

용육조위탕 증류액이 노화 흰쥐의 간세포 및 비장세포의 항산화능에 미치는 영향

김재홍 · 조영권 · 이 찬*

대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실

Anti-Oxidative Effect of Yongyukjowi-tang Distillate on Liver and Spleen Cells of Aged Rats

Jae-Hong Kim, Young-Kwon Cho, Chan Lee*

Department of Meridians & Acupoints, College of Korean Medicine, Daejeon University

The purpose of this study is to investigate the anti-oxidative effect of Yongyukjowi-tang (YJT) distillate on liver and spleen cells of aged rats. This experiment was performed using liver and spleen cells of 10w, 52w, 72w old SD rats. The cells were divided into three groups: DW, Vit.C, and YJT groups, which were treated with distilled water, vitamin C, and YJT distillate respectively, and the levels of Superoxide Dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were measured. SOD level in liver and spleen cells of 10w old rats was significantly increased in YJT group compared to DW group. MDA level in liver cells of 72w old rats was significantly decreased in YJT group compared to DW group. Yongyukjowi-tang distillate showed an anti-oxidative effect on liver and spleen cells of aged rats.

keywords : Yongyukjowi-tang, Anti-oxidative effect, Aged rats

서 론

최근 급속한 고령화 추세에 따라 노화에 대한 관심과 연구가 증가하고 있으며, 노화과정에 대하여 여러 학설이 제기되고 있는데, 노화과정에 대한 주요 이론으로는 유전적 예정론과 손상이론이 있다. 유전적 예정론은 이미 예정된 생물학적 시계가 모든 동물세포 내의 염색체에 내장되어 최대 수명이 유전적으로 결정되어 있는 것이며, 손상이론은 세포가 손상되어 노화가 촉진된다는 것이다¹⁾. 손상이론 중 free radical 학설은 Harman²⁾에 의해 처음 제안된 이론으로, 항산화 기능이 연령의 증가에 따라 감소되는 반면 활성산소와 같은 free radical은 체내에 축적되어 세포나 조직을 파괴하고 여러 퇴행성 질환을 유발하며 생체기능을 약화시킴으로써 노화가 발생한다는 학설이다^{3,4)}. 이에 따라 free radical을 중화시켜 질병을 예방하거나 가역적으로 되돌려 놓고 노화과정을 늦출 수 있다고 알려져 있는 항산화제의 보충은 의학 및 식품 분야에서 관심이 집중되고 있다⁵⁾.

한의학에서는 생명현상이 生, 長, 壯, 老, 死의 과정 속에서 자연의 법칙에 따라 변화한다고 인식하고 있다. 노화는 생명현상이 생하여 사라나가는 단계에서 방향이 바뀌어 생명현상이 감퇴하고

사망을 향하여 나아가는 단계를 말한다. 인체의 陰陽은 상대적 협조와 평형을 유지하여야 하며 이러한 관계는 인체 내부에서, 그리고 인체와 자연 사이에서 이루어져야 하는데 노년기에 접어들면서 이러한 陰陽의 상대적 협조와 평형이 깨지므로 臟腑와 근골이 점차 허약해지고 精血이 소모되며 腎氣가 어지러워지게 됨에 따라 노화로 이어지게 된다고 보고 있다⁶⁾. 《靈樞·榮衛生會篇》⁷⁾에서 “늙으면 기혈이 쇠약해져 肌肉이 마르며 氣道가 잘 통하지 않으며, 五臟의 氣가 서로 뒤엉키고 營氣가 부족하며 衛氣가 몸 안에서 손상된다[老者之氣血衰 其肌肉枯 氣道澁 五臟之氣相搏 其營氣衰少而衛氣內伐]”라 하여 노화가 氣血의 衰退로 肌肉이 점차 약해지고 臟腑의 기능이 약해지면서 발생하였다는 것을 설명하였고, 《素問·陰陽應象大論》⁸⁾에는 “나이 40에는 陰氣가 반으로 줄고 일상생활이 약해지며, 나이 50에는 몸이 무겁고 눈과 귀가 어두워지며, 나이 60에는 陰痿가 생기고 기가 크게 약해져 九竅가 정상적인 기능을 하지 못한다[年四十而 陰氣自半也 起居衰矣 年五十體重 耳目不聰明矣 年六十 陰痿 氣大衰九竅不利]”라 하여 肝腎의 陰精의 虧損으로 귀와 눈이 어두워지고 陰痿와 같은 生殖기능 쇠퇴증상이 나타남을 설명하고 있다.

용육조위탕(龍肉調胃湯; Yongyukjowi-tang; YJT)은 《東醫四

* Corresponding author

Chan Lee, Department of Meridians & Acupoints, College of Korean Medicine, Daejeon University, 62, Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon, 300-716 South Korea

E-mail : dlcks07@naver.com ·Tel : +82-42-280-2641

Received : 2016/04/01 ·Revised : 2016/04/28 ·Accepted : 2016/05/04

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2016.06.30.3.157

Available online at http://www.hantopic.com/kjopp/KJOPP.htm

象新編⁹⁾에 소개된 처방으로 오랫동안 병치레를 하거나 큰 병을 앓고 난 후 조리를 위하여 사용하며 龍眼肉, 乾栗, 柏子仁, 麥門冬으로 구성되어 있다. 이 처방은 肺의 기능을 도와주고 保命之主에 속하는 呼散之氣를 보충하는데 도움을 주어 허약한 사람에게 다용할 수 있는 처방으로 이 등¹⁰⁾은 용육조위탕이 노화 흰쥐의 면역기능을 증가시킨다고 보고한 바 있다.

이에 저자는 龍肉調胃湯이 노화억제에 유효할 것이라 생각되어, 龍肉調胃湯이 자연 노화한 실험동물의 장기 내 항산화능에 미치는 영향을 알아보고자, 노화 흰쥐의 간세포와 비장세포에 龍肉調胃湯 증류액을 처리한 후 항산화능 관련 인자들을 분석하여 유의한 결과를 얻어 이를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat을 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 공급받아 실험을 실시할 때까지 고행사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하였고, 실험실 온도는 실온 ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), 습도는 40~60%를 유지하였다. 본 실험은 OO대학교 동물실험윤리규정을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에서 사용한 약재들은 OO대학교 한방병원 약제실의 검수를 받아 구입하여 사용하였다. 용육조위탕의 약재들은 정량한 후, 사용하기 전에 증류수를 이용하여 세척하였다. 용육조위탕(Yongyukjowi-tang ; YJT)의 구성은 Table 1과 같다.

Table 1. The Compositions of Yongyukjowi-tang(YJT)

Herbs	Pharmacognostic name	Scientific name	Dose(g)
龍眼肉	Longanae arillus	Euphoria longana	20
乾栗	Castanae semen	Castanea crenata	10
柏子仁	Biotae semen	Thuja orientalis	4
麥門冬	Liriopis tuber	Liriope platyphylla	4
Total			38

2. 방법

1) 용육조위탕 증류액 제조

본 실험에서 적용한 증류법은 대한약침학회를 통하여 얻은 방법을 이용하였다. 龍肉調胃湯 약재를 증류수로 세척 후 분쇄기로 분쇄하여 증류수 1ℓ를 넣고 shaker를 이용하여 3시간동안 shaking을 한 다음 여과지로 여과하였다. Impeller에 반응조 하부와 반응조 상부조를 설치하고 그 위에 환류 및 증류 냉각관과 분액여두를 설치한 다음, 용육조위탕 진탕액을 반응조 하부에 넣고, 105°C로 예열하였다. 진탕액이 끓기 시작하면 추출온도인 107°C로 온도를 맞춘 뒤, 3시간동안 전탕을 실시하였다. 전탕 시에는 4°C인 냉각수가 환류냉각관에서 흐르도록 하였다. 시간이 경과하면 진탕액은 설정온도 범위(전탕 온도 105°C)에서 전탕되고, 약재의 온도는 높아지는데(추출온도 107°C), 냉각수 순환위치가 바뀔 때 따라 반응조 안에서만 순환하던 기체가 냉각수에 의해 액화되며, 이와

같은 방식으로 추출된 증류액이 분액여두로 한 방울씩 받아들여, table 1의 한 첩 기준으로 용육조위탕 증류액 240 mL을 얻게 되었다. 추출이 끝나고 1ℓ 용기에 받아들인 증류액은 mineral 성분을 침강시키기 위해 하루 동안 냉장 보관하였다. 하루 동안 냉장 보관된 용육조위탕 증류액은 filtering을 실시하고, 멸균된 용기에 넣어 냉장 보관하였다.

2) 세포 분리 및 배양

(1) 간

rat에서 간 조직을 적출하여, 차갑게 준비한 RPMI 1640 media에 보관하였다. 100mm dish에서 간을 잘게 자른 후, RPMI 1640 media와 collagenase typeIV(300u/mL)를 넣고 실온에서 90분 동안 incubation하였다. 이 때 20분에 한 번씩 흔들어 줘서 간 세포가 잘 분리되도록 하였다. 간 조직을 complete media(RPMI1640 + 5% FBS + antibiotics)를 사용하여 mesh에서 간 후, 모아진 cell을 원심 분리기를 이용하여 침전시키며, 침전된 cell pellet은 complete media(RPMI1640 + 5% FBS + antibiotics)를 이용해 2회 세척하였다. 세척이 끝난 cell pellet은 lysis buffer를 이용하여 적혈구를 파쇄한 후 원심분리를 하여 간 조직의 실질 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 complete media를 이용하여 배양하였다.

(2) 비장

rat에서 비장 조직을 적출하여, 차갑게 준비한 RPMI 1640 media에 보관하였다. 비장 조직을 으갠 후 RPMI 1640 media를 넣고 세포를 모아 원심 분리기를 사용하여 cell을 침전시키며, 침전된 cell pellet은 complete media (RPMI1640 + 5% FBS + antibiotics)를 이용해 2회 세척하였다. 세척이 끝난 cell pellet은 lysis buffer를 이용하여 적혈구를 파쇄한 후 원심분리를 하여 비장 조직의 실질 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 complete media를 이용하여 배양하였다.

(3) 세포 분획

배양한 세포를 모은 후 sonicate를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 세포는 600×g에서 10분간 원심분리를 실시하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후 다시 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리를 실시하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 얻은 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리를 실시하여 cytosolic fraction을 얻었다. 또한 침전물에 침전물과 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 넣어 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. Microsomal fraction에서 MDA(lipid peroxidation)의 함량을 측정하고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD(superoxide dismutase) 활성도를 측정하였다.

3) 약물 처리

10주령, 52주령, 72주령 SD rat의 간과 비장으로부터 얻은 실질세포를 안정화한 후, 각 주령별로 다시 DW(distilled water)군, Vit.C(Vitamin C)군, YJT(Yongyukjowi-tang)군으로 나누었다. DW군은 증류수를 처리하였고, Vit. C군은 1% vitamin C (1mg/mL)를 처리하였고, YJT군은 용육조위탕 증류액 (100 µg/mL)을 처리하였다. 이후, 각 세포는 48시간 동안 배양하였다.

4) 항산화능 측정

(1) SOD (superoxide dismutase)

SOD assay kit (Dojindo, Japan)을 이용하여 SOD 활성도를 측정하였다. 세포분획으로 얻은 sample 중 20000 rpm에서 얻은 sample을 사용하여, 20분 동안 37°C에서 incubation을 실시하고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 활성도는 다음의 공식에 의하여 환산하였다.

$$\text{SOD activity (\%)} = \frac{\{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})\}}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

(2) MDA (lipid peroxidation)

Lipid peroxidation assay kit(Oxford Biomedical Research, USA)을 이용하여 586 nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA 농도를 계산하였다.

5) 통계분석

통계분석은 통계프로그램인 SPSS (ver 18.0 KO)을 이용하여 분석하였다. 결과 값은 평균 ± 표준편차로 표시했다. 각 군의 데이터는 먼저 Kruskal-wallis test를 이용하여 분석한 후 Mann Whitney U test를 이용하여 군 간의 차이를 확인하였다. 신뢰도 95% 이상(p<0.05) 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 간세포에서의 항산화 효과

10주령, 52주령 및 72주령 rat의 간세포에 DW, Vit.C, 용육조위탕 증류액을 처리한 후, SOD와 MDA 농도를 측정하였다.

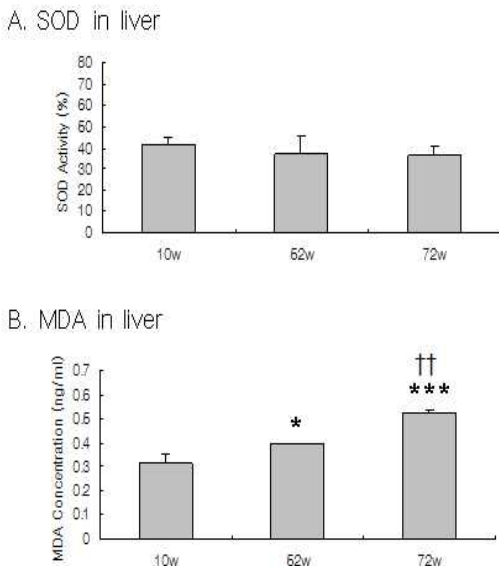


Fig. 1. Effect of Aging on SOD and MDA concentration in rat liver cells. Liver cells of 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW for 48 hours, and Superoxide Dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) concentration were estimated by ELISA. Values represent mean ± SD of 3 independent experiments. * : p<0.05 compared to 10w. † : p<0.05 compared to 52w

1) 주령에 따른 변화

간세포의 SOD 활성도를 비교한 결과 주령에 따른 유의한 변

화는 없었다. MDA 활성을 분석한 결과, 52주령에서 10주령에 비하여 MDA 농도가 유의하게 증가하였고, 72주령에서 10주령 및 52주령에 비하여 MDA 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 1).

2) SOD in liver

간세포의 SOD 활성도를 비교한 결과, 10주령 YJT군에서 DW 군에 비하여 유의하게 높은 SOD 활성을 나타내었다(Fig. 2).

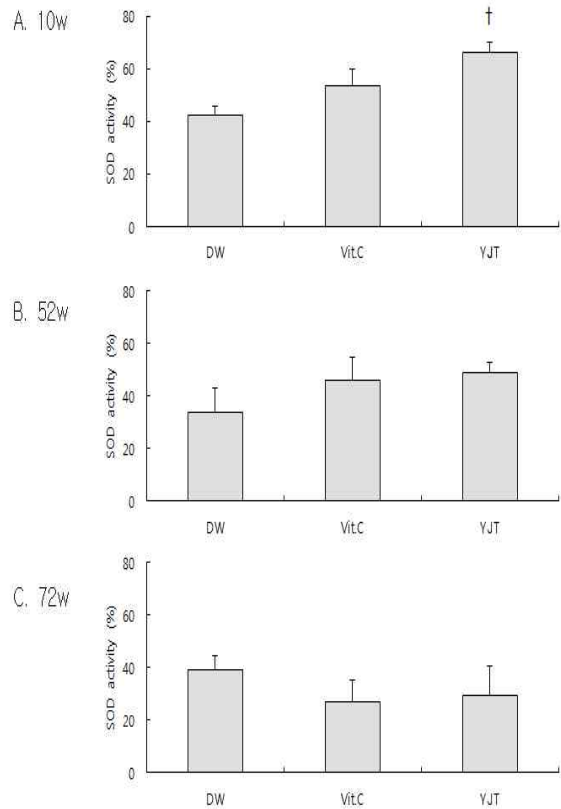
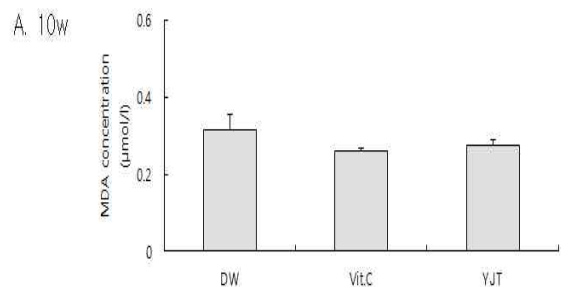


Fig. 2. Effect of Yongyukjowi-tang distillate on SOD activity in liver cells of aged rats. Liver cells of 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours, and Superoxide Dismutase (SOD) activity was estimated by ELISA. Values represent mean ± SD of 3 independent experiments. DW : Cells treated with distilled water for 48 hours. Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours. YJT : Cells treated with Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours. † : p<0.05 compared to DW group.

3) MDA in liver

약물 처리에 따른 간세포의 MDA 활성을 분석한 결과, 72주령 YJT군에서 DW군에 비하여 MDA 농도가 유의하게 감소하였다(Fig. 3).



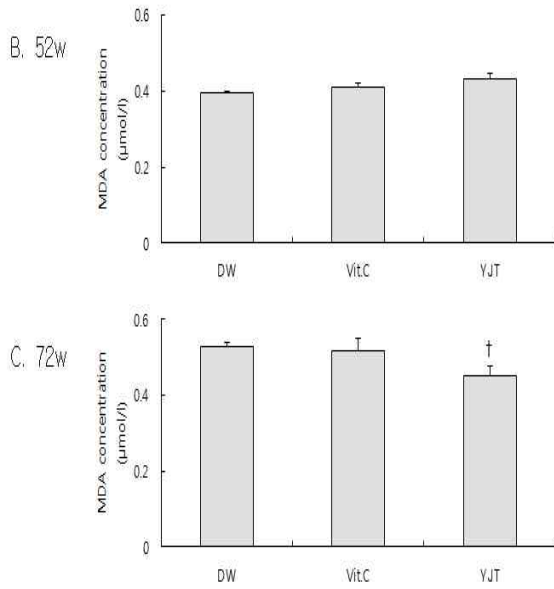


Fig. 3. Effect of Yongyukjowi-tang distillate on MDA concentration in liver cells of aged rats. Liver cells of 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours, and malondialdehyde (MDA) concentration was estimated by ELISA. Values represent mean \pm SD of 3 independent experiments. DW : Cells treated with distilled water for 48 hours. Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours. YJT : Cells treated with Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours. [†] : p<0.05 compared to DW group.

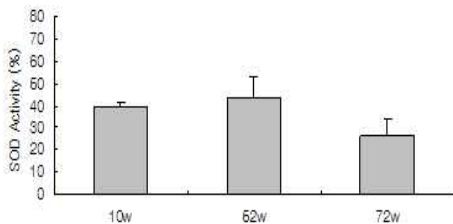
2. 비장세포에서의 항산화 효과

10주령, 52주령 및 72주령 rat의 비장 세포를 분리하여 DW, Vit.C, 용육조위탕 증류액을 처리한 후, SOD와 MDA의 농도를 측정하였다.

1) 주령에 따른 변화

비장세포의 SOD 활성도를 비교한 결과 주령에 따른 유의한 변화는 없었다. MDA 활성을 분석한 결과, 72주령에서 10주령에 비하여 MDA 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 4).

A. SOD in spleen



B. MDA in spleen

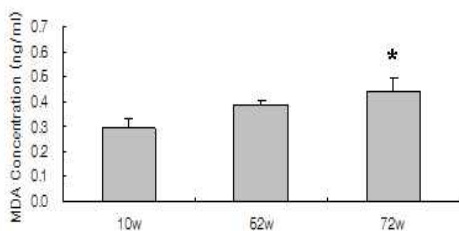
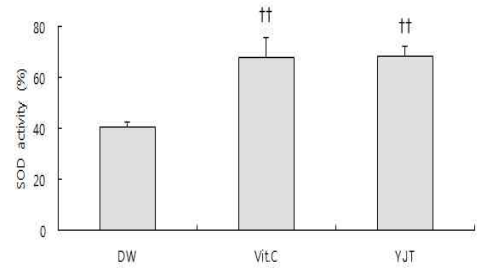


Fig. 4. Effect of Aging on SOD and MDA concentration in rat spleen cells. Spleen cells of 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW for 48 hours, and Superoxide Dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) concentration were estimated by ELISA. Values represent mean \pm SD of 3 independent experiments. * : p<0.05 compared to 10w. [†] : p<0.05 compared to 52w

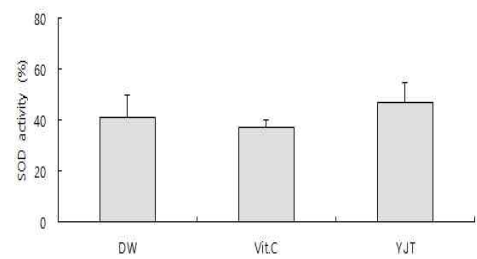
2) SOD in spleen

약물 처리에 따른 비장세포의 SOD 활성을 분석한 결과, 10주령에서는, Vit.C군과 YJT군 모두 DW군에 비하여 SOD 활성도가 유의하게 높았다. 52주령과 72주령에서는 약물 처리에 따른 SOD 활성 변화가 없었다(Fig. 5).

A. 10w



B. 52w



C. 72w

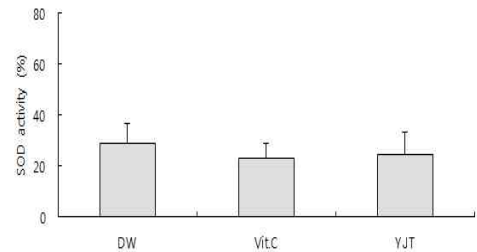
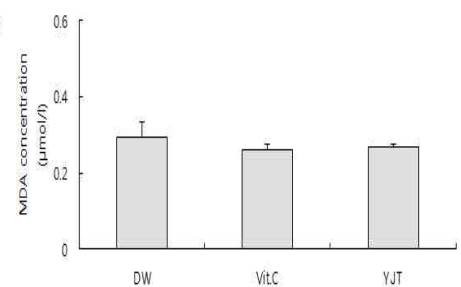


Fig. 5. Effect of Yongyukjowi-tang distillate on SOD activity in spleen cells of aged rats. Spleen cells from 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours, and Superoxide Dismutase (SOD) activity was estimated by ELISA. Values represent mean \pm SD of 3 independent experiments. DW : Cells treated with distilled water for 48 hours. Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours. YJT : Cells treated with Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours. ^{††} : p<0.01 compared to DW group.

A. 10w



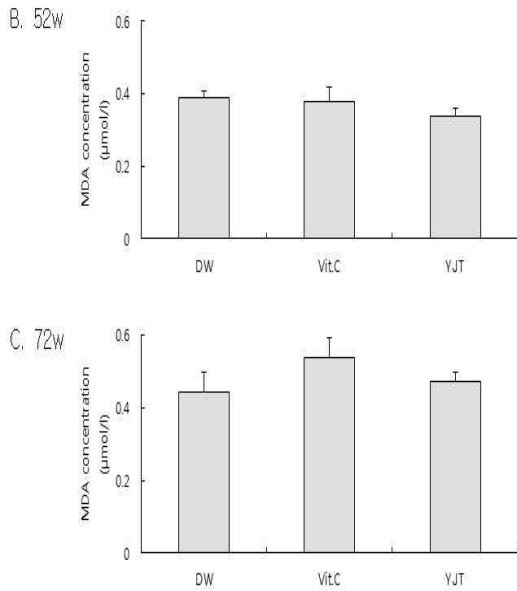


Fig. 6. Effect of Yongyukjowi-tang distillate on MDA concentration in spleen cells of aged rats. Spleen cells from 10, 52 and 72 weeks old rats were treated with DW, 1% Vitamin C, Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours, and malondialdehyde (MDA) concentration was estimated by ELISA. Values represent mean ± SD of 3 independent experiments. DW : Cells treated with distilled water for 48 hours. Vit.C : Cells treated with vitamin C for 48 hours. YJT : Cells treated with Yongyukjowi-tang distillate for 48 hours.

3) MDA in spleen

약물 처리에 따른 비장세포의 MDA 활성 변화를 분석한 결과, 모든 주령에서 약물처리에 의한 MDA 농도 변화는 나타나지 않았다(Fig. 6).

고 찰

현대에 이르러 老化는 '나이가 많아질수록 조직적인 변화가 발생하여 환경의 변화에 적절히 반응하는 기능이나 스스로 규제하려는 통합 능력 등이 점차 감퇴할 뿐만 아니라 조직의 예비능력이 감퇴하여 환경 적응이 제대로 안 되는 상태'라고 정의하고 있다¹¹⁾. 최근 전 세계적으로 평균 수명이 현저히 증가되고 백세인의 수가 급증하고 있어 老化방지가 건강증진의 매우 중요한 영역으로 대두되고 있다.

老化는 누구에게나 공통적이고 강력한 건강위험인자의 하나라 할 수 있다. 최근 老化와 관련된 질병에 대한 연구가 활발해지면서 건강증진 차원에서 老化방지 요법으로 인간의 수명을 연장시키고 여러 만성 질환을 예방 또는 개선할 수 있다는 보고들이 늘고 있어 기대가 높아지고 있다¹⁾.

老化현상을 설명하기 위한 이론으로 주목받고 있는 free radical이론은 항산화 기능이 나이에 따라 감소되는 반면, 활성산소와 같은 free radical은 체내에 축적되어 세포나 조직을 파괴하고 여러 가지 퇴행성 질환을 유발하고 생체의 기능을 약화시킴으로써 老化가 발생된다는 학설이다. 활성산소의 생산이 증가하거나, 그 제거기전이 효과적이지 않으면 free radical이 과도해지고 산화스트레스(oxidative stress)라고 불리는 상태가 된다. 이와 같이

free radical에 의한 산화스트레스가 세포에 부과되어 질병을 일으키고 老化가 가속화되는 것으로 설명하고 있는데 항산화제는 이런 free radical을 중화시켜 질병을 예방하거나 가역적으로 되돌려 놓고 老化과정을 늦출 수 있다고 알려져 있다¹²⁾.

한의학에서는 생명현상이 生, 長, 壯, 老, 死의 과정속에서 자연의 법칙에 따라 변화한다고 인식하고 있다. 노인의 생리적 특징은 臟腑의 氣가 虧虛해짐에 따라 老化를 일으키고 精氣가 損傷되며 氣血이 虛해지게 되고 그에 따른 신체상의 일련의 변화들을 일으켜 形體, 九竅 등에 이상변화를 나타내는 것으로 보고 있다⁶⁾. 이로 본다면 老化는 陰精의 消耗가 함께 발생하며, 老化의 기전은 陰精이 消耗되어 오히려 陽氣가 虛火로 변해 위로 치뜨게 되고, 이에 따라 血氣의 運行에 이상이 발생하여 신체의 氣가 下虛上實한 상태로 변해가는 것임을 알 수 있다¹³⁾.

四象醫學에서 살아가는 과정에서의 命脈 변화와 生息充補之道의 변화를 통해 老化를 설명하고 있으며, 長壽를 하기 위해서는 酒色財勸의 절제를 통한 心慾의 조절을 이야기하고 있다. 또한 각 체질에서 偏少之臟에 따른 保命之主를 생명력의 근간이며 命脈을 결정짓는 관건으로 삼았다. 질병의 치료에 있어서도 服藥의 방법 보다는 心慾의 節制와 생활 관리를 통한 치료를 중시하였으며, 질병이 발생하기 전에 먼저 生活調養할 것을 강조하였다¹⁴⁾. 命脈은 손상 받을 수 있으나 生息充補之道에 의하여 회복될 수 있고 調養과 적절한 服藥을 통하여 命脈이 회복되면 정해진 수명보다 오래 살 수 있다고 하였다¹⁵⁾.

용육조위탕(龍肉調胃湯)은 《東醫四象新編》에 소개된 처방으로, 오랫동안 병치레를 하거나 큰 병을 앓고 난 후 조리를 위하여 사용하며, 龍眼肉 10錢, 乾栗 5錢, 柏子仁 2錢, 麥門冬 2錢으로 구성되어 있다. 龍眼肉은 補心安神하고 補脾養血하여 주로 신경쇠약으로 不眠, 健忘, 易驚, 動悸 등의 心血虛證에 사용한다. 乾栗은 益氣健脾하고 補腎強筋 하여 脾虛로 인한 泄瀉와 脚弱無力에 사용한다. 柏子仁은 寧心安神하고 潤腸通便하는 溫和한 精神安定藥으로서 不眠, 動悸, 便秘, 自汗 등 心血虛에 保養藥으로 사용한다. 麥門冬은 潤燥生津하고 化痰止咳하여 燥熱한 咳嗽증상 및 發熱性질환의 後期로서 便秘, 熱感, 煩渴 등의 津液消耗 증상이 있을 때와 強心에 사용한다^{16,17)}. 이 처방은 肺의 기능을 도와주고 保命之主에 속하는 呼散之氣를 확충하는데 도움을 주어 허약한 사람에게 다용할 수 있는 처방으로 면역력 증강과 老化 방지에도 효과가 있을 것으로 기대되어 본 연구에 사용하였다.

용육조위탕에 대한 최근 연구에 따르면 흰쥐 노화모델에서 leukocyte, CD3+, CD8+ 등을 증가시켜 면역활성을 향상시키는 것으로 밝혀졌으며¹⁰⁾, 비장세포의 IL-2, IL-4를 감소시키 것이 밝혀졌으나¹⁸⁾ 항산화능에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 노화 흰쥐의 세포를 이용하여 용육조위탕의 항산화능을 확인해 보고자 하였다. 실험에 사용된 세포는, 산화 스트레스에 대응하여 활성산소의 독성으로부터 조직을 보호하는 항산화능과 관련이 깊은 간장세포를 선택하였으며, 아울러 기존에 보고된 이 등¹⁰⁾, 이 등¹⁸⁾의 연구를 바탕으로 면역활성과 관련이 깊은 비장세포를 선택하여, 노화 흰쥐의 간장세포와 비장세포에서의 항산화능에 대한 용육조위탕 증류액의 영향을 관찰하였다.

본 연구에서는 흰쥐의 주령에 따라, 10주령을 성장기, 52주령을 초기노화기, 72주령을 말기노화기로 설정하고, 각 주령별 SD rat의 간세포와 비장세포를 분리하여 DW군, Vit.C군, YJT군으로 나누고, 각각 DW, 1% vitaminC(1 mg/ml), 龍肉調胃湯 증류액(100 µg/ml)을 처리한 후, SOD 및 MDA 농도를 측정하였다.

SOD는 활성산소를 과산화수소와 산소로 변환시키는 효소로서, 반응성이 큰 활성산소는 체내에서 SOD를 통해 과산화수소로 변환된 후 catalase에 의해 물로 분해되어 독성이 없어지도록 한다¹⁹⁾. 즉 SOD는 세포에서 활성산소의 생성을 초기에 억제함으로써 세포의 손상을 막고 세포기능의 저하를 방지하는 역할을 한다²⁰⁾.

본 실험에서 용육조위탕 증류액을 처리한 10주령 흰쥐의 간세포와 비장세포에서 DW군에 비하여 SOD 활성이 유의하게 증가하였다(Fig. 2, 5). 이는 용육조위탕이 성장기 세포의 항산화능을 증진하는 효능이 있음을 보여 주는 것으로 사료되나, 주령 증가에 따른 SOD 활성에 유의한 차이가 없었기에(Fig. 1, 4) 이에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

MDA는 free radical 반응에 의해 발생하는 산화적 손상을 나타내는 지표로서, 다불포화지방산이 과산화 과정에 의해 분해되어 생성되는, 두 개의 친전자성 알데하이드기를 가진 산화물질이다²³⁾. 유기체의 세포막에 붙어있는 불포화 인지질이 산소분자상태에서 free radical에 의해 공격을 받으면 연쇄반응이 일어나 지질 과산화물질이 형성되는데 MDA는 단백질과 효소의 교차결합을 유발하여 단백질 변형, 조직 손상, 세포막 파괴, 효소 기능 저하 등 광범위한 영향을 미치는 독성화합물이다²⁴⁾. 본 실험에서 MDA 농도는 주령의 증가에 따라 유의하게 증가하였고(Fig. 1, 4), 용육조위탕 증류액을 처리한 72주령 흰쥐의 간세포에서 DW군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 3). 이는 老化가 이미 진행되고 있는 시기에 용육조위탕이 간에서 산화를 억제하는 효능이 있음을 보여 준다.

이상을 정리하면, 용육조위탕 증류액은 10주령 성장기 흰쥐의 간과 비장세포에서 항산화 효소인 SOD 활성을 증가시키고, 72주령 노화 흰쥐의 간세포에서 산화물질인 MDA 농도를 감소시켰다. 따라서 용육조위탕이 성장기에 노화를 미연에 방지하고, 노년기에 노화를 억제하는 효과가 있을 것으로 추정된다.

결 론

龍肉調胃湯 증류액이 노화 세포의 항산화능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여, 10주령, 52주령, 72주령 흰쥐의 간세포와 비장세포에 용육조위탕 증류액을 처리하고 SOD와 MDA 농도를 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

龍肉調胃湯 증류액을 처리한 10주령 흰쥐의 간세포와 비장세포에서 DW군에 비하여 SOD활성이 유의하게 증가하였다.

龍肉調胃湯 증류액을 처리한 72주령 흰쥐의 간세포에서 DW군에 비해 MDA농도가 유의하게 감소하였다.

References

1. The Korean Academy of Family Medicine. Textbook of

Family Medicine. Seoul. Hankookbook. p 300, 2007.

2. Harman D. Aging, A theory based on free radical radiation chemistry. J Gerontol 11: 298-300, 1956.

3. Cohen, G. The generation of hydroxyl radicals in biologic systems : toxicological aspects. Photochem Photobiol 28(4-5):669-675, 1978.

4. Cutler, R.G. Free Radicals in Biology(6th ed). Orlando, Academic Press. pp 371-424, 1984.

5. Son, J.R. Free Radical and Antioxidant. Seoul, Biomedical. pp 26-29, 2004.

6. Oriental Physiology Compilation Committee of Korean Oriental Medical Colleges. Korean Oriental Physiology(1st ed). Seoul, Jipmoondang. p 481, 2008.

7. Hebeiixueyuan. Lingshujingjiaoshi. Beijing, People's medical publishing house. p 355, 1982.

8. Cheng, Sh.D. Suwenzhuyihuicui. Beijing, People's medical publishing house. p 95, 1987.

9. Won, J.S. Dongui Sasang Shinpyun. Seoul, Jeongdam. p 232, 2002.

10. Lee, H.E., Ahn, T.W. The Effect of Oral Administration of Yongyukjowi-tang on the Immune Activity in Aged Rat. J Sasang Constitut Med 24(4):62-74. 2012.

11. Yoo, S.H. The Health of Korean Old Age. Seoul, Sohwa. pp 28-34, 2001.

12. Vinay, K., Abul, K.A., Nelson, F., Richard, M. Robbins Basic Pathology(8th ed). Philadelphia, Elsevier. p 16, 2007.

13. Textbook Compilation Committee For Korean Medicine Neuropsychiatry. Korean Medicine Neuropsychiatry. Seoul, Jipmoondang. p 443, 2007.

14. A college of Korean medicine Association of Sasang medicine lecture room sewing. Sasang Medicine. Seoul, Jipmoondang. pp 311-315, 2004.

15. Lee, E.J., Song, I.B., Ko, B.H., Yoo, J.H. A study of Aging and Life Span in Sasang Constitutional Medicine. J Sasang Constitut Med 14(3):7-16, 2002.

16. Lee, S.I., An, D.G., Sin, M.G. Herbal medicine clinical applications. Seoul, Seongbo publishing. pp 366-419, 1986.

17. Herbology Textbook Compilation Committee for College of Korean Medicine. Herbology. Seoul, Yeonglim. pp 534-720, 2008.

18. Lee, J.W., Jang, M.H., Choi, J.S., Ahn, T.W. The Effect of Yongyukjowitang Distillate on the Immune Activity of Spleen Cells of Aged Rats. J Sasang Constitut Med 25(3):218-232, 2013.

19. Kim, Y.B., Han, H.S., Seo, J.W., Choi, S.J., Cho, K.H., Han, S.S. Age-related Changes of Antioxidative Ability, Physiological and Behavioral Characteristics in

- Senescence Accelerated Mouse. *Korean J Gerontology* 5(2):80-87, 1995.
20. Lee, G.N., Gwon, O.H. *Clinical Pathology File*. Seoul, MEDrang. pp 193-345, 2003.
21. Sakamoto, Y., Kinoshita, S. *Glutathione*(3rd ed). Jodhpur, Scientific. p 5, 1989.
22. Pál, P., Joseph, S.B., Lucas, L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiol Rev* 87(1):315-424, 2007.
23. Maxwell, S.R., Jakeman, P., Thomason, H., Leguen, C., Thorpe, G.H. Changes in Plasma Antioxidant Status During Eccentric Exercise and the Effect of Vitamin Supplementation. *Free Radic Res Commun* 19(3):191-202, 1993.
24. Kwak, C.S., Kim, S.A., Lee, M.S. The Correlation of Antioxidative Effects of 5 Korean Common Edible Seaweeds and Total Polyphenol Content. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34(8): 1143-1150, 2005.