

대두식이가 당뇨병성 신경병증에  
미치는 영향

연세대학교 대학원

의 학 과

조 정 희

# 대두식이가 당뇨병성 신경병증에 미치는 영향

지도 김 승 민 교수

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2006년 6 월

연세대학교 대학원

의 학 과

조 정 희

# 조정희의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 \_\_\_\_\_인

심사위원 \_\_\_\_\_인

심사위원 \_\_\_\_\_인

심사위원 \_\_\_\_\_인

심사위원 \_\_\_\_\_인

연세대학교 대학원

2006 년 6 월

## 감사의 글

이 논문이 완성되기까지 많은 지도와 격려를 아끼지 않으신 김승민 교수님과 박경아 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 관심을 가지고 지켜봐 주신 김태승 교수님, 박기덕 교수님, 이종호 교수님과 많은 협조를 해주신 김세훈 교수님과 안수경 선생님께도 감사드립니다. 마지막으로 끝없는 사랑과 믿음으로 저를 아껴주시는 부모님께 이 논문을 바칩니다.

저 자 씬

# 차 례

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| 그림 및 표 차례                    | ii  |
| 국문요약                         | iii |
| I. 서론                        | 1   |
| II. 재료 및 방법                  | 2   |
| 1. 실험동물 및 식이                 | 2   |
| 2. Streptozotocin에 의한 당뇨쥐 유발 | 3   |
| 3. 인슐린 투여                    | 3   |
| 4. 체중 변화 및 혈당 분석             | 3   |
| 5. 말초신경 표본제작                 | 4   |
| 6. 통계처리                      | 4   |
| III. 결과                      | 5   |
| 1. 체중, 혈당 및 HbA1c의 비교        | 5   |
| 2. 신경섬유의 형태학적인 분석            | 6   |
| 3. 전자현미경 소견                  | 9   |
| IV. 고찰                       | 11  |
| V. 결론                        | 15  |
| 참고문헌                         | 17  |
| 영문요약                         | 29  |

## 그림 차례

|  |    |
|--|----|
| 그림 1. 장딴지 신경의 가로단면(x400).....                      | 8  |
| 그림 2. 장딴지 신경의 유수초 신경섬유 크기에 따른<br>빈도.....           | 9  |
| 그림 3. 유수초 신경섬유 및 무수초 신경섬유의 전자현미경<br>사진(x8000)..... | 10 |

## 표 차례

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| 표 1. 체중, 혈당 및 HbA1c의 비교.....        | 6 |
| 표 2. 장딴지 신경의 유수초 신경에서 형태학적인 분석..... | 7 |

## 대두식이가 당뇨병성 신경병증에 미치는 영향

<지도교수 김 승 민>

연세대학교 대학원 의학과

조 정 희

당뇨병성 신경병증은 당뇨 환자에서 이환율과 사망률을 증가시키는 심각한 합병증으로 병리학적으로 신경섬유의 축삭 위축이 진행하여 결국 신경섬유의 소실이 일어난다. 이 연구는 형태계측기를 이용하여 대두가 당뇨병성 신경병증에 미치는 영향을 살펴보기 위해서 Sprague-Dawley 흰쥐를 정상 대조군, 당뇨군, 대두식이 당뇨군으로 나누어 각각 4주와 8주에 실험을 실시하였다. 각 군의 혈당 및 HbA1c를 측정하고 유수초 신경섬유의 수를 세고 신경섬유 크기에 따른 분포를 평가하였으며, 광학현미경 및 전자현미경 소견을 비교하였다. 대두식이 당뇨군의 혈당은 실험 4주에는 정상 대조군과 당뇨군 사이로 조절되었고 8주에는 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군에 비해

현저하게 감소하여 정상 대조군 수준으로 조절되었다. 유수초 신경섬유의 수는 4주에는 실험군 간에 차이가 없으나 8주에는 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군은 정상 대조군에 비해 유의하게 감소하여 당뇨병성 신경병증에서의 축삭 소실을 나타내고 대두식이 당뇨군은 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군에 비해 유수초 신경섬유의 수가 유의하게 많고 정상 대조군과는 차이를 보이지 않았다. 인슐린을 투여한 당뇨군과 투여하지 않은 당뇨군 간에 유수초 신경섬유의 수는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 신경섬유의 크기에 따른 분포를 살펴보면 당뇨군과 대두식이 당뇨군은 정상 대조군에 비해 크기가 작은 섬유의 비율이 더 많았다. 전자현미경 소견상 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군은 유수초 신경 및 무수초 신경의 변성이 뚜렷하나 대두식이 당뇨군과 인슐린을 투여한 당뇨군은 정상 대조군과 마찬가지로 이러한 변성이 관찰되지 않았다. 이상의 결과를 종합할 때 대두식이 당뇨병에서 혈당의 조절 및 당뇨병성 신경병증의 예방에 도움이 될 것으로 보인다.

---

핵심되는 말 : 당뇨병성 신경병증, 대두



# 대두식이가 당뇨병성 신경병증에 미치는 영향

<지도교수 김 승 민>

연세대학교 대학원 의학과

조 정 희

## I. 서론

당뇨병성 신경병증은 당뇨 환자의 3분의 1이상에서 동반되는 합병증으로<sup>1</sup> 이환율뿐만 아니라 사망률을 증가시키고<sup>2</sup> 족부궤양 및 하지절단의 위험요인이기도 하다<sup>3, 4</sup>. 엄격한 혈당조절만으로도 거의 50%정도의 당뇨 환자에서 당뇨병성 신경병증을 예방할 수 있으나<sup>5-7</sup> 혈당의 정상화는 많은 환자에서 어려운 목표이고 혈당 조절이 증상을 완화시키고 신경기능을 향상시키기 위해서는 수년이 걸릴 수 있고<sup>5, 8</sup> 혈당조절만으로는 이미 발생한 당뇨병성 신경병증에 효과가 없을 수도 있다. 또한 엄격한 혈당관리에도 불구하고 15-21%에서 신경병증이 발생하므로<sup>9</sup> 혈당관리 외에 당뇨병성 신경병증의 치료제가 필요하다. 당뇨병성 신경병증의 병인은 아직 명확히 밝혀지지 않았으나 여러 가지 기전이 복합적으로 관여하는 것으로 생각되고 주로 대사장애와 미

세순환장애로 요약된다<sup>10, 11</sup>. 현재 당뇨병성 신경병증은 근본적인 치료 보다는 대부분 증상 완화 차원에서 이루어지고 있으며 병인에 근거한 여러 치료가 시도되었고 일부 유효하다는 보고가 있었지만 그 기능이 제한적이고 약제의 부작용으로 인해서 새로운 치료제의 개발이 필요한 실정이다.

대두가 심혈관질환, 골다공증, 유방암과 전립선암 등에 유익하다는 연구결과가 보고되었고<sup>12</sup> 동물<sup>13-15</sup> 및 임상실험<sup>16, 17</sup>에서 혈당을 개선시키는 효과가 입증되었다. 대두가 당뇨 자체에 미치는 영향에 대해서는 비교적 잘 알려져 있으나 그 합병증에 미치는 영향에 대해서는 연구가 많지 않다. 최근에 당뇨병성 신장질환<sup>18-20</sup>과 안질환<sup>21</sup>의 예방에 효과가 있다는 보고가 있으나 아직 당뇨병성 신경병증에 미치는 영향에 대한 보고는 없다.

대두가 당뇨 뿐만 아니라 당뇨병성 신경병증의 예방에 도움이 될 수 있다는 가설 하에 당뇨병성 신경병증을 유발시킨 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐의 말초신경의 조직 소견을 통해 대두가 당뇨병성 신경병에 미치는 영향에 대해서 살펴보고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 식이

실험동물은 체중 250 g내외의 Spague-Dawley계 수컷 흰쥐로 실험

군당 10마리를 사용하였다. 사료는 샘타코의 마우스용 배합사료(탄수화물 48.3%, 단백질 23.5%, 지질 5.9%, 회분 5.9%, 섬유 3.9%, 비타민, 미네랄)를 사용하였고 사료와 물을 자유롭게 먹도록 하였다. 대두식은 메주콩을 12시간 이상 물에 불려서 준비하였고 여기에는 탄수화물 22.6%, 단백질 41.3% . 지질 17.6% . 회분5.8%, 섬유 3.5% . 비타민, 미네랄이 포함되어 있다. 실험군은 사육기간별로 4주와 8주로 나누고 다시 식이에 따라서 일반식을 급여한 정상 대조군, 당뇨 유발 후 일반식을 급여한 당뇨군, 당뇨 유발 후 대두를 급여한 대두식이 당뇨군으로 구분하였다. 그리고 8주 모델에서 일반식이 당뇨군은 다시 인슐린을 투여한 군과 그렇지 않은 군으로 나누었다.

## 2. Streptozotocin에 의한 당뇨쥐 유발

당뇨를 유발하기 위하여 STZ 50mg/kg을 1회 복강 주사하였다. STZ을 주사한 후 일주일 후에 공복 상태에서 꼬리정맥으로부터 채혈하여 혈당 측정계를 이용한 혈당 농도가 350 mg/dL 이상인 것만을 당뇨병이 유발된 것으로 간주하여 실험에서 사용하였다.

## 3. 인슐린 투여

실험군에서 인슐린의 투여는 당뇨 유발이 확인된 후 휴물린-N(한국틸리주식회사, 서울)을 체중 100 g 당 1unit씩 실험일까지 피하 투여하였다.

## 4. 체중 변화 및 혈당 분석

체중은 전 실험 기간을 통하여 일주일 간격으로 일정한 시간에 측정하였으며, 혈당은 동일시간에 매주 한번 실험동물을 12시간 절식시킨 후 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 혈당계로 혈당을 측정하였으며, 마취 후 대동맥으로부터 혈액을 채취하여 혈당 및 HbA1c를 측정하였다.

#### 5. 말초신경 표본제작

실험동물을 에테르 마취하에서 saline으로 일단 모든 혈액을 씻어 낸 후 1% glutaraldehyde와 1% paraformaldehyde in 0.1M phosphate 완충용액 (pH 7.4)으로 심장을 통하여 관류 고정된 뒤 장딴지 신경 (sural nerve)를 적출하여 고정액에 1일간 고정한 후 1% osmium tetroxide에 2차 고정한다. 고정된 신경을 epon에 포매한 후 광학현미경 관찰을 위하여 1 um 두께의 절편을 제작하여 toluidine blue로 염색하여 400배의 광학현미경 하에서 사진을 촬영한 후 신경섬유의 수를 세고 Image-Pro PLUS(media cybernetics, U.S.A.)를 이용하여 신경다발과 신경섬유 및 축삭의 면적을 잰다. 전자현미경 관찰을 위하여는 epon에 포매한 신경을 초박절편으로 작성하여 uranyl acetate 와 lead citrate로 염색한 후 Philips 500 전자현미경으로 관찰한다.

#### 6. 통계처리

실험결과는 각 실험군당 평균치와 표준편차로 표시하였고, 각 군의 평균치의 통계적 유의성은 SPSS 프로그램을 이용하여 one-way ANOVA로 통계 처리한 후, LSD 방법으로 각 실험군 간의 유의도를

분석하였고  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

### III. 결과

#### 1. 체중, 혈당 및 HbA1c의 비교

인슐린을 투여하지 않은 당뇨군과 대두식이 당뇨군은 4주와 8주 모두 정상 대조군보다 체중이 작았으며 두 군간에 유의한 차이는 관찰되지 않았고 인슐린을 투여한 당뇨군은 8주에 정상 대조군과 유사한 체중을 보였다.

각 실험군의 공복시 혈당을 비교해 보면 4주에는 대두식이 당뇨군과 일반식이 당뇨군 모두 정상 대조군에 비해서 혈당이 유의하게 높고 두 군간에는 차이가 없었고 8주에는 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군이 다른 군보다 혈당이 유의하게 높고 정상 대조군을 포함한 세 군간에는 차이를 보이지 않았다.

HbA1c는 장기적인 혈당을 반영하는 것으로써 4주에는 대두식이 당뇨군은 정상 대조군보다 높으나 당뇨군보다는 낮았다. 8주에는 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군과 비교하여 정상대조군, 인슐린을 투여한 당뇨군, 대두식이 당뇨군의 HbA1c가 낮았고 각 군간에 통계학적인 차이는 없었다(표 1).

표 1. 체중, 혈당 및 HbA1c의 비교

| Groups |         | Body weight (gm)         | Glucose(mg/dl)           | HbA1c(%)               |
|--------|---------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| 4wk    | Control | 394.3±10.5               | 135.7±8.3                | 3.6±0.1                |
|        | DM      | 324.4±74.6*              | 364.1±124.9 <sup>†</sup> | 8.2±0.3 <sup>‡</sup>   |
|        | DMS     | 325.0±39.2*              | 388.4±104.2 <sup>†</sup> | 7.0±0.8 <sup>‡§</sup>  |
| 8wk    | Control | 378.6±33.5               | 177.4±20.7               | 4.0±0.3                |
|        | DM      | 295.6±53.1 <sup>  </sup> | 482.5±192.4 <sup>¶</sup> | 7.5±2.3 <sup>**</sup>  |
|        | DMI     | 395.0±51.7 <sup>††</sup> | 193.2±90.1 <sup>‡‡</sup> | 4.6±0.3 <sup>***</sup> |
|        | DMS     | 274.4±45.1 <sup>  </sup> | 234.3±60.1 <sup>‡‡</sup> | 4.0±0.4 <sup>†††</sup> |

DM, diabetic group with red chow diet; DMS, diabetic group with soybean diet; DMI, insulin-administered diabetic group with red chow diet. \*P<0.02 vs control; <sup>†</sup>P<0.001 vs control; <sup>‡</sup>P<0.001 vs control; <sup>§</sup>P<0.02 vs DM; <sup>||</sup>P<0.001 vs control; <sup>¶</sup>P<0.001 vs control; <sup>\*\*</sup>P<0.003 vs control; <sup>††</sup>P<0.001 vs DM; <sup>‡‡</sup>P<0.001 vs DM; <sup>\*\*\*</sup>P<0.03 vs DM; <sup>†††</sup>P<0.001 vs DM.

## 2. 신경섬유의 형태학적인 분석

신경섬유의 수를 비교했을 때 4주에는 정상 대조군, 당뇨군 및 대두식이 당뇨군 간에 차이를 보이지 않았으나 8주에는 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군은 정상 대조군보다 유의하게 적었다. 인슐린을 투여한 당뇨군은 투여하지 않은 당뇨군과 차이가 없었으나 대두식이 당뇨군은 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군에 비해서는 그 수가 많고 정상 대조군과는 유의한 차이가 없었다. 신경다발의 면적 및 신경섬유의 밀도는 4주와 8주 모두 각 군간에 차이가 없었다(표 2).

표 2. 장딴지 신경의 유수초 신경에서 형태학적인 분석

| Group |         | Fiber No                      | Area( $\mu\text{m}^2$ ) | Density( $\#/ \text{mm}^2$ ) |
|-------|---------|-------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| 4wk   | Control | 991.0 $\pm$ 87.2              | 66491.6 $\pm$ 19063.6   | 15699.1 $\pm$ 4185.6         |
|       | DM      | 992.8 $\pm$ 133.2             | 53304.0 $\pm$ 2558.8    | 18569.7 $\pm$ 1639.3         |
|       | DMS     | 1056.3 $\pm$ 41.8             | 54480.4 $\pm$ 9763.1    | 19750.4 $\pm$ 2817.5         |
| 8wk   | Control | 951.7 $\pm$ 110.3             | 51453.1 $\pm$ 12373.6   | 18674.0 $\pm$ 3536.6         |
|       | DM      | 857.9 $\pm$ 109.1*            | 46220.6 $\pm$ 10829.5   | 19247.2 $\pm$ 3585.1         |
|       | DMI     | 910.0 $\pm$ 24.9              | 42479.6 $\pm$ 7538.4    | 21869.1 $\pm$ 3373.1         |
|       | DMS     | 953.0 $\pm$ 54.0 <sup>†</sup> | 45169.4 $\pm$ 8923.4    | 21592.9 $\pm$ 3028.4         |

DM, diabetic group with red chow diet; DMS, diabetic group with soybean diet; DMI, insulin-administered diabetic group with red chow diet. \*P<0.03 vs control; <sup>†</sup>P<0.03 vs DM

신경섬유 수의 차이를 보인 8주 모델에서 각 군간의 장딴지 신경의 semithin section을 광학 현미경으로 관찰한 결과 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군의 경우 유수초 신경섬유의 변성이 현저한 반면 대두식이 당뇨군 및 인슐린을 투여한 당뇨군은 정상 대조군과 별다른 차이를 보이지 않았고(그림 1) 신경섬유 크기의 평균은 정상 대조군은 35.1  $\pm$  22.4  $\mu\text{m}^2$ , 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군은 28.7 $\pm$ 17.7  $\mu\text{m}^2$ , 인슐린을 투여한 당뇨군은 27.6 $\pm$ 17.9  $\mu\text{m}^2$ , 대두식이 당뇨군은 24.1 $\pm$  15.5  $\mu\text{m}^2$ 으로 당뇨군은 정상 대조군에 비해 유수초 신경섬유 크기의 평균이 작았고 대두식이 당뇨군은 정상 대조군 뿐만 아니라 당뇨군에 비해서도 평균이 작았다. 유수초 신경섬유의 크기에 따른 분포를 보

면 정상 대조군에 비해 당뇨군과 대두식이 당뇨군은 크기가 작은 신경섬유의 비율이 높았다(그림 2).

그림 1. 장판지 신경의 가로단면. 정상 대조군(A), 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군(B), 인슐린을 투여한 당뇨군(C), 대두식이 당뇨군(D) (x400)

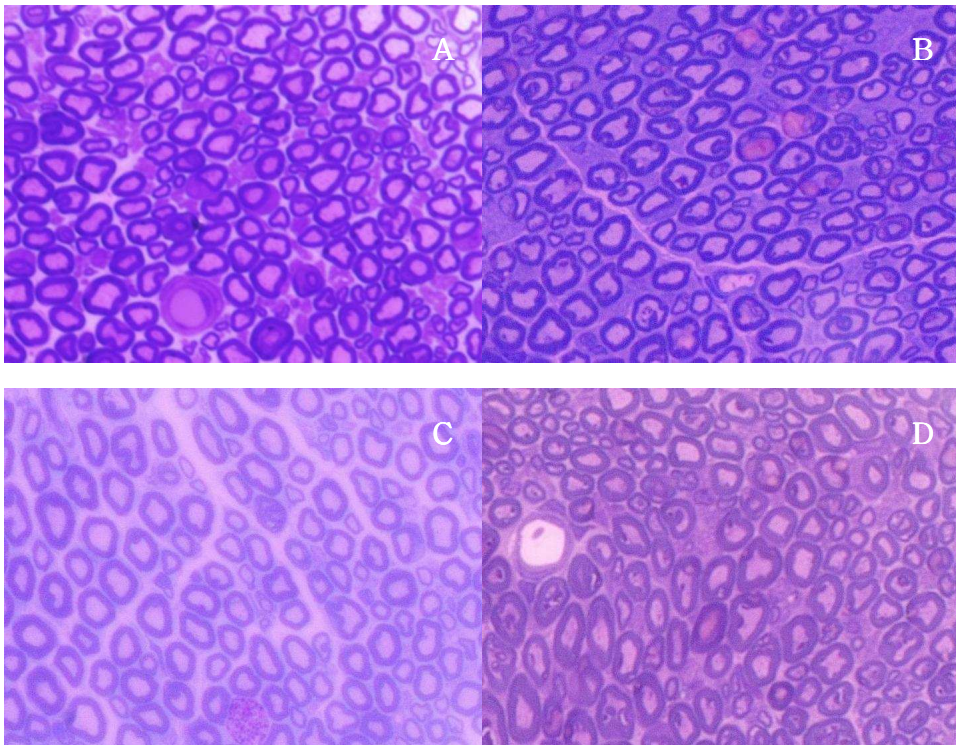
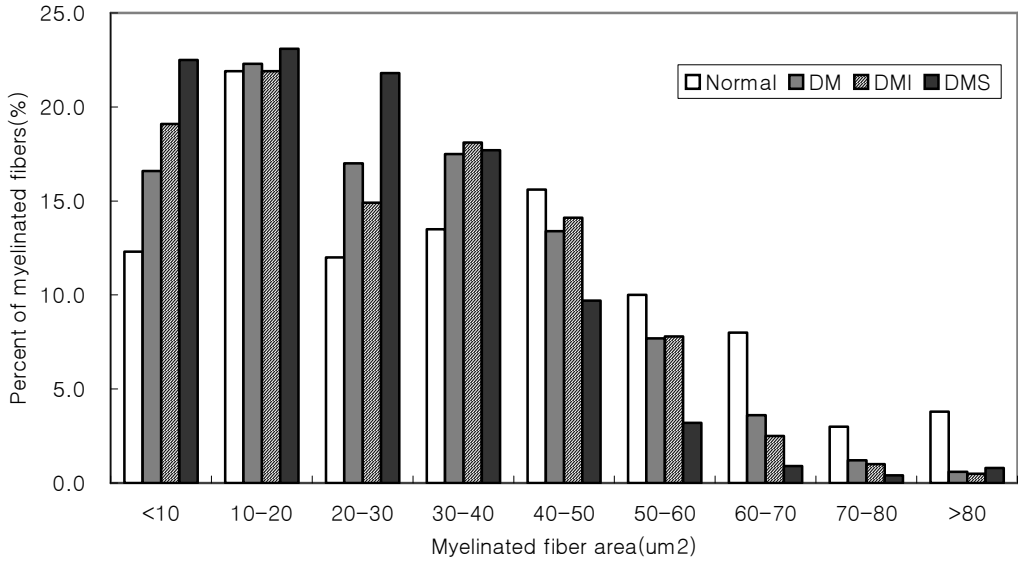




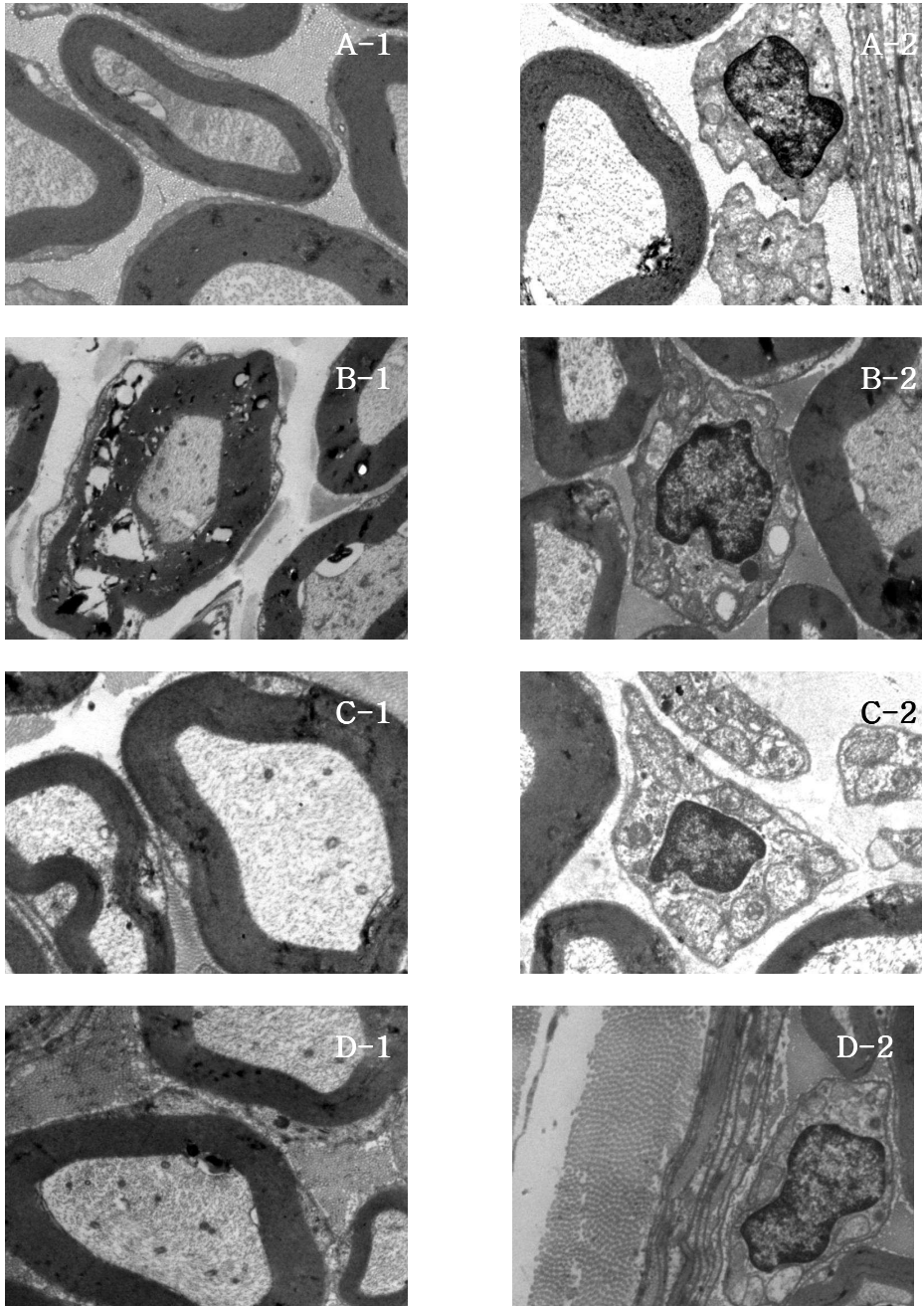
그림 2. 장딴지 신경의 유수초 신경섬유 크기에 따른 빈도



### 3. 전자현미경 소견

장딴지 신경을 전자현미경으로 관찰한 결과 당뇨 대조군에서는 유수초 신경섬유의 수초의 손상이 현저하고 무수초 신경섬유의 변성에 의한 공포가 형성되어 있는 반면 대두식이 당뇨군과 인슐린을 투여한 당뇨군은 정상 대조군과 마찬가지로 유수초 및 무수초 신경섬유의 모양이 정상적으로 유지되어 있었다. (그림 3)

그림 3. 유수초 신경섬유 및 무수초 신경섬유의 전자현미경 사진, 정상 대조군(A), 인슐린을 투여하지 않은 당뇨병군(B), 인슐린을 투여한 당뇨병군(C), 대두식이 당뇨병군(D) (x8,000)



#### IV. 고찰

당뇨병성 신경병증은 흔한 당뇨의 만성 합병증으로 제1형 및 제2형 당뇨에서 모두 유발되며 말초 신경병증의 가장 흔한 원인이기도 하다. 증상은 없으나 전기생리학적인 검사에서 신경손상이 확인되는 무증상의 환자에서 경미한 저림이나 심한 통증을 호소하는 환자까지 다양한 임상양상을 보일 수 있고<sup>22, 23</sup> 족부궤양이나 하지절단의 위험요인이기도 하다<sup>23, 24</sup>.

당뇨병성 신경병증을 일으키는 기전은 아직 명확히 밝혀지지 않았으나 고혈당증으로 인한 대사장애와 미세혈관의 이상이 복합적으로 작용하는 것으로 보인다<sup>10, 11</sup>. Sorbitol의 축적<sup>25, 26</sup>, phosphoinositide 대사의 변화<sup>27</sup>, myo-inositol의 결핍<sup>28</sup>, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 활성도의 감소<sup>29</sup>, 내피의 nitric oxide synthase (eNOS)의 감소<sup>30</sup>, NAD-redox의 불균형<sup>31</sup>, 지방산 대사와 신경 성장인자의 변화<sup>32-36</sup>와 같은 대사성 변화가 산화 스트레스를 유발하고 미토콘드리아의 기능을 손상시켜서 뉴론과 슈만세포의 세포자멸을 야기하고 내피 모세혈관의 허혈성 미세혈관 손상은<sup>33-36</sup> 신경섬유의 비가역적인 구조 손상을 일으킨다.

STZ-당뇨 유발 쥐는 가장 흔하게 사용되는 제1형 당뇨모델로써 신경의 기능적인 이상과 생화학적인 변화 뿐만 아니라 형태학적인 변화를 보여준다<sup>37, 38</sup>. 축삭의 위축과 신경섬유의 소실 및 변성,

부분적인 탈수초와 재수초형성, 혈관변화 등이 당뇨병성 신경병증의 주요 형태학적인 변화이다.<sup>39-41</sup>. 본 연구에서 당뇨군의 유수초 신경섬유의 수는 4주까지는 변화가 없으나 8주에 감소하여 STZ-당뇨 유발 흰쥐에서 당뇨병성 신경병증에 의한 축삭 소실을 관찰하기 위해서는 8주이상의 실험기간이 필요할 것으로 생각된다.

당뇨병성 신경병증은 엄격한 혈당조절만으로도 거의 50%정도의 당뇨 환자에서 예방이 가능하다고 하나<sup>5-7</sup> 엄격한 혈당관리에도 불구하고 15-21%에서 신경병증이 발생하고<sup>9</sup> 혈당의 정상화는 많은 환자에서 어려운 목표이므로 혈당관리 외에 병인에 근거한 치료제가 필요하다.

Aldose 환원효소의 억제제가 동물모델에서의 좋은 결과에도 불구하고<sup>42, 43</sup> 임상연구에서 확실한 효과를 입증하지 못했고<sup>44, 45</sup> 신경성장인자도 예비결과는 좋았지만 대규모 3상 연구에서 효과를 입증하지 못했고<sup>46</sup> 혈관내피의 성장인자가 동물실험에서 최근 좋은 결과를 보였지만<sup>47</sup> 증식성 망막증과 말초부종을 유발할 수 있으므로 임상적으로 적용하는 데 한계가 있다. 이렇듯 병인에 근거한 여러 치료가 시도되었으나 혈당관리 외에 그 효과를 확실하게 입증한 치료가 없는 실정이고 현재 당뇨병성 신경병증은 근본적인 치료보다는 대부분 증상 완화 차원에서 이루어지고 있다.

대두가 심혈관질환, 골다공증, 지방암과 전립선암 등에 유익하다는 연구결과가 보고되어<sup>12</sup> 최근 각광을 받고 있으며 대두의 혈당강하

효과는 동물실험<sup>13-15</sup>과 임상연구<sup>16, 17</sup>를 통해 입증되었고 기전으로 장에서의 당의 흡수를 억제하고 alpha-glucosidase를 억제하며<sup>48, 49</sup> 인슐린 저항성을 향상시킨다는 것<sup>50</sup>이 제시되었다. 본 연구에서도 장기간의 혈당 조절의 지표인 HbA1c가 당뇨군에서 대두식을 한 경우 일반식에 비해서 4주와 8주 모두 의미있게 감소하여 대두의 혈당강하 효과를 확인하였다. 또한 HbA1c가 4주에는 정상대조군보다 높았으나 8주에는 정상 대조군 및 인슐린을 투여한 당뇨군과도 차이가 없어 장기적인 대두식이 지속적이고 효과적으로 혈당을 조절할 수 있음을 의미한다.

체중을 비교한 결과 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군은 정상 대조군에 비해 체중이 의미있게 감소하였고 인슐린을 투여한 경우 체중감소가 관찰되지 않았다. 그리고 대두식이 당뇨군에서도 체중감소가 관찰되었으나 본 연구에서는 대두만으로 식이를 구성하여 대두의 체중에 대한 영향을 분석하기는 어려울 것으로 보인다.

최근에 대두단백이 당뇨병성 신장질환이 있는 환자에서 소변의 요소질소 및 단백뇨를 감소시키고<sup>18, 20</sup> 사구체 여과율을 줄여서<sup>19</sup> 당뇨병성 신장병에 도움이 되고 대두에서 분리한 피니톨이 당뇨쥐에서 각막 부종 및 수정체 혼탁의 발생과 진행을 억제한다는 보고<sup>21</sup>가 있었다. 본 연구에서는 대두가 당뇨병성 신경병증에 미치는 영향을 알아보기 위해서 STZ로 당뇨를 유발한 흰쥐에서 신경섬유의

형태학적 계측을 시행하고 광학현미경 및 전자현미경으로 형태학적 변화를 관찰하였다.

신경섬유의 소실을 관찰하는 지표로서 유수초 신경섬유의 수를 헤아렸고 4주에는 당뇨군에서 정상 대조군과 차이가 없어서 대두의 효과를 알 수 없었으나 8주에는 당뇨군에서 평균 857.9개로 정상 대조군의 평균 951.7개에 비해 유의하게 수가 감소하였고 대두식이었을 때 평균 953.0개로 신경섬유의 소실이 억제되었음을 알 수 있다. 또한 인슐린을 투여한 당뇨군은 대두식이 당뇨군과 혈당이 비슷한 수준으로 유지되었으나 신경섬유의 수가 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군과 차이가 없으므로 대두식의 당뇨병성 신경병증에 대한 효과는 혈당 조절 외에 다른 기전이 작용했을 것으로 생각된다. 평균 유수초 신경섬유의 크기가 감소하고 유수초 신경섬유의 크기에 대한 막대그래프가 작은 섬유쪽으로 편위된 것은 작은 유수초 신경섬유의 증가를 의미한다<sup>51-53</sup>. 당뇨군에서 크기가 작은 신경섬유 비율의 증가는 당뇨병성 신경병증에서 나타나는 신경섬유의 위축으로 설명할 수 있으며<sup>51</sup> 그 기전은 아직 명확하지 않으나 체액의 요소나 영양결핍으로 인한 정상적인 축삭의 성장 지연<sup>54-56</sup>, 세포간질의 고농도에 의한 위축<sup>51</sup>, 신경미세섬유의 소실에 의한 축삭이동의 결함<sup>54, 55</sup> 등이 제시되고 있다. 그러나 대두식이 당뇨군은 신경섬유의 수가 정상 대조군과 유사하게 유지되면서 크기가 작은 신경섬유의

수가 정상 대조군 뿐만 아니라 당뇨군에 비해서 증가했고 이는 이전 연구에서 acetyl-L-carnitine<sup>57</sup>이나 aldose reductase inhibitor<sup>58</sup>가 당뇨병성 신경병증에서 보이던 효과와 동일하며 재생된 신경섬유의 증가로 해석할 수 있다. 또한 당뇨병성 신경병증에서 신경섬유의 재생이 결핍되었다는 연구<sup>59</sup>가 있으며 이에 따르면 당뇨 쥐에서 신경을 손상시켰을 때 신경섬유 재생을 시작하는 데 필요한 초기 유전자 반응의 이상이 있다고 한다. 그러므로 대두식은 당뇨병성 신경병증에서 신경섬유의 변성을 억제하는 동시에 신경재생을 활성화시키는 것으로 생각된다.

광학현미경 및 전자현미경으로 신경섬유의 형태를 관찰한 결과 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군에서는 유수초 신경섬유의 수초의 손상과 축삭의 변성이 현저하고 무수초 신경섬유가 변성에 의한 공포가 형성되어 있는 반면 대두식이 당뇨군과 인슐린을 투여한 당뇨군은 정상 대조군과 유사하게 유수초 및 무수초 신경섬유의 모양이 정상적으로 유지되어 있음을 알 수 있었다.

본 연구에서 대두가 당뇨 쥐에서 당뇨병성 신경병증에 효과가 있음을 증명하였는 데, 대두의 어떤 성분이 이러한 효과를 나타내는지와 그 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결론

Streptozotocin으로 당뇨를 유발한 Sprague-Dawley계 흰쥐에서 일반식이 및 대두食이를 시행한 결과는 다음과 같다.

1. 당뇨군과 대두食이 당뇨군은 정상 대조군에 비해 체중이 감소하였고 두 군 간에 유의한 차이는 없었으며 인슐린을 투여한 당뇨군은 체중 감소가 없었다.
2. 대두食이 당뇨군의 혈당은 실험 4주에는 정상 대조군과 당뇨군 사이로 조절되었고 8주에는 당뇨군에 비해 현저하게 감소하여 정상 대조군 및 인슐린을 투여한 당뇨군 수준으로 조절되었다.
3. 유수초 신경섬유의 수는 4주에는 실험군간에 차이가 없으나 8주에는 당뇨군에서 정상 대조군에 비해 유의하게 감소하여 당뇨병성 신경병증에서의 축삭 소실을 나타내었고 대두食이 당뇨군에서 인슐린을 투여하지 않은 당뇨군에 비해 유수초 신경섬유의 수가 유의하게 많고 정상 대조군과는 차이를 보이지 않아서 대두食이가 당뇨병성 신경병증을 예방한 것으로 생각된다. 그러나 인슐린을 투여한 당뇨군과 투여하지 않은 당뇨군 사이에는 신경섬유 수의 차이를 보이지 않았다.
4. 신경다발의 면적과 신경섬유의 밀도는 각 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다.
5. 신경섬유의 크기에 따른 분포를 살펴보면 당뇨군과 대두食이 당뇨군은 정상 대조군에 비해 크기가 작은 섬유의 비율이 더 많았다.



6. 전자현미경 소견상 인슐린을 투여하지 않은 당뇨병은 유수초 신경 및 무수초 신경의 변성이 뚜렷하나 대두식이 당뇨병과 인슐린을 투여한 당뇨병에서는 정상 대조군과 마찬가지로 이러한 변성이 관찰되지 않았다.

이상의 결과를 종합할 때 대두가 당뇨병에서 혈당의 조절 및 당뇨병성 신경병증의 예방에 도움이 될 것으로 보인다.

### **참고문헌**

1. Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, et al. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology* 1993;43:817-824.
2. Thomas PK, Eliasson SG. Diabetic neuropathy. In: Dyck PJ, editor. *Peripheral neuropathy*. 2nd ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 1984. p.1773-1810.
3. Adler AI, Boyko EJ, Ahroni JH, Smith DG. Lower-extremity amputation in diabetes. The independent effects of peripheral vascular disease, sensory neuropathy, and foot ulcers. *Diabetes Care* 1999;22:1029-1035.

4. Reiber GE, Pecoraro RE, Koepsell TD. Risk factors for amputation in patients with diabetes mellitus. A case-control study. *Ann Intern Med* 1992;117:97-105.
5. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993;329:977-986.
6. Factors in development of diabetic neuropathy. Baseline analysis of neuropathy in feasibility phase of Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The DCCT Research Group. *Diabetes* 1988;37:476-481.
7. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998;352:837-853.
8. The effect of intensive diabetes therapy on measures of autonomic nervous system function in the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *Diabetologia* 1998;41:416-423.
9. The effect of intensive diabetes therapy on the development

and progression of neuropathy. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Ann Intern Med* 1995;122:561-568.

10. Feldman EL, Russell JW, Sullivan KA, Golovoy D. New insights into the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Curr Opin Neurol* 1999;12:553-563.

11. Verrotti A, Giuva PT, Morgese G, Chiarelli F. New trends in the etiopathogenesis of diabetic peripheral neuropathy. *J Child Neurol* 2001;16:389-394.

12. Tham DM, Gardner CD, Haskell WL. Clinical review 97: Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2223-2235.

13. Atkinson MA, Winter WE, Skordis N, Beppu H, Riley WM, Maclaren NK. Dietary protein restriction reduces the frequency and delays the onset of insulin dependent diabetes in BB rats. *Autoimmunity* 1988;2:11-19.

14. Iritani N, Sugimoto T, Fukuda H, Komiya M, Ikeda H. Dietary soybean protein increases insulin receptor gene expression in Wistar fatty rats when dietary polyunsaturated fatty acid level is

low. *J Nutr* 1997;127:1077-1083.

15. Taha SA, Wasif MM. Hypoglycemic effect and protein nutritive quality of soy and methionine-supplemented whole durum pasta products. *Nahrung* 1996;40:281-287.

16. Mahalko JR, Sandstead HH, Johnson LK, Inman LF, Milne DB, Warner RC, et al. Effect of consuming fiber from corn bran, soy hulls, or apple powder on glucose tolerance and plasma lipids in type II diabetes. *Am J Clin Nutr* 1984;39:25-34.

17. Tsai AC, Vinik AI, Lasichak A, Lo GS. Effects of soy polysaccharide on postprandial plasma glucose, insulin, glucagon, pancreatic polypeptide, somatostatin, and triglyceride in obese diabetic patients. *Am J Clin Nutr* 1987;45:596-601.

18. Azadbakht L, Shakerhosseini R, Atabak S, Jamshidian M, Mehrabi Y, Esmail-Zadeh A. Beneficiary effect of dietary soy protein on lowering plasma levels of lipid and improving kidney function in type II diabetes with nephropathy. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:1292-1294.

19. Stephenson TJ, Setchell KD, Kendall CW, Jenkins DJ, Anderson JW, Fanti P. Effect of soy protein-rich diet on renal function in young adults with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin*

Nephrol 2005;64:1-11.

20. Teixeira SR, Tappenden KA, Carson L, Jones R, Prabhudesai M, Marshall WP, et al. Isolated soy protein consumption reduces urinary albumin excretion and improves the serum lipid profile in men with type 2 diabetes mellitus and nephropathy. *J Nutr* 2004;134:1874-1880.

21. Park E, Shin JI, Park OJ, Kang MH. Soy isoflavone supplementation alleviates oxidative stress and improves systolic blood pressure in male spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2005;51:254-259.

22. Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract* 2000;47:123-128.

23. Lipnick JA, Lee TH. Diabetic neuropathy. *Am Fam Physician* 1996;54:2478-2484, 2487-2478.

24. Thomas PK. Diabetic peripheral neuropathies: their cost to patient and society and the value of knowledge of risk factors for development of interventions. *Eur Neurol* 1999;41 Suppl 1:35-43.

25. Kaul CL, Ramarao P. The role of aldose reductase inhibitors in diabetic complications: recent trends. *Methods Find Exp Clin*

Pharmacol 2001;23:465-475.

26. Kinoshita JH, Nishimura C. The involvement of aldose reductase in diabetic complications. *Diabetes Metab Rev* 1988;4:323-337.

27. Stevens MJ, Feldman EL, Greene DA. The aetiology of diabetic neuropathy: the combined roles of metabolic and vascular defects. *Diabet Med* 1995;12:566-579.

28. Greene DA, Lewis RA, Lattimer SA, Brown MJ. Selective effects of myo-inositol administration on sciatic and tibial motor nerve conduction parameters in the streptozocin-diabetic rat. *Diabetes* 1982;31:573-578.

29. Greene DA, Sima AA, Stevens MJ, Feldman EL, Lattimer SA. Complications: neuropathy, pathogenetic considerations. *Diabetes Care* 1992;15:1902-1925.

30. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Inhibition of heparin-catalyzed human antithrombin III activity by nonenzymatic glycosylation. Possible role in fibrin deposition in diabetes. *Diabetes* 1984;33:532-535.

31. Tilton RG, Chang K, Nyengaard JR, Van den Enden M, Ido Y, Williamson JR. Inhibition of sorbitol dehydrogenase. Effects on

vascular and neural dysfunction in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1995;44:234-242.

32. Hounsom L, Horrobin DF, Tritschler H, Corder R, Tomlinson DR. A lipoic acid-gamma linolenic acid conjugate is effective against multiple indices of experimental diabetic neuropathy. *Diabetologia* 1998;41:839-843.

33. Nagamatsu M, Nickander KK, Schmelzer JD, Raya A, Wittrock DA, Tritschler H, et al. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress, and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 1995;18:1160-1167.

34. Karasu C, Dewhurst M, Stevens EJ, Tomlinson DR. Effects of anti-oxidant treatment on sciatic nerve dysfunction in streptozotocin-diabetic rats; comparison with essential fatty acids. *Diabetologia* 1995;38:129-134.

35. Hotta N, Koh N, Sakakibara F, Nakamura J, Hamada Y, Wakao T, et al. Prevention of abnormalities in motor nerve conduction and nerve blood-flow by a prostacyclin analog, beraprost sodium, in streptozotocin-induced diabetic rats. *Prostaglandins* 1995;49:339-349.

36. Cameron NE, Cotter MA. Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes* 1997;46 Suppl 2:S31-37.
37. Jakobsen J. Axonal dwindling in early experimental diabetes. I. A study of cross sectioned nerves. *Diabetologia* 1976;12:539-546.
38. Yagihashi S, SK, Wada R. Different neuropathic patterns between type-I and type-II animal models. Pathogenesis and treatment of NIDDM and its related problems 1994:401-405.
39. Dyck PJ, Karnes JL, O'Brien P, Okazaki H, Lais A, Engelstad J. The spatial distribution of fiber loss in diabetic polyneuropathy suggests ischemia. *Ann Neurol* 1986;19:440-449.
40. Johnson PC, Doll SC, Crome DW. Pathogenesis of diabetic neuropathy. *Ann Neurol* 1986;19:450-457.
41. Thomas PK. Animal models of metabolic neuropathies. In: Dyck PJ, editor. *Peripheral neuropathy*. 2nd ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 1984. p.691-706.
42. Kihara M, Mitsui Y, Shioyama M, Hasegawa T, Takahashi M, Takakura S, et al. Effect of zenarestat, an aldose reductase inhibitor, on endoneurial blood flow in experimental diabetic neuropathy of rat. *Neurosci Lett* 2001;310:81-84.



43. Yagihashi S, Yamagishi SI, Wada RiR, Baba M, Hohman TC, Yabe-Nishimura C, et al. Neuropathy in diabetic mice overexpressing human aldose reductase and effects of aldose reductase inhibitor. *Brain* 2001;124:2448-2458.
44. Pfeifer MA, Schumer MP, Gelber DA. Aldose reductase inhibitors: the end of an era or the need for different trial designs? *Diabetes* 1997;46 Suppl 2:S82-89.
45. Nicolucci A, Carinci F, Cavaliere D, Scorpiglione N, Belfiglio M, Labbrozzi D, et al. A meta-analysis of trials on aldose reductase inhibitors in diabetic peripheral neuropathy. The Italian Study Group. The St. Vincent Declaration. *Diabet Med* 1996;13:1017-1026.
46. Apfel SC, Schwartz S, Adornato BT, Freeman R, Biton V, Rendell M, et al. Efficacy and safety of recombinant human nerve growth factor in patients with diabetic polyneuropathy: A randomized controlled trial. rhNGF Clinical Investigator Group. *Jama* 2000;284:2215-2221.
47. Schratzberger P, Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Pola R, Curry C, et al. Reversal of experimental diabetic neuropathy by VEGF gene transfer. *J Clin Invest* 2001;107:1083-1092.

48. Vedavanam K, Sriyayanta S, O'Reilly J, Raman A, Wiseman H. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soyabean phytochemical extract (SPE). *Phytother Res* 1999;13:601-608.
49. Lee DS, Lee SH. Genistein, a soy isoflavone, is a potent alpha-glucosidase inhibitor. *FEBS Lett* 2001;501:84-86.
50. Wagner JD, Cefalu WT, Anthony MS, Litwak KN, Zhang L, Clarkson TB. Dietary soy protein and estrogen replacement therapy improve cardiovascular risk factors and decrease aortic cholesteryl ester content in ovariectomized cynomolgus monkeys. *Metabolism* 1997;46:698-705.
51. Yagihashi S, Kamijo M, Watanabe K. Reduced myelinated fiber size correlates with loss of axonal neurofilaments in peripheral nerve of chronically streptozotocin diabetic rats. *Am J Pathol* 1990;136:1365-1373.
52. Sharma AK, Bajada S, Thomas PK. Influence of streptozotocin-induced diabetes on myelinated nerve fibre maturation and on body growth in the rat. *Acta Neuropathol (Berl)* 1981;53:257-265.
53. Sharma AK, Duguid IG, Blanchard DS, Thomas PK. The effect

of insulin treatment on myelinated nerve fibre maturation and integrity and on body growth in streptozotocin-diabetic rats. *J Neurol Sci* 1985;67:285-297.

54. Sugimura K, Windebank AJ, Natarajan V, Lambert EH, Schmid HH, Dyck PJ. Interstitial hyperosmolarity may cause axis cylinder shrinkage in streptozotocin diabetic nerve. *J Neuropathol Exp Neurol* 1980;39:710-721.

55. Dyck PJ, Lambert EH, Windebank AJ, Lais AA, Sparks MF, Karnes J, et al. Acute hyperosmolar hyperglycemia causes axonal shrinkage and reduced nerve conduction velocity. *Exp Neurol* 1981;71:507-514.

56. Xu G, Sima AA. Altered immediate early gene expression in injured diabetic nerve: implications in regeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60:972-983.

57. Sima AA, Ristic H, Merry A, Kamijo M, Lattimer SA, Stevens MJ, et al. Primary preventive and secondary interventional effects of acetyl-L-carnitine on diabetic neuropathy in the bio-breeding Worcester rat. *J Clin Invest* 1996;97:1900-1907.

58. Sima AA, Prashar A, Zhang WX, Chakrabarti S, Greene DA. Preventive effect of long-term aldose reductase inhibition

(ponalrestat) on nerve conduction and sural nerve structure in the spontaneously diabetic Bio-Breeding rat. *J Clin Invest* 1990;85:1410-1420.

59. Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, Ward JD, Manes C, Ionescu-Tirgoviste C, et al. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 2005;352:341-350.

ABSTRACT

The effect of soy bean on  
diabetic neuropathy

Jeong Hee Cho

*Department of Medicine*

*The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Seung Min Kim)

Neuropathy is a serious and disabling complication that contributes to increased morbidity and mortality in diabetic patients. There is progressive distal to proximal axonal atrophy that ultimately leads to Wallerian degeneration. This study was performed to identify the effect of soy bean on diabetic neuropathy using morphometry. Male Sprague-Dawley rats were grouped into control, diabetic with red chow diet and diabetic with

soy bean diet. The myelinated nerve fibers were counted and fiber size distributions were evaluated in each group at 4 and 8 weeks respectively. Diabetic neuropathy didn't develop in streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rats at four weeks. At 8 weeks, the myelinated nerve fiber in diabetic with soy bean diet was larger in number than diabetic to which did not be administered insulin. The number of myelinated nerve fiber was not different between diabetic group with insulin and without insulin. Mean myelinated nerve fiber size was smaller in diabetic with soy bean diet than diabetic with red chow diet and control. Histogram of fiber size distribution was shifted to left in diabetic with red chow and soy bean diet groups compared to control. Light and electron microscopic findings showed marked degeneration of nerve fibers in diabetic with red chow diet but preservation in diabetic with soy bean diet. The level of glucose and HbA1c was lower in diabetic with soy bean diet than red chow diet. Soy bean could be effective in the protection of neuropathy induced by diabetes mellitus.

---

Key words: diabetic neuropathy, soy