

# 고지방식이를 섭취한 mouse의 hypothalamus에서의 유전자군의 발현양상 변화

차민호 · 김경선 · 강봉주 · 심웅섭<sup>\*</sup> · 윤유식  
한국한의학연구원, <sup>\*</sup> 고려대학교 생명공학원

## Abstract

### Gene expression profile of hypothalamus isolated in different nutrient feeding mouse

Cha Minho, Kim Kyungseon, Kang Bongjoo, Sim Woongseop, Yoon Yoosik

Korea institute of Oriental medicine

<sup>\*</sup>Graduate school of Lifescience & Biotechnology, Korea Univ.

Obesity is caused by imbalance of energy intake and expense. If energy intake is more than its expenditure, body does fat accumulation and affects body weight. It can be fetal disease although obesity is not disease in itself. Central regulatory system is affected by many neurotransmitters regulating food intake in brain. Hypothalamus was known as one of food intake regulation in CNS. In order to investigate gene expression difference in hypothalamus by different nutrient, we used C57/BL6 control mouse and db-/db- mouse. They divided each of two group with mouse, and fed control diet and high-fat diet for 4 weeks. Each of control and high-fat diet contained 11.7% and 59.7% fat, respectively. Then we performed microarray assay with them. We compared among changed genes in hypothalamus region. In the results, we observed that increased genes were more than decreased genes. Although hypothalamus size of db-/db- mouse is smaller than that of C57/BL6, more genes were affected in db-/db- mouse. In this study, many genes are affected by nutrient in hypothalamus region.

**Key words :** high fat diet, microarray, hypothalamus, db-/db- mouse

## I. 서 론

우리 몸은 에너지 생성과 소비에 대한 일정한 항상성을 가지고 있다. 이를 유지하기 위한 기전으로

중추신경계 중 시상하부가 중요한 조절기능을 담당하고 있으며, 체내의 많은 호르몬과 신경전달 물질이 시상하부로 에너지 조절에 대한 신호를 제공하고 있다. 이러한 신호에 대하여 시상하부가 적절히

반응하여 신체는 일정하게 유지된다고 할 수 있다.

식사조절은 비만 치료를 위한 가장 중요하고 기본적인 방법이라 할 수 있다. 식사조절을 위한 음식의 섭취는 말초적인 조절과정과 중추적인 조절과정 사이의 연속적인 상호작용에 의해 나타나는 일련의 복잡한 현상으로 알려져 있다(Jquier E 1999). 말초적인 조절과정을 담당하는 위장관은 미주신경(vagus nerve)을 통해 뇌에 영양성분에 대한 정보를 공급할 수 있는 화학적, 기계적 수용체를 가지고 있다. 또한 위장관내에는 포만신호의 중요한 조절인자인 cholecystokinin(CCK)(Lavin et. al., 1996), bombesin, glucagon 및 glucagon-like peptide(GLP-1)(Silver AJ et. al., 1988)를 포함한 소장관내의 포만 호르몬이 있으며, 이러한 위장관내의 포만 호르몬은 소장 안에 수용체와 영양성분의 상호작용에 의해서 방출된다. 이에 반해, 중추적인 조절과정은 뇌내의 음식 섭취를 조절하는 수많은 신경전달물질에 의해서 영향을 받는다. 중추신경계에서 전통적으로 음식섭취 조절에 관여한다고 알려진 부위로는 시상하부와 뇌간이 있다.

시상하부는 자율적인 항상성 유지와 내분비적인 항상성 유지를 위한 조절중추이며 (De Lecea et. al., 1996), 중추신경계에서 음식섭취를 조절하는 중요한 부위로 알려져 있다. 시상하부에서의 기능은 두 부위의 음식섭취의 중추가 존재해서 음식섭취를 조절한다는 dual center에 의한 이원적 조절가설(Steller et. al., 1954)이 있다. 이원적 조절중추에 해당하는 부위는 시상하부의 배내측핵(ventromedial nucleus)과 외측시상하부(lateral hypothalamus area)로서 배내측핵의 병변은 음식섭취의 감소와 식욕부진을 일으킨다고 알려져 있다(Bray et al., 1981)(Brown, 1984). 시상하부에서 발견되어 식욕을 자극하는 것으로 알려진 신경 펩티드는 신경펩티드 Y(Neuropeptide Y, NPY), 갈라닌, 이편양펩티드(opioid), melanin concentrating hormone(Bray GA

1972)등이다. 반면, 식욕을 감퇴시키는 것으로 알려진 신경펩티드는 부신피질 자극호르몬 방출 호르몬(CRF), 봄베신(bombesin), 뉴로텐신(neurotensin), 콜레스티스토키닌(CCK), 렙틴(leptin),  $\alpha$ -MSH(melanocyte stimulation hormone), glucagon-like peptide-1 등이 있다(Blundell and Halford, 1998).

Leptin은 지방세포에서 합성이 되며, 포만중추를 자극시켜 음식물의 섭취억제, 포만감 형성 등을 조정하는 신경전달물질의 일종으로 몸 안에서 대사활동을 증가시키고 음식물의 섭취를 억제하며, 몸 안에 축적된 지방량을 줄여준다. 또한 leptin 신호가 없으면 심한 비만이 생기고 이것이 결핍되면 불임이 되고 뼈의 손실을 초래하게 된다(Taylor et al., 1996; Ducey et al., 2000). 멕시코 사람에게 leptin 유전자 부근의 marker에서 비만과 높은 연관이 보고 되었고, 또 다른 연구에서도 BMI와의 상관관계가 확인되었다(Bouchard et al., 1997, Anthony et al. 2001). db 유전자의 산물은 Leptin 수용체로 주로 뇌의 시상하부에서 작용하며 지방조직에서 만들어져 분비된 Leptin을 인지하고, 이 신호를 뇌 세포에 전달하는 기능을 담당한다. 따라서 이들 두 유전자 중 어느 하나라도 결핍되면 과도한 비만이 유도된다.

본 연구에서는 과다한 영양섭취 및 유전적인 원인으로 인해 비만이 형성되었을 때, 이로 인해 생체 조직에서 발현양상의 변화가 나타나는 유전자군들을 찾아내고, 이들의 발현양상 변화와 지방축적과의 상호작용을 관찰하고자 하였다.

위 연구를 위하여 mouse를 대상으로 고지방식이를 섭취시켜 비만을 유도한 다음, 이들 mouse의 hypothalamus를 분리하고, 이들 hypothalamus에서 발현 변화가 일어나는 유전자군을 찾아내기 위하여 microarray assay를 수행하였다. 또한 유전적 결합에 의해 비만이 유도되는 mouse로 잘 알려진 것으로는 ob-/ob- mouse와 db-/db- mouse가 알려져 있

으며, 이들 둘 모두 ob, db 유전자가 결핍되어서 비만이 유도되는 경우이다. 또한 이들 두 mouse는 비만 연구를 위한 동물모델로 각광을 받고 있다.

## II. 재료 및 방법

고지방식이 섭취에 따른 지방조직에서의 유전자 발현양상 변화를 관찰하기 위하여 동물실험을 수행하였다. 7주령의 mouse 및 db/db- mouse에 각각 고지방食이를 섭취시킨 다음 이들을 해부하고, 혈중 지질량 및 지방조직 내에서의 지질 발현양상을 조사하였다.

### 1. 실험동물

7주령의 C57/BL6 mouse와 db/db- mouse 각 16

수를 사용하였으며, 사육실의 체광은  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 물과 실험食이는 자유로이 먹도록 하였다. 실험동물의 평균체중은 C57/BL6 mouse와 db/db- mouse가 각각  $21.6 \pm 0.9 \text{ g}$ ,  $42.3 \pm 3.1 \text{ g}$  이었다. C57/BL6는 대한바이오링크에서 분양 받았으며, db/db- mouse는 한국생명공학연구소에서 분양 받아 사용하였다. 이들 C57/BL6 mouse와 db/db- mouse는 1주일간의 적응시기를 거친 다음, 각각 2군으로 구분하여 한 군은 정상食이를 다른 군은 고지방食이를 4주간 섭취시켰다.

실험食이는 AIN-93G(Reeves 1993)에 근거하여 식이를 제조하였다(Table 1). 정상食이는 전체 열량 중 지방으로부터 11.7%의 열량을 얻도록 하였으며, 고지방食이군은 지방으로부터 59.8%의 열량을 얻도록 하였다. 실험 기간 중 실험동물의 체중은 매주 측정하였다.

Table 1. Composition of standard diet and high fat diet

Components	Standard Diet (%)	High Fat Diet (%)
Casein	20	20
Sucrose	10	10
Corn starch	39.75	14.95
Dyetrose	13.2	5
Lard (80%)	-	36.5
Soybean oil	7	3.5
Cellulose	5	5
Vitamin mix	1	1
Mineral mix	3.5	3.5
Choline bitartarate	0.25	0.25
L-Cystein	0.3	0.3
BHQ	0.0014	0.0014
Energy (Kcal/100g)	394.8	500.0
Energy from fat (%)	16.0	58.9

## 2. 해부 및 조직 처리

실험동물을 에테르로 전신마취시킨 후 개복하여 간과 부고환지방조직(epididymal adipose tissue), 신장후 복막하 지방조직(retro-peritoneal adipose tissue)의 세 부위를 적출하여 무게를 측정하여 각 쥐들의 비만 유도여부를 확인하였으며, 시상하부를 포함한 뇌조직을 분리하여 액체질소 하에서 급속 동결한 뒤 microarray assay를 위한 시료로 사용하였다.

## 3. 혈액채취 및 혈중 지질농도 분석

실험 종료일인 7주째와 4주째 되는 날에 해부하여 심장에서 채혈하여 원심분리한 후 얻어진 혈장을 혈중 지질농도 분석시료로 하였다. 모든 혈장시료는 분석직전까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 저온냉동고에서 보관하였다.

총 콜레스테롤과 중성지질 함량은 아산제약에서 제조된 분석용 키트를 이용하였으며, 유리지방산은 Nescott NEFA kit-U(Azwell Co., Japan)를 이용하여 정량하였다.

## 4. Total RNA 분리

Total RNA 분리는 Trizol Reagent(Gibco BRL, Gaithersburg, MD)를 사용하여 guanidinium-thiocyanate 법(Chomczynski and Sacchi, 1987)으로 분리하였다. 먼저 hypothalamus를 액체질소 하에서 파쇄한 다음, 1ml의 Trizol 용액을 부가하고 200ul의 chloroform을 부가하여 완전히 섞은 다음 원심분리하였다. 상층액에 동량의 phenol:chloroform을 부가하고 원심분리 후 상층액에 0.6배의 isopropanol과 0.1배의 3M sodium acetate를 부가하여 RNA를 침전시켰다.

## 5. Microarray assay

microarray의 cDNA chip은 Gaiagen(Korea)에서 실시하였다. hypothalamus의 total RNA는 Trizol(GibcoBRL, USA)을 사용하여 acid-phenol 방법으로 분리하였다. 각 sample에서, total RNA를 사용하여 역전사를 수행하였다. 반응물 조성은 total RNA 20ug에 oligo-dT primer 5ug,  $5\times$  reaction buffer 6ul,  $50\times$  dNTP 0.6ul, reverse transcriptase(GibcoBRL) 2ul, 그리고 두 개의 형광물질 Cy3 또는 Cy5로 labeling된 deoxyuridine-triphosphate(dUTP)를 섞어 제조하였다.  $^{32}\text{P}$ 가 삽입되지 않은 dNTP는 제거하고, 그 sample을 speed vac.으로 농축하였다. microarray를  $42^{\circ}\text{C}$ 의 습기가 있는 hybridization chamber에서 2시간동안 15ul의 hybridization solution (poly(dA) 8ul, E.coli tRNA 4ug, mouse Cot1 DNA 10ug, 1% SDS,  $5\times$  SSC)으로 prehybridization하였다. RNA조직의 Cy5와 Cy3로 labeling된 cDNA는 15ul hybridization buffer와 결합되고  $95^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 가열하였다. 결합된 sample을 coverslip으로 덮고  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 12~16시간 동안 혼성화시켰다. 혼성화 반응 후에 microarray를  $0.1\times$  SSC/0.1% SDS 용액과  $0.1\times$  SSC으로 상온에서 두 차례 세척한다. slide를 brief centrifugation로 말리고, GSM418 스캐너(Affimetrix, USA)를 사용하여 스캔하였다. data 분석은 ImaGene software (BioDiscovery Co., USA)를 이용하여 수행되었다.

## 6. 통계처리

실험결과의 통계처리는 SPSS program을 이용하였으며, 모든 측정값은 Mean  $\pm$  SE로 표시하였다. 분석치에 대한 유의성 검증은 one way-ANOVA를 실시하였고, 분석결과에 대해  $p < 0.05$ 의 수준에서 Duncan의 다중검정법으로 사후검정을 실시하여 각 처리구 간의 평균치에 대한 유의성 차이를 분석하였다.

### III. 결 과

#### 1. 체중 및 외견상의 변화

7주령의 정상 C57/BL6와 db-/db- 쥐를 각각 두 군으로 분리하여 한 군에는 정상식을 다른 군에는 고지방식을 각각 4주간 섭취시킨 결과, 정상쥐의 경우 고지방식을 섭취한 쥐가 정상식을 섭취한 쥐보다 약 3g 정도의 무게 증가 현상을 보였다. 반면에 db-/db- 쥐의 경우 정상식이 군과 고지방식이군 모두 정상쥐보다 무게가 14g, 19g 증가하였다. 또한 db-/db- 쥐의 경우 정상식을 섭취한 쥐보다 고지방식을 섭취한 쥐에서 약 5g의 무게 증가 현상이 관찰되었다. 고지방식이의 섭취는 쥐의 외형적 변화에도 영향을 미쳤는데, 고지방식을 섭취한 쥐의 정상쥐와 db-/db- 쥐 모두에서 정상식을 섭취한 쥐보다 털에 기름기가 많고 또한 털이 빠지는 현상을 관찰할 수 있었다.

#### 2. 고지방 식이 섭취에 의한 쥐의 무게 및 지방량 변화

정상식과 고지방식을 7주간 먹인 후 이들을 해부하여 WAT(white adipose tissue)인 부고환 지방조직(epididymal adipose tissue), 신장복막하 지방조직(retro-peritoneal adipose tissue)과 간(liver) 그리고 비장(spleen)의 무게를 측정하였다(Table 2). 그 결과 정상식을 섭취한 군보다 고지방식을 섭취한 군에서 부고환 지방조직과 신장후 복막하 지방조직이 각각 2배와 0.7배 증가되었음을 관찰하였다. 또한 내장형 지방 또한 고지방식을 섭취한 쥐에서 현저히 발달하였음을 알 수 있었다. 그러나 지방대사와 관련된 간과 면역계와 관련된 비장의 무게는 변화가 없었으며, 이들의 외형상의 형태 및 색깔 변화에서도 두드러진 차이를 관찰할 수 없었다.

Table 2. Body weight, liver and adipose tissue of normal and db-/db- mice fed standard diet or high fat diet

	Normal mice Standard diet	Normal mice High fat diet	db-/db- mice Standard diet	db-/db- mice High fat diet
Body weight (g)	26.21 ± 0.29 a	29.60 ± 0.53 b	40.78 ± 0.77 c	45.20 ± 0.39 d
Liver (g)	1.27 ± 0.05 a	1.24 ± 0.02 a	1.97 ± 0.06 b	2.17 ± 0.07 c
Retro-peritoneal adipose tissue (g)	0.22 ± 0.02 a	0.42 ± 0.02 b	0.63 ± 0.04 c	0.74 ± 0.03 d
Epididymal adipose tissue (g)	0.74 ± 0.05 a	1.39 ± 0.06 b	2.06 ± 0.08 c	2.42 ± 0.06 d

Values represent Mean ± S.E.M. Means in each column followed by the different alphabets are significantly different (P<0.05)

#### 3. 쥐의 혈중 지방량 변화

정상식과 고지방 식이 섭취에 의한 쥐의 혈중 지방량의 변화를 알아보기 위하여 각 군에서 혈액

을 채취한 다음, 이들 혈액에서 total cholesterol(TC), Triglyceride(TG) 그리고 유리지방산(free FA)의 양을 측정하였다(Table 3).

정상쥐에서는 혈중 cholesterol 양이 고지방식을

섭취한 군에서 정상식이를 섭취한 군보다 유의적인 증가를 보인 반면 triglyceride와 유리지방산의 경우 약간의 증가양상을 보였으나 유의적 차이는 없었다. 그러나 db-/db- 쥐에서는 고지방식이를 섭취한 군에서 혈중 cholesterol, triglyceride 양의 유의적인 증

가를 보였으며, 유리지방산의 경우 별다른 차이를 나타내지 못하였다. 위의 실험군들에서 혈중 지방량은 각 개체의 비만도가 증가할수록 혈중 지질의 양이 동시에 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

Table 3. Serum lipid levels of normal and db-/db- mice fed standard diet or high fat diet

	Normal mice Standard diet	Normal mice High fat diet	db-/db- mice Standard diet	db-/db- mice High fat diet
Cholesterol (mg/dL)	176.96 ± 8.46 a	252.38 ± 16.12 b	215.48 ± 15.20 a,b	344.64 ± 19.58 c
Triglyceride (mg/dL)	51.15 ± 4.03 a	70.76 ± 7.36 a	100.51 ± 7.56 a	171.08 ± 34.52 b
Free fatty acid (ug/dL)	1579.09 ± 123.86 a	1801.06 ± 129.79 a	2119.74 ± 137.44 a,b	2524.47 ± 167.68 b

Values represent Mean ± S.E.M. Means in each column followed by the different alphabets are significantly different (P<0.05)

#### 4. 고지방식이 섭취에 의한 시상하부 조직에서의 유전자 발현의 변화

정상식이와 고지방식이를 섭취한 정상쥐와 db-/db- 쥐의 시상하부 조직에서의 유전자 발현 변화를 관찰하기 위하여 이들 각 군의 시상하부 조직

에서 total RNA를 분리한 다음, 이들을 가지고 microarray assay를 수행하였다. 유전자 발현의 상호비교는 먼저 정상쥐에서 정상식이와 고지방식이 섭취군, 정상식이 섭취 군에서 정상쥐와 db-/db- 쥐, 그리고 db-/db- 쥐에서 정상식이와 고지방식이 섭취 군으로 구분하여 수행하였다(Fig. 1, 2, 3).

Fig. 1. Result of microarray from hypothalamus tissue of control and high fat diet feeding normal mouse. A) Image of microarray result. B) Correlations between the total gene expression results of DNA chips

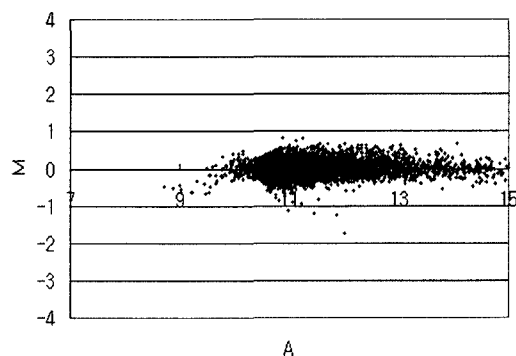
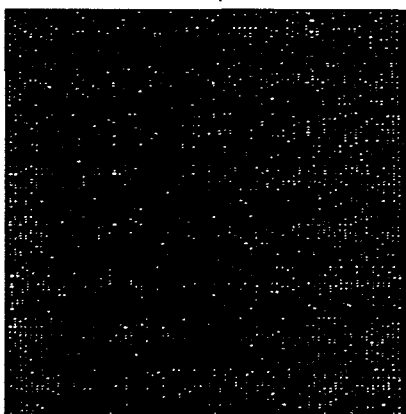


Fig. 2. Result of microarray from hypothalamus tissue of normal and db- mouse A) Image of microarray result. B) Correlations between the total gene expression results of DNA chips

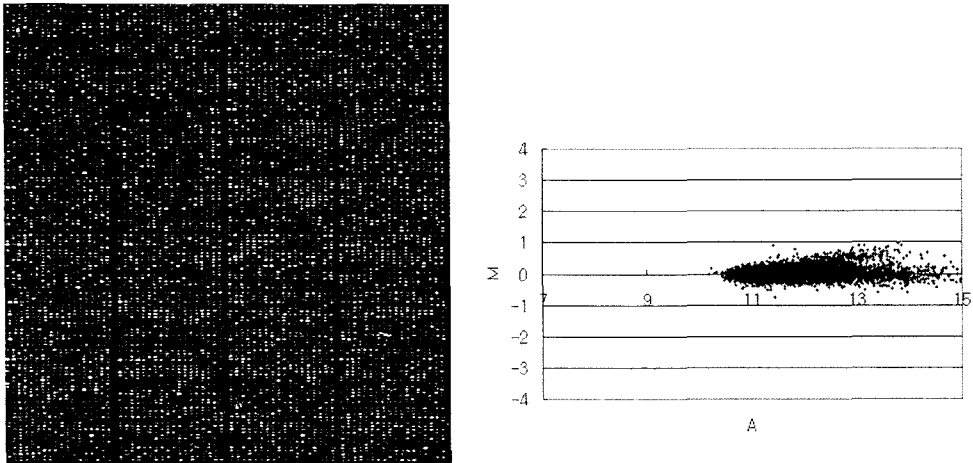
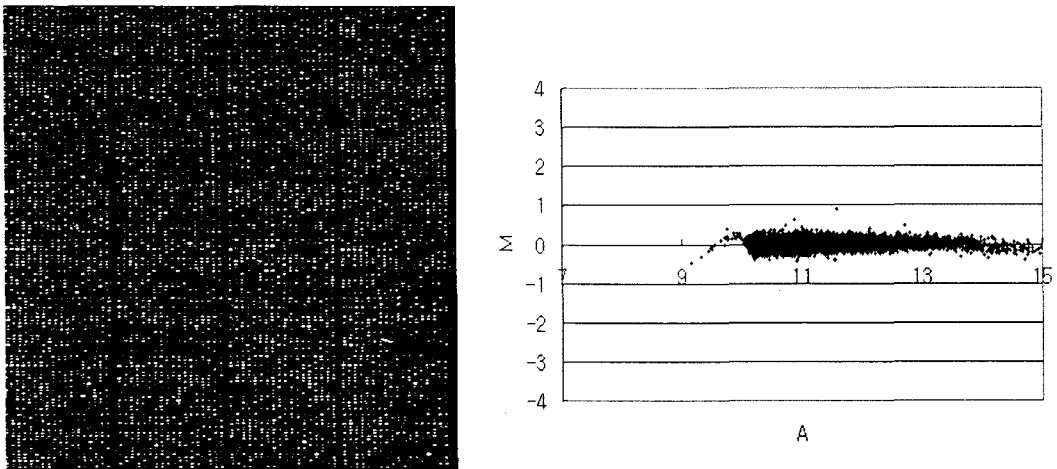


Fig. 3. Result of microarray from hypothalamus tissue of control and high fat diet feeding db- mouse A) Image of microarray result. B) Correlations between the total gene expression results of DNA chips



전체 10292개의 유전자에 대한 microarray 분석을 수행한 결과, 정상쥐의 경우 식이변화에 따라 시상하부 조직에서 약 78개의 유전자가 1.5배 이상의 발현 변화를 보이는 것으로 확인되었다. 정상쥐와 db-/db- 쥐 사이의 상호비교에서는 약 73개의 유전자가 그리고 db-/db- 쥐에서의 식이변화에 효과에

의해서는 14개의 유전자에서 1.5배 이상의 발현 증감 효과가 있음을 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 정상쥐의 경우에는 식이 변화에 의해 증가되는 유전자의 수가 훨씬 많은 반면에 db-/db- 쥐의 경우에는 아주 적은 수의 유전자만이 발현상의 변화를 보이는 것으로 확인되었다.

Fig. 4 No. of genes which were differently expressed in hypothalamus tissue A) Normal high fat compared with normal control, B) db-/db-control compared with normal control, C) db-/db-high fat compared with db-/db- control

A)

Normal control:: Normal high fat	
1.5배 감소	6
1.5배 증가	72
total genes	10291

B)

Normal control:: db-control	
1.5배 감소	23
	51
total genes	10295

C)

db-control:: db-high fat	
1.5배 감소	12
	2
total genes	10355

시상하부 조직에서 변화된 유전자들 간의 상호비교를 cluster로 관찰한 결과는 Fig 5에 표기하였으며, Microarray 결과 관찰된 유전자들 중 1.5배 이

상 발현이 증감되는 유전자들 가운데 기능이 알려진 유전자들은 Table 4, 5, 6에 표기하였다.



Fig. 5. Clustering of hypothalamus tissue gene expression pattern. These genes were differently expressed over 1.5- fold. Green color were shown decreased genes and red color were increased genes. 1 was db- high fat compared with db- control. 2 was normal high fat compared with normal control. 3 was db- control compared with norml control

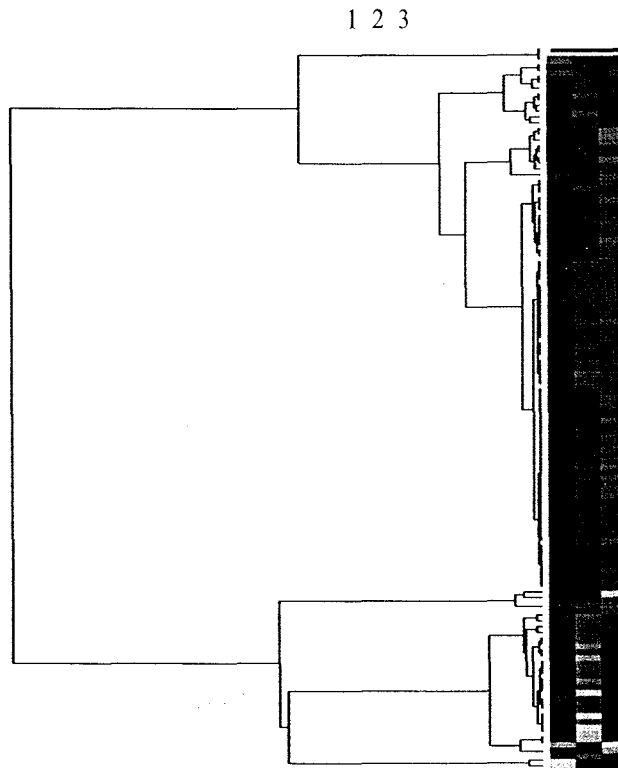


Table 4. Genes that were differently expressed in hypothalamus from db-/db- mouse fed high fat compared with db-/db- mouse fed control

Gene	expression ratio
<b>genes that decreased 2-fold of expression</b>	
expressed sequence C87484	0.42
calmodulin binding protein 1	0.50
<b>genes that increased 2-fold of expression</b>	
potassium channel, subfamily K, member 4	1.85

Table 5. Genes that were differently expressed in hypothalamus from db-/db- mouse fed control diet compared with C57/Bl6 fed control diet

Genes	expression ratio
<b>Genes which expression were decreased 2-fold</b>	
mitogen activated protein kinase kinase 2	0.16 0.59
<b>Genes which expression were increased 2-fold</b>	
Mus musculus mRNA for synaptotagmin XI, transthyretin	1.74 1.74
RIKEN cDNA 0610009E22 gene	1.76
RIKEN cDNA 1010001J12 gene	1.76
nuclear RNA export factor 1 homolog	1.76
lectin, galactose binding, soluble 1	1.77
Mus musculus, clone IMAGE : 3488009, mRNA	1.77
delta-like 1 homolog	1.84
DNA segment, Chr 8, ERATO Doi 69, expressed	1.84
faciogenital dysplasia homolog	1.84
RAB24, member RAS oncogene family	1.94

Table 6. Genes that were differently expressed in hypothalamus from C57/Bl6 fed high fat diet compared with C57/Bl6 fed control diet

Genes	expression ratio
<b>Genes which expression were decreased 2-fold</b>	
Mus musculus ATP-dependent RNA helicase mRNA	0.30
Mus musculus mRNA for synaptotagmin	0.42
NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex	0.46
<b>Genes which expression were increased 1.7-fold</b>	
RIKEM cDNA 1500040L08 gene	1.75
P120 MOUSE P120 PROTEIN	1.76

#### IV. 고 찰

비만은 일반적으로 섭취한 에너지가 소비된 에너지보다 많은 경우 잉여의 에너지가 체내 지방세포에 축적되어 일어나는 현상이다. 식사조절은 비만

치료를 위한 가장 중요하고 기본적인 방법이라 할 수 있다. 식사조절을 위한 음식의 섭취는 말초적인 조절과정과 중추적인 조절과정 사이의 연속적인 상호작용에 의해 나타나는 일련의 복잡한 현상으로 알려져 있다(Jquier E., 1999).

체중증가 면에서 볼 때, 정상 C57/BL6 mouse의 경우 정상식이를 섭취한 군에 비하여 고지방식이를 섭취한 실험동물에서는 체중이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며, db-/db- 쥐에서도 동일한 결과를 유도할 수 있었다. 따라서 과도한 고지방식이 섭취가 비만을 유발함을 확인할 수 있었다. 정상사료를 섭취한 C57/BL6 mouse와 db-/db- 쥐 사이에서는 약 2배의 무게차이가 발생하였으며, 이는 db 유전자가 지방소모 및 대사활동 촉진에 큰 영향을 미치기 때문이라고 할 수 있다(Houseknecht and Portocarrero, 1998). 그러나 무게 증가량에서는 고지방식이를 섭취한 정상 C57/BL6 mouse에서의 증가량이 db-/db- 쥐에서의 증가량보다 훨씬 높게 나타났다. 부고환지방조직 및 신장후 복막하지방조직을 적출하여 무게를 측정된 결과, 대조군에 비해 고지방식이를 섭취한 쥐에서 지방조직의 무게가 유의적으로 높게 나타났고 C57/BL6 mouse 보다는 db-/db- 쥐에서 더욱 높게 관찰되었음을 확인하였다(Boado et al., 1998). 혈중 지질 농도의 변화를 측정된 결과, 고지방 식이를 급여한 정상 C57/BL6 mouse의 경우에는 혈중 콜레스테롤 만이 유의적 증가를 보인 반면, db-/db- 쥐에서는 혈중 콜레스테롤과 혈중 triglyceride에서 유의적인 차이를 보였다(Aro et al., 1998).

정상식이와 고지방식이를 섭취한 정상쥐와 db-/db- 쥐의 시상하부 조직에서 microarray assay를 수행한 결과, 전체 10292개의 유전자 중 정상쥐에서 식이 변화에 따른 시상하부 조직에서 변화가 일어나는 유전자는 78개의 유전자로 약 0.75%의 유전자에서 변화가 일어남을 관찰할 수 있었다. 정상쥐와 db-/db- 쥐 사이의 상호비교에서는 0.71%, 약 74개의 유전자에서 발현양상의 변화가 관찰되었다. 또한 db-/db- 쥐에서 식이변화에 의한 영향으로 변화가 일어나는 유전자는 0.13%인 14개의 유전자가 1.5배

이상의 증감 효과가 있음을 관찰할 수 있었다.

식이성 비만과 유전성 비만이 뇌조직 특히 시상하부조직에서의 유전자 발현 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 식이성 비만보다는 유전적 비만의 경우 변화되는 유전자들이 더 많은 것으로 확인되었다. 정상쥐와 db-/db-mouse의 시상하부를 이용한 microarray 실험 결과 발현에 변화가 나타나는 유전자는 전체 중 약 0.72%의 유전자가 1.5배 이상 변화되어 정상쥐에서의 식이성 비만과 동일한 변화량을 보인 반면에 1.7배 이상 변화되는 유전자들은 식이성 비만보다는 2배 이상 많은 것으로 확인되었다. 반면에 유전성비만을 가진 db-/db- mouse에서는 식이 변화에 따라 0.34%의 유전자 만이 변화되었으며 1.7배 이상 변화되는 유전자는 3종류 만이 관찰되었다. 시상하부에서 발현되는 신호전달 물질들인 신경펩티드 Y(Neuropeptide Y, NPY), 갈라닌, 아편양 펩티드(opioid), melanin concentrating hormone(Blundell and Halford, 1988), 부신피질 자극호르몬 방출 호르몬, 붐베신, 뉴로텐신, 콜레시스토키닌, 랩틴,  $\alpha$ -MSH, glucagon-like peptide-1 등의 발현양상은 변화를 관찰할 수 없었으나 MSH1은 약 13% 감소하였으며, MSH2의 경우 16% 발현이 증가하였다(Bray and York, 1972). 또한 뉴로텐신수용체는 발현상의 변화가 관찰되지 않았다.

고지방식이 섭취를 통한 비만모델 쥐는 식이섭취의 변화에 의한 지방조직에서의 유전자 발현 양상이 어떠한 변화를 보이는가를 관찰할 수 있는 좋은 모델이며, 이는 일상생활에서 섭취 가능한 고에너지 식품들이 지방세포의 성숙과 발달에 어떻게 작용하는가를 유전학적 방법으로 설명할 수 있는 좋은 모델이라 할 수 있다. 또한 위의 microarray assay에서 관찰된 유전자들의 상호작용을 연구함으로써 보다 자세한 식이와 유전자와의 상호관계를 설명할 수 있을 것이라 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Anthony W.F. Jr, Marie T., Ted L. & Rudolph L.L. (2001) Effects of leptin deficiency and short-term repletion on hepatic gene expression in genetically obese mice. *Diabetes* 50:2268-2278
2. Aro A, Pietinen P, Valsta LM, Turpeinen AM, Ehnholm C, Dougherty RM, Iacono JM. Effects of reduced-fat diets with different fatty acid compositions on serum lipoprotein lipids and apolipoproteins. *Public Health Nutr.* 1(2):109-16.
3. Blundell JE, Halford JCG. (1998) Serotonin and appetite regulation. *CNS Drugs* 9:473-495
4. Boado RJ, Golden PL, Levin N, Pardridge WM. (1998) Up-regulation of blood-brain barrier short-form leptin receptor gene products in rats fed a high fat diet. *J. Neurochem.* 71(4):1761-4.
5. Bouchard P, Maurice T, St-Pierre S, Privat A, Quirion R. (1997) Neuropeptide Y and the calcitonin gene-related peptide attenuate learning impairments induced by MK-801 via a sigma receptor-related mechanism. *Eur J. Neurosci.* 9(10):2142-51.
6. Bray GA, Imouse S, Nishizawa Y. (1981) Hypothalamic obesity. The autonomic hypothesis and lateral hypothalamus. *Diabetologia* 20:366-377
7. Bray GA, York DA. (1972) Studies on food intake and of genetically obese rats. *Am J. Physiol* 223:176-179
8. Brown FD, Fessler FG, Rachlin JR, Mullan S. (1984) Changes in food intake with electrical stimulation of the ventromedial hypothalamus in dogs. *J. Neurosurg.* 60:1253-1257
9. Chomczynski P. and Sacchi N. (1987) Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159
10. De Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao XB, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg ELF, Gautvik VT, Bartlett FS, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Elmquist JK, Ahima RS, Maratos-Flier E, Flier JS, Saper CB. (1996) Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brain stem. *Endocrinology* 138:839-842
11. Ducy, P. et al. 2000. The Osteoblast: A Sophisticated Fibroblast under Central Surveillance. *Science* 289: 1501-1504
12. Houseknecht KL, Portocarrero CP. (1998) Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Domest Anim Endocrinol.* 15(6):457-75.
13. Huq AH, Lovell RS, Ou CN, Beaudet AL, Craigen WJ. (1997) X-linked glycerol kinase deficiency in the mouse leads to growth retardation, altered fat metabolism, autonomous glucocorticoid secretion and neonatal death. *Hum Mol Genet.* 6(11):1803-9.
14. Lavin JH, Wittert G, Sun WM, Horowitz M, Morley JE, Read NW. (1996) Appetite regulation by carbohydrate: role of blood glucose and gastrointestinal hormones. *Am J Physiol.* 271(2 Pt 1):E209-14.
15. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 123(11):1939-51.
16. Silver AJ, Flood JF, Morley JE. (1988) Effect of gastrointestinal peptides on ingestion in old and young mice. *Peptides.* 9(2):221-5.
17. Stellar E. (1954) The physiology of motivation. *Physiol. Med.* 61:5-22
18. Taylor, S. I. et al. 1996. Does Leptin Contribute to Diabetes Caused by Obesity? *Science* 274: 1151