

## 저농도 레반 공급이 혈중 지질 및 체지방 형성과 UCP 발현에 미치는 영향

강순아<sup>†</sup> · 홍경희 · 장기효 · 김소혜 · 장은경\* · 김철호\* · 조여원\*\*

경희대학교 동서의학대학원 임상영양전공

\*(주)리얼바이오텍

\*\*경희대학교 임상영양연구소

### Effects of Low Level of Levan Feeding on Serum Lipids, Adiposity and UCP Expression in Rats

Soon-Ah Kang<sup>†</sup>, Kyung-Hee Hong, Ki-Hyo Jang, So-hye Kim, Eun-Kyung Jang,\*  
Chul-Ho Kim\* and Ryowon Choue\*\*

Dept. of Medical Nutrition, Graduate School of East-West Medical Science,

Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

\*RealBiotech Co. Ltd., KRIBB, Taejon 305-333, Korea

\*\*Research Institute of Clinical Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

#### Abstract

This study described the effect of levan ( $\beta$ -2,6-linked fructose polymer) feeding on serum lipids, adiposity and uncoupling protein (UCP) expression in growing rats. Levan was synthesized from sucrose using bacterial levansucrase. UCP is a mitochondrial protein that uncouples the respiratory chain from oxidative phosphorylation and generates heat instead of ATP, thereby increase energy expenditure. We observed that 3% or 5% levan containing diet reduced serum triglyceride levels, visceral and peritoneal fat mass and induced the UCP expression in rats fed high fat diet in previous study. To determine whether the intake of low level of levan may have the hypolipidemic and anti-obesity effect, 4 wk old Sprague Dawley male rats were fed AIN-76A diet for 6 wk, and sub-sequently fed 1% or 2% levan solution for further 5 wk. Intake of 1% levan in liquid form reduced serum triglyceride and serum total cholesterol levels to 50% and 66% of control group, respectively. Although epididymal and peritoneal fat masses were not affected by levan feeding, visceral fat mass was lower in 1% levan group compared to control group. The expression of UCP2 mRNA in brown adipose tissue, skeletal muscle and hypothalamus and UCP3 mRNA in skeletal muscle were not changed by levan feeding, while the UCP2 mRNA in white adipose tissue was up-regulated by levan feeding. In conclusions, intake of low level of levan solution reduced serum triglyceride and total cholesterol, restrained the visceral fat accumulation and increased UCP expression in white adipose tissue in rats. This study suggests that hypolipidemic and anti-obesity effect of levan attributed to anti-lipogenesis and inefficent energy utilization by up-regulation of UCPs.

**Key words:** levan, serum lipids, fat mass, UCP expression

#### 서 론

식이 섬유소, 특히 수용성 식이 섬유소의 혈중 콜레스테롤과 중성지방 강하 효과에 대한 관심이 높아져 가는 가운데, 최근 혈중 지질 대사 개선 효과의 가능성을 보여주는 기능성 식품 소재 중 하나가 난소화성의 프락탄(fructan)이다(1). 프락탄은 자연계에 널리 존재하는 프락토스의 중합체(fructose polymer)로 섭취하였을 경우 장내 미생물에 의해 이용되어 장내 비피더스균의 성장을 촉진시키고 장내 미생물에 의한 발효로 단쇄 지방산(short-chain fatty acids, SCFA) 생성을 증진시킴으로써 혈중 콜레스테롤 및 중성 지방농도를 낮추는 것이

밝혀졌다(1,2). 또한 변비, 설사, 골다공증, 심혈관계 질환, 비만, 당뇨병 등의 질환 위험률을 낮추고 항암 효과를 갖는 등 건강에 유익한 여러 생리적인 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(1).

프락탄은 프락토스가  $\beta$ -(2,1) 결합으로 연결된 이눌린형(inulin-type) 프락탄과 프락토스가  $\beta$ -(2,6) 결합으로 연결된 레반형(levan-type) 프락탄으로 분류될 수 있다(3). 이눌린은 중합도가 20~60으로 치커리나 돼지감자, 양파, 다알리아 등의 식물의 뿌리에서 추출되며 중합도가 20 이하인 이눌린은 프락토올리고당(fructooligosaccharide)로 정의된다(4). 이눌린과 프락토올리고당 모두 장내 비피더스균 등의 미생물에 의해 발효

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: sakang@khu.ac.kr  
Phone: 82-2-961-9224. Fax: 82-2-961-9214

되어 혈중 지질을 낮추는 효과를 나타낸다고 보고되었다(5,6). 또한, 이눌린형 프락탄을 섭취하였을 때 쥐에서 체지방 형성 및 체중 증가를 억제하고(7,8) 임상 연구에서 체중 감량을 촉진하는 것으로 보고되어(9) 프락탄의 항 비만 효과 가능성이 제시되었다.

이눌린과 결합 방식이 다른 프락탄인 레반(Fig. 1)은 식물에도 존재하나 설탕으로부터 미생물의 levansucrase에 의해서 합성되며(10), 불용성인 이눌린과 달리 그 분자량에 비해 점도가 낮고 수용성 성질을 가지고 있어 기능성 식품 소재로서의 가능성을 보여주고 있다(11).

이눌린의 생리적 효과에 대한 연구들은 많이 보고되어 왔으나 레반의 효과에 관한 연구는 아직 미비하다. 선행 연구(12)에서 고지방 식이로 비만이 유도된 흰쥐에게 레반을 식이 무게의 3% 또는 5%로 섭취시켰을 때, 대조군의 50% 수준으로 혈청 중성 지방이 감소하는 결과가 나타났고, 레반을 식이 중 5%로 섭취시켰을 때, 체지방과 혈청 렙틴 농도가 감소하는 결과를 보였다.

지방조직에서 분비되는 호르몬인 렙틴은 식욕을 감소시키고 에너지 소비율을 증가시켜 에너지 대사 및 체중 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다(13). 또한, 미토콘드리아 내막에 존재하는 단백질인 UCP(uncoupling protein)는 미토콘드리아에서 산화적 인산화 과정에 의해 발생된 proton을 ATP 대신 열로 발생시켜 에너지 소비율을 증가시키고 이에 의해 비만 예방에 효과를 가지는 것으로 보인다(14,15). 발열 반응의 주요 담당기관인 갈색지방 조직에서 발견되는 UCP1 외에 기타 조직에서도 UCP가 발견되었는데, 백색지방 조직, 근육, 뇌, 간 등 체내에 광범위하게 분포되어 있는 UCP2와 근육에서 주로 발견되는 UCP3가 UCP1과 함께 에너지 대사를 조절하는 것으로 보고되었다(16,17).

선행 연구에서 고농도의 레반을 공급한 쥐에서 갈색 지방 조직과 근육의 UCP mRNA 발현량 증가와 함께 체지방 축적이 억제되고 지방 세포 크기가 감소하는 결과는 레반 섭취가 UCP 발현량 증가를 매개로 하여 에너지 소비를 증가시키고 항 비만 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.

본 연구에서는 선행 연구(12)의 3% 레반보다 더 낮은 1%,

2% 레반 용액을 경구로 투여시에 나타나는 효과를 알아보고자 레반을 식이로 공급하는 대신 정상 식이를 공급하면서 레반을 경구로 투여하였을 때 혈중 지질과 체지방 형성, 렙틴 농도, UCP 발현에 미치는 효과를 알아보고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물의 사육 및 식이

본 연구에서는 3주령 Sprague-Dawley 중 수컷 흰쥐를 중앙 실험동물사에서 구입하여 1주일간 적응시킨 후 실험 동물 4주령부터 10주령까지 6주간 AIN-76A 식이(AIN-76A diet #100000(Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA)로 사육하였다(Table 1). 10주령부터 5주간 같은 식이로 사육하면서 레반을 각각 0%, 1%, 2%(W/V) 농도로 증류수에 녹여 실험동물 개체당 2 mL씩 경구투여하여 대조군(C), 1% 레반군(C+L1), 2% 레반군(C+L2)으로 하였다. 레반을 수용액으로 만들어 2 mL를 하루에 투여했으므로 하루 식이 섭취량 20 g을 기준으로 할 때 실제 레반 투여량은 각각 20 mg/day, 40 mg/day가 되며 레반을 식이에 혼합하여 만든 시료와는 달리 레반용액은 극도로 적은 양의 레반을 공급한 것이다. 레반 공급 전 10주령의 실험동물을 기준선(baseline)으로 하였다. 실험에 사용한 레반은 (주) 리얼바이오텍(한국생명공학원내 소재, 대전)에서 미생물 *Zymomonas mobilis*를 이용하여 생산한 제품을 공급받

Table 1. Composition of experimental diets<sup>1)</sup> (g/kg diet)

Ingredients	AIN-76A diet
Casein	200
DL-Methionine	3
Corn starch	150
Sucrose	500
Cellulose	50
Corn oil	50
Salt mixture	35
Vitamin mixture	10
Choline bitartrate	2

<sup>1)</sup>Normal diet: AIN-76A diet #100000 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA).

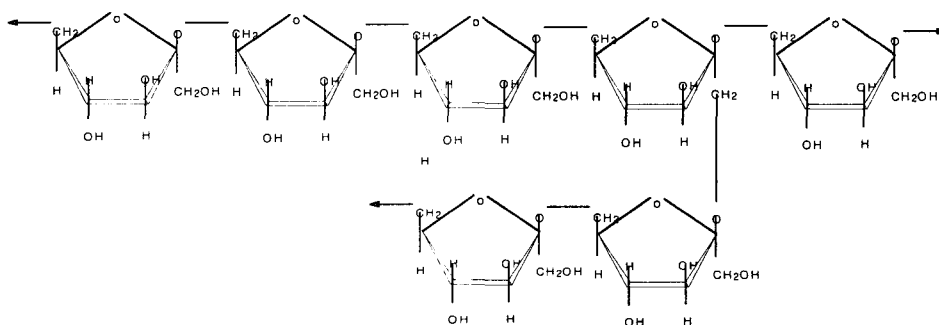


Fig. 1. Chemical structure of levan.

Levan consists of  $\beta$ -D-fructofuranosyl residues linked predominantly through  $\beta$ -(2,6) linkage and the branch is connected to the main chain by a  $\beta$ -(2,1) linkage; the branch then continues with  $\beta$ -(2,6) linkage.

았다.

실험동물은 한 마리씩 분리하여 사육하였고, 물과 식이는 제한없이 공급하였다. 액상 레반은 매일 오전 10시에 1회 경구 투여하였고 대조군은 같은 양의 증류수를 경구 투여하였다. 실험 기간 동안 식이 섭취량과 체중은 일주일에 2회 측정하였다. 식이 효율(food efficiency ratio: FER)은 실험 식이 공급일로부터 희생일까지를 총 실험기간으로 하여 실험 기간 동안의 체중 증가량을 실험 기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다.

#### 시료수집

레반을 공급하기 전 10주령을 기준시점으로 시료를 채취하고 5주간 레반 공급 후 즉, 15주령이 된 시기에 실험동물을 희생하여 혈액과 장기를 채취하였다. 갈색지방 조직(intercapular brown adipose tissue), 부고환 지방(epididymal fat), 내장 지방(visceral fat), 복막 지방(peritoneal fat), soleus 근육, 뇌를 분리하여 중량을 측정하였고, 추출 즉시 액체 질소로 동결하였다. 혈액은 희생 시 heart puncture 방법으로 채취한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며 이들 시료는 분석시까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

#### 혈중 지질 및 포도당, GOT, GPT 분석

혈청의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, 포도당, GOT, GPT 함량을 Sigma Chemical사(St. Louis, MO)의 kit을 이용하여 측정하였다.

#### 혈중 leptin 및 insulin 함량 분석

혈청 중 leptin 함량은 Linco leptin assay kit(Linco research Immunoassay, St. Charles, MO)를 이용하여 방사선 면역능을 측정하였고, insulin 함량은 rat insulin standards(Linco, St. Louis, MO)를 이용하여 방사선 면역능을 측정하였다.

#### Uncoupling protein mRNA 분석

Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction(RT-PCR)을 이용하여 Uncoupling protein(UCP)의 발현량을 측정하였다. 갈색지방조직에서 UCP 1, 2, 3 mRNA 발현량을 측정하였고, 백색지방조직의 분석을 위해 부고환 지방조직에서 UCP 2 mRNA 발현량을 측정하였으며, 근육의 UCP mRNA 함량 측정을 위해 soleus 근육에서 UCP 2, 3 mRNA 함량을 측정하였다. 또한, 식욕 중추가 존재하는 뇌의 시상하부에서의 UCP 2 mRNA 함량을 측정하였다(18).

실험동물에서 분리한 조직으로부터 Trizol reagent(Gibco)를 이용하여 RNA를 분리하고 spectrophotometer를 이용하여 정량하였다. 분리된 총 RNA로부터의 cDNA를 합성을 위하여 2  $\mu\text{g}$ 의 RNA를  $70^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 열처리한 후  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 5분동안 방치하고 여기에 M-MLV(Promega) 200 U, dNTP (each 2.5 mM) mix 2  $\mu\text{L}$ , RNasin(Promega) 40 U, oligo(dT) primer(Promega C1101) 1  $\mu\text{L}$ 를 혼합한 후 DEPC-water로 25  $\mu\text{L}$ 를 맞추어  $42^{\circ}\text{C}$  1시간,  $75^{\circ}\text{C}$  15분 조건하에서 cDNA를

합성하였다.

합성된 cDNA로부터 UCP의 발현량을 측정하기 위하여 primer를 제작하였고 house keeping gene으로는  $\beta$ -actin을 이용하였다. 실험에 사용한 primer와 product size는 다음과 같다. UCP1 sense 5'-TAC CCA CAT CAG GCA ACA G-3', antisense 5'-TCA TTG CAC AGC TGG GTA C-3', (product size 842 bp), UCP2 sense 5'-ACA GCA GCC TGT ATT GCA G-3', antisense 5'-TTG TAG GCT TCG ACA GTG C-3', (product size 428 bp), UCP3 sense 5'-ACC ATG GTT GGA CTT CAG C-3', antisense 5'-AGT TCC CAG CGT ATC CAT G-3'(product size 450 bp).

유전자 발현량을 측정하기 위한 PCR 조건은 다음과 같다. Taq polymerase(TaKaRa) 0.125  $\mu\text{L}$ ,  $10\times$  PCR buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , dNTP mix 2  $\mu\text{L}$ , primer, sample, 증류수로 25  $\mu\text{L}$ 를 맞추어 후  $94^{\circ}\text{C}$  3분,  $94^{\circ}\text{C}$  30초,  $60^{\circ}\text{C}$  1분,  $72^{\circ}\text{C}$  1분 30초, 30회 반복한 후  $94^{\circ}\text{C}$  30초,  $60^{\circ}\text{C}$  1분,  $72^{\circ}\text{C}$  10분, 1회 PCR을 하였다. PCR 산물은 1.5% agarose에서 100 V 하에서 전기 영동하여 분리한 후 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 EtBr에서 30분동안 염색하고 증류수에서 15분 동안 탈색하여 transilluminator에서 관찰하였다.

#### 자료의 처리

각 실험군간의 차이를 one-way ANOVA에 의하여 검정하고  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다. 유의성은  $\alpha=0.05$  수준에서 검정하였고, 모든 통계 분석은 SAS programe를 이용하여 처리하였다. 결과는 평균(mean)  $\pm$  표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였다.

## 결 과

#### 식이 섭취, 체중 증가량 및 식이효율

실험동물의 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이효율의 결과는 Table 2와 같다. 식이 섭취량은 레반군이 대조군보다 유의적으로 적었고 1% 레반군과 2% 레반군간에는 차이가 없었다. 체중 증가량은 대조군에 비해 레반군이 약간 적은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 보이지 않았고, 식이효율은 실험군간에

**Table 2. Daily food intake, weight gain and food efficiency ratio (FER) of experimental animals**

	Food intake (g/day)	Weight gain (g/day)	FER
10 wks baseline	23.37 $\pm$ 3.77 <sup>1)</sup>	6.01 $\pm$ 1.03	0.264 $\pm$ 0.048
Control	24.96 $\pm$ 5.13 <sup>a2)</sup>	3.13 $\pm$ 0.76	0.125 $\pm$ 0.026
1% levan	20.68 $\pm$ 1.16 <sup>b</sup>	2.86 $\pm$ 0.29	0.130 $\pm$ 0.021
2% levan	20.09 $\pm$ 2.13 <sup>b</sup>	2.95 $\pm$ 0.84	0.136 $\pm$ 0.027

<sup>1)</sup>Values are mean  $\pm$  SD.

<sup>2)</sup>Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Duncan's Multiple Range test. Values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at  $p<0.05$  by Duncan's Multiple Range Test.

차이가 없었다.

**혈청 지질 및 포도당 농도**

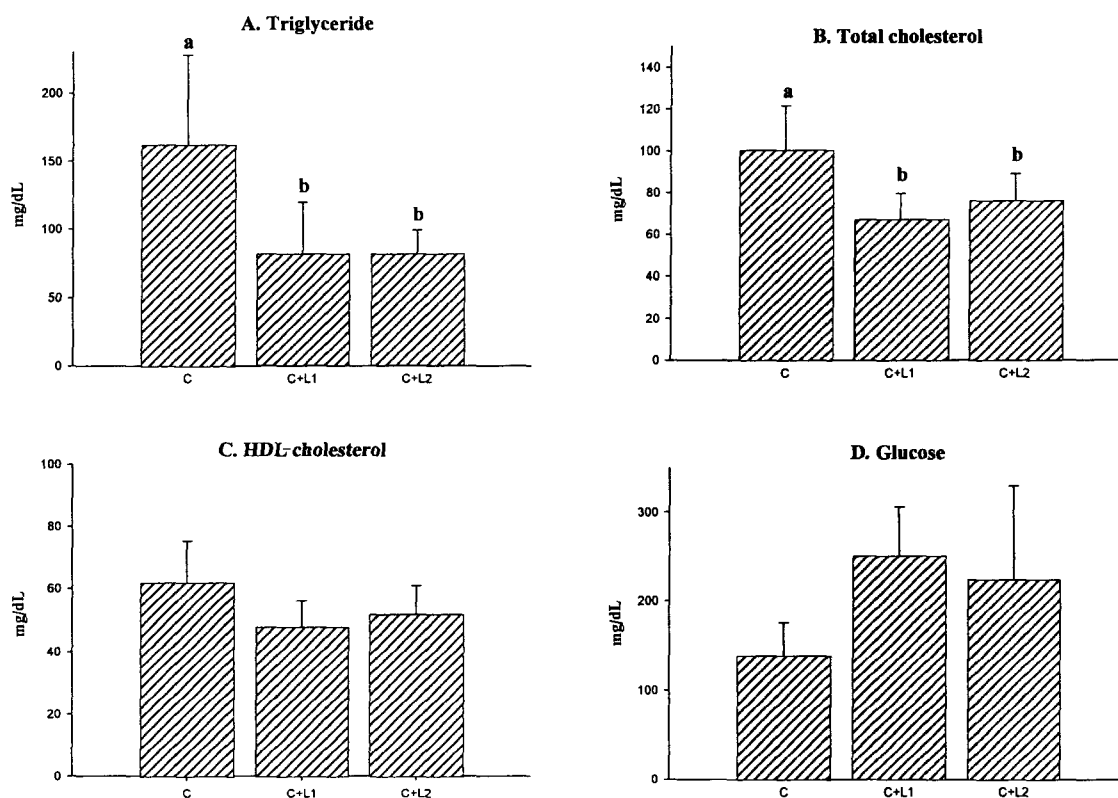
혈청 지질 및 포도당 농도의 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 혈청 중성지방은 대조군에 비해 레반군에서 크게 감소하여 통계적으로 낮은 값을 보여, 1% 레반군(81.75±37.98 mg/dL)과 2% 레반군(80.80±mg/dL)은 각각 대조군(161.20±31.33 mg/dL)의 51%, 50% 수준으로 낮았다. 또한, 1% 레반군과 2% 레반군간에는 혈청 중성 지방 농도에 차이가 없었다. 혈청 총 콜레스테롤 농도도 대조군(100.22±21.35 mg/dL)에 비해 1% 레반군(66.25±13.23 mg/dL)과 2% 레반군(75.60±13.33 mg/dL)에서 유의적으로 감소하여 대조군의 66~75% 수준이었다. 반면, 혈청 HDL 콜레스테롤 농도는 그룹간 차이를 보이지 않았고, 혈청 포도당 농도도 실험군간에 차이가 없었다.

**지방 조직의 무게**

각 실험군의 갈색지방조직, 부고환지방, 복막 지방, 내장 지방 무게를 비교한 결과는 Table 3과 같으며 각 지방 조직 모두 단위 체중에 대한 조직무게로 환산하여 표시하였다. 갈색 지방 조직과 부고환지방, 복막 지방 무게는 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 내장 지방 무게는 1% 레반군(21.02±4.01 mg/g BW)과 2% 레반군(22.24±5.32 mg/g BW)이 대조군(31.11±8.94 mg/g BW)보다 유의적으로 낮았다.

**혈청 인슐린, 렙틴, GOT, GPT 농도**

혈청 인슐린 농도는 1% 레반군에서 다른 실험군에 비해 낮은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았고, 혈청 렙틴 농도도 레반군에 대조군보다 낮은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다(Table 4). 혈청 GOT 농도와 혈청 GPT



**Fig. 2** Effect of levan feeding on serum glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride levels. Values are mean±SD. Different letters indicate significant difference (p<0.05) among groups by Duncan's Multiple Range Test. C: Control diet, C+L1: Control diet+1% levan, C+L2: Control diet+2% levan.

**Table 3.** Effect of levan feeding on adipose tissue mass (mg organ/g BW)

	Brown adipose tissue	Epididymal fat	Peritoneal fat	Visceral fat
10 wks baseline	0.742±0.236 <sup>1)</sup>	8.98±1.57	10.08±2.27	10.07±5.57
Control	0.781±0.167	19.37±5.42	24.21±8.32	35.21±8.94 <sup>2)</sup>
1% levan	0.727±0.139	16.54±4.34	21.02±5.61	21.02±4.01 <sup>b</sup>
2% levan	0.781±0.107	19.79±5.59	25.32±3.80	22.24±5.32 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean±SD.

<sup>2)</sup>Statistical analysis was performed using one way ANOVA followed by Duncan's Multiple Range test. Values within a column with different superscript letters are significantly different from each other at p<0.05 by Duncan's Multiple Range Test.

농도는 실험군간에 차이가 나타나지 않았다(Table 4).

## 고 찰

### UCP mRNA 발현

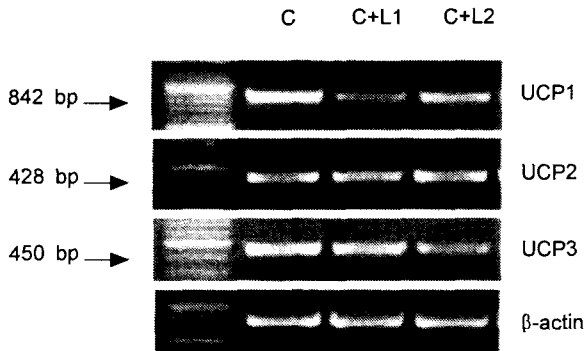
실험동물에서 분리한 갈색지방 조직, 백색 지방 조직, soleus 근육, 뇌의 시상하부에서의 UCP mRNA 발현량을 RT-PCR 을 이용하여 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 갈색지방 조직의 UCP1과 UCP3 발현은 대조군에 비해 레반군에서 약간 감소하는 경향을 보였고, UCP1은 1% 레반군에서, UCP3는 2% 레반군에서 발현이 더욱 감소하였다. 갈색지방 조직의 UCP2 발현은 실험군간 차이를 보이지 않았다. 골격 근육의 UCP 발현량 측정을 위하여 soleus 근육의 UCP 2와 UCP 3를 측정된 결과 mRNA 발현량은 실험군 간에 큰 차이를 보이지 않았다. 부고환지방의 UCP2 mRNA 함량은 대조군에 비해 1% 레반군과 2% 레반군 모두에서 증가하는 경향을 보였다. 뇌의 시상하부에서의 UCP2 발현은 실험군간에 차이를 보이지 않았다.

**Table 4. Effect of levan feeding on serum insulin, leptin, GOT and GPT levels**

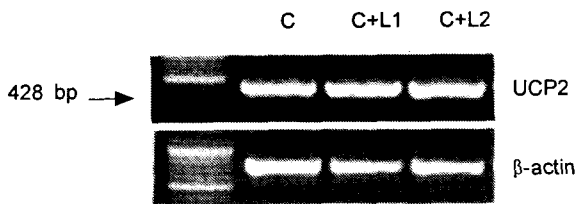
	Insulin (ng/mL)	Leptin (ng/mL)	GOT (units/mL)	GPT (units/mL)
10 wks baseline	-	1.09±0.32	137.0 ±52.67	32.8 ±9.26
Control	0.66±0.71 <sup>1)</sup>	8.10±5.97	196.67±29.70	52.78±5.38
1% levan	0.32±0.30	3.70±1.90	111.25±29.24	33.25±5.91
2% levan	0.35±0.26	6.22±2.07	130.20±75.57	32.80±2.28

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD.

### A. BAT

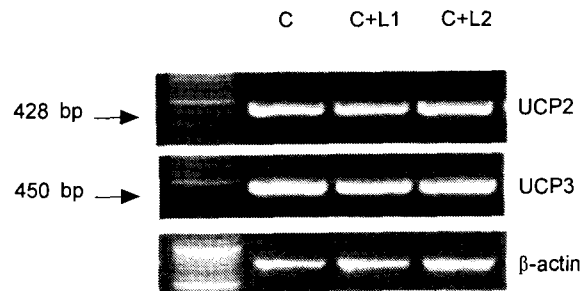


### C. WAT

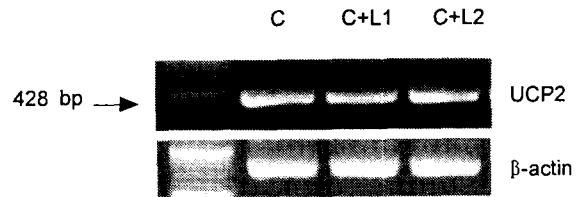


선행연구에서는 고지방식으로 유도된 비만 쥐에서 식이로 레반을 3, 5% 투여 시에 체지방 형성을 감소시켜주며 혈청 렙틴의 형성이 줄면서 조직에서의 UCP 발현성이 높으면서 항비만의 효과를 보여주었다. 이에 본 연구에서는 1%, 2% 농도의 액상의 레반을 경구 투여하였을 때 지질 감소 효과와 체지방 형성에 미치는 효과를 알아보고자 하였다. 따라서, 본 실험에 사용한 1% 레반 액상의 경우에는 선행연구에서 사용한 3% 식이 레반과 비교시 실제 레반 공급량은 약 30배 감소한 농도이다. 프락탄이 혈중 지질을 낮추는 효과에 대해서 여러 연구들에서 보고되어 왔다. 프락토올리고당을 공급하였을 경우 쥐에서 혈중 중성지방과 콜레스테롤, VLDL의 감소를 가져왔고(6,19) 고지방 식이를 먹인 쥐에서도 혈중 중성지방과 콜레스테롤 증가를 억제하였다고 보고되었다(2). 또한, 이눌린 공급시 쥐에서 혈중 총 콜레스테롤과 LDL, VLDL이 감소하였고(8) 임상 연구에서도 이눌린 섭취가 혈중 지질 감소 효과를 나타내어, 고콜레스테롤혈증을 가진 경우 이눌린을 공급받았을 때 혈중 중성지방과 콜레스테롤이 감소하였고(20), 정상인의 경우 이눌린을 섭취시켰을 때 혈중 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤은 감소하였으나 중성지방에는 변화가 없다는 보고도 있

### B. Skeletal muscle



### D. Brain



**Fig. 3 Changes in UCP mRNA expression in brown adipose tissue(BAT), skeletal muscle and white adipose tissue(WAT) by dietary levan.**

A, mRNA levels of UCP1, 2, and 3 in BAT; B, mRNA levels of UCP2 and 3 in skeletal muscle or soleus; C, mRNA levels of UCP2 in WAT or epididymal fat pad; D, mRNA levels of UCP2 in brain (hypothalamus). Quantitative RT-PCR was used for the mRNA determination. C: Control diet, C+L1: Control diet+1% levan, C+L2: Control diet+2% levan.

다(23).

본 실험 결과 1% 레반과 2% 레반 공급시 모두 레반을 공급하지 않은 경우보다 혈중 중성지방과 콜레스테롤이 유의적으로 감소하여 적은 양을 섭취하였을 경우에도 혈중 지질을 낮추는 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한, 레반 공급은 혈중 총 콜레스테롤은 낮추는 동시에 혈중 HDL 콜레스테롤에는 영향을 미치지 않아 지질 대사에 유익한 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이는 이눌린형 프락탄 뿐 아니라 레반형 프락탄도 혈중 지질 대사를 개선하며 이런 효과가 낮은 농도에서도 나타난다는 것을 보여준다. Yamamoto 등(24)은 흰쥐에게 식이 중 1%와 5%로 레반을 공급하였을 때 혈중 중성지방에는 차이가 없었고 콜레스테롤이 감소했다고 보고하였는데, 본 실험 결과 식이 섭취량의 1%로 레반을 경구 투여하였을 때 혈중 중성지방이 감소한 것과 다른 결과를 보였다. 이는 Yamamoto 등(24)의 연구에서는 식이로 레반을 공급하였고 본 연구에서는 경구 투여로 직접 위장까지 레반을 투여하였기 때문에 나타날 수 있는 차이로 보인다.

프락탄에 의한 지질 대사 변화는 장내 미생물에 의한 프락탄 발효로 나타나는 단쇄 지방산 생성 변화(20)와 식후 인슐린의 분비 억제(2,7,21)에 기인한 것으로 생각된다. 이들은 지방 합성 효소의 유전자 발현을 억제하여 지방산 합성과 지방 생성 능력을 감소시키고(2,7,19) 중성 지방을 다량 함유한 지단백질의 형성과 분해에 영향을 주어(21,25) 혈중 지질을 감소시키는 것으로 생각된다.

지질 대사는 비만 발생과 연관되어 있으므로 이러한 레반 발효 산물에 의한 지방 생성 억제 효과는 체지방 축적 억제에도 영향을 미쳤으리라 생각된다. 실제로, 프락탄은 비만과 관련하여 지질 합성에 관계된 유전자 발현을 조절함으로써 비만 관련 대사 장애에 역할을 하는 것으로 보고되었다(7,8). 비만 Zucker rat에 프락토올리고당을 식이의 10%로 공급하였을 때 4주 후부터 체중 증가량과 부고환 지방 무게가 감소하였고(7) LDL receptor knockout 생쥐에게 이눌린 공급시 식이 섭취량의 변화 없이 체중이 감소함을 볼 수 있었다(8). 또한 임상 연구에서도 이눌린을 포함한 보충제를 체중감량 프로그램에 적용했을 때 체지방 감소를 촉진하였다(9).

Yamamoto 등(24)은 1% 또는 5% 레반 공급으로 체중 변화가 없었다고 보고하였고, 본 실험 결과에서도 실험군간 체중 증가에는 통계적 유의성이 없었으나 레반을 공급 받은 쥐의 내장 지방 무게가 레반을 공급받지 않은 쥐에 비해 낮은 결과를 보여 레반 공급이 체지방 축적을 억제하는 효과가 있음을 나타내었다(Table 3). 내장 지방 축적이 만성 퇴행성 질병의 유발을 높이는데 있어서 큰 위해 요인임을 고려할 때 레반 투여에 의한 내장 지방 형성 억제는 레반의 항 비만효과의 가능성을 제시하고 있다.

앞에서 언급된 이눌린형 프락탄의 인슐린 분비 억제와 비교하여 볼 때, 본 연구 결과 혈중 인슐린 농도는 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 1% 레반 공급시 약간 낮아지는 경향을 보

였다(Table 4). 또한 내장 지방 축적은 인슐린 저항성 증가를 가져오는데(26), 본 실험 결과 1% 레반 공급에 의해서 내장 지방 감소와 함께 혈중 인슐린 농도가 감소하는 경향을 보였다.

혈중 렙틴은 레반 공급에 의해서 통계적 유의성을 나타내지 않았으나 감소하는 경향을 보였다. 렙틴 생성은 체지방 비율 및 지방 세포 증가와 양의 상관성을 가지는 것으로 알려져 있으며(27), 본 실험 결과 레반 공급으로 내장 지방 축적이 억제되고 그 결과 렙틴 생성이 감소한 것으로 추정해 볼 수 있다.

UCP는 발열 반응에 의해 에너지 소비율을 증가시키는 요인으로, UCP 유전자 발현은 체지방 생성을 억제하고 비만을 조절하는 역할이 있는 것으로 보고되고 있고(15,28) 선행 연구(12)에서도 고지방 식이에 의해 유도된 비만쥐에서 UCP 발현이 증가함을 볼 수 있었다(29). 이러한 UCP의 발현은 주로 추위와 영양 요인에 의해 조절되는 것으로 보여지며(14,30), 식이 요인으로 UCP 유전자 발현을 조절하여 비만을 개선하려는 연구들이 진행되어 왔다(31,32). 선행 연구에서도 레반을 식이의 3% 또는 5%로 공급하였을 때 갈색 지방 조직의 UCP2, UCP2, UCP3와 골격 근육의 UCP3 발현량이 증가하였으며 3%보다 5% 공급이 더욱 발현을 유도함을 볼 수 있었다. 본 연구에서는 1% 또는 2% 레반 투여로 갈색 지방 조직과 골격 근육, 뇌의 UCP 발현량 증가가 나타나지 않아 3%보다 적은 양으로는 갈색 지방 조직과 근육, 뇌의 시상하부에서의 UCP 발현을 유도하지 못함을 알 수 있었다. 그러나 백색 지방 조직의 UCP2 발현이 레반을 공급한 쥐에서 증가하였고 발현량 증가가 1% 레반 공급보다 2% 레반 공급으로 더욱 커지는 경향을 보여 1~2% 정도의 레반 공급으로 지방조직의 UCP 발현을 유도함으로써 체지방 축적을 억제할 수 있음을 시사하였다. 갈색 지방 조직이 발열 반응의 주요 담당 조직이지만 체중에서 차지하는 비율이 매우 적고(33), 오히려 백색 지방 조직이 체중에서 차지하는 비율이 더 크므로 본 실험 결과 갈색 지방 조직에서의 UCP1, UCP3 발현은 감소하였으나 백색 지방 조직에서의 UCP2 발현이 증가한 것이 에너지 대사에 더 큰 영향을 주어 내장 지방 축적 억제 효과를 나타낸 것으로 생각된다.

## 요 약

본 연구는 프락토즈 중합체인 레반의 지질 감소 효과와 비만 유전자인 UCP를 통한 에너지 대사에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 성장기 6주간 AIN-76A diet로 사육한 흰쥐에게 레반을 식이 섭취량의 1%, 2%로 5주간 경구투여하여, 혈중 지질 수준과 체지방 형성 및 혈중 인슐린, 렙틴 농도와 갈색 지방 조직, 백색지방 조직, 골격 근육, 시상하부에서의 UCP mRNA 발현량 변화를 관찰하였다. 연구 결과를 종합해 보면 다음과 같다. 1) 레반군에서 혈청 중성지방과 총 콜레스테롤은 감소하고 HDL 콜레스테롤 수준은 영향을 미치지 않아 1%와 2% 레반 공급이 지질 대사를 개선시킬 수 있음을 보여주었다. 2) 1%와 2% 레반군에서 내장 지방 무게가 감소하여 적은 양의

레반 공급으로 체지방 축적이 억제될 수 있음을 보여주었다. 3) 갈색 지방 조직과 부교한 지방, 복막 지방 무게는 그룹간 차이가 나타나지 않았다. 4) 혈청 인슐린 농도는 1% 레반군에서, 혈청 렙틴 농도는 1% 레반군, 2% 레반군에서 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 5) 1%와 2% 레반 공급에 의하여 갈색 지방 조직과 골격근육, 시상하부에서의 UCP mRNA 발현량에는 변화가 없었다. 6) 백색 지방 조직의 UCP 2 mRNA 발현량이 레반 공급에 의해 증가하여 1%와 2% 레반 공급에 의해 에너지 소비율이 증가할 수 있음이 나타났다. 결론적으로 저농도의 1%와 2% 액상 레반 공급은 총 식이의 3%~5% 레반 공급과 비교하여 혈중 총 콜레스테롤과 중성 지방 감소 효과에는 차이가 있으나 UCP 발현 증가에 미치는 영향은 적은 것으로 보인다. 그러나 저농도의 1~2% 액상 레반 공급으로 지질 대사를 개선하고 체지방 축적을 어느 정도 억제하는 효과를 나타냄을 알 수 있으며 이에 관한 임상 연구로 레반의 고지혈증과 비만을 조절하는 기능성 식품 소재로서의 가능성 검색이 요망된다.

### 감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어졌으며 그 지원에 감사드립니다.

본 연구에 사용한 미생물 유래의 레반은 (주)리얼바이오텍(대전)에서 공급받았으며 저자들은 이에 감사드립니다.

### 문헌

- Roverfroid MB, Delzenne NM. 1998. Dietary fructans. *Annu Rev Nutr* 18:117-143.
- Delzenne NM, Kok NN. 1999. Biochemical basis of oligo-fructose-induced hypolipidemia in animal models. *J Nutr* 129 (7 suppl): 1467s-1470s.
- Rhee SK, Song KB, Kim CH, Park BS, Jang EK, Jang KH. 2002. Levan. In *Biopolymers*. Vandamme E, Baets S, Steinbuechel A, eds. Wiley-VCH Verlag GmbH, Germany. Vol 5, p 351-377.
- Loo JV, Coussemant P, Leenheer LD, Hoebregs H, Smits G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural in the western diet. *Crit Rev in Food Scid and Nutr* 35: 525-552.
- Mortensen A, Poulsen M, Frandsen H. 2002. Effect of a long-chain fructan Raftline HP on blood lipids and spontaneous atherosclerosis in low density receptor knockout mice. *Nutr Res* 22: 473-480.
- Flordallso M, Kok N, Desager JP, Goethals F, Deboyser D, Roverfroid M, Delzenne N. 1995. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 30: 163-167.
- Daubioul CA, Taper HS, Wispelaere LD, Delzenne NM. 2000. Dietary oligo-fructose lessens hepatic steatosis, but does not prevent hypertriglyceridemia in obese Zucker rats. *J Nutr* 130: 1314-1319.
- Delzenne N, Ferre P, Beylot M, Daubioul C, Declercq B, Diraison F, Dugali I, Foufelle F, Foretz M, Mace K, Reimer R, Plamer G, Rutter G, Tavera J, Van Loo J, Vidal H. 2001. Study of the regulation by nutrients of the expression genes involved in lipogenesis and obesity in humans and animals. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 11 (4 Suppl): 118s-121s.
- Hoeger WW, Harris C, Long EM, Hopking DR. 1998. Four week supplementation with a natural dietary compound produces favorable changes in body composition. *Adv Ther* 15: 305-314.
- Han YW. 1990. Microbial levan. *Adv Appl Microbiol* 35: 171-194.
- Kasapis S, Morris ER, Gross M, Rudolph K. 1994. Solution properties of levan polysaccharide from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, and its possible primary role as a blocker of recognition during pathogenesis. *Carbohydr Polym* 23: 55-64.
- Kang SA, Hong KH, Kim SH, Jang KH, Kim CH, Choue RW. 2002. Effects of fructose-polymer on serum leptin and UCP expression in obese rats induced by high fat diet. *FASEB J*. A 1013.
- Havel PJ. 2000. Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Proc Nutr Soc* 59: 359-371.
- Keith DG, Martin J, Pet J. 1998. The mechanism of proton transport mediated by mitochondrial uncoupling proteins. *FEBS Lett* 438: 10-14.
- Rippe C, Berger K, Boeirs C, Ricquier D, Erlanson AC. 2000. Effect of high-fat diet, surrounding temperature, and enterostatin on uncoupling protein gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279: E293-E300.
- Matsuda J, Hosoda K, Itoh H, Son C, Doi K, Tanaka T, Fukunaga T, Inoue G, Nishimura H, Yoshimasa YI, Yamori Y, Nakao K. 1997. Cloning of rat uncoupling protein-3 and uncoupling protein-2 cDNAs: their gene expression in rats fed a high fat diet. *FEBS Lett* 418: 200-204.
- Boss O, Samec S, Giacobino AP, Rossier C, Dulloo A, Seydoux J, Muzzin P, Giacobino JP. 1997. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett* 408: 39-42.
- Javier M, Amelia MJ, Alfredo M. 2001. Changes in UCP mRNA expression levels in brown adipose tissue and skeletal muscle after feeding a high-energy diet and relationships with leptin, glucose and PPAR $\gamma$ . *J Nutr Biochem* 12: 130-137.
- Kok N, Roverfroid M, Delzenne N. 1996. Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. *Metabolism* 45: 1547-1550.
- Causey JL, Feirgat JM, Gallaher DD, Tunland BC, Slavin JL. 2000. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutr Res* 20: 191-200.
- Jackson KG, Taylor GR, Clohessy AM, Williams CM. 1999. The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin and glucose concentration in middle-aged men and women. *Br J Nutr* 82: 23-30.
- Han LK, Xu BJ, Kimura Y, Zheng Y, Okuda H. 2000. Platycodi radix affects lipid metabolism in mice with high fat diet-induced obesity. *J Nutr* 130: 2760-2764.
- Davidson MH, Maki KC. 1999. Effects of dietary inulin on serum lipids. *J Nutr* 129 (suppl): 1474S-1477S.
- Yamamoto Y, Takahashi Y, Kawano M, Iizuka M, Matsumoto T, Saeki S, Yamaguchi H. 1999. *In vitro* digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J Nutr Biochem* 10: 13-18.
- Kok NN, Taper HS, Delzenne NM. 1998. Oligofructose modulates lipid metabolism alterations induced-by a fat-rich in rats. *J Appl Toxicol* 18: 47-53.
- Abate N. 1996. Insulin resistance and obesity: the role of fat distribution. *Diabetes Care* 19: 292-294.

27. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, Mckee LJ, Bauer TL, Caro JF. 1996. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *New Eng J Med* 334: 292-295.
28. Oberkofler H, Dallinger G, Liu YM, Hell E, Krempler F, Patsch W. 1997. Uncoupling protein gene: quantification of expression levels in adipose tissues of obese and non-obese humans. *J Lipid Res* 38: 2125-2133.
29. Hong KH, Kang SA, Kim SH, Choue RW. 2001. Effects of high fat diet on serum leptin and insulin level and brown adipose tissue UCP 1 expression in rats. *Korean J Nutrition* 34: 865-871.
30. Boss O, Samec S, Khune F, Bijlenga P, Assimacopoulos-Jeannet F, Seydoux J, Giacobino JP, Muzzin P. 1998. Uncoupling protein 3 expression in rodent skeletal muscle is modulated by food intake but not by changes in environmental temperature. *J Bio Chem* 273: 5-8.
31. Oi Y, Kawada T, Shishido C, Wada K, Kominato Y, Nishimura S, Ariga T, Iwai K. 1999. Allyl-containing sulfide in garlic increase uncoupling protein content in brown adipose tissue, and noradrenaline and adrenaline secretion in rats. *J Nutr* 129: 336-342.
32. Cha SH, Fukushima A, Sakuma K, Kagawa Y. 2001. Chronic docosahexaenoic acid intake enhances expression of the gene for uncoupling protein 3 and affects pleiotropic mRNA levels in skeletal muscle in aged C57BL/6NJcl mice. *J Nutr* 131: 2636-2642.
33. Himms-Hagen J, Ricquier D. 1997. Brown adipose tissue. In *Hand Book of Obesity*. Bray GA, Brouhard C, James WPT, eds. Marcel Dekker, New York. p 415-442.

(2002년 8월 2일 접수; 2002년 10월 8일 채택)