

갱년기 모델 유도 흰 쥐에서 갈근과 지황 복합물 및 유산소 운동이 대사이상 개선에 미치는 영향*

오상아¹ · 옥향목¹ · 김혜진² · 이원준² · 권오란^{1†}
이화여자대학교 식품영양학과,¹ 이화여자대학교 체육과학과²

Effects of a *Pueraria lobata*-root based combination supplement containing *Rehmannia glutinosa* and aerobic exercise on improvement of metabolic dysfunctions in ovariectomized rats*

Oh, Sang A¹ · Ok, Hyang Mok¹ · Kim, Hye Jin² · Lee, Won Jun² · Kwon, Oran^{1†}

¹Department of Nutritional Science and Food Management, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

²Department of Exercise Science, College of Health Sciences, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

ABSTRACT

Purpose: There is a fair amount of evidence indicating that increased risk of obesity and insulin resistance is associated with postmenopausal state, but can be modulated by diet and exercise. In this study, we explored whether a *Pueraria lobata* root-based supplement containing *Rehmannia glutinosa* (PR) and/or aerobic treadmill exercise can modify the metabolic changes associated with estrogen deficiency. **Methods:** Seventy rats were randomly assigned to the following groups for 8 weeks (n=10 per group): SHAM, sham-operated; PRO, ovariectomized (OVX) control; PR200, OVX with PR200 mg/kg B.W; PR400, OVX with PR400 mg/kg B.W; EPR0, OVX with exercise; EPR200, OVX with exercise and PR200 mg/kg B.W; EPR400, OVX with exercise and PR400 mg/kg B.W. **Results:** OVX induced significant increases in body weight, food intake, fat mass, LDL-cholesterol, and fasting blood glucose, confirming induction of menopausal symptoms. PR supplementation or exercise significantly suppressed the above mentioned changes through different regulatory elements in adipose tissue: PR supplement upregulated adiponectin gene expression and aerobic exercise upregulated adiponectin and insulin receptor gene expression and a combination of PR supplement and aerobic exercise showed an additive effect on adiponectin gene expression. **Conclusion:** Taken together, the results of this study suggest that PR supplement has a potential to provide health benefits in OVX rats through leptin and adiponectin secretion. In addition, the data suggest that combination of exercise and PR would have additive effects on metabolic dysfunction associated with estrogen deficiency.

KEY WORDS: *Pueraria lobata*, *Rehmannia glutinosa*, aerobic exercise, metabolic dysfunction, ovariectomized rats

서 론

갱년기는 여성의 삶에 있어 결정적인 시기이다. 신체조직이 노화하는 과정에서 난포 자극 호르몬은 증가되나 에스트로겐 분비가 저하되므로 에스트로겐 수용체를 갖는 조직 및 기관이 영향을 받아 체지방량과 인슐린 저항성이 증가하고 간, 지방조직, 근육의 항상성 유지가 깨어진다.¹

이로써 갱년기 여성은 당뇨병, 심혈관계 질환 등의 위험이 증가되는 것으로 보고되고 있다. 갱년기 건강증진을 위한 방법으로는 호르몬 보충요법, 기능성 식품의 섭취, 규칙적인 운동을 들 수 있다. 이중 호르몬 보충요법은 부작용의 우려가 높으므로 기능성 식품의 섭취와 규칙적인 운동 등 생활양식의 변화가 선호되고 있다.²

에스트로겐이 심혈관 질환과 관련이 있음은 역학적으로

Received: December 3, 2014 / Revised: February 3, 2015 / Accepted: March 27, 2015

*This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project title: Research on New Functional Food Materials with Domestic Agricultural Products, Project No. PJ00845002)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

†To whom correspondence should be addressed.

tel: +28-2-3277-6860, e-mail: orank@ewha.ac.kr

© 2015 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

확인되었으며,³ 그 기전연구를 위해 난소절제로 에스트로겐 분비를 감소시킨 실험동물을 많이 사용하여 왔다. 조등⁴은 난소절제 흰 쥐는 혈관의 이완 능력이 감소되었을 뿐 아니라 형태학적으로 전형적인 동맥경화증의 소견을 초래하였다고 보고하고 있다. 최근에는 갱년기의 건강유지 가능성을 검증하는데 난소절제 갱년기 모델 유도 흰 쥐를 많이 사용하고 있다.^{5,6}

취 (*Pueraria lobata*)은 뿌리 (갈근)와 꽃 (갈화)부위가 예로부터 사용되어 왔는데, 특히 갈근은 고혈압, 관상동맥경화증, 협심증, 노인성 당뇨 등의 치료에 사용되어 왔다. 갈근에 함유된 이소플라본류의 90% 이상이 puerarin으로 분석되었고,⁷ 갈근 또는 갈근에서 분리한 이소플라본을 중심으로 항산화 효과를 보고한 연구가 가장 많다.^{8,9} 이소플라본은 에스트로겐 유사활성을 나타내어 에스트로겐의 대체효능을 발휘하는 것으로 알려져 있다.¹⁰ 또한 현삼과 식물인 지황 (*Rehmannia glutinosa*)은 뿌리 부위가 가장 활성을 지니는 부분으로 전통적으로 몸안에 있는 기를 원활히 순환하여 혈을 보하고, 신진대사 기능을 회복시키는 효과를 가지고 있다고 알려져 있다.¹¹ 최근에는 지황 추출물을 중심으로 항산화¹² 및 간보호 기능¹³이 주로 연구되고 있다. 지황의 기능성분으로는 이리도이드 배당체 화합물인 catalpol과 leonuride 등이 알려져 있다.¹⁴ 이리도이드 배당체는 지황 뿐 아니라 노니의 기능성분으로도 알려져 있다.¹⁵

그러나 갈근, 지황 또는 갈근과 지황 복합물의 갱년기 건강에 대한 연구는 매우 드물며, 아울러 갈근과 지황 복합물과 운동의 병행 효과에 대한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 난소절제를 통해 인슐린 저항성과 지질대사 이상을 유도한 모델동물을 사용하여 갈근과 지황 복합물 섭취와 유산소 운동이 이상지질혈증과 인슐린 저항성에 대한 개선 효과가 있는지를 알아보고 그 기전을 밝히고자 하였다.

연구방법

시험물질

시험물질인 갈근 (*Pueraria lobata*)과 지황 (*Rehmannia glutinosa*) 복합물은 뉴메드 (Seoul, Korea)에서 공급받았다. 갈근 및 지황 각 추출물을 제조하고 혼합하여 갈근과 지황 복합물을 제조하였다. 간략히 정리하면 갈근과 지황 100 g을 각각 세절하여 10배 중량의 물을 첨가하여 반복 추출하였다. 추출물은 여과하여 감압농축 후 동결건조하여 분말상태로 만들었다. 갈근 및 지황 분말은 같은 중량 비로 혼합하여 복합물을 제조하였다. 지황 추출물의 수율

은 53.86%이며, 갈근 추출물의 수율은 54.19%이다. 갈근과 지황 복합물은 제조과정상의 표준화를 위해 HPLC로 puerarin과 catalpol을 분석하였다. 갈근의 puerarin 함량 평균은 42.1 mg/g이었으며, 지황의 catalpol 함량 평균은 9.3 mg/g으로 분석되었다.

운동프로토콜

트레드밀 (motor-driven rodent treadmill, Cornella (BCN), Panlab, Spain)을 이용하여 오전 일정한 시간에 주 5회 운동을 실시하였다. 운동 강도는 점차 증가하여 5주부터 고강도의 운동을 지속하기 위해 처음 5주 동안에는 경사없이 매분 15 m의 속도로 하루에 15분 운동을 실시하였으며, 이후 3주 동안에는 10% 경사에서 매분 26 m의 속도로 매일 60분 운동을 실시하였다.^{16,17}

실험동물 및 식이

본 실험에 사용된 실험 동물은 8주령 Sprague-Dawley계 암컷 흰 쥐 (180~200 g)이며, 중앙실험동물 (Seoul, Korea)로부터 공급받았다. 일주일간 물과 표준식이를 공급하여 사육실 환경에 적응시켰다. 실험실의 사육조건은 온도 22 ± 2°C, 습도 55 ± 5%, 12시간 간격으로 명암조절을 자동 유지하였다. 적응기간 후 정상대조군 (SHAM, n = 10)과 양측 난소절제군 (OVX, n = 60)으로 분류하고 마취제 (Zoletil: Rumpun mixture (3:1) 0.2 mg/kg B.W.)를 복강내 주입하여 마취한 후 등 부위를 절개하여 양측 난소를 절제하였다. 수술부위의 감염방지를 위해 포비돈요오드액을 수술부위에 도포하며 일주일의 회복기를 가졌다. 일주일의 회복기 후 양측 난소절제술군은 난괴법으로 10마리씩 6군으로 분류하였다. 즉, 시험물질과 운동의 2요인 디자인으로 운동 부하 없이 시험물질의 용량 (0, 200, 400 mg/kg B.W.)에 따라 3군 (PR0, PR200, PR400)으로 나누고, 운동을 부하하며 시험물질의 용량에 따라 3군 (EPR0, EPR200, EPR400)으로 총 6군이 난소절제술군에 포함되었다. AIN-76A 식이¹⁸를 기본 식이로 제공하였으며, 증류수 또는 시험물질을 매일 일정한 시간에 경구투여하여 총 8주간 실시하였다. 본 연구는 이화여자대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 수행하였다 (IACUC No. 2013-01-075).

체중, 식이섭취량, 채혈 및 장기 적출

체중은 주 2회 일정한 시각에 측정하였으며, 식이섭취에서 오는 갑작스런 체중의 변화를 막기 위하여, 2시간 공복 상태에서 체중측정을 하였고, 식이섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하여 계산하였다. 실험동물을 12시간 이상 절식시킨 후, CO₂ 가스로 호흡마취하였다. 혈액은 복대동

맥에서 채혈하여 EDTA가 처리된 튜브와 별도의 처리가 없는 튜브에 넣어 4°C, 3,500 rpm, 10분동안 원심분리한 후 혈장과 혈청을 -80°C에 보관하여 분석에 이용하였다. 실험 동물의 간, 근육 및 지방조직은 적출하고 생리식염수로 세척 후 여분의 수분을 제거하고 무게를 측정된 뒤 액체질소로 급속 동결시켜 분석 시까지 -80°C에 보관하였다.

혈장의 생화학적 지표분석

혈장 총 콜레스테롤 (TC), 중성지질 (TG), HDL-콜레스테롤 (HDL-C) 농도는 측정용 kit (Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다. 혈장 LDL-콜레스테롤 (LDL-C) 농도는 LDL-C = TC-HDL-C-(TG/5)의 Freidewald¹⁹의 방법에 따라 계산하였다. 공복혈당 (FBG), 인슐린, C-peptide 농도는 측정용 kit (Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea 및 Mercodia, Uppsala, Sweden)을 사용하여 측정하였다.

간조직의 지질분석

간 조직의 지방 함량은 Folch방법²⁰을 사용하여 분석하였다. 클로로포름을 사용하여 간 조직에서 지질을 녹여낸 후, 유기물을 증발시키고 남은 지질의 무게로 계산한 후 TG와 TC 농도를 측정하였다.

유전자발현분석

TRIzol (Invitrogen, San Diego, CA, USA)을 이용하여 간과 지방조직에서 total RNA를 추출하였다. BioSpec nano spectrophotometer (Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 RNA 함량을 측정하고, cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. mRNA 측정을 위하여 Step-One-Plus RT-PCR System (Applied Biosystem Foster City, CA, USA)을 사용하여 합성된 cDNA sample을 증폭시켰다.

각 유전자에 대한 primer로는 렙틴 [Lep; Rn00565158_m1], 아디포넥틴 [Adipoq; Rn00595250_m1], insulin receptor [IR; Rn00565158_m1], 및 β -actin [Actb; Mm00667869_m1]을 사용하였다. mRNA 발현 수준은 CT 방법으로 계산하였으며, 모든 데이터는 β -actin 값에 대한 상대적인 양이다.

통계분석

모든 실험결과는 Statistical Analysis Systems package version 9.3 (SAS Institute, Cary, NY, USA)을 이용하여 분석하였으며, 평균 \pm 표준오차 (S.E.)로 나타내었다. 정상대조군과 난소절제군간의 비교를 위하여 Student's t-test를 수행하였다. 난소절제군에서 물질 보충 및 운동간 차이 검증을 위하여 이원변량분산분석 (two-way analysis of variance)을 실시하여 두 가지 요인 중 주효과와 물질보충과 운동부하의 교호작용에 대한 실험군간 차이를 검증하였다. 또한, 유의수준은 유의성이 있는 경우 사후검증으로 Duncan's multiple range test를 사용하였다. 모든 통계적 유의성은 유의확률이 5% 미만 ($p < 0.05$) 일 때 유의한 것으로 평가하였다.

결 과

체중, 식이섭취량 및 지방조직 무게

난소절제, 시험물질 섭취 및 유산소 운동이 체중 및 식이섭취량에 영향을 미치는지 알아본 결과는 Table 1과 같다. 정상대조군에 비해 난소절제군에서 8주 후 최종체중, 식이섭취량이 유의적으로 증가하였다 ($p = 0.0001$, $p = 0.0217$). 체중과 식이섭취량의 증가는 PR 보충 ($p = 0.003$, $p < 0.0001$)과 운동부하 ($p = 0.017$, $p = 0.002$)에 따라 유의하게 억제되었다. 복막후 지방의 무게도 정상대조군에 비해 난소절제군에서 유의적으로 증가하였고 ($p = 0.043$), PR 보충 ($p < 0.0001$)과 운동부하 ($p = 0.012$)에 따라 유의

Table 1. Effects of PR and aerobic exercise on final body weight, food intake, and fat mass in ovariectomized

Groups	SHAM	OVX						Two-way ANOVA		
		PR0	PR200	PR400	EPR0	EPR200	EPR400	PR	Ex	PR x Ex
Final body weight (g)	295.9 \pm 9.61	352.4 \pm 6.3 ^a	331.7 \pm 6.1 ^b	286.4 \pm 8.5 ^{cd}	313.8 \pm 9.2 ^b	293.4 \pm 6.2 ^c	268.5 \pm 5.5 ^d	0.003	0.017	0.260
Food intake (g)	17.52 \pm 0.64	19.3 \pm 0.3 ^a	17.4 \pm 0.4 ^b	15.0 \pm 0.5 ^d	16.8 \pm 0.5 ^{bc}	15.8 \pm 0.4 ^{cd}	14.6 \pm 0.3 ^d	<0.0001	0.002	0.423
Retroperitoneal fat (g)	5.32 \pm 0.80	7.4 \pm 0.5 ^a	5.4 \pm 0.5 ^b	2.8 \pm 0.3 ^{de}	5.0 \pm 0.5 ^{bc}	3.9 \pm 0.5 ^{cd}	2.2 \pm 0.2 ^e	<0.0001	0.012	0.723
Perirenal fat (g)	1.64 \pm 0.17	1.9 \pm 0.3 ^a	1.8 \pm 0.2 ^a	1.0 \pm 0.1 ^b	1.7 \pm 0.1 ^a	1.1 \pm 0.1 ^b	0.8 \pm 0.1 ^b	0.001	0.081	0.254

Values are expressed as Means \pm SE.

SHAM, sham operated; OVX, ovariectomized; PR, *Pueraria lobata*-root based combination supplement containing *Rehmannia glutinosa*; Ex, exercise; PR0, ovariectomized; PR200, ovariectomized with PR200 mg/kg B.W; PR400, ovariectomized with PR400 mg/kg B.W; EPR0, ovariectomized with exercise; EPR200, ovariectomized with exercise and PR200 mg/kg B.W; EPR400, ovariectomized with exercise and PR400 mg/kg B.W.

* $p < 0.05$ SHAM vs. PR0. Values not sharing the same letter were significantly different in the OVX group at $p < 0.05$.

하게 감소하였다. 그러나 신장주변 지방의 무게는 정상대조군에 비해 높아지는 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지 않았으며, 운동부하 보다는 PR 보충에 영향을 받아 난소절제군 중에서 PR400, EPR200, EPR400군은 신장주변 지방의 무게가 유의하게 감소되었다 ($p = 0.001$).

혈중지질 및 간조직 지질수준

공복혈액에서 측정된 혈중 지질 및 당 지표는 Table 2와 같다. 정상대조군에 비해 난소절제군에서 혈중 TG 및 TC 수준은 의미있게 변화되지 않았다. 그러나, 난소절제군 중에서 TG는 PR 보충 ($p = 0.015$)과 운동부하 ($p = 0.018$)에 영향을 받아 EPR400군에서 TG 수준이 유의하게 감소한 반면, TC는 PR 보충에 영향을 받아 PR200, PR400, EPR200, EPR400군에서 유의하게 감소하였다 ($p < 0.0001$). 한편 LDL-C과 공복혈당은 정상대조군에 비해 난소절제군에서 유의적으로 증가하였다 ($p = 0.0043$, $p = 0.0085$). 난소절제군 중에서는 PR 보충에 영향을 받아 PR200, PR400, EPR200, EPR400군의 LDL-C와 공복혈당 증가가 유의하게 억제되었다 ($p < 0.0001$, $p = 0.0001$). 그러나 운동만 부여한 EPR0군은 LDL-C와 공복혈당 증가에 유의한 영향을 나타내지 못하였고, 공복혈당에서는 PR 보충과 운동부하의 교호작용이 있었다 ($p = 0.024$). 한편 인슐린과 C-peptide 수준은 난소절제, PR 보충 및 운동에 의해 모두 변화되지 않았다.

간에서 총지방, TC, TG를 측정된 결과, 정상대조군에 비해 난소절제군에서 이들 지표에 유의한 변화가 나타나지

않은 것으로 관찰되었다. 그러나 난소절제군에서 총지방과 TG는 PR 보충에 영향 받아 ($p < 0.0001$, $p = 0.003$), PR200, PR400, EPR200, EPR400군에서 유의하게 감소하였으며, 운동만 수행한 EPR0군에서는 유의한 영향이 나타나지 않았다.

지방조직의 렙틴, 아디포넥틴 유전자 발현

지방조직에서 렙틴, 아디포넥틴의 유전자 발현을 측정하였다 (Fig. 1). 정상대조군에 비해 난소절제군에서 렙틴 유전자의 발현은 유의하게 증가하였으나 ($p = 0.0454$), 아디포넥틴 유전자 발현은 통계적으로 유의한 변화가 관찰되지 않았고 PR 보충 및 운동부하에서도 차이를 보이지 않았다. 반면 아디포넥틴 유전자 발현은 PR 보충 ($p = 0.028$)과 운동부하 ($p = 0.003$), 그리고 PR 보충과 운동부하의 교호작용 ($p = 0.013$)에 모두 영향받아 EPR200, EPR400군에서 유의하게 증가하였다.

간 및 지방 조직의 인슐린 수용체 유전자 발현

간 및 지방 조직에서 인슐린 수용체의 유전자 발현을 측정된 결과는 Fig. 2에 제시하였다. 간 조직에서는 난소절제, PR 보충, 유산소 운동 여부에 의해 인슐린 수용체 유전자 발현이 변화되지 않았다. 지방조직에서도 정상대조군에 비해 난소절제군에서 인슐린 수용체 유전자 발현이 유의하게 변화되지 않았으나, 난소절제군은 운동부하의 영향 ($p = 0.011$)으로 EPR0, EPR400군에서 유의하게 증가한 것으로 관찰되었다.

Table 2. Effects of PR and aerobic exercise on lipid and glucose metabolism in ovariectomized rats

Groups	SHAM	OVX						Two-way ANOVA		
		PRO	PR200	PR400	EPR0	EPR200	EPR400	PR	Ex	PR x Ex
Fasting blood										
TG (mg/dL)	128.8 ± 20.6	104.4 ± 8.0 ^a	89.7 ± 8.8 ^a	89.7 ± 8.8 ^a	90.2 ± 6.7 ^a	82.1 ± 7.1 ^{ab}	63.7 ± 3.8 ^b	0.015	0.018	0.726
TC (mg/dL)	133.0 ± 8.7	158.5 ± 10.5 ^a	114.4 ± 6.0 ^{cd}	92.4 ± 6.6 ^d	140.9 ± 6.5 ^{ab}	117.8 ± 8.3 ^{bc}	117.1 ± 5.2 ^{bc}	<0.0001	0.175	0.113
HDL-C (mg/dL)	51.5 ± 3.8	48.1 ± 4.8 ^a	39.4 ± 3.8 ^a	25.3 ± 3.2 ^b	48.6 ± 3.8 ^a	45.8 ± 3.2 ^a	38.4 ± 3.8 ^a	0.001	0.169	0.101
LDL-C (mg/dL)	52.8 ± 6.0	85.4 ± 7.8 ^a	52.7 ± 4.7 ^c	43.3 ± 5.0 ^c	73.3 ± 3.8 ^{ab}	55.5 ± 7.0 ^{bc}	60.5 ± 3.5 ^{bc}	<0.0001	0.072	0.304
Glucose (mg/dL)	102.6 ± 5.7	168.2 ± 16.8 ^a	104.7 ± 9.3 ^b	100.7 ± 6.3 ^b	180.3 ± 25.1 ^a	88.0 ± 5.4 ^b	96.5 ± 9.9 ^b	0.0001	0.126	0.024
Insulin (ug/L)	2.4 ± 0.4	1.7 ± 0.3	1.2 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.8 ± 0.4	1.9 ± 0.4	1.5 ± 0.3	0.150	0.672	0.380
C-peptide (umol/L)	1.9 ± 0.2	1.6 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.5 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.0 ± 0.1	0.072	0.230	0.857
Liver (mg/g)										
Total lipid	26.4 ± 2.1	30.0 ± 3.6 ^a	21.3 ± 2.1 ^b	17.8 ± 1.2 ^b	28.8 ± 3.4 ^a	20.7 ± 1.6 ^b	20.0 ± 1.8 ^b	<0.0001	0.731	0.924
TG	12.6 ± 1.7	15.7 ± 2.5 ^a	9.6 ± 1.2 ^{bc}	6.5 ± 0.9 ^c	11.9 ± 1.6 ^{ab}	9.6 ± 1.6 ^{bc}	10.8 ± 1.8 ^{bc}	0.003	0.902	0.101
TC	2.1 ± 0.5	3.3 ± 0.8	1.9 ± 0.4	1.5 ± 0.2	1.6 ± 0.4	2.3 ± 0.7	2.1 ± 0.4	0.635	0.459	0.063

Values are expressed as Means ± SE.

SHAM, sham operated; OVX, ovariectomized; PR, *Pueraria lobata*-root based combination supplement containing *Rehmannia glutinosa*; Ex, exercise; PRO, ovariectomized; PR200, ovariectomized with PR200 mg/kg B.W; PR400, ovariectomized with PR400 mg/kg B.W; EPR0, ovariectomized with exercise; EPR200, ovariectomized with exercise and PR200 mg/kg B.W; EPR400, ovariectomized with exercise and PR400 mg/kg B.W.

* $p < 0.05$ SHAM vs. PRO. Values not sharing the same letter were significantly different in the OVX group at $p < 0.05$.

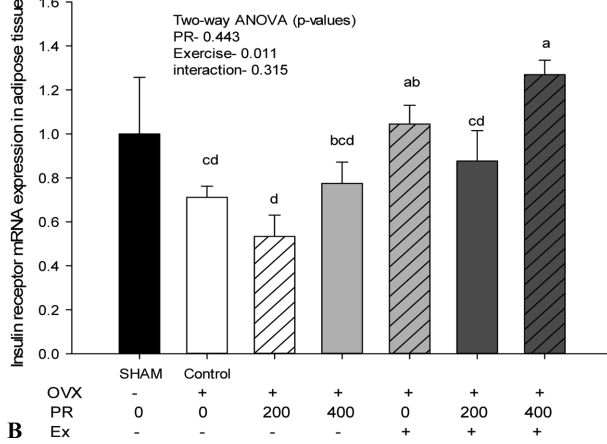
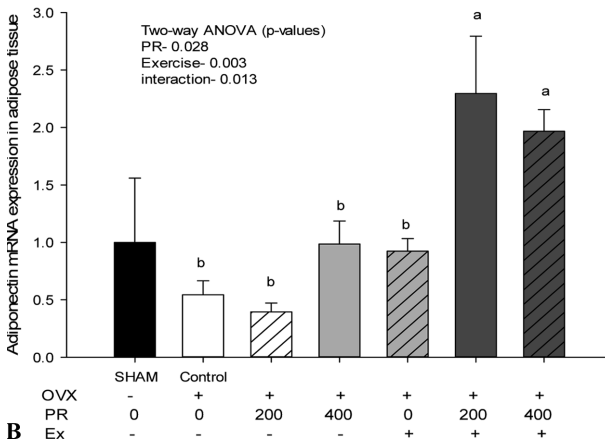
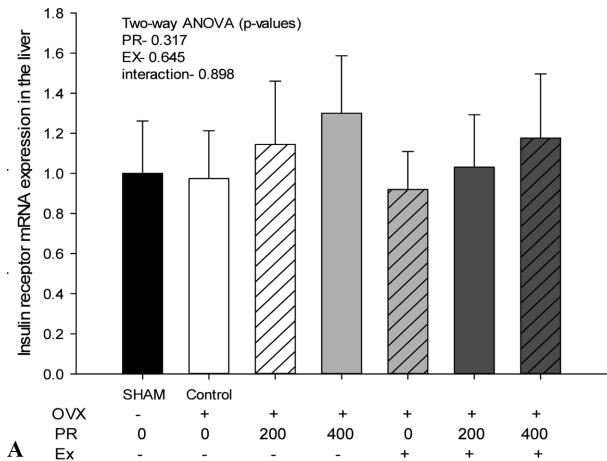
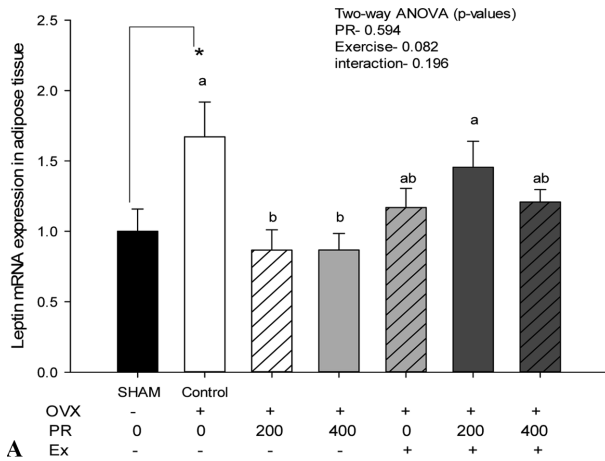


Fig. 1. Effects of PR and aerobic exercise on leptin and adiponectin gene expression the retroperitoneal fat of ovariectomized rats: (A) leptin and (B) adiponectin. SHAM, sham operated; PRO, ovariectomized control; PR200, ovariectomized with PR200 mg/kg B.W; PR400, ovariectomized with PR400 mg/kg B.W; EPR0, ovariectomized with exercise; EPR200, ovariectomized with exercise and PR200 mg/kg B.W; EPR400, ovariectomized with exercise and PR400 mg/kg B.W. *p < 0.05 SHAM vs. PR0. Values not sharing the same letter were significantly different in the OVX group at p < 0.05.

Fig. 2. Effects of PR and aerobic exercise on IR gene expression in the organ of ovariectomized rats: (A) liver and (B) adipose tissue. SHAM, sham operated; PRO, ovariectomized control; PR200, ovariectomized with PR200 mg/kg B.W; PR400, ovariectomized with PR400 mg/kg B.W; EPR0, ovariectomized with exercise; EPR200, ovariectomized with exercise and PR200 mg/kg B.W; EPR400, ovariectomized with exercise and PR400 mg/kg B.W; IR, insulin receptor. *p < 0.05 SHAM vs. PR0. Values not sharing the same letter were significantly different in the OVX group at p < 0.05.

고 찰

본 연구는 난소를 절제하여 인위적으로 갱년기를 유도한 흰 쥐에서 갈근과 지황 복합물과 운동부여가 갱년기 대사이상 및 인슐린 저항성에 미치는 영향을 검토하였다. 난소를 절제하고 8주간 정상식으로 사육한 흰 쥐는 정상대조군에 비해 체중, 식이섭취량, 체지방, 혈중 LDL-C 및 공복혈당이 유의적으로 증가하여 갱년기 대사이상 모델이 유도되었음을 확인하였다. 비만은 갱년기의 가장 특징적인 증상으로, 이는 부족해진 에스트로겐의 분비를 보상하기 위해 말초 지방조직에서 지방의 축적이 일으키기 때문이다.²¹ 또한 본 연구 결과, 난소절제 후 혈중 인슐린 수준은

변화되지 않았으나 지방조직에서 인슐린 수용체 유전자 발현이 감소되었을 뿐 아니라 난소절제 후 지방조직이 비대해지고, 또한 지방조직에서 렙틴분비가 증가된 것으로 미루어 에스트로겐 분비 저하로 인한 비만은 렙틴 및 인슐린 저항과 관련있음을 확인하였다. 이는 설치류에서 난소절제 후 비만이 발생하기 전에는 당대사 이상에 큰 변화가 없지만,²² 난소절제 후 식욕증진 및 지방축적으로 비만이 발생하면 대사적 장애와 인슐린 저항성이 증가한다는 연구결과와 일치한다.²³ 또한 비만에서 렙틴이 증가하는 것은 인슐린 증가와 함께 인슐린 저항성이 증가한다는 개념으로 받아들여지고 있다.²⁴

한편 갈근과 지황 복합물의 보충 및 운동은 서로 다른 기

전으로 난소절제로 에스트로겐 분비가 감소되어 나타나는 대사이상을 억제하는데 유의한 것으로 나타났다. 갈근과 지황 복합물은 식이섭취량, 체중, 체지방량, 혈중 LDL-C 및 공복혈당 증가를 유의하게 억제하였다. 지방조직에서는 아디포넥틴 유전자 발현을 유의하게 증가시키는 것으로 나타났으며, 렙틴 유전자 발현은 요인분석 결과 유의한 영향을 미치는 요소는 아니지만 운동부여 없이 PR을 보충한 두 군에서 렙틴 유전자 발현이 유의하게 감소된 것으로 미루어 갈근과 지황 복합물의 작용기전으로 지방조직 호르몬의 변화가 중요한 것으로 사료된다. 본 연구에 사용한 갈근에는 이소플라본의 일종인 puerarin이 함유되어 있는데, 이는 에스트로겐과 유사한 활성을 내는 물질이므로 갈근과 지황 복합물의 효과는 puerarin에 기인하는 것으로 추정할 수 있다. 그러나 본 연구는 puerarin 화합물을 직접 시험물질로 사용하여 결과를 얻은 것이 아니므로 단정적으로 puerarin을 원인물질로 결론지을 수 없으며, 향후 이에 대한 연구가 필요하다.

한편, 운동부하는 식이섭취량, 체중 및 체지방량 증가에 대해서는 갈근과 지황 복합물과 동일하게 통계적으로 유의한 억제효과를 나타냈으나, 혈중 LDL-C이나 공복혈당 증가를 억제하는 효과는 나타내지 못하였다. 지방조직에서는 운동부하로 인슐린 수용체와 아디포넥틴 유전자 발현이 유의하게 증가되었으나, 렙틴 유전자 발현은 변화되지 않았다. 이는 운동과 갱년기 증상에 대한 연구에서 운동은 인슐린 저항을 개선하는 것으로 보고된 결과와 일치한다.²⁵ 그러나 신호전달분자 수준의 연구는 부족한 실정이며, 본 연구 결과 역시 일부 정보만을 제공하고 있으므로 향후 이에대한 지속적인 연구가 필요하다.

마지막으로 갈근과 지황 복합물과 운동의 병행은 본 연구에서 측정된 지표들중 공복혈당과 아디포넥틴 유전자 발현에서 상승효과를 나타내는 것으로 관찰되었다. 이 결과는 아디포넥틴은 인슐린과 연계된 지방대사를 중재하는 중요한 조절인자 라는 연구내용과도 연결지을 수 있다.^{26,27}

이상의 결과를 종합할 때, 갈근과 지황 복합물 보충과 유산소 운동은 난소절제로 갱년기를 유도한 모델동물에서 에스트로겐 분비 저하로 야기된 체중, 체지방, 혈장 지질 및 혈당 대사 이상을 정상화하는 것으로 관찰되었다. 이는 갈근과 지황 복합물로 인한 아디포넥틴 유전자 발현 증가와 렙틴 저항개선, 유산소 운동으로 인한 아디포넥틴 유전자 발현 및 인슐린 수용체 발현 증가, 그리고 갈근과 지황 복합물과 유산소 운동의 병행으로 인한 아디포넥틴 유전자 발현 증가에 대한 상승효과에 기인된 것으로 사료된다. 이는 실생활 적용도가 높은 흥미로운 결과이다. 다만, 본 연구에서는 난소절제 흰 쥐에게 정상 지질 수준을 제공하

는 AIN-76A 식이를 제공하고 매일 60분간 고강도의 유산소 운동을 부여하였는데, 이는 대부분의 폐경기 여성들이 달성하기에 어려움이 많은 과도한 운동으로 사료된다. 따라서 운동 강도를 달리하였을 때 비만 및 대사이상 변화 차이를 규명하는 후속 연구가 진행되고 있다.

요 약

본 연구는 갈근과 지황 복합물과 유산소 운동이 난소절제로 갱년기를 유도한 흰 쥐에서 나타나는 지질 및 당대사에 미치는 영향을 확인하였다. 난소절제 후 8주간 AIN-76A 식이를 급여한 결과 체중증가량, 식이섭취량, 체지방, 혈장 LDL-C, 공복혈당 증가를 통해 갱년기 동물 모델이 유도되었음을 확인할 수 있었다. 갈근과 지황 복합물과 유산소 운동은 서로 다른 기전으로 에스트로겐 분비 저하로 나타나는 비만 및 대사 이상을 정상화하는 유의한 결과를 나타냈다. 지방 조직에서 확인된 관련 기전으로는 갈근과 지황 복합물로 인한 아디포넥틴 유전자 발현 증가 및 렙틴저항 억제, 유산소 운동으로 인한 아디포넥틴 및 인슐린 수용체 유전자 발현 증가, 갈근과 지황 복합물 및 유산소 운동의 병행으로 인한 아디포넥틴 유전자 발현 증가 상승효과가 관찰되었다. 이상의 결과로 갈근과 지황 복합물과 유산소 운동의 병행은 폐경기 에스트로겐 결핍으로 인한 대사 이상을 개선하는 효과가 있을 것으로 기대한다. 향후에는 폐경기 유도 동물모델의 개선과 함께 단백질 및 신호전달분자 수준에서 추가적인 기전연구가 필요할 것으로 사료된다.

References

1. Couse JF, Korach KS. Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr Rev* 1999; 20(3): 358-417.
2. Yeum KH, Lee HJ, Yeo SM, Yoo JH, Kim RH. Relation of regular exercise habit to bone mineral density in Korean climacteric women. *J Korean Geriatr Soc* 2006; 10(1): 23-30.
3. Manolio TA, Furberg CD, Shemanski L, Psaty BM, O'Leary DH, Tracy RP, Bush TL. Associations of postmenopausal estrogen use with cardiovascular disease and its risk factors in older women. The CHS Collaborative Research Group. *Circulation* 1993; 88(5 Pt 1): 2163-2171.
4. Cho SH, Cho SH, Moon H, Lee JA, Suh JK, Chung HS. The changes of vascular tone and morphology of rat thoracic aorta induced by oophorectomy. *Korean J Obstet Gynecol* 1994; 37(7): 1381-1388.
5. Park YS, Kang MS, Kim BK, Kim M. The effect of Eisenia bicyclis extracts on bone tissues in ovariectomized rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2013; 42(1): 33-39.

6. Chang MJ, Kwon KJ, Kim SH. Calcium and phosphorus balance study by soy isoflavone intake in ovariectomized rats. *Korean J Nutr* 2005; 38(1): 40-47.
7. Lim HA, Lim JS, Kim JS. Anti-diabetic effect of puerarin isolated from *Puerariae radix*. *Agric Res Bull Kyungpook Natl Univ* 2006; 24: 29-35.
8. Park CO, Kim KS, Ji YA, Ryu BH. Antioxidant activity of daidzin and puerarin toward oxidation of human low density lipoprotein. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1997; 26(1): 25-31.
9. Lee O. Effects of supplementation of *Puerariae radix* ethanol extract on the antioxidative defense system in rats. *Korean J Nutr* 2004; 37(10): 872-880.
10. Hu W, Zhang Q, Yang X, Wang Y, Sun L. Puerarin inhibits adhesion molecule expression in TNF- α -stimulated human endothelial cells via modulation of the nuclear factor κ B pathway. *Pharmacology* 2010; 85(1): 27-35.
11. Lee SY, Yean MH, Kim JS, Lee JH, Kang SS. Phytochemical studies on *Rehmanniae radix*. *Korean J Pharmacogn* 2011; 42(2): 127-137.
12. You BR, Kim HR, Kim HJ, Lee JY, Lee SY, Song MR, Park JY, Kim MR. Catalpol content and antioxidant activities in various cultivars of *Rehmannia glutinosa*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2011; 40(4): 481-485.
13. Kim YS, Son YJ, Lee YJ. Effects of *Rehmanniae radix* on the rat liver damaged with CCl₄. *Korean J Herbol* 2000; 15(1): 45-51.
14. Kitagawa I, Fukuda Y, Taniyama T, Yoshikawa M. Absolute stereostructures of rehmaglutins A, B, and D three new iridoids isolated from Chinese *Rehmanniae radix*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1986; 34(3): 1399-1402.
15. Wang MY, West BJ, Jensen CJ, Nowicki D, Su C, Palu AK, Anderson G. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23(12): 1127-1141.
16. Damirchi A, Mehdizade R, Ansar MM, Soltani B, Babaei P. Effects of aerobic exercise training on visceral fat and serum adiponectin concentration in ovariectomized rats. *Climacteric* 2010; 13(2): 171-178.
17. Pighon A, Barsalani R, Yasari S, Prud'homme D, Lavoie JM. Does exercise training prior to ovariectomy protect against liver and adipocyte fat accumulation in rats? *Climacteric* 2010; 13(3): 238-248.
18. Lien EL, Boyle FG, Wrenn JM, Perry RW, Thompson CA, Borzelleca JF. Comparison of AIN-76A and AIN-93G diets: a 13-week study in rats. *Food Chem Toxicol* 2001; 39(4): 385-392.
19. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18(6): 499-502.
20. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1): 497-509.
21. Yeo E. Menopause, ageing and obesity. *J Korean Soc Study Obes* 2002; 11(3): 289-298.
22. Lee SK. Effect of 17-beta estradiol on adipocyte lipin-1 expression in OLETF rat. *Endocrinol Metab* 2010; 25(3): 177-179.
23. Dubuc PU. Effects of estrogen on food intake, body weight, and temperature of male and female obese mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 1985; 180(3): 468-473.
24. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106(4): 473-481.
25. Fadel L. Conservation role of vitamin K in disturbance glucose homeostasis in rat ovaries and actions exercised. *Bull Appl Res Sci* 2014; 4(2): 17-25.
26. Hulver MW, Zheng D, Tanner CJ, Houmard JA, Kraus WE, Slentz CA, Sinha MK, Pories WJ, MacDonald KG, Dohm GL. Adiponectin is not altered with exercise training despite enhanced insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(4): E861-E865.
27. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Brunzell JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003; 46(4): 459-469.