

# LDL Receptor Knockout Mouse에서 부추추출물의 죽상경화증 예방 효과

권오준<sup>1#</sup>, 이주영<sup>2</sup>, 노성수<sup>2\*</sup>

1 : 대경지역사업평가원 경북지역산업평가단, 2 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실

## Prevention effect of *Allium tuberosum* extract on atherosclerosis in LDL Receptor Knockout Mouse

OJun Kwon<sup>1#</sup>, JooYoung Lee<sup>2</sup>, Seong-Soo Roh<sup>2\*</sup>

1 : Gyeongbuk Regional industry Evaluation, Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation, Republic of Korea

2 : College of Korean Medicine, Daegu Hanny university, Republic of Korea

### ABSTRACT

**Objectives** : The present study was designed to evaluate the protective effect of *Allium tuberosum* (AT) extract on atherosclerosis in LDL receptor knockout (LDLr KO) mouse fed western diet.

**Methods** : The AT was extracted 70% ethanol. The experimental groups were divided with four groups of LDLr KO mice, one group fed a normal diet and the others fed a Western diets for 8weeks. Two Western diet groups were orally administered AT extract at dosage of 100 and 300 mg/kg body weight. The body weight and food intake were measured every day. We measured levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), and Glucose in serum. Also, effect of AT extract performed using H&E staining.

**Results** : The AT treatment groups showed decrease in body weight and food efficiency in comparison with control group. Blood biochemistry parameters such as TG, TC, LDL, and glucose levels were increased in control group, while AT treatment groups were reduced. Also, the increased levels of ALT and AST were improved by AT extract. We confirmed that the weights of liver, kidney, subcutaneous fat, epididymal fat, kidney leaf fat, and intraabdominal fat were change in LDLr KO mice treated AT extract. In addition, histopathological changes in liver and aorta were similar to normal group.

**Conclusions** : Based on these results, the AT extract is considered to make prevention of atherosclerosis through reduction and functional improvement of the liver and vascular endothelial cells in the body fat accumulation and lipid content in LDLr ko mouse model.

**Key words** : *Allium tuberosum*, atherosclerosis, LDL receptor knockout mouse

### 서론

최근 들어 우리나라에서도 육류 등 동물성 식품 및 고열량, 고지방식의 섭취량 증가, 비만, 음주와 흡연, 불규칙한 식습관 등에 의해 죽상경화증, 뇌질환 등 혈행 저해 질환의 발생이 증가하고 있는 추세이다<sup>1,2)</sup>. 혈중 총콜레스테롤이나 중성지방 등은 인체의 기능을 유지하는데 필수적인 구성성분

이나 지방농도가 높은 상태로 지속되는 경우 심혈관계 질환 등의 원인이 되어 혈전관련 질환이 발병된다. 이들은 혈관내 피의 손상과 함께 동맥벽의 기능 이상을 초래하여 그 증상을 더욱 뚜렷이 하는 것으로 보고되었다. 혈관 내피의 손상은 혈전 형성이 수반되고 여기에 콜레스테롤을 많이 함유하고 있는 LDL (low density lipoprotein)등의 침착과, 대식세포에 의

\*Corresponding author : Seong-Soo Roh, College of Korean Medicine, Daegu Hanny university, Republic of Korea

· Tel : +82-53-770-2351 · Fax : +82-53-819-1752 · E-mail : ddede@dhu.ac.kr

#First author : O Jun Kwon, Gyeongbuk Regional industry Evaluation, Daegyeong Institute for Gegendal Program Evaluation, 27, Sampung-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38542, Korea

· Tel : +82-53-818-9504 · Fax : +82-53-818-9520 · E-mail : gbria@hanmail.net

· Received : 25 January 2016 · Revised : 25 March 2016 · Accepted : 25 January 2016

해 만들어지는 활성산소에 의한 LDL의 산화는 혈관질환의 발생을 더욱 촉진하는 것을 알려져 있다<sup>3)</sup>.

부추 (*Allium tuberosum* Rottler.)는 백합과에 속하는 다년생 초본으로 부추의 잎을 구채 (韭菜)라 하며 性味が 溫辛하고, 肝·胃·腎經에 歸經하여 溫中, 行氣하며 散血하고 解毒하는 효능이 있어 反胃, 吐血, 衄血, 尿血, 痢疾, 消渴, 痔漏, 脫肛, 打撲傷, 蟲蟻咬傷 등에 사용되고 있다. 특히 胸痺로 가슴이 송곳으로 찌르는 듯이 몹시 아프고 몸을 굽혔다 폈다 할 수 없고 식은땀이 나는 증상에 사용된다.

*Allium* 속에 속하는 마늘, 양파와 마찬가지로 항암, 항균, 항산화 효과 등 생리적 기능뿐만 아니라 溫中, 下氣, 行氣, 產血, 利尿, 強心, 解毒 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다<sup>4-6)</sup>. 또한 부추는 flavonoid 화합물과 beta-carotene 및 식이성 페놀인 beta-sitosterol, quercetin, phenolic acid와 kaemperol 등을 함유하고 있으며 부추의 식이성 페놀은 LDL 산화저해능이 높다는 연구가 보고되었다. 이외에도 부추 잎에서 추출한 purine nucleoside인 adenosine에 관한 항혈전 연구가 보고되어 있다<sup>7-10)</sup>.

따라서 본 연구에서는 LDL receptor knock out (LDLr KO) 마우스 모델을 이용하여 부추 추출물의 경구 투여가 죽상경화증의 예방효과에 미치는 영향을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

모든 실험은 대전대학교 동물실험 윤리위원회의 승인 (DJUAR2015-045)을 얻어 시행하였으며 동물관리 규정을 준수하였다. LDLr KO 마우스 6주령 수컷을 Jackson Lab. ((주)중앙실험동물, 서울)에서 분양받아 1주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물 사육실의 조건은 conventional system으로 온도  $22 \pm 2$  °C, 습도  $50 \pm 5$  %, 명암주기 (light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였다. 사료는 고형사료 (조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상, 삼양사, 항생제 무첨가)와 물을 충분히 공급하였다.

### 2. 방법

#### 1) 시료 추출

충남 금산군 추부면에서 생산된 신선 부추 *Allium tuberosum* (AT)를 10kg 구매하여 건조하였다. 건조한 500g을 한일분쇄기 (FM-700SS, 한국)로 분쇄하여 환류추출기 (heating Mantle, MS-DM609/20L)에 넣고 45 °C에서 70% 에탄올을 2L 가하여 60분 추출한 후 다시 70%에탄올 2L를 가하여 같은 조건으로 60분 동안 재탕하였다. 그 후 감압증류기 (N-1200A, EYELA, CO. LTD, Japan)를 이용하여 유기용매를 제거하는 농축과정을 거치고, 동결건조기 (PF-10/ALPHA 1-2LD, Germany)를 통하여 건조된 부추 70% EtOH 추출물 (11.8g)을 얻었다.

### 2) 죽상경화증 동물모델에서의 효능평가

(1) LDLr KO 마우스를 이용한 죽상경화증 모델 및 약물 투여

1주간 적응기간을 거친 LDLr KO 마우스에 2주간 AIN-76A diet 사료 (protein 20.8%, carbohydrate 67.7%, fat 11.5%)에 적응시킨 후 실험동물을 정상군 (NOR), 대조군 (CON), 부추 추출물 100 mg/kg body weight 투여군 (AT100), 부추 추출물 300 mg/kg body weight 투여군 AT300)으로 군 분리하여 실험에 사용하였다. 군 분리 후 정상군에는 기본 사료를, 대조군 및 약물투여군에는 Western diet (D12079B, Research Diets Inc, New Brunswick, NJ)를 8주간 공급하였다 (Table 1). Western diet 사료 (protein 20%, carbohydrate 50%, fat 21%)를 공급하여 약물투여군은 각각 100, 300 mg/kg body weight의 농도로 8주간 투여하였다. 식이섭취량 및 체중은 매주 일정한 시간에 측정하였으며, 식이효율 (food efficiency ratio, FER)은 식 (a)에 따라 계산하여 산출하였다. 식 (a) FER (%) = [Total weight gain / Total food intake] × 100.

Table 1. Western diet formula

Product # D12079B	gm%	kcal %
Protein	20	17
Carbohydrate	50	43
Fat	21	41
Total		100
Kcal/gm	4.7	
Ingredient	gm	kcal
Casein, 80Mesh	195	780
DL-Methionine	3	12
Corn Starch	50	200
Maltodextrin 10	100	400
Sucrose	341	1364
Cellulose	50	0
Milk Fat, Anhydrous	200	1800
Corn Oil	10	90
Mineral Mix S10001	35	0
Calcium Carbonate	4	0
Vitamin Mix V10001	10	40
Choline Bitartrate	2	0
Cholesterol, USP	1.5	0
Ethoxyquin	0.04	0
Total	1001.54	

(2) LDLr KO 죽상경화증 마우스의 조직 및 지방 무게 측정 실험이 끝난 동물은 희생 3시간 전 절식시킨 후 각 실험동물의 간, 신장 조직 및 피하 (subcutaneous), 부고환 (epididymal), 신장 주변 (kidney leaf), 내장 (intraabdominal)의 지방조직을 혈액 채취 후 부위별로 즉시 적출하여 무게를 측정하였다.

(3) LDLr KO 죽상경화증 마우스의 혈장 내 지질함량의 지표 측정

실험 종료 후 실험동물은 희생 3시간 전 절식시킨 후 혈액을 채취하여 30분 이내에 3,000 rpm, 4 °C에서 15분간 원심분리하여 혈장 (plasma)을 분리하여 -70 °C에 보관하였다가 분석하였다. 분리한 혈장 (plasma)에서 지질함량의 지표인 총 콜레스테롤 (total cholesterol, TC), High-density lipoprotein (HDL), 중성지방(triglyceride, TG), 혈당(glucose)의 함량을 생화학 자동 분석기 (Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 측정하였다. Low-density lipoprotein (LDL)의 수치는 Iranian (2008) Formula for LDL Cholesterol을 이용하여 계산하였다.

(4) LDLr KO 죽상경화증 마우스의 혈장 내 간 기능 지표 측정

실험 종료 후 각 실험동물로부터 분리한 혈장 (plasma)에서 간 기능의 지표인 ALT 및 AST를 생화학 자동 분석기 (Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 측정하였다.

(5) LDLr KO 죽상경화증 마우스의 간의 조직병리학적 변화

간 조직에서의 조직병리학적 관찰을 수행하기 위해 간 조직을 절취하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정 시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4 μm 두께의 조직절편을 제작하여 hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 시행한 뒤 광학현미경위에서 특이 병변의 유무를 관찰하였다.

(6) LDLr KO 죽상경화증 마우스의 동맥의 조직병리학적 변화

동맥에서의 조직병리학적 관찰을 수행하기 위해 동맥을 절취하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정 시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4 μm 두께의 조직절편을 제작하여 H&E 염색을 시행한 뒤 광학현미경위에서 특이 병변의 유무를 관찰하였다. 혈관 내막 비후도 측정은 I-Solution lite (Innerview Co., 한국) 프로그램을 이용하였다.

3) 통계처리

모든 수치는 평균 ± 표준오차 (Mean ± SE)로 표시하였으며, SPSS (22.0 for Windows program)을 사용하여 one-way analysis of variance (ANOVA) test를 실시한 후 Tukey Multiple Comparison test로 사후검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 유의수준 p-value < 0.05에서 검정하였다.

결 과

1. 체중과 식이효율의 변화

8주간에 걸쳐 실험한 결과 대조군에 비해 AT100 투여군과

AT300 투여군에서 체중감소를 경향을 관찰 할 수 있었다 (Fig. 1).

식이효율 (FER, %)은 western diet를 먹인 대조군 (5.45 ± 1.08%)이 일반 식이를 한 정상군 (3.92 ± 0.55%)에 비하여 증가하였으며 AT100 투여군과 AT300 투여군의 식이효율이 대조군에 비하여 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2).

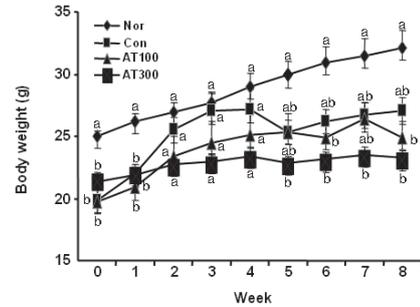


Fig. 1. Effect of *Allium tuberosum* extract on body weight in LDLr KO mice.

Nor, LDLr KO mice; Con, LDLr KO control mice fed Western diet; AT100, *Allium tuberosum* extract 100 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; AT300, *Allium tuberosum* extract 300 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice. All data are expressed means ± SEM, n=6 mice per group. Results were assessed by one-way ANOVA followed by Tukey Multiple Comparison test (<sup>a,b</sup>p < 0.05).

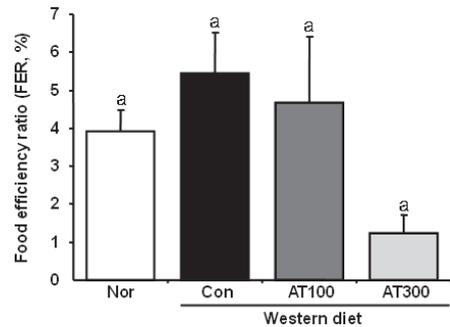


Fig. 2. Effect of *Allium tuberosum* extract on food efficiency ratio (FER) in LDLr KO mice.

Nor, LDLr KO mice; Con, LDLr KO control mice fed Western diet; AT100, *Allium tuberosum* extract 100 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; AT300, *Allium tuberosum* extract 300 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice.

All data are expressed means ± SEM, n=6 mice per group. Results were assessed by one-way ANOVA followed by Tukey Multiple Comparison test.

2. 조직과 지방무게 변화

실험결과 간과 신장 조직 무게는 정상군에 비해 대조군에서 유의성 있는 증가를 보였지만 (p < 0.05), AT100, 300 투여군은 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였다.

LDLr KO 마우스의 부위별 지방 무게 측정 결과 피하지방 무게는 대조군이 정상군에 비해 77% 증가하였고 (p < 0.05), AT100과 AT300 투여군은 대조군에 비해 각각 35.9%와 62.5% 감소하였다 (p < 0.05). 부고환지방 무게는 대조군이 정상군에 비해 76.4% 증가하였고 (p < 0.05), AT300 투여군은 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다 (p < 0.05). 신장 주변 지방 무게는 대조군이 정상군에 비해 56.8% 증가하였고

( $p < 0.05$ ), AT100과 AT300 투여군은 대조군에 비해 각각 48.6%와 64.9%의 유의성 있는 감소를 나타내었다 ( $p < 0.05$ ). 내장지방 무게는 대조군이 정상군에 비해 57.1% 증가를 보였고 ( $p < 0.05$ ), AT100과 AT300 투여군은 대조군에 비해 각각 25.7%와 51.4%의 감소를 나타내었다(Table 2).

Table 2. Effect of *Allium tuberosum* extract on tissue weight change in LDLr KO mice.

Group	Nor	Con	AT100	AT300
Liver weight (g)	0.67 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.19 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.08 <sup>ab</sup>	1.13 ± 0.06 <sup>a</sup>
Kidney weight (g)	0.20 ± 0 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.03a	0.29 ± 0.03ab	0.28 ± 0.01 <sup>ab</sup>
Subcutaneous fat weight (g)	0.29 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.28 ± 0.22a	0.82 ± 0.09ab	0.48 ± 0.02 <sup>b</sup>
Epididymal fat weight (g)	0.21 ± 0 <sup>b</sup>	0.89 ± 0.17a	0.54 ± 0.11ab	0.31 ± 0.03 <sup>b</sup>
Kidney leaf fat weight (g)	0.16 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.06a	0.19 ± 0.02b	0.13 ± 0.01 <sup>b</sup>
Intraabdominal fat weight (g)	0.15 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.08a	0.26 ± 0.04a	0.17 ± 0.04 <sup>a</sup>

Nor, LDLr KO mice; Con, LDLr KO control mice fet Western diet; AT100, *Allium tuberosum* extract 100 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; AT300, *Allium tuberosum* extract 300 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice. All data are expressed means ± SEM, n=6 mice per group. Results were assessed by one-way ANOVA followed by Tukey Multiple Comparison test (<sup>a,b</sup> $p < 0.05$ ).

### 3. 간 기능 지표 측정

ALT 측정 결과 대조군 (62.60 ± 20.64 IU/L)은 정상군 (23.75 ± 0.83 IU/L)에 비해 62.1% 증가하였고 AT100 투여군 (14.75 ± 2.80 IU/L,  $p < 0.05$ )과 AT300 투여군 (17.60 ± 1.28 IU/L)은 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 보였다.

AST 측정 결과 정상군 (109.75 ± 8.82 IU/L)에 비해 대조군 (148.60 ± 35.96 IU/L)이 증가하였고 AT100 투여군 (99 ± 14.25 IU/L)과 AT300 투여군 (80.40 ± 7.87 IU/L)은 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3).

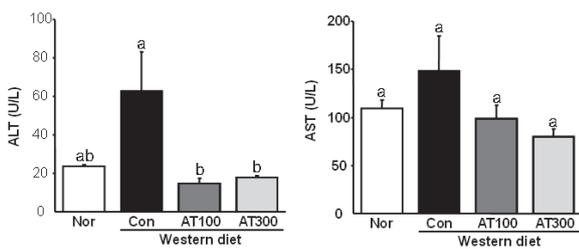


Fig. 3. Effect of *Allium tuberosum* extract on ALT and AST in LDLr KO mice.

ALT, Alanine aminotransferase; AST, Aspartate aminotransferase. Nor, LDLr KO mice; Con, LDLr KO control mice fet Western diet; AT100, *Allium tuberosum* extract 100 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; AT300, *Allium tuberosum* extract 300 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice. All data are expressed means ± SEM, n=6 mice per group. Results were assessed by one-way ANOVA followed by Tukey Multiple Comparison test (<sup>a,b</sup> $p < 0.05$ ).

### 4. 혈장 내 지질함량 지표 측정 결과

#### 1) 총콜레스테롤 (TC) 함량

TC 측정 결과 대조군 (1116.20 ± 133.71 mg/dl,  $p < 0.001$ )은 정상군 (339.75 ± 55.09 mg/dl)에 비해 약 329% 증가하

였고 AT300 투여군 (781.20 ± 64.50 mg/dl)은 대조군에 비해 약 30% 유의성 있게 감소하였다(Fig. 4).

#### 2) 중성지방 (TG) 함량

혈장 내 중성지방 함량은 정상군 (113.50 ± 6.60 mg/dl,  $p < 0.01$ )에 비해 대조군 (862.20 ± 217.99 mg/dl)은 유의성 있는 증가를 보였고 AT300 투여군 (448.60 ± 93.45 mg/dl)은 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4).

#### 3) 고밀도 지단백 콜레스테롤 (HDL-cholesterol) 함량

HDL-cholesterol의 측정 결과 모든 군에서 개선효과를 확인할 수 없었다(Fig. 4).

#### 4) 저밀도 지단백 콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 함량

대조군 (1155.59 ± 206.49 mg/dl)은 정상군 (129.47 ± 25.78 mg/dl,  $p < 0.001$ )에 비해 LDL-cholesterol 함량이 약 893% 증가하였다. 그러나 AT300 투여군 (693.67 ± 78.33 mg/dl)은 대조군에 비해 40% 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4).

#### 5) 혈당 (Glucose) 함량

정상군 (109 ± 16.50 mg/dl,  $p < 0.05$ )에 비해 대조군 (198.40 ± 29.67 mg/dl)은 유의성 있는 증가를 보였다. 대조군에 비해 AT100 투여군 (154.75 ± 4.74 mg/dl)은 감소하는 경향을 보였고 AT300 투여군 (119.80 ± 16.86 mg/dl)은 유의성 있게 감소하였다(Fig. 4).

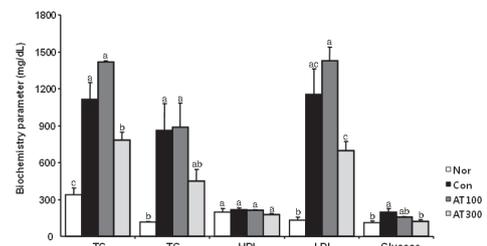


Fig. 4. Effect of *Allium tuberosum* extract on blood biochemistry parameters in LDLr KO mice.

TC ; Total cholesterol, TG; Triglyceride, HDL; High-density lipoprotein, LDL; Low-density lipoprotein

Nor, LDLr KO mice; Con, LDLr KO control mice fet Western diet; AT100, *Allium tuberosum* extract 100 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; AT300, *Allium tuberosum* extract 300 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice. All data are expressed means ± SEM, n=6 mice per group. Results were assessed by one-way ANOVA followed by Tukey Multiple Comparison test (<sup>a,b,c</sup> $p < 0.05$ ).

### 5. 간의 조직병리학적 변화

간 조직의 개선 활성을 직접적으로 확인하고자 간 조직 고정 후 H&E 염색을 하였다. 정상군의 간 조직(A)에서는 간세포가 정상적인 형태를 이루고 있지만 대조군(B)에서 정상군에 비해 간 조직에서 지방 조직의 축적과 지방방울 (fat droplets)의 수가 크게 증가하였음을 관찰할 수 있었다. 약물 투여군에서는 지방방울과 지방 조직의 축적 정도가 감소하는 것을 관찰하였고, 특히 AT300 투여군은 정상군과 유사한 모습을 보였다(Fig. 5).

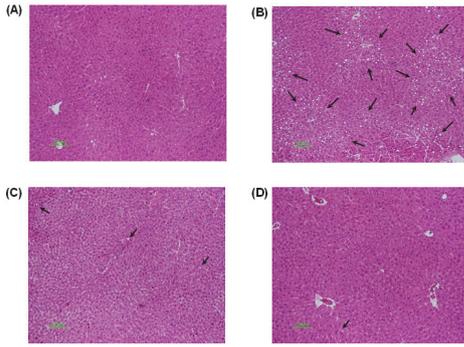


Fig. 5. Effect of *Allium tuberosum* extract on liver histological profiles in LDLr KO mice.

(A) Nor, LDLr KO mice; (B) Con, LDLr KO control mice fed Western diet; (C) AT100, *Allium tuberosum* extract 100 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; (D) AT300, *Allium tuberosum* extract 300 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice. (n = 6) The black arrows were means lipid drop and hepatocyte injury. (Original magnification  $\times 50$ ), n=6 mice per group.

## 6. 동맥의 조직병리학적 변화

동맥의 개선을 직접 확인하고자 H&E 염색을 실시하였다. 대조군의 동맥조직 (B)에서는 혈관 내막의 비후도가 정상군 (A)에 비해 확연히 증가한 것을 관찰 할 수 있었으며, AT100 투여군 (C)과 AT300 투여군 (D)에서는 혈관 내막의 비후도가 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. 특히 AT300 투여군은 정상군과 유사한 모습을 보였다(Fig. 6).

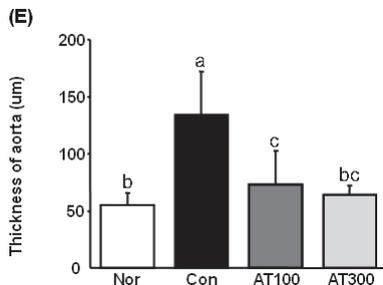
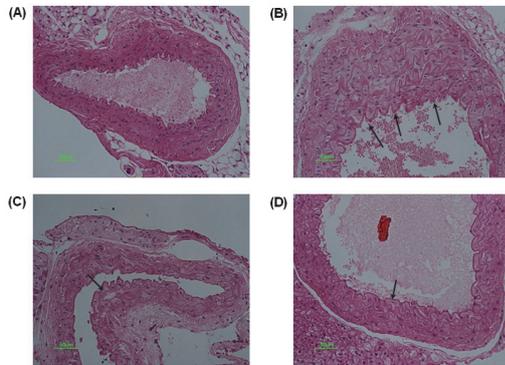


Fig. 6. Effect of *Allium tuberosum* extract on aorta histological profiles in LDLr KO mice.

(A) Nor, LDLr KO mice; (B) Con, LDLr KO control mice fed Western diet; (C) AT100, *Allium tuberosum* extract 100 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; (D) AT300, *Allium tuberosum* extract 300 mg/kg body weight treated LDLr KO control mice; (E) Thickness of aorta. The black arrows were means thickness of aorta wall and plaque. (Original magnification  $\times 50$ ), n=6 mice per group. Results were assessed by one-way ANOVA followed by Tukey Multiple Comparison test (a,b,cp(0.05).

## 고찰

우리나라에서는 최근 서구화된 식습관과 운동부족으로 인한 비만 발생이 증가 추세에 있으며 이로 인한 고혈압, 뇌졸중 및 혈관질환과 같은 심각한 질환의 발생 또한 증가하고 있다<sup>1,2)</sup>. 죽상경화증이란 주로 혈관의 가장 안쪽을 덮고 있는 내막에 콜레스테롤이 침착하고 내피세포의 증식이 일어난 결과 죽종 (atheroma)이 형성되는 혈관질환을 말한다<sup>11)</sup>. 비만, 당뇨병, 고지혈증 등의 요인들에 의해 동맥벽을 이루는 내막에 국소적으로 손상이 발생하고 그 결과 내피세포의 기능이상과 함께 단핵구 (monocyte), T-림파구 (T-lymphocyte), 혈소판 및 지질단백질 등이 혈관벽에 부착한다. 내피세포 안으로 유입된 단핵구는 대식세포 (macrophage)로 변형되어 산화된 LDL을 포함한 지질단백질을 활발하게 탐식하고 내막에 지질함유 대식구가 축적되어 죽상경화증의 초기 단계인 지방선조 (fatty streak)를 형성한다. 그 후 내막에서 평활근 세포의 증식 및 활성화가 일어나 죽종판 (atheromatous plaque)이 형성된다. 이로 인해 혈관 내막의 비후도가 증가하고 혈관 내벽이 좁아지면서 혈류의 흐름이 감소하고 점차 병이 진행되면서 혈관을 막아 버리는 경우도 발생한다<sup>12-16)</sup>.

부추의 식이성 폐놀은 LDL 산화저해능이 높다는 연구와 함께 항혈전 성분으로 부추잎에서 추출한 purine nucleoside인 adenosine에 관한 연구 보고되었다<sup>4-6)</sup>. 그러나 아직까지 부추추출물이 죽상경화증에 미치는 영향에 대해 연구는 수행되지 않았기에 LDLr KO 마우스 모델에 부추 추출물을 투여하여 죽상경화증 예방효과를 조사하였다.

LDLr KO 마우스는 정상식이 시에는 죽상경화 병변을 나타내지 않지만 western diet를 섭취시킬 경우 죽상경화증을 일으키며, apoE<sup>-/-</sup> 마우스와는 달리 고지방 식이를 할 경우, 사람과 비슷한 유형으로 콜레스테롤 수치가 올라가는 성향을 나타내기 때문에 본 연구에서 LDLr KO 마우스에 21% fat을 포함한 Western diet를 8주간 진행하였다<sup>17-19)</sup>. 그 결과 체중과 식이효율 변화에 있어서, 대조군에 비해 약물투여군 모두 체중과 식이효율에 감소하는 경향을 보였다. 실험 그룹별 간, 신장 및 지방 무게 변화는 정상군에 비해 대조군에서 유의성 있는 증가를 보였다. 간 조직 무게의 증가는 고지방 섭취 시 지방대사가 일어나지만 정상적으로 중성지방이 제거되지 않아 지방이 쌓이면서 간 조직의 무게가 증가한 것으로 생각된다. 그리고 피하, 부고환, 신장주변 그리고 내장지방의 무게 또한 대조군과 비교하여 약물투여군 모두 지방무게 감소를 나타내었다. 과다한 지방질의 축적은 혈액순환장애를 일으키고 이로 인하여 죽상경화증을 초래할 수 있다<sup>20-21)</sup>. 본 연구에서 실험한 동물들의 혈장 내 지질함량을 살펴보면 정상군에 비해 대조군의 총콜레스테롤, 중성지방 및 LDL-콜레스테롤의 함량이 유의적으로 증가하였다. 대조군에 비해 약물투여군 모두 지질함량이 감소하였지만 특히 AT300 투여군이 AT100 투여군보다 더 큰 감소를 나타내었다. 또한 정상군에 비해 대조군은 혈당 함량이 유의적으로 증가하였으며, 대조군에 비해 AT300 투여군에서 유의적인 감소를 나타냈다. 이와 같이 체내 지방축적 및 지질함량을 평가한 결과, AT300 투여는 체내 총콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤 및 지방축적을 감소시킴으로써 죽상경화증을 효과적으로 예방할 수 있을 것으로 기대된다. 스트레스, 고지방식이나 알콜로 인한

여 간 조직에 손상이 발생하면 ALT와 AST 효소는 혈액 중 그 수치가 증가한다<sup>22)</sup>. 간 기능의 지표로 ALT와 AST를 측정 한 결과, ALT는 약물 투여군 모두 대조군에 비해 감소하였고, AST는 약물 투여군 모두 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과 부추 추출물의 투여는 간조직의 손상을 어느 정도 보호할 수 있는 것으로 생각된다. 간과 대동맥의 조직병리학적 변화를 확인한 결과, 정상군에 비해 대조군의 간 조직에서 지방방울과 지방 조직의 축적이 뚜렷하게 나타났으며 동맥의 경우 혈관 내막의 비후도와 확연히 증가한 것을 확인할 수 있었다. 대조군과 비교했을 때 AT300 투여군은 정상군과 유사한 모습을 보였다.

이러한 실험 결과와 부추의 항혈전 및 높은 LDL 산화저해능<sup>4-6)</sup>을 바탕으로 부추 추출물은 LDLr KO 마우스모델에서 체내 지방축적 및 지질함량의 감소와 간 및 혈관 내피세포의 기능적 개선을 통해 죽상경화증을 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

## 결론

부추 추출물을 LDLr KO 마우스 모델에 경구 투여한 후, 죽상경화증 예방효과를 연구한 결과는 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중 변화와 식이효율 측정 결과 대조군에 비해 모든 투여군에서 감소하는 경향을 보였다.
2. 간 및 신장 조직과 내장 지방 무게를 측정한 결과 모든 투여군에서 감소하는 경향을 보였고 피하, 부고환, 신장 주변 지방의 경우 AT300 투여군은 유의성 있게 지방 무게를 감소시켰다 ( $p < 0.05$ ).
3. 간 기능 지표인 ALT와 AST를 측정 한 결과, ALT의 경우 모든 투여군에서 유의성 있는 감소를 보였고 ( $p < 0.05$ ), AST 측정 결과 투여군 모두에서 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타내었다.
4. 혈장 내 지질함량을 평가한 결과, AT300 투여는 체내 총콜레스테롤과 혈당 수치를 유의적으로 감소하였다 ( $p < 0.05$ ).
5. 간 조직과 대동맥을 분석한 결과, 대조군의 간 조직에서 지방방울과 지방 조직의 축적을 관찰하였으며 대동맥의 경우 혈관 내막의 비후도와 확연히 증가한 것을 확인할 수 있었다. 대조군과 비교했을 때 AT300 투여군의 간 조직과 대동맥은 정상군과 유사한 모습을 보였다.

따라서 부추 추출물의 투여가 죽상경화증에 예방효과가 있다고 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 한국보건산업진흥원을 통해 보건복지부 "양·한방 융합기반 기술개발사업"의 재정지원을 받아 수행된 연구입니다(HI15C0256).

## References

1. Kim the Korea national health and nutrition examination survey (KNHANES): current status and challenges. Epidemiol Health. 2014 ; 36 : 1-3.
2. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, McNamara PM. Serum cholesterol, lipoproteins and the risk of coronary heart disease. The Framingham study. Ann Intern Med. 1971 ; 74 : 1.
3. Nigel Mackman, Triggers, targets and treatments for thrombosis. Nature. 2008 ; 451 : 914-8.
4. Ryu SH. Antioxidative effects of kimchi and kimchi ingredients in vitro and in vivo systems. Inje Univ. 1997.
5. Wenzel U, Kuntz S, Brendel MD, Daniel H. Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells. Cancer Res. 2000 ; 60 : 3823-31.
6. Ahn JM, Lee SH, Song YS. Biological functions in leek. Food Ind Nutr. 2001 ; 6 : 68-73.
7. Lim TS, Oh HI, Do JR, Kim HK. Physiological Actives of Leek Extracts from *Allium tuberosum* and *Allium senescens*. J Kor Soc Food Sci Nutr. 2006 ; 35(3) : 301-6.
8. Do JR, Kang SN, Kim KJ, Jo JH, Lee SW. Antimicrobial and Antioxidant Activities and Phenolic Contents in the Water Extract of Medicinal Plants. Food Sci Biotechnol. 2004 ; 13(5) : 640-5.
9. Chung HD, Youn SJ. The Physioecological Characteristics and Productivity of the Korean Native *Allium tuberosum* Rottl. J Kor Soc Hort Sci. 1996 ; 37(4) : 495-504.
10. Cha JY, Kim SK, Kim HJ, Song JY, Cho YS. Chemical Compositions and Antioxidative Activity of Leek (*Allium turberusum*) Seeds. Kor J Life Sci. 2000 ; 10(3) : 273-8.
11. Park YC, Lee JS, Kim MH, Kim DY, Lee SD. Pharmacological action and Toxicity of *Angelica sinensis*. Korean J Orient Med Pre. 2011 ; 19(2) : 93-108.
12. Gesina L, Longenecker. The Platelet: Physiology and Pharmacology. Academic Press INC. 1985 : 17.
13. Kumar V, Abbas AK, Robbins Basic Pathology. Elsevier INC. 8th ed. 2007 : 10.
14. Srivastava RA, Mistry S, Sharma S. A novel anti-inflammatory natural product from *Sphaeranthus indicus* inhibits expression of VCAM1 and ICAM1, and slows atherosclerosis progression independent of lipid changes. Nutr Metab (Lond). 2015 ; 12 : 20.

15. Gargalovic PS. Atherogenesis on the Chopping Block. *Cell Metab.* 2009 ; 9(5) : 399–401.
16. Morony S, Tintut Y, Zhang Z, Cattley RC, Van G, Dwyer D, Stolina M, Kostenuik PJ, Demer LL. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *ldlr(-/-)* mice. *Circulation.* 2008 ; 117(3) : 411–20.
17. Ko KW, Paul A, Ma K, Li L, Chan L. Endothelial lipase modulates HDL but has no effect on atherosclerosis development in *apoE<sup>-/-</sup>* and *LDLR<sup>-/-</sup>* mice. *J Lipid Res.* 2005 ; 46(12) : 2586–94.
18. Whitman SC. A practical approach to using mice in atherosclerosis research. *Clin Biochem Rev.* 2004 ; 25(1) : 81–93.
19. Breslow JL. Mouse models of atherosclerosis. *Science.* 1996 ; 272(5262) : 685–8.
20. Ham IH, Lee UC, Lee BH, Choi HY. Lipid lowering activity of Ponciri Fructus and Aurantii Fructus Immaturus on hyperlipemia rats induced by Triton WR-1339. *Korea J Herbol.* 2007 ; 22(3) : 109–16.
21. Kang SS, Shin YJ. Study of the Effects of Samulhwallyeol-tang in Hyperlipidemic Animal Model Induced with a High-Fat Diet. *J Korean Orient Int Med.* 2014 ; 35(2) : 119–32.
22. Lim AK, Jung MJ, Kim DW, Hong JH, Jung HK, Kim KS, Kim YH, Kim DI. An Extrapolation Concentration Decision Effect Antihyperlipidemic of Aglycone Isoflavone from Biotransformation Soybean on the Fed High-Fat Diet Rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2009 ; 38(9) : 1167–73.