

석사학위논문

미역쇠(*Petalonia binghamiae*)  
추출물의 인슐린성 작용에 관한 연구



제주대학교 대학원

생명과학과

강 성 일

2008년 2월

미역쇠(*Petalonia binghamiae*)  
추출물의 인슐린성 작용에 관한 연구

지도교수 김 세 재

강 성 일

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2007년 12월

강성일의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 \_\_\_\_\_ ㉠

위 원 \_\_\_\_\_ ㉠

위 원 \_\_\_\_\_ ㉠

제주대학교 대학원

2007년 12월

Study on insulin-like activity  
of *Petalonia binghamiae* extracts

Seong-II Kang

(Supervised by professor Se-Jae Kim)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement  
for the degree of Master of Science

2007. 12.

This thesis has been examined and approved.

---

Thesis director, Sun-Ryung Lee of life science

---

---

(Name and signature)

DEPARTMENT OF LIFE SCIENCE  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

## ABSTRACT

In this study, we investigated the anti-diabetic effects of the ethanol extract of *Petalonia binghamiae*. First of all, the effects of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on the adipocyte differentiation were evaluated using 3T3-L1 preadipocytes. Treatment with PBE increased dose-dependently the accumulation of lipid droplet during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, which were induced by insulin, 3-isobutyl-1-methylxanthine and dexamethasone mixture. Furthermore, the lipid accumulation, the expressions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma, adipocyte fatty acid binding protein, insulin receptor substrate 1, and glucose transporter-4 were increased dose-dependently by PBE-treatment in the absence of insulin. Secondly, the anti-hyperglycemic effects of PBE were evaluated using streptozotocin-induced diabetic mice model. PBE (1%) administration significantly decreased blood glucose level, as well as amount of water intake compared with control diabetic mice. Also, glucose tolerance was dose-dependently improved in PBE-treated diabetic mice. PBE administration decreased the serum levels of triglyceride, glutamic pyruvic transaminase and glutamic oxaloacetic transaminase, but increased serum high density lipoprotein cholesterol level compared with control diabetic mice. Taken together, these results suggest that PBE contain phytochemicals which exert anti-hyperglycaemic and insulin-like properties.

**Key word** : *Petalonia binghamiae*, 3T3-L1 preadipocyte, insulin, PPAR $\gamma$ , aP2, GLUT4, IRS-1, streptozotocin, triglyceride, HDL, GPT, GOT

# 목 차

A B S T R A C T	-----	i
목 차	-----	ii
LIST OF TABLE	-----	v
LIST OF FIGURES	-----	vi
I. 서 론	-----	1
II. 재 료 및 방 법	-----	4
1. 시료 및 추출	-----	4
2. 3T3-L1 전구지방세포의 분화유도	-----	4
1) 세포 배양	-----	4
2) MTT 분석	-----	4
3) 분화 유도	-----	5
4) Oil Red O 염색	-----	6
5) RNA 분리 및 RT-PCR	-----	6
6) Western blot	-----	9
3. Streptozotocin에 의해 유도된 당뇨 생쥐모델에서의 항당뇨 효능 분석	-----	9

1) 실험동물 및 식이	9
2) 당뇨 유도	10
3) 음용수 섭취량 측정	10
4) 혈당 및 체중 측정	10
5) 내당능 측정	11
6) 혈액 및 조직 채취	11
7) 혈액의 생화학적 검사	11
4. 통계처리	11
<b>III. 결    과</b>	<b>12</b>
1. 미역쇠 추출물의 전구지방세포 분화유도 효과	12
1) 전구지방세포 분화유도 활성화	12
2) 지방세포 분화와 관련된 표지 유전자 발현 효과	17
2. Streptozotocin에 의해 유도된 당뇨생쥐 모델에서 미역쇠 추출물 의 항당뇨 효과	20
1) 혈당강하 효과	20
2) 음용수 섭취량 감소 효과	20
3) 내당능 개선 효과	20
4) 혈청내 중성지방 감소 및 고밀도지질단백질 증진 효과	21
5) 간의 무게 및 혈청내 GPT와 GOT 활성 감소 효과	21

IV. 고	찰	-----	29		
V. 참	고	문	헌	-----	33
VI. 요	약	-----	44		



## LIST OF TABLES

- Table 1. The primer sequences of the genes used in RT-PCR analysis and the expected size of their PCR products -- 8





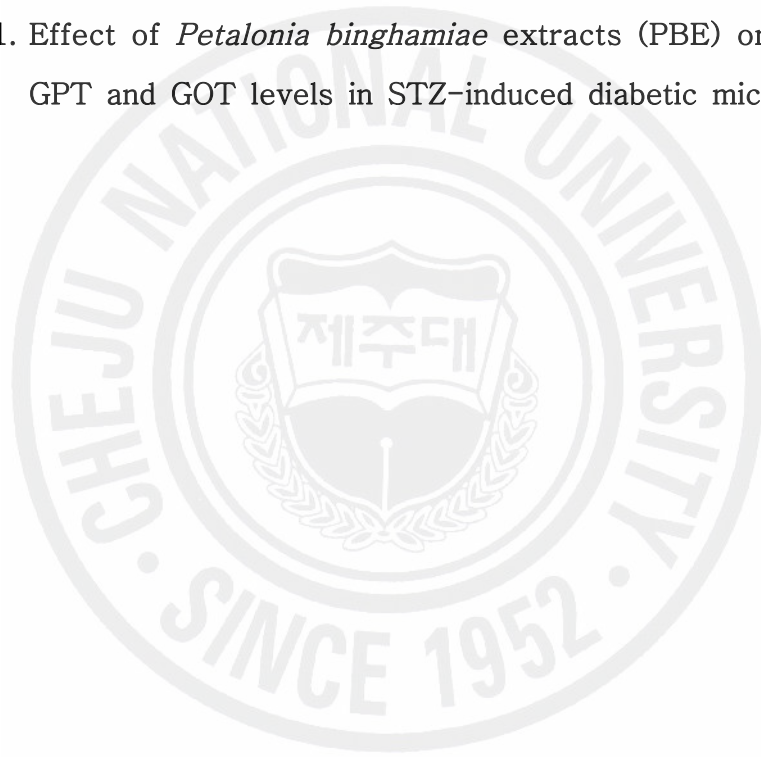
## LIST OF FIGURES

Figure 1. Effect of <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE) on the proliferation of 3T3-L1 preadipocyte	14
Figure 2. Effect of <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE) on lipid accumulation of 3T3-L1 cells during adipocyte differentiation	15
Figure 3. Insulin-like effect of <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE) on intracellular lipid accumulation of 3T3-L1 cells during adipocyte differentiation	16
Figure 4. Expression of PPAR- $\gamma$ and aP2 in 3T3-L1 cells treated with <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE)	18
Figure 5. Expression of GLUT-4 and IRS-1 in 3T3-L1 cells treated with <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE)	19
Figure 6. Effect of <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE) on fasting blood glucose level in STZ-induced diabetic mice	23
Figure 7. Effect of <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE) on water intake in STZ-induced diabetic mice	24
Figure 8. Effect of <i>Petalonia binghamiae</i> extracts (PBE) on glucose tolerance in STZ-induced diabetic mice	25

Figure 9. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on serum triglyceride and serum HDL-cholesterol level in STZ-induced diabetic mice ----- 26

Figure 10. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on liver weight in STZ-induced diabetic mice ----- 27

Figure 11. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on serum GPT and GOT levels in STZ-induced diabetic mice ---- 28



# I. 서론

당뇨병은 췌장  $\beta$ -세포의 인슐린 분비기능 이상으로 인슐린이 분비되지 않거나 인슐린의 생물학적 기능저하로 발병하는 대사성 질환이다. 당뇨병은 암 및 순환기계 질환과 더불어 3대 질병의 하나로 고혈당을 특징으로 하는 혈당 농도의 증가와 동시에 당질, 단백질, 지질 및 전해질 대사에 이상을 초래한다 (Morel and Chisom, 1989). 그리고 당뇨병이 치료가 이루어지지 않고 오래 지속되면 혈액속의 높은 당 농도가 원인이 되어서 당뇨병 망막증, 뇌졸중, 심근경색증, 만성신부전증, 말초신경증 및 고지혈증 등의 심각한 합병증을 일으킨다 (West, 2000; Tai *et al.*, 2000).

인슐린은 글루카곤과 더불어 혈액 속의 포도당의 농도를 일정하게 유지시키는 역할을 할 뿐만 아니라 지방조직에서 포도당의 산화 및 지방산으로의 전환을 돕고, 근육에서는 단백질을 합성하기 위한 아미노산의 흡수를 촉진시킨다. 인슐린의 다양한 생물학적 작용은 표적세포의 세포막에 존재하는 인슐린 수용체에 의해 매개된다. 인슐린 수용체는 당질화와 이황화 교차결합으로 연결된 동형이합체로 구성되어 있으며, 각 단량체는 세포외부로 노출된  $\alpha$ -subunit와 세포막을 관통하여 세포질쪽에 노출되어 있는  $\beta$ -subunit로 구성되어 있다 (Marino-Buslje *et al.*, 1999). 인슐린이  $\alpha$ -subunit에 결합하게 되면  $\beta$ -subunit의 protein-tyrosine kinase domain이 자가인산화 반응과 더불어 insulin receptor substrate-1 (IRS-1) 인산화 반응이 활성화 된다 (White, 1997; Kasuga *et al.*, 1982; Sun *et al.*, 1991; Wilden *et al.*, 1992). IRS-1의 활성화는 계속해서 mitogen-activated protein kinase pathway (MAPK), small GTP-binding protein TC10 및 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) 를 활성화시키는 연쇄적인 신호전달과정을 일으킨다 (Bevan, 2001; Nystrom and Quon, 1999; Antonetti *et al.*, 1996; Baumann *et al.*, 2000; Kanzaki *et al.*, 2001; Kanzaki *et al.*, 2002; White *et al.*, 1994). 인슐린의 당 흡수 작용은 포도당운반체 (Glucose transporter, GLUT)의 세포막 전이를 촉진하여

일어나게 되며 이 반응에는 PI3-kinase 및 TC10 신호전달경로가 작용한다고 알려져 있다 (Chiang *et al.*, 2001; Hara *et al.*, 1994; Kanzaki *et al.*, 2004).

한편, 3T3-L1 전구지방세포에서 인슐린은 MAPK 신호전달 경로에 의해 peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ )의 발현을 증가시킴으로써 지방세포 분화를 유도하는 물질로 작용한다 (Camp and Tafuri, 1997; Prusty *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 1988; Zhang *et al.*, 1996). PPAR $\gamma$ 는 retinoic acid-like receptor (RXR)와 이형접합체를 형성하여 작용하는 전사인자로서 phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), lipoprotein lipase (LPL), fatty acid binding protein (aP2) 및 uncoupling protein 1 (UCP1) 등의 지방대사 관련 표적 유전자 전사를 촉진시킨다 (Houseknecht *et al.*, 2002; Ross *et al.*, 1990; Sears *et al.*, 1996; Tontonoz *et al.*, 1994; Tontonoz *et al.*, 1995).

현재 다양한 기전을 가진 경구 혈당강하제들이 당뇨병 치료에 사용되고 있지만, 장기간 복용 시 여러 가지 형태의 부작용이 나타나는 것으로 알려져 있다. 최근에는 부작용이 적은 새로운 당뇨병 치료제의 선도 물질을 개발하기 위하여 천연물 유래 인슐린성 작용 및 인슐린 민감성을 증진하는 물질들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 (Gray and Flatt, 1999; Kreutter *et al.*, 1990). Takaku 등 (1997)은 마황에서 분리한 norpseudoephedrine의 인슐린성 작용을 보고하였으며, Kameda 등 (1999)도 royal jelly의 항당뇨 효능이 인슐린성 작용을 가지는 불포화지방산에 의해 기인하다고 보고하였다. 또한, Krenisky 등 (1999)은 페루의 전통약용식물 *Otholobium pubescens*에서 인슐린 민감성을 높이는 물질인 bakuchiol을 분리하여 보고한 바 있다. 그러나 이러한 연구들은 육상식물을 대상으로 수행되고 있으며 해조류 유래 인슐린성 작용 물질에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다.

제주도 조간대에 다량 서식하는 미역쇠 [*Petalonia binghamiae* (J. Agardh) vinogradova]는 한국, 일본, 중국 및 북아메리카 태평양 연안 등지에 분포하며 겨울에 조간대 (潮間帶) 바위에서 군락을 이루어 생육한다. 몸은 황갈색 또는 암갈색의 잎 모양이고, 반상근 (盤狀根)에서 1개 또는 여러 개체가 뭉쳐나고, 가지는 없고 높이 100~250 mm, 폭 15~50 mm이며 댓잎 모양을 가진 식용

해조류이다 (Segawa, 1996). Kuda 등 (2006)에 의해서 미역쇠의 항산화 활성은 보고되었지만, 미역쇠의 항당뇨 활성에 관한 연구는 보고되어있지 않은 실정 이다. 본 연구에서는 미역쇠 추출물의 항당뇨 효과를 3T3-L1 전지방세포와 streptozotocin으로 유도된 당뇨모델생쥐를 사용하여 조사하였다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 시료 및 추출

본 연구에 사용된 미역쇠는 2007년 4월 제주도 금릉 지역의 조간대에서 채취하였다. 채취한 미역쇠는 수돗물로 수세하여 염분을 제거한 후 동결건조 및 분쇄하여 시험에 사용할 때까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다. 미역쇠 추출물을 제조하기 위하여 분쇄된 미역쇠 6 kg을 80% 에탄올 40 L에 48시간 동안 상온에서 추출하여 여과하였다. 여과 잔여물은 같은 방법으로 2차 추출하여 여과한 후 1차 여과액과 함께 회전농축기로 농축하고 동결건조하여 사용하였다.

### 2. 3T3-L1 전구지방세포의 분화유도

#### 1) 세포 배양

Mouse 3T3-L1 전구지방세포주는 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구입하였다. 세포배양은 10% bovine calf serum (BCS; Gibco, USA)과 1% penicillin/streptomycin (P/S; Gibco, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; Gibco, USA) 배지를 사용하여  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  조건하에서 수행하였다. 세포는 T-75 flask 바닥에 세포가 70% 정도 찼을 때 계대 배양하여 유지하였다.

#### 2) MTT 분석

MTT 분석은 Zhang 등 (2002)의 방법을 수정하여 수행하였다. 세포독성 분석을 위해 3T3-L1 전구지방세포 ( $1.0 \times 10^4$  cells/well)를 96 well micro plate에서 24시간 배양 후 미역쇠 추출물을 농도별 (31.25, 62.5, 125 및  $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ )로 처리하였다. 세포를 72 시간 동안 배양한 후 배양액에 400



$\mu\text{g/ml}$  3-(4,5-dimethylthiazol)-2, 5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT; Amresco, USA) 용액을 첨가하여 4시간 동안 반응시키고 배지를 제거하였다. MTT의 환원에 의해 생성된 formazan 침전물을 200  $\mu\text{l}$  dimethylsulfoxide (DMSO)를 가하여 용해시킨 후 microplate reader (Bio-tek, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 증식률은 시료를 처리하지 않은 대조군의 흡광도 값과 비교하여 다음의 식으로 산출하였다.

$$\text{세포증식률 (\%)} = 100 - [(Control OD_{540} - Sample OD_{540}) / Control OD_{540} \times 100]$$

### 3) 분화 유도

3T3-L1 전구지방세포로의 분화를 유도하기 위해서 세포를 10% BCS와 1% P/S가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 6 well plate ( $2.0 \times 10^5$  cells/well)에 접종하고 48시간 동안 배양하여 confluent 상태가 되도록 하였다. Confluent 상태 (분화유도 0일째)에서 배양액을 분화유도 배지[10% fetal bovine serum (FBS; Gibco, USA), 1% P/S, 1  $\mu\text{M}$  dexamethasone (DEX; Sigma, USA), 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX; Sigma, USA) 및 1  $\mu\text{g/ml}$  인슐린 (Sigma, USA)이 함유된 DMEM 배지]로 교환하여 2일간 (분화유도 2일째) 분화 유도 시켰다 (Harmon and Harp, 2001; Prusty *et al.*, 2002). 이때 미역쇠 추출물의 지방세포 분화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 추출물 (0, 50, 100 및 200  $\mu\text{g/ml}$ )을 분화유도배지에 첨가하였다. 분화유도 2일 후에 세포 배양액을 미역쇠 추출물, 10% FBS, 1% P/S 및 1  $\mu\text{l/ml}$  인슐린이 포함된 DMEM 배지로 교환하였고, 분화유도 4일째부터는 세포 배양액을 10% FBS와 1% P/S가 포함된 DMEM 배지로 2일 마다 교환하였다. 그리고 미역쇠 추출물의 인슐린성 작용을 관찰하기 위한 전구지방세포의 분화유도는 인슐린이 제외된 분화유도 배지를 이용하여 상기한 조건과 동일하게 수행하였다.

또한, 미역쇠 추출물이 insulin receptor substrate-1 (IRS-1) 단백질 발현에 미치는 영향을 분석하기 위하여 전구지방세포의 분화유도를 다음과 같이 수행하였다. Confluent 상태 (분화유도 0일째)의 세포를 10% FBS, 1%

P/S, 1  $\mu$ M DEX, 0.5 mM IBMX 및 5  $\mu$ g/ml 인슐린이 포함된 DMEM 배지에서 2일간 분화유도 하였다. 분화유도 2일 후 배지를 10% FBS, 1% P/S 및 5  $\mu$ g/ml 인슐린이 포함된 DMEM 배지로 교환해주고, 다시 2일 후 (분화유도 4일째) 부터는 실험에 사용될 때까지 2일 마다 10% FBS와 1% P/S가 포함된 DMEM 배지로 교환하였다. 분화유도 8~10일째에 배양용기에서 배지를 제거하고 세포를 phosphate-buffered saline (PBS)로 2번 세척한 후 DMEM 배지로 교환하여 16시간 배양 (Ling *et al.*, 2005)한 후 200  $\mu$ g/ml의 미역외 추출물 또는 인슐린을 처리하였다.

#### 4) Oil Red O 염색

Oil Red O 염색 및 정량 분석은 Cho 등 (2003)의 방법으로 수행하였다. 분화유도 7~9일째 된 세포를 사용하였으며, 세포를 PBS로 2번 세척하고 10% formalin으로 1시간 동안 고정한 후, 증류수로 3번 세척하였다. 그리고 Oil Red O 염색액은 isopropanol로 희석한 0.6% Oil Red O (Sigma, USA)와 증류수를 6:4로 희석한 후 여과하여 제조하였다. 세척된 세포는 Oil Red O 염색액으로 1시간 동안 염색한 후 증류수로 3번 세척하여 현미경하에서 관찰하였다. 그리고 염색된 지방소적의 중성지방의 함량을 정량하기 위해서 4% NP-40 (Amresco, USA)이 포함된 isopropanol를 첨가하여 Oil Red O를 다시 용해시킨 후 microplate reader로 520nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 5) RNA 분리 및 RT-PCR

RT-PCR 분석을 위한 total RNA는 분화유도 6일째 된 세포를 사용하여 분리하였다. Trizol Reagent (Invitrogen, USA)를 첨가하여 세포를 균질화한 후, 여기에 chloroform을 첨가하여 원심분리 (15,000 g, 15 분)하였다. 상층액을 회수하여 동량의 isopropanol을 첨가하여 원심분리 (15,000 g, 15 분)하여 RNA를 침전시켰다. 침전된 RNA는 75% 에탄올로 세척한 후, 건조시켜 DEPC 처리된 증류수에 용해시킨 후 260 nm의 흡광도를 측정하여 정량하였다. A260 / A280 nm 의 비율이 1.6-1.9 범위 내의 값을 갖는

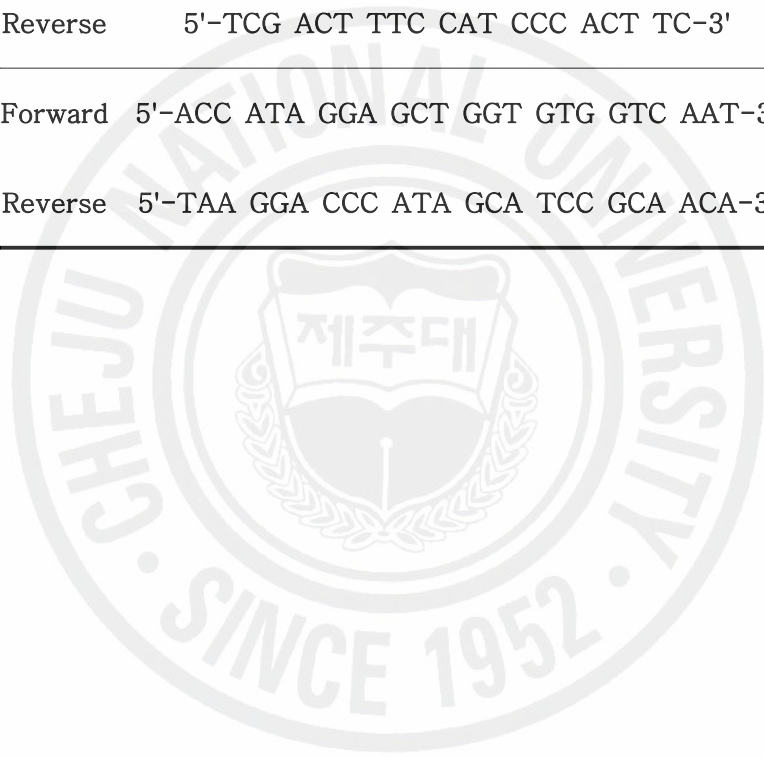


RNA 시료를 실험에 사용하였다.

cDNA는 Superscript III First-strand synthesis system kit (Invitrogen, USA)를 이용하여 1  $\mu\text{g}$  total RNA, oligo (dT) primer, dNTP (0.5  $\mu\text{M}$ ), 1 unit RNase inhibitor 및 reverse transcriptase (2 U)를 함유한 반응액에서 25°C에서 5분, 42°C에서 1시간, 70°C 에서 10분간 반응하여 합성하였다. Polymerase chain reaction (PCR)은 1  $\mu\text{l}$  cDNA, 4  $\mu\text{M}$  primer sets (Table 1), 10 $\times$ buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 0.1% Triton X-100), 250  $\mu\text{M}$  dNTP, 25 mM MgCl<sub>2</sub> 및 1 unit Ex Taq polymerase (Takara, Japan)를 혼합한 후 증류수를 가하여 반응액을 25  $\mu\text{l}$ 로 맞춘 다음 Bio-Rad PCR 기기를 이용하여 수행하였다. PCR 조건은 94°C/30초, 55~57°C/30초, 70°C/30초로하여 24~30회 증폭하였다. PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide (EtBr)로 염색하여 UV transilluminator (SLB Mylmagge<sup>TM</sup>)에서 관찰하였다. RT-PCR에서 사용된 primer의 염기서열과 예상되는 생성물의 크기는 Table 1에 나타내었다.

Table 1. The primer sequences of the genes used in RT-PCR analysis and the expected size of their PCR products

Gene	Primer sequences		Fragment size (bp)
aP2	Forward	5'-TGG AAG CTT GTC TCC AGT GA-3'	312
	Reverse	5'-TCG ACT TTC CAT CCC ACT TC-3'	
GLUT4	Forward	5'-ACC ATA GGA GCT GGT GTG GTC AAT-3'	368
	Reverse	5'-TAA GGA CCC ATA GCA TCC GCA ACA-3'	



## 6) Western blot

Western blot 분석을 위해 지방세포를 PBS로 2회 세척 후 1 mM PMSF, 1 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 1 mM NaF, 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  aprotinin, 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  pepstatin 및 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  leupeptin이 첨가된 RIPA lysis buffer (Upstate Biotechnology, USA)로 1시간 동안 lysis 시킨 후 원심분리 (20,000 g, 15 분)하고 상층액을 획득하였다. 단백질의 농도는 bovine serum albumin (BSA)을 표준으로 Bio-Rad protein assay kit를 사용하여 정량 하였다. 40  $\mu\text{g}$  단백질을 6% (IRS-1), 10% (PPAR $\gamma$ 와  $\beta$ -actin) 및 15% (A-FABP) SDS-polyacrylamide gel 전기영동으로 분리한 후 poly vinylidene difluoride (PVDF) membrane (Milipore, USA)에 전이 (200 mA, 90 분) 시켰다. 단백질이 전이된 PVDF membrane은 상온에서 1시간 동안 5% skim milk로 blocking 시킨 후, 1차 항체와 반응시켰다. 1차 항체 반응은 IRS-1 antibody (1:1,000, Santa Cruz, USA), PPAR $\gamma$  antibody (1:500, Santa Cruz, USA), A-FABP antibody (aP2; 1:5,000, Santa Crus, USA) 및  $\beta$ -actin antibody clone AC-74 (1:10,000, Sigma, USA)를 이용하여 4°C에서 하루 밤 동안 수행하였다. 1차 항체 반응이 끝난 PVDF membrane은 0.1% Tween 20이 포함된 Tris-saline (TBS-T) 용액으로 3~4회 세척한 후 peroxidase-conjugated된 2차 항체 (Jackson ImmunoResearch, USA)를 1:5,000 혹은 1:10,000으로 희석하여 1시간 동안 반응한 후 TBS-T로 3~4회 세척하였다. 단백질은 ECL detection reagent (Amersham Biosciences, Piscataway., NJ, USA)로 반응시켜 X-ray 필름으로 결과를 검출하였다.

## 3. Streptozotocin에 의해 유도된 당뇨 생쥐모델에서의 항당뇨 효능 분석

### 1) 실험동물 및 식이

생후 4주된 ICR 수컷 생쥐 (Orient Bio Inc-QC)를 고탄사료와 물을 공급하면서 3주간 적응시켰다. 정상군 (Normal)은 생쥐의 체중이 약

36.6±0.3g이 되게 무작위로 10마리를 선별하여 cage에 두 마리씩 분리·사육하였다. 그리고 실험군은 streptozotocin으로 당뇨를 유발 시킨 생쥐들 중에 혈당과 체중을 비슷하게 고려하여 무작위로 10마리씩 당뇨대조군 (Control: 정상 사료), 0.5% 실험식이군 (PBE-0.5%) 및 1% 실험식이군 (PBE-1%)으로 나누어 cage에 두 마리씩 분리·사육하였다. 실험동물은 온도 23±2℃, 습도 50±5%, 밤과 낮을 12시간 주기로 유지시킨 배양실에서 사육하였다. 실험동물의 식이는 Harlan (Harlan Teklad, USA) 사료를 사용하였으며, 미역희 추출물은 사료에 혼합하여 물과 함께 자유롭게 공급하였다.

## 2) 당뇨 유도

당뇨 생쥐를 유발하기 위하여 streptozotocin (STZ; Sigma, USA)을 신선한 0.01 M citric acid buffer (pH 4.5)에 용해시킨 뒤 10분 이내에 1일 1회씩 5일간 40 mg/kg씩 복강 투여하였다 (Takamura *et al.*, 1999). 정상군의 생쥐는 STZ 대신 동량의 citrate buffer를 투여하였다. Streptozotocin 복강 투여가 끝난 생쥐는 5일 후 4시간 절식시킨 후 꼬리 정맥혈에서 혈액을 채취하여 글루코닥터 strip (Allmedicus, Korea)으로 혈당을 측정하여 당뇨병 유발 여부를 확인하였다. 혈당이 150 mg/dl 이상인 것을 당뇨쥐로 판정하였다.

## 3) 음용수 섭취량 측정

실험기간 동안 음용수 섭취량은 실험 개시 일을 시작으로 충분한 양의 물을 급여하면서 일주일 간격으로 측정하였다. 음용수 섭취량은 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였고, 8주간 섭취한 총량을 측정하였다.

## 4) 혈당 및 체중 측정

실험동물의 혈당은 매주 같은 시간대에 4시간 절식시킨 후 꼬리 정맥혈에서 혈액을 채취하여 글루코닥터 strip (Allmedicus, Korea)으로 측정하였다. 체중은 혈당측정 직전에 동물용 체중계를 이용하여 측정하였다.

#### 5) 내당능 측정

실험이 끝난 실험동물을 4시간 절식 시킨 후, 포도당 (2 g/kg)을 복강으로 주사하였다. 복강주사 후 0, 30, 60, 120, 180 및 240분 간격으로 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈당을 측정하였다 (Xie *et al.*, 2003).

#### 6) 혈액 및 조직 채취

실험동물을 에테르로 마취시킨 후 심장으로부터 혈액을 채취한 후, Yue 등 (2006)의 방법을 수정하여 혈청을 분리하였다. 혈액을 실온에서 30분간 방치하여 혈액을 응고시킨 다음 4℃에서 300 g로 15분간 원심분리 후 혈청을 분리하여 실험에 사용될 때까지 -70℃에서 보관 하였다. 이어서 간을 적출하여 냉장 식염수로 여러 번 세척 후 물기를 제거하고, 체중대비 간의 무게를 측정하였다.

$$\text{체중대비 간의 무게 (\%)} = \text{Liver weight} / \text{Body weight} \times 100$$

#### 7) 혈액의 생화학적 검사

혈청 내 triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-CHO), glutamic oxaloacetic transamiase (GOT) 및 glutamic pyruvic transamiase (GPT)의 함량 및 활성은 분석키트 (아산제약주식회사)를 사용하여 자동혈액화학분석기 (Kuadro Automatic Analyzer; BPC Biosed, Korea)로 측정하였다.

### 4. 통계처리

*in vitro* 실험결과는 평균±표준편차로 나타냈으며 student's t-test로 유의성을 검정하였다. 그리고 *in vivo* 실험결과는 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 평균±표준오차로 나타내었으며 one-way ANOVA test로 Duncan's multiple range test를 수행하여  $P < 0.05$  수준에서 실험군 간의 유의적 차이를 검정하였다.

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 미역쇠 추출물의 전구지방세포 분화유도 효과

##### 1) 전구지방세포 분화유도 활성화

미역쇠 에탄올 추출물의 적정 처리농도를 결정하기 위하여 전구지방세포의 증식에 미치는 추출물의 영향을 MTT 방법으로 분석하였다. 3T3-L1 전구지방세포에 미역쇠 에탄올 추출물을 농도별 (0, 31.25, 62.5, 125 및 250  $\mu\text{g/ml}$ )로 처리한 결과 각각  $100.0 \pm 2.6$ ,  $99.0 \pm 3.9$ ,  $99.2 \pm 0.8$ ,  $97.9 \pm 2.1$  및  $102.4 \pm 1.1\%$ 의 증식률을 보였다 (Figure 1). 처리한 모든 농도에서 증식률에 대한 유의성이 나타나지 않아 세포독성은 없는 것으로 확인되었다. 그러므로 이후 진행된 분화유도 실험은 200  $\mu\text{g/ml}$ 를 최고 농도로 처리하여 진행하였다.

우선, 3T3-L1 전구지방세포의 분화에 미치는 미역쇠 에탄올 추출물의 영향을 알아보기 위하여 분화유도 물질과 미역쇠 추출물을 동시 처리하여 분화의 척도가 되는 지방소적을 Oil Red O 염색법으로 관찰하였다. Figure 2A에서 보여주는 바와 같이 미역쇠 에탄올 추출물은 양성대조군으로 사용한 Rosiglitazone과 유사하게 지방소적의 형성을 농도 의존적으로 증가시켰다. 지방소적의 염색 강도를 정량화한 결과, 미역쇠 추출물을 처리하지 않은 음성대조군 (100%)에 비해 미역쇠 추출물을 50, 100 및 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 군에서는 각각  $157.0 \pm 0.9$ ,  $226.8 \pm 11.4$  및  $262.4 \pm 2.0\%$ 의 값을 나타내어 유의적인 지방소적의 증가를 확인할 수 있었다 (Figure 2B). 특히, 고농도 미역쇠 추출물 (200  $\mu\text{g/ml}$ )을 처리한 경우는 양성대조군인 Rosiglitazone 처리군 ( $272.5 \pm 2.8\%$ )과 유사한 정도로 지방소적의 형성을 촉진하였다.

다음은 미역쇠 추출물의 인슐린성 작용이 있는지를 확인하기 위하여 인슐린이 제외된 분화유도배지와 미역쇠 추출물을 동시 처리하여 3T3-L1



전구지방세포의 분화정도를 Oil Red O 염색법으로 관찰하였다. Figure 3A에서 보여주는 바와 같이 인슐린을 처리하지 않은 조건에서도 미역쇠 추출물은 전구지방세포의 분화를 농도 의존적으로 촉진시킴을 확인할 수 있었다. 형성된 지방소적의 염색 강도를 정량화 하여, 미역쇠 추출물을 처리하지 않은 대조군 (100%)과 비교하였다. 미역쇠 추출물을 50, 100 및 200  $\mu\text{g/ml}$  농도로 처리한 실험군에서는 각각  $178.5\pm 17.9$ ,  $353.7\pm 2.7$  및  $729.0\pm 3.7\%$ 의 값으로 유의적인 분화 촉진 효과를 나타내었다 (Figure 3B).



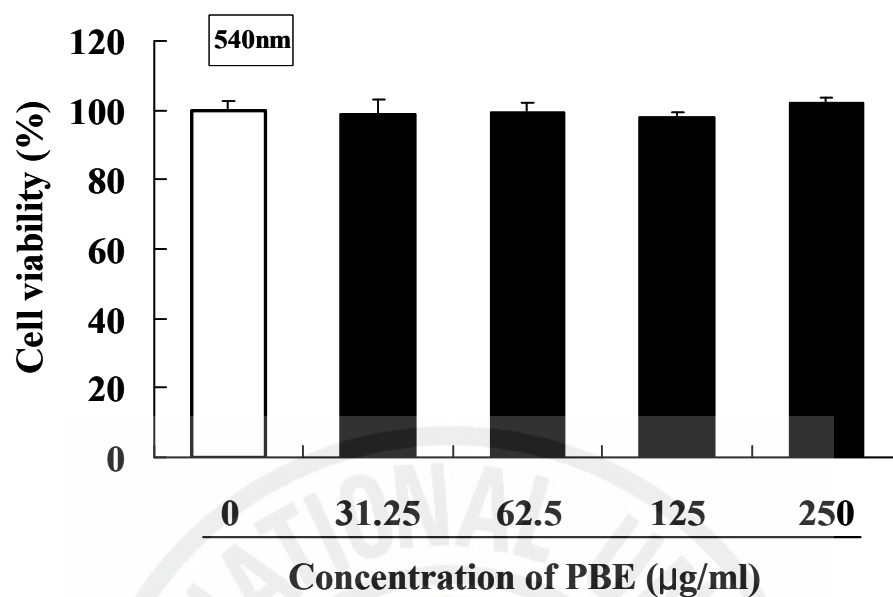
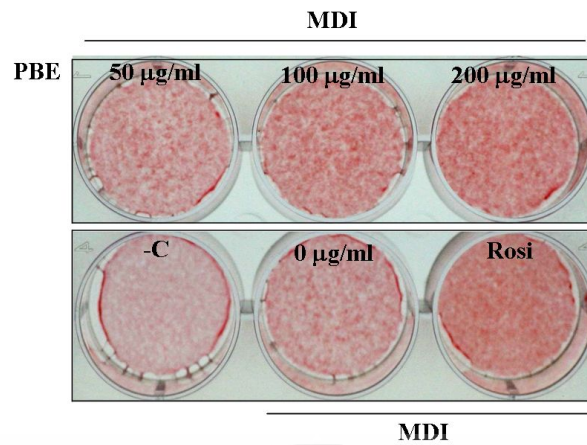


Figure 1. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on the proliferation of 3T3-L1 preadipocyte. Preconfluent preadipocytes were treated with various concentrations of PBE (0, 31.25, 62.5, 125 and 250 µg/ml) for 72 hours. Cytotoxicity was determined by MTT assay. 0 µg/ml, positive control (vehicle).



A



B

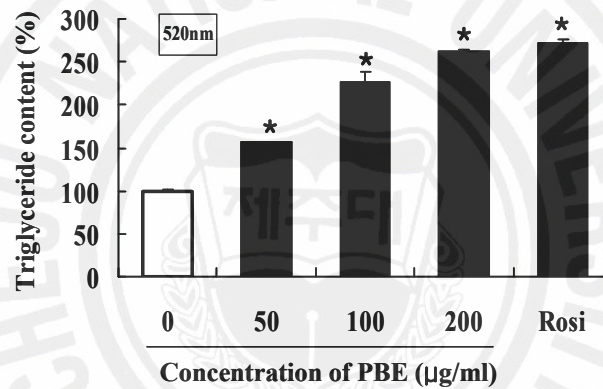
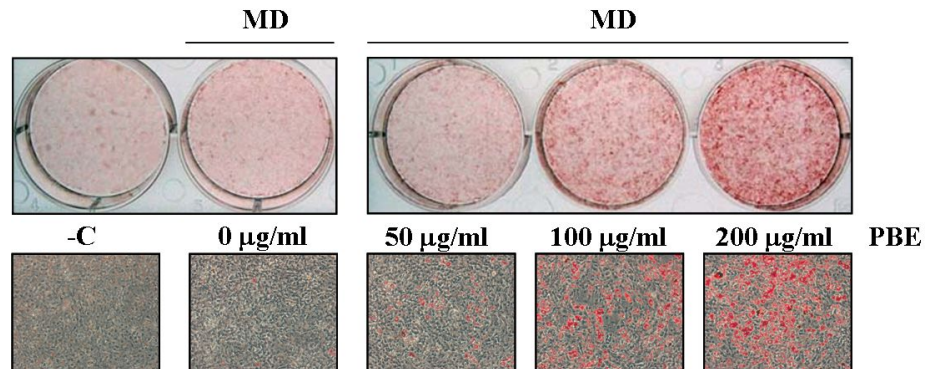


Figure 2. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on lipid accumulation of 3T3-L1 cells during adipocyte differentiation. 3T3-L1 cells were differentiated in the presence of PBE and MDI differentiation medium for 8 days. Differentiated adipocytes were stained with Oil Red O at day 8. (A) Macroscopic pictures of stained cells. (B) Triglyceride contents. Lipid accumulation was assessed by the quantification of OD<sub>520</sub> as described in Materials and Method. Rosi, 5 µM rosiglitazone; 0 µg/ml, positive control (vehicle); -C, negative control; MDI, 0.5 mM IBMX, 1 µM DEX and 1 µg/ml Insulin. (\* $P < 0.05$  compared to positive control)

A



B

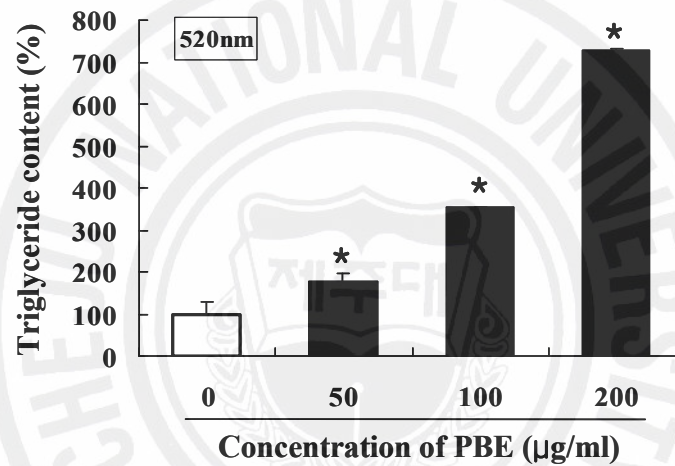


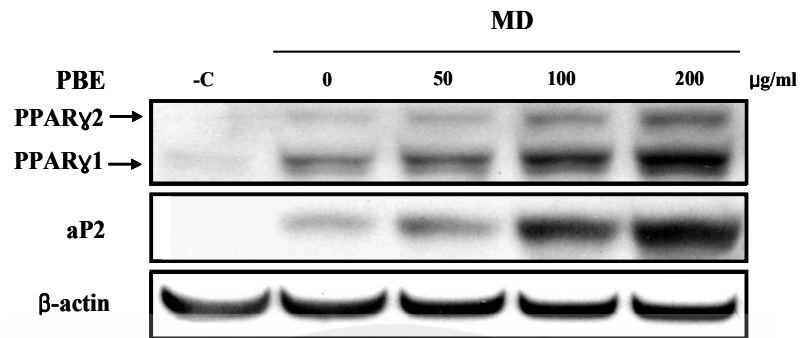
Figure 3. Insulin-like effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on intracellular lipid accumulation of 3T3-L1 cells during adipocyte differentiation. 3T3-L1 cells were differentiated in the presence of PBE and MD differentiation medium (excluding insulin) for 8 days. Differentiated adipocytes were stained with Oil Red O at day 8. (A) Macroscopic and microscopic (magnitude 200 $\times$ ) pictures of stained cells. (B) Triglyceride contents. Lipid accumulation was assessed by the quantification of OD<sub>520</sub> as described in Materials and Method. -C, negative control; 0  $\mu\text{g/ml}$ , positive control; MD, 0.5 mM IBMX and 1  $\mu\text{M}$  DEX. (\* $P < 0.05$  compared to positive control)

## 2) 지방세포 분화와 관련된 표지 유전자 발현 효과

미역쇠 추출물의 인슐린성 작용을 분자수준에서 확인하기 위하여 미역쇠 추출물이 분화 표지 유전자인 proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ )와 fatty acid binding protein (aP2)의 발현에 미치는 영향을 Western blot과 RT-PCR 방법으로 확인하였다. 인슐린이 없는 분화조건에서 미역쇠 추출물은 PPAR $\gamma$ 와 aP2 단백질 발현을 농도 의존적으로 증가시켰다 (Figure 4A). 미역쇠 추출물은 aP2 mRNA 발현을 농도 의존적으로 증가시킴으로써 aP2 유전자 발현을 전사수준에서 촉진시킴을 확인할 수 있었다 (Figure 4B).

또한, 지방세포에서 인슐린의 신호전달에 관여하는 유전자 발현에 미치는 미역쇠 추출물의 영향을 분석하였다. 지방세포에서 인슐린의 신호전달에 의한 포도당의 흡수는 세포막에 위치한 glucose transporter 4 (GLUT4)에 의해 이루어진다. 미역쇠 추출물은 GLUT4 mRNA 발현을 농도 의존적으로 증가시켰다 (Figure 5A). 그리고 미역쇠 추출물은 insulin receptor substrate-1 (IRS-1) 단백질의 발현을 증가시켰다. Figure 5B에서 보는 바와 같이 미역쇠 추출물을 처리하여 시간별 (0분, 5분, 15분 및 30분)로 IRS-1 발현을 분석했을 때 인슐린을 처리한 군에서와 유사한 IRS-1 단백질 발현 양상을 확인 할 수 있었다.

A



B

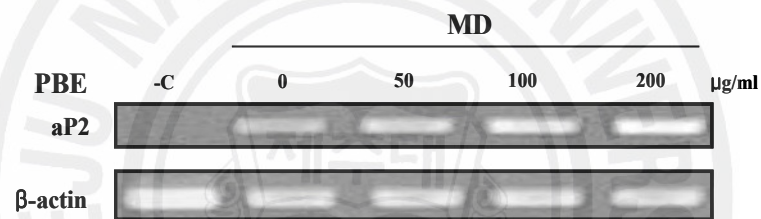
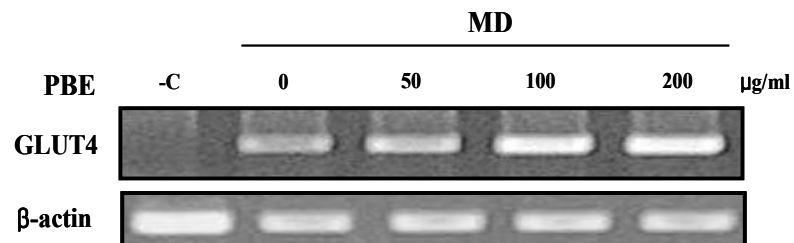


Figure 4. Expression of PPAR- $\gamma$  and aP2 in 3T3-L1 cells treated with *Petalonia binghamiae* extracts (PBE). 3T3-L1 cells were differentiated for 6 days in the presence of PBE and MD differentiation medium (excluding insulin). (A) Western blot of PPAR- $\gamma$  and aP2. (B) RT-PCR analysis of aP2. -C, negative control; MD, 0.5 mM IBMX and 1  $\mu$ M DEX.

A



B

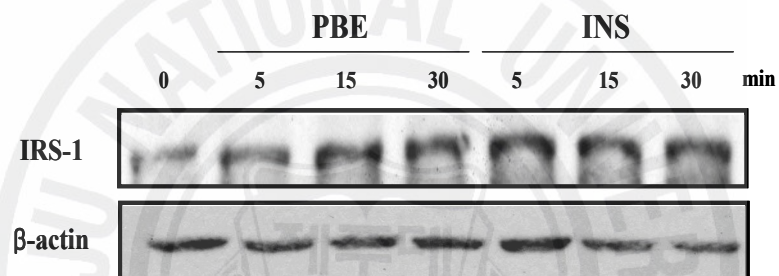


Figure 5. Expression of GLUT-4 and IRS-1 in 3T3-L1 cells treated with *Petalonia binghamiae* extracts (PBE). 3T3-L1 cells were differentiated for 6 days in the presence of PBE and MD differentiation medium (excluding insulin). (A) RT-PCR analyse of GLUT-4. -C, negative control; MD, 0.5 mM IBMX and 1 μM DEX. (B) Western blot of IRS-1. Differentiated 3T3-L1 adipocytes were treated with PBE (200 μg/ml) or Insulin (500 nM) for the indicated time periods. INS, insulin.

## 2. Streptozotocin에 의해 유도된 당뇨 생쥐모델에서 미역쇠 추출물의 항당뇨 효과

### 1) 혈당강하 효과

Streptozotocin으로 유도된 당뇨 생쥐에서 미역쇠 추출물의 항당뇨 효과를 분석하기 위하여 미역쇠 추출물을 총 8주 동안 식이하며 1주일 마다 혈당을 측정하였다 (Figure 6). 당뇨 유발군들의 혈당은 정상군에 비해 실험기간 내내 높게 유지되었다. 하지만 당뇨대조군과 1% 실험식이군의 혈당을 비교하였을 때, 0주차에는 두 그룹의 혈당은 비슷하였지만 (218.0±30.6와 216.0±23.1 mg/dl) 8주가 지난 후의 혈당은 각각 548.8±19.8과 250.7±67.7 mg/dl으로 1% 실험식이군은 당뇨대조군의 혈당보다 2.1배 감소 효과를 나타내었다.

### 2) 음용수 섭취량 감소 효과

미역쇠 추출물이 당뇨증세 개선에 기여하는지를 확인하기 위하여 당뇨병 증세중 하나인 음용수 섭취량을 측정하였다 (Figure 7). 정상군, 당뇨대조군, 0.5% 실험식이군 및 1% 실험식이군에서 측정한 8주간 평균 음용수 섭취량은 각각 1118.3±77.6, 6653.3±192.9, 5573.3±153.9 및 3706.7±340.3 ml이었다. 당뇨 유발군 모두에서 음용수 섭취량은 정상군에 비해 높았다. 그러나 미역쇠 추출물을 급여한 실험군의 음용수 섭취량은 당뇨대조군에 비해 농도 의존적이고 유의적으로 낮게 나타났다.

### 3) 내당능 개선 효과

실험이 완료된 8주 후 정상군, 당뇨대조군, 0.5% 실험식이군 및 1% 실험식이군에서 당뇨병 개선 여부를 확인하기 위하여 내당능 검사 (glucose tolerance test)를 수행하였다 (Figure 8). 정상군의 공복시 혈당은 125.8 mg/dl인데 비해 당뇨유발 실험군들은 공복시 혈당 수치가 548.8~250.7 mg/dl에 이르는 고혈당을 나타내었다. 내당능 검사를 위해 포도당을 주사한 후 240분까지 매 30분 혹은 60분경과 시 마다 혈당을 측정하였다. Figure



8에서 보여주는 바와 같이 0.5% 실험식이군에서는 당뇨 대조군과 유사하게 포도당 주사 후 60분까지도 혈당이 조절되지 않는 양상을 나타내어 내당능 개선 효과를 관찰할 수 없었다. 그러나 1% 실험식이군에서는 정상군과 유사하게 포도당 주사 후 30분에 혈당이 최고수치에 달했다가 그 이후부터는 혈당이 감소하는 현상을 볼 수 있었다. 이는 미역외 추출물이 내당능 개선 효과를 가지고 있음을 확인해 주는 결과라 할 수 있다.

#### 4) 혈청내 중성지방 감소 및 고밀도지질단백질 증진 효과

실험이 완료된 8주 후 정상군, 당뇨대조군 및 실험식이군에서 혈청 중성지방과 HDL-콜레스테롤 함량을 측정하였다 (Figure 9). 중성지방 함량은 정상군, 당뇨대조군, 0.5% 실험식이군 및 1% 실험식이군이 각각  $63.2 \pm 4.9$ ,  $73.7 \pm 17.7$ ,  $48.3 \pm 13.5$  및  $51.2 \pm 9.5$  mg/dl로 측정되었고 유의적이지는 않지만 중성지방 함량이 개선된 것을 관찰할 수 있었다. 또한 HDL-콜레스테롤 함량은 각각  $55.2 \pm 2.9$ ,  $33.5 \pm 2.9$ ,  $41.2 \pm 3.4$  및  $44.2 \pm 3.8$  mg/dl로 측정되어 유의적인 HDL-콜레스테롤 함량 개선효과를 관찰할 수 있었다.

#### 5) 간의 무게와 혈청내 GPT와 GOT 활성 감소 효과

Figure 10은 8주간의 실험이 완료된 후 각 실험군의 체중 대비 간의 무게를 측정한 결과이다. 체중 대비 간의 무게는 정상군, 당뇨대조군, 0.5% 실험식이군 및 1% 실험식이군에서 각각  $4.3 \pm 0.1$ ,  $5.7 \pm 0.3$ ,  $5.2 \pm 0.2$  및  $5.1 \pm 0.2\%$ 이었다. 체중대비 간 무게는 당뇨대조군에 비해서 실험식이군에서 감소되었지만 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다.

당뇨가 유발됨에 따라 발생하는 간조직의 손상정도를 확인하기 위하여 혈청내 GPT와 GOT의 활성을 측정하였다 (Figure 11). 혈청내 GPT 활성은 정상군에서  $39.5 \pm 4.0$  IU/l, 당뇨대조군에서  $128.0 \pm 30.8$  IU/l, 0.5% 실험식이군에서  $104.7 \pm 21.5$  IU/l, 그리고 1% 실험식이군에서  $55.5 \pm 7.6$  IU/l으로 측정되었다. 당뇨대조군에 비해 미역외 추출물 식이군에서 유의적인 혈청내 GPT 활성을 감소 현상을 관찰할 수 있었다. 정상군, 당뇨대조군,

0.5% 실험식이군 및 1% 실험식이군에서 혈청내 GOT 활성은 각각  $124.2 \pm 12.1$ ,  $230.0 \pm 61.8$ ,  $224.7 \pm 49.4$  및  $115.8 \pm 23.7$  IU/ $\ell$ 로 측정되어 미역쇠 추출물 식이군에서 혈청내 GOT 활성이 감소되었음을 확인할 수 있었다. 이는 미역쇠 추출물이 간 기능 개선에 기여하고 있음을 제시한다.





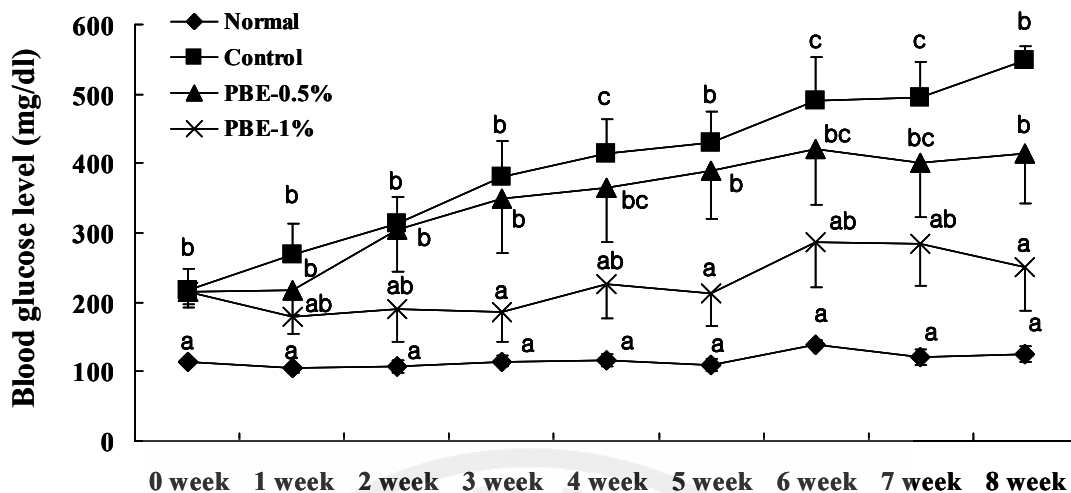


Figure 6. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on fasting blood glucose level in STZ-induced diabetic mice. The STZ-induced diabetic mice groups were fed the diets with PBE (0.5% or 1% ) or without PBE for 8 weeks. The values were expressed as mean  $\pm$  SE (n=10). Mean separation was performed by Duncan's multiple range test. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

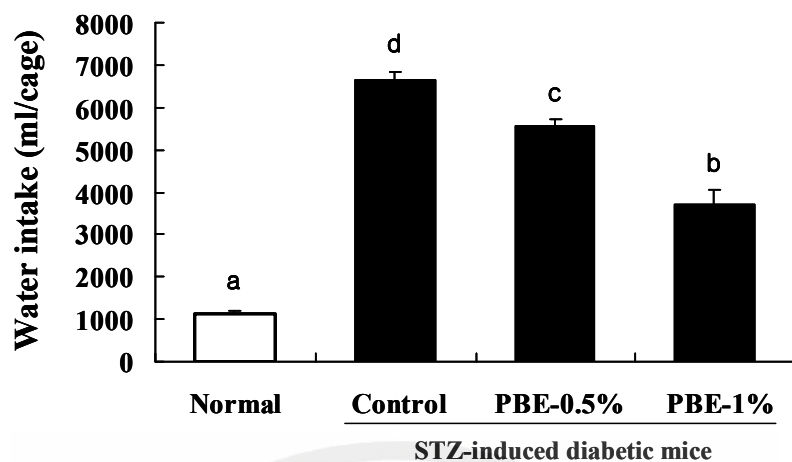


Figure 7. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on water intake in STZ-induced diabetic mice. The amount of total water intake was measured during the experimental period. The values were expressed as mean  $\pm$  SE (n=10). Mean separation was performed by Duncan's multiple range test. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

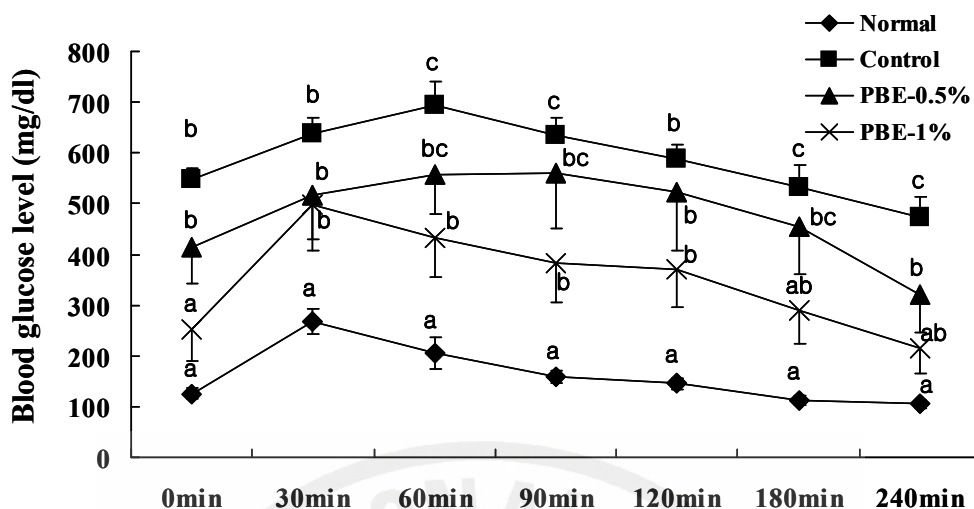
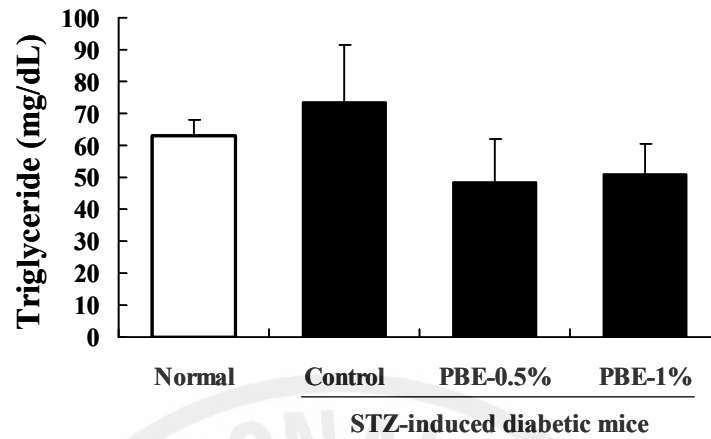


Figure 8. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on glucose tolerance in STZ-induced diabetic mice. The STZ-induced diabetic mice groups were fed the diets with PBE (0.5% or 1%) or without PBE for 8 weeks. After a 4 h fast, a concentration of 2 g/kg of glucose was injected intraperitoneally and blood glucose levels were measured at the indicated times. The values were expressed as mean  $\pm$  SE (n=10). Mean separation was performed by Duncan's multiple range test. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

A



B

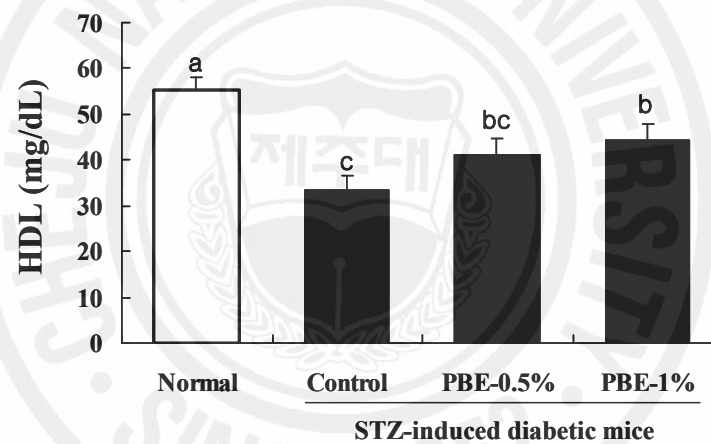


Figure 9. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on serum triglyceride and serum HDL-cholesterol levels in STZ-induced diabetic mice. (A) Triglyceride content. (B) HDL-cholesterol content. The values were expressed as mean  $\pm$  SE (n=10). Mean separation was performed by Duncan's multiple range test. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

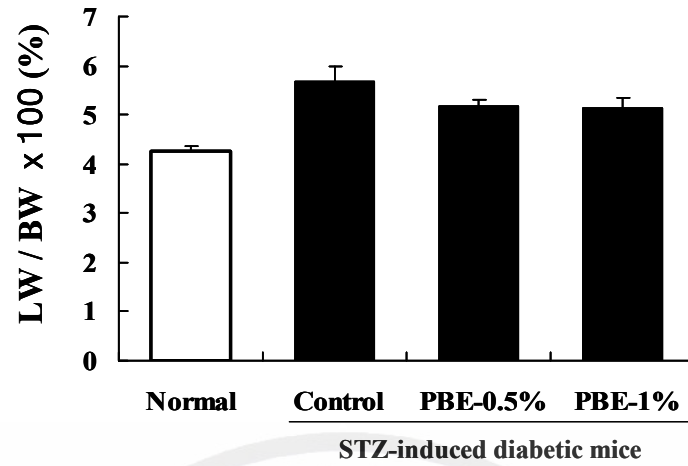
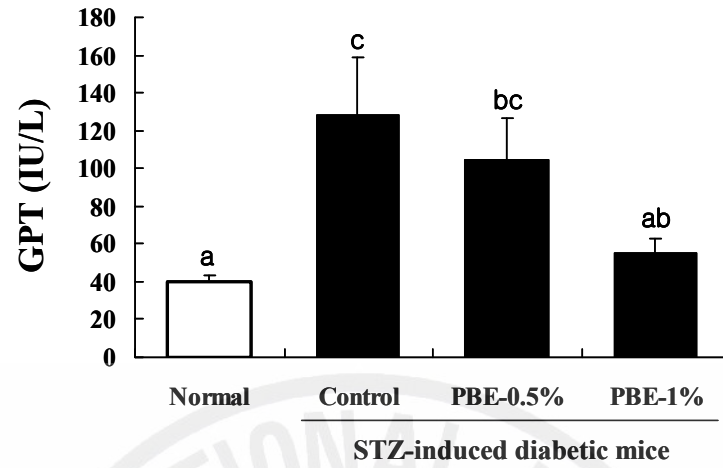


Figure 10. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on liver weight in STZ-induced diabetic mice. The values were expressed as mean  $\pm$  SE (n=10). Mean separation was performed by Duncan's multiple range test. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

A



B

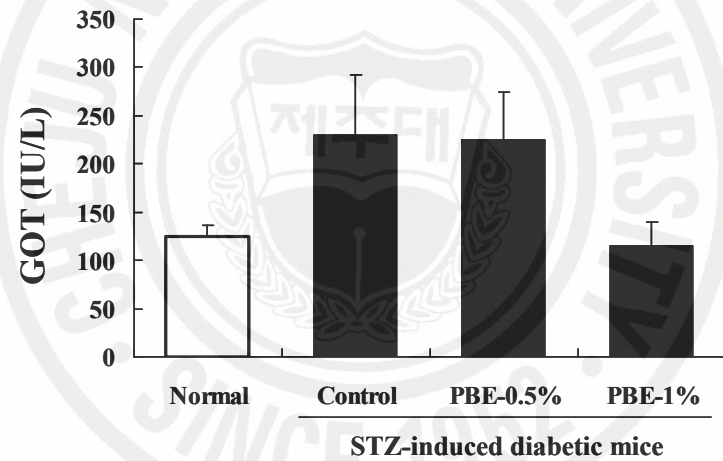


Figure 11. Effect of *Petalonia binghamiae* extracts (PBE) on serum GPT and GOT levels in STZ-induced diabetic mice. (A) serum GPT level. (B) GOT level. The values were expressed as mean  $\pm$  SE (n=10). Mean separation was performed by Duncan's multiple range test. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

## IV. 고찰

본 연구는 제주도 해안에 자생하는 해조류에서 3T3-L1 세포의 분화 유도능을 탐색하여 항당뇨 소재로 활용 가능한 해조류를 발굴하기 위한 기초연구로 수행되었다. 다양한 해조류 추출물을 이용하여 3T3-L1 세포의 분화 유도능을 탐색하여 지방세포로의 분화 촉진 효과를 가진 미역쇠를 연구대상으로 선별하였다. *In vitro*에서 미역쇠 추출물의 인슐린성 작용은 3T3-L1 세포를 이용하여 분석하였으며, 미역쇠 추출물의 항당뇨 효능을 평가하기 위한 *in vivo* 실험은 streptozotocin (STZ)으로 유도한 제 1형 당뇨병 모델 생쥐 (Kannan *et al.*, 2004)를 이용하였다.

3T3-L1 전구지방세포는 분화유도물질인 DEX, IBMX, 그리고 인슐린을 함께 처리하면 지방세포로 분화된다고 알려져 있다 (Gregoire *et al.*, 1998). 3T3-L1 세포에 미역쇠 추출물과 분화유도물질을 동시에 처리하여 분화시킨 결과, 미역쇠 추출물이 지방세포로의 분화를 촉진하는 활성이 있음을 관찰할 수 있었다 (Figure 2). 다음은 인슐린을 제외한 분화유도물질과 미역쇠 추출물을 동시에 처리하여 미역쇠 추출물이 지방세포로의 분화에서 인슐린을 대신할 수 있는지를 확인하였다. Figure 3에서 보여준 바와 같이 미역쇠 추출물은 인슐린을 대신하여 농도 의존적으로 지방소적의 형성을 증가시켰다. 이 결과로 미루어 볼 때 미역쇠 추출물은 인슐린성 작용을 하는 물질을 함유하고 있다고 판단된다. 더욱이 인슐린이 제외된 분화유도배지에서 미역쇠 추출물은 지방세포 분화 표지유전자인 PPAR $\gamma$ 와 aP2의 발현량을 증가시킴으로써 지방소적의 형성을 촉진하고 있음이 확인되었다 (Figure 4). PPARs는 3T3-L1 전구지방세포 분화를 조절하는 핵호르몬 수용체이다 (Auwerx, 1999; Vamecq and Latruffe, 1999). PPARs 중에서도 PPAR $\gamma$ 는 리간드와 결합하면 RXR $\alpha$ 와 이형복합체를 형성하여 aP2나 PEPCK 등과 같은 표적유전자의 peroxisome proliferator response elements (PPRE)에 결합하여 표적 유전자 전사를 활성화시킨다 (Schoonjans *et al.*, 1996). Figure 4A에서 보여주었던 것처럼 미역쇠 추출물은



PPAR $\gamma$ -1 및 PPAR $\gamma$ -2의 발현을 증가시킬 뿐 아니라 이들의 표적 유전자인 aP2 mRNA (Tontonoz *et al.*, 1994)의 전사를 촉진함으로써 단백질 발현을 증가시켰다 (Figure 4B). 이러한 결과는 미역쇠 추출물이 지방세포에서 지방 소적의 축적이 촉진되는 분화유도 활성을 분자적 수준에서 해석할 수 있는 근거를 제시했다고 할 수 있다.

혈당의 항상성을 조절하는 인슐린은 간에서의 글루코스 생성 억제와 GLUT4를 통한 근육과 지방조직으로 포도당이 흡수되도록 한다 (Bryant *et al.*, 2002). 본 연구에서 3T3-L1 세포에서 인슐린 신호전달 경로에 작용하는 유전자 발현에 미치는 미역쇠 추출물의 영향을 분석한 결과, 미역쇠 추출물에 의해 GLUT4 mRNA 발현이 농도 의존적으로 증가되는 것을 확인하였다. 이는 미역쇠 추출물이 세포내 GLUT4 단백질을 증가시킴으로써 세포 내로의 포도당을 흡수하는데 기여할 것임을 암시해준다. 또한 미역쇠 추출물은 IRS-1 단백질 발현을 증가시키는 활성을 가지고 있었다 (Figure 5. B). IRS-1의 단백질 발현 감소는 인슐린 저항성 및 당뇨병 유발과 밀접하게 관련된다 (Shisheva *et al.*, 2001). 3T3-L1 세포에서 미역쇠 추출물은 인슐린과 유사하게 IRS-1 단백질의 발현을 증가시키는 활성을 보여주었다. 따라서 미역쇠 추출물은 IRS-1 단백질의 발현에 직·간접적으로 관여함으로써 인슐린 저항성이나 당뇨병을 개선하는 작용을 할 수 있음을 암시한다.

본 연구의 *in vitro* 실험결과는 미역쇠 추출물이 인슐린 없는 분화조건에서 지방세포의 분화를 촉진시키는 활성을 분명히 보여주었다. 이러한 미역쇠 추출물의 인슐린 유사 작용이 *in vivo*에서도 일어나는지를 확인하기 위하여 동물실험을 수행하였다. 실험동물로는 인슐린이 분비되지 않거나 분비가 적은 STZ로 유도된 제 1형 당뇨 동물모델을 사용하였다. STZ는 췌장  $\beta$ -세포에서 xanthine oxidase 시스템에 의해 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> radical 생성을 촉진하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성과 DNA fragmentation을 유도한다. 그리고 nitric oxide (NO) 공여체로서 염증반응을 유발하여 조직 내로 침투된 대식세포가 췌장세포의  $\beta$ -세포 영역을 파괴시킨다 (Kroncke *et al.*, 1995; Nukatsuka *et al.*, 1988). 따라서 STZ에 노출된  $\beta$ -세포는 인슐린 분비 기능을 상실하게 되어 Figure 6의 당뇨 대조군처럼 혈당이 지속적으로 증가된다. 당뇨유발 생쥐가 1% 미역쇠 추출물의



식이에 의해 혈당이 유의적으로 감소하였으며, 또한 당뇨 증상 중 하나인 음용수 섭취량이 증가되는 현상 (Muruges *et al.*, 2006)도 미역쇠 추출물의 식이에 의해 개선되는 것을 확인하였다 (Figure 7). 실험 종료 후 각 실험군에서  $\beta$ -세포의 파괴 정도를 조직학적으로 관찰한 결과, 정상군의 췌장조직은  $\beta$ -세포의 조밀도가 높고 그 경계면이 뚜렷하게 구분되어 있었지만, Takamura 등 (1999)의 당뇨가 유도된 대조군처럼 STZ를 투여한 당뇨 유발군들 모두의 췌장조직에서  $\beta$ -세포의 조밀도가 낮고 경계면이 뚜렷하지 않음을 관찰할 수 있었다 (data not shown). 이는 당뇨 유발군들 모두에서 인슐린 분비 장애에 의한 당뇨병이 유발되었음을 말해준다고 할 수 있다. 따라서 미역쇠 추출물의 항당뇨 효과는 대식세포의 활성화제 (Takamura *et al.*, 1999),  $\beta$ -세포 기능의 회복 및  $\beta$ -세포의 복구 때문이 아니라 미역쇠 추출물의 인슐린성 작용에 기인한다고 사료된다.

또한, 인슐린의 분비가 적거나 인슐린 저항성이 증가하게 되면 혈당이 쉽게 떨어지지 않는 내당능 장애가 나타나게 된다 (Kitabchi *et al.*, 2005). 각 실험군에서 내당능 검사를 수행한 결과, 정상군은 포도당 주사 후 30분까지는 혈당이 높아지지만 60분부터는 혈당이 조절되어 정상 수치로 회복되었다. 그러나 당뇨대조군인 경우 60분까지도 혈당이 증가하는 전형적인 내당능 장애를 보여 주었다 (Xie *et al.*, 2003). 그러나 1% 미역쇠 추출물을 식이한 실험군에서는 30분까지는 혈당이 급격히 올라가지만 60분부터는 혈당이 조절되는 현상을 관찰할 수 있었다. 이는 미역쇠 추출물이 내당능 장애를 개선하는 작용을 가지고 있음을 보여주는 결과로서, 정확한 작용기전은 알 수 없지만 미역쇠 추출물이 포도당 흡수와 관련된 인슐린성 작용을 함으로써 고혈당을 조절하는 것으로 추측된다.

일반적으로 당뇨병에서 가장 빈번하게 관찰되는 지질대사 이상은 혈중 중성지방의 증가와 HDL-콜레스테롤의 감소 등을 들 수 있으며 (Goldberg, 1981; Reaven, 1987), 특히 고지혈증과 혈중 HDL-콜레스테롤 농도의 감소는 당뇨병의 주요 합병증인 관상동맥질환의 위험인자로 보고되어있다 (West *et al.*, 1983). 각 실험군에서 혈중 TG 및 HDL 수치를 측정한 결과, TG의 경우 정상군에 비해 당뇨대조군에서 그 함량이 증가하였다 (Ding *et al.*, 2005).

그러나 미역쇠 추출물을 식이한 실험군의 TG 함량은 당뇨대조군에 비해 감소하는 경향을 관찰할 수 있었다. HDL 함량은 정상군에 비해 당뇨대조군에서 유의적으로 감소하였으나 (Ding *et al.*, 2005), 미역쇠 추출물을 식이한 실험군의 HDL 함량은 당뇨대조군보다 증가하였다. 이러한 결과는 미역쇠 추출물이 당뇨병 증세를 개선함으로써 지질대사 이상을 감소시키는 것으로 사료된다.

당뇨병에서 간의 비대현상은 STZ에 의한 체내 인슐린 농도의 저하로 일어난다. 간에서 당질대사가 원활하지 못하면 acetyl-CoA로부터 지질대사 체계가 형성되지 않고 중성지방이 합성·축적되어 간이 비대해진다고 알려져 있다 (Anderson *et al.*, 1984). 각 실험군에서 몸무게 대비 간의 무게를 측정된 결과, 당뇨 대조군이 정상군 보다 간의 무게가 증가된 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 미역쇠 추출물을 식이한 실험군들은 당뇨대조군과 비교했을 때 유의적이지는 않지만 간의 무게가 감소되었음을 확인할 수 있었다. 이는 미역쇠 추출물이 당뇨를 개선함으로써 간의 비대현상을 억제하는 것으로 판단된다. 또한 각 실험군의 혈중 GPT와 GOT를 측정된 결과, Chang 등 (2006)의 결과처럼 GPT와 GOT 모두 정상군에 비해 당뇨대조군에서 상당한 수준으로 증가한 것을 확인하였다. 일반적으로 STZ에 의해 유도된 당뇨동물모델은 고혈당으로 인해 장기가 손상 받게 되는데, 이러한 결과는 간세포에 존재하는 효소인 GPT와 GOT가 간세포의 변성이나 괴사로 혈중으로 방출되어 나타나는 현상이다 (Maiti *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2001; Stanely *et al.*, 2000). 미역쇠 추출물을 투여한 실험군의 혈중 GPT와 GOT 활성은 당뇨대조군에 비해 감소하였는데, 이는 미역쇠 추출물이 당뇨에 의한 간세포 상해를 개선하는 작용을 하고 있음을 보여주고 있는 것이다.

결론적으로 미역쇠 추출물은 인슐린성 작용을 통해 3T3-L1 전구지방세포의 분화를 촉진할 뿐만 아니라, STZ로 유발된 인슐린-의존형 당뇨 생쥐에서 항당뇨 효과를 나타내었다. 그러나 미역쇠 추출물을 항당뇨 소재로 개발하기 위해서는 지표성분의 분리를 통한 인슐린성 작용 기전에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

## V. 참고 문헌

- Anderson, J. W., A. E. Jones and Mason SR. 1994. Ten Different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J. Nutr.*, **124** 78-83.
- Antonetti, D. A., P. Algenstaedt and R. Kahn. 1996. Insulin receptor substrate 1 binds two novel splice variants of the regulatory subunit of phosphatidylinositol 3-kinase in muscle and brain. *Mol. Cell. Biol.*, **16** 2195-2203.
- Auwerx, J. 1999. PPARgamma, the ultimate thrifty gene. *Diabetologia.*, **42** 1033-1049.
- Avruch, J. 1998. Insulin signal transduction through protein kinase cascades. *Mol. Cell. Biochem.*, **182** 31-48.
- Baumann, C. A., V. Ribon, M. Kanzaki, D. C. Thurmond, S. Mora, S. Shigematsu, P. E. Bickel, J. E. Pessin and A. R. Saltiel. 2000. CAP defines a second signalling pathway required for insulin-stimulated glucose transport. *Nature.*, **407** 202-207.
- Bevan, P. 2001. Insulin signalling. *J. Cell. Sci.*, **114** 1429-1430.
- Bryant, N. J., R. Govers and D. E. James. 2002. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Mol. Cell. Biol.*, **3** 267-277.

- Camp, H. S. and S. R. Tafuri. 1997. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  activity by mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, **272** 10811-10816.
- Ceresa, B. P. and J. E. Pessin. 1998. Insulin regulation of the Ras activation/inactivation cycle. *Mol. Cell. Biochem.*, **182** 23-29.
- Chang, H. J., S. Zhou, G. X. Ding, J. H. Kim, M. H. Hong, Y. C. Shin, G. J. Kim and S. G. Ko. 2006. Antihyperglycemic activity of herb extracts on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci. Biotechno. Biochem.*, **70** 2556-2559.
- Chiang, S. H., C. A. Baumann, M. Kanzaki, D. C. Thurmond, R. T. Watson, C. L. Neudauer, I. G. Macara, J. E. Pessin and A. R. Saltiel. 2001. Insulin-stimulated GLUT4 translocation requires the CAP-dependent activation of TC10. *Nature*, **410** 944-948.
- Cho, K. J., H. E. Moon, H. Moini, L. Packer, D. Y. Yoon and A. S. Chung. 2003.  $\alpha$ -Lipoic acid inhibits adipocyte differentiation by regulating pro-adipogenic transcription factors via mitogen-activated protein kinase pathways. *J. Biol. Chem.*, **278** 34823-34833.
- Ding, S. Y., Z. F. Shen, Y. T. Chen, S. J. Sun, O. Liu and M. Z. Xie. 2005. Pioglitazone can ameliorate insulin resistance in low-dose streptozotocin and high sucrose-fat diet induced obese rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, **26** 575-580.
- Downward, J. 1994. The GRB2/Sem-5 adaptor protein. *FEBS Letters.*, **338** 113-117.

- Goldberg, R. B. 1981. Lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care*, **4** 561-572.
- Gray, A. M. and P. R. Flatt. 1999. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant *Coriandrum Sativum* (coriander). *Brit. J. Nutr.*, **81** 203-209.
- Gregoire, F. M., C. M. Smas and H. S. Sul. 1998. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol. Rev.*, **78** 783-809.
- Hara, K., K. Yonezawa, H. Sakaue, A. Ando, K. Kotani, T. Kitamura, Y. Kitamura, H. Ueda, L. Stephens, T. R. Jackson, P. T. Hawkins, R. Dhand, A. E. Clark, G. D. Holman, M. D. Waterfield and M. Kasuga. 1994. 1-Phosphatidylinositol 3-kinase activity is required for insulin-stimulated glucose transport but not for RAS activation in CHO cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91** 7415-7419.
- Harmon, A. W. and J. B. Harp. 2001. Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **280** C807-C813.
- Houseknecht, K. L., B. M. Cole and P. J. Steele. 2002. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) and its ligands: A review. *Domest. Anim. Endocrin.*, **22** 1-23.
- Kameda, K., M. Chikaki, C. Morimoto, M. Jiang and H. Okuda. 1996. Insulin like action of trans-10-hydroxy-2-decanoic acid and its related substance. *J. Traditional. Med.*, **13** 456-457.

- Kannan, Y., M. Tokunaga, M. Moriyama, H. Kinoshita and Y. Nakamura. 2004. Beneficial effects of troglitazone on neutrophil dysfunction in multiple low-dose streptozotocin-induced diabetic mice. *Clin. Exp. Immunol.*, **137** 263-271.
- Kanzaki, M. and J. E. Pessin. 2001. Insulin-stimulated GLUT4 translocation in adipocytes is dependent upon cortical actin remodeling. *J. Biol. Chem.*, **276** 42436-42444.
- Kanzaki, M., R. T. Watson, J. C. Hou, M. Starnes, A. R. Saltiel and J. E. Pessin. 2002. Small GTP-binding protein TC10 differentially regulates two distinct populations of filamentous actin in 3T3-L1 adipocytes. *Mol. Biol. Cell.*, **13** 2334-2346.
- Kanzaki, M., S. Mora, J. B. Hwang, A. R. Saltiel and J. E. Pessin. 2004. Atypical protein kinase C (PKC $\zeta/\lambda$ ) is a convergent downstream target of the insulin-stimulated phosphatidylinositol 3-kinase and TC10 signaling pathways. *J. Cell Biol.*, **164** 279-290.
- Kasuga, M., Y. Zick, D. L. Blithe, M. Crettaz and C. R. Kahn. 1982. Insulin stimulates tyrosine phosphorylation of the insulin receptor in a cell-free system. *Nature*, **298** 667-669.
- Kitabchi, A. E., M. Temprosa, W. C. Knowler, S. E. Kahn, S. E. Fowler, S. M. Haffner, R. Andres, C. Saudek, S. L. Edelstein, R. Arakaki, M. B. Murphy and H. Shamon; The Diabetes Prevention Program Research Group. 2005. Role of insulin secretion and sensitivity in the evolution of type 2 diabetes prevention program: effects of lifestyle intervention



and metformin. *Diabetes*, **54** 2404-2414.

Krenisky, J. M., J. Luo, M. J. Reed and J. R. Carney. 1999. Isolation and antihyperglycemic activity of bakuchiol from *Otholobium Pubescens* (Fabaceae), a peruvian medicinal plant used for the treatment of diabetes. *Biol. Pharm. Bull.*, **22** 1137-1140.

Kreutter, D. K., K. M. Andrews, E. M. Gibbs, N. J. Hutson and R. W. Stevenson. 1990. Insulinlike activity of new antidiabetic agent CP68722 in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes*, **39** 1414-1419.

Kroncke, K. D., K. Fehsel, A. Sommer, M. L. Rodriguez and V. Kolb-Bachofen. 1995. Nitric oxide generation during cellular metabolism of the diabetogenic N-methyl-N-nitroso-urea streptozotocin contributes to islet cell DNA damage. *Biol. Chem. Hoppe. Sevler.*, **376** 179-185.

Kuda, T., T. Hishi and S. Maekawa. 2006. Antioxidant properties of dried product of 'haba-nori', and edible brown alga, *Petalonia binghamiae* (J. Agaradh) Vinogradova. *Food Chem.*, **98** 545-550.

Ling, Y., L., L. A. Maile, J. Lieskovska, J. Badley-Clarke and D. R. Clemmons. 2005. Role of SHPS-1 in the regulation of insulin-like growth factor I-stimulated Shc and mitogen-activated protein kinase activation in vascular smooth muscle cells. *Mol. Biol. Cell*, **16** 3353-3364.

Maiti, R., D. Jana, U. K. Das and D. Ghosh. 2004. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus india* in streptozotocin-induced



diabetic rats. *J. Ethnopharm.*, **92** 85-91.

Marino-Buslje, M., Matin-Marinez, M., Mizuguchi, K., Siddle, K., and Blundell, T. L. 1999. The insulin receptor: from protein sequence to structure. *Biochem. Soc. Trans.* **27** 715-726

Mendez, R., M. G. Myers, JR., M. F. White and R. E. Rhoads. 1996. Stimulation of protein synthesis, Eukaryotic translation initiation factor 4E phosphorylation, and PHAS-I phosphorylation by insulin requires insulin receptor substrate 1 and phosphatidylinositol 3-kinase. *Mol. Cell. Biol.*, **16** 2857-2864.

Morel, D. W. and G. M. Chisolm. 1989. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J. Lipid Res.*, **30** 1827-1834.

Murakami, N., G. Inoue, M. Okamoto, Y. Yoshimasa, S. Kohno, T. Hayashi, K. Kato, H. Kuzuya and K. Nakao. 1997. Antihyperglycemic mechanism of M16209, an antidiabetic agent, in 3T3-L1 adipocytes. *Life Sci.*, **60** 1821-1831.

Murugesu, K., V. Yeligar, D. K. Dash, P. Sengupta, B. C. Maiti and T. K. Maity. 2006. Antidiabetic, antioxidant and antihyperlipidemic status of *Heliotropium zeylanicum* extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **29** 2202-2205.

Nukatsuka, M., H. Sakurai, Y. Yoshimura, M. Nishida and J. Kawada. 1988. Enhancement by streptozotocin of  $O_2^-$  radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic  $\beta$ -cells. *FEBS Lett.*, **239**

295-298.

Nystrom, F. H. and M. J. Quon. 1999. Insulin signalling: Metabolic pathways and mechanism for specificity. *Cell Signal.*, **11** 563-574.

Okada, T., Y. Kawano, T. Sakakibara, O. Hazeki and M. Ui. 1994. Essential role of phosphatidylinositol 3-kinase in insulin-induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. *J. Biol. Chem.*, **269** 3568-3573.

Prusty, D., B. H. Park, K. E. Davis and S. R. Farmer. 2002. Activation of MEK/ERK signaling promotes adipogenesis by enhancing peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) and C/EBP $\alpha$  gene expression during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J. Biol. Chem.*, **277** 46226-46232.

Reaven, G. M. 1987. Abnormal lipoprotein metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Pathogenesis and treatment. *Am. J. Med.*, **83** 31-40.

Ross, S. R., R. A. Graves, A. Greenstein, K. A. Platt, H. L. Shyu, B. Mellovitz and B. M. Spiegelman. 1990. A fat-specific enhancer is the primary determinant of gene expression for adipocyte P2 *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87** 9590-9594.

Schoonjans, K., B. Staels and J. Auwerx. 1996. The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim. Biophys. Acta*, **1302** 93-109.

- Sears, I. B., M. A. Macginnitie, L. G. Kovacs and R. A. Graves. 1996. Differentiation-dependent expression of the brown adipocyte uncoupling protein gene: regulation by peroxisome proliferator-activated receptor. *Mol. Cell. Biol.*, **16** 3410-3419.
- Segawa, S. 1996. *Colored illustrations of seaweeds of Japan* (p. 37) Osaka: Hoikusha publishing (in Japanese).
- Shepherd, P. R., B. T. Nave and K. Siddle. 1995. Insulin stimulation of glycogen synthesis and glycogen synthase activity is blocked by wortmannin and rapamycin in 3T3-L1 adipocytes: evidence for the involvement of phosphoinositide 3-kinase and p70 ribosomal protein-S6 kinase. *Biochem. J.*, **305** 25-28.
- Shisheva, A., B. Rusin, O. C. Ikononov, C. DeMarco and D. Sbrissa. 2001. Localization and insulin-regulated relocation of phosphoinositide 5-kinase PIKfyve in 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol. Chem.*, **276** 11859-11869.
- Singh, S. N., P. Vats, S. Suri, R. Shyam, M. M. L. Kumria, S. Ranganathan and K. Sridharan. 2001. Effect of an antidiabetic extract of *Catharanthus roseus* on enzymic activities in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Ethnopharm.*, **76** 269-277
- Smith, P. J., L. S. Wise, R. Berkowitz, C. Wan and C. S. Rubin. 1988. Insulin-like growth factor-I is an essential regulator of the differentiation of 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol. Chem.*, **263** 9402-9408.

- Stanely, P., M. Prince and V. P. Menon. 2000. Hypoglycaemic and other related actions of *Tinospora cordifolia* roots in alloxan-induced diabetic rats. *J. Ethnopharm.*, **70** 9-15
- Sun, X.J., P. Rothenberg, C. R. Kahn, J. M. Backer, E. Araki, P. A. Wilden, D. A. Cahill, B. J. Goldstein and M. F. White. 1991. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature*, **352** 73-77.
- Tafari, S. 1996. Troglitazone enhances differentiation, basal glucose uptake, and Glut1 protein levels in 3T3-L1 adipocytes. *Endocrinology*, **137** 4706-4712.
- Tai, E. S., S. C. Lim, B. Y. Tan, S. K. Chew, D. Heng and C. E. Tan. 2000. Screening for diabetes mellitus - a two-step approach in individuals with impaired fasting glucose improves detection of those at risk of complications. *Diabetic Med.*, **17** 771-775.
- Takaku, T., M. Jiang, H. Okuda and N. Maeda. 1997. Isolation of insulin like substance from *ephedra sinica* STAPF. *J. Traditional Med.*, **14** 358-359.
- Takamura, T., H. Ando, Y. Nagai, H. Yamashita, E. Nohara and K. I. Kobayashi. 1999. Pioglitazone prevents mice from multiple low-dose streptozotocin-induced insulinitis and diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **44** 107-114
- Tontonoz, P., E. Hu and B. M. Spiegelman. 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ 2, a lipik-activated transcription

factor. *Cell*, **79** 1147-1156.

Tontonoz, P., E. Hu, R. A. Graves, A. I. Budavari and B. M. Spiegelman. 1994. mPPAR $\gamma$ 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes & Dev.*, **8** 1224-1234.

Tontonoz, P., E. Hu, J. Devine, E. G. Beale and B. M. Spiegelman. 1995. PPAR $\gamma$ 2 regulates adipose expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Mol. Cell. Biol.*, **15** 351-357.

Vamecq, J. and N. Latruffe. 1999. Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors. *Lancet*, **354** 141-148.

West, I. C. 2000. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Med.*, **17** 171-180.

West, K. M., M. M. Ahuja, P. H. Bennett, A. Czyzyk, O. M. De Acosta, J. H. Fuller, B. Grab, V. Grabauskas, R. J. Jarrett and K. Kosaka, *et al.* 1983. The role of circulating glucose and triglyceride concentrations and their interactions with other "risk factors" as determinants of arterial disease in nine diabetic population samples from the WHO multinational study. *Diabetes care*, **6** 361-369.

White, M. F. and R. Kahn. 1994. The insulin signaling system. *J. Biol. Chem.*, **269** 1-4.

White, M. F. 1997. The insulin signalling system and the IRS proteins. *Diabetologia*, **40** S2-S17.

- Wilden, P. A., K. Siddle, E. Haring, J. M. Backer, M. F. White and C. R. Kahn. 1992. The role of insulin receptor kinase domain autophosphorylation in receptor-mediated activities. *J. Biol. Chem.*, **267** 13719-13727.
- Xie, J. T., A. Wang, S. Mehendale, J. Wu, H. H. Aung, L. Dey, S. Qiu and C. S. Yuan. 2003. Anti-diabetic effects of *Gymnema yunnanense* extract. *Pharmacol. Res.*, **47** 323-329.
- Yue, K. K., K. W. Lee, K. K. Chan, K. S. Leung, A. W. Leung and C. H. Chang. 2006. Danshen prevents the occurrence of oxidative stress in the eye and aorta of diabetic rats without affecting the hyperglycemic state. *J. Ethnopharmacol.*, **106** 136-141
- Zhang, B., J. Berger, G. Zhou, A. Elbrecht, S. Biswas, S. W. Carrington, D. Szalkowski and D. E. Moller. 1996. Insulin- and mitogen-activated protein kinase-mediated phosphorylation and activation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ . *J. Biol. Chem.*, **271** 31771-31774.
- Zhang, C., L. Teng, Y. Shi, J. Jin, Y. Xue, K. Shang and J. Gu. 2002. Effect of emodin on proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocyte and FAS activity. *Chin. Med. J.*, **115** 1035-1038.



## V. 요약

미역쇠 추출물의 항당뇨 효과를 평가하기 위하여, 우선 3T3-L1 전구지방세포의 분화에 미치는 미역쇠 (*Petalonia binghamiae*) 추출물의 효과를 분석하였다. 3T3-L1 전구지방세포에 미역쇠 추출물과 분화유도 물질 (인슐린, 3-isobutyl-1-methylxanthin 및 dexamethasone)를 동시에 처리하면 지방소적의 축적이 증가되어 지방세포로 분화가 촉진되었다. 특히, 미역쇠 추출물은 인슐린이 없는 조건에서도 3T3-L1 전구지방세포의 분화를 유도하는 인슐린성 작용을 나타내었다. 인슐린 대신 미역쇠 추출물을 처리하여 분화유도된 3T3-L1 지방세포는 농도 의존적으로 중성지방 합성이 증가하였다. 그리고 미역쇠 추출물은 peroxisome proliferators activated receptor gamma, adipocyte-specific fatty acid binding protein 및 insulin receptor substrate-1 단백질의 발현과 glucose transporter-4의 mRNA의 발현 또한 농도-의존적으로 증가시키는 활성을 나타내었다. 다음은 streptozotocin으로 유도된 당뇨 동물모델을 이용하여 미역쇠 추출물의 항당뇨 효과를 관찰하였다. 혈당과 음료 섭취량은 미역쇠 추출물을 식이하지 않은 당뇨 대조군에 비해 미역쇠 추출물 (1%)을 8주간 식이 한 실험군에서 유의적으로 감소하였다. 또한 미역쇠 추출물을 식이 한 실험군의 혈액을 분석한 결과, 혈청내 중성지방 함량은 감소되고 serum high density lipoprotein cholesterol 함량은 증가됨을 관찰할 수 있었다. 그리고 간 기능과 관련된 효소인 glutamic pyruvic transaminase와 glutamic oxaloacetic transaminase 활성은 감소하였다. 그러나 당뇨대조군과 실험 식이군 간의 체중의 차이는 관찰되지 않았다. 본 연구결과는 미역쇠 추출물이 인슐린성 작용을 통한 항당뇨 효과를 가지는 물질을 함유하고 있음을 보여주었다.