

고지방 식이로 유도된 비만쥐에서 식이 레반이 체지방 형성 및 혈청 렙틴과 UCP 발현에 미치는 영향*

강순아[§] · 홍경희 · 김소혜 · 장기효 · 김철호¹⁾ · 조여원²⁾
경희대학교 동서의학대학원 임상영양전공,
(주)리얼바이오텍, 생명공학연구원,¹⁾ 경희대학교 임상영양연구소²⁾

Effects of Dietary Levan on Adiposity, Serum Leptin and UCP Expression in Obese Rats Fed High Fat Diet*

Kang, Soon Ah[§] · Hong, Kyunghye · Kim, Sohye · Jang, Ki-Hyo · Kim Chul-Ho¹⁾ · Choue, Ryowon²⁾
Department of Medical Nutrition, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University,
Seoul 130-701, Korea
RealBiotech Co. Ltd., Biotechnology Research Division,¹⁾ KRIBB, Taejon 305-333, Korea
Research Institute of Clinical Nutrition,²⁾ Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

The effects of dietary levan, high-molecular-weight β -2,6-linked fructose polymer, on adiposity, serum leptin and UCP expression in rats fed high fat diet were studied. The adipose tissue hormone, leptin has been proposed to be involved in the regulation of food intake and energy expenditure. Uncoupling protein (UCP), a mitochondrial protein that uncouples the respiratory chain from oxidative phosphorylation, generates heat instead of ATP, thereby increase energy expenditure. To determine whether the dietary levan may have the anti-obesity effect, 4 wk old Sprague Dawley male rats fed high fat diet for 6 wks to induce obesity, and subsequently fed one of three diets for further 6 wks: 1) high fat (40% of calories) diet without levan 2) with 3% (w/w) levan 3) with 5% levan. For the comparison, control group fed AIN-76A diet. Visceral and peritoneal fat masses were lower in high fat diet with levan groups compared to high fat diet group. The effect of levan was dose-dependent. Adipocyte size was significantly reduced in the levan diet groups compared to the no levan diet group. Serum cholesterol level was not affected by levan containing diet, while the serum HDL cholesterol level was higher in levan diet groups. In addition, serum triglyceride level was markedly reduced by levan containing diet, thus lower than that of control group. Serum leptin was reduced by levan containing diet and lower in 5% levan group compared to 3% levan group ($p < 0.001$), as a result, serum leptin and insulin levels of 5% levan group were reduced to level of control group. Furthermore, the serum leptin level reflected the adiposity. The expression of UCP 1, and UCP 2 in brown adipose tissue was up-regulated by levan containing diet. In conclusions, levan containing diet reduced adiposity and serum triglyceride but increased UCP expression in the obese rats fed high fat diet. (*Korean J Nutrition* 35(9) : 903~911, 2002)

KEY WORDS : obesity, levan, fat mass, serum lipids, leptin, UCP.

서 론

비만은 산업화된 국가에서 가장 심각한 영양문제이며¹⁾ 우리나라에서도 발생률이 크게 증가하고 있다. 비만의 원인은 아직 명확히 밝혀지지 않았으나 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 인한 체지방 축적이 주된 요인으로 알려져 있

다.¹⁾ 또한 지방 섭취 및 식이 요인 등의 환경적 요인과 유전적 요인 등이 복합적으로 작용하여 비만의 원인이 되는 것으로 보고되고 있다.²⁾

최근 비만을 예방, 치료할 수 있는 물질에 대한 많은 연구가 진행되고 있으며, 항 비만 효과의 가능성을 보여주는 식품 소재로 식이 섬유질인 fructan을 들 수 있다.³⁾ Fructan은 자연계에 널리 존재하는 프락토스의 중합체(fructose polymer)로 이눌린형(inulin-type)과 레반형(levan-type)으로 분류된다.⁴⁾ 레반형은 프락토스가 β -(2,6)결합을 주로 하여 β -(2,1) 결합이 연결된 fructan으로 (Fig. 1) β -(2,1) 결합을 주 결합으로 가진 fructan인 이눌린과 구분

접수일: 2002년 10월 7일

채택일: 2002년 11월 4일

*This research was supported by grant HMP-00-B-22000-0156 from Korean Ministry of Health and Welfare.

[§]To whom correspondence should be addressed.

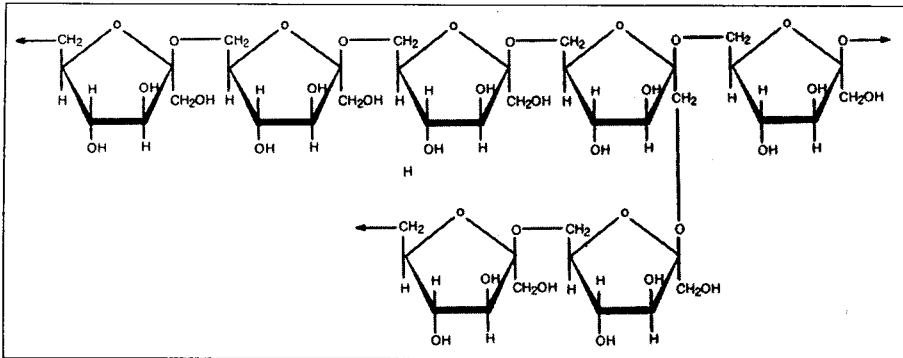


Fig. 1. Chemical structure of levan. Levan consists of β -D-fructofuranosyl residues linked predominantly through β -(2,6) linkage and the branch is connected to the main chain by a β -(2,1) linkage; the branch then continues with β -(2,6) linkage.

된다.⁴⁾ 레반은 식물에도 존재하나 주로 미생물의 levan-sucrase에 의해 합성되며,⁵⁾ 섭취하였을 경우 장내 미생물에 의해 발효되고 장내 균총을 변화시켜 혈중 콜레스테롤 및 중성지방을 낮추고 항암 효과를 갖는 등 건강에 유익한 효과를 갖는다는 것이 밝혀졌다.^{6,7)} 또한 레반은 불용성이 늘린과 달리 큰 분자량에 비해 점도가 낮고 수용성 성질을 가지고 있어 기능성 식품 소재의 가능성을 보여주고 있다.⁸⁾ 선행 연구⁹⁾에서 흰쥐에게 총 열량의 40%를 지방으로 한 고지방 식이를 공급하였을 때 체지방 축적과 비만이 유도되었고 혈중 렘틴과 인슐린 농도가 증가하였으며, uncoupling protein (UCP)의 발현이 증가되었다.⁹⁾ 한편, 지방조직에서 분비되는 렘틴은 식욕을 억제하고 에너지 소비를 증가시켜 에너지 대사 및 체중 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 또한 에너지 대사에 관여하는 UCP는 미토콘드리아에서 산화적 인산화 과정에서 발생된 proton을 ATP 합성 대신 열로 발생시켜 에너지 효율을 낮춤으로써 체지방 축적을 방해한다.^{11,12)}

UCP1은 발열 반응의 주요 담당기관인 갈색지방 조직에서 발견되며 기타 조직에서도 UCP가 발견되었는데, 백색 지방 조직, 근육, 뇌, 간 등 체내에 광범위하게 분포되어 있는 UCP2와 근육에서 주로 발견되는 UCP3가 UCP1과 함께 에너지 대사를 조절하는 것으로 보고되었다.^{13,14)}

체중 감량 및 고지혈증에 미치는 효과 등 이눌린의 생리적 효과에 대한 연구들은 많이 보고되어 왔으나¹⁵⁻¹⁸⁾ 레반의 효과에 관한 연구는 아직 미비하다. 또한, 영양 요인에 의해 UCP 유전자의 발현이 조절된다는 연구와^{11,19)} UCP 유전자 발현 증가에 의해 항 비만 효과를 갖는 물질에 대한 연구들이 보고되었다.^{20,21)} 본 연구에서는 고지방 식이로 유도된 비만에 따른 체지방 형성, 혈청 렘틴, UCP 발현 변화에 식이 레반이 미치는 영향을 관찰함으로써 레반의 항 비만 효과를 알아보고자 하였다.

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

Ingredients	N ¹⁾	HF ²⁾	HF + L3	HF + L5
Casein	200	200	200	200
DL-Methionine	3	3	3	3
Corn starch	150	150	120	100
Sucrose	500	345	345	345
Cellulose	50	50	50	50
Corn oil	50	-	-	-
Beef tallow	-	205	205	205
Salt mixture	35	35	35	35
Vitamin mixture	10	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2	2
Levan	-	-	30	50
Fat % (Calories)	11.7	40.0	40.0	40.0

1) Normal diet ; AIN-76A diet #100000

2) High fat diet ; AIN-76 diet #100496 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA)

N: Normal diet, HF: high fat diet, HF + L3: high fat diet with 3% levan, HF + L5: high fat diet with 5% levan

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육 및 식이

본 연구에서는 3주령 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 중앙실험동물사에서 구입하여 1주일간 적응 시킨 후 실험 동물 4주령부터 6주간 고지방 식이를 공급하였다. 선행 연구⁹⁾에서 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐 4주령부터 성장기 6주간의 고지방 식이 섭취는 체지방 축적을 증가시켜 비만을 유도함을 확인하였다. 레반은 *Zymomonas mobilis* 유래의 levansucrase를 이용하여 효소적으로 합성되었으며 (주) 리얼바이오텍 (대전) 제품을 사용하였다. 6주간 고지방 식이 공급 후 10주령부터 6주간 레반을 각각 0%, 3%, 5% 함유한 식이 (w/w)를 공급하여 고지방 대조군 (HF), 3% 레반군 (HF + L3), 5% 레반군 (HF + L5)으로 하였다. 정상 대조군 (N)은 4주령부터 12주의 실험 기간 동안

AIN-76A diet # 100000 (Dytes Inc., Bethlehem, PA, USA)를 공급하였고, 고지방 식이군은 지방 급원으로 beef tallow를 사용하여 AIN- 76A high fat diet # 100496 (Dytes Inc.)으로 총 열량의 40%를 지방으로 공급하여 사육하였다 (Table 1). 각 실험군은 6마리로 하였다.

실험동물은 한 마리씩 분리하여 사육하였고, 물과 식이는 제한없이 공급하였다. 실험 기간 동안 식이 섭취량과 체중은 일주일에 2회 측정하였다. 실험동물의 체중은 6주간의 고지방 식이 공급 후, 즉 10주령의 체중을 시작 체중으로 하였고, 6주간 레반을 함유한 실험 식이를 공급한 후인 16주령의 체중을 최종 체중으로 하였다. 식이 효율 (Food Efficiency Ratio; FER)은 레반을 함유한 실험 식이를 공급한 6주간의 체중 증가량을 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다.

2. 시료수집 및 분석방법

1) 시료수집

실험동물을 16주령에 희생하여 혈액과 장기를 채취하였다. 갈색지방 조직 (interscapular brown adipose tissue), 부고환 지방 (epididymal fat), 내장 지방 (visceral fat), 복막 지방 (peritoneal fat)을 분리하여 중량을 측정하였고, 추출 즉시 액체 질소로 동결하였다. 혈액은 희생 시 heart puncture 방법으로 채취한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며 이들 시료는 분석 시까지 -70℃에서 보관하였다.

2) 지방 세포 크기 측정

16 주령의 실험 동물의 내장지방 조직을 채취하여 지방 세포의 크기를 측정하였다.²⁰⁾ 내장지방 조직 0.5 g을 취하여 3% Bovine serum albumin (BSA)을 함유한 145 mmol/L NaCl-buffer로 세척한 후, 작은 조각으로 쪼갠 후 collagenase (Sigma C-2139) 1.5 mg을 함유한 NaCl-buffer 1.0 ml을 첨가하여 37℃에서 1시간 동안 방치하였다. 그 후 450 µm nylon mesh로 여과하여 조직으로부터 분리된 지방 세포를 얻고 5 mM 포도당을 함유한 NaCl-buffer로 2번씩 세척하였다. 세척 후 NaCl-buffer 1.0 ml을 첨가하여 눈금이 표시된 전자현미경 (Olympus CK 2)으로 지방 세포의 크기를 관찰하였다. 각 조직마다 30개 세포의 직경을 측정하여 평균을 구하였다.

3) 혈청 지질 분석

혈청 총 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤, 중성지방의 농도를 Sigma Chemical사 (St. Louis, MO)의 kit을 이용하여 측정하였다.

4) 혈청 Leptin 및 insulin 농도 분석

혈청 leptin 농도는 Linco Leptin Assay Kit (Linco research Immunoassay, St. Charles, MO)를 이용하여 방사선 면역능을 측정하였고, insulin 농도는 rat insulin standard (Linco, St. Louis, MO)를 이용하여 방사선 면역능을 측정하였다.

5) Uncoupling protein m-RNA 분석

Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)을 이용하여 Uncoupling protein (UCP)의 발현량을 측정하였다. 갈색지방조직에서 UCP1, 2 mRNA 발현량을 측정하였고, 백색지방조직의 분석을 위해 부고환 지방조직에서 UCP2 mRNA 발현량을 측정하였다.²⁰⁾

실험동물에서 분리한 조직으로부터 Trizol reagent (Gibco 15596-026)를 이용하여 RNA를 분리하고 spectrophotometer를 이용하여 정량하였다. 분리된 총 RNA로부터의 cDNA를 합성을 위하여 2 µg의 RNA를 70℃에서 5분간 열처리한 후 4℃에서 5분동안 방치하고 여기에 M-MLV (Promega M1705) 200 U, dNTP (each 2.5 mM) mix 2 µl, RNasin (Promega N2111) 40 U, oligo (dT) primer (Promega C1101) 1 µl를 혼합한 후 DEPC-water로 25 µl를 맞추어 42℃ 1시간, 75℃ 30분 조건하에서 cDNA를 합성하였다.

합성된 cDNA로부터 UCP의 발현량을 측정하기 위하여 primer를 제작하였고 house keeping gene으로는 β-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).

유전자 발현량을 측정하기 위한 PCR 조건은 다음과 같다. Tag polymerase (TaKaRa Taq R001A) 0.125 µl, 10 × PCR buffer 2.5 µl, dNTP mix 2 µl, primer, sample, 증류수로 25 µl를 맞추어 94℃ 3분, 94℃ 30초, 60℃ 1분, 72℃ 1분 30초, 30회 반복한 후 94℃ 30초, 60℃ 1분, 72℃ 10분, 1회 PCR을 하였다. PCR 산물은 1.5% agarose에서 80 V 하에서 전기 영동하여 분리한 후 10 µg/ml의 EtBr에서 30분 동안 염색하고 증류수에서 15분 동안 탈색하여 transilluminator에서 관찰하였다.

3. 통계분석

모든 통계분석은 SAS program을 이용하여 평균 (mean)

± 표준오차 (standard error, SE)로 표시하였다. 각 실험군간의 차이는 one-way ANOVA에 의하여 검정하고, Duncan's multiple range test를 실시하여 $\alpha = 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 식이 섭취, 체중 및 식이효율

실험동물의 식이 섭취량, 체중, 식이 효율의 결과는 Table 2와 같다. 체중은 실험 시작 시 차이가 없었으나 1일 체중 증가량은 정상 대조군보다 고지방 대조군에서 유의성 있게 높았으며, 3% 레반 함유 식이를 섭취한 군과 5% 레반 식이를 섭취한 군에서는 정상 대조군과 통계적 유의성이 없었다. 식이 효율도 체중 증가량과 같은 양상을 보였다.

2. 지방 조직의 무게

식이 지방과 레반 공급에 따른 갈색지방조직, 부고환지방, 내장 지방, 복막 지방 무게를 비교한 결과는 Fig. 2와 같으며 단위 체중에 대한 조직무게로 환산하여 표시하였다. 갈색지방 조직의 무게는 고지방 식이와 5% 레반 식이를 공급한 쥐에서 정상 식이를 공급한 쥐보다 유의성 있게 높았고, 3% 레반 식이 군에서는 차이가 관찰되지 않았다. 부고환지방 무게는 모든 실험군에서 차이가 없었다. 내장지방 무게는 정상 대조군 (1.75 ± 0.32 g/100 g B.W.)에 비해 고지방 대조군 (3.64 ± 0.46 g/100 g B.W.)과 3% 레반 식이군 (3.55 ± 0.20 g/100 g B.W.)에서 높았고 ($p < .05$) 5% 레반 식이군 (2.66 ± 0.23 g/100 g B.W.)과는 통계적인 차이가 없었다. 복막지방 무게도 정상 대조군 (1.28 ± 0.23 g/100 g B.W.)보다 고지방 대조군 (2.78 ± 0.11 g/100 g B.W.)과 3% 레반군에서 유의성 있게 높았으며 5% 레반군 (2.07 ± 0.25 g/100 g B.W.)과는 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다.

Table 2. Body weight, daily food intake and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 6 weeks

Groups	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER ³⁾
N	397.0 ± 2.1 ¹⁾	445.5 ± 11.6	1.33 ± 0.40 ^{b2)}	21.10 ± 1.58	0.059 ± 0.070 ^b
HF	404.3 ± 14.7	500.3 ± 19.1	2.74 ± 0.19 ^a	25.13 ± 1.25	0.109 ± 0.005 ^a
H + L3	405.4 ± 17.4	489.2 ± 23.6	2.39 ± 0.61 ^{ab}	24.09 ± 1.73	0.096 ± 0.023 ^{ab}
HF + L5	416.8 ± 16.0	502.8 ± 19.2	2.45 ± 0.34 ^{ab}	26.35 ± 1.41	0.094 ± 0.009 ^{ab}

1) Values are Mean SE

2) Values within the same column with different superscript letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test.

3) FER : Food efficiency ratio = body weight gain (g/day)/food intake (g/day)

N: Normal diet, HF: high fat diet, HF + L3: high fat diet with 3% levan, HF + L5: high fat diet with 5% levan

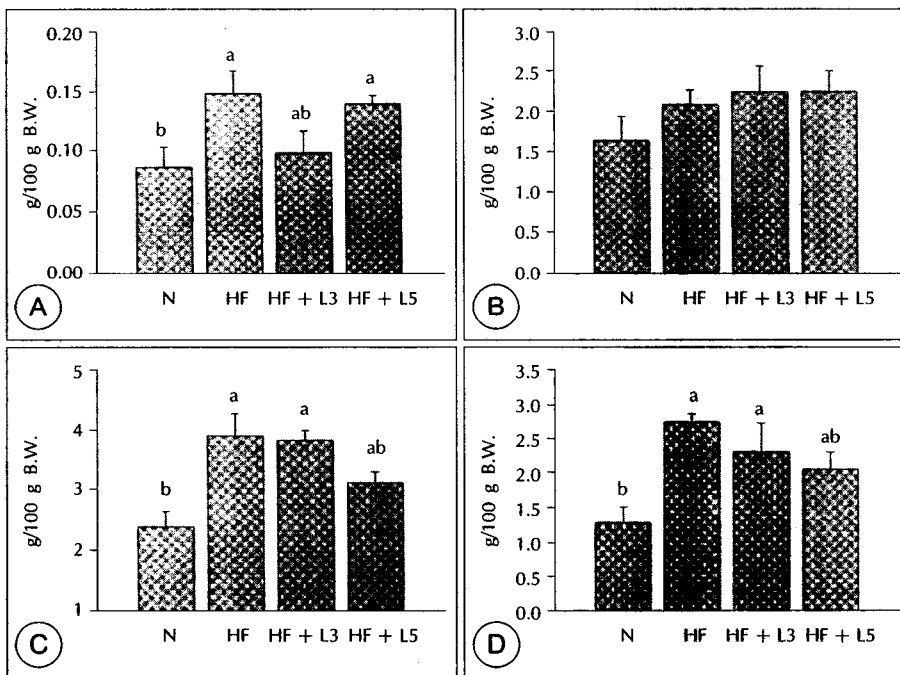


Fig. 2. Effect of dietary levan on adipose tissue mass. (A) brown adipose tissue, (B) epididymal fat, (C) visceral fat, (D) peritoneal fat. Levels of tissue mass were calculated as a weight per unit body weight. Different letters indicate significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test. N: normal diet, HF: high fat diet, HF + L3: high fat + 3% levan diet, HF + L5: high fat + 5% levan diet.

3. 지방 세포의 크기

내장지방 세포의 크기를 측정하여 각 군의 평균치를 Fig. 3에 나타내었다. 정상 대조군 (74.80 ± 6.23 μm)과 비교하여 고지방 대조군의 평균 지방 세포 크기는 120.30 ± 11.60 μm로 유의성 있게 높았으며, 3% 레반군은 100.20 ± 6.85 μm, 5% 레반군은 98.00 ± 2.55 μm로 정상 대조군보다 유의성 있게 높았으나 고지방 대조군에 비하여는 유의성 있게 낮았다.

4. 혈청 지질 농도

혈청 중성지방은 정상 대조군 (78.49 ± 5.29 mg/dl)에 비해 고지방 대조군 (139.62 ± 47.54 mg/dl)에서는 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았으나 3% 레반군 (54.26 ± 4.83 mg/dl)과 5% 레반군 (60.50 ± 2.52 mg/dl)에서는 고지방 식이군에 비하여 유의성 있게 낮았다 (Table 3). 혈청 총 콜레스테롤 농도는 실험기간 차이가 없었으나 HDL-콜레스테롤은 정상 대조군 (58.82 ± 3.72 mg/dl)보다 고지방 대조군 (42.86 ± 1.59 mg/dl)이 낮았고, 레반 식이군이 고지방 대조군 보다 높은 경향을 보여 5% 레반군은 51.50 ±

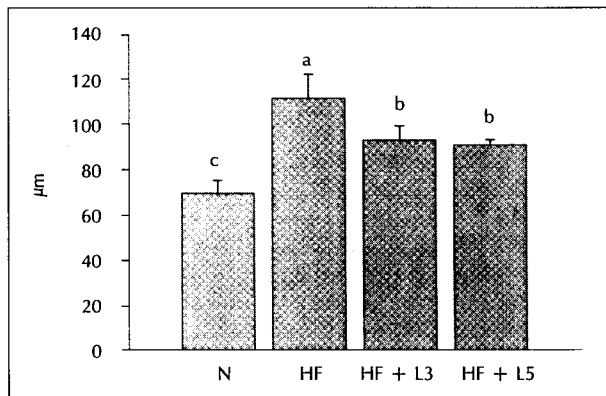


Fig. 3. Effect of dietary levan on visceral fat isolated adipocyte size. Adipocyte was isolated by collagenase-treatment from visceral fat pad and adipocyte size was determined. Values are mean ± SE. Different letters indicate significant difference at p < 0.05 by Duncan's Multiple Range Test. N: normal diet, HF: high fat diet, HF + L3: high fat + 3% levan diet, HF + L5: high fat + 5% levan diet.

4.13 mg/dl, 3% 레반군은 52.59 ± 4.49 mg/dl였다. 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도의 비율 역시 정상 대조군에 비해 고지방 대조군에서 유의적으로 높았다.

5. 혈청 leptin 및 insulin 농도

혈청 leptin 농도는 정상 대조군 (3.74 ± 0.31)에 비해 고지방 대조군 (10.53 ± 0.74 ng/ml)과 3% 레반군 (8.40 ± 0.84 ng/ml)에서 유의적으로 높은 값을 보였고 5% 레반군 (5.24 ± 1.07 ng/ml)에서는 정상 대조군과 차이가 관찰되지 않았다 (Table 4). 혈청 insulin 농도도 정상식이 대조군 (1.61 ± 0.22 ng/ml)에 비해 고지방 대조군 (2.74 ± 0.31 ng/ml)과 3% 레반 식이군 (2.27 ± 0.34 ng/ml)에서 높은 값을 보였으며 5% 레반군 (1.70 ± 0.27 ng/ml)에서는 정상 대조군과 유사한 수준을 보였다.

6. UCP mRNA 발현

쥐에서 분리한 갈색지방 조직과 백색지방 조직의 UCP 발현을 RT-PCR을 이용하여 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 갈색지방 조직의 UCP 1, UCP 2 발현은 고지방 식이에 의해 유도되었으며, 레반 식이에 의해 발현은 더욱 유도되었다. 또한 이러한 발현의 증가는 3% 레반군보다 5% 레반군에서 더 뚜렷하게 나타났다. 백색지방 조직의 UCP 2 발현은 고지방 식이에 의한 효과는 나타나지 않았고, 레반 식이군에서 약간 증가하는 경향을 보였으나 그리 큰 차이는 나타나지 않았다.

Table 4. Effect of dietary levan on serum leptin and insulin levels

Groups	Leptin (ng/ml)	Insulin (ng/ml)
N	3.74 ± 0.31 ^{1) b2)}	1.61 ± 0.22 ^b
HF	10.53 ± 0.74 ^a	2.74 ± 0.31 ^a
HF + L3	8.40 ± 0.84 ^a	2.27 ± 0.34 ^{ab}
HF + L5	5.24 ± 1.07 ^b	1.70 ± 0.27 ^b

1) Values are Mean ± SE

2) Values within the same column with different superscript letters are significantly different from each other at p < 0.05 by Duncan's Multiple Range Test

N: Normal diet, HF: high fat diet, HF + L3: high fat diet with 3% levan, HF + L5: high fat diet with 5% levan

Table 3. Serum triglyceride, total-cholesterol, HDL-cholesterol and HTR ratio of experimental groups

Groups	Triglyceride (mg/dl)	Total-cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	HTR ³⁾
N	78.49 ± 5.29 ^{1) ab2)}	78.33 ± 8.26	58.82 ± 3.71 ^a	0.790 ± 0.115 ^a
HF	139.62 ± 47.54 ^a	72.53 ± 3.06	42.86 ± 1.59 ^b	0.593 ± 0.019 ^b
HF + L3	54.26 ± 4.83 ^b	72.97 ± 7.11	52.59 ± 4.49 ^{ab}	0.724 ± 0.024 ^{ab}
HF + L5	60.50 ± 2.52 ^b	76.51 ± 5.77	51.50 ± 4.13 ^{ab}	0.674 ± 0.018 ^{ab}

1) Values are Mean ± SE

2) Values within the same column with different superscript letters are significantly different from each other at p < 0.05 by Duncan's Multiple Range Test

3) HTR = HDL cholesterol/Total cholesterol ratio

N: Normal diet, HF: high fat diet, HF + L3: high fat diet with 3% levan, HF + L5: high fat diet with 5% levan

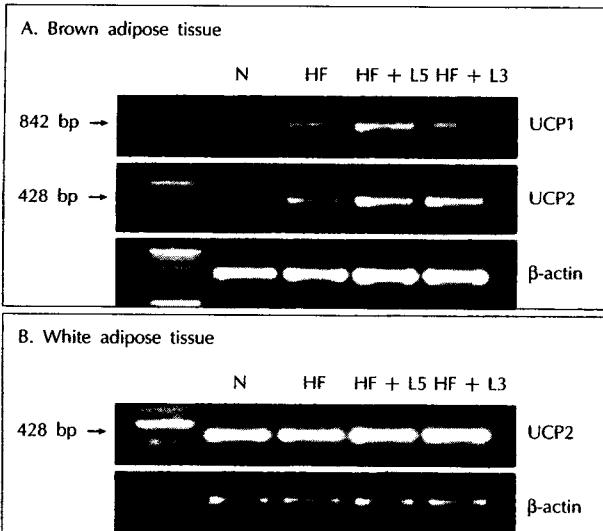


Fig. 4. UCP mRNA expression in BAT and WAT by dietary levan. (A) mRNA levels of UCP1 and 2 in BAT, (B) mRNA levels of UCP2 in WAT or epididymal fat pad. Quantitative RT-PCR was used for the mRNA determination. N: normal diet, HF: high fat diet, HF + L5: high fat + 5% levan diet, HF + L3: high fat + 3% levan diet.

고찰

Fructan은 체내의 지질 합성과 관련된 유전자의 발현을 조절함으로써 비만 관련 대사에 역할을 하는 것으로 알려져 있다.^{15,16} 비만 Zucker rat에게 oligofuctose를 식이의 10%로 공급하였을 때 4주 후부터 체중 증가량이 낮아졌고 백색 지방 (부고환지방)의 무게도 감소하였다.¹⁶ 한편 LDL receptor knockout 생쥐에게 이눌린을 공급한 결과 식이 섭취량에는 변화 없이 체중이 감소함을 나타냈다.¹⁷ 또한 중년 성인 비만인을 대상으로 한 임상 연구에서도 이눌린을 포함한 보충제를 4주간의 체중감량 프로그램에 적용했을 때 체지방 감소가 촉진되었다.¹⁸ 본 실험 결과, 레반 함유 식이를 공급한 쥐의 내장지방과 복막지방의 증가가 고지방 식이만을 공급한 쥐와 비교하여 통계적 유의성은 없었으나 다소 낮아지는 경향을 보여 레반 섭취의 체지방 축적 억제 효과에 대한 가능성을 제시하였다. 또한 고지방 식이에 의해 유도된 지방세포의 크기도 레반 섭취에 의해 감소하는 결과를 보여 레반에 의한 체지방 축적 억제는 지방세포의 hypertrophy를 억제하는 것으로 사료된다.

Fructan이 혈중 지질농도를 낮추는 효과는 여러 연구에서 보고되어 왔다. Oligofuctose를 공급하였을 경우, 정상 식이를 먹인 쥐에서 혈중 중성지방과 총 콜레스테롤, VLDL-콜레스테롤 농도가 감소되었고^{24,25} 고지방 식이를 먹인 쥐에서도 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 농도가 감소

되었다.^{26,27} 또한, LDL receptor knockout 생쥐에서 이눌린 공급은 혈중 총 콜레스테롤과 LDL- 및 VLDL-콜레스테롤의 감소 효과를 가져왔다.¹⁷ 반면 고지방 식이로 유도된 비만 쥐에서 1%의 이눌린 첨가는 혈중 중성지방 감소에 효과가 없었다는 보고도 있다.²⁸ 한편, 임상 연구에서는 고콜레스테롤혈증 환자에게 이눌린을 공급하였을 때 혈중 중성지방 농도가 유의적으로 감소하였고,²⁹ 정상인에게 이눌린을 공급하였을 때는 혈중 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤은 감소하였으나³¹ 혈중 중성지방은 감소하거나³⁰ 변화가 없는 것으로 보고되었다.³¹ 본 실험 결과 고지방 식이 공급으로 비만을 유도한 후 레반을 공급하였을 경우, 혈중 총 콜레스테롤에는 영향을 미치지 않았으나 HDL-콜레스테롤의 상승효과를 보여 총 콜레스테롤 중 HDL 콜레스테롤이 차지하는 비율이 높아지는 결과를 나타냈다. 또한 혈중 중성지방은 레반 섭취 쥐에서 정상 식이를 섭취한 쥐보다 더 낮았는데, 이는 이눌린형 fructan 뿐 아니라 레반형 fructan도 혈중 지질 개선 효과가 있음을 보여주는 결과라 하겠다. Yamamoto 등⁶은 흰쥐에서 식이의 1%와 5%를 레반으로 공급하였을 경우 체중이나 혈중 중성지방에는 변화를 주지 않으면서 혈중 콜레스테롤만 감소시키는 결과를 가져왔다고 보고하였다.

Fructan에 의한 지질 대사 변화는 장내 미생물에 의한 fructan의 발효로 나타나는 단쇄 지방산 (short-chain fatty acid, SCFA) 생성의 변화²⁹와 식후 혈중 포도당 증가 억제 및 인슐린의 분비 억제^{16,27,30}에 기인한 것으로 생각된다. 이들은 지방 합성 효소의 활성화 유전자 발현을 억제하여 지방산 합성과 지질 생성 능력을 감소시키고^{16,25,27} 중성 지방을 다량 함유한 지단백질의 형성과 분해에 영향을 주어^{26,30} 혈중 지질을 감소시키는 것으로 생각된다. 또한, 이러한 과정에서 fructan의 발효 부산물이 GIP (glucose-dependent insulinotropic peptide) 또는 GLP (glucagon-like peptide) 등의 장내 gut 호르몬 생성을 조절하는 것으로 알려져 있으며,²⁷ 이들 호르몬은 소장 점막의 내피 세포에서 분비되어 식후 인슐린 분비를 조절하며 지질대사에서 인슐린과 유사하게 작용한다. 그러나 fructan의 gut 호르몬 분비 조절에 대해서는 아직 더 많은 연구가 필요한 상황이다.

분자량이 2백만 정도인 레반을 사용한 Yamamoto 등⁶의 연구에서 레반이 분자량이 크기 때문에 장내 유산균에 의해 발효되지 않으므로 레반의 혈중 콜레스테롤 감소 효과는 발효 부산물에 의한 효과가 아니라 steroid의 장관내 순환을 억제함으로써 나타난다고 설명하였다. 그러나, 본 연구에서 사용한 레반은 분자량이 약 6백만 정도로 Yamamoto 등⁶의 연구에서 사용한 레반보다 분자량이 더 크나 위액

과 장내 미생물의 분해 효소에 의해 발효될 수 있다는 것이 밝혀졌다 (결과에 제시하지 않음). 따라서 레반 발효 산물에 의해 지방 생성이 억제되었고, 그 효과는 체지방 축적 억제에도 영향을 미쳤을 것으로 사료된다. 또한 레반은 지질 및 에너지 대사에 관여하는 효소인 insulin의 분비를 조절하는 것으로 나타났는데 레반 섭취에 의해 혈청 insulin 농도가 낮아져 내장 지방 축적 억제가 나타나며, 내장 지방 축적은 insulin resistance와 관련되는 것으로 사료된다.³²⁾

혈청 insulin과 함께 혈청 leptin 농도도 레반 식이를 공급한 쥐에서 낮았는데, leptin 농도는 체지방의 양에 비례하며, insulin과 leptin은 서로 생성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.³³⁻³⁵⁾ 따라서 본 실험 결과 나타난 레반 식이군에서 혈청 leptin 농도가 낮게 나타난 것은 레반 섭취에 의하여 체지방 축적이 억제되고 혈중 인슐린의 분비가 억제된 결과에 기인하는 것으로 사료된다. Leptin은 에너지가 과잉 축적될 경우 생성이 증가하여 비만 지표로 사용될 수 있는데¹⁰⁾ 이러한 관점에서 볼 때 레반 식이군에서 혈청 leptin 농도가 낮은 것은 레반의 비만 개선 효과를 보여주는 지표가 될 수 있다고 하겠다.

UCP는 발열 반응에 의해 에너지 소비율을 증가시키는 요인으로, UCP 유전자 발현은 체지방 생성 및 비만 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있고^{12,36,37)} 선행 연구에서도 고지방 식이에 의해 유도된 비만 쥐에서 UCP 발현이 증가함을 볼 수 있었다.⁹⁾ 이러한 UCP의 발현은 주로 추위와 영양 요인에 의해 조절되며,^{11,19)} 식이 요인으로 UCP 유전자 발현을 조절하여 비만을 개선하려는 연구들이 진행되어 왔다.^{20,21)} 예를 들면, 식이에 0.8% 마늘 분말 첨가로 식이 중 5.05 mg의 diallylsulfide를 함유한 식이를 섭취한 쥐에서 갈색 지방 조직의 UCP 함량이 증가하였음과²⁰⁾ n-3 지방산 섭취가 n-6 지방산 섭취보다 근육의 UCP 3 발현을 유도함이 이미 보고되었다.²¹⁾ 본 연구에서는 갈색 지방 조직의 UCP 1, UCP 2 발현이 레반 함유 식이에 의해 유도되었음을 보였고 이러한 발현량 증가는 레반 섭취량이 많을수록 더 뚜렷하여 레반 섭취가 갈색 지방 조직의 UCP 발현을 증가시키는 것을 알 수 있었다. 본 연구 결과 레반 섭취는 UCP의 발현을 증가시켜 에너지 소비를 촉진하고, 지질 대사를 개선하여 체지방 축적을 억제함으로써 항 비만 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구는 프락토스 중합체인 레반의 항 비만 효과를 살펴보기 위하여 고지방 섭취로 유도된 비만 쥐에게 레반을

식이의 3%와 5%로 6주간 공급한 후 체내 지방조직 양과 지방세포 크기를 측정하였다. 또한 혈청 지질, leptin, insulin 농도 및 갈색지방 조직, 백색지방 조직에서의 UCP mRNA 발현을 관찰하여 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 1일 체중 증가량은 정상 대조군보다 고지방 대조군에서 유의성 있게 높았고, 레반 함유 식이를 섭취한 군에서는 정상 대조군과 유사하였다.

2) 정상 대조군에 비하여 고지방 대조군에서 갈색지방, 내장지방, 복막지방의 무게가 유의성 있게 높았으며, 3% 레반 식이군에서는 내장지방과 복막지방의 무게가 유의성 있게 높았다. 한편, 5% 레반 식이군에서는 갈색지방의 무게가 정상 대조군에 비하여 유의성 있게 높았다.

3) 정상 대조군에 비하여 고지방 대조군에서 지방세포의 크기가 유의성 있게 컸으며, 고지방 대조군에 비해서는 레반 식이군에서 유의성 있게 지방세포 크기가 작았다.

4) 고지방 대조군에 비해 레반 식이군에서 혈청 중성지방 농도가 낮았고 정상 대조군에 비해 고지방 대조군에서 HDL 콜레스테롤 농도가 낮았다.

5) 혈청 leptin과 insulin 농도가 정상 대조군에 비해 고지방 대조군에서 높았고 레반의 효과는 레반 섭취량이 증가함에 따라 증가하였다.

6) 고지방 대조군에서 갈색지방의 UCP mRNA 발현량이 높았으며, 레반 식이군에서 갈색 지방 조직의 UCP 1, UCP 2 발현이 더욱 유도되어 레반 섭취에 의해 에너지 소비율이 증가할 수 있음이 나타났다.

결론적으로, 고지방 식이는 비만을 유도하였으며, 고지방 식이과 함께 섭취한 레반은 지질 대사와 에너지 대사 개선에 영향을 미쳐 체지방 형성을 억제함으로써 항 비만 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각되며 이러한 효과는 레반의 지방 생성 억제 효과와 조직에서의 UCP 발현 유도가 매개체가 되는 것으로 사료된다.

■ 감사의 글

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

Literature cited

- 1) Grundy, SM. Multi-factorial causation of obesity: implications for prevention. *Am J Clin Nutr* 67 (Suppl): 563s-572s, 1998
- 2) Albu J, Allison D, Boozer CN, Heymsfield S, Kissileff H, Kretser A, Krumhar K, Leibel R, Nonas C, Pi-Sunyer X, Vanltallie T, Wedral E. Obesity Solutions: Report of a Meeting. *Nutr Rev* 55(5): 150-156, 1997
- 3) Roverfroid MB, Delzenne NM. Dietary fructans. *Annu Rev Nutr*

- 18: 117-143, 1998
- 4) Rhee SK, Song KB, Kim CH, Park BS, Jang EK, Jang KH. Biopolymers. Vol. 5. Polysaccharides 1. "Levan". pp.351-377. volume editors: Erick Vandamme, Sophie De Baets and Alexander Steinbuechel. Wiley-VCH Verlag GmbH, Germany, 2002
 - 5) Han YW. Microbial levan. *Adv Appl Microbiol* 35: 171-194, 1990
 - 6) Yamamoto Y, Takahashi Y, Kawano M, Iizuka M, Matsumoto T, Saeki S, Yamaguchi H. *In vitro* digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J Nutr Biochem* 10: 13-18, 1999
 - 7) Calazans GMT, Lima RC, de Franca FP, Lopes CE. Molecular weight and antitumor activity of *Zymomonas mobilis* levan. *Int J Biol Macromol* 27: 245-247, 2000
 - 8) Kasapis S, Morris ER, Gross M, Rudolph K. 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, 1994
 - 9) Hong KH, Kang SA, Kim SH, Choue RW. Effects of high fat diet on serum leptin and insulin level and brown adipose tissue UCP 1 expression in rats. *Korean J Nutrition* 34(8): 865-871, 2001
 - 10) Havel PJ. Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Proc Nutr Soc* 59(3): 359-371, 2000
 - 11) Keith DG, Martin J, Pet J. The mechanism of proton transport mediated by mitochondrial uncoupling proteins. *FEBS Lett* 438: 10-14, 1998
 - 12) Rippe C, Berger K, Boeirs C, Ricquier D, Erlanson AC. Effect of high-fat diet, surrounding temperature, and enterostatin on uncoupling protein gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279(2): E293-E300, 2000
 - 13) Matsuda J, Hosoda K, Itoh H, Son C, Doi K, Tanaka T, Fukunaga T, Inoue G, Nishimura H, Yoshimasa Y, Yamori Y, Nakao K. 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, 1997
 - 14) Boss O, Samec S, Giacobino AP, Rossier C, Dulloo A, Seydoux J, Muzzin P, Giacobino JP. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett* 408: 39-42, 1997
 - 15) Delzenne N, Ferre P, Beylot M, Daubioul C, Declercq B, Diraision F, Dugali I, Foufelle F, Foretz M, Mace K, Reimer R, Plamer G, Rutter G, Tavera J, Van Loo J, Vidal H. 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, 2001
 - 16) Daubioul CA, Taper HS, Wispelaere LD, Delzenne NM. Dietary oligo-fructose lessens hepatic steatosis, but does not prevent hypertriglyceridemia in obese Zucker rats. *J Nutr* 130: 1314-1319, 2000
 - 17) Mortensen A, Poulsen M, Frandsen H. 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, 2002
 - 18) Hoeger WW, Harris C, Long EM, Hopking DR. Four week supplementation with a natural dietary compound produces favorable changes in body composition. *Adv Ther* 15(5): 305-314, 1998
 - 19) Boss O, Samec S, Khune F, Bijlenga P, Assimacopoulos-Jeannet F, Seydoux J, Giacobino JP, Muzzin P. Uncoupling protein 3 expression in rodent skeletal muscle is modulated by food intake but not by changes in environmental temperature. *J Bio Chem* 273(1): 5-8, 1998
 - 20) Oi Y, Kawada T, Shishido C, Wada K, Kominato Y, Nishimura S, Ariga T, Iwai K. Allyl-containing sulfide in garlic increase uncoupling protein content in brown adipose tissue, and norepinephrine and adrenaline secretion in rats. *J Nutr* 129: 336-342, 1999
 - 21) Cha SH, Fukushima A, Sakuma K, Kagawa Y. 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, 2001
 - 22) Lavau M, Susin C, Knittle J, Blanchet-H S, Greenwood MRC. A reliable photomicrographic method for determining fat cell size and number: application to dietary obesity. *Proc Soc Exp Biol Med* 156: 251-256, 1977
 - 23) Javier M, Amelia MJ, Alfredo M. 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 γ . *J Nutr Biochem* 12: 130-137, 2001
 - 24) Flordaliso M, Kok N, Desager JP, Goethals F, Deboyser D, Roberfroid M, Delzenne N. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 30(2): 163-167, 1995
 - 25) Kok N, Roberfroid M, Delzenne N. Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. *Metabolism* 45(12): 1547-1550, 1996
 - 26) Kok NN, Taper HS, Delzenne NM. Oligofructose modulates lipid metabolism alterations induced -by a fat-rich in rats. *J Appl Toxicol* 18(1): 47-53, 1998
 - 27) Delzenne NM, Kok NN. Biochemical basis of oligofructose-induced hypolipidemia in animal models. *J Nutr* 129(7 suppl): 1467s-1470s, 1999
 - 28) Han LK, Xu BJ, Kimura Y, Zheng Y, Okuda H. *Platycodi radix* affects lipid metabolism in mice with high fat diet-induced obesity. *J Nutr* 130: 2760-2764, 2000
 - 29) Causey JL, Feirgat JM, Gallaher DD, Tungland BC, Slavin JL. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutr Res* 20(2): 191-200, 2000
 - 30) Jackson KG, Taylor GR, Clohessy AM, Williams CM. 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(1): 23-30, 1999
 - 31) Davidson MH, Maki KC. Effects of dietary inulin on serum lipids. *J Nutr* 129(suppl): 1474S-1477S, 1999
 - 32) Abate N. Insulin resistance and obesity: the role of fat distribution. *Diabetes Care* 19: 292-294, 1996
 - 33) Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, Mckee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *New Eng J Med* 334(5): 292-295, 1996
 - 34) Guerre-Millo M. Regulation of *ob* gene and overexpression in obesity. *Biomed & Pharmacother* 51: 318-323, 1997
 - 35) Havel PJ, Kasim KS, Mueller W, Johnson PR, Gingerich RL, Stern JS. Relationship of plasma leptin to plasma insulin and

- adiposity in normal weight and overweight women: effects of dietary fat content and sustained weight loss. *J Clin Endo Met* 81(12): 4406-4413, 1996
- 36) Oberkofler H, Dallinger G, Liu YM, Hell E, Krempler F, Patsch W. Uncoupling protein gene: quantification of expression levels in adipose tissues of obese and non-obese humans. *J Lipid Res* 38(10): 2125-2133, 1997
- 37) Himms-Hagen J, Ricquier D. Brown adipose tissue. In: Bray GA, Brouhard C, James WPT, ed. *Hand Book of Obesity*, pp. 415-442, Marcel Dekker, New York, 1997