

## 한약재 함유 대두발효 추출물이 streptozotocin으로 유발된 당뇨 흰쥐의 혈당 및 조직형태학적 변화에 미치는 영향

조창숙<sup>#</sup>, 김소영, 최문열, 김미형, 김미려<sup>\*</sup>, 서부일<sup>\*</sup>

대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실

### Effect of Fermented Soy Bean Extract Containing Herbal Medicines (Godjang) on Blood Glucose Levels and Histomorphology in Streptozotocin-induced Diabetic Rat

Chang Suk Jo<sup>#</sup>, So Young Kim, Moon-Yeol Choi, Mi Hyung Kim, Mi Ryeo Kim<sup>\*</sup>, Bu-il Seo<sup>\*</sup>

Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Korea

#### ABSTRACT

**Objective** : This study was designed to investigate anti-diabetic effects of fermented soy bean extract with herbal medicines (Godjang) in diabetic rat models induced by streptozotocin (STZ) injection.

**Method** : Changes in body weight, drinking water, and food intake were observed for 4 weeks before and after induction of diabetes mellitus in rats. The anti-diabetic capacity of Godjang was analyzed by fasting blood glucose (FBG) every week. Also, after 4 weeks of administration, the oral glucose tolerance test (OGTT) was performed, and then blood levels of insulin were checked. And serum levels of total cholesterol and triglycerides were determined. Histomorphological changes of liver, kidney and pancreatic tissues were also observed in STZ-induced diabetic rats and Godjang administered rats.

**Result** : In Godjang administered group, body weight and water intake were more lower than that of STZ-induced diabetic rats. FBG was decreased in the Godjang administered group than STZ-induced diabetic group. According to OGTT, blood glucose levels at 30 minutes and 60 minutes significantly decreased in Godjang administered group than in STZ-induced diabetic control group. Administration of Godjang extract for 4W significantly decreased levels of serum glucose, total cholesterol (TC), triglycerides (TG) in diabetic rats. In histomorphological analysis of kidney, liver, Godjang administrated groups showed the inhibition of pathological damage.

**Conclusion** : These results suggest that Godjang extract has an anti-diabetic action through decrease in serum glucose, TC, TG levels and recovery of the morphological changes in kidney and liver in STZ-induced diabetic rats.

**Key words** : fermented soy bean extract, Godjang, anti-diabetic, streptozotocin-induced, fasting blood glucose, oral glucose tolerance test

#### I. 서론

최근 식생활의 서구화와 배달 음식의 증가, 운동량의 감소

등으로 인해 과체중 및 비만 인구가 증가하고 있다. 비만과 함께 심혈관질환, 고혈압, 고지혈증, 저 HDL 콜레스테롤혈증이 함께 나타나는 현상을 '대사성 증후군'이라고 하는데<sup>1)</sup>, 제2형

\*Corresponding author : Bu-il Seo, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Korea.

· Tel : +82-53-819-1876 · E-mail : seojangsan@naver.com

Mi Ryeo Kim, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Korea.

· Tel : +82-53-770-2361 · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

#First author : Chang Suk Jo, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Korea.

· Tel : +82-53-770-2241 · E-mail : lc153@hanmail.net

· Received : 13 December 2021

· Revised : 10 January 2022

· Accepted : 25 January 2022

당뇨병 환자의 80%가 ‘대사성 증후군’을 가지고 있다고 알려져 있다<sup>2,3)</sup>. 당뇨병은 인슐린의 부족으로 인해 혈중 포도당 농도가 정상치 이상으로 증가하여 소변으로 포도당이 배출되는 대사성 질환으로서, 장기간에 걸친 고혈당은 관상동맥 질환, 고혈압, 동맥경화 등을 일으킨다고 알려져 있다<sup>4)</sup>. 당뇨병은 크게 인슐린 의존성인 1형 당뇨병과, 인슐린 비의존성인 2형 당뇨병으로 나뉜다. 주로 유전적 요인으로 발병하는 1형 당뇨병과는 달리 2형 당뇨병은 비만 등의 원인으로 인슐린 저항성이 높아져서 나타나는 것으로 성인형 당뇨병이라고도 한다<sup>5,6)</sup>. 우리나라의 경우 30세 이상의 성인 11.8%가 당뇨병을 가지고 있으며 65세 이상 성인에서는 10명 중 3명으로 증가한다는 보고가 있다<sup>7)</sup>. 당뇨병 유병율은 점차 증가하는 경향을 보이고 이로 인한 다양한 합병증이 증가하고 있다. 당뇨병으로 인한 합병증을 줄이기 위해 여러 가지 약물요법, 식이요법, 운동 처방 등 다양한 방법이 있으나 장기적인 약물치료는 체중 증가, 간독성, 혈중 젖산 농도 상승, 비뇨기계 감염 등 여러 가지 부작용을 유발하므로 당뇨병의 증상 개선 및 치료에 도움을 주는 식이요법과 다양한 생리활성을 보이는 기능성 식품에 관한 연구가 시도되고 있다<sup>8,9)</sup>.

우리나라 전역에서 재배되고 있는 대두는 isoflavone 및 soyasaponin 성분을 함유하고 있어 혈당 glucose 수치를 감소 시켜<sup>10)</sup> 당뇨병 치료에 효과적인 것으로 알려져 있다. 대두 발효식품인 된장과 청국장에는 필수아미노산과 비타민 A, B1, B2 등의 영양 성분과 각종 효소가 풍부하게 들어있으며 전통 발효식품 중 항암효과가 가장 뛰어난 뿐 아니라, 간기능 회복과 간해독에도 효과가 큰 것으로 보고되고 있다<sup>11)</sup>. 또한 된장에는 히스타민, 류신 등의 성분이 함유되어 있어 항고혈압 및 항산화 효과와 각종 해독 작용에도 그 효과가 탁월하다고 알려져 있다<sup>11,12)</sup>.

곧장은 메주를 쑤지 않고 대두, 맥문동, 구기자, 돼지감자, 산약, 초록 콩나물, 표고버섯, 영지버섯, 대파 가루, 황정 등을 넣고 삶아준 후 황국균을 섞어 발효시켜 만든 장이다. 따라서 메주 만들기과 장 가르기의 번거로움 없이 메주의 발효 과정 중 생기는 유해 곰팡이를 차단할 수 있다는 장점과 함께 시판되는 재료를 이용하여 바로 담아 먹을 수 있는 편리성을 가지고 있다. 한편, 대두와 함께 곧장 제조 과정에 첨가된 돼지감자는 한방에서는 국우(菊芋)라고 하여 당뇨 증상에 효과가 있다고 알려져 있고<sup>13)</sup>. 맥문동 역시 당뇨병 환자의 공복시 혈당 강하와 식후 2시간 혈당 강하, 그리고 total cholesterol (TC), HbA1c 수치 감소에 효과를 나타낸다고 알려져 있다<sup>14)</sup>.

이에 본 연구진은 여러 가지 좋은 기능성을 보유하고 있지만, 오랜 제조 시간과 복잡한 제조 과정의 불편함 때문에 젊은 세대들에게 외면당하고 있는 전통 장류에 접근성을 추가할 목적으로 연구를 계획하였다. 따라서, 대두 이외에 당뇨에 좋다고 알려진 수종의 한방 재료를 첨가하여 곧장을 제조하고, 당뇨 관련 인자에 미치는 영향을 조사하여 당뇨병의 치료에 도움을 주는 기능성 한방식품으로서의 가능성을 찾고자 본 연구를 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료의 제조

#### 1) 재료 구입 및 전처리

본 실험에 사용한 대두는 충북 제천 금봉농장에서 유기농으로 재배된 것을 구입하였으며, 맥문동과 구기자, 영지버섯은 경북 포항시 입춘 허브에서 구입하였다. 맥문동은 깨끗한 물에 세척 후 바삭 건조시켜서 볶음 솥(130℃)에서 3분 정도 빠르게 저으며 볶은 후 1시간 동안 식히는 과정을 3회 반복하였다. 구기자는 청주에 세척, 건조 후 80℃에서 5분 정도 빠르게 저으며 볶은 후 1시간 동안 식히는 과정을 3회 반복하였다. 산약(경북 안동 청구약업사)은 껍질을 벗기고 증제 후 건조하였다. 초록콩나물의 제조방법은 세척한 유기농 대두(충북 제천 금봉농장)를 하루 침지 한 후에 항아리 시루에 엮고 2시간에 한 번씩 물을 분무하는 방식으로 햇볕에서 10일 동안 재배하였다. 그 후 저온 창고(1 ~ 2℃)로 이동하여 맥문동, 구기자, 국우, 산약, 표고버섯, 영지버섯, 대파, 우린 물을 2시간에 한 번씩 분사하면서 3일간 더 재배하였다. 표고버섯(세종시 청산표고농장)에서 유기농 참나무 버섯 재배한 것을 구입 후 건조하였고, 국우(돼지감자, 농업회사 법인 초빈치유농업)는 유기농 재배한 것을 세척 후 사용하였으며, 영지버섯(편)과 대파는 구입 후, 세척하고 동결건조(경북 영천)하였다. 또한 황정(경북 포항 입춘 허브)에서 구입 세척 후에 건조(수분 70%)한 후 청주에 30분 정도 담근 후 찌고 건조시키고 볶는 과정을 3회 정도 반복하여 준비하였다. 모든 재료들은 위의 설명대로 법제하여 제분(대구, 삼성 제분소)에서 제분하였다.

#### 2) 곧장의 제조

불리지 않은 대두 1 kg을 세척 후, 맥문동, 구기자, 국우(돼지감자), 산약(마), 초록콩나물, 건 대파, 표고버섯은 각각 10 g, 황정 20 g, 영지버섯 3 g에 물 3L를 가한 다음, 센 불에서 30분, 약 불에서 1시간 푹 삶아준다. 잘 삶아진 대두에 0.5% 황국균을 넣어 잘 섞어 준 후 공기 소통이 잘 되는 구멍이 있는 채반에 면보를 깔고 7cm 미만으로 균일하게 고르게 퍼주고 젖은 면보를 덮어준다. 구멍이 없는 다른 채반을 준비하여 얹어준 후 28 ~ 33℃, 55% 수분을 유지하면서 24시간 동안 1차 발효하고 면보를 교체한 후 다시 24시간 동안 둔다. 대두를 하나씩 떼어준 후 24시간을 더 두고 햇볕에서 자연 건조 시켜 2주간 숙성시킨다. 이렇게 숙성된 대두에 맥문동, 구기자 국우(돼지감자), 산약, 대파, 콩나물, 표고버섯가루를 각각 10 g 섞어 준다. 물 5 L에 맥문동, 구기자 국우(돼지감자), 산약, 초록콩나물, 건 대파, 표고버섯을 각각 10 g, 영지버섯 3 g을 넣고 물이 3 L가 될 때까지 졸인 후 모든 재료를 섞고 30일간 20℃ 이하에서 발효시켜 실험에 사용하였다. 제조된 곧장은 원료 2 kg에 증류수는 원료의 8배수를 가하여 100℃에서 2시간 추출하였으며, 농축한 뒤, 동결건조하여 분말을 얻은 후 실험에 사용하였다(수득율: 8.60%). 추출은 경서기계산업(COSMOS-660)추출기를 사용하였으며, 동결건조는 일신랩(PVTFD 10R)기기를 사용하였다.

#### 3) 일반성분 분석

실험에 사용된 대두 발효물인 곧장의 일반성분 분석은 대구 한의대 바이오융복합시험센터(경북, 경산)에 의뢰하여 수분, 회분, 조지방, 조단백질, 당류(glucose, sucrose, maltose 및

총당류)의 함량을 분석하였으며, 조섬유 함량은 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터(대구, 달서구)에 의뢰하여 분석하였다(Table 1.).

Table 1. Analysis of general components of Godjang (GJ).

Ingredients	(g/100g)
Moisture	61.28
ash	1.76
Crude fat	3.65
Crude Protein	15.2
Glucose	0.25
Sucrose	0.06
Maltose	0.09
Total Sugar	0.4
Crude Fiber	8.155

## 2. 실험 방법

### 1) 실험동물

실험동물은 7주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(200 ~ 220 g)를 (주)효창 사이언스로부터 분양받아 1주간의 적응 기간 동안 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 실험 기간 동안 일반 고형사료(효창사이언스(주), 한국)와 물을 자유 섭취시켰으며, 명암은 12시간(Day light 07:00 ~ 19:00)을 주기로, 일정한 환경(온도; 23±2℃, 습도; 50±10%)을 실험 종료 시까지 유지하면서 사육하였다. 또한 대구한의대학교 동물실험 윤리위원회의 승인(DHU2021-045)을 얻었으며, 동물 관리 과정을 준수하면서 실험을 진행하였다.

### 2) 당뇨 유발 및 확인

Bond와 Failla 등의 방법<sup>15)</sup>을 적용하여 실험동물의 당뇨를 유발하였다. 즉, 적응기간이 완료된 흰쥐에 streptozotocin (STZ) (Sigma & Aldrich, St Louis, MO, USA)을 차가운 0.1 M citrate buffer에 녹여 65 mg/kg body weight (bw) 용량으로 1회 복강 주사하여 당뇨를 유발하였다. STZ 투여 3 일째에 혈당측정검사기(Accu-Check, Roche Diagnostics GmbH, Germany)를 이용하여 꼬리정맥의 혈당을 측정하여 당뇨 유발을 확인한 후, 공복 혈당수치가 250 mg/dL가 넘는 동물만 선별하여 대조군과 실험군으로 사용하였다.

### 3) 시료 투여

실험군 당뇨를 유발하지 않은 군(normal group, n=6)과 STZ 투여에 의해 당뇨병이 유발된 당뇨 유발 대조군(COS, STZ + saline 5 mL/kg, n=6), 당뇨 유발 실험군(STZ+GJ 100/200 mg/kg/5 mL, STZ + 300/600 mg/kg/5 mL n=6)으로 구분하였다. 매일 1회 일정한 시간에 시료 투여를 하였으며, 당뇨를 유발하지 않은 군과 당뇨 유발 대조군에는 실험군과 동량의 생리식염수를 경구 투여하였으며, 실험군에

는 곧장을 100 mg/kg 또는 300 mg/kg을 각각 초기용량으로 2 주간 경구 투여한 후, 유지용량으로 2배량인 200 mg/kg 또는 600 mg/kg을 각각 2주간 경구 투여하였다. 한편 고용량군의 투여량은 김<sup>16)</sup>등의 당뇨한약복합처방군 연구에서 간에 독성을 나타내지 않는 용량을 참고하여 설정하였다.

### 4) 체중, 음수량 및 사료섭취량 측정

시료를 투여 개시일로부터 4주 동안 체중, 음수량과 사료 섭취량을 1일 1회 일정한 시각에 측정하였다.

### 5) 혈당 측정 및 경구당부하검사(OGTT)

혈당은 매주 1회 최소 10시간 이상 절식시킨 동물의 꼬리 정맥혈로 부터 혈당측정검사기(Accu-Check)를 이용해 분석하였다. 또한, 경구당부하검사는 실험 시작 4주가 되는 28일째 시행하였다. 모든 동물을 측정 16시간 전부터 절식시키고 혈당을 측정 후 2 g/kg의 glucose를 경구 투여한 직후 30분, 60분, 120분 후에 채혈한 꼬리 정맥혈로부터 혈당을 측정하였다.

### 6) 혈액 분석

실험 종료 후 실험동물을 12시간 동안 절식시키고 isoflurane (JW pharmaceutical, 한국)를 흡입시켜 마취시킨 다음, 심장으로 부터 채혈하였다. 혈액은 원심 분리(3,000 rpm, 15분)하여 혈청을 분리하였으며, -80℃에 보관하면서 혈액마커 분석을 위한 시료로 사용하였다. 한편, 혈청 중 중성지질(Triglyceride, TG), 총콜레스테롤(Total-cholesterol, TC) 및 HDL-cholesterol (HDL-C)은 혈액자동분석기(IDEXX Vet test<sup>®</sup>8008, USA)을 사용하여 분석하였다. 또한 LDL-cholesterol (LDL-C) 및 atherogenic index (AI, 동맥경화지수)는 다음 공식에 의해 계산되었다. 인슐린 농도는 rat insulin ELISA kit (Crystal Chem, USA)를 이용하여 측정하였다.

$$LDL = ([Total-cholesterol] - [HDL-cholesterol]) - (Triglyceride/5)$$

$$AI = ([Total-cholesterol] - [HDL-cholesterol]) / [HDL-cholesterol]$$

### 7) 조직병리학적 관찰

오<sup>17)</sup>등의 방법을 참고하여 각 조직의 병리학적 변화를 관찰 하기 위해 췌장, 신장, 간 조직을 cold PBS로 수세 한 후 4%의 PFA (paraformaldehyde)에 24시간 담가 고정하고, 파라핀 포매 과정 후 microtome을 이용하여 3 μm 두께로 박절하여 조직슬라이드를 제작하였다. 각 조직의 H&E 염색을 위해 조직슬라이드를 hematoxylin으로 5분간 염색한 후 eosin으로 2 ~ 3분간 염색한 후 탈수과정을 거쳐 mounting 과정을 시행한 후 광학현미경을 이용하여 조직학적 변화를 관찰하였다. 모든 사진은 200배에서 관찰하였다.

### 8) 통계 처리

모든 실험 결과의 통계처리는 SPSS statistics 25 (SPSS Inc, USA)를 이용하여 산출되었으며, 각 군 간의 평균 차이에

대한 유의성은 one-way analysis of variance (ANOVA), Dunnett's post hoc test를 사용하여 통계적 검증을 실시하였다 (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$ ).

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 체중과 식이변화

STZ (65 mg/kg)을 1회 투여 후 4주간 체중과 음수량, 사료 섭취량을 변화를 측정하였다. 체중의 변화는 당뇨를 유발하지 않은 군이 6 g 정도 증가한데 비해서 당뇨 유발군은 약 2.5 g 감소한 것을 관찰할 수 있었고, 곤장 투여군에서의 체중 증가는 관찰되지 않았다. 사료 섭취량은 당뇨 유발군이 당뇨를 유발

하지 않은 군에 비해  $7.09 \pm 0.4$  g/day로 증가한 것에 비하여 곤장 저농도(100/200 mg/kg) 투여군에서는  $6.22 \pm 0.26$  g/day, 곤장 고농도(300/600 mg/kg) 투여군에서는  $6 \pm 0.24$  g/day로 당뇨 유발군에 비해 유의적으로 감소하였다. 음수량은 당뇨 유발군에서  $36.63 \pm 2.03$  ml/day로서 당뇨를 유발하지 않은 군에 비해 유의적으로 증가하였고 곤장 저농도 (100/200 mg/kg) 투여군에서  $34.27 \pm 2.08$  ml/day, 곤장 고농도 (300/600 mg/kg) 투여군에서  $34.09 \pm 2.44$  ml/day로 당뇨 유발군에 비해 유의적으로 감소하였다. 식이 효율은 당뇨를 유발하지 않은 군에 비해 당뇨 유발군과 곤장 투여군에서 유의적으로 증가하였으나 당뇨 유발군과 곤장 투여군 간의 차이는 보이지 않았다(Table 2).

Table 2. Effects of GJ on body weight, body weight gain, food intake, water intake, FER in STZ-induced diabetic rats.

	Experimental groups			
	NG	COS	GJ 100/200	GJ 300/600
Body weight gain (g/day)	$5.99 \pm 1.47$	$-2.56 \pm 1.39^{###}$	$-2.15 \pm 0.24^{###}$	$-2.02 \pm 0.35^{###}$
Food intake (g/day)	$3.48 \pm 0.16$	$7.09 \pm 0.4^{###}$	$6.22 \pm 0.26^{###,***}$	$6.00 \pm 0.24^{###,***}$
Water intake (mL/day)	$6.94 \pm 0.54$	$36.63 \pm 2.03^{###}$	$34.27 \pm 2.08^{###,*}$	$34.09 \pm 2.44^{###,*}$
FER (%)	$1.71 \pm 0.38$	$-0.42 \pm 0.31^{###}$	$-0.40 \pm 0.17^{###}$	$-0.35 \pm 0.08^{###}$

<sup>1</sup>NG : Normal group, COS : STZ + saline 5 mL/kg, GJ100/200 : STZ+GJ 100/200 mg/kg/5 mL, GJ300/600 : STZ+GJ 300/600 mg/kg/5 mL, <sup>2</sup>FER; Food intake ratio : body weight gain/food intake., Data expressed as the mean±SD (n =6), #P < 0.05, ##P < 0.01, and ###P < 0.001 vs. the NG group ; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 vs. COS group.

#### 2. 혈액 지질의 변화

혈청 내 지질함량 중, TG는 혈청 dl 당  $47.22 \pm 7.86$  mg 인 정상군에 비해 당뇨 유발군에서는  $135.18 \pm 58.61$  mg으로 증가하였고 곤장 100/200 mg/kg, 300/600 mg/kg 투여군에서는 각각  $61.31 \pm 6.02$  mg,  $50.08 \pm 30.63$  mg으로 유의성 있게 감소하였다. TC 농도는 당뇨 유발군에서  $92.08 \pm 4.04$  mg/dl로  $68.84 \pm 4.10$  mg/dl인 정상군에 비해 유의적으로 증가하였다. 곤장을 투여한 실험군에서의 TC 농도는 각각  $71.87 \pm 15.78$  mg/dl,  $70.04 \pm 8.06$  mg/dl 로 당뇨 유발

군에 비해 유의적으로 감소하였으며 중성지방과 마찬가지로 농도의존적인 감소를 보였다. HDL-C는 각 군 간에 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이러한 결과를 바탕으로 AI를 계산한 결과 정상군  $0.76 \pm 0.14$ 에 비해 당뇨 유발군에서는  $1.25 \pm 0.31$ 로 증가하였고 곤장의 투여로  $0.83 \pm 0.27$ ,  $0.87 \pm 0.28$ 로 의미있게 감소하였다. 혈청 인슐린의 결과를 ELISA를 통하여 확인한 결과 당뇨 유발군에서  $0.08 \pm 0.04$  ng/ml에서 곤장 고농도(300/600 mg/kg) 투여군에서  $0.13 \pm 0.02$  ng/ml로 의미있는 감소를 확인하였다(Table 3).

Table 3. Effect of GJ on serum lipid profiles in STZ-induced diabetic rats.

Serum	(mg/dl)				(ng/mL)	
	TG <sup>2)</sup>	TC	HDL-C	LDL-C	AI	INS
NG <sup>1)</sup>	$47.22 \pm 7.86$	$68.84 \pm 4.10$	$38.01 \pm 5.03$	$20.22 \pm 3.53$	$0.76 \pm 0.14$	$0.14 \pm 0.04$
COS	$135.18 \pm 58.61^{###}$	$92.08 \pm 4.04^{###}$	$40.67 \pm 3.88$	$15.66 \pm 2.84$	$1.25 \pm 0.31^{\#}$	$0.08 \pm 0.04^{###}$
GJ100/200	$61.31 \pm 6.02^{**}$	$71.87 \pm 15.78^{**}$	$39.03 \pm 7.32$	$19.35 \pm 6.18$	$0.83 \pm 0.27^*$	$0.08 \pm 0.03^{##}$
GJ300/600	$50.08 \pm 30.63^{***}$	$70.04 \pm 8.06^{**}$	$41.77 \pm 3.36$	$20.35 \pm 7.68$	$0.87 \pm 0.28^*$	$0.13 \pm 0.02^{***}$

<sup>1</sup>NG : Normal group, COS : STZ + saline 5 mL/kg, GJ100/200 : STZ+GJ 100/200 mg/kg/5 mL, GJ300/600 : STZ+GJ 300/600 mg/kg/5 mL, Data expressed as the mean±SD (n =6).

<sup>2</sup>TG : Triglyceride, TC : (Total-cholesterol), HDL-C : HDL-cholesterol, LDL-C : LDL-cholesterol, AI : atherogenic index, INS : Insulin, #P < 0.05, ##P < 0.01, and ###P < 0.001 vs. the NG group ; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 vs. COS group.

### 3. 공복 혈당의 변화

정상군에서는 4주 동안 공복혈당의 변화가 거의 없었으나, STZ를 주사한 당뇨 유발군에서는 당뇨 유발 직후 504.71 ± 64.34 mg/dl에서 4주 후 723.00 ± 54.00 mg/dl로 혈당이 지속적으로 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 곤장 저농도 (100/200 mg/kg) 투여군은 504.00 ± 49.78 mg/dl에서 4주

후 612.40 ± 81.55 mg/dl로 혈당이 증가하였으나 당뇨 유발군에 비해 통계적으로 유의성 있게 감소한 것을 관찰할 수 있었다. 또한 곤장 고농도(300/600 mg/kg) 투여군의 경우 505.75 ± 52.32 mg/dl에서 4주 후 604.80 ± 54.75 mg/dl로 역시 당뇨 유발군에 비해 통계적으로 유의하게 감소한 것을 관찰할 수 있었다(Table 4).

Table 4. The effect of GJ on blood glucose in STZ-induced diabetic mice.

FBS (mg/dl)	0W	1W	2W	3W	4W
NG <sup>1)</sup>	123.20 ± 10.18	126.17 ± 15.97	128.00 ± 18.14	126.50 ± 3.42	129.75 ± 7.27
COS	504.71 ± 64.34 <sup>###</sup>	522.14 ± 58.53 <sup>###</sup>	620.17 ± 129.58 <sup>###</sup>	700.00 ± 191.46 <sup>###</sup>	723.00 ± 54.00 <sup>###</sup>
GJ100/200	504.00 ± 49.78 <sup>###</sup>	514.71 ± 31.23 <sup>###</sup>	534.00 ± 67.23 <sup>###</sup>	507.33 ± 123.86 <sup>###,*</sup>	612.40 ± 81.55 <sup>###,*</sup>
GJ300/600	505.75 ± 52.32 <sup>###</sup>	503.13 ± 31.53 <sup>###</sup>	512.80 ± 63.40 <sup>###,*</sup>	480.40 ± 160.75 <sup>###,*</sup>	604.80 ± 54.75 <sup>###,**</sup>

<sup>1)</sup>NG : Normal group, COS : STZ + saline 5 mL/kg, GJ100/200 : STZ+GJ 100/200 mg/kg/5 mL, GJ300/600 : STZ+GJ 300/600 mg/kg/5 mL. Data expressed as the mean±SD (n =6).

#P < 0.05, ##P < 0.01, and ###P < 0.001 vs. the NG group ; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 vs. COS group.

### 4. 경구당부하검사에 미치는 영향

곤장의 경구투여가 STZ로 유발된 당뇨 쥐에서의 경구당부하 시 미치는 영향을 알아보기 위해 16시간 공복 후 일정량의 glucose를 경구투여 후 30, 60, 120분 후 혈당 검사를 실시하였다. 정상군에서는 glucose 투여 30분 후 혈당이 최고치가

되고 점차 떨어짐을 관찰할 수 있었다. 당뇨 유발군에서는 투여 60분 후 가장 높은 혈당치를 보이고 120분 후에 포도당 투여 전과 비슷한 수치로 감소함을 관찰하였다. 곤장 투여군에서는 100/200 mg/kg, 300/600 mg/kg 둘 다 30분이 최고치였으며, 60분 후에 투여 전 수치로 회복되었다(Figure 1).

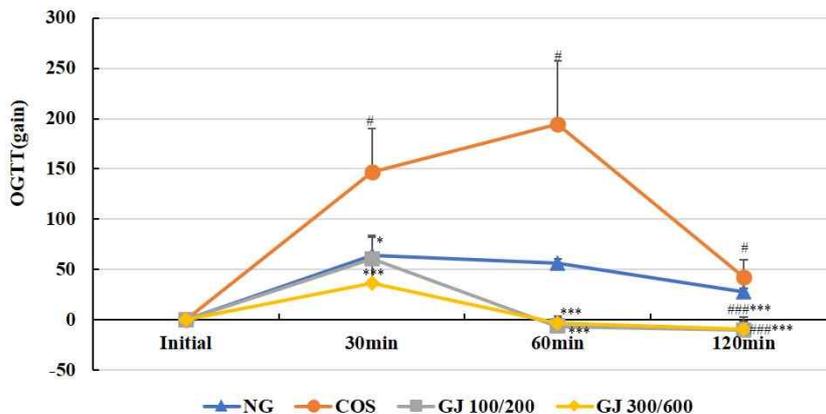


Figure 1. Effect of GJ on OGTT in STZ-induced diabetic rats.

<sup>1)</sup>NG : Normal group, COS : STZ + saline 5 mL/kg, GJ100/200 : STZ+GJ 100/200 mg/kg/5 mL, GJ300/600 : STZ+GJ 300/600 mg/kg/5 mL. Data expressed as the mean±SD (n =6).

#P < 0.05, ##P < 0.01, and ###P < 0.001 vs. the NG group ; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, and \*\*\*P < 0.001 vs. COS group.

### 5. 조직병리학적 관찰

실험동물은 isofluran으로 흡입 마취시킨 뒤 심장에서 채혈을 하고 희생시켜 간, 췌장, 신장을 적출하였다. 적출한 조직들은 파라핀 절편으로 만든 후 hematoxylin & eosin stain을 시행하였다. 당뇨를 유발하지 않은 군에서는 간세포의 배열이 규칙적이고 세포도 잘 보이나 STZ로 당뇨가 유발된 군에서는

정상적인 배열이 관찰되지 않았다. 곤장 투여군에서는 그 규칙성이 회복되는 것을 관찰할 수 있었다. 신장 조직에서는 당뇨가 유발되었을 때 사구체의 크기가 증가하고 그 수도 감소한다고 알려져 있는데 당뇨를 유발하지 않은 군에 비해서 STZ로 당뇨가 유발된 군에서 사구체 크기가 증가한 것을 관찰하였다. 곤장 투여군에서는 사구체의 크기가 정상군과 비슷하게 감소 된 것을 확인하였다. 인슐린 분비에서 가장 중요한

역할을 하는 췌장에서 조직학적인 변화를 관찰한 결과, 정상 조직에서는 랑게르한스섬이 또렷하고 크게 관찰되었으나 당뇨 유발군에서는 랑게르한스섬의 경계가 모호하고 정상적인 세포

소견이 관찰되지 않았다. 또한 곧장 투여군에서도 랑게르한스섬의 특징이 나타나지 않았지만, 인슐린 농도는 곧장 고농도 (300/600 mg/kg) 투여군에서 유의성 있게 증가하였다(Figure 2).

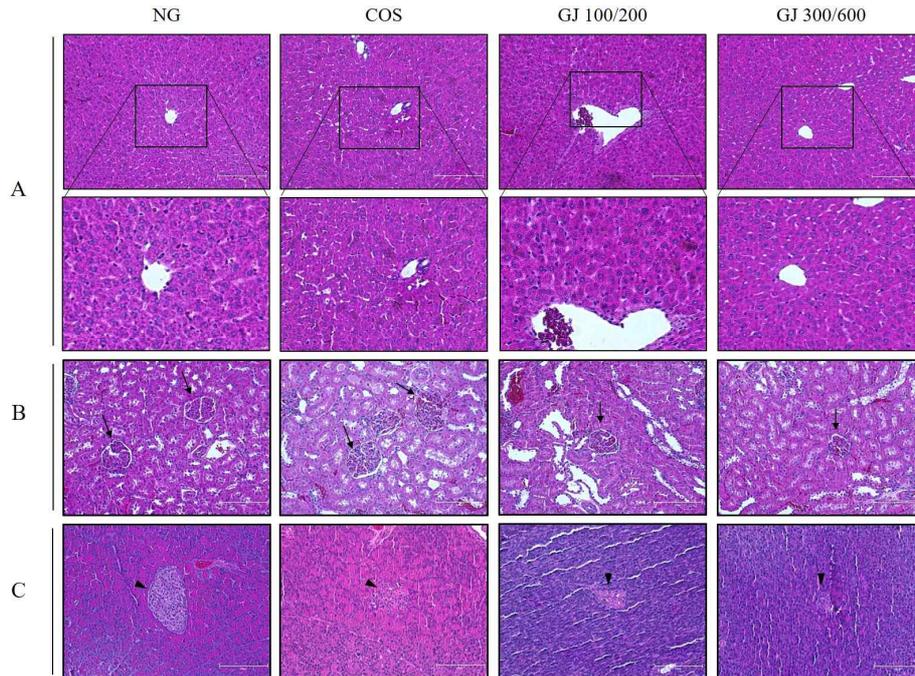


Figure 2. Effect of GJ on histomorphology of liver, kidney glomerulus (arrow) and pancreas islet of Langerhans (arrow head) in STZ-induced diabetic rats.

<sup>1</sup>NG : Normal group, COS : STZ + saline 5 mL/kg, GJ100/200 : STZ+GJ 100/200 mg/kg/5 mL, GJ300/600 : STZ+GJ 300/600 mg/kg/5 mL, A : Liver, B : Kidney, C : Pancreas. (original magnification x200)

## IV. 고 찰

된장, 간장, 청국장, 김치 등은 한국의 대표적인 음식이다. 그 중 대두를 이용한 발효식품인 된장류는 세계적으로도 건강 식품으로 알려져 있다. 발효란, 미생물이 당질을 이용하여 알코올, 유기산, CO<sub>2</sub> 등을 생성하는 것이다. 발효식품은 영양소의 분해를 도와 소화를 촉진하고 각종 병원균, 식중독균 등의 성장을 억제함으로써 건강증진에도 도움을 준다. 된장을 발효시키는데 주로 쓰이는 균은 고초균, 황국균<sup>18)</sup> 등이 있는데 발효 후 genistein 성분의 증가로 항암효과가 증진되는 것으로 알려져 있으며<sup>19)</sup> 발효 기간도 6개월보다는 2년 발효된 된장의 항암 효과가 더 좋았다는 보고가 있다. 또한 발효 장류인 청국장 분말이 STZ로 유도된 당뇨쥐의 당뇨 개선에 효과가 있다는 연구 보고도 있으며<sup>20)</sup> 발효된 장이 건강에 좋다는 것을 알고는 있지만 오랜 발효 기간과 어려운 제조 과정, 그리고 특유의 발효취 등으로 젊은 세대들에게 다가가지 못하고 있다.

식생활의 서구화, 산업발달로 인해 뇌혈관질환, 심혈관질환 등의 성인병이 증가하고 있으며, 특히 당뇨병 환자의 증가와 그로 인한 합병증은 기하급수적으로 증가하고 있다. 체내 포도당의 비정상적인 흡수로 인해 발생하는 대사성 질환인 당뇨병은 고혈압, 고지혈증, 동맥경화 등의 합병증을 유발하는데, 근본

적인 치료법은 자세히 알려져 있지 않다. 당뇨병의 경우, 식이요법과 더불어 인슐린 주사와 혈당강하제를 사용하는 것이 가장 흔한 치료법으로 알려져 있다. 이들 치료제들은 저혈당증, 체중 증가, 간독성 등의 부작용을 유발할 수 있어서 다양한 천연소재를 이용한 연구가 진행되고 있다.

한의학에서 당뇨병은 소갈과 유사한데, 다음(多飮), 다식(多食), 다뇨(多尿), 체중 감소 등의 증상이 동일하고 합병증 또한 비슷하다<sup>21,22)</sup>. 본 연구에서는 한의학에서 당뇨 치료에 효능이 있다고 알려진 돼지감자(국우), 다시마, 맥문동, 구기자 등의 한약재를 첨가하여 제조한 전통 발효식품인 장류가 당뇨병의 증상 개선에 미치는 영향을 알아보았다. 따라서 저자 등은 고농도(65 mg/kg)의 STZ를 1회 투여하여 당뇨를 유발한 쥐에 곧장 추출물을 저농도(100/200 mg/kg) 또는 고농도(300/600 mg/kg)로 4주 동안 경구 투여한 후, 물, 사료 섭취량, 체중, 공복혈당 및 혈액 내 TC, TG 농도 변화와 당뇨 관련 조직들의 구조적인 변화 또한 관찰하였다.

당뇨병이 발병하게 되면 당대사의 불균형으로 인해 체중이 감소하는데, 저용량의 STZ을 반복하여 노출 시킨 쥐의 체중이 당뇨를 유발하지 않은 군에 비해 유의적으로 감소했다는 보고<sup>23)</sup>에서도 확인할 수 있다. 본 연구에서도 STZ으로 당뇨가 유발된 실험군에서 체중 감소와 더불어 음수량 및 사료섭취량이

증가하는 것으로 관찰되었다. 공장을 투여한 실험군에서 체중은 당뇨를 유발하지 않은 군에 비해서 유의적으로 감소하였지만 당뇨 유발군에 비해 체중 감소가 줄어들었고, 음수량과 사료 섭취량은 당뇨 유발군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하는 것을 확인하였다. 체중의 감소는 당뇨병의 유발로 생긴 대사의 불균형으로 인해 지방 조직이 감소한 결과로 생각된다. 당뇨병에 걸리게 되면 갈증이 심해져 물을 많이 마시게 되는 갈이 다음(渴而多飲)<sup>24)</sup> 증상이 생긴다고 알려져 있는데, 공장 투여군에서 관찰되는 음수량의 의미 있는 감소는 다음 증상 개선의 지표로 볼 수 있다. 공복혈당을 측정된 결과 공장 투여 2주째부터 공장 고농도군에서 당뇨 유발군보다 혈당이 유의성 있게 감소하기 시작하였고, 3주째부터는 공장 저농도, 고농도군 모두 공복혈당이 감소한 것을 확인하였다. OGTT 결과를 보면, 당뇨를 유발한 실험군에서는 정상군에 비해 혈당 수치가 약 3배 정도 상승하였고 120분이 지난 후에도 정상군에 비해 혈당 수치가 조금 높았다. 투여 30분 후 측정된 혈당 수치를 보면 공장 저농도군은 당뇨를 유발하지 않은 정상군과 비슷하였고 공장 고농도(300/600 mg/kg)군에서는 당뇨를 유발하지 않은 정상군에 비해서도 낮은 수치를 나타내었다. 정상군은 120분 후 포도당 투여 전과 같은 혈당 수치로 회복되지만 공장 투여군은 60분 후 포도당 투여 전과 같은 수치로 혈당이 회복되는 것을 확인하였다. 이는 공장의 투여가 포도당 섭취 후 혈당 강하 뿐 만 아니라 음식 섭취 후 혈당의 상승도 저해한다는 것을 나타낸다. 대표적 콩 발효식품인 시판 낫또 제품의 1회 섭취량이 50 g 정도이므로, 실험에서 투여한 고농도군(300/600 mg/kg)의 용량은 60 kg 성인 기준량이 18 ~ 36 g으로 환산되어, 일일 섭취 허용 용량 범위라고 할 수 있다.

고용량의 STZ으로 유발된 당뇨병 동물 모델에서 투여 6시간 후부터 베타 세포가 파괴되고 12시간 후부터는 췌장소도세포의 감소 및 퇴화가 일어나며 48시간에는 거의 대부분의 베타 세포와 일부 알파세포가 사멸하게 된다고 알려져 있다<sup>25)</sup>. 정상 췌장 조직은 알파세포와 베타세포의 조밀도가 높고 경계면이 뚜렷하지만, 당뇨병 환자의 췌장 조직은 세포사멸과 염증반응으로 인하여 경계가 불분명해진다<sup>17)</sup>. 또 간조직에서는 높은 인슐린 농도로 인해 유리지방산의 이동이 증가하여 간세포 내 지방이 축적되어 간조직 손상이 일어나게 된다. 본 연구에서 관찰한 결과 당뇨를 유발하지 않은 정상군의 췌장조직에서는 랑게르한스섬의 형태가 잘 보존되고 선세포(acini cell) 또한 풍부하였다. 간조직에서는 다각형의 간세포가 관찰되고 각 세포 배열의 규칙성을 관찰할 수 있었다(Figure 2A). 당뇨 유발군에서는 췌장의 랑게르한스섬의 경계가 불분명해졌으며 간세포의 배열 또한 불규칙적이며 구조적인 손상이 많아진 것을 관찰할 수 있었다. 기존 연구에서 당뇨병 유발 시 사구체 기저막의 hypertrophy, 섬유화, 사구체 경화증이 유발된다는 것이 보고<sup>26)</sup>된 바 있는데, 본 연구에서도 당뇨 유발군에서 신장 조직의 사구체가 비대해진 것을 확인하였다(Figure 2B). 한편, 당뇨병 유도로 인해 생긴 조직학적인 손상이 공장 투여 후 간세포 배열의 규칙성이 회복되고 사구체의 크기 또한 정상군과 비슷하게 작아진 것을 확인하였으나, 췌장 조직의 회복은 관찰하지 못하였다(Figure 2C). 그러나 혈청 인슐린의 농도가 당뇨 유발군보다 공장 투여군에서 의미있게 증가(Table 3) 한 것으로 보아 췌장 조직의 점진적 회복도 수반될 것으로 기대

되며 이는 면역화학염색 등과 같은 추가연구를 통한 심도 있는 확인이 필요할 것으로 생각된다. 신 등<sup>27)</sup>은 고농도 STZ의 투여로 췌장의 구조는 변화되었으나, 지속적인 인슐린 저항성의 발생에 의하여 인슐린 분비능이 증가하고 이로 인하여 체중이 증가하였다고 보고하였으며 본 연구에서도 췌장 조직의 손상이 회복되지는 않았으나 인슐린 분비가 증가하였기에 추후 연구로 확인해보는 것이 필요하다고 생각된다.

당뇨병은 지질대사에도 관여하는데 HDL-C를 감소시키고 LDL-C를 증가시키고 중성지방 또한 증가시킨다<sup>28)</sup>. 본 실험에서는 공장 투여군이 당뇨 유발군에 비하여 TG와 TC가 유의성 있게 감소하였으나 HDL-C 수치의 감소와 LDL-C의 증가는 관찰할 수 없었다. 공장 투여군에서 AI가 정상군에 비해 유의적으로 증가하였으나 공장의 투여로 의미있게 감소한 것으로 보아 공장은 항당뇨 효과와 더불어 지질대사에도 영향을 준다고 생각되어진다.

STZ로 유발된 당뇨에서 공장은 체중의 변화는 가져오지 않았지만, 음수량과 사료 섭취량의 감소시키고 혈중 TG와 TC 농도를 감소시켜 AI를 낮추었다. 또한 혈중 인슐린 농도를 증가시켰고 공복혈당은 감소시켰다. OGTT에서 공장은 혈당 강하에도 효과가 있지만 식후 혈당 상승을 억제하는데 기여하는 것을 확인하였으며, 당뇨로 인한 조직학적인 변화 개선 및 지질 대사에 관여하여 혈당 강하에 도움을 줄 것으로 사료된다.

## V. 결 론

본 연구에서는 공장의 항당뇨 효과를 확인하기 위해 실험을 진행하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. STZ으로 당뇨를 유발 후 체중, 식이 및 음수 섭취량을 측정된 결과, 체중은 정상군에 비해 유의적으로 감소하였으나 당뇨 유발군에 비해서 공장 투여군의 증가는 보이지 않았다. 사료 및 음수 섭취량은 공장 100/200 mg/kg, 공장 300/600 mg/kg 모두 당뇨 유발군에 비하여 감소하였다.
2. 공복혈당을 측정된 결과, 공장 100/200 mg/kg, 공장 300/600 mg/kg 3주차부터 당뇨 유발군에 비해 혈당 수치가 모두 농도 의존적으로 감소하였고 통계적 유의성도 나타내었다.
3. OGTT 결과, 당뇨 유발군에서는 투여 60분 후부터 혈당이 감소하여 120분에 투여 전 혈당 수치로 회복되었고 공장 저농도(100/200 mg/kg) 투여군, 공장 고농도(300/600 mg/kg) 투여군 모두 포도당 투여 30분 후부터 혈당이 감소하여 60분 후에 투여 전 혈당치로 회복된 것을 확인하였다.
4. 혈청 지질 성분 및 AI 측정 결과, TG와 TC는 당뇨 유발군에 비해 공장 투여군에서 유의적으로 감소하였고 농도 의존적인 감소를 나타내었다. HDL-C는 유의적인 변화가 없었으며, AI는 당뇨 유발군에 비해 유의적으로

감소하였다. 인슐린 수치는 곧장 고농도(300/600 mg/kg) 투여군에서 유의적인 감소를 확인하였다.

- 조직학적인 변화를 관찰한 결과, 간에서는 세포의 다각형 모양이 회복되고 세포간의 배열 또한 규칙적인 양상을 보였으며, 신장에서는 당뇨 유발로 비대해진 사구체의 크기가 회복되었으나, 췌장에서 랑게르한스섬의 회복은 관찰되지 않았다.

본 연구에서 혈당 강하에 효능이 있는 한약재를 첨가한 곧장은 실험적으로 유발된 당뇨 모델 동물에서 나타나는 당뇨병의 증상을 개선함으로써, 당뇨병의 치료에 도움을 주는 식이 요법 뿐만 아니라 치료제와의 병용 투여, 치료 소재 개발 등에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 대한민국 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었습니다. (No. 2021R1A2C201471711).

## References

- Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988 ; 37 : 1 595–607.
- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001 ; 24 : 683–9.
- Goop L. Genetics of the metabolic syndrome. *Br J Nutri* 2000 ; 83(Suppl. 1) : S39–S84.
- Deng S, Vatamaniuk M, Huang X, Doliba N, Lian MM, Frank A, Velidedeoglu E, Desai NM, Koeberlein B, Wolf B, Barker CF, Naji A, Matschinsky FM, Markmann JF. Structural and functional abnormalities in the islets isolated from type 2 diabetic subjects. *Diabetes*, 2004 ; 53 : 624–32.
- Shih CC, Shlau MT, Lin CH, Wu JB. *Momordica charantia* ameliorates insulin resistance and dyslipidemia with altered hepatic glucose production and fatty acid synthesis and AMPK phosphorylation in high-fat-fed mice. *Phytother. Res.* 2014 ; 28 : 363–71.
- Kim MK, Choi AR, Han GS, Jeong SG, Jeong MO, Kim DH, Ham, JS. Dairy products intake and managing diabetes. *Korean J Dairy Sci Technol.* 2011 ; 29 : 17–22.
- Korean National Statistical Office 2021, Ministry of health and welfare 2019
- Jeong MY. Use of oral hypoglycemic agents. *J Korean Diabetes* 2001 : 53–70.
- Park SH, Kim GY. Blood glucose level, insulin content and biochemical variables of complexcity extract from oriental medicinal plants on diabetes rats. *Korean J Food Nutr.* 2010 ; 23 : 258–68.
- Tae JH, Jae EP, Beom KK, Hong SK, Sang OS, Seo JH, Oh EY, Kim SU, Kwak DY.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of isoflavones and saponins from soybean (*Glycine max* L.) and comparisons of their constituents during heat treatments. *The Korean Society of Food Science and Nutrition.* 2019 ; 48(9) : 953–60.
- Kwon DY, Daily III JW, Kim HJ, Park S. Antidiabetic effects of fermented soybean products on type 2 diabetes. *Nutr Res.* 2010 ; 30 : 1–13.
- Goldberg RB. Lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care.* 1981 ; 4 : 561–72.
- Kim JW, Ha MA, Shin YW. The Effects of steam heat processing of *Helianthus tuberosi* Rhizoma on Blood glucose lowering. *Kor. J. Herbol.* 2017 ; 32(5) : 39–46
- Case Report : Kim IS, KIM MS, Lee YS, The hypoglycemic effect of gamiyookmigihwang-tang on a mild diabetes mellitus patient with impaired glucose tolerance & impaired fasting glucose. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology.* 2013 ; 27(5) : 677–82.
- Kim OK. Antidiabetic effect of ethanol extract of *Liriope platyphylla* in streptozotocin induced diabetic rats. *J of Kor Oil Chemists Soc.* 2017 ; 34(2) : 254–9.
- Kim HW, Ha TH, Cho MR, Cho SI. Effects of herbal remedy for diabetes mellitus-01(HRDM-01) on liver and serum lipid lever in diabetic rats. *Kor.J. Herbolology.* 2010 ; 25(3) : 117–21.
- Oh, TW, Park YK. Effect of the lycii fructus on multiple low-dose sterptozotocin-induced diabetic rats. *Kor. J. Herbol* 2015 ; 30(6) : 47–53
- Park KY. Increased health functionality of fermented foods. *food industry and nutirition.* 2012 ; 17(1) : 1–8.
- Park KY, Jung KO. Fermented soybean products as functional properties of deonjang (fermented soybean paste). In *Asian Functional Food.* 2005 ; 20 : 555–96.
- Park HS, Yang KM. Effects of cheonggukjang powder made with black foods on liver function and lipid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *KOREAN J. FOOD COOKERY SCI.* 2013 ; 29(6) : 699–707.
- Cho SY, Yoo WJ, Ahn SW, Kim NI. The formation of Sogal concept and classification in Korean Traditional Medicine. *Korean journal of oriental medicine.* 2007 ; 13(2) : 1–14.

22. Koh KD, Jeong SH, Shin GC, Lee WC. The study on the complications of xiaoke(消渴) –focus on relation with the pathology of jungpung(中風). Korean J Orient Int Med. 1997 ; 18(2) : 40–52.
23. Oh TW, Kang SY, Park YK. Histological analysis of five organs in streptozotocin-induced diabetic rats. Kor J Herbol. 2013 ; 28(6) : 39–45.
24. Jang HS, Yu JS, Song BY. Recent research trends in korean medicine treatment of diabetes mellitus. J Pharmacopuncture. 2008 ; 11(4) : 65–77.
25. Park IS, Che YZ, Bendayan M, Kang SW, Min BH. Up-regulation of clusterin (sulfated glycoprotein-2) in pancreatic islet cells upon streptozotocin injection to rats. J Endocrinol. 1999 ; 162 : 57–65.
26. Cooper ME. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy. Diabetologia. 2001 ; 44 : 1957–72
27. Shin YG, Kim HS, Lee MD, Kim YU, Kang HS, Hwang TS, Chung CH. The study of alternation of beta cells in pancreatic islets, glucose metabolism and insulin secretion in low dose streptozotocin induced type 2 diabetic rat model. Korean Diabetes J. 1999 ; 23(3) : 256–68.
28. Lee JJ, Park MR, Kim AR, Lee MY. Effects of ramie leaves on improvement of lipid metabolism and antiobesity effect in rats fed a high fat/high cholesterol diet. Korean Journal of Food Science and Technology. 2011 ; 43(1) : 83–90.