

손바닥선인장(*Opuntia humifusa*) 줄기 추출물의 항당뇨 효과

박철민 · 광병희 · 서르마 베스라즈 · 류동영*

목포대학교 한약자원학과, 한방산업연구소

Anti-diabetic Effect of *Opuntia humifusa* Stem Extract

Chul Min Park, Byoung Hee Kwak, Bhesh Raj Sharma, and Dong Young Rhyu*

Department of Oriental Medicine Resources and Institute of Korean Medicine Industry,
Mokpo National University, Mu-an-gun 534-729, Korea

Abstract – *Opuntia humifusa* known as the Eastern prickly pear have been used as a treatment of burns, diarrhea, asthma, rheumatism, gonorrhoea, and diabetes in alternative medicine. *O. humifusa* is widely cultivated in the middle and southern provinces of Korea and distributed in North America. The aim of this study is to investigate anti-diabetic effect of *O. humifusa* stem (OHS) water or 80% MeOH extract using 3T3-L1 adipocytes and *db/db* mice animal models. OHS 80% MeOH extract at a dose of 250 µg/ml significantly increased the glucose uptake and lipid accumulation compared with the control in 3T3-L1 adipocytes. Blood glucose, plasma total cholesterol and triglyceride levels were significantly reduced by oral treatment of OHS 80% MeOH extract (200 mg/kg BW) for 6 weeks in *db/db* mice. Also, the oral treatment of OHS 80% MeOH extract slightly changed the plasma insulin and insulin resistance levels in *db/db* mice, but were no significance in comparison to control. Glucose transporter(GLUT)4 expressions of adipose tissue and muscle were significantly increased more than that in the control. Therefore, these results suggest that OHS 80% MeOH extract inhibits the blood glucose level through regulation of lipid profile, insulin resistance, and GLUT4 expression in *db/db* mice and its diabetic effect is effective more than water extract.

Key words – *Opuntia humifusa*, diabetes, 3T3-L1 adipocytes, *db/db* mice

현대인의 식생활 변화에 따른 비만 인구의 증가로 인해 당뇨병환자도 급격히 증가하고 있다. 당뇨병(diabetes mellitus)은 혈당 조절에 중요한 역할을 수행하는 인슐린(insulin)을 분비하는 췌장 β-세포의 사멸로 인해 인슐린이 분비되지 못하는 제1형 당뇨병과 췌장 β-세포에서 인슐린 분비는 이루어지지만 말초조직에서 발생하는 인슐린저항성(insulin resistance) 때문에 혈당이 조절되지 않는 제2형 당뇨병으로 나뉜다.¹⁾ 통계청에서 발표한 2011년 사망원인 통계자료에 따르면 당뇨병은 우리나라 사망원인 5위를 차지하는 질환으로 암, 심장과 뇌혈관질환 등과 함께 심각한 질병으로 알려져 있다.²⁾ WHO의 자료에 의하면 1995년에는 대략 1억 4천명 이상의 당뇨병환자가 전 세계적으로 발생하였으며, 2025년에는 급격히 증가하여 3억명 이상의 당뇨병 환자가 발생할 것으로 예상하고 있다.³⁾ 이러한 당뇨병의 치료는 지속적으로 이상적인 혈중 포도당을 유지시켜 당뇨병성 합병증을 예방하고 지연시키는 것을 목적으로 하고 있다.⁴⁾ 현재까지

개발되어진 당뇨병 치료제는 탄수화물의 흡수를 저해시켜 식후 혈당 상승을 조절하는 α-glucosidase 저해제, 췌장에 작용하여 인슐린 분비를 촉진하는 glucagon like peptidase (GLP)-1 receptor agonist와 dipeptidyl peptidase(DPP)-IV inhibitor, 간장에 작용하여 포도당 대사를 조절하는 fructose-1,6-bisphosphatase와 glucose-6-phosphatase inhibitor, 인슐린민감성 증가 또는 인슐린저항성을 개선시키는 peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)γ agonist와 protein tyrosine phosphatase(PTP)-1B inhibitor, 중추신경계에 작용하는 β-adrenergic receptor agonist로 구분되어진다.⁵⁻⁸⁾ 그러나 이러한 약물들은 효과적인 측면에서는 약리작용이 확실하지만 체중 증가, 부종, 오심, 구토 등의 부작용이 발생한다.⁸⁾ 이러한 부작용을 보완 또는 개선시키기 위해 부작용이 적고 다양한 성분들이 공존하고 있는 천연자원으로부터 혈당조절용 기능성소재를 개발하기 위해 다양한 연구가 진행되고 있다.⁹⁾

지구상에는 4,000여종의 선인장이 있으며 그 중 열매가 달린 선인장을 손바닥선인장(*Opuntia*) 이라고 부른다. 손바

*교신저자(E-mail): rhyudy@mokpo.ac.kr
(Tel): +82-61-450-2664

닥선인장은 예전부터 민간요법으로 변비, 타박상, 화상 치료에 이용되어 왔다. 중국 본초도감의 기록에 의하면 손바닥선인장은 행기활혈(行氣活血)과 청열해독(淸熱解毒) 작용이 있어 소염, 진통, 기침, 해열, 기관지염, 복부통증, 관절염, 타박상, 화상 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 우리나라에 주로 재배·생산되는 손바닥선인장은 선인장과(Cactaceae)에 속하는 *Opuntia ficus-indica*와 *Opuntia humifusa*이다. *O. ficus-indica*는 멕시코를 중심으로 남북 아메리카에 널리 분포하고 있으며, 위점막 손상 억제,¹¹⁾ 항당뇨,¹²⁾ 라디칼 소거능,¹³⁾ 고지혈증 억제,¹⁴⁾ 면역활성 증진,¹⁵⁾ 기억력 개선 효과¹⁶⁾ 등의 생리활성과 4-ethoxy-6-hydroxy-methyl- α -pyrone, opuntioside, aromadendrin, kaempferol, taxifolin, quercetin, isorhamnetin, myricetin, piscidic acid, eucomic acid, betanin 성분을 함유하고 있다고 보고된 바 있다.¹⁷⁾ 우리나라의 *O. ficus-indica*는 제주도 지역에 관상용으로 유입되어 서남쪽 해변마을과 마라도 남단 해변에 야생으로 퍼지면서 군락을 형성한 것으로 보이며 현재 제주도를 중심으로 대량 재배되어 다양한 가공식품으로 개발되고 있다. *O. humifusa*는 캐나다와 미국 북부지역에 분포되어 있는 중으로써 *O. ficus-indica* 보다는 추운지역에 자생하고 있으며 우리나라의 전라남도 신안군과 충청남도 아산지역에서 재배되고 있다.¹⁸⁾ 그러나 아직까지 생리활성에 관한 연구결과는 *O. ficus-indica*에 비해 미비한 실정이다.^{19,20)}

이에 본 연구에서는 신안군에 재배되어지고 있는 *O. humifusa* 줄기 추출물에 대해 3T3-L1 지방세포와 db/db 마우스를 이용하여 혈당, 인슐린민감성 및 지질대사에 미치는 영향을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약 - Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), newborn calf serum(BCS), fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin solution, phosphate buffered saline(PBS), trypsin은 Hyclone(Logan, USA)에서 구입하였고, insulin, dexamethasone(DEX), 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), thiazolyl blue tetrazolium bromide(MTT), Oil Red O는 Sigma(St. Louis, USA)사로부터 구입하였다. 시약 및 용매는 특급 또는 1급 시약을 사용하였다.

추출물 제조 - *O. humifusa* stem(OHS)은 전남 신안군 지도읍에서 채취하여 약탕기에 증류수와 함께 60분 동안 추출한 다음 여과하여 45°C 이하의 수욕상에서 진공·농축시킨 농축액을 동결건조기를 이용하여 건조시켜 물 추출물로 실험에 이용하였다. 80% MeOH 추출물은 OHS를 세척한 후에 80% MeOH로 5회 추출·여과·농축한 다음에 동결건조기를 이용하여 건조시켜 80% MeOH 추출물로서 실험에 이용하였다. 제조된 분말은 냉동고(-20°C)에 보관하였다.

OHS 물과 80% MeOH 추출물의 수율은 1.8과 2.6%이다.

3T3-L1 세포배양 - 3T3-L1 지방전구세포는 American Type Culture Collection(ATCC, USA)으로부터 분양 받아 사용하였다. 3T3-L1 지방전구세포는 5% CO₂ 37°C배양기에서 100 Units/ml penicilin, 100 μ g/ml streptomycin, 10% BCS가 함유된 DMEM 배지 조건에서 배양하였다. 이러한 3T3-L1 지방전구세포는 2일 마다 신선한 배지로 보충하면서 계대 배양하여 실험에 사용하였다.

3T3-L1 세포의 분화유도 - 3T3-L1 지방전구세포를 지방세포로 분화시키기 위하여 6-well plate에 1 \times 10⁵ cells/well로 분주하고 80~90% confluent 상태가 되면 분화유도 물질인 5 μ g/ml insulin, 1 μ M DEX, 0.5 mM IBMX, 10% FBS가 함유된 DMEM 배지로 분화를 유도하였으며, 2일 후 5 μ g/ml insulin과 10% FBS가 함유된 DMEM 배지로 교환하였다. 이로부터 2일에 한번 씩 10% FBS를 함유한 DMEM 배지로 보충하면서 4일 후 실험에 이용하였다.

세포독성 - OHS 물과 80% MeOH 추출물의 세포독성을 측정하기 위해 MTT assay를 수행하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 96-well plate에 4 \times 10³ cells/well로 분주하였으며, 24시간 동안 배양하고 추출물을 처리하여 또다시 24시간 배양한 후에 MTT(2 mg/ml) 용액을 각 well에 첨가하여 4시간 동안 반응시켰다. MTT 용액을 제거하고 DMSO를 넣고 15분 후에 ELISA reader(Immuno Mini NJ-2300, Japan)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하고 그 결과를 control 값에 대한 비율로 계산하였다.

포도당 흡수 - 3T3-L1 지방세포의 인슐린민감성 향상으로 인한 세포내 포도당 섭취 정도를 측정하기 위하여 3T3-L1 지방전구세포를 1 \times 10⁴ cells/well로 black 96-well plate에 분주하고 분화를 유도한 후 6일째에 OHS 물과 80% MeOH 추출물을 첨가하였다. 그 다음에 24시간 동안 배양후 배지를 제거하고 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino]-2-deoxy glucose(2-NBDG, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 40 μ M을 첨가하였다. 30분 후에 PBS로 1회 세척하고 VICTOR3TM Multilabel Counter(PerkinElmer, USA)의 excitation 465 nm, emission 540 nm에서 형광을 측정하여 control 값에 대한 비율로 계산하였다.

Oil Red O 염색 - 6-well plate에 분주된 3T3-L1 지방전구세포를 시료와 함께 8일간 분화유도를 끝낸 후 PBS로 세척하였다. 10% formalin 용액으로 30분간 고정하고 증류수로 1회 세척하였다. 0.3% Oil Red O용액으로 1시간 처리한 후, 60% isopropanol로 1회 세척하여 현미경으로 지방구 생성 정도를 관찰하였다.

실험동물의 사육 - 제2형 당뇨 동물모델인 5주령의 수컷 C57BL/KSJ db/db mouse를 (주)중앙실험동물(Seoul, Korea)로부터 구입하였다. 일주일 동안 목포대학교 청정실험동물 센터에 적응시킨 후, 당뇨 대조군과 OHS 80% MeOH 추출

물 투여군으로 나눈 후에 AIN-93G를 기본 pellet 형태로 식이를 공급하였다. 실험동물은 실내온도 20~25°C, 습도 40~50%, 12 h light-dark cycle에서 사육하였다. OHS 80% MeOH 추출물은 6주 동안 체중 kg당 200 mg(200 mg/kg body weight/day)을 매일 오전 10~12시 사이에 경구투여용 존데를 사용하여 투여하였다.

시료수집 - 6주간의 사육이 끝난 실험동물은 12시간 절식 시킨 후 심장으로부터 해파린 처리를 한 주사기로 혈액을 채취한 후 3,000 rpm으로 15분간 원심 분리하여 혈장을 얻어 인슐린, 중성지방, 총 콜레스테롤 함량 분석에 이용하였다. 지방과 근육조직은 적출하여 -70°C에서 냉동보관 하였다.

체중, 식이와 수분 섭취량 및 혈당 - 체중, 식이와 수분 섭취량은 동물을 사육하는 동안에 주당 2회 측정하였다. 식이와 수분 섭취량은 이전 공급분에서 남은 양을 빼는 방법으로 계산하였다. 실험동물의 혈당은 12시간 절식시킨 후, 꼬리 정맥에서 채혈하여 Blood Glucose Test Meter(All Medicus Co., Ltd. Korea)를 사용하여 측정하였다.

혈장 인슐린과 인슐린저항성지수, 중성지방과 총 콜레스테롤 함량 - 실험이 종료된 후, 채취된 혈액의 혈장을 이용하여 인슐린, 중성지방과 총콜레스테롤 함량을 분석하였다. 인슐린은 마우스용 인슐린 ELISA Kit(Shibayagi, Japan)를 이용하여 측정된 후에 정량화 하였다. 혈장 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 아산제약(Asan Co., Korea)의 Kit를 이용하여 측정된 후 정량화 하였다. 인슐린저항성지수(homeostasis model for insulin resistance, HOMA-IR)는 공복 인슐린과 공복혈당 수치를 이용하여 계산하였다. HOMA-IR은 다음과 같은 공식으로 산출하였다.

$$\text{HOMA-IR} = [\text{공복인슐린}(\mu \text{ IU/ml})] \times \text{공복혈당}(\text{mmol/L})/22.51$$

RT-PCR(Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) - 지방과 근육 조직의 RNA 분리는 Tri-reagent (Molecular Research Center, Inc., USA)를 이용하였다. 지방과 근육조직 50~100 mg을 1 ml의 Tri-reagent와 함께 넣고 homogenation 하였다. 그런 다음 0.2 ml의 chloroform을 넣고 가볍게 섞어준 후에 12,000 g(4°C)에서 15분 동안 원심 분리하였다. 상층액에 0.5 ml isopropanol 넣고 vortex를 하고 상온에서 5~10분 정도 보관한 후 12,000 g(4°C)에서 8분 동안 원심분리 하였다. 상층액을 제거하고 75% EtOH (DEPC+ethanol anhydrous) 용액을 1 ml 넣고 vortex한 후 12,000 g(4°C)에서 5분씩 2번 washing 하였다. 그런 다음에 75% EtOH 용액을 제거하고 3~5분 동안 air dry시키고 DEPC 30~50 μ l를 넣고 실험에 사용할 때까지 -20°C에 보관하였다. 보관 중인 RNA 농도는 nanodrop spectrometer에서 260과 280 nm로 흡광도를 측정하여 정량하였다. Diastar™2X One Step RT-PCR Premix Kit(Solgent Co.,

Korea)의 각 well에 RAN 3 μ l, primer 각각 1 μ l를 넣어 총 30 μ l로 맞추고 기계에 넣고 역전사시켰다. 각각의 primer 염기 배열은 다음과 같다. Glucose transporter(GLUT)4의 주형사 서열은 5'-CCT GCC CGA AAG AGT CTA AAG C-3', 비주형사 서열은 5'-ACT AAG AGC ACC GAG ACC AAC G-3'; β -actin의 주형사 서열은 5'-TGC CCA TCT ATG AGG GTT ACG-3', 비주형사 서열은 5'-TAG AAG CAT TTG CGG TGC ACG-3'이다. PCR 조건은 50°C에서 30분, 95°C에서 15분 반응시키고, 95°C에서 1분 동안 변성시킨 후 55°C에서 1분 동안 붙이고 72°C에서 2분 동안 확장하여 30회를 수행하였다. PCR 산물은 nucleic acid staining solution(RedSafe, iNtRON, Korea)로 염색된 1.5% agarose gel을 이용하여 전기영동을 하였으며, β -actin은 증폭된 유전자들의 대조군으로 사용하였다.

자료분석 - 모든 실험결과는 평균 \pm 표준오차로 표현하였다. 각 군간의 차이는 SPSS의 ANOVA(analysis of variance)와 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05 수준에서 유의성 있는 것으로 판정하였다. 그리고 각 군간의 통계적 유의성이 있는 경우에는 각각 다른 문자로 표기하였다.

결과 및 고찰

3T3-L1 지방전구세포의 세포독성 - 세포 수준의 연구에 널리 활용되고 있는 MTT assay는 시료의 세포독성을 평가하는 *in vitro* 분석에 매우 유용하게 사용되고 있다. 3T3-L1 지방전구세포에 OHS 물과 80% MeOH 추출물을 50과 250 μ g/ml 농도로 처리한 결과, 시료를 첨가하지 않은 대조군에 비해 OHS 첨가군은 세포독성을 유발하지 않고 오히려 세포성장을 촉진시켰다(Fig. 1A). 그러므로 OHS 물과 80% MeOH 추출물은 250 μ g/ml 농도까지는 세포사멸에 아무런 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

3T3-L1 지방세포의 포도당 섭취 증강효과 - 3T3-L1 지방전구세포에서 지방세포로 분화를 유도하는데 절대적으로 필요한 호르몬의 하나가 인슐린이다. 그러므로 천연자원에서부터 인슐린저항성을 개선시키거나 포도당 섭취를 증강시키는 후보물질을 탐색하는데 3T3-L1 지방세포는 세포실험계로 널리 이용되고 있다.²¹⁾ Kim(2005) 등도 동일한 실험계를 이용하여 황백 추출물이 당 섭취 정도를 현저히 개선시킨다고 보고한 바 있다.²²⁾ OHS 물 추출물 50과 250 μ g/ml 및 80% MeOH 추출물 50 μ g/ml 농도에서는 당 섭취 정도가 시료를 첨가하지 않은 대조군과 유사한 수치를 나타냈다(Fig. 1B). 그러나 OHS 80% MeOH 추출물 250 μ g/ml 농도에서는 대조군에 비해 당 섭취가 유의적으로 증가하였다(Fig. 1B). 그러므로 OHS 80% MeOH 추출물은 인슐린저항성을 개선시키거나 인슐린민감성을 증강시키는 물질을 함유하고 있다고 사료된다.

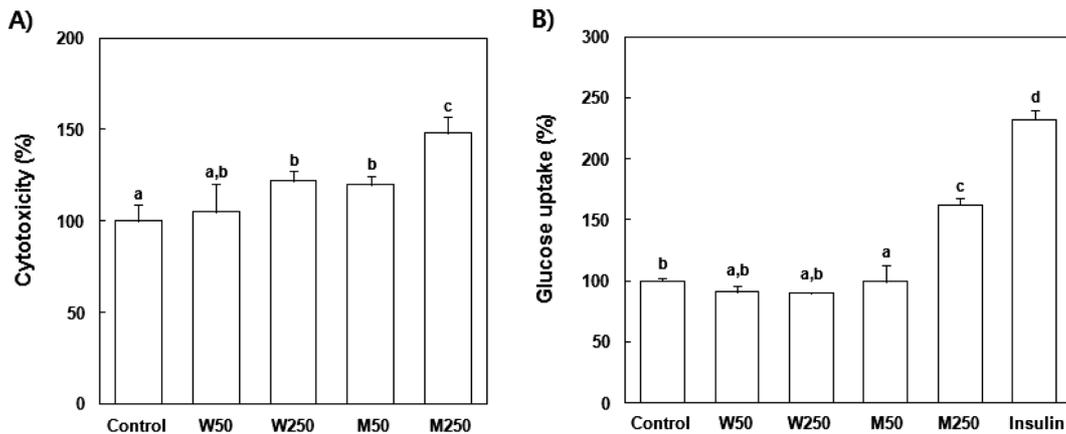


Fig. 1. Effect of OHS water and 80% MeOH extracts on cytotoxicity (A) and glucose uptake (B) in 3T3-L1 preadipocytes or adipocytes. Control; non-addition, W50; addition of OHS water extract at dose of 50 µg/ml, W250; addition of OHS water extract at dose of 250 µg/ml, M50; addition of OHS 80% MeOH extract at dose of 50 µg/ml, M250; addition of OHS 80% MeOH extract at dose of 250 µg/ml. Insulin concentration is a 100 nM. Bar with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests ($p < 0.05$).

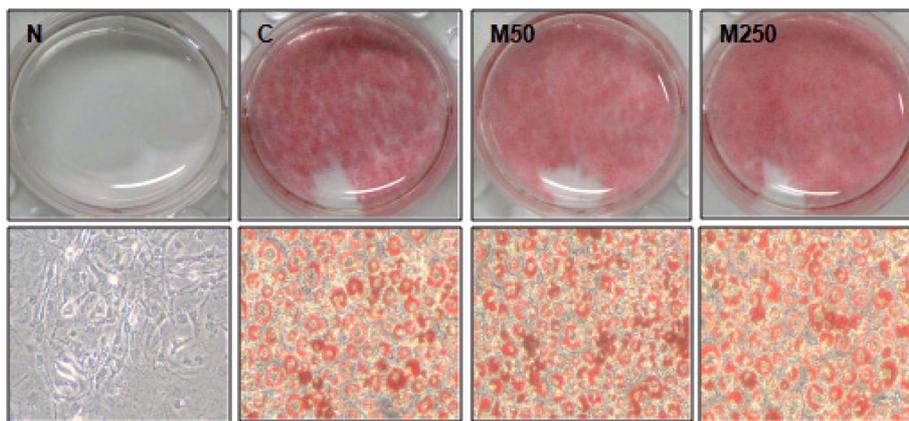


Fig. 2. Effect of OHS water and 80% MeOH extracts on lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. N; non-differentiation, C; non-addition, M50; addition of OHS 80% MeOH extract at dose of 50 µg/ml, M250; addition of OHS 80% MeOH extract at dose of 250 µg/ml.

3T3-L1 지방세포에서 인슐린성 물질로서의 효과 - 인슐린은 지방세포에서 지방분해를 저해하고 지방합성을 촉진시키는 호르몬으로 분화된 지방세포의 수를 증가시키는 작용을 한다. 그러므로 인슐린처럼 지방합성을 촉진시키든지 지방분해를 억제하는 물질을 인슐린성 물질이라고 한다. Lee(2010) 등은 최초로 분리된 isoflavone glycoside인 puerarin 성분이 3T3-L1 지방세포의 지방축적, PPAR γ 와 GLUT4의 상향조절을 통하여 당 섭취를 향상시키므로 인슐린성 활성을 가진 물질이라고 보고한 바 있다.²³⁾ 본 실험에서도 3T3-L1 지방세포에서의 당 섭취 효과가 OHS 물 추출물보다 80% MeOH 추출물에 의해 증강되므로 OHS 80% MeOH 추출물에 대한 지방생성 정도를 측정하였다. OHS 80% MeOH 추출물을 50과 250 µg/ml 농도로 처리하였을 경우, 시료를 첨가하지 않은 대조군에 비해 지방세포에서의

지방구 생성 정도가 뚜렷하게 증가하는 것으로 관찰되었다 (Fig. 2). 이처럼 지방세포에서 지방축적이 증가한다는 것은 인슐린 유사성 물질을 함유하고 있는 것으로 확인되었으므로 OHS 80% MeOH 추출물이 인슐린저항성 개선 및 인슐린민감성을 향상시키는 물질을 함유하고 있어 이로 인해 지방생성 정도가 증가된 것으로 확인되었다.

주별 체중 변화 및 총지방량 - *db/db* 마우스는 leptin 수용체의 발현이 결손되어 당뇨와 비만이 유발되므로 제2형 당뇨 동물모델로 널리 이용되고 있다.²⁴⁾ *db/db* 마우스의 체중은 당뇨대조군의 경우에는 6주 동안 28.5 g에서 44.8 g로 36.4% 증가하였고, OHS 80% MeOH 추출물 200 mg/kg BW 투여군은 27.2 g에서 42 g로 35.3% 증가하였다(Fig. 3A). 특히, OHS 80% MeOH 추출물 200 mg/kg BW 투여군은 4주째부터 당뇨대조군에 비해 체중이 유의하게 감소

되어 6주째에는 당뇨대조군에 비해 체중이 6.3% 감소되었다. 총지방량은 당뇨대조군 6.3 g, OHS 80% MeOH 추출물 투여군 5.3 g로 OHS 80% MeOH 추출물 투여군이 당뇨대조군에 비해 15.9% 감소되었다(Fig. 3B). 제주도 손바닥선인장(*O. ficus-indica*)의 줄기 분말을 *db/db* 마우스에 5주간 투여하였더니 체중과 혈당이 당뇨대조군에 비해 감소하는 것으로 밝혀졌다.²⁵⁾ 일반적으로도 *db/db* 마우스에서 체중과 총지방량 감소는 인슐린민감성 개선 및 혈당조절 효과가 있는 것으로 알려져 있다.²⁶⁾ 그러므로 OHS 80% MeOH 추출물이 지방생성 또는 축적을 감소시켜 지방조직의 비대를 막고 체중 증가를 억제시키므로 인슐린저항성 개선 및 혈당 조절에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.

식이와 물 섭취량의 변화 - 당뇨의 특징적인 소견으로 혈중 포도당은 많으나 세포가 당을 이용하지 못하므로 다식(多食) 현상이 나타나고, 과잉의 혈당을 배설하기 위하여

다뇨(多尿)의 현상을 보이므로 갈증이 유발되며 생체내의 수분 부족 현상을 가져와 심하면 탈수현상이 나타날 수도 있다. 제2형 당뇨모델인 *db/db* 마우스의 6주간 식이 섭취량 평균은 당뇨대조군 37.1 g, OHS 80% MeOH 추출물 투여군 30.8 g로 당뇨대조군에 비해 17% 감소하였다(Fig. 4A). 물 섭취량 평균은 당뇨대조군 160 ml, OHS 80% MeOH 추출물 투여군 128 ml로 당뇨대조군에 비해서 OHS 80% MeOH 추출물 투여군이 20% 감소하였다(Fig 4B). 그러므로 OHS 80% MeOH 추출물은 당뇨의 임상적 특징인 다식과 다음 증상을 개선시키므로 혈당 조절효과를 갖는 성분이 함유되어 있음을 시사하고 있다.

혈당, 인슐린, 인슐린저항성의 변화 - 인슐린저항성의 증가는 인슐린 분비에 대한 체내 감수성의 저하로 정의할 수 있으며 표적기관에서 인슐린 신호전달체계의 장애로 유발된다.²⁷⁾ 실험종료 6주째의 혈당은 당뇨대조군 34.8 mM에 비

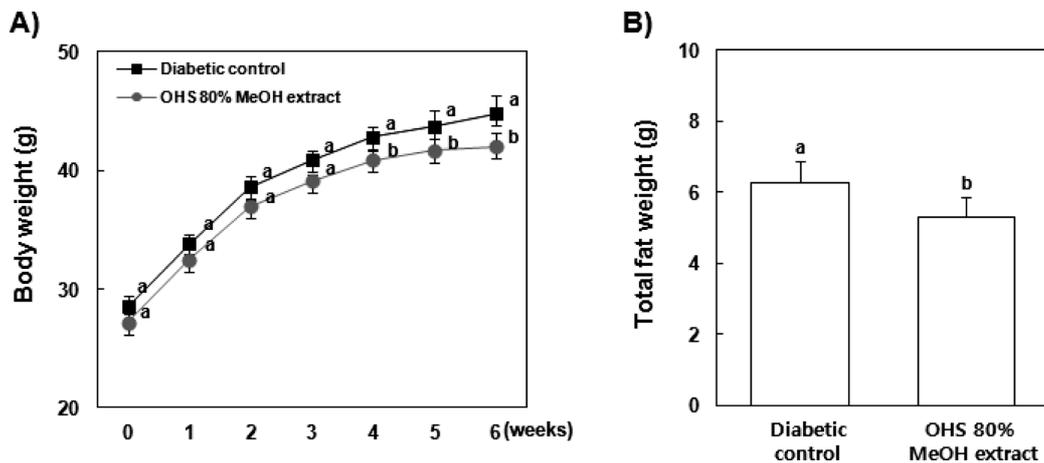


Fig. 3. Effect of OHS 80% MeOH extract on body (A) and total fat (B) weight in *db/db* mice. OHS 80% MeOH extract was daily treated to dose of 200 mg/kg BW during 6 weeks. Bar with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests ($p < 0.05$).

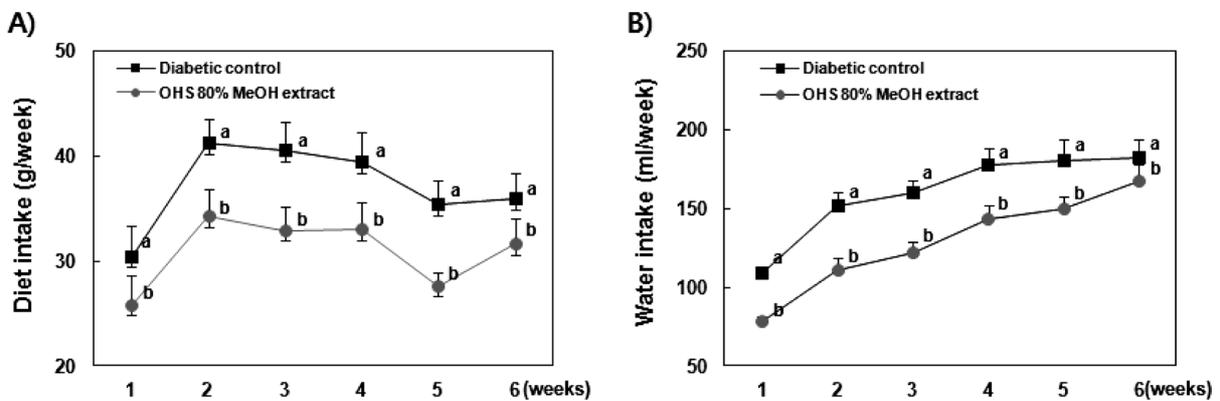


Fig. 4. Effect of OHS 80% MeOH extract on the diet (A) and water (B) intake in *db/db* mice. OHS 80% MeOH extract was daily treated to dose of 200 mg/kg BW during 6 weeks. Bar with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests ($p < 0.05$).

Table 1. Effect of OHS 80% MeOH extract on blood glucose, insulin, and HOMA-IR levels in *db/db* mice

Animal groups	Blood glucose (mM)	Insulin (μ IU/ml)	HOMA-IR
Diabetic control	34.8 \pm 1.4	157.0 \pm 46.4	277.0 \pm 71.3
OHS 80% MeOH extract	30.5 \pm 1.4	172.2 \pm 44.7	246.0 \pm 59.1

해 OHS 80% MeOH 추출물 투여군은 30.5 mM로 측정되어 12% 정도 감소하는 것으로 나타났다(Table 1). 혈장 인슐린 농도를 측정한 결과, OHS 80% MeOH 추출물의 혈장 인슐린 농도는 172 μ IU/ml로 당뇨대조군의 인슐린 농도 157 μ IU/ml에 비해 높은 수치를 나타냈다(Table 1). HOMA-IR 계산법에 의한 인슐린저항성 정도를 분석한 결과, OHS 80% MeOH 추출물 투여군은 246, 당뇨대조군 277로 나타나 OHS 80% MeOH 추출물에 의해 인슐린저항성이 감소하는 경향을 보였다(Table 1). Yoon과 Son(2009)은 *O. ficus-indica*, 여주, 천화분, 목단피, 산약, 강황 등을 분쇄하여 조합한 *O. ficus-indica* complex B(OCB)를 STZ 유발 당뇨 흰쥐에 2(OCB-2)와 5(OCB-5)로 나누어 3주 동안 투여하였더니 당뇨대조군에 비해 OCB-2는 13%, OCB-5는 21% 혈당이 감소된다고 보고한 바 있다.²⁸⁾ *O. ficus-indica* 열매와 잎 추출물은 alloxan과 STZ 유발 당뇨 흰쥐의 혈당을 농도 의존적으로 유의하게 억제시켰다.²⁹⁾ 또한, *O. humifusa* 줄기 추출물도 STZ 유발 당뇨 흰쥐의 혈당과 췌장베타세포의 사멸 및 인슐린 분비능을 유의하게 조절하는 것으로 확인된 바 있다.³⁰⁾ 따라서 OHS 80% MeOH 추출물도 인슐린저

항성 개선효과로 인해 혈당을 조절하는 것으로 사료된다.

혈중 총콜레스테롤 및 중성지방량의 변화 - 당뇨병으로 인해 인슐린저항성이 생기면 지방세포 내 중성지방의 분해가 증가되면서 혈액내 유리지방산이 과다 방출되고 간에서 중성지방 및 콜레스테롤 생성이 증가한다.³¹⁾ 이러한 당뇨병성 이상지질혈증은 정상인에 비해 심혈관질환의 발생위험도가 2-4배 높게 나타나므로 당뇨병으로 인한 지질대사 이상은 당뇨병 치료의 중요한 표지인자이다.³²⁾ 제2형 당뇨병 모델인 *db/db* 마우스의 혈장 총콜레스테롤과 중성지방의 함량을 측정한 결과, 총콜레스테롤 농도는 당뇨대조군 220.4 mg/dl에 비하여 OHS 80% MeOH 추출물 투여군은 164.0 mg/dl로 나타나 OHS 80% MeOH 추출물 투여군이 당뇨대조군에 비해 25.6% 유의적으로 감소하였다(Fig. 5A). 중성지방의 함량은 당뇨대조군 179.5 mg/dl, OHS 80% MeOH 추출물 투여군 147.7 mg/dl로 측정되어 당뇨대조군에 비해 OHS 80% MeOH 추출물 투여군에서 17.8% 유의적으로 감소하였다(Fig. 5B). *O. ficus-indica*와 *O. humifusa* 줄기 분말을 STZ 유발 당뇨 흰쥐에 투여한 경우에도 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, 유리지방산의 함량이 유의적으로 감소되는 것으로 밝혀졌다.^{28,30)} 그러므로 OHS 80% MeOH 추출물은 기존의 연구결과와 같이 당뇨로 인한 혈중 지질대사 이상을 억제시키면서 인슐린저항성 개선 및 혈당을 조절하는 것으로 사료된다.

근육과 지방조직의 Glucose Uptake 관련 GLUT4 mRNA 변화 - Fig. 6은 제2형 당뇨병 모델인 *db/db* 마우스의 근육과 지방조직에서 OHS 80% MeOH 추출물이 당대사 지표 유전자 또는 포도당 흡수에 관여하는 포도당 수용체

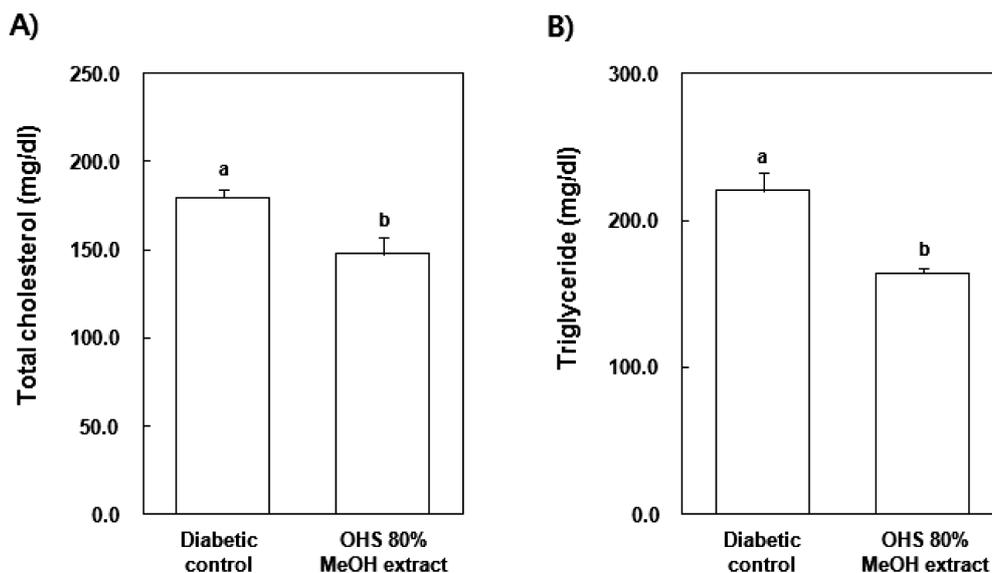


Fig. 5. Effect of OHS 80% MeOH extract on plasma total cholesterol (A) and triglyceride (B) levels in *db/db* mice. OHS 80% MeOH extract was daily treated to dose of 200 mg/kg BW during 6 weeks. Bar with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests ($p < 0.05$).

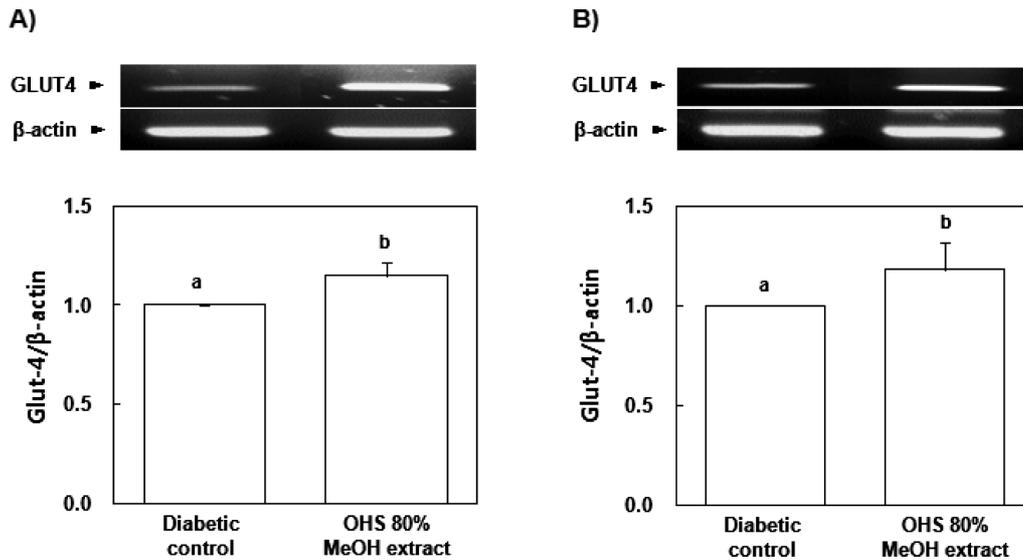


Fig. 6. Effect of OHS 80% MeOH extract on GLUT4 mRNA expression of adipose tissue (A) and muscle (B) in *db/db* mice. OHS 80% MeOH extract was daily treated to dose of 200 mg/kg BW during 6 weeks. Bar with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests ($p < 0.05$).

유전자 발현에 미치는 영향을 나타낸 결과이다. 근육과 지방조직에서 포도당 흡수에 관여하는 GLUT4 유전자의 발현 정도는 당뇨대조군에 비해 OHS 80% MeOH 추출물 투여군에서 뚜렷하게 증가하였다(Fig. 6). Sunil 등은 *Plumbago zeylanica*로부터 분리된 plumbagin 성분을 STZ 유발 당뇨 흰쥐에 28일간 투여했을 경우에 근육조직 GLUT4 수송체의 근육세포 막으로의 이동이 향상되면서 혈당을 조절한다고 보고한 바 있다.³³⁾ 그러므로 OHS 80% MeOH 추출물의 혈당 조절효과는 인슐린저항성 개선을 통한 포도당 섭취관련 유전자 발현 증강효과와 상호 연관되어 있다고 사료된다.

결 론

전라남도 신안군에 재배되어지고 있는 손바닥선인장(*O. humifusa*) 줄기 추출물의 항당뇨 효과를 규명하고자 3T3-L1 지방세포와 *db/db* 마우스를 이용하여 혈당, 인슐린민감성 및 지질대사에 미치는 영향을 측정하였다. OHS 80% MeOH 추출물은 물 추출물에 비해 3T3-L1 지방세포에서의 당 섭취와 인슐린민감성을 증강시키고, 제2형 당뇨모델인 *db/db* 마우스의 혈당, 식이와 물 섭취량, 콜레스테롤과 중성지방 함량을 당뇨대조군에 비해 유의적으로 억제시켰다. 더불어 인슐린 분비, 근육과 지방조직의 포도당 수송체 GLUT4 발현 정도를 증가시켜 인슐린저항성을 개선시키는 것으로 나타났다. 따라서 OHS 80% MeOH 추출물은 지질 함량 조절, 인슐린저항성 개선 및 포도당 섭취 유전자 발현 증강효과를 통하여 혈당을 조절하는 것으로 확인되었다. 본 연구의 결과는 혈당조절용 제품개발의 소재로 활용될 수 있는 기

초자료로 응용될 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2010년도 목포대학교 학술연구비 지원을 받아 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Ward, W. K., Beard, J. C., Halter, J. B., Pfeifer, M. A. and Porte, D. J. (1984) Pathophysiology of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 7(5): 491-502.
2. Korea National Statistical Office. (2011) The Cause of Death Statistics.
3. King, H., Aubert, R. E. and Herman, W. H. (1998) Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*. 21(9): 1414-1431.
4. Laakso, M. and Cederberg, H. (2012) Glucose control in diabetes: which target level to aim for? *J. Intern. Med*. 272(1): 1-12.
5. Krentz, A. J. and Bailey, C. J. (2005) Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* 65(3): 385-411.
6. Rondinone, C. M. (2005). Diabetes: the latest developments in inhibitors, insulin sensitizers. *Expert. Opin. Ther. Target* 9(2): 415-418.
7. Abbas, A., Blandon, J., Rude, J., Elfar, A. and Mukherjee, D. (2012) PPAR- agonist in treatment of diabetes: cardiovascular safety considerations. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med*.

- Chem.* **10**(2): 124-134.
8. 천승훈 (2004) 제2형 당뇨병 치료제와 개발 전망. *생화학 분자생물학뉴스* **24**: 204-219.
 9. Hung, H. Y., Qian, K., Morris-Natschke, S. L., Hsu, C. S. and Lee, K. H. (2012) Recent discovery of plant-derived anti-diabetic natural products. *Nat. Prod. Rep.* **29**(5): 580-606.
 10. 중국본초도감편찬위원회, 중국본초도감, 74. 여강출판사, 서울.
 11. Park, E. H., Kahng, J. H. and Paek, E. A. (1998) Studies on the pharmacological action of cactus: identification if its anti-inflammatory effect. *Arch. Pharm. Res.* **21**(1): 30-34.
 12. Shin, T. K., Kim, S. J., Moon, C. J., Wie, M. B. and Hyun, B. H. (1999) *Opuntia ficus-indica* ethanol extract ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia in rats. *Kor. J. Gerontol.* **9**(1): 78-83.
 13. Lee, N. H., Yoon, J. S., Lee, B. H., Choi, B. W. and Park, K. H. (2000) Screening of the radical scavenging effects, tyrosinase inhibition and anti-allergic activities using *Opuntia ficus-indica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**(4): 412-415.
 14. Choi, J. W., Lee, C. K., Moon, Y. I., Park, H. J. and Han, Y. N. (2002) Biological activities of the extracts from fruit and stem of prickly pear(*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) III - Effects on subacute alcoholic hyperlipidemia in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**(3): 238-244.
 15. Kwon, M. C., Han, J. G., Jeong, H. S., Qadir, S. A., Choi, Y. B., Ko, J. R., Lim, T. I. and Lee, H. Y. (2008) Enhancement of immune activities of *Opuntia ficus-indica* L. Miller by ultrasonication extraction process. *Korean. J. Medicinal Crop Sci.* **16**(1): 1-8.
 16. Kim, J. M., Kim, D. H., Park, S. J., Park, D. H., Jung, S. Y., Kim, H. J., Lee, Y. S., Jin, C. and Ryu, J. H. (2010) The n-butanolic extract of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* enhances long-term memory in the passive avoidance task in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **34**(6): 1011-1017.
 17. Ginestra, G., Parker, M. L., Bennett, R. N., Robertson, J., Mandalari, G., Narbad, A., Lo Curto, R. B., Bisignano, G., Faulds, C. B. and Waldron, K. W. (2009) Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *J. Agric. Food Chem.* **57**(21): 10323-10330.
 18. Yoon, M. S., Yoo, J. S., Lee, K. K. and Kim, M. K. (2012) A study on biological activities of *Opuntia humifusa* Cadode extracts. *J. Appl. Biol. Chem.* **55**(2): 117-121.
 19. Lee, K. S., Oh, C. S. and Lee, K. Y. (2005) Antioxidative effect of fractions extracted from a Cactus *Cheomnyuncho*(*Opuntia humifusa*). *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**(3): 474-478.
 20. Park, M. K., Lee, Y. J. and Kang, E. S. (2005) Protective effect of *Cheomnyuncho*(*Opuntia humifusa*) extract in rats treated carbon tetrachloride. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**(5): 822-826.
 21. Liu, F., Kim, J., Li, Y., Liu, X., Li, J. and Chen, X. (2001) An extract of *Lagerstroemia speciosa* L. has insulin-like glucose uptake-stimulatory and adipocyte differentiation-inhibitory activities in 3T3-L1 cells. *J. Nutr.* **131**(9): 2242-2247.
 22. Kim, S. H., Shin, E. J. and Hyun, C. H. (2005) Enhancing effects of extracts of *Phellodendri Cortex* on glucose uptake in normal and insulin-resistance 3T3-L1 adipocyte. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**(4): 291-298.
 23. Lee, O. H., Seo, D. H., Park, C. S. and Kim, Y. C. (2010) Puerarin enhances adipocyte differentiation, adiponectin expression, and antioxidant response in 3T3-L1 cells. *Bio-factors* **36**(6): 459-467.
 24. Jeong, S. M., Kang, M. J., Choi, H. N., Kim, J. H. and Kim, J. I. (2012) Quercetin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia and improves antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice. *Nutr. Res. Pract.* **6**(3): 201-207.
 25. Shin, J. E., Han, M. J., Lee, Y. C., Moon, Y. I. and Kim, D. H. (2002) Antidiabetic activity of *Opuntia ficus-indica* var. *sabotan* on db/db mice. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**(4): 332-336.
 26. Lee, S. H., Lim, S. L., Lee, Y. M., Hur, J. M., Lee, H. S. and Kim, D. K. (2011) Anti-diabetic effects of *Triticum aestivum* L. water extracts in db/db Mice as an animal model of diabetes mellitus type II. *Kor. J. Pharmacogn.* **41**(4): 282-288.
 27. Saltiel, A. R. and Kahn, C. R. (2001) Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* **414**(6865): 799-806.
 28. Yoon, J. A. and Son, Y. S. (2009) Effects of *Opuntia ficus-indica* complexes B(OCB) on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean. J. Food & Nutr.* **22**(1): 48-56.
 29. Shin, J. E., Han, M. J., Lee, I. K., Moon, Y. I. and Kim, D. H. (2003) Hypoglycemic activity of *Opuntia ficus-indica* var. *sabotan* on alloxan- or streptozotocin-induced diabetic mice. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**(1): 75-79.
 30. Hahm, S. W., Park, J. E. and Son, Y. S. (2011) *Opuntia humifusa* stems lower blood glucose and cholesterol levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr. Res.* **31**(6): 479-487.
 31. Solano, M. P. and Goldberg, R. B. (2006) Management of dyslipidemia in diabetes. *Cardiol. Rev.* **14**(3): 125-135.
 32. Farmer, J. A. (2008) Diabetic dyslipidemia and atherosclerosis: evidence from clinical trials. *Curr. Diab. Rep.* **8**(1): 71-77.
 33. Sunil, C., Duraipandiyam, V., Agastian, P. and Ignacimuthu, S. (2012) Antidiabetic effect of plumbagin isolated from *Plumbago zeylanica* L. root and its effect on GLUT4 translocation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem. Toxicol.* **50**(12): 4356-4363.
- (2012. 11. 1 접수; 2012. 11. 14 심사; 2012. 11. 19 게재확정)