J. Fd Hyg. Safety 18(2), 56–60 (2003)

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)로 처치된 흰쥐에서 어성초가 과산화지질 및 콜레스테롤에 미치는 영향

하배진† · 하종명 · 이상현 · 이재화 · 김미숙*
*신라대학교 공과대학 생명공학전공, *남도농산*

Effects of *Houttuynia cordata Thunb* on Lipidperoxide and Cholesterol in 2,3,7,8-TCDD-damaged Rats

Bae-Jin Ha†, Jong-Myung Ha, Sang-hyeon Lee, Jae-Hwa Lee, and Mi-Suk Kim*
Department of Bioscience and Biotechnology, College of Engineering, Silla University, Busan 617-736, Korea
**Saururus chinensis Baill & Houttuynia cordata Thunb Foundation and Namdonongsan, 338-2, Sang Cheon-Ri 670-852, Korea*

ABSTRACT – TCDD, one of the notorious toxic environmental pollutants, damages various organs including liver and is regarded as an endocrine disrupter. To investigate the effects of *Houttuynia cordata Thunb* (HCT) on the biochemical parameters of function, liver and serum of TCDD-treated rats were used. Seven days after the injection of TCDD (1 μg/kg), HCT (200 mg/kg) was administered to rats on every other day for four weeks. The lipidperoxide activity was examined by measuring the level of total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total lipid and triglyceride (TG) in serum, and malondialdehyde (MDA) in liver tissue of rats. Result showed that lipidperoxidation was inhibited in the significant level when 2,3,7,8-TCDD-damaged rats were treated with HCT.

Key words: TCDD, *Houttuynia cordata Thunb*, lipidperoxide, hepatotoxicity

어성초(*Houttuynia cordata Thunb*)는 삼백초과(Saururacese)에 속하는 다년생 초본으로서 중국 및 일본, 한국이 원산지로 잎과 줄기에서 '생선비린내'가 난다하여 어성초(魚腥草)라 불리게 되었다. 어성초의 약효에는 염증, 해독, 치질, 임질, 자궁염, 폐렴, 기관지염, 무좀, 악창 및 이뇨효과가 있으며 백일해, 기관지염, 간염 등의 증상을 완화한다고 알려져 있다.[1] 어성초 잎의 일반성분은 수분 10.5%, 조단백질 12.5%, 조지방 4.0%, 조회분 13.0%, 조섬유 13.8%로 나타났다. 줄기는 조단백질과 조지방이 적은 반면 섬유질이 높은 것으로 나타났으며, 동시에 필수아미노산의 함량과 불포화지방산의 함량이 높은 것으로 나타났다.[2]

어성초의 성분 중 quercitrin은 quercetin의 배당체로서 생엽에만 함유되어 있으며 이뇨, 강심작용, 뇌출혈의 예방과 모세혈관을 강화하여 혈류촉진 작용을 돕고 특히 뇌동맥의 활력증진작용 뿐만 아니라 체내지질 저하 작용이 높이 평가되고 있다.[3]

TCDD(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin)는 무색·무취의 물질로서 두 개의 벤젠핵이 두 개의 산소원자에 의해 병렬로 연결된 기본구조를 가지며 벤젠핵에 결합되어 있는 수소와 치환된 염소수(1-8개) 및 위치에 따라 75개의 동족체를 갖고 있는 polychlorinated-*p*-dioxins(PCDDs)를 통틀어 말한다. Dioxin은 광분해 및 생물학적 분해에 매우 안정하기 때문에 환경 내에 배출된 후 대부분 수중 내 퇴적물(sediment)에 축적되어 먹이사슬을 통해 동물 및 인체에 섭취된 후 지방에 용해·축적되어 제반 독성을 일으켜 선천성 기형아 출산, 여성과 남성에서의 호르몬 관련암(유방암, 고환암)유발, 자궁 출혈과 통증, 불임, 어린아이의 발육부진, 염소성 여드름과 같은 피부질환, 면역기능 저하, 말초신경질환, 중추신경계 질환 등과 관련이 있는 것으로 알려져 있다.[4,5]

활성 산소종은 생체 내에서 단백질의 SH기나 DNA와 화학결합의 절단이나 가교결합의 형성 등으로 생체 구성분자의 구조적 변화를 일으키거나,[6] 세포막의 불포화 지방산과 일련의 연쇄반응을 통하여 지질과산화 유발을 촉진하고, 과산화지질의 최종 산물인 malondialdehyde(MDA)의 함량을 증가시키는 등의 과산화지질 반응을 일으키며 이들 세포의 산화적 손상은 생리적 기능을 저하시키므로 간 질환 등의 여러 가지 질병을 초래하여 결국 노화와 유전적 장애의 원인이 된다.[7,8]

†Author to whom correspondence should be addressed.

본 연구에서는 환경호르몬인 TCDD를 처치한 rat에 어성초 추출물을 투여했을 때, cholesterol level과 Total lipid, TG, MDA의 함량에 미치는 영향을 검토하여 과산화지질과의 상호 관련성을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

식물 재료 및 추출

어성초는 경상남도 덕유산 720 m의 고랭지에서 재배한 것으로 0.2 kg을 48시간 건조하고 14 L water로 4시간동안 끓였다. 그리고 자외선으로 살균시킨 후 동결 건조하여 추출물을 얻었다.

실험 동물 및 식이

실험동물은 체중이 평균 40 g 내외의 male rat을 구입한 후 본 실험실에서 1주일간 고형사료와 물을 자유 급식시켜 실험실에서 적응시킨 후 아래와 같이 나누었다. 동물의 체중에 따라 각 군이 유사한 체중의 실험 동물을 각각 7마리씩 3군으로 나누어 1군은 정상군(NO), 2군은 TCDD 투여군(TCON), 3군은 TCDD로 유도한 후 어성초 추출물을 투여한 군(HCT)으로 정하여 4주 동안 격일로 복강 내에 투여하였다. 나머지 군은 생리식염수를 투여하였다.

Experimental design of TCDD-treated rats

Experimental group	n	1 week	2~5 weeks
NO	7	0.9% saline	0.9% saline
TCON	7	TCDD (1 μg/kg)	
HCT	7	TCDD (1μg/kg)	*Houttuynia cordata Thunb* (200 mg/kg)

NO : Normal group
TCON : TCDD-treated Control group
HCT : Houttuynia cordata Thunb (200 mg/kg)
n : number of experimental animals
10 μg/m*l* in TCDD (1 μg/kg)

혈액 및 장기 채취

실험 종료 후 실험 동물을 ether 마취 하에서 개복 한 후 심장에서 채혈하여 30분 안에 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리하였으며, 간은 적출하여 0.9% 생리 식염수로 세척하여 vial에 담아 -70°C Deep freezer에 보관하였다.

혈장 중 Total cholesterol의 함량 분석

혈장 중 콜레스테롤 함량은 총 콜레스테롤 효소 시약(Cholesterol E Kit no. BC 108-E, 영동제약)을 사용하여 분석하였다. 검체용, 표준용, 시약 blank에 각각 시료 0.02 m*l*씩 취한 다음 효소 시액 3.0 m*l*씩을 첨가하고 잘 혼합하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 시약 blank를 대조로 하여 60분 이내에 파장 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장 중 HDL-cholesterol의 함량 분석

혈장 1.0 m*l*를 원심분리기용 시험관에 넣고 침전시약 0.1 m*l*를 넣어 혼합하여 실온에서 5분간 방치한 후 10분간 원심분리하여 상층액을 시험관에 옮겼다. 그 상층액 0.02 m*l*와 효소용액(HDL-cholesterol Kit no. BC 308-HDL, 영동제약) 3.0 m*l*를 혼합한 후 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1시간 이내에 맹검을 대조로 하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장 중 LDL-cholesterol의 함량 분석

LDL-cholesterol의 함량은 Friedwald법[9]에 따라 계산하였다. LDL-cholesterol = [Total cholesterol – {HDL-cholesterol + (triglyceride/5)}]

혈장 중 Total lipid 정량 분석

Total lipid 정량은 Frings법[10]에 따라 측정하였다.

혈장 0.1 m*l*에 conc.-H_2SO_4 2 m*l*를 가하여 혼합하여 100°C의 물에 10분간 끓인 뒤 냉각하였다. 혼합액 0.1 m*l*만 test tube에 옮긴 후 5 m*l*의 phospho-vanillin reagent를 넣어 혼합하였다. 37°C 항온조에서 15분간 반응시킨 후 1시간 이내에 맹검을 대조로 하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장 중의 Triglyceride(TG)의 정량 분석

혈장 중의 TG는 Trinder법에 따라 조제된 Triglycerides Kit 시액(no. BC 118, 영동제약)을 사용하여 측정하였다.

간 조직 중의 과산화지질 Malondialdehyde(MDA) 함량에 미치는 영향

과산화지질 정량은 간 1 g을 취하여 간 무게의 5배 용량인 5 m*l*의 1/20 M Phosphate Buffer(pH 7.4)에 homogenation 시켜 마개있는 시험관에 0.5 m*l*씩 Triple로 취하였다. TBA(Thiobarbituruce Acid)변법[11]으로 7% Sodium dodesyl sulfate로 가용화시켜 여기에 0.67%(동량의 acetic acid 혼합 시약) 2 m*l*를 가하여 95°C 수욕상(Water Bath)에서 50분간 가온 후 즉시 급냉시켜 butanol 5 m*l*로 3000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 취한 후 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 흰 쥐에 환경호르몬 TCDD로 간손상을 유도하고 어성초 추출물을 처리하여 간에서의 과산화적 손상에 대한 회복정도를 관찰하였다.

혈장 중 lipid levels의 함량 분석

Total cholesterol 양은 LDL-cholesterol과 밀접한 관련을 나타내면서 변동하고 total cholesterol의 약 80%정도를 LDL-cholesterol이 차지하고 있다. LDL-cholesterol은 동맥경화의 주요원인이 되므로 수치가 높다는 것은 인체에 좋지 않은 영향을 준다. Huff 등, Mukerjce[12,13]의 보고에서, 혈중 cholesterol은 TCDD와 같은 간 장애 유발물질의 투여로 일어나는 간 손상의 유발로 지질성분이 축적되고, 심한 경우 지방변성이 일어나 혈중으로의 유출이 증가된다.

Table 1에서와 같이 total cholesterol은 TCON군에 대해 HCT를 처리한 군은 정상군(NO)의 량으로 호전되었다. 즉, 어성초 추출물이 TCDD가 유도하는 간독성과 지방성분의 축적을 억제하는 효과가 있는 것으로 생각된다.

HDL-cholesterol은 동맥 경화 유발을 저하시키므로 수치가 높을수록 좋다. 그 반대로 혈중 농도가 낮아지면 이전 질환의 위험신호라 할 수 있다. HDL-cholesterol은 TCON군에 비해 HCT군의 HDL-cholesterol량이 높은 것으로 나타났다. 이것은 HCT투여가 HDL-cholesterol 농도를 증가시킨다는 보고[14]에서와 유사한 결과를 나타내었다. 이는 어성초가 HDL-cholesterol활성의 증가에 효과적인 것으로 사료된다.

LDL-cholesterol에서는 HCT군이 TCON군에 비해 유의적이 감소를 보여 정상으로의 회복을 보였다. 따라서 동맥경화 예방에 상당히 좋은 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

Table 1. Effect of HCT on Total-Cholesterol, HDL-Cholesterol and LDL-Cholesterol values in TCDD-treated rat serum

Experimental group	NO	TCON	HCT
Total cholesterol (mg/dl)	100.95±5.57	116.99±0.01	100.43±13.37*
HDL-cholesterol (mg/dl)	28.29±1.14	23.11±0.91	27.06±2.89*
LDL-cholesterol (mg/dl)	78.80±8.48	82.06±1.34	64.52±2.34*

All values are mean±SD
Significantly different from the value of TCON group at * $p<0.05$, respectively.
NO : Normal group
TCON : TCDD-treated Control group
HCT : Houttuynia cordata Thunb (200 mg/kg)
10 μg/ml in TCDD (1 μg/kg)

Table 2. Effect of HCT on total lipid values in TCDD-treated rat serum

Experimental group	NO	TCON	HCT
Total Lipid (mg/dl)	117.24±3.45	265.51±14.63	162.07±4.87*

All values are mean±SD
Significantly different from the value of TCON group at * $p<0.05$.
NO : Normal group
TCON : TCDD-treated Control group
HCT : Houttuynia cordata Thunb (200mg/kg)
10 μg/ml in TCDD (1 μg/kg)

혈장 중 Total lipid의 정량 분석

혈장 지방질의 대부분은 α- 및 β- Globulin과 triglyceride, cholesterol 및 phospholipid 등과의 결합으로 이루어진 복합 지방단백질로서 수송된다. 혈액순환계로 들어가는 지방질들은 간으로 가서 지방단백질 복합체로 전환되어 각 조직으로 수송된다. 간은 지방단백질의 농도를 비교적 일정 수준으로 유지함으로써 간에 지방을 축적하게 하는 지방 단백질 합성을 방해하는 조건으로부터 보호한다.[15]

Total lipid 양은 Table 2에서와 같이 HCT군은 TCON군에 비해 유의성있게 감소됨을 보였다.

혈장 중의 Triglyceride(TG)의 정량 분석

혈장 중의 triglyceride농도는 지방 섭취량, 장관의 흡수, 간장의 합성 및 분비, 지방조직에서의 흡수 및 저장 등 여러 가지 조건에 따라 달라진다. Triglyceride 수치의 증가는 죽상 경화증, 관상 동맥 질환을 제외한 모든 가족성 고지혈증에서 나타난다.

Table 3에서와 같이 중성지질인 TG의 수준은 HCT군이 TCON군에 비해 lipid량과 유사한 유의성있는 감소를 보였다.

간 조직 중의 과산화지질 Malondialdehyde(MDA) 함량에 미치는 영향

과산화지질은 oxygen radicals에 의해 불포화지방산에서

Table 3. Effect of HCT on TG values in TCDD-treated rat serum

Experimental group	NO	TCON	HCT
Triglyceride (mg/dl)	33.55±1.52	50.37±2.47	35.71±1.00*

All values are mean±SD
Significantly different from the value of TCON group at * $p<0.05$.
NO : Normal group
TCON : TCDD-treated Control group
HCT : Houttuynia cordata Thunb (200mg/kg)
10 μg/ml in TCDD (1 μg/kg)

Table 4. Effect of HCT on MDA values in TCDD-treated rat serum

Experimental group	NO	TCON	HCT
MDA contents in the liver homogenates (nmol/mg protein)	9.42±0.00	18.02±0.67	12.04±0.98*

All values are mean±SD
Significantly different from the value of TCON group at * $p<0.05$.
NO : Normal group
TCON : TCDD-treated Control group
HCT : Houttuynia cordata Thunb (200mg/kg)
10 μg/m*l* in TCDD (1 μg/kg)

일어나는 연쇄반응으로 oxygen radicals의 직접적인 작용보다는 철 이온 존재하에 superoxide와 H_2O_2의 상호작용에 의해 형성되는 OH-에 의해 간접적으로 일어나며, 이의 주된 손상장소가 DNA나 세포막이다.[16,17]

체내 과산화지질의 생성정도를 알 수 있는 MDA 함량을 Table 4에 나타내었다. 간 조직에서 HCT군의 지질과산화물인 malondialdehyde(MDA)량이 TCON군에 비해 감소되어 정상군(NO)과 유사한 과산화지질량을 보였다.

그러므로, TCDD 투여가 과산화지질량을 증가시키고 어성초 추출물이 간에서 과산화지질을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

따라서 어성초 추출물을 투여한 HCT군은 TCDD로 인해 간독성이 유발된 TCON군에 비해 NO군으로 회복되는 경향으로 나타났고, 과산화지질 억제에도 탁월한 효과가 있으며 cholesterol에도 유의성있는 효과를 보였다.

국문요약

환경호르몬으로 독성이 강하기로 유명한 TCDD는 간을 포함한 각 조직에 손상을 주고, 내분비의 붕괴를 야기시킨다. 본 연구는 TCDD로 처리한 rat의 간과 혈장을 사용하여, 어성초의 생화학적 효과를 연구하였다. TCDD를 투여한 지 일주일 후부터 어성초 200 mg/kg을 4주간 격일로 투여하고 TCON군과 NO군은 saline을 투여하였다. 혈청에서 total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total lipid, triglyceride(TG)를 간조직중에서 MDA를 측정함으로써 과산화지질 활성도와 콜레스테롤의 양을 조사하였다. TCDD로 처치한 rat에 어성초 추출물을 투여했을 때, 과산화지질 및 콜레스테롤이 유의적인 수준으로 억제되었다.

참고문헌

1. 문관심: 약초의 성분과 이용., 일월서각, pp. 127 (1994)
2. Kyong, K.C.,: Physicochemical characteristics of Houttuynia cordata extracts and its application to foods., Joongang University, Master's thesis (1989)
3. 최영현, 김은영, 박건영, 이숙희, 이원효: 어성초즙 및 추출물의 항돌연변이 효과. 한국영양식량학회지, 23, 916 (1994)
4. 김영철: 다이옥신류의 발육 및 생식기계 독성. Journal of Nakdonggang Envinronmental Reserch Institute (2000)
5. Byard, J. L.,: The toxicological significance of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related compounds in human adipose tissue. *J. Toxicol. Environ. Health*., **22**, 381-403 (1987)
6. Von, Sonntag.,: In "The Chemical Basis of Radiation of biology" Tylor and Francis.(eds), Londn., pp. 31 (1987)
7. Schraufstatter, I., Hyslop, P. A., Jackon, K. H. and Chchrane, C. G.: *J. Clin. Invest.*, **82**, 1040 (1988)
8. Bartoli, G. M., Giannattasio, B. G., Palozza, P. and Cittadini, A.,: *Biochem. Biophys. Acta*., **966**, 214 (1988)
9. Friedwald, W. T., Levy, R. I. and Fedreicson, D. S.,: Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge, *Cin. Chem*, **18**, 499-598 (1972)
10. Frings CS, Dunn RT.,: A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophospho vanilin reaction. *Am J Clin Pathol*, **53**, 89-91 (1970)
11. Stacey, N.H., Ottenwaelder, H. and Kappus, H.,: CCl4-induced lipid peroxidation in Isolated Rat Hepatocytes with Different oxygen concentrations., *Toxicol. Appl. Pharmacol*., **62**, 421-427 (1982)
12. Huff J, Lucier G, Tritscher A,: Carcinogenesis of TCDD : experimental, mechanistic, and epidemiologic evidence., *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **34**, 343-372 (1994)
13. Mukerjce D, 1998, Health impact of polychloinated di-benzo-p-dioxin: a critical review. *J Air Waste Mang Assoc*, **48**, 157-165 (1998)
14. Nak-Ju Sung, Soo-Jung Lee, Jung-Hye Shin, Mi-Ja Chung and

Sang-Sun Lim,: Effects of Houttuynia cordata Thunb Powder and Juice on Lipid Composition of Liver, Brain and Kidney in Dietary Hypercholestrolemic Rats, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1230-1235 (1998)

15. Bligh EG, Dyer WJ.,: A rapid method of total lipid extraction and purification., *Can J Biochem Physiol.*, **37**, 911-917 (1959)
16. Fridovich, I.,: Superoxide dismutase, *J. Biol. Chem.*, **264**, 7764 (1989)
17. Fred, J., Yost, J. and Fridovich, I.,: Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage., *Arch. Biochem. Biophys.*, **175**, 514 (1976).