

LPS에 의해 유도된 3T3-L1 지방세포의 염증반응에 대한 Triacsin C의 효과 - 연구노트 -

박은주^{1*} · 마이클 스펠락²

¹경남대학교 식품영양학과

²아이오와주립대학교 식품과학인체영양학과

Effect of Triacsin C on LPS-induced Inflammation in 3T3-L1 Adipocytes

Eunju Park^{1*} and Michael Spurlock²

¹Dept. of Food & Nutrition, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea

²Dept. of Food Science and Human Nutrition, Iowa State University, Ames, IA 50011, USA

Abstract

Triacsin C, an inhibitor of acyl-CoA synthetase, is known to have antiatherosclerotic and vasodilatory activities. The aims of this study were to evaluate the effects of triacsin C on endotoxin-induced (lipopolysaccharide, LPS) inflammation in 3T3-L1 adipocytes and also to evaluate its synergistic effect with triacsin C and resveratrol, a potent antiinflammatory agent. Exposure to LPS for 18 hr increased secretion of IL-6 into the culture medium and mRNA expression of IL-6, MCP-1, TLR2, and iNOS. Pretreatment of triacsin C for 2 hr suppressed IL-6 accumulation in the medium and the induction of IL-6 expression by LPS, which was more effective than resveratrol treatment. The synergistic effect of triacsin C and resveratrol was found to reduce the expression of iNOS by LPS. However, neither triacsin C nor resveratrol affected the LPS-induced expression of MCP-1, TLR2, or iNOS. These findings indicate that triacsin C may be a local regulator of inflammation in the adipocyte, although detailed mechanisms are needed to elucidate this through further research.

Key words: triacsin C, resveratrol, 3T3-L1 adipocytes, pro-inflammatory cytokines

서 론

2010 국민건강영양조사 발표에 따르면 우리나라 성인 비만율은 30.8%로, 남자가 36.3%, 여자가 24.8%이었으며, 특히 우리나라 19세 이상 남성 비만율이 10년째 증가추세를 보이고 있는 것으로 나타났다. 또한 정상체중인 사람에 비해 비만인 사람에게 고혈압(2.5배), 당뇨병(2.0배), 고중성지방혈증(2.4배) 등이 동반될 위험이 높게 나타난 것으로 보고되었다(1). 뿐만 아니라 비만은 동맥경화, 뇌졸중, 울혈성 심부전증 등의 발병의 직접적인 위험인자로 알려져 있다(2).

지방세포는 단순히 지방의 형태로 에너지를 축적하는 저장기관일 뿐만 아니라 아디포사이토카인(adipocytokine)이라는 다양한 저분자 생리활성 물질을 분비하는 내분비 기관으로 작용한다(3). 비만과 같은 지방세포비대에 따른 아디포사이토카인의 분비이상으로 인해 지방세포로부터 interleukin-6(IL-6), monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1), plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) 등의 염증 유발성 사이토카인(cytokine)의 분비가 증가함으로 낮은 수준의 전신성 염증상태를 초래하게 되고 이는 비만성 대사 질환(제2형 당뇨, 동맥경화, 고지혈증 등)과 밀접한 관련이 있는

것으로 보고되고 있다(3,4). 최근 연구에 의하면 고지방식은 장내 세균에서 기인한 lipopolysaccharide(LPS)와 같은 내독소(endotoxin)의 체내 순환을 증가시켜 대사내독소혈증(metabolic endotoxemia)을 유발하며, 증가된 내독소는 지방세포의 toll-like receptor 4(TLR4)를 활성화시켜 염증반응과 지방조직의 팽창을 유도하는 것으로 밝혀졌다(5). 반면 비만에서 염증의 제어는 비만성 대사 질환의 발생 및 진행을 지연시키기 위한 새로운 접근 방법임이 제시되었고(6) 최근 아디포넥틴(7), resveratrol(8), 계피(9), 비타민 D₃와 비타민 E(10) 등이 LPS나 사이토카인에 의해 유도된 지방세포의 염증반응에 대한 억제효과가 있음이 보고되었다.

한편, 당뇨병환자의 혈액 내 높은 유리 지방산은 이들의 면역체계의 영향을 주어 혈액 내 염증유발인자(IL-6, TNF-α)의 농도를 증가시킨다는 가능성이 제기되었다(11,12). 이 가능성은 세포 실험을 통해서도 입증되었는데 palmitate와 같은 유리 지방산은 인간대식세포(human macrophage), 근관세포(myotube), 상피세포(endothelial cell), 지방세포(adipocyte) 등의 다양한 세포에서 염증반응을 유도(13-16)하는 반면, 유리 지방산으로부터 지방이 합성되는 것을 억제하는 triacsin C(long fatty acyl CoA synthetase inhibitor, Fig.

*Corresponding author. E-mail: pej@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2218, Fax: 82-55-244-6504

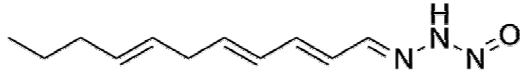


Fig. 1. Chemical structure of triacsin C.

1)를 처리할 경우 인간대식세포와 3T3-L1 지방세포에서 염증반응이 억제됨이 밝혀졌다(13,17). 이는 유리 지방산에 의해 염증이 유도되기 위해서는 지방산 아실화(acylation) 반응이 중요한 역할을 담당하고 있음을 시사한다.

Triacsin C는 이외에도 triglycerides, diglycerides, cholesterol esters의 de novo synthesis 억제(18), 대식세포로부터 거품세포의 생성 억제(19) 효능이 있으며, nitric oxide(NO)의 생성을 증가시킴으로 혈관확장 기능을 한다는 것(20,21)이 알려져 있다. 그러나 아직까지 지방산 이외에 다른 물질에 의해 유도된 지방세포의 염증반응에 있어서 triacsin C의 효과에 대해서는 알려진 바 없다. 따라서 본 연구에서는 LPS로 유도된 3T3-L1 지방세포의 염증 관련 사이토카인의 유전자 발현에 triacsin C가 미치는 영향에 대해 살펴보고, 잘 알려진 항염증인자인 resveratrol과의 효능 비교 및 두 물질의 복합처리 효과를 검증해 보고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

Low glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum(FBS), calf serum, penicillin/streptomycin 및 trypsin-EDTA은 Hyclone사(Logan, UT, USA)에서 구입하였다. TRIzol™은 Invitrogen사(Carlsbad, CA, USA), TURBO DNase™은 Ambion사(Foster City, CA, USA), iScript™ cDNA synthesis kit와 IQ™ SYBR Green Super Mix kit는 BIO-RAD사(Hercules, CA, USA), resveratrol은 TOCRIS사(Bristol, UK), insulin, isobutylmethylxanthin(IBMx), dexamethasone(DEX), lipopolysaccharide(LPS), triacsin C(from *Streptomyces* sp.), dimethyl sulfoxide(DMSO) 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 각각 구입하였다. 3T3-L1 지방전구세포(preadipocytes)는 ATCC(Manassas, VA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

3T3-L1 preadipocyte 세포배양 및 처리

DMEM(low glucose)에 10% FBS와 1% penicillin/

streptomycin이 함유된 배양액으로 6-well plate에 3T3-L1 지방전구세포를 각 well 당 1×10^5 cells의 농도로 분주한 뒤 세포가 confluent stage에 도달하면 배양액에 1.7 μ M insulin, 0.4 mM biotin, 1.0 μ M DEX, 1.5 mM IBMx를 첨가한 분화배양액을 사용하여 인큐베이터(5% CO₂, 37°C)에서 48 시간 동안 분화를 유도하였다. 분화가 유도된 후 배양액에 1.7 μ M insulin만 첨가한 insulin 배양액을 2일마다 갈아주다가 8~10일째 3T3-L1 세포가 80% 이상 분화된 것을 확인한 후 insulin을 제거한 배양액으로 갈아주었다. 다음 날 10 μ M triacsin C를 2시간 동안 처리(17) 또는 50 μ M resveratrol을 24시간 동안 처리한 다음, 100 ng/mL의 LPS를 18시간 동안 처리하였다. 모든 처리군에서 세포 생존율을 확인하여 세포 독성이 없는 것을 확인하였다. 처리를 끝낸 후 배양액은 IL-6의 정량을 위해 냉동 보관하였고 세포는 TRIzol™을 처리하여 냉동 보관하였다.

Cytokine(IL-6) ELISA

배양액의 IL-6 함량은 mouse specific enzyme-linked immunosorbent assay kits(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 제조사의 분석방법에 따라 정량하였다.

Real time quantitative PCR(실시간 증합효소연쇄반응)

Acid-phenol 시약(TRIzol™)을 사용하여 total RNA를 추출하였고, 잠재적인 DNA분해효소(DNase) 오염은 Turbo DNase™를 사용하여 제거하였다. Total RNA를 분리한 후 iScript™ cDNA synthesis kit로 역전사(reverse transcription)를 수행하여 cDNA를 합성하였다. 5X iScript reaction mix 4 μ L, iScript reverse transcriptase 1 μ L, total RNA 1 μ g을 넣고 nuclease free water로 부피를 20 μ L로 맞춘 후, DNA thermal cycler(Mycycler™ thermal cycler, Bio-Rad)로 PCR을 실시하였다(PCR 조건: 25°C(5분), 42°C(30분), 85°C(5분)).

합성된 cDNA내 IL-6, MCP-1, TLR-2, TLR-4, TNF- α 및 iNOS의 유전자 발현은 real-time PCR을 사용하여 분석하였고 실험에 사용한 primer set는 다음과 같다(Table 1). PCR 반응을 위한 thermal cycling은 95°C에서 3분간 initiation하고, 40 cycle을 95°C에서 15초(denaturation), 60°C에서 30초(annealing), 72°C에서 30초(extension)로 수행하였다. 각각의 primers에 의해서 증폭된 PCR 반응생성물은

Table 1. Primer sequences used for real-time PCR amplification

Target	Forward primer	Reverse primer
IL-6	TCCAGTTGCCTTCTTGGGACTGAT	AGCCTCCGACTTGTGAAGTGGTAT
MCP-1	CCAAGAAGGAATGGGTCCAGACAT	ACAGAAGTGCTTGAGGTGGTTGTG
TLR2	TCCCTTGACATCAGCAGGAACACT	GCAGCCGAGGCAAGAACAAGAAA
TLR4	CCGCTCTGGCATCATCTTCATTGT	TCCTCCCATTCCAGGTAGGTGTTT
iNOS	TCTTTGACGCTCGGAACGTGATGCA	ACCTGATGTTGCCATTGTTGGTGG
β -Actin	TGAGAGGGAAATCGTGCGTGACAT	ACCGCTCGTTGCCAATAGTGATGA

IL-6: Interleukin-6, MCP-1: Monocyte chemotactic protein-1, TLR2: Toll-like receptor-2, TLR4: Toll-like receptor-2, iNOS: Inducible nitric oxide synthase.

pGEMT vector로 복제한 후 전사물(transcript)이 일치하는지를 확인하기 위해 염기서열을 분석하였다. Real-time PCR반응은 IQ™ SYBR Green Super Mix kit를 사용하여 iCycler(Bio-Rad)로 측정하였다. 각 전사물의 발현량은 각각 플라스미드(plasmid)에 의해 생성된 standard curve를 이용한 regression에 의해 계산되었고 β -actin의 발현량으로 보정하였다.

자료의 처리

모든 자료의 처리는 SPSS-PC+ 통계 package(ver. 14, SPSS, Chicago, IL, USA)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균 \pm 표준편차(SD)를 구하고, 군별 유의성 검증을 위해서는 one-way 분산분석(ANOVA)을 시행하여 F 값을 구한 뒤, Duncan's multiple range test를 이용하여 각 군 간의 유의성 차이($p < 0.05$)를 검증하였다.

결과 및 고찰

지방세포는 TNF- α , IL-6와 같은 염증성 사이토카인과 보체단백질을 생성함으로 선천성 면역반응에 중요한 역할을 한다(6). 즉, 3T3-L1 지방세포 표면에 있는 TLR4에 *Escherichia coli* 외벽에 존재하는 LPS가 결합하면 Myd88 (myeloid differential factor 88)과 TRIF(toll/IL-R domain-containing adaptor inducing IFN- β)의 신호 전달 체계를 통해 전사인자인 NF- κ B와 AP-1이 활성화되며, NF- κ B와 AP-1은 핵으로 이동하여 IL-6, MCP-1, TLR2, iNOS 유전자의 발현을 유도한다는 것이 밝혀졌다(22-24). 본 연구에서도 분화된 3T3-L1 지방세포에 18시간 동안 100 ng/mL의 LPS를 처리한 결과 배양액으로 분비된 IL-6과 mRNA의 IL-6의 발현은 대조군에 비해 각각 10.7, 2.6배 증가한 것을 확인하였다($p < 0.05$, Fig. 2). 또한 TLR4(data not shown)를 제외한 다른 염증관련 유전자(MCP-1, TLR2, iNOS) 발현은 LPS 처리 시 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$, Fig. 3).

Long fatty acyl CoA synthetase의 저해제이며, 죽상동맥경화 억제 효과(antiatherosclerotic activity), 혈관확장제(vasodilator) 등의 역할을 하는 것으로 알려진(18-21) triacsin C의 항염증 효과를 알아보기 위해 10 μ M의 triacsin C를 2시간 동안 처리한 결과, LPS로 유도된 배양액내 IL-6 분비량과 mRNA IL-6 발현이 각각 73%와 35% 유의적으로 감소하였으므로($p < 0.05$) triacsin C는 LPS에 의해 유도된 염증반응을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다. 이는 본 연구의 예비실험이나 선행연구(8)를 통해 항염증 효능이 있음이 입증된 resveratrol(50 μ M, 24시간 처리)에 비해서도 배양액으로의 분비된 IL-6의 억제 효과가 더 높게 나타났다($p < 0.05$). 그러나 triacsin C와 resveratrol의 동반상승 효과는 없는 것으로 나타났다(Fig. 2).

현재까지 3T3-L1에서 LPS로 유도된 IL-6 생성 증가에

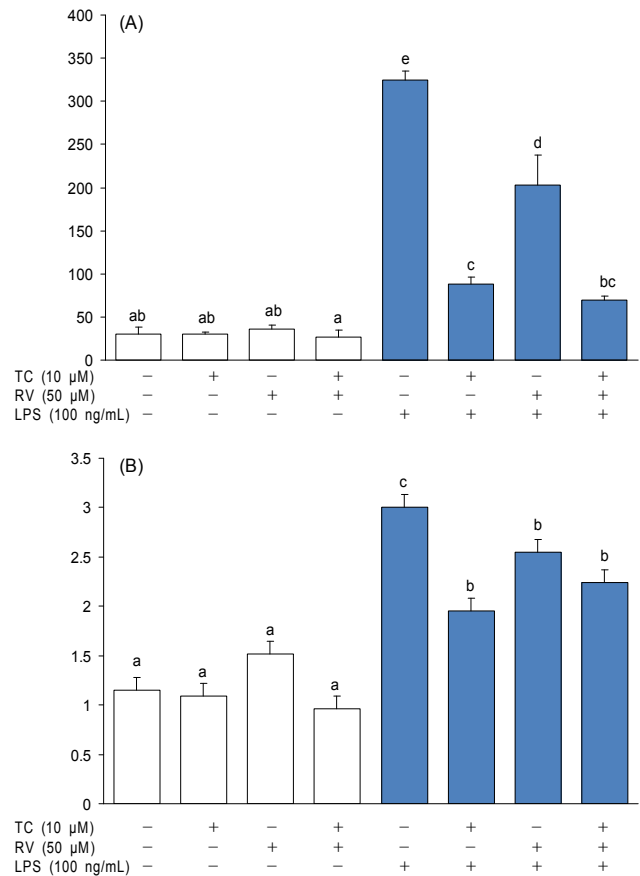


Fig. 2. Effects of triacsin C and resveratrol treatment on LPS-induced IL-6 secretion in media (A) IL-6 expression (B) in 3T3-L1 adipocytes. Cells were treated with triacsin C (10 μ M) for 2 hr and resveratrol (50 μ M) for 24 hr and then with LPS (100 ng/mL) for an additional 18 hr. Values represent means \pm SD of 5 replicate experiments. Means without a common letter are significantly different ($p < 0.05$).

대한 triacsin C의 효과에 대해서는 보고된 바 없어서 다른 연구와의 직접적인 비교가 불가능하다. Håversen 등(13)은 면역반응의 중요한 세포인 인간대식세포(THP-1)에서 palmitate 처리에 의해 유도된 염증인자 TNF- α 는 triacsin C(5 μ M, 30분)에 의해 유의적으로 감소하였고, palmitate와 LPS 동시처리로 유도된 IL-1 β 의 발현 또한 triacsin C 처리에 의해 유의적으로 감소하였음을 보고하였다. LPS 처리에 의한 유도된 IL-1 β 의 발현은 triacsin C 처리에 의해 25% 정도 감소되었으나 중요성에 대해서는 언급을 하지 않았다. 이 연구를 통해 연구자들은 palmitate가 인간대식세포에서 염증을 유도하기 위해서는 palmitoyl-CoA로 전환되어야 한다고 밝혔다. 한편, Ajuwon과 Spurlock(17)은 3T3-L1 지방세포에 10 μ M의 triacsin C를 2시간 동안 전처리한 경우 250 μ M palmitate(24시간 처리)로 유도된 NF- κ B의 활성을 유의적으로 감소시킨다고 보고하였다. 그러나 palmitate 처리에 의해 증가한 배양액 IL-6의 농도는 triacsin C 처리에 의해 오히려 더 증가한 것으로 나타났다. 이에 대해 저자는 IL-6 반응을 위해서는 NF- κ B의 활성이 반드시 우선되어야

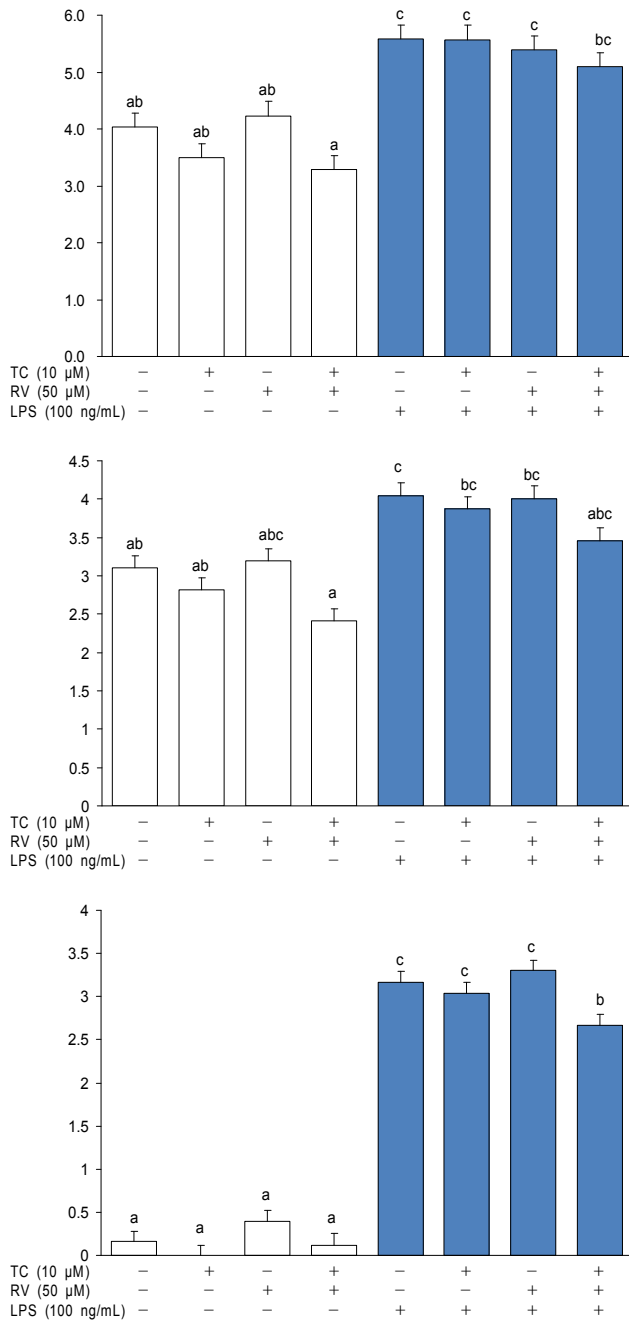


Fig. 3. Effects of triacsin C and resveratrol treatment on LPS-induced mRNA expression of MCP-1, TLR2, and iNOS in 3T3-L1 adipocytes. Cells were treated with triacsin C (10 μ M) for 2 hr and then resveratrol (50 μ M) for 24 hr and then with LPS (100 ng/mL) for an additional 18 hr. Values represent means \pm SD of 5 replicate experiments. Means without a common letter are significantly different ($p < 0.05$).

하지만 이 연구에서 triacsin C에 의해 NF- κ B의 활성화는 유의적으로 감소한 반면 배양액 IL-6의 농도가 증가한 것은 IL-6의 생성을 위한 NF- κ B pathway 이외의 또 다른 기전에 의한 것이라고 추측하였다. 이는 3T3-L1 지방세포에서 LPS로 유도된 IL-6의 발현이 triacsin C 처리에 의해 감소한 본 연구의 결과와는 상반된 것으로 두 연구 결과 차이에 대

한 가장 큰 이유는 염증 유발물질의 차이(palmitate vs. LPS)에 기인한 것으로 사료된다. 실제로 Davis 등(24)은 3T3-L1 지방세포에 500 μ M palmitate와 10 μ g/mL LPS를 처리할 경우 IL-6 등의 염증유발 사이토카인 발현, NF- κ B, AP-1 활성화, 활성산소 생성 등에 있어서 두 물질의 유의적인 차이가 있음을 보고하였다.

Triacsin C의 항염증 효과에 대한 가능한 기전으로는 LPS로 유도된 지방조직의 팽창에 대한 triacsin C의 억제와 연관이 있을 것으로 생각된다. Cani 등(5)은 마우스에 4주간 지속적으로 LPS를 투여했을 때 지방조직의 무게 및 염증관련 유전자 발현이 고지방식이를 한 대조군과 비슷한 수준으로 증가하였음을 보고하였다. 즉, LPS에 의한 지방조직의 증가와 염증관련 유전자 발현은 매우 밀접한 관련이 있을 것으로 사료된다. 반면, triacsin C는 인간대식세포에서 cholesteryl ester와 triacylglycerol의 합성을 억제함으로써 지방구를 제거하는데(19) 만약 지방조직에서도 triacsin C가 지방구를 제거하는 것이 입증된다면 LPS로 유도된 지방구의 팽창을 triacsin C가 억제함으로써 LPS로 유도된 염증반응을 간접적으로 억제할 수 있다는 가설이 가능하다. 향후 triacsin C가 LPS로 유도된 염증반응을 어떤 기전으로 억제하는지에 대해서 NF- κ B, AP-1 pathway 또는 지방세포 내 지방구의 합성 및 분해 등에 관한 자세한 기전연구가 필요한 것으로 사료된다.

Triacsin C나 resveratrol의 단독처리가 IL-6의 유전자 발현을 억제했던 것과는 달리 LPS로 유도된 지방세포의 TLR2, MCP-1, iNOS 유전자 발현을 억제하지는 않는 것으로 보인다(Fig. 3). 그러나 triacsin C 처리 후에 resveratrol을 혼합 처리한 경우 TLR2와 MCP-1 유전자 발현은 유의적이지는 않지만 감소하는 경향을 보여주었으며, iNOS의 발현은 LPS 대조군에 비해 16% 정도 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). iNOS는 숙주방어기전(host-defense mechanism)에 관여하며, 염증 자극에 의해 생성되는 효소로서(25) 최근 LPS로 염증을 유도한 마우스에서 resveratrol 투여에 의해 근육과 백색지방조직의 iNOS 생성이 유의적으로 감소하였고, 3T3-L1 지방세포에서도 LPS와 사이토카인으로 유도된 iNOS의 생성이 resveratrol 처리에 의해 감소되었음이 밝혀졌다(26). Triacsin C는 인간관상동맥상피세포(human coronary endothelial cell)와 쥐 대동맥(rat aorta)에서 eNOS palmitoylation을 억제하여 nitric oxide의 합성을 증가시키고 이로 인해 혈관확장 효과가 있음이 보고되었고(20), triacsin C가 인간상피세포의 eNOS나 iNOS 생성에 직접적으로 영향을 주지 않는다고 보고된 바 있으나(21), 현재까지 염증으로 유도된 iNOS의 발현에 triacsin C가 어떤 영향을 미치는지는 보고된 바 없다. 비록 본 연구에서는 triacsin C나 resveratrol 단독처리는 LPS로 유도된 iNOS의 발현에 전혀 영향을 미치지 못했지만 두 물질의 혼합처리에 의해 iNOS의 유전자 발현이 유의적으로 감소하였으며, 이는 3T3-L1

세포 내에서 두 물질의 작용에 의한 것으로 추측되는데 추후 연구를 통해 그 기전을 규명할 계획이다.

요 약

본 연구에서는 long fatty acyl CoA synthetase의 저해제이며, 죽상동맥경화 억제 및 혈관확장 효과가 있는 것으로 알려진 triacsin C의 LPS로 유도된 3T3-L1 지방세포의 염증반응에 대한 효과를 알아보고자 하였다. 10 μ M의 triacsin C를 2시간 동안 처리한 결과, LPS로 유도된 배양액내 IL-6 분비량과 mRNA IL-6 발현이 유의적으로 감소하였고 이는 선행연구를 통해 항염증 효능이 입증된 resveratrol(50 μ M, 24시간 처리)에 비해서도 배양액으로의 분비된 IL-6의 억제 효과가 더 높게 나타났다. 그러나 triacsin C과 resveratrol의 동반상승 효과는 없는 것으로 나타났다. Triacsin C나 resveratrol은 LPS로 유도된 지방세포의 TLR2, MCP-1, iNOS 유전자 발현에 대한 억제효과는 없는 것으로 나타났다. 그러나 triacsin C 처리 후에 resveratrol을 혼합 처리한 경우 iNOS의 발현은 LPS 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 향후 triacsin C가 LPS로 유도된 염증반응을 어떤 기전으로 억제하는 지에 대해서는 추후 연구가 필요한 것으로 사료된다. 결론적으로 이 연구에서는 지방산 합성 저해제인 triacsin C는 3T3-L1 지방세포에서 IL-6 특이적 항염증 효과가 있으며, triacsin C와 resveratrol을 동시에 처리했을 때 iNOS의 발현을 유의적으로 감소시킴을 확인하였다. 이는 내독소에 의한 지방세포의 염증반응에 대한 triacsin C의 항염증 효과를 입증하기 위한 기초자료로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 경남대학교 연구년 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- KCDC. 2010. 2009 Korea national health and nutrition and examination survey. Ministry of health and welfare, Seoul, Korea.
- Douketis JD, Sharma AM. 2005. Obesity and cardiovascular disease: pathogenic mechanisms and potential benefits of weight reduction. *Semin Vasc Med* 5: 25-33.
- Matsuzawaa Y, Shimomuraa I, Kiharaa S, Funahashia T. 2003. Importance of adipocytokines in obesity-related diseases. *Horm Res* 60: 56-59.
- Yudkin JS. 2007. Inflammation, obesity, and the metabolic syndrome. *Horm Metab Res* 39: 707-709.
- Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56: 1761-1772.
- Yu R. 2005. Modulation of obesity-related pathologies based on inflammation theory. *Food Industry and Nutrition* 10: 5-9.
- Ajuwon KM, Spurlock ME. 2005. Adiponectin inhibits LPS-induced NF- κ B activation and IL-6 production and increases PPAR γ 2 expression in adipocytes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: R1220-R1225.
- Ahn J, Lee H, Kim S, Ha T. 2007. Resveratrol inhibits TNF- α -induced changes of adipokines in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 364: 972-977.
- Cao H, Anderson RA. 2011. Cinnamon polyphenol extract regulates ristretaprolin and related gene expression in mouse adipocytes. *J Agric Food Chem* 59: 2739-2744.
- Lira FS, Rosa JC, Cunha CA, Ribeiro EB, do Nascimento CO, Oyama LM, Mota JF. 2011. Supplementing alpha-tocopherol (vitamin E) and vitamin D3 in high fat diet decrease IL-6 production in murine epididymal adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes following LPS stimulation. *Lipids Health Dis* 10: 37-41.
- Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. 2001. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E745-E751.
- de Pablo MA, Alvarez de Cienfuegos G. 2000. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol Cell Biol* 78: 31-39.
- Håversen L, Danielsson KN, Fogelstrand L, Wiklund O. 2009. Induction of proinflammatory cytokines by long-chain saturated fatty acids in human macrophages. *Atherosclerosis* 202: 382-393.
- Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. 2001. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J Biol Chem* 276: 16683-16689.
- Weigert C, Brodbeck K, Staiger H, Kausch C, Machicao F, Häring HU, Schleicher ED. 2004. Palmitate, but not unsaturated fatty acids, induces the expression of interleukin-6 in human myotubes through proteasome-dependent activation of nuclear factor- κ B. *J Biol Chem* 279: 23942-23952.
- Staiger H, Staiger K, Stefan N, Wahl HG, Machicao F, Kellner M, Häring HU. 2004. Palmitate-induced interleukin-6 expression in human coronary artery endothelial cells. *Diabetes* 53: 3209-3216.
- Ajuwon KM, Spurlock ME. 2005. Palmitate activates the NF- κ B transcription factor and induces IL-6 and TNF- α expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr* 135: 1841-1846.
- Igal RA, Wang P, Coleman RA. 1997. Triacsin C blocks de novo synthesis of glycerolipids and cholesterol esters but not recycling of fatty acid into phospholipid: evidence for functionally separate pools of acyl-CoA. *Biochem J* 324: 529-534.
- Namatame I, Tomoda H, Arai H, Inoue K, Omura S. 1999. Complete inhibition of mouse macrophage-derived foam cell formation by triacsin C. *J Biochem* 125: 319-327.
- Weis MT, Crumley JL, Young LH, Stallone JN. 2004. Inhibiting long chain fatty acyl CoA synthetase increases basal and agonist-stimulated NO synthesis in endothelium. *Cardiovasc Res* 63: 338-346.
- Weis MT, Brady M, Moore M, Crumley J, Stallone JN. 2005. Inhibiting long-chain fatty acyl CoA synthetase does not increase agonist-induced release of arachidonate metabolites from human endothelial cells. *J Vasc Res* 42: 275-283.

22. Lin Y, Lee H, Berg AH, Lisanti MP, Shapiro L, Scherer PE. 2000. The lipopolysaccharide-activated toll-like receptor (TLR)-4 induces synthesis of the closely related receptor TLR-2 in adipocytes. *J Biol Chem* 275: 24255-24263.
23. Ajuwon KM, Jacobi SK, Kuske JL, Spurlock ME. 2004. Interleukin-6 and interleukin-15 are selectively regulated by lipopolysaccharide and interferon- γ in primary pig adipocytes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R547-R553.
24. Davis JE, Gabler NK, Walker-Daniels J, Spurlock ME. 2009. The c-Jun N-terminal kinase mediates the induction of oxidative stress and insulin resistance by palmitate and toll-like receptor 2 and 4 ligands in 3T3-L1 adipocytes. *Horm Metab Res* 41: 523-530.
25. Nathan C. 1997. Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make? *J Clin Invest* 100: 2417-2423.
26. Centeno-Baez C, Dallaire P, Marette A. 2011. Resveratrol inhibition of inducible nitric oxide synthase in skeletal muscle involves AMPK but not SIRT1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 301: E922-E930.

(2012년 1월 26일 접수; 2012년 2월 7일 채택)