creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000241846

2011年 8月

碩士學位 論文

1-Deoxynojirimycin으로 코팅된 쌀의 db/db당뇨 모델 마우스에 대한 혈당저하효과

朝 鮮 大 學 校 大 學 院

食 品 醫 藥 學 科

鄭 漢 德

1-Deoxynojirimycin으로 코팅된 쌀의 db/db당뇨 모델 마우스에 대한 혈당저하효과

Hypoglycemic Effect of 1-Deoxynojirimycin Coated Rice Supplementation in db/db Mice

2011年 08月 25日

朝 鮮 大 學 校 大 學 院

食 品 醫 藥 學 科

鄭 漢 德

1-Deoxynojirimycin으로 코팅된 쌀의 db/db당뇨 모델 마우스에 대한 혈당저하효과

指導敎授 李 明 烈

이 論文을 理學 碩士學位申請 論文으로 提出함

2011年 04月

朝 鮮 大 學 校 大 學 院

食 品 醫 藥 學 科

鄭 漢 德

鄭 漢 德 의 碩士學位 論文을 認准함

委員長 朝 鮮 大 學 校 敎 授 張 海 春 (印)

委 員 光州 保健環境硏究院 博士 河 東 龍 (印)

委 員 朝 鮮 大 學 校 敎 授 李 明 烈 (印)

2011年 05月

朝鮮大學校 大學院

목 차

List of Tables ····· Ⅳ

List of Figures ····· Ⅴ

ABSTRACT ····· Ⅶ

제1장 서 론 ····· 1

제2장 재료 및 방법 ····· 6

제1절 실험재료 ····· 6

1. 시료 준비 ····· 6
2. 실험기기 ····· 7

제2절 *In vivo*에서 항당뇨효능 실험 방법 ····· 8

1. 실험동물 및 식이조성 ····· 8
2. 혈액 및 장기 채취 ····· 11
3. 혈액의 생화학적 검사 ····· 11
4. 혈중 인슐린 농도 측정 ····· 12
5. 혈중 당화헤모글로빈(HbAlc) 측정 ····· 12
6. 소장점막의 이당류 분해효소 활성 측정 ····· 12
7. 간 조직 중 항산화계 효소 활성 측정 ····· 13
8. 통계분석 ····· 15

제3장 실험결과 및 고찰 ····· 16

제1절 *In vivo*에서 당뇨효능 실험 ····· 16

1. 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 물 섭취량 ····· 16

2. 간 무게/몸무게 변화 ····· 20
3. 지방조직 함량 ····· 22
4. 전혈의 혈당 변화 ····· 25
5. 혈청 중 포도당 함량 ····· 27
6. 혈청 중 인슐린과 당화 헤모글로빈 농도 ····· 29
7. 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성 ····· 33
8. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 ····· 37
9. 혈청 중 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량 및 HDL-콜레스테롤/총 콜레스테롤 비율 ····· 40
10. 동맥경화지수 및 심혈관 위험지수 ····· 45
11. 혈청 중 알부민(albumin) 함량 ····· 48
12. 혈중 total protein(TP) 함량 ····· 48
13. 소장점막의 이당류 분해효소 활성 ····· 51
14. 간 조직 중 항산화계 효소활성 ····· 56

제4장 요 약 ····· 61

참 고 문 헌 ····· 63

LIST OF TABLES

Table 1. Experimental design ····· 9
Table 2. Composition of experimental diet (g/kg) ····· 10
Table 3. Changes in body weight gain of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 17
Table 4. Weight of Subcutaneous, Mesenteric, Epiididymal and retroperit oneal adipose tissues of in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 23

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Structure of 1-deoxynojirimycin(DNJ) and D-glucose ····· 5
Fig. 2. DNJ coated rice ····· 6
Fig. 3. Food intake in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 18
Fig. 4. Water consumption in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 19
Fig. 5. Effect of DNJ coated rice on the liver weight/body weight in *db/db* mice ····· 21
Fig. 6. Effect of DNJ coated rice on the total adipose tissue weight in *db/db* mice ····· 24
Fig. 7. Change of fasting blood glucose content in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 26
Fig. 8. Content of serum glucose in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 28
Fig. 9. Serum insulin level in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 31
Fig. 10. Blood HB Alc level in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 32
Fig. 11. Activity of ALT in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 34
Fig. 12. Activity of AST in serum of *db/db* mice fed normal diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 35
Fig. 13. Activity of ALP in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 36
Fig. 14. Content of triglyceride in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 38

Fig. 15. Content of total cholesterol in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 39
Fig. 16. Content of HDL-cholesterol in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 42
Fig. 17. Content of LDL-cholesterol in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 43
Fig. 18. HDL-C/TC in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 44
Fig. 19. Atherogenic index of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 46
Fig. 20. Cardiac risk factor of *db/db* mice fed experimental dietcontaining DNJ coated rice for 6 weeks ····· 47
Fig. 21. Content of albumin in serum of *db/db* mice fed experimental dietcontaining DNJ coated rice for 6 weeks ····· 49
Fig. 22. Content of total protein in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 50
Fig. 23. Small intestinal maltase activity in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 53
Fig. 24. Small intestinal sucrase activity in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 54
Fig. 25. Small intestinal lactase activity in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 55
Fig. 26. Activity of catalase in liver of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 58
Fig. 27. Activity of SOD in liver of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 59
Fig. 28. Activity of GSH-Px in liver of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks ····· 60

ABSTRACT

Hypoglycemic Effect of 1-Deoxynojirimycin Coated Rice Supplementation in *db/db* Mice

By, Joung Han Duck
Advisor : Prof. Lee, Myung-Yul, Ph. D.
Department of Food and Drug,
Graduate School of Chosun University

This study was conducted to investigate the potential anti-diabetic effects of 1-deoxynojirimycin (DNJ) coated rice, in type 2 diabetic animal models, C75BL/KsJ mice. After a 2-week adaptation period, the mice and mice were used and the mice wer edivided into control, 5% 1-DNJ coated rice powder and 10% 1-DNJ coated rice powder groups. The supplementation of 1-DNJ coated rice powder for six weeks markedly decreased the weight to mesenteric and epididymal adipose tissues, retroperitoneal adipose tissues compared to the control group, although there were not significant differences in the food intake and body weight gain. The serum glucose and insulin, and blood HBAlc levels in mice were higher in the mice, however these values were significantly lowered by 10% 1-DNJ coated rice powder supplement. No differences among the diabetic groups were found in the serum total protein and albumin levels. The serum and liver triglyceride and total cholesterol contents were significantly lower in the 5% and 10% 1-DNJ coated rice powder groups than in the control group, while LDL-cholesterol content higher. Furthermore, maltase and sucrase activities in small intestine were

inhibited by 1-DNJ coated rice powder feeding. These results suggest that 1-DNJ coated rice could be effective on insulin-independent diabetes mellitus type 2.

제1장 서 론

최근 급격한 경제성장으로 국민소득이 높아져 식생활 패턴이 서구화 됨에 따라 동물성식품의 소비량과 외식이 현저히 증가해 열량이 높은 지방식품의 섭취량이 많아지고 식이섬유소나 phytochemicals의 섭취량이 감소함에 따라 비만, 당뇨병, 심순환계질환, 대장암 등의 만성질환의 발병율이 높아지는 것과 밀접한 관련이 있다(1).

당뇨병은 유전적 요인과 후천적 요인인 비만, 식생활, 운동부족 및 스트레스 등에 의해 영향을 받는다(2). 당뇨는 자가면역반응 기전의 이상이 나타나 췌장에 있는 langerhans섬의 β-cell이 파괴되어 인슐린의 생리적 기능에 이상이 생겨 나타나는 증상으로 인슐린과 글루카곤의 분비상태가 교란되어 장애를 일으켜 대사조절장애를 나타내 만성대사성질환이 나타난다(3,4).

탄수화물 대사는 여러 가지 호르몬들에 의해서 조절이 되는데 가장 중심이 되는 호르몬은 인슐린이다. 그리고 글루카곤, 코티솔, 성장호르몬 및 카테콜아민 등으로 혈당을 조절하는 인자들이 있는데 이들은 작용하는 방식에서 큰 차이를 보이고 있지만 모두 세포 내에서 당 조절에 관여하여 혈중 포도당의 농도를 조절하는데 사용되어진다. 탄수화물은 소화효소에 의해 단독적으로 대사에 영향을 줄 수도 있지만 대부분은 인슐린, 글루카곤, 코티솔, 성장호르몬, 카테콜아민 등의 호르몬에 의해서 대사가 효과적으로 조절된다. 인슐린 분비자극이나 표적세포에 작용할 때 반응에도 변화를 주어서 탄수화물의 대사 조절작용이 불규칙하게 나타나는 탄수화물 대사이상은 당뇨병 유발의 요인이 될 수 있다(5,6).

당뇨합병증은 당뇨병 상태에서 산화적 스트레스(Oxidative stress)의 증가가 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(7,8). 이것은 산소로부터 생성된 유리기의 양과 체내 항산화 방어력 사이의 불균형이 나타나는 것이다. 당뇨병 환자에게서 흔히 나타나는 심혈관질환의 증상은 혈장과 조직 내에서 산화 스트

레스 증가로 인한 지질과산화물이 증가하는 것이며, 이것이 혈관조직을 침해하여 세포손상을 가져오는 것으로 보고된 바 있다(9-11). 일반적으로 당뇨병에 의한 질병 및 대사증후군으로는 실명, 뇌졸중, 심근경색증, 만성신부전증 및 혈중triglyceride의 증가, HDL-cholesterol의 감소, LDL-cholesterol의 증가 등의 지질대사이상을 들 수 있다(12-14).

당뇨병은 1형 당뇨병과 2형 당뇨병이 있는데, 1형 당뇨병은 신체가 인슐린 생성을 중단하거나 아주 조금밖에 만들어내지 않는 상태이다. 세포는 에너지를 만들어내기 위해 포도당을 연소시켜야 하는데 인슐린이 부족하게 되어 포도당이 세포 속으로 들어가지 못하게 되면 세포 속으로 들어가지 못한 포도당이 혈액 속의 혈당 수치를 높이고, 시간이 지나면서 눈, 신장, 신경, 심장, 혈관을 손상시키므로 외부에서 인슐린을 투여해야 한다. 대부분의 당뇨병들은 2형 당뇨병이고 원인은 유전적 감수성, 비만, 고혈압 등과 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다(15,16).

당뇨병인 상태에서 산화적 스트레스의 증가는 비효소적 당화와 자동산화적 당화의 증가와 항산화 방어계의 변화가 영향을 주고 있다고 보고되어 있다(17). 통계청의 2009년 사망원인통계에 따르면 당뇨병이 인구 10만명 당 19.6명으로 5번째를 차지하였다(18). 최근에는 약물요법과 함께 다양한 생리활성 작용을 하는 기능성 건강식품들의 연구와 천연물질을 이용한 기능성 식품개발이 활발하게 진행되고 있다(19,20).

뽕나무는 뽕나무과(Moraceae)의 뽕나무속(Morus)에 속하는 식물자원으로 온대지방에서 열대지방에 걸쳐 서식하며 우리나라에서 재배되는 뽕나무는 대부분 산상, 백상, 노상에 속하는 품종으로, 뽕잎과 그 열매인 오디는 항당뇨, 항염증, 항고지혈을 위한 약용자원으로 쓰여 왔다고 한다(21-26). 뽕잎은 잠상산물에 속하는 식물로 수천년 간 누에의 먹이 공급원으로 이용되어 왔으며 1998년 이후부터 식품의 사용 가능한 원료로 식품공전에 등재된 후에 각종 가공식품 및 건강보조식품의 원료로 이용되고 있다고 한다(27-30). 또한 뽕잎은 다량의 식이섬유소를 함유하고 있어 성인병 예방에 효과를 보이고 독성이 없는 것으로 밝혀져 있다(31).

한방에서 뽕잎의 열매인 오디는 상심, 상실(桑實), 오심 등으로 불리며, 소

갈(消渴)의 치료에 사용 되었다고 한다. 오디는 주로 anthocyanin 계통의 색소를 가지고 있으며, cyanidin-3-glucoside와 cyanidin-3-rutinoside가 주요 성분이라고 한다. Anthocyanin 색소는 노화억제, 당뇨병성 망막장애의 치료, 시력개선 효과 및 항산화작용 등 다양한 생리활성작용이 보고되어 있다(32). 오디는 일반 과실에 비해서 칼슘,칼륨 및 비타민 C 함량이 전반적으로 높은 것으로 나타났다. 특히 후지사과에 비해서는 칼슘이 14배, 칼륨이 2배, 비타민 C가 18배 높고 감귤에 비해서는 비타민 C의 함량이 1.5배가 높은 것으로 조사되었다(33). 그리고 chlorogenic acid가 함유되어 항산화 능력이 있는 것으로 보고되어 있다(34). 또한 뽕잎에는 campesterol, β-sitosterol glycoside, β-ecdysone 및 inosterol 등 식물성스테롤이 다량으로 존재하여 혈중 콜레스테롤과 중성지질의 저하작용, HDL-cholesterol의 증가 및 항산화작용등의 기능을 나타내는 것으로 알려지고 있다(35~37).

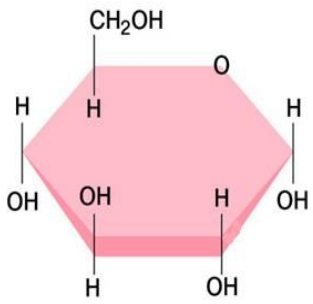
뽕잎에만 유일하게 함유하고 있는 1-deoxynojirimycin(DNJ)란 기능성 성분은 α-glucosidase의 활성을 저해하여 즉 소장의 융모막에서 이당류가 단당류로 분해되는 과정을 억제함으로써 장 내에서 당질의 소화와 포도당의 흡수를 지연시켜 식후 급격한 혈당의 상승과 이에 따른 인슐린의 과도한 분비를 감소시켜 혈당치 상승을 억제시키는 작용이 있는 것으로 알려졌다. Fig. 1의 구조식을 보면 DNJ는 포도당과 유사한 구조를 가지고 있는데 DNJ가 탄수화물 분해 효소인 α-glucosidase의 경쟁적 저해제로 작용하게 된다(38). 또한 췌장에서의 인슐린 분비를 자극하지 않아 인슐린 비의존형 당뇨병환자에게 인슐린의 분비 능력을 유지시켜 고인슐린 혈증을 유발하지 않는 작용을 갖는 것으로 알려져 있다. 또한 최근 뽕잎에 α-glucosidase에 대해 저해 활성을 갖는 DNJ에 여러 종류의 알칼로이드가 함유되어 있어서 이것들의 성분에 의해 혈당강하 효과가 나타나는 것으로 보고되고 있다 (39,40).

따라서 본 연구에서는 DNJ를 쌀에 코팅하여 실험재료로 사용하였는데 이는 쌀이 예부터 우리 주식이었으며 우리 식생활의 근본을 이루고 있기 때문이다. 한국인의 식단이 점점 서구화 됨에 따라 식습관이 빵, 육류, 패스트푸드로 바뀌어 가면서 성인병의 발병이 점차 증가되고 있다. 이에 미국에서는 비만과 가장 관련이 있는 식생활의 올바른 방향을 권고하고 있으며, 동양의

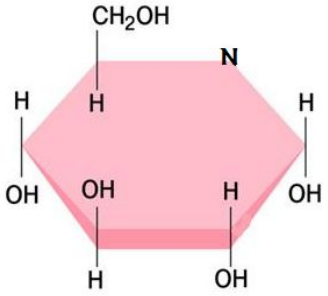
식단인 밥 중심의 식단에 관심을 가지고 있다. 실제 미국의 슈퍼마켓에서 쌀의 판매량이 증가되고 있다고 한다. 쌀은 다양한 영양성분과 기능성 성분들을 함유하고 있어서 각종 기능성을 나타내고 있는 것으로 보고되고 있다. 쌀은 가식부의 70~80%가 전분으로 되어있고 단백질이 6~8%, 지방, 섬유질, 회분이 각각 1~3%가 함유되어 있다. 또한 무기질로는 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 인, 철분, 나트륨이 함유되어 있고 비타민 B 복합체가 다량 함유되어 있다.

곡류들은 필수 아미노산인 리신(lysine)은 부족하나 쌀은 다른 곡류들에 비해서 아미노산가가 높은 것으로 알려져 있다(41-43). 쌀의 기능성 성분으로는 항산화능력이 뛰어난 tocopherol류와, 감마오리자놀이 있고 체내 콜레스테롤 대사의 조절에 도움을 주는 것으로 알려진 beta sitosterol, stigmasterol 등 다량의 식물성 스테롤과 스쿠알렌 등을 함유하고 있다고 알려져 있다(44). 사람이 주로 섭취하는 쌀이 실험 쥐의 생체 내 지질대사에 미치는 영향을 검토하기 위해서 현미, 백미, 밀, 설탕, 옥수수전분을 비교 분석한 결과 백미를 급여한 군이 중성지방과 콜레스테롤 함량이 다른 군들에 비해 유의하게 낮게 나왔다고 하였다(45). 식이섬유소함량이 높은 현미가 혈당지수가 가장 낮아 당뇨병 환자에게 권장되고 있다. 또한 미강에도 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 물질이 있다는 것을 동물실험뿐만 아니라 임상실험을 통해서도 확인된 바 있다(46-48). Crapo 등(49-50)과 Jiaratsatit 등(51)의 연구를 보면 감자, 옥수수, 식빵, 쌀의 섭취 후 혈당과 인슐린 반응의 변화를 관찰한 결과 옥수수, 감자, 식빵은 급격한 혈당상승을 보인 것으로 나타났고 쌀이 혈당을 높이는 속도가 가장 완만한 것으로 나타났다. 또한 쌀의 섭취 형태에 따라서 몸에서 혈당을 높이는 속도가 다른 것으로 조사되었는데 죽이나 떡의 형태보다 밥의 형태가 혈당상승과 인슐린 분비를 억제하는 것으로 나타났다(45).

db/db 마우스는 식욕항진, 비만, 고혈압, 인슐린 저항성, 고렙틴혈증, 고인슐린혈증 등 제2형 당뇨환자와 유사한 임상적 특성을 지닌 실험동물로 알려져 있다. 따라서 본 연구는 항당뇨 활성을 갖는 기능성 식품소재를 개발하기 위하여 DNJ로 코팅 된 기능성 쌀이 항당뇨 효과가 있는지 제 2형 당뇨모델 동물(인슐린비의존형 당뇨)인 *db/db* 마우스를 이용하여 효능을 검증하고자 실시하였다.



1-Deoxynojirimycin



Glucose

Fig. 1. Structure of 1-deoxynojirimycin(DNJ) and D-glucose.

제2장 재료 및 방법

제1절 실험재료

1. 시료준비

시료는 전남 순천시 ㈜바이오리쏘스에서 제조한 Lactobacillus ruteri BR-KC로 발효한 뽕잎분말 100 g에 주정 300 mL을 가하고 실온(25℃)에서 DNJ가 유리 되도록 24시간 방치한 후 3 M paper를 통과시켜 맑은 뽕잎분말 발효 주정 추출물을 얻었다. 뽕잎분말 발효 주정 추출 3 M paper 여과액을 분무기를 사용하여 쌀 100 g에 30 mL씩 분사하여 45℃에서 24시간 건조한 DNJ로 코팅된 쌀을 구입 후 분쇄하여 시료로 사용하였다.

Fig. 2. DNJ coated rice.

2. 실험기기

가. Centrifuge : Eppendorf 5810R, Germany

나. Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan

다. accu-check, Germany

라. insulin radioimmunoassay kit(EIKEN Chemical Co., Ltd)

마. Microplate enzyme immunoassay

제2절 *In vivo*에서 항당뇨효능 실험 방법

1. 실험동물 및 식이조성

실험동물 중 당뇨 모델인 6주령의 C57BL/KsJ 종에서 개발된 모델로 염색체 4에 있는 한 개의 유전자가 돌연변이를 일으켜 나타나는 것으로 알려져 있으며, 지방조직의 leptin 생산은 정상이나 시상하부 포만중추에 있는 leptin receptor에 결합이 있어 과식 및 체중 증가를 초래한 6주령 수컷 *db/db* 마우스로 인슐린 비의존성 당뇨모델로 확립되고 인정되는 동물로서 기초 자료가 풍부하여 시험결과의 평가 및 비교에 적절하여 선택하였다. 본 연구에 사용한 *db/db* 마우스는 6주령 수컷으로 Japan SLC Inc.에서 생산하여 중앙실험동물(주)를 통하여 공급받았으며, 1주일 간의 검화 및 순화를 거쳐 적응기간 후 체중과 혈당을 측정하여 당뇨가 없고 일반증상이 없는 쥐 6마리와 당뇨가 유발된 것을 확인하여 실험실시에 적합하고 일반증상이 없는 동물 18마리를 선별하였다. 조선대학교 실험동물센터에서 2주일 동안 기본식이로 적응시킨 후, 난괴법에 따라 각 처리 당 6마리 씩 4군으로 나누어 실시하였다.

실험군은 Table 1에서와 같이 정상식이를 급여한 *db/db* 비발현군(Lean군), 정상식이를 급여한 *db/db* 발현군(Control군), DNJ 코팅 쌀 저농도를 급여한 *db/db* 발현군(DNJ-Low), DNJ 코팅 쌀 고농도를 급여한 *db/db* 발현군(DNJ-High군)으로 나누었다. 실험군의 식이조성은 Table 2에서와 같이 AIN 93 정제식이 조성을 변형하여 제조하였다.

물과 식이는 제한 없이 공급하였고 사육실 온도는 18±2℃로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다. 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 실험개시 전의 체중으로 나누어 체중증가율로 표시하였고, 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율을 구하였다.

Table 1. Experimental design

Groups	Diet composition
Lean[1)]	Lean mice + normal diet
Control[2)]	*db/db* mice + normal diet
DNJ-Low	*db/db* mice + 5% of DNJ coated rice
DNJ-High	*db/db* mice + 10% of DNJ coated rice

[1),2)] Modified AIN-93 diet(52).

Table 2. Composition of experimental diet(g/kg)

Ingredients	Groups[1)]			
	Lean	Control	DNJ-Low	DNJ-High
Rice	545.0	545.0	490.5	436.0
DNJ coated rice	0.0	0.0	54.5	109.0
Casein	150.0	150.0	150.0	150.0
DL-methionine	3.0	3.0	3.0	3.0
Soybean oil	200.0	200.0	200.0	200.0
α-Cellulose	50.0	50.0	50.0	50.0
Mineral mix[2)]	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix[2)]	10.0	10.0	10.0	10.0
Choline chloride	2.0	2.0	2.0	2.0
Cholesterol	5.0	5.0	5.0	5.0

[1)]The Experimental diet groups are as follow; Lean: Lean mice + normal diet, Control: *db/db* mice + normal diet, DNJ-Low: *db/db* mice + 5% of DNJ coated rice, DNJ-High: *db/db* mice + 10% of DNJ coated rice.

[2)]Based on AIN-93-MX mineral mixture and AIN-93-VX vitamin mixture(53).

2. 혈액 및 장기 채취

실험동물은 사양시험 종료 후 12시간 절식시킨 후 CO_2로 가볍게 마취한 다음 개복한 후 복부대동맥에서 채혈하여 실온에서 30분간 방치하였다. 1,150 ×g에서 20분간 원심분리 후 혈청을 분리하여 혈청 효소활성 및 지질 함량 측정용 시료로 사용하였으며, 혈액을 채취한 후 얼음위에서 즉시 간 조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 무게를 측정한 다음 효소활성 저하를 예방하기 위하여 급속 동결하여 -70℃의 deep freezer에 보관하면서 항산화 관련 효소 활성 및 항산화능력 측정에 사용하였다. 소장점막의 이당류 분해효소활성 측정을 위해서는 실험동물을 해부한 후 적출한 소장을 얼음 위에서 생리식염수로 세척하고 십이지장 부분을 제거한 다음 효소활성 측정 시료로 사용하였다. 또한 지방 조직 부위별 분석을 위하여 부고환지방, 피하지방, 등지방 및 장간막지방조직은 적출하여 무게를 측정하였다.

3. 혈액의 생화학적 검사

혈청 중 중성지방(Triglyceride, TG), 총콜레스테롤(Total cholesterol, TC), HDL-콜레스테롤 함량은 혈액생화학적 검사를 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm., Japan)를 사용하여 측정하였다. LDL-콜레스테롤 함량은 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 - 중성지방/5)}(54)에 의하여 계산하였다. HDL-콜레스테롤의 총콜레스테롤에 대한 비율은 HDL-콜레스테롤을 총콜레스테롤로 나누어 계산하였다. 심혈관계질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤}(55)에 의하여 구하였으며, 심혈관위험지수 (cardiac risk factor, CRF)(55)는 총콜레스테롤을 HDL-콜레스테롤로 나누어 구하였다.

4. 혈중 인슐린 농도 측정

사양시험 종료 후 마우스로부터 공복 시에 혈액을 채혈한 후 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈장을 insulin radioimmunoassay에 의한 kit(EIKEN Chemical Co., Ltd)를 이용하여 혈중 인슐린 농도를 측정하였다.

5. 혈중 당화헤모글로빈(HbAlc) 측정

사양시험 종료 후 마우스로부터 공복 시에 채혈한 전혈 0.2 mL를 HbAlc 농도 측정에 사용하였는데, Microplate enzyme immunoassay(MEIA, Germany)로 측정하였다.

6. 소장점막의 이당류 분해효소 활성 측정

소장점막의 lactase, maltase, sucrase 활성은 Dahlqvist 방법(56)에 의해 측정하였다. 즉 실험동물을 희생한 직후 절제한 소장을 얼음 위에서 생리식염수로 세척하고 십이지장 부분을 제거한 후 같은 길이로 삼등분 하여 각각을 proximal, middle 및 distal로 구분하여 절개한 후 각각 차게 냉장시킨 생리식염수로 깨끗하게 씻어 가아제로 수분을 제거하였다. 얼음 위 냉각판에서 점막을 microscopic glass로 긁어서 무게를 달고 4배의 증류수와 함께 homogenizer (IKA MT-25 Janke & Kunkel, Germany)로 균질화시켜 4℃, 7,000 ×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취해 효소활성 측정시료로 사용하였다. 희석시킨 효소 시료 0.1 mL와 기질용액(0.056 M disaccharide

solution/0.1 M sodium malate buffer, pH 6.0) 0.1 mL를 시험관에 넣고 잘 혼합해서 37℃ 수욕 중에서 60분간 반응시킨 다음 증류수를 0.8 mL를 첨가하고 2분간 끓는 물에 담근 후 수돗물로 식혔다. 위의 시료용액 중 0.5 mL를 시험관에 취하고 glucose oxidase 용액 3 mL를 첨가한 후 37℃ 수욕중에서 1시간 반응시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이당류 분해효소 활성도는 specific activity(units of activity/g protein)로서 나타내며 장점막의 단백질 농도는 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 Lowry법(57)에 의해 정량하였다.

7. 간 조직 중 항산화계 효소 활성 측정

(1) 효소원 조제

간 조직 1 g당 4배량의 0.25 M sucrose buffer(pH 7.5)를 가하고 빙냉하에서 Ultra Turax Homogenizer(Janke & Kunkel, Germany)로 10,000 ×g에서 2분간 마쇄하였다. 마쇄액을 4℃, 600 ×g에서 10분간 원심분리 하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 후 상징액을 15,000 ×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상징액은 superoxide dismutase(SOD), catalase 및 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성 측정의 효소원 및 단백질 함량 측정에 사용하였다.

(2) SOD 활성 측정

Crapo 등(58)의 방법에 의하여 xanthine, XO 및 cytochrome C를 이용하여 측정하였다. 즉 시험관에 100 mM phosphate buffer (pH 7.8) 2.3 mL에 0.5 mM xanthine 0.3 mL와 0.1 mM cytochrome C 0.3 mL를 가하고 혼합하여 흡광도의 증가 속도가 매분 당 0.02이 되도록 XO용액을 첨가한 후 550 nm에서 1분간 변화되는 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 상기 조건에서 효소원을 가하여 증가되는 흡광도를 측정하였고, cytochrome C 환원속도를 50% 억제하는 효소량 ㎛ol/min/mg protein을 1 unit로 표시하였다

(3) Catalase 활성 측정

Aebi(59)의 방법에 의하여 소모되는 H_2O_2양으로 측정하였다. 25 mM H_2O_2를 포함한 50 mM phosphate buffer(pH 7.0) 3.0 mL에 효소원 10 μL를 가하여 혼합한 후 240 nm에서 60초간 변화되는 흡광도를 측정하였으며, 효소의 활성도는 1분 동안에 1 mM의 H_2O_2를 분해시키는 효소량(decreased H_2O_2 ㎛ol/min/mg protein)을 1 unit로 표시하였다.

(4) GSH-Px 활성 측정

Flohe 등(60)의 방법에 의하여 측정하였다. 10 mM phosphate buffer(pH 7.0) 2.5 mL에 3 mM GSH, 20 mM NaN_3, glutathione reductase 0.72 U, NADPH 0.45 mM과 효소원을 넣고 0.45 mM H_2O_2를 가하여 340 nm에서 3분간 흡광도의 변화를 측정하였다. 비효소적 반응은 상기와 같은 조건에서 단지 0.45 mM H_2O_2 를 가하지 않고 흡광도의 변화를 측정하였으며, 효소활성은 비효소적 반응에 의한 흡광도 변화를 제한 값을 다음 식에 의해서 계산

하여 효소량 (decreased NADPH ㎛ol/min/mg protein)을 1 unit로 표시하였다.

$$A = 0.868([NADPH] / [GSH]_0\ t)(V_i / V_s)$$

A : 효소활성도

[NADPH] : NADPH함량변화

$[GSH]_0$: GSH의 처음함량

t : 반응시간

V_i : 반응액 용량

V_s : 효소액 용량

8. 통계분석

본 시험에서 얻어진 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Science)를 이용해서 통계분석 하였으며, 모든 실험 결과들은 평균과 표준오차로 나타내었고, 통계처리는 처리군 간에 Tukey's test로 유의성을 검증하였다.

제3장 실험결과 및 고찰

제1절 *In vivo*에서 당뇨효능 실험

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 물섭취량

DNJ 코팅 쌀을 6주간 급여한 마우스의 체중 증가량, 식이섭취량 및 물섭취량은 Table 3, Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 체중 증가량과 식이섭취량은 *db/db* 당뇨 발현 마우스군(Control군, DNJ-Low군 및 DNJ-High군)이 비발현 마우스(Lean군)에 비하여 약 1.6배로 유의하게 증가하였다. 물섭취량은 당뇨 발현 마우스군(Control군, DNJ-Low군 및 DNJ-High군)이 비발현 마우스(Lean군)에 비하여 증가하였으며, 당뇨 Control군에 비하여 당뇨 DNJ-Low군 및 당뇨 DNJ-High군이 적은 경향을 보였다. 당뇨의 대표적인 현상은 다음, 다식, 다뇨의 3다 현상이 나타난다(61). Park 등(62)도 마찬가지로 당뇨실험군 흰쥐들이 당뇨증상 중 하나인 다식(polyphagia)현상으로 인해서 체중의 증가가 있다고 보고하였다. 그에 반해 당뇨쥐가 사료섭취량이 많은데도 퇴행적 변화와(63) 당뇨로 인한 세포내 포도당 이용률 감소와 간, 근육, 지방조직과 체내 단백질로부터 에너지 생산이 됨으로 인해서 체중감소가 나타난다고 알려져 있다(64). 그러나 본 실험에서 당뇨가 유발된 *db/db* 마우스 간에는 체중증가량과 식이섭취량의 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 DNJ 코팅쌀 급여로 체중증가량과 식이섭취량이 약간 저하되었다.

Table 3. Changes in body weight gain of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks.

Groups[1)]	Initial weight (g)	Final weight (g)	Total weight gain (g)	Weight gain (g/day)
Lean	23.00± 0.83[2)a3)]	33.25± 0.75[a]	10.25± 0.65[a]	0.24± 0.12[a]
Control	37.25± 0.21[b]	56.50± 0.42[b]	19.25± 0.40[b]	0.46± 0.12[b]
DNJ-Low	37.25± 0.32[b]	55.75± 0.45[b]	18.50± 0.32[b]	0.44± 0.33[b]
DNJ-High	37.25± 0.12[b]	55.50± 0.36[b]	18.25± 0.12[b]	0.43± 0.43[b]

[1)]See the legend of Table 1.

[2)]The results are mean±S.E. for 6 mice in each group.

[3)]Values with different superscripts in the same column are significantly different($p<0.05$) between groups by Tukey's test.

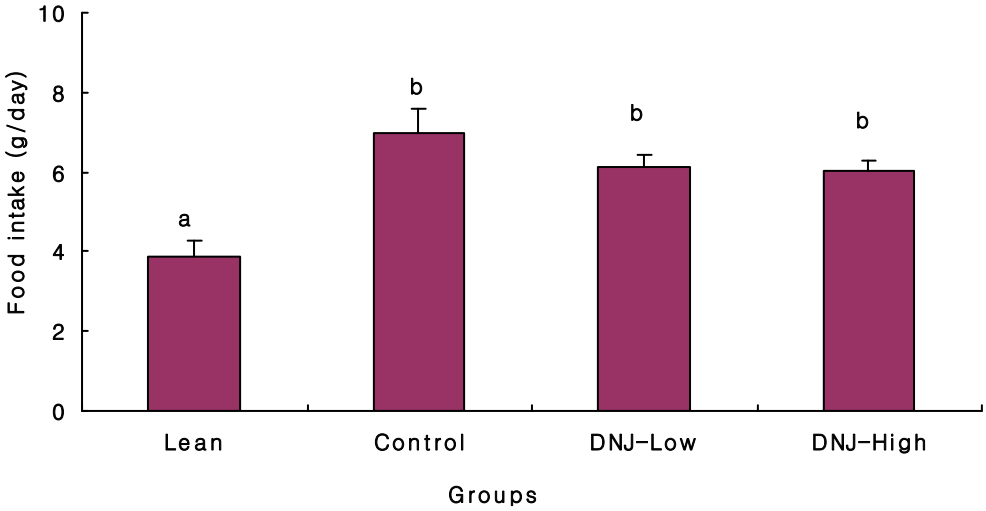


Fig. 3. Food intake in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

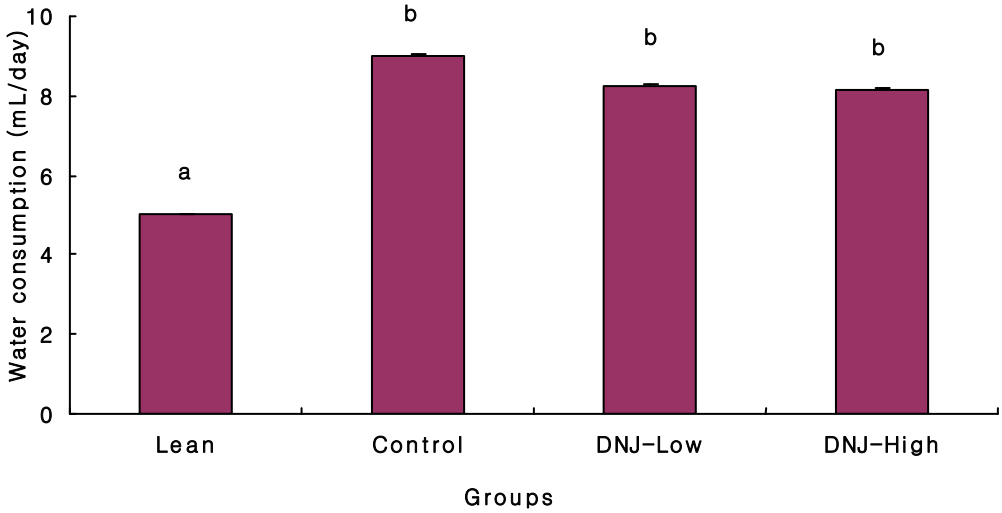


Fig. 4. Water consumption in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

2. 간 무게/몸무게의 변화

동물모델에서 DNJ로 코팅된 쌀의 독성을 알아보기 위해서 동물 희생 후 간 무게를 측정하고 간 무게/몸무게를 측정하여 DNJ로 코팅된 쌀의 6주간의 급여가 마우스에게 미치는 영향을 Fig. 5에서 살펴보았다.

DNJ로 코팅된 쌀이 실험동물의 간 무게/몸무게에 미치는 영향의 결과는 Fig. 5와 같이 당뇨 비발현군인 Lean군과 당뇨 발현군들(Control, DNJ-Low, DNJ-High)간에는 유의적인 차이를 나타내지 않은 것으로 나타나 DNJ로 코팅된 쌀이 독성이 없는 것으로 관찰되었다. 독성이 있을 경우 그것을 해독하는 간의 잦은 해독작용으로 그 크기와 무게가 증가한다고 알려져 있다.

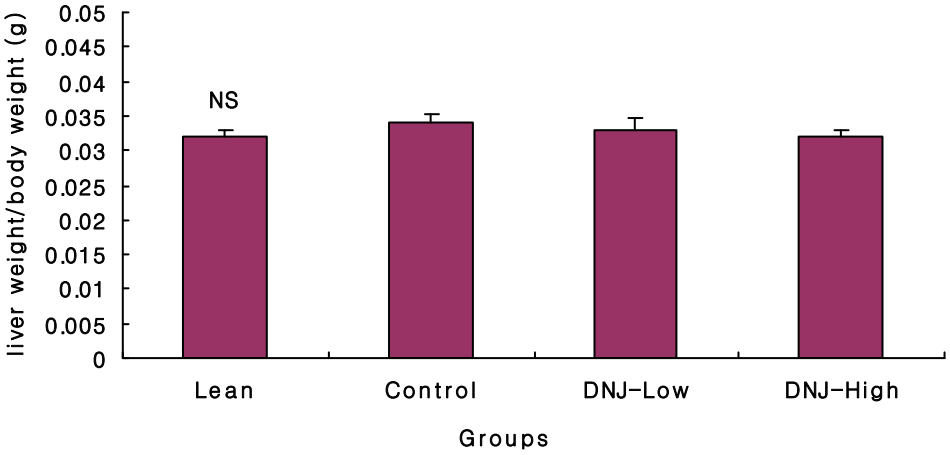


Fig. 5. Effect of DNJ coated rice on the liver weight/body weight in *db/db* mice. Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test. NS : no significantly different among groups.

3. 지방조직 무게

6주간 DNJ 코팅 쌀을 급여 후 마우스를 개복하여 부고환지방, 피하지방, 등지방 및 장간막지방조직의 무게를 측정하였고, 모든 지방을 더한 값을 총지방조직무게로 나타낸 결과는 Fig. 6과 같다. 각 지방조직들의 무게를 측정한 결과 피하 지방조직무게에서는 Lean군은 0.461±0.023g으로 Control군 1.607± 0.12g에 비하여 지방조직무게가 적은 것을 볼 수 있었고, DNJ 코팅 쌀 급여군인 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 각각 1.544±0.12g과 1.541±0.13g로 Control군에 비해서 지방조직무게가 유의적으로 감소하였다. 내장지방조직도 Lean군은 0.725±0.05g로 Control군 1.184± 0.15g에 비해 지방조직무게가 적은 것을 볼 수 있었고 DNJ 코팅 쌀 급여군인 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 각각 0.988±0.08g과 0.868±0.09g으로 Control군에 비해서 지방조직무게가 유의적으로 감소하였다. 등지방조직무게에서도 Lean군은 0.342±0.041g으로 Control군 0.637±0.07g에 비해 지방조직무게가 적은 것을 볼 수 있었고 DNJ 코팅 쌀을 급여군인 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 각각 0.493±0.053g과 0.469±0.032g으로 Control군에 비해서 지방조직무게가 유의적으로 감소하였다. 부고환지방조직에서도 Lean군은 1.350±0.15g으로 Control군 1.784±0.23g에 비해 지방조직무게가 적은 것을 볼 수 있었고 DNJ 코팅 쌀 급여군인 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 각각 1.682±0.21g과 1.664±0.14g으로 Control군에 비해서 지방조직무게가 유의적으로 감소하는 것을 볼 수 있었다.

총지방무게를 측정한 결과 각 지방조직무게는 DNJ 코팅 쌀 급여군인 DNJ-Low군과 DNJ-High 군은 Control군에 비해서 유의적으로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이는 DNJ 코팅 쌀 급여로 인하여 지방조직무게가 감소되어 진 것을 볼때 DNJ 코팅 쌀이 항비만 효과가 있는 것으로 사료된다.

Table 4. Weight of Subcutaneous, Mesenteric, Epiididymal and retroperitoneal adipose tissues of in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks.

Groups[1)]	Subcutaneous wt(g)	Mesenteric wt(g)	retroperitoneal wt(g)	Epiididymal wt(g)
Lean	0.461± 0.022[a2)3)]	0.725± 0.045[a]	0.342± 0.037[a]	1.350± 0.13[a]
Control	1.607± 0.12[b]	1.184± 0.13[b]	0.637± 0.042[b]	1.784± 0.21[b]
DNJ-Low	1.544± 0.15[b]	0.988± 0.032[ab]	0.493± 0.033[ab]	1.682± 0.15[b]
DNJ-High	1.541± 0.13[b]	0.868± 0.045[ab]	0.469± 0.051[ab]	1.664± 0.13[b]

[1)]See the legend of Table 1.

[2)]The results are mean±S.E. for 6 mice in each group.

[3)]Values with different superscripts in the same column are significantly different($p<0.05$) between groups by Tukey's test.

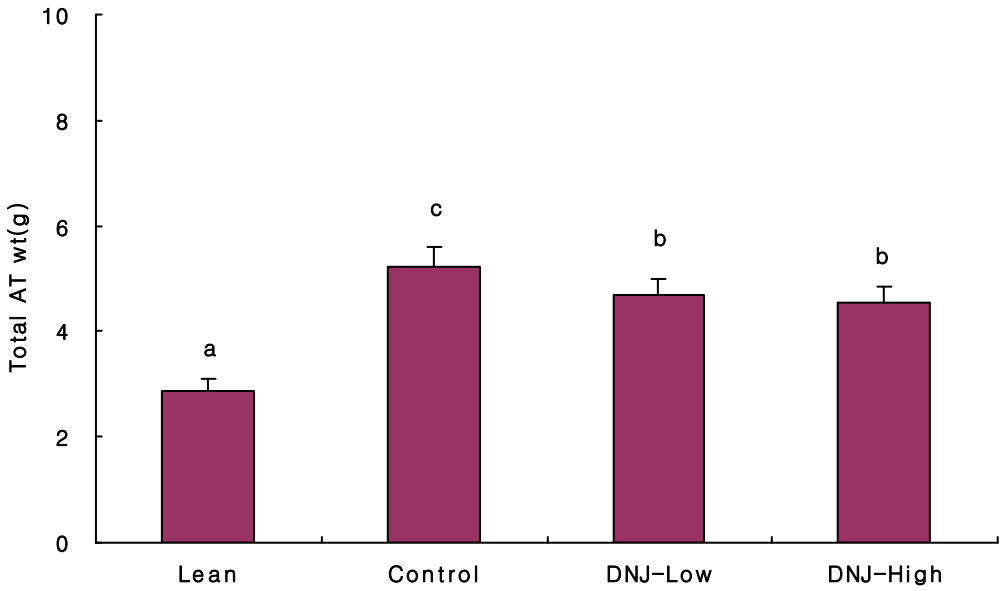


Fig. 6. Effect of DNJ coated rice on the total adipose tissue weight in *db/db* mice. Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

4. 전혈의 혈당 변화

6주간 전혈의 혈당 변화를 실험개시 첫날, 2, 4, 및 6주째 도달하는 시기에 측정 하였는데 측정한 결과는 Fig. 7과 같다. 측정 전 8시간 절식 후 꼬리미세정맥에서 채혈하여 측정하였다. 실험 시작 후 혈당은 4주 후 부터 감소하기 시작하여 6주경에는 대조군(Control)에 비해서 DNJ로 코팅된 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군이 유의적으로 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 이것은 α-glucosidase에 대해 저해 활성을 갖는 DNJ 및 여러 종류의 알칼로이드가 함유되어 있어서 이 성분들에 의해 혈당강하 효과가 나타나는 것으로 보고되고 있다(38,39). Han 등(66)의 실험결과도 1형 당뇨 마찬가지로 뽕잎오디쌀 식이군의 혈당농도가 당뇨군보다 유의하게 혈당강하가 나타나는 것을 관찰할 수 있었다.

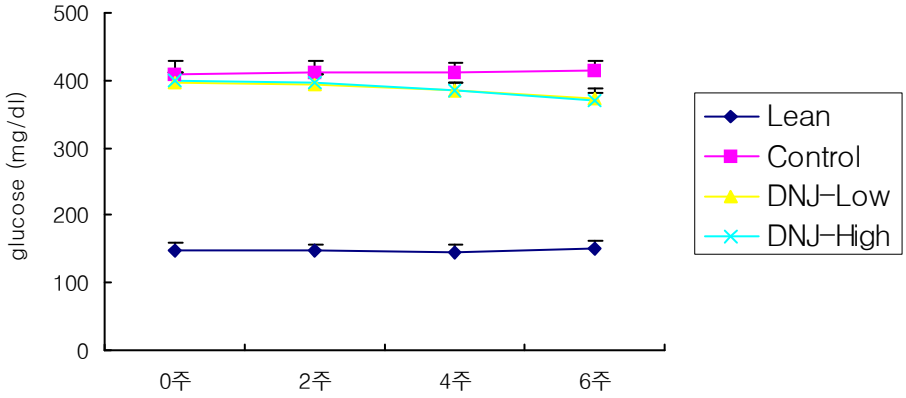


Fig. 7. Change of fasting blood glucose content in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

5. 혈청 중 포도당 함량

사양시험 종료 후 혈청 중 포도당 함량을 측정한 결과는 Fig 8과 같다. 당뇨 발현군(*db/db*군)인 Control군의 혈청 중 포도당 함량은 411.54±17.17 mg/dL로 Lean군의 147.81±11.31 mg/dL에 비하여 유의한 증가가 관찰되었다. DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 혈청 중 포도당 함량이 각각 319.47±14.11 mg/dL와 326.63±11.48 mg/dL로 Control군에 비하여 유의적으로 저하되었으나, Lean군에 비해서는 높은 수치를 나타내었다. 그리고 Kim 등(67)의 실험에서도 고혈당을 유도한 마우스에게 혐기 처리한 뽕잎분말(20%)사료의 급여가 당뇨군에 비해 통계적으로 유의한 혈당강하 효과를 보인다는 결과(68)와 유사한 것으로 나타났다. Lawes(70)등의 연구 결과에 의하면 공복혈당이 1 mmol/L 낮아짐에 따라 발작 위험률은 21% 감소되었고, 허혈성심장질환의 위험률은 23% 감소되었다고 한다. 또한 고혈당으로 인한 산화 스트레스가 당뇨병 합병증 발생에 중요한 역할을 하며 혈관내피세포의 기능장애가 산화 스트레스에 의한 손상을 나타내는 연구들이 보고되어 있다(69,70). 이처럼 당뇨환자에 있어서 혈당을 정상에 가깝게 유지하는 것은 당뇨병 치료와 당뇨 합병증 예방에 있어서 가장 중요하다(71). 당뇨환자들을 대상으로 한 전향적 연구에서는 혈당을 정상에 가깝게 유지한 군의 경우 망막병증, 신증, 신경병증 등의 합병증 발생 비율이 감소되는 것으로 보고되었다(72).

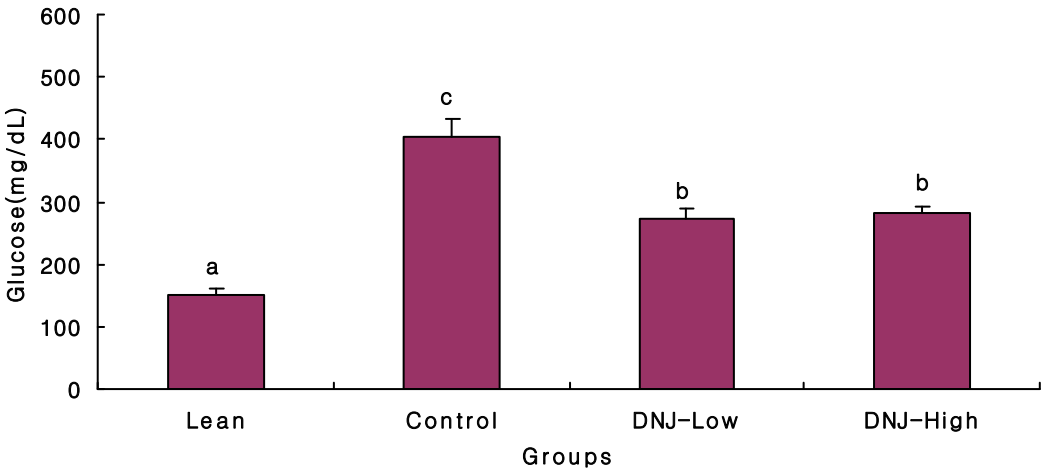


Fig. 8. Content of serum glucose in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

6. 혈청 중 인슐린과 당화 헤모글로빈 농도

혈청 중 인슐린과 당화헤모글로빈 농도 측정 결과는 Fig. 9와 10에서와 같다. 혈청 중 인슐린 농도는 Fig. 9에서와 같이 당뇨 발현군인 Control군이 62.38±5.16 μM/mL로 Lean군의 12.69±0.56 μM/mL에 비하여 5배 이상 증가된 수치를 보였으며, DNJ-Low군과 DNJ-High군은 각각 51.13±2.13 μM/mL과 48.29±1.87 μM/mL로 Control군에 비하여 18%와 23% 감소씩 감소되었다. 대부분의 제2형 당뇨인 인슐린비의존형 당뇨환자는 인슐린 저항성에 의해 고인슐린혈증이 유발된다. 고인슐린혈증은 지질대사 장애, 고혈압 및 관상동맥경화증의 병인에 중요한 공통분모이다. 그리고 이것은 비만과 각 조직의 고성장의 원인이 되고 직접적으로 renin-angiotensin system에 영향을 미쳐 혈압을 상승시키기도 한다고 조사되었다(73,74). 고인슐린혈증은 혈청 지질대사 이상을 초래하여 동맥경화증을 진행시켜 심혈관질환, 망막증 등을 악화시킨다고 한다(75). Chung 등(76)은 뽕잎의 혈당강하작용은 DNJ 성분 증가로 인해 인슐린 농도에는 영향을 주지 않으면서 장내 탄수화물분해효소인 α-glucosidase, α-mannossidase 및 β-galactosidase 작용을 경쟁적으로 억제하는 것으로 보고하였다. 본 연구 결과 DNJ 코팅 쌀 섭취 후 혈중 인슐린 농도가 감소된 것은 Han 등(66)의 연구와 유사하게 혈당의 감소로 인한 인슐린 분비 자극 감소로 기인된 것으로 추측할 수 있다.

당뇨환자에게 있어서 장기간 혈당 변화를 확인하기 위하여 조절의 지표로 사용되는 당화헤모글로빈 농도를 측정하였다. 당뇨대조군(Control)의 혈중 당화헤모글로빈 농도는 정상대조군(Lean)에 비하여 42.31% 유의성 있게 증가하였고 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 당뇨대조군(Control)에 비하여 각각 21.53%와 22.21%로 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 당뇨의 경우 공복시 혈당은 여러 가지 요인에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다(77). Allen 등은 당화헤모글로빈이 정상인 혈색소의 약 3~6%를 차지하며, 당뇨병 환자에서는 정상인보다 2~3배 증가된다고 보고하였다(78).

따라서 본 연구 결과 DNJ 성분으로 인해 혈당 농도를 유의성 있게 저하시키며, 당화헤모글로빈의 농도를 저하시켜 당뇨병 치료에 도움이 될 것으로

사료된다.

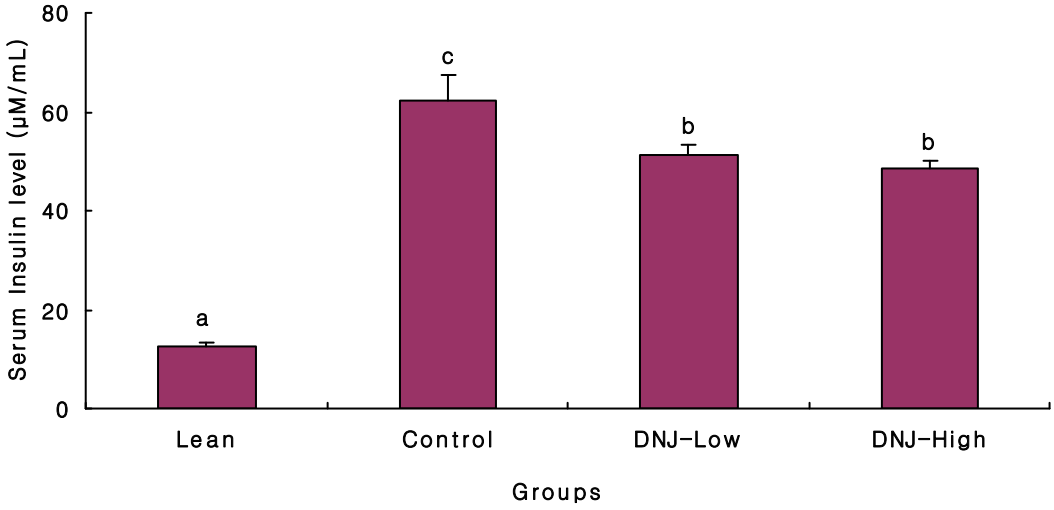


Fig. 9. Serum insulin level in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

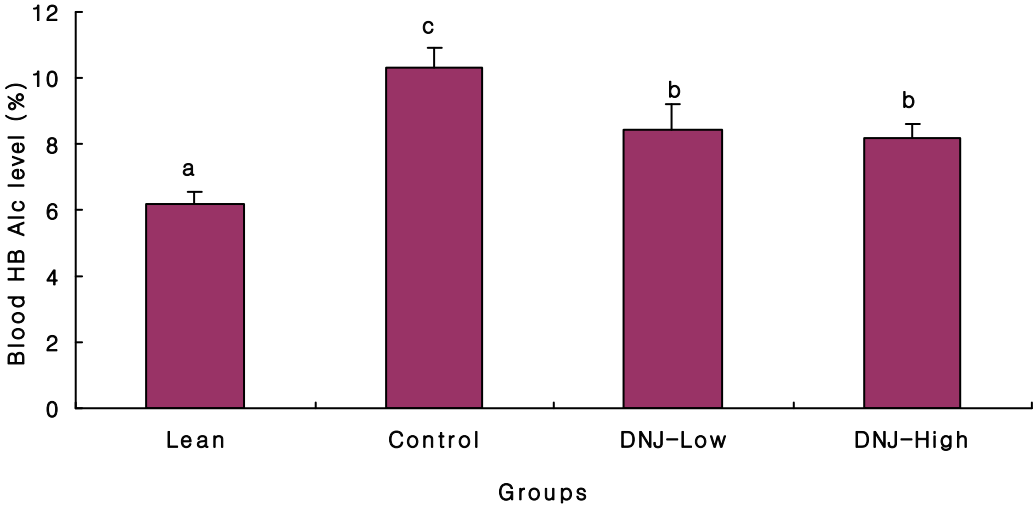


Fig. 10. Blood HB Alc level in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

7. 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성

혈청 중 간 기능지표 효소인 ALT, AST 및 ALP 활성을 측정한 결과는 Fig. 11-13과 같다. 혈청 중의 ALT 활성은 당뇨 발현군인 Control군이 398.25±27.48 U/L로 당뇨 비발현군인 Lean군의 163.50±11.12 U/L에 비하여 유의하게 증가하였다. 당뇨 발현군 간의 비교를 보면 DNJ 코팅 쌀 저농도를 급여한 DNJ-Low군과 고농도를 급여한 DNJ-High군은 ALT 활성이 각각 241.25± 20.88 U/L과 173.00±16.50 U/L로 Control군에 비하여 유의적으로 감소하였으며, Lean군과 비슷한 활성을 나타내었다.

혈청 중 AST 활성도 당뇨 Control군이 381.00±25.12 U/L로 Lean군의 139.00±12.25 U/L에 비하여 유의하게 증가하는 경향이었다. DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 246.25±12.32 U/L와 237.50±16.79 U/L로 당뇨 Control군에 비하여 유의적으로 감소하는 경향이었으나, Lean군에 비해서는 높은 경향을 나타내었다.

혈청 ALP 활성 또한 당뇨 Control군이 593.75±32.65 U/L로 Lean군의 266.75±18.02 U/L에 비하여 유의하게 증가하였으나, DNJ 코팅 쌀 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 각각 516.50±36.89 U/L와 404.00±14.88 U/L로 Control군에 비하여 감소하였으며, 특히 DNJ 코팅 쌀 고농도를 급여한 DNJ-High군이 Control군에 비하여 유의한 감소효과를 보였다.

혈청 AST와 ALT 활성도는 간이나 신체조직 등의 손상을 알 수 있는 지표로 널리 이용되고 있는 것으로 알려져 있다. 혈청 중 AST와 ALT 활성은 고지방식이, 고콜레스테롤식이, 알코올 등으로 간세포의 독성이 생기면 간 실질세포의 장애가 발생하여 간세포가 파괴되고 혈액 중으로 이들 효소의 방출이 항진되어 활성이 증가한다고 보고되었다. 본 실험 결과 DNJ 코팅 쌀 급여로 ALT, AST 및 ALP의 활성이 Control군에 비하여 감소하는 것을 보아 쌀에 코팅시킨 DNJ가 간 세포내의 ALT, AST 및 ALP 효소 활성에 영향을 주어 간 기능을 개선시키는 것으로 사료된다.

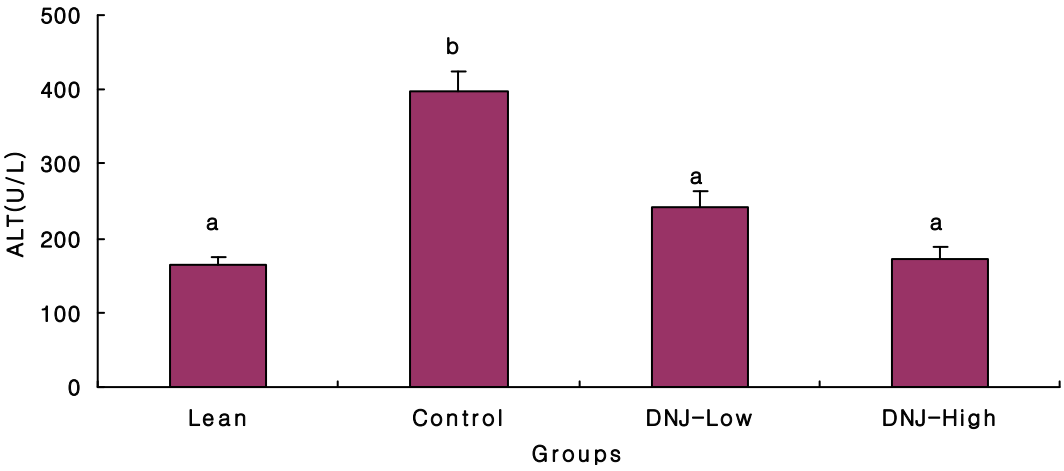


Fig. 11. Activity of ALT in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

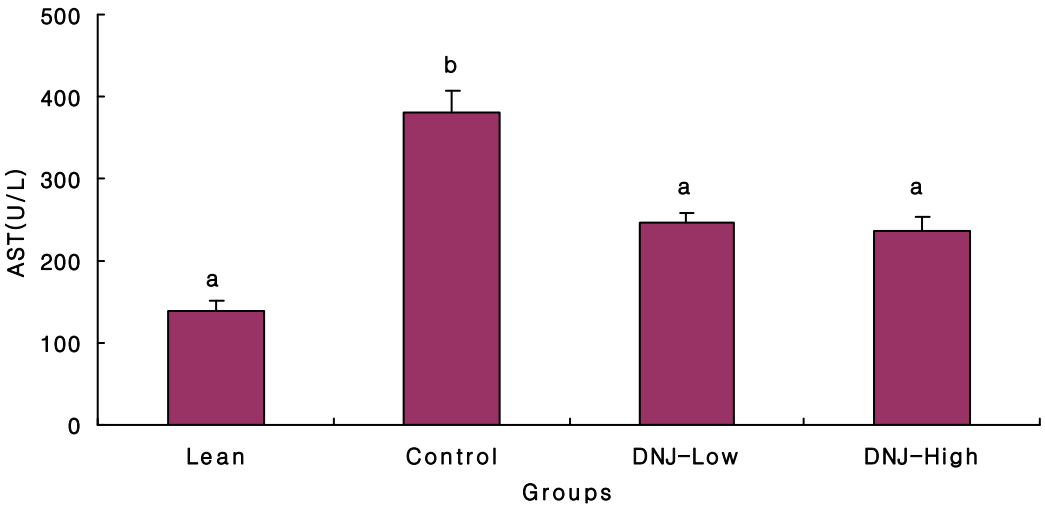


Fig. 12. Activity of AST in serum of *db/db* mice fed normal diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

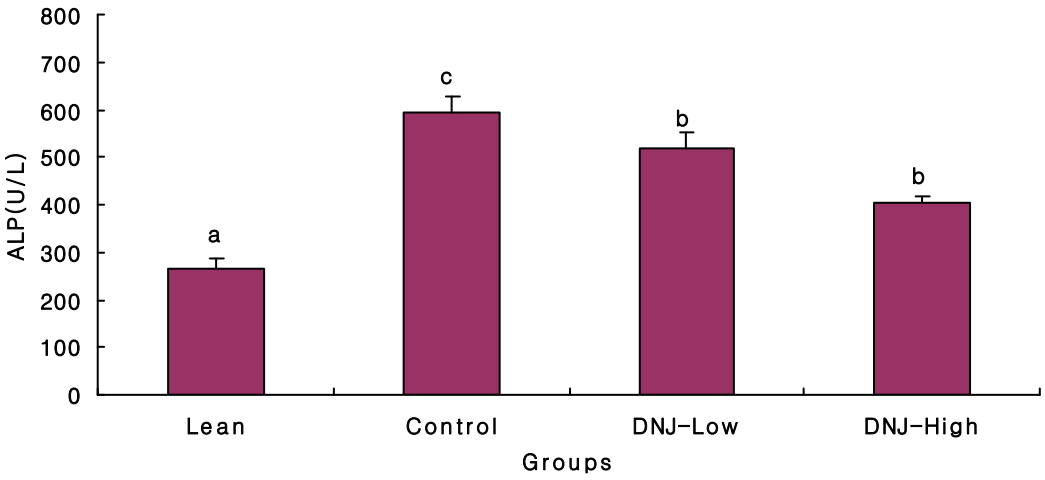


Fig. 13. Activity of ALP in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

8. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량의 변화는 Fig. 14,15와 같다. 제 2형 당뇨환자에게 가장 흔히 나타나는 지질대사는 고지혈증, 특히 고중성 지방혈증의 빈도가 가장 높은 것으로 나타나며 이러한 고지혈증은 죽상동맥경화증의 주요 위험인자로 작용하여 결과적으로 당뇨병이 심혈관계 합병증의 발생에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이런 비정상적인 지질대사는 혈중 중성지질과 콜레스테롤의 증가 및 HDL-cholesterol의 감소, LDL-cholesterol의 조직으로의 이동속도 감소 등이 관찰되고 있다(79). 혈청 중성지방함량은 당뇨 Control군이 215.25± 4.25 mg/dL로 비당뇨 Lean군의 139.00± 12.2 mg/dL에 비하여 유의한 증가를 보였다. DNJ 코팅 쌀을 저농도와 고농도로 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군의 혈청 중 중성지방의 함량은 각각 159.75± 6.48 mg/dL과 140.25± 7.26 mg/dL로 당뇨 Control군에 비하여 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으며, Lean군과 비슷한 경향을 볼 수 있었다. Park 등(80)의 연구에서 보면 본 실험과 유사하게 Control군이 Lean군에 비해서 2.1배 높게 나왔지만 꾸지뽕잎을 농도별로 첨가한 식이를 섭취한 쥐들에서는 일반군에 비해 혈청 중 중성지방함량이 비교적 높게 나왔지만 본 실험의 DNJ 코팅 쌀을 급여한 쥐들은 혈청 중 중성지방이 Lean군과 비슷한 경향이었다. 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 Control군이 408.00±15.19 mg/dL로 Lean군의 154.50±7.93 mg/dL에 비하여 유의하게 증가하였다. DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 332.75±8.69 mg/dL와 331.20±13.19 mg/dL로 Control군과 유의차가 관찰되지 않았다. 본 연구 결과와 마찬가지로 Han 등(66)의 연구에서는 총콜레스테롤 농도는 뽕잎오디쌀 식이군이 고지방식이군보다 유의하게 낮았으나 중성지방 농도는 각 실험군 간의 유의한 차이가 나타나지 않았다고 하였다.

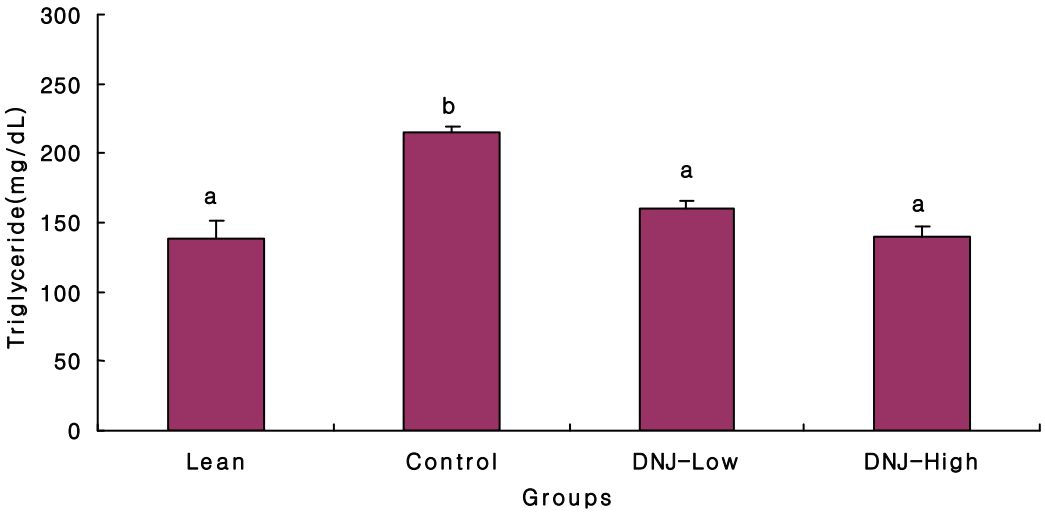


Fig. 14. Content of triglyceride in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

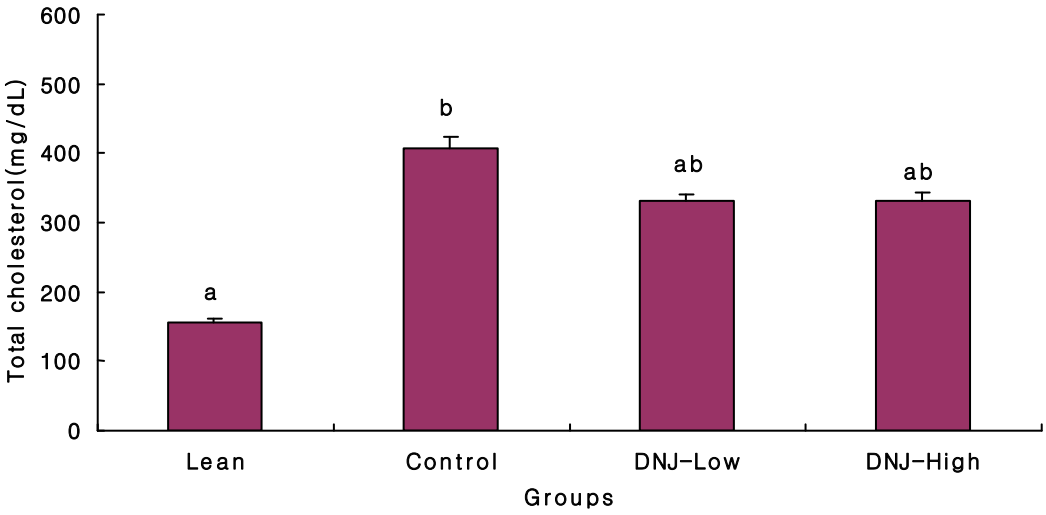


Fig. 15. Content of total cholesterol in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

9. 혈청 중 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 함량 및 HDL-콜레스테롤/총콜레스테롤 비율

실험동물의 혈청 중 HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤의 함량 및 HDL-콜레스테롤/총콜레스테롤 비율은 Fig. 16-18과 같다. 실험결과 Fig. 16에서와 같이 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 Control군이 66.52±1.95 mg/dL로 Lean군의 81.00±2.97 mg/dL에 비하여 유의적으로 저하되었다. DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군의 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 각각 77.05±2.52 mg/dL와 79.77±6.25 mg/dL로 당뇨 Control군에 비하여 유의적으로 증가되었다. 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 당뇨 Control군이 202.35±6.25 mg/dL로 Lean군의 82.20±8.41 mg/dL에 비하여 유의적으로 증가되었다. DNJ 코팅 쌀을 저농도로 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 Control군에 비하여 유의적으로 감소하는 경향을 보였다.

혈청의 HDL-콜레스테롤 함량 증가는 동맥경화의 진행을 억제하거나 경감시키는 작용이 있다고 알려져 있다. HDL-콜레스테롤은 인슐린 비의존성 당뇨환자가 인슐린이나 경구혈당강하제로 치료하지 않을 경우 감소되는 것으로 알려져 있다(81). 이것의 감소가 지속될 경우 HDL 입자 내부의 콜레스테롤이 중성지질로 대체되기 때문이며, 인슐린 부족에 의한 LPL 활성화의 손상에 의해 고지혈증이 유발될 수 있다고 조사되어 있다(82). Park 등(80)의 실험에서도 HDL-콜레스테롤은 본 연구와 마찬가지로 각 군들 간에 유의적인 차이를 보였으나 본 연구의 LDL-콜레스테롤은 농도별 급여군 간의 유의적 차이는 없어 Park 등의 연구와는 차이가 있었다. 그에 반해서 Han 등(66)의 연구에서는 HDL-콜레스테롤 LDL-콜레스테롤은 유의적 차이가 없다고 하였다.

총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율 (HDL-C/TC)은 Lean군의 0.44±0.01에 비하여 Control군은 0.20±0.03으로 유의적으로 감소하였고, DNJ 코팅 쌀을 저농도로 급여한 DNJ-Low군은 0.31±0.03으로 Control군에 비하여 약간 증가하였고, DNJ 코팅 쌀을 고농도로 급여한 DNJ-High군은

0.38±0.12로 유의하게 증가하였으며, Lean군과 비슷한 수치를 나타내었다.

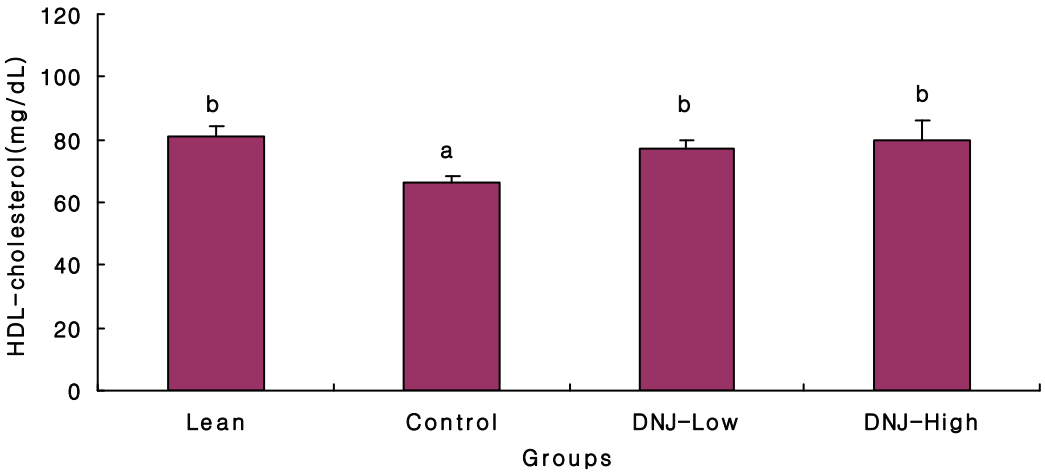


Fig. 16. Content of HDL-cholesterol in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

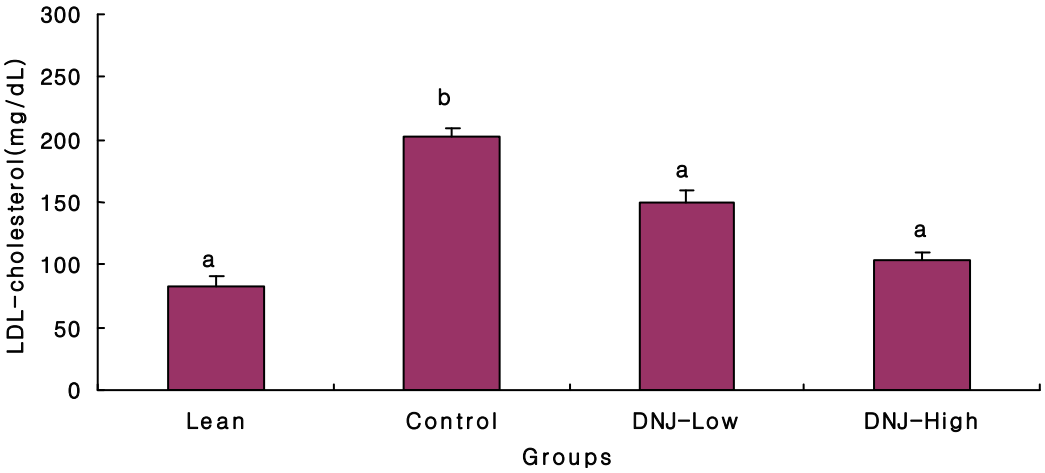


Fig. 17. Content of LDL-cholesterol in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

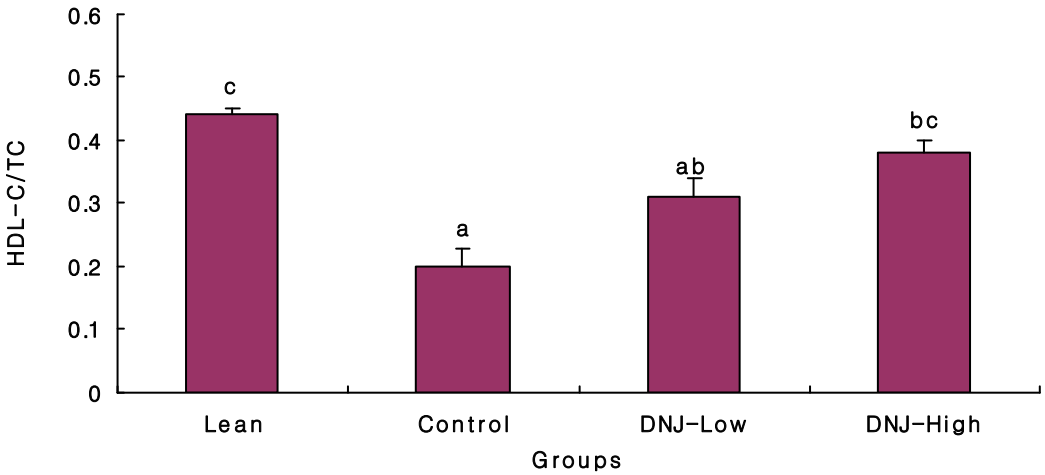


Fig. 18. HDL-C/TC in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

10. 동맥경화지수와 심혈관위험지수

실험동물의 동맥경화지수(atherogenic index, AI)와 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)의 변화는 Fig. 19,20과 같다. 동맥경화지수는 당뇨 Control군이 3.51±0.16으로 Lean군의 1.37±0.21보다 동맥경화 위험도가 유의하게 높았다. 동맥경화지수가 DNJ 코팅 쌀을 저농도로 급여한 DNJ-Low군은 2.45±0.24로 Control군에 비하여 유의적으로 감소하였지만 Lean군에 비하여 수치가 높았고, DNJ 코팅 쌀을 고농도로 급여한 DNJ-High군은 1.69±0.12로 Control군에 비하여 유의하게 감소하여 Lean군과 비슷한 수치를 나타내었다. 반면 꾸지뽕잎첨가 식이를 당뇨쥐에게 농도별로 섭취시킨 Park 등(80)의 연구에서는 농도별로 섭취시킨 군들 간에 유의차가 없다고 하였다.

동맥경화지수는 혈액 중 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방의 함량 비를 대표하는 값이다. 미국의 National Institute of Health Consensus Development Conference의 기준에 의하면 임상에서 3.0 이상 일 때 동맥경화에 대한 위험 신호로서 사용하고 있다(83).

심혈관 위험지수는 당뇨 Control군이 4.58±0.16으로 Lean군의 2.37±0.28에 비하여 높은 심혈관계 질환 위험도를 나타내었다. DNJ 코팅 쌀을 저농도로 급여한 DNJ-Low군은 3.29±0.36으로 Control군에 비하여 유의적으로 감소하였지만 Lean군의 수치보다는 높았고, DNJ 코팅 쌀을 고농도로 급여한 DNJ-High군은 2.67±0.31로 Control군에 비하여 유의하게 감소하여 Lean군과 비슷한 수치를 나타내었다.

동맥경화지수와 더불어 심혈관계 질환에 대한 위험 신호로 사용되고 있는 심혈관 위험지수는 HDL-콜레스테롤에 대한 총콜레스테롤의 함량비로 나타내며 임상에서는 7.0 이상을 나타낼 때 위험신호로 인지된다(84).

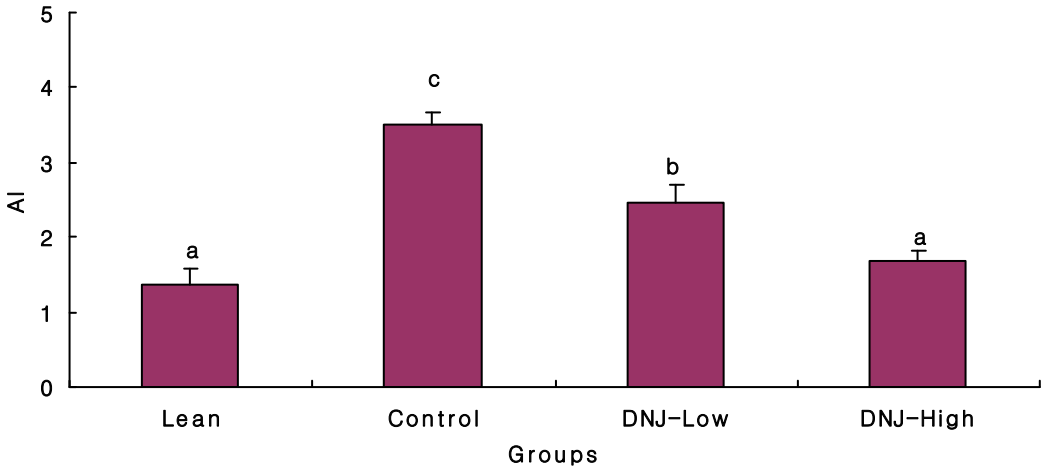


Fig. 19. Atherogenic index of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. AI(atherogenic index) = (total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

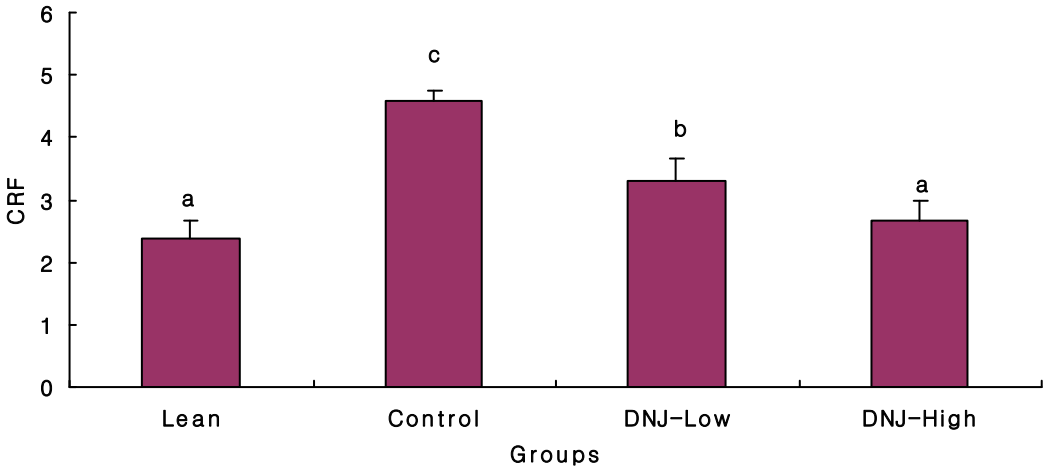


Fig. 20. Cardiac risk factor of *db/db* mice fed experimental dietcontaining DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. CRF(Cardiac risk factor) = total cholesterol/HDL-cholesterol. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

11. 혈청 중 알부민(albumin) 함량

혈청 내 알부민 함량은 Fig. 21과 같이 Control군은 3.08±0.23 g/dL로 Lean군의 2.60±0.11 g/dL에 비하여 유의적으로 증가되었다. DNJ 코팅 쌀 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군의 혈청 중 알부민 함량은 각각 3.95±0.13 g/dL과 3.58±0.19 g/dL로 당뇨 Control군과 비슷한 경향이었다.

12. 혈중 total protein(TP) 측정

DNJ 코팅 쌀을 저농도와 고농도로 수준을 달리하여 6주간 급여한 *db/db* 마우스의 혈청 내 총 단백질의 함량 변화는 Fig. 22와 같다. 혈청 내 총 단백질의 양은 Lean군, Control군, DNJ 코팅 쌀 급여군(DNJ-Low, DNJ-High) 모두에서 통계적으로 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

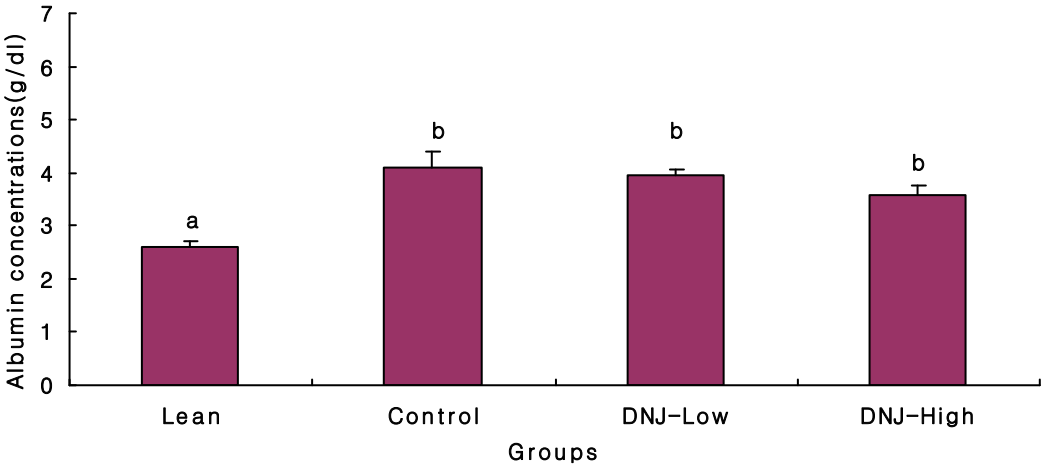


Fig. 21. Content of albumin in serum of *db/db* mice fed experimental dietcontaining DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

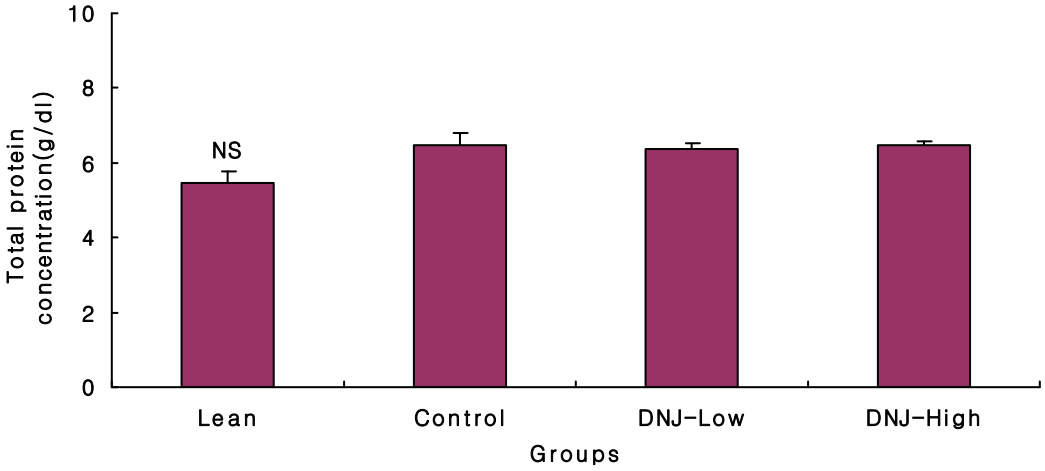


Fig. 22. Content of total protein in serum of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. NS : no significantly different among groups.

13. 소장점막의 이당류 분해효소 활성 측정

소장의 proximal 부위에 대한 maltase, sucrase 및 lactase 효소 활성은 탄수화물 섭취 시 일어날 수 있는 당 흡수 속도와 혈당 상승에 매우 중요한 요소가 되고 있다. 본 연구에서 proximal 소장 융모막의 이당류 분해효소를 측정한 결과는 Fig. 23-25과 같다. 당뇨유발 DNJ 코팅 쌀 급여 군에서는 maltase, sucrase 및 lactase 활성이 감소하는 것으로 나타났다. Maltase 활성의 경우 당뇨 Control군이 150.11±7.87 unit/g으로 비당뇨 Lean군의 90.31±2.55 unit/g에 비하여 유의적인 증가를 보였다. DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 106.43±7.41 unit/g과 96.23±4.16 unit/g으로 당뇨 Control군에 비하여 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. Sucrase 활성의 경우도 Control군이 124.21±5.33 unit/g으로 Lean군의 88.32±6.76 unit/g에 비하여 높은 수치를 나타내었다. DNJ 코팅 쌀을 저농도 급여한 DNJ-Low군은 97.76±1.09 unit/g으로 Control군에 비하여 유의적으로 감소하였고, DNJ 코팅 쌀을 고농도 급여한 DNJ-High군도 89.78±1.83 unit/g으로 Control군에 비하여 유의적으로 감소하였다. Lactase 활성의 경우는 당뇨 Control군이 24.13±1.53 unit/g으로 Lean군의 12.82±1.02 unit/g에 비하여 유의적인 증가를 보였다. DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 13.98±3.76 unit/g과 13.32±2.54 unit/g으로 Control군에 비하여 유의적으로 감소하는 경향을 보였다.

이러한 결과는 쌀에 코팅된 DNJ가 소장에서의 이당류 분해를 억제시켜 혈액으로 단당류 흡수를 방해함으로써 급격한 혈당의 상승을 완만하게 하여, 이로 인해 급격한 혈액내의 인슐린 증가를 제어하여 당뇨병으로 인한 체내 영양소대사 변화를 개선(85)시킬 수 있을 것으로 보여진다. Jang 등(86)의 연구에서도 본 연구와 마찬가지로 당뇨 상태의 쥐가 소장의 이당류 분해효소의 활성이 저해되서 급격한 혈당상승을 억제하는 효과가 있다고 하였다. 뿐만 아니라 뽕잎 50%와 누에가루 50%의 혼합 환이 높은 혈당 강하 효과를 나타낸다고 밝혔다. 이상의 결과 당뇨병 발현군(*db/db* 발현군)은 Lean군에 비하여 maltase, sucrase 및 lactase 활성이 증가하였으나, DNJ 코팅 쌀을 급여

한 시료 투여군은 당뇨병 발현군 보다 낮아 Lean군과 비슷한 수치를 나타내었다. 따라서 DNJ 코팅 쌀 급여로 소장점막의 이당류의 분해를 억제시켜 혈당을 조절하는 것으로 사료된다.

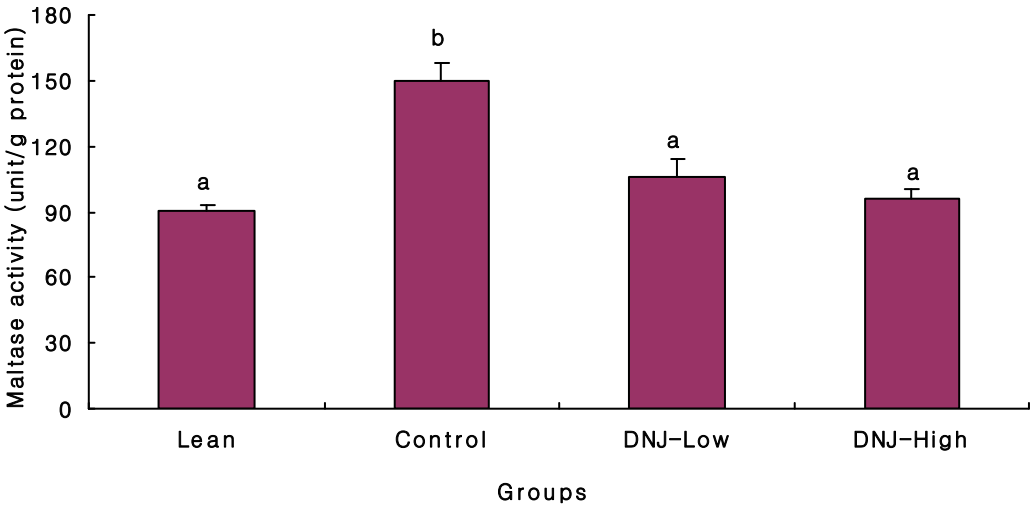


Fig. 23. Small intestinal maltase activity in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

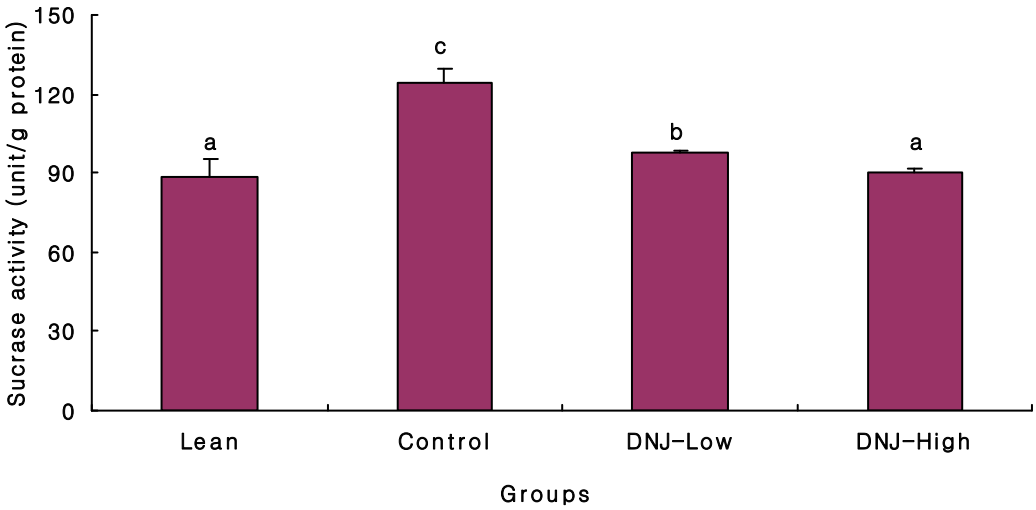


Fig. 24. Small intestinal sucrase activity in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

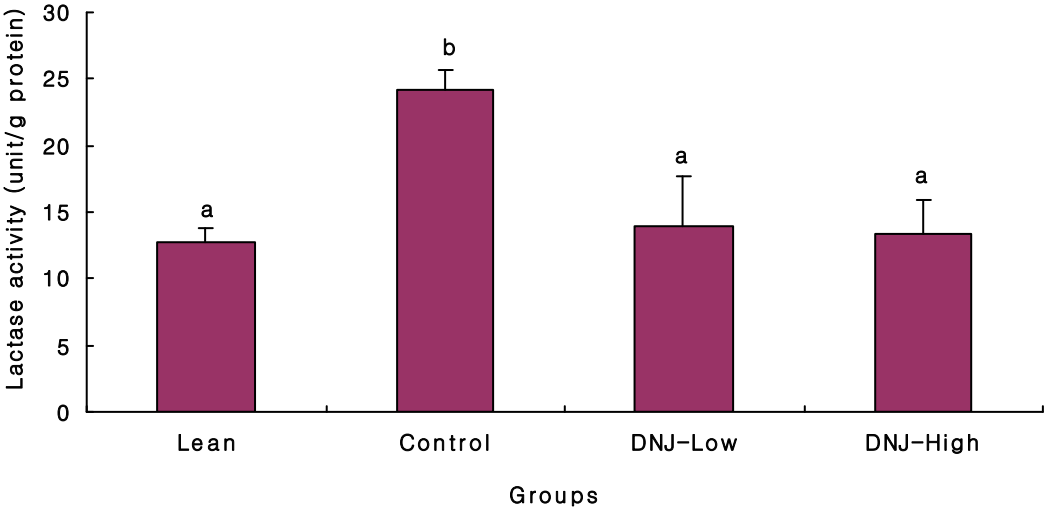


Fig. 25. Small intestinal lactase activity in *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

14. 간 조직 중 항산화계 효소활성 측정

본 실험에서는 생체 내 항산화 방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical을 환원시킴으로써 산소 독으로부터 생체를 보호하는 SOD, 대사 과정 중 발생되는 활성산소종의 유리기를 제거할 뿐만 아니라 이들 활성산소에 의해 비가역적으로 불활성화 될 수도 있으며, 지방산화에 의해 생성된 유리기도 제거하는 것으로 알려진 catalase, selenium을 함유하는 항산화 효소로써 체내에서 H_2O_2를 H_2O로 무독화시킴으로써 과산화적 손상을 방지하는 GSH-Px 활성을 각각 측정하였다.

실험동물의 간 조직 중 항산화계 효소활성 측정 결과는 Fig. 26-28과 같다. 간 조직 중의 catalase 활성은 당뇨 비발현군인 Lean군에 비해서 당뇨 Control군이 유의적으로 감소하였으나, DNJ 코팅 쌀을 급여군인 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 1.19±0.28 ㎛ol/min/mg과 1.09±0.99 ㎛ol/min/mg 으로 당뇨 Control군의 0.83±0.12 ㎛ol/min/mg에 비하여 유의하게 증가되었으나, Lean군에 비해서는 낮은 경향을 보였다. 간 조직 중 SOD 활성은 당뇨 Control군이 34.01±2.21 unit/mg으로써 Lean군의 45.45±1.37 unit/mg에 비하여 유의적으로 감소되었으며, DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군은 각각 39.78±1.41 unit/mg과 38.81±0.25 unit/mg으로 증가하는 경향을 보였다. 간 조직 중 GSH-Px 활성도 당뇨 Control군이 Lean군에 비하여 감소하였으며, DNJ 코팅 쌀을 고농도로 급여한 DNJ-High군은 당뇨 Control군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 이상의 결과 당뇨 쌀에 코팅된 DNJ가 항산화효소 활성에 변화를 주어 산화적 스트레스를 억제시킴으로써 당뇨 개선효과에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

고혈당으로 생성된 과잉의 유리기가 당뇨 합병증의 원인으로 지적되면서 산화적 스트레스(Oxidative stress)를 제거하여 당뇨병을 치료하려는 시도가 행해지고 있다. 뽕잎을 비롯한 식물성식품이나 항산화 활성을 나타내는 성분들은 대부분 플라보노이드 계통의 polyphenol 화합물로 알려져 있다(87-89). Cha 등(90)의 연구에서 보면 흰쥐에서 지질 과산화물 생성 정도가 꾸지뽕잎

추출물을 급여한 쥐들의 지질 과산화물 생성정도의 수치가 대조군에 비해 현저히 저하되는 것으로 나타났다.

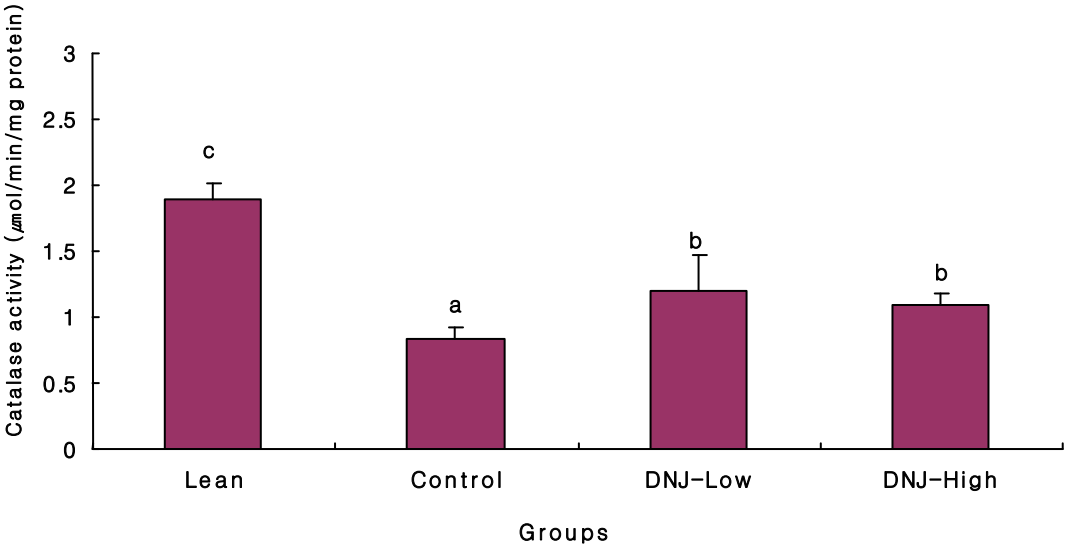


Fig. 26. Activity of catalase in liver of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

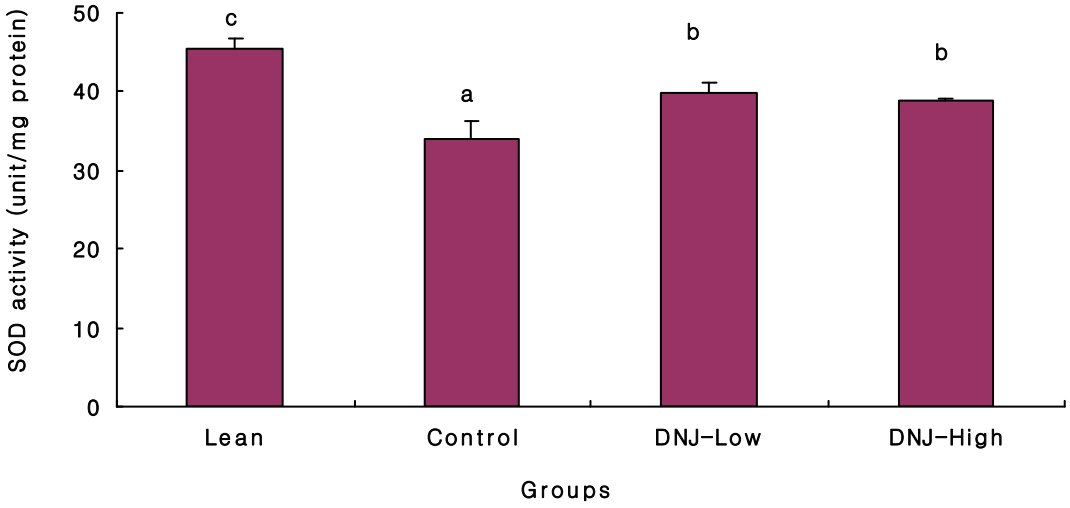


Fig. 27. Activity of SOD in liver of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

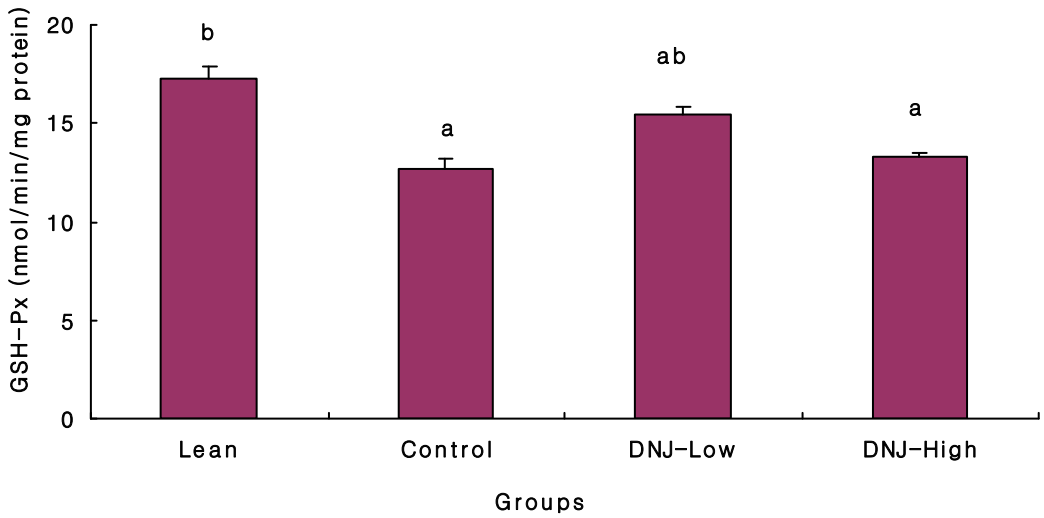


Fig. 28. Activity of GSH-Px in liver of *db/db* mice fed experimental diet containing DNJ coated rice for 6 weeks. Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test

제4장 요 약

항당뇨 효과가 우수하다고 알려진 뽕잎으로부터 추출한 DNJ를 유산균 스타터로 발효시킨 후 쌀에 특수 코팅하여 개발한 기능성 쌀을 6주령의 *db/db* 마우스에 6주간 급여하여 항당뇨 효과를 알아 보고자 실시하였다. 실험군은 정상식이를 급여한 *db/db* 비발현군(Lean군), 정상식이를 급여한 *db/db* 발현군(Control군), DNJ 코팅 쌀을 저농도로 급여한 *db/db* 발현군(DNJ-Low), DNJ 코팅 쌀을 고농도로 급여한 *db/db* 발현군(DNJ-High군)으로 4군으로 나누어 실시하였다. 체중증가량과 식이섭취량 및 수분 필요량은 *db/db* 발현군인 당뇨 Control군이 Lean군에 비하여 유의하게 증가하였다. DNJ로 코팅된 쌀의 안전성을 알아 보기 위해서 동물 희생 후 간 무게를 측정한 후 간 무게/몸무게로 환산하여 알아보았는데 Lean군과 당뇨 발현군(Control, DNJ-Low, DNJ-High) 간에 유의적인 차이를 나타내지 않은 것으로 나타나 DNJ로 코팅 쌀이 독성이 없는 것으로 관찰되었다. 6주간 실험 종료 후 부고환지방, 피하지방, 등지방, 장간막지방 조직무게를 측정하였는데 각 지방조직무게를 더한 값을 총지방조직무게로 나타내었다. Lean군이 Control군에 비해 지방조직무게가 적은 것을 볼 수 있었고 DNJ식이를 섭취시킨 쥐(DNJ-Low, DNJ-High)들이 Control에 비해서 지방조직무게가 유의적으로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 혈청 중의 ALT, AST 및 ALP 활성은 당뇨 Control군이 Lean군에 비하여 유의한 증가를 보였으나, DNJ-Low군과 DNJ-High군은 당뇨에 의하여 증가되어진 ALT, AST 및 ALP 활성이 DNJ 코팅 쌀 급여로 유의하게 저하되었다. 혈중 포도당, 중성지방, LDL-콜레스테롤 함량도 Control군이 Lean군에 비하여 유의하게 증가되었으나, DNJ 코팅 쌀 급여로 저하되었다. DNJ 코팅 쌀 급여로 항동맥경화 인자로 알려진 HDL-콜레스테롤 함량은 당뇨 Control군에 비하여 유의하게 증가하였다. 동맥경화지수와 심혈관위험지수는 당뇨 Control군이 Lean군보다 동맥경화 위험도가 유의하게 높았으나, DNJ 코팅 쌀 급여로 저하되었다. DNJ 코팅 쌀을 급여한 DNJ-Low군과 DNJ-High군의 소장 점막의 maltase, sucrase 및 lactase 활성이 당뇨 Control군에 비하여 유의하게 감소하는 것으로 나타났으며, Lean군과 비슷한

수치를 나타내었다. 간 조직 중 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성은 Lean군에 비해서 당뇨 유발군들(Control, DNJ-Low 및 DNJ-High)이 유의적으로 감소하였다으나 DNJ 코팅 쌀 급여군은 당뇨 Control군에 비해서 유의하게 증가하는 경향을 보였다. 이상의 실험결과 쌀에 코팅된 DNJ가 혈청 중 ALT, AST, ALP 활성과 포도당 함량, 중성지방, LDL-콜레스테롤 함량을 낮추고, HDL-콜레스테롤 함량을 증가시켜 혈중 지질 조성을 개선시켜 심혈관 질환의 유병률을 낮추어 줄 수 있을 것으로 생각되어지고, 이는 당뇨 개선에 효과가 있을 것으로 사료된다. 또한 쌀에 코팅된 DNJ가 혈청 중 인슐린과 포도당 함량 감소, 혈액 중 당화헤모글로빈 함량 저하, 소장에서 이당류 분해효소 활성 억제 및 간 조직에서의 항산화효소의 활성을 변화시켜 조직의 산화적 손상을 감소시킴으로써 항당뇨효과 및 당뇨합병증 유발 억제효과가 있을 것으로 여겨진다.

참 고 문 헌

1. Dennis BH, Haynes SG, Anderson J, Liu-Chi S, Hosking JD, Rifkind BM. 1985. Nutrient intakes among selected north American populations in the lipid research clinics prevalance study: Composition of energy intake. Am J Clin Nutr 41, 312-329.
2. Nam HO, Kim YH, .Lee KW, Son CH.. 2003. Effects of the administration of GnRH and HCG on the fetus in pregnant rats. J Vet Clin 20, 212-219.
3. Abate N. 2000. Obesity and cardiovascular disease. Pathogenetic role of the metabolic syndrome and therapeutic implications. J Diabetes Complications 14, 154-174.
4. Ganda OP. 1985. Pathogenesis of macrovascular disease including in the influence of lipid. in : Joslins′ Diabetes Mellituse, 12th edition, Lea&Febiger, Philadelphia, p. 217.
5. Abrams JJ, Ginsberg H, Grundy SM. 1982. Metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in nonketotic diabetes.
6. 김광원. 1981. 당뇨병의 탄수화물 대사. 당뇨병 9, 151-157.
7. Baynes JW. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes 40, 405-412.
8. West IC. 2000. Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabet Med. 17, 171-180.
9. Obrosova IG, Fathallah L, Green DA. 2000. Early changes in lipid peroxidation and antioxidative defendse in diabetic rat retina : effect of DL-alpha-lipoic acid. Eur J Phamacol 398, 139-146.
10. Jain SK, McVie R, Jaramillo JJ, Palmer M, Smith T, Meachum ZD, Little RL. 1996. The effect of modest vitamin E supplementation on lipid peroxidation products and other cadiovascular risk factors in diabetic patients. Lipids 31, 87-90.

11. Maytin, M., Leopold, J., Leopold, J., Lascalzo, J. 1999. Oxidant Stress in the Vasculature. Curr Atheroscler Rep 1, 156-164.
12. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. 1996. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. J Clin Invest 97, 2601-2610.
13. Hayden JM, Reaven PD. 2000. Cardiovascular disease in diabetes mellitus type 2: a potential role for novel cardiovascular risk factors. Curr Opin Lipidol 11, 519-528.
14. Treadway JL, Mendys P, Hoover DJ. 2001. Glycogen phosphorylase inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Expert Opin Investig Drugs 10, 439-454.
15. Lee TH. 1999. Diagnisis and classification of diabetes mellitus. Food Indus and Nutr 4, 61-65.
16. Poulter N. 1999. Coronary heart disease is a multifactorial disease. Am J Hypertens 12, S92-S95.
17. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, Pietschmann P, Prager R, Schnack C, Schernthaner G. 1995. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. Am J Med 98, 469-475.
18. Korean Statistical Association. 2006. Annual report on the cause of death statistics. Korean Statistical Association, Seoul, Korea.
19. Koh JB, Choi MA.. 1999. Effect of tea Fungus/Kombucha beverage on lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic male rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 28, 613-618.
20. Kohomoto T, Fukui F, Takaku H, Machida Y, Mitsuoka T. 1998. Effect of isomaltooligosaccharide on human fecal flora. Biofidobacteria Microflora 7, 61-67.
21. 김문협. 1970. 재상학. 향문사, 서울, P.70
22. Machii H, Koyama A, Yamanouchi H. 2000. Mulberry breeding, cultivation and utilization in Japan. FAO Electronic Conference

Mulberry for Animal Production.
23. Kim TW, Kwon YB, Lee JH, Yang IS, Youm JK, Lee HS, Moon JY. 1996. A study on the antidiabetic effect of mulberry fruits. Korean J Seri Sci 38, 100-107.
24. Kim SY, Park KJ, Lee WC. 1988. Antiinflammatory and antioxidative effects of Morus spp. fruit extract. Korean J Med Crop Sci 6, 204-209.
25. Park JC, Choi JS, Choi JW. 1995. Effects of the fractions from the leaves, fruits, stems and roots of Cudrania tricuspidata and flavonoids on lipid peroxidation. Korean J Pharmacogn 26, 377-384.
26. Kim HB, Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Moon JY. 2001. Effect of methanol extract from mulberry fruit on the lipid metabolism and liver function in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. Korean J Seri Sci 43, 104-108.
27. Onogi A, Osawa K, Yasuda H, Sakai A, Morita H, Tokawa H. 1993. Flavonol glycosides from the leaf of *Morus alba*. Shoyakugaku Zassh 47, 423-425.
28. Shin KH, Young HS, Lee TW, Choi JS. 1995. Studies on the chemical component and antioxidative effects of *Solanum lyratum*. Korean J Pharma 26, 130-138.
29. Kim MW, Ahn MS, Lim YH. 2003. The antioxidative activities of mulberry leaves extracts on edible soybean oil. Korean J Food Culture 18, 1-8.
30. Yen GC, Wu SC, Duh PD. 1996. Extraction and identification of anti-oxidant components from the leaf of mulberry (*Morus alba* L.). J Bio Chem 261, 12879-12882.
31. Sericulture and Entomology. 1999. NIAST, R.D.A : Prospect and usage of biologically active compounds of mulberry leaves.symposium, p. 3-12.
32. Hong V, Wrolstad RE. 1990. Use of HPLC separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanin. J Agric Food Chem 38, 708-715.

33. Yu SM, Choi CM. 1998. Development of processed foods using mulberry fruit. Rural Resource Development Institute, Korea.
34. Shin DH. 1998. Antioxidative substances in mulberry leaves. J Korean Oil Chemist's Soc 16, 27-31.
35. Kodama T, Ishida H, Kokubo T, Yamakawa T, Noguchi H. 1990. Glucosylation of quercetin by a cell suspension culture of vitis species. Agric Biol Chem 54, 3238-3288.
36. Shin DH. 1998. Antioxidation substances in mulberry leaf. J Korean Oil Chemists Soc 16, 27-31.
37. Chae JY, Lee JY, Hoang IS, Whangbo D, Choi PW, Lee WC, Kim JW, Kim SY, Choi SW, Rhee SJ. 2003. Analysis of functional components of leaf of different mulberry cultivars. J Korean Soc Food Sci Nutr 32, 15-21.
38. Lee JS, Lee SE. 2010. Analysis by GC of 1-Deoxynojirimycin in Leaves and Teas of Cudrania tricuspidata Bureau. J Korean Oil Chemists Soc 27, 337-343
39. Asano N, Oseki K, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. 1994. N-containing sugars from Morus alba and their glycosidase inhibitory activities. Carbohyr Res 259, 243-255.
40. Yoshikumi Y. 1994. Inhibition of intestinal α-glycosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. Agric Biol Chem 52, 121-126.
41. MacLean CW, Klein GR, Massa E, Graham GG. 1978. Protein guality of conventional and high protein rice and digestibility of glutinous and non-glutinous rice by preschool children. J Nutr 108, 1740.
42. Hopkins DT. 1981. Effects of variation in protein digestibility. In Protein quality in humans: Assessment and in vitro estimation. Bodwell CE, Adkins JS, Hopkins CE, eds. Avi Publishing Co Inc 169-193.
43. Clark HE, Howe JE, Lee CJ. 1971. Nitrogen retention of adult human subjects fed a high protein rice. Am J Clin Nutr 24, 324.

44. Ha TY, Ko SN, Lee SM, Kim HY, Jung SH, Kim SR, Kim IH. 2006. Changes in nutraceutical lipid components of rice at different degree of milling. Eur J Lipid Sci Technol 108, 175.
45. Ha TY. 2008. Health Functional Properties of Rice. Food industry Nutr 13, 22-26.
46. Shama RD, Rukmini C. 1986. Rice bran oil and hypocholesterolemia in rats. Indian J Med Res 21, 715.
47. Sharma RD, Rukmini C. 1987. Hypocholesterolemic activity of unsaponifiable matter of rice bran oil. Indian J Med Res 85, 278-281.
48. Kahlon TS, Saunders RM, Chow FI, Chiu MC, Betschart AA. 1989. Effect of rice bran and oat bran on plasma cholesterol in hamsters. Cereal Foods World 34, 768.
49. Crapo PA, Reaven G, Olefsky J. 1977. Postprandial plasma-glucose and -insulin responses to different complex carbohydrate. Diabetes 26, 1178.
50. Crapo PA, Insel J, Sperling M, Kolterman OG. 1981. Comparison of serum glucose, insulin and glucagon responses to different types of complex carbohydrate in noninsulin-dependent diabetic patients. Am J Clin Nutr 34, 184.
51. Jiaratsatit JIT, Keoplung M, Chumsilp L, Mangklabruks A. 1987. Glycemic effects of rice and glutinous rice on type II diabetic subjects. J Med Assoc Yail 70: 401.
52. Reeves PG, Nielson FH, Fahey Jr GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr 123, 1939-1951.
53. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181, 1199-1203.
54. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. Arch Pathol Lab Med 113, 1101-1110.

55. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. Arch Pathol Lab Med. 113, 1101-1110.
56. Dahlqvist A. 1974. Disaccharidase In "Method of enzymatic anlysis" 2nd ed. Academic press 2, 916.
57. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 193, 265-275.
58. Crapo JD, McCord JM, Fridovich I. 1978. Preparation and assay of superoxide dismutase. Methods enzymol. ed. Fleischer S and Packer L., Academic press, New York 53: 382-393.
59. Aebi H. 1974. Catalase, In *Methods of enzymetic analysis*, Bergmeyer HU, Bergmeyer, J and Grabi, M., eds. 3rd ed., Academic press, New York 2. p. 673-684.
60. Flohe L, Wolfgng A, Gunzler WA. 1984. Assay of glutathione peroxidase. In *Methods Enzymol* 105: 114-130.
61. Park KS, Lee DE, Sung JH, Chung SH. 2002. Comparisons of antidiabetic effect of *Panax ginseng* on MLD STZ in duced diabetic rats in terms of time of administration. J Ginseng Res 26, 191-195.
62. Park CH, Lee GD, Kim JO, Kim KS, Lee WY, Hong JH. 2008. Effect of Bulnesia sarmienti Warter Extract on Lipid Metabolism in Neonatally Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. Journal of Life Science 18, 999-1004.
63. Niall MG, Rosaleen AM, Daphne O, Patrick BC, Alan HJ, Gerald HT. 1990. Cholesterol metabolism in alloxan induced diabetic rabbits. Diabetes 39, 626-636.
64. Kim MH, Kim HY, Kim WK, Kim JY, Kim SH. 2001. Effects of soy oligosaccharides on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Nutr 34, 3-13.
65. O'Brien RM, Granner DK. 1991. Regulation of gene expression by insulin. Biochem J 278, 609-619.

66. Han CK, Kim SS, Choi SY, Park JH, Lee BH. 2009. Effects of Rice Added with Mulberry Leaves and Fruit on Blood Glucose, Body Fat and Serum Lipid Levels in Rats. J Korean soc Food Sci Nutr 38, 1336-1341.
67. Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Ku HO, Lee HS, Lee KR. 1999. Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. Korean J Pharmacogn 30, 123-129.
68. Yang JH, and Han JS. 2006. Effect of Mulberry Leaf Extract Supplement on Blood Glucose, Glycated Hemoglobin and Serum Lipids in Type 2 Diabetic Patients. J Korean Soc Food Sci Nutr 35: 549-556.
69. Janle EM, Portocarrero C, Shu Y, Shou Q. 2005. Effect of long-term oral administration of green tea extract on weight gain and glucose tolerance in Zucker diabetic (ZDF) rats. J Herb Pharmacother 5, 55-65.
70. Lawes CM, Parag V, Bennett DA, Suh I, Lam TH, Whitlock G, Barzi F, Woodward M. 2004. Blood glucose and risk of cardiovascular disease in the Asia Pacific region. Asia Pacific Cohort Studies. Diabetes Care 27, 2836-2842.
71. The diabetes control and complications trial research group . 1993. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of ling-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 329, 977-986.
72. UK Prospective diabetes study (UKPDS) Group. 1998. Intensive blood flucose control with sulphonylureas of insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. Lancet 352, 837-853.
73. Kannel WB, Wilson PWF and Zhang TJ. 1990. The ephidemiology of impired glucose tolerance and hypertension. Am Heart J 121, 1268-1273.

74. Prestom AM, Gonzlez MJ. 1986. Glycated hemoglobin in streptozot ocin-induced diabetic rats as measured by affinity chromatogrhaphy. Nutr. Res. 6, 1371-1377.
75. Defranco RA. 1981. The effect of insulin on renal sodium metabolism. Diabetologia 21, 165-171.
76. Chung SH, Yu JH, Kim EJ, Ryu KS. 1996. Blood glucose lowering effect of silkworm. Bull K H Pharma Sci 24, 95-100.
77. Park HR, Cho JS. 2007. Effects of a Natural Medicinal Multi-plant Extract on Blood Glucose, Insulin Levels, and Serum Malondialdehyde Concentrations on Streptozotocin-induced Diabetic Rats. J East Asian Soc Dietary Life 17, 205-212.
78. Allen DW, Schrodeder WA and Balog J 1958. Observation on the chromatographic heterogeneity of normal adult & fetal human hemoglobin. J Am Chem Soc 80, 1628-1634.
79. Gliedman M, Tellis VA, Soberman R. 1978. Long term effects of pancreatic transplant function on patients with advanced juvenile on set. Diabets care 1, 1-7.
80. Park BH, Shin JW, Lee SI, Kim SD. 2008. The Effects of Cudrania tricupidata Tea Leaves on the Blood Glucose and Serum Lipids Profiles of Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Rats. J East Asian Soc Dietary Life 18, 516-523.
81. Gordon T, Casfelli WP, Hjortl MC, Kennel WB, Dawher TR. 1977. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart diseases. The Feamingham study. Am J Med 62, 707-714.
82. Korea Diabetes Association. 1982. Diabetes Mellitus, Korea Medical Book.
83. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. Arch Pathol Lab Med 113:1101-1110.
84. Yun YP, Kang WS, Lee MY. 1996. The antithrombotic effects of

green tea catechins. J Food Hyg Safety 11:77-82.

85. Kennedy DL, Piper JM, Baum C. 1988. Trends in use of oral hypoglycemic agent during 1964-1986. Diabetes Care 11, 558-562.
86. Jang MJ, and Rhee SJ. 2004. Hypoglycemic Effects of Pills Made of Mulb-erry Leaves and Silkworm Powder in Streptozotocin, Induced Diabetic Rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 33, 1611-1677.
87. Y Hano, Y Matsumoto, Sun JY, and T Nomura. 1990. Structures of four new isoprenylated xanthones, cudraxanthones H, I, J, and K. Planta Med 56, 478.
88. Y Hano, Y Matsumoto, Sun JY, and T Nomura. 1991. Structures of four new isoprenylated xanthones, cudraxanthones L, M, N, and O from Cudrania tricuspidata. Planta Med 57, 172.
89. Lee IK, Kim CJ, Song KS, Kim HM, H Kusino, M Uramoto, and Yoo ID. 1996. Cytoxic benzyl dihydroflavonnols from Cudrania tricuspidata. Phytochemistry 41, 213.
90. Cha JY, Kim HJ, Cho YS. 2000. Effects of Water. Soluble Extract from Leaves of Morus alba and Cudrania tricuspidata on the Lipid Peroxidation in Tissues of Rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 29, 531-536.

감사의 글

이 논문이 나오기까지 많은 도움을 주신 분들께 감사의 마음을 전합니다.

만학의 길에 들어서고 오늘의 결실이 있기까지 어려운 고비마다 포기하지 않도록 많은 관심과 배려로 부족한 저를 끌어 주시고 독려해 주신 이명렬 지도교수님께 진심으로 감사의 마음을 전합니다. 또한, 바쁘신 일정 가운데서도 미흡한 저의 논문심사를 맡아 세심한 가르침을 주신 장해춘 교수님과 광주광역시 보건환경연구원 하동룡 식품분석과장님께도 깊이 감사드립니다.

또한 일과 학업을 병행하면서 힘들어 할 때마다 격려와 성원을 해 주신 국립목포검역소와 국립인천검역소 직원들과 논문작성을 위한 실험에 도움을 주신 이재준 연구교수님, 이환 씨에게도 고마움을 전하고 싶습니다.

처음 만학의 길로 들어서고 즐거움을 느낄 수 있도록 이끌어 주신 식품의약품안전청 식품안전국 최성락 국장님(현 보건복지부 보육정책관), 중도에 포기하지 않도록 채찍질을 해주신 생화학교실 선배이신 조배식 박사님(광주광역시 보건환경연구원 약품분석과장)도 저에겐 잊을 수 없는 분들입니다.

만학의 길을 사랑과 격려를 보내주고 결실을 맺을 수 있도록 끝까지 지켜봐 준 아내를 비롯한 가족, 친지 모든 분들에게 고마움을 표합니다.

돌이켜 보면 교수님들과 동문, 직장동료, 가족 등 모든 분들의 도움 없이나 혼자만의 힘으로는 이룰 수 없었다고 감히 말씀드리며, 다시한번 머리 숙여 감사드립니다. 감사합니다.

2011. 6.

정 한 덕

저작물 이용 허락서

학과	식품의약학과	학번	20067214	과정	석사
성명	한글: 정 한 덕 한문: **鄭 漢 德** 영문: Joung, Han Duck				
주소	인천광역시 중구 서해로 199				
연락처	E-mail : jhd55@hanmail.net				
논문제목	한글: 1-Deoxynojirimycin로 코팅된 쌀의 db/db당뇨 모델 마우스에 대한 혈당저하효과				
	영문: Hypoglycemic Effect of 1-Deoxyojirimycin Coated Rice Supplementation in db/db Mice				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

동의여부 : 동의(○) 반대( )

2011년 08월

저작자: 정 한 덕 (인)

조선대학교 총장 귀하