과체중 또는 비만에 의해 혈중지질이 증가한다는 의미이다<sup>30,1</sup>. 하지만 GJT투여군의 체중 감소에 미치는 영향은 유의하지 않았다.

GJT가 간의 무게에 미치는 영향을 알아보기 위해 고 cholesterol 식이에 의한 고지혈증 유발 쥐의 간의 무게를 측정된 결과, HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.001$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.01$ ) 감소를 나타냈다. 지속적인 고 cholesterol 식이는 간의 지방 축적을 진행시켜 지방간과 같은 간질환을 일으킬 수 있으며, GJT가 고 cholesterol 식이로 유발된 간의 지방 축적에 대한 억제작용이 있을 것으로 예측할 수 있었다.

간은 지단백의 생산과 대사를 주로 관장하는 장기이므로 간질환에서 혈장 지질에 다양하게 영향을 미친다. 일반적으로 지방간은 알코올, 당뇨, 비만 등에 의해서 유발되는데 환자들 중 30%정도는 고지혈증이나 당뇨병을 동반한다. 지방간 이외에도 감염, 약물, 알코올 등에 의한 간염은 VLDL 합성 증가에 의해 중등도의 고 TG 혈증을 일으키고, 중증 간염에서는 혈장 cholesterol과 TG 및 지단백 합성이 저하된다<sup>32</sup>. 지질대사에 있어 중추적인 역할

을 담당하고 있는 간은 섭취한 fatty acid을 필요에 따라 합성 또는 분해하여 지질 항상성을 유지시키는 기능을 가진다. 하지만 과량의 FFA가 흡수되면, 지단백의 생산이 이의 유입정도를 따르지 못해 항산화 활성의 감소 및 중성지방의 축적이 일어나 세포와 조직에 섬유성 변화가 일어나고 간 기능 장애 등을 일으키게 되어 다량의 free radical 발생을 초래시킨다. 장기간 고지방식이를 섭취한 실험 동물의 간에서는 AST와 ALT level 및 liver tissue malondialdehyde가 현저히 증가되는 것으로 보고되고 있다<sup>33,4</sup>.

혈청 내의 total cholesterol에 GJT 투여가 미치는 영향을 알아보기 위해 SHR의 혈청 내 total cholesterol의 변화를 분석한 결과, HChol-SHR은 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.001$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.05$ ) 감소를 나타냈다. LDL-cholesterol에 있어서는 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.001$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.05$ ) 감소를 나타냈다. 또한 HDL-cholesterol의 변화를 분석한 결과, HChol-SHR은 WKY와 SHR에 대해서는 유의성 있는 ( $P<0.001$ ,  $P<0.05$ ) 감소를, GJT-SHR에서는 유의성 있는 ( $P<0.05$ ) 증가를 나타냈다. 혈청 내 TG의 경우에는 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.001$ ) 증가를 나타냈고, GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P<0.05$ ) 감소를 나타냈다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 혈청 내의 다양한 고지혈증 지표인 total cholesterol, LDL-cholesterol, TG는 유의성 있는 증가를 나타내고, HDL-cholesterol은 유의성 있는 감소를 나타냄으로써, GJT의 혈청 내의 지질에 대한 유의성 있는 조절 효과를 확인하였다. 특히 total cholesterol, LDL-cholesterol과 TG가 모두 높고 HDL-cholesterol이 감소되어 있는 혼합형 고지혈증의 치료에 적합할 것으로 보인다. 관상동

맥질환 환자들에서 관찰되는 고지혈증은 단독 형태보다는 cholesterol과 TG가 모두 증가된 혼합형 고지혈증이 흔한 형태이다<sup>35-7</sup>.

혈중 glucose는 여러 호르몬에 의해 조절되는데 glucose의 세포막 투과나 효소계를 촉진하는 insulin은 혈중 glucose농도를 저하시키는 역할을 한다. 대사이상 장애로 고지혈증을 비롯한 고지방 섭취와 비만 등에 의해서 발생되기도 하는 당뇨병에 있어서 glucose의 농도가 함께 증가하는 것으로 알려져 있다. 이 같은 결과를 바탕으로 최근 고지혈증에 대한 약물 치료 중에서 주된 에너지원인 지방과 탄수화물 섭취가 심혈관계 질환에 미치는 영향에 대한 재검토가 이루어지고 있다<sup>38</sup>. GJT가 혈청 내 glucose의 변화를 분석한 결과, HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.001$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.05$ ) 감소를 나타내 GJT를 다양한 순환기계 질환 및 대사증후군에 응용할 수 있을 것으로 보인다.

Free radical은 산소를 소비하는 생명체에서는 정상적으로 생산되어 체내에서 해독작용이나 대사, prostaglandin의 생성 또는 살균작용 등을 하는데 매우 중요한 역할을 하고 있다. 하지만 비정상적으로 생성된 free radical은 심장혈관질환을 유발하는데 nitric acid가 감소되고, LDL-cholesterol이 혈관 내벽에 쌓이면서 죽반을 형성시킨다. 지질과산화 반응의 진행은 생리조건이 정상인 상태에서는 생체내부의 자체 방어 시스템에 의하여 대부분 소멸되지만 세포내 산화적 자극이 증가하여 free radical의 생성증가나 방어 체계 능력의 감소가 일어났을 때는 세포막의 투과성을 향진시킬 뿐만 아니라 전반적인 세포독성을 초래하여 노화 현상이나 다양한 병리 현상을 초래하게 된다<sup>39-41</sup>.

Free radical의 생성과 제거의 불균형으로 세포나 조직이 산화성 스트레스를 받게 되어 손상을 유발하는 기전 중 하나로 알려진 지질과산화도의 변화를 측정된 결과, HChol-SHR은 WKY와 SHR

에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.001$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.01$ ) 감소를 나타냈다. 또한 과산화지질 생성을 억제시키는 SOD와 catalase의 간 조직에서의 활성을 측정된 결과, 간 조직에서 SOD의 활성은 HChol-SHR은 WKY에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.001$ ) 감소를, SHR에 비하여도 유의성 있는 ( $P < 0.01$ ) 감소를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.05$ ) 증가를 나타냈다. Catalase 활성의 경우에는, HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.01$ ) 감소를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.01$ ) 증가를 나타냈다. GJT투여가 지질과산화도를 억제하고 항산화 활성을 증가시키는 효과를 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

간 조직에서의 ACAT의 mRNA 유전자와 HMG-CoA reductase의 mRNA 유전자 발현에 있어서도 HChol-SHR은 WKY와 SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.01$ ) 증가를 나타냈고 GJT-SHR에서는 대조군인 HChol-SHR에 비하여 유의성 있는 ( $P < 0.01$ ) 감소를 나타냈다. Acyl CoA Cholesteryl Acyl Transferase(ACAT)는 소장에서 cholesterol의 흡수, 간에서 VLDL의 합성, 지방세포 및 혈관내벽 상층의 주변 세포에서 cholesterol ester의 축적에 관여하는 효소로 ACAT의 활성화는 cholesterol ester의 축적을 증가시키며 이는 고 cholesterol혈증, 동맥경화증에 주된 역할을 하는 것으로 보고되어 있다<sup>42,3</sup>. HMG-CoA reductase는 cholesterol 생합성의 반응 속도를 조절하는 효소이며, 이 효소의 억제는 cholesterol 합성을 저하시킨다. HMG-CoA reductase inhibitor(statin)는 cholesterol 생합성을 억제하여 간의 LDL 수용체 활성을 증가시켜 순환 LDL 대사를 촉진하여 LDL-cholesterol을 저하시키고, 혈장 TG도 저하시키며, HDL-cholesterol을 증가시킨다<sup>44</sup>. 이와 같은 결과는 GJT투여가 cholesterol 생성 기전을 저해하여 혈중 지질을 낮추는 효과가 있으

며 고지혈증 발생의 예방 및 치료에 응용할 수 있음을 의미한다.

이상의 실험 내용을 종합해 보면 GJT를 고혈압을 동반한 고지혈증 유발 白鼠에 투여한 결과 혈청 내의 total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, glucose를 감소시키고, HDL-cholesterol을 증가시키며, ACAT의 mRNA유전자발현과 HMG-CoA reductase의 cholesterol합성을 저해시키는 효과를 나타내 혈중 지질 농도의 조절을 통해 고지혈증 유발을 억제하는 작용이 있는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 변화를 근거로 고지혈증으로 인하여 발생할 수 있는 다양한 질환을 예방할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 SOD와 catalase의 조직 내 수치 증가로 미루어 보아 항산화 활성을 증가시키는데 유효한 효과를 가지고 있어 노화 현상이나 혈관 내 손상을 막아 순환기계 질환에 유효한 효과가 있을 것으로 기대되며, 고지혈증으로 야기할 수 있는 죽상동맥경화증, 허혈성 심질환, 뇌경색, 고혈압, 비만, 당뇨병, 지방간, 간경변 등의 예방에도 응용할 수 있을 것이라 생각된다. 향후 이 연구결과를 바탕으로 하여 고지혈증에 대한 처방에 대한 추가적인 한의학적 실험 연구가 이어지기를 기대한다.

## V. 결 론

加味地黃湯(GJT)이 고지혈증에 미치는 영향을 알아보기 위하여 WKY(정상군), SHR(실험군), SHR대조군(고 cholesterol 식이 투여군), GJT 투여군을 상호 비교하여 체중변화와 간 무게의 변화, total cholesterol과 LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, glucose, albumin, SOD, catalase, ACAT, HMG-CoA reductase를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 加味地黃湯은 세포독성 및 간독성이 없는 것으로 나타났다.
2. 加味地黃湯은 체중 및 간 중량을 유의성 있게

감소시켰다.

3. 加味地黃湯은 혈청 내의 total cholesterol과 LDL-cholesterol을 유의성 있게 감소시켰으며, HDL-cholesterol을 유의성 있게 증가시켰다.
4. 加味地黃湯은 혈청 내의 triglyceride, glucose를 유의성 있게 감소시켰다.
5. 加味地黃湯은 간 조직 지질과산화도를 유의성 있게 감소시켰으며, SOD와 catalase를 유의성 있게 증가시켰다.
6. 加味地黃湯은 Hepatic ACAT와 HMG-CoA reductase의 발현을 유의성 있게 감소시켰다.

이상으로 加味地黃湯은 항산화능 및 항고지혈증 효과가 있는 것으로 생각되며 고지혈증에 대한 예방 및 치료에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

This study was supported by a grant of the Oriental Medicine R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea. (B080003).

## 참고문헌

1. 국립국어원. 표준국어대사전. 초판, 서울: 두산동아; 1999.
2. 전국한의과대학심계내과학교실. 심계내과학. 초판. 서울: 군자출판사; 2006, p. 169-73.
3. 방혜정, 고지혈증에 대한 한의학적 고찰. 동서의학. 1995;20:25-36.
4. 함인혜, 정성웅, 이경진, 박규하, 최호영. 인진호와 한인진이 Triton WR-1339로 유도된 고지혈증 흰쥐에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2005;20(1):45-52.
5. 함인혜, 이웅철, 이병희, 최호영. 국산과 중국산 지실이 Triton WR-1339 유발 고지혈증 흰쥐에

- 대한 효능 연구. 대한본초학회지. 2007;22(3):109-16.
6. 함인혜, 이주영, 윤예진, 양갑식, 태진, 부영민, 김호철. 국산 및 중국산 白首烏의 Triton WR-1339 유발 고지혈증 흰쥐에 대한 효능 연구. 대한본초학회지. 2007;22(4):279-86.
  7. 김형철, 김형우, 조수인, 김용성, 이장식, 권정남, 김영균. 단삼이 고지혈증 흰쥐의 혈중 지질변화와 간 조직에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2007;22(4):239-45.
  8. 이장천. 가미방풍통성산이 고지방식이 급여 흰쥐의 체지방구성고와 항산화능에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2005;20(2):69-75.
  9. 박종광, 최학주, 김동희. 가미제습순기탕이 고지혈증을 유발시킨 고혈압백서에서의 혈액학적 변화에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2006;15(1)19-31.
  10. 김정수, 김병탁. 시령탕이 고혈압 및 고지혈증에 미치는 영향. 대전대 한의학연구소 논문집. 2005;5(2):319-32.
  11. 申卿熙. 蒼濟證方. 초판. 서울: 三藏苑; 1990, p. 104.
  12. Sato N, Fujii K, Yuge O. In vivo and in vitro sevoflurane-induced lipid peroxidation in guinea-pig liver microsomes. 1994;75(6):366-70.
  13. Oyanagui Y. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. Anal Biochem. 1984;142(2):290-6.
  14. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121-6.
  15. Daniel J. Rader, Helen H. Hobbs. Harrison's Principles of Internal medicine. Section 3 Disorders of Intermediary Metabolism. 16th edition. MIP; 2006, p. 2038-40, 2058, 2500-12.
  16. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일. 3판. 서울: 의학문화사; 2003, p. 148-99.
  17. Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the third report of National cholesterol education Program(NECP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults(Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285:2486-97.
  18. 김영석, 문상관, 고창남, 조기호, 배형섭, 이경섭, 노상령, 조호란, 정위성. 心腦通, 降脂延壽丹 및 清心調氣湯의 高脂血症에 대한 實驗的研究. 대한한방내과학회지. 1998;19(1):202-18.
  19. 김병철, 이은주, 박치상, 박창국. 단삼음이 고지혈증에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2000;21(1):126-34.
  20. 강운호, 방혜정. 고지혈증의 치방에 대한 문헌적 고찰. 동서의학. 1996;21(2):70-81.
  21. 신재용. 방약합편해설. 서울: 전통의학연구소; 2000, p. 44-7, 62-8.
  22. 이정호, 김호준, 이명중. 천남성이 고지방식으로 유발된 비만 흰쥐의 당지질대사 및 조직화학적 변화에 미치는 효과. 대한한학회지. 2007;28(1):211-23.
  23. 全國韓醫科大學本草學教授 公編著. 本草學. 서울: 永林社; 2000, p. 121-3, 276, 302, 303, 347, 348, 409, 445, 450, 503, 504, 523, 537, 578-81.
  24. 신흥목. 회침의 혈관이완 효능과 항산화 동태에 관한 연구. 대한한학회지. 2000;41(3):77-83.
  25. Baecheon Cha, Eunhee Lee, Miae Noh. Antioxidant Activity of Spatholobus suberectus Dunn. Kor. J. Pharmacogn. 2005;36(1):50-5.
  26. Kumai T, Oonuma S, Kitaoka Y, Tadokoro M, Kobayashi S. Biochemical and morphological characterization of spontaneously hypertensive hyperlipidaemic rats. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2003;30(8):537-44.
  27. 한기훈, 이해영, 김광일, 이상학, 정익모, 서홍석. Cardiovascular Update. 초판. 2008;10(4)



- :32-46.
28. Am J Cardiol. Relation of the number of metabolic syndrome risk factors with all cause and cardiovascular mortality. 2008;102(6):689-92.
  29. 고성경. BMI와 %Fat에 의한 비만도 평가가 고지혈증 진단에 미치는 영향. 운동과학. 2004;14(1):21-30.
  30. 윤영숙. 여성의 비만. Background of epidermiology. 대한비만학회지. 2004;13(1):211-24.
  31. 장명래, 이운창, 신흥식, 조주연, 안재억, 김주자. 비만도와 비만유형에 따른 혈압, 혈당 및 혈청지질 및 지단백과의 관계. 가정의학회지. 1994;15(12):1076-87.
  32. Berk PD. Regulatable fatty acid transport mechanism are central to the pathophysiology of obesity, fatty liver, and metabolic syndrom. Hepatology. 2008;48(5):1362-76.
  33. Halliwell B. Biochemiacal mechanism accounting for the toxic action of oxygen on living organism. The key role of superoxide dismutase. Cell. Biol. Int. Rep: 1978, p. 2, 11.
  34. Freman, BA. and Crapo, JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab. Invest. 1982;47:412.
  35. 대한가정의학회. 가정의학 임상편. 초판. 서울: 계축문화사; 2002, p. 303-9.
  36. 윤건호, 손호영. 고지혈증 치료의 최신지견. 가정의학회지. 2000;21(5):31-6.
  37. Junyent M, Cofan M, Nunez I, Gilbert R, Zambon D, Ros E. Influence of HDL cholesterol on Preclinical Carotid Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26(5):1107-13.
  38. Arafa HM. Curcumin attenuates diet-induced hypercholesterolemia in rats. Med Sci Monit. 2005;11(7):228-34.
  39. Plant S, Shand B, Elder P, Scott R. Adiponectin attenuates endothelial dysfunction induced by oxidised low-density lipoproteins. Diab Vasc Dis Res. 2008;5(2):102-8.
  40. Mehmet Yalniz, I. Halil Bahcecioglu, Nalan Kuzu, Selman Celebi, Huseyin Ataseven, Bilal Ustundag, Ibrahim H.Ozerean, Kazim Sahin. Amelioration of Steatohepatitis with Pentoxifylline in a Novel Nonalcoholic Steatohepatitis Model Induced by High-Fat Diet. Dig Dis Sci. 2007;52:2380-6.
  41. Milagro FI, Campion J, Maetinez JA. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. Obesity(Silver Spring). 2006 Jul;14(7):1118-23.
  42. Meachler P, Wollheim CB, Bentzen CL, and Nieser E.: Role of the intestinal Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activity in the hyper-response of diabetic rats to cholesterol J. Lipid Res. 1992;33:1475-84.
  43. Gills PJ, Robinson C. and Rathgeb KA.: Regulation of ACAT activity by a cholesterol substrate pool during the progression and regression phases of atherosclerosis implications for drug discovery. Atherosclerosis. 1990;83:177-85.
  44. Paaladinesh Thavendiranathan P, Bagai A, Brookhart AM, Choudhry MK. Primary prevention of cardiovascular diseases with statin therapy. A meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Intern Med. 2006;166:2307-13.