

뽕잎추출물이 고콜레스테롤 식이 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

박석훈¹ · 장미진¹ · 홍정희¹ · 이순재¹ · 최경호¹ · 박모라^{2*}

¹대구가톨릭대학교 식품영양학과

²국립상주대학교 식품영양학과

Effects of Mulberry Leaf Extract Feeding on Lipid Status of Rats Fed High Cholesterol Diets

Surk-Hoon Park¹, Mi-Jin Jang¹, Jung-Hee Hong¹, Soon-Jae Rhee¹,
Kyung-Ho Choi¹ and Mo-Ra Park^{2*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

²Dept. of Food Science and Nutrition, Sangju National University, Gyeongbuk 742-170, Korea

Abstract

This study was to investigate the effect of mulberry leaf water extract on lipid metabolism of rats fed high cholesterol diets. Sprague-Dawley male rats were randomly assigned to two normal groups; mulberry extract-free (N), 0.16% mulberry leaf extract (NM) groups and high cholesterol groups with four different levels of mulberry leaf extract; 0% (HC), 0.08% (HCL), 0.16% (HCM), and 0.32% mulberry leaf extract (HCH) groups. Serum levels of triglyceride, cholesterol, LDL-cholesterol and AI index in mulberry leaf extract supplemented groups were significantly lower than the HC group ($p < 0.05$). The level of HDL-cholesterol in the HC group was significantly ($p < 0.05$) reduced, compared with N group, but it was increased by mulberry leaf extract supplementation. Mulberry leaf extract had no effect on the UDP-glucuronyl transferase activity. Also, there was no significant difference in the level of liver cholesterol between the HC and mulberry leaf extract supplemented groups, while there was significant difference in the levels of liver total lipid and triglyceride. The HCM and HCH groups had more significant reduction in the activity of lipoprotein lipase in epididymal fat tissue than the HC group. The levels of total lipid, triglyceride and total cholesterol in epididymal fat tissue of HCL, HCM and HCH groups were decreased compared to HC group. The levels of total lipid, triglyceride and total cholesterol in feces from HCL, HCM and HCH groups were higher than those of HC group.

Key words: mulberry leaf water extract, lipid metabolism, high cholesterol diet, lipoprotein lipase, UDP-glucuronyl transferase

서 론

생활의 편리화와 식생활의 풍요로움은 에너지 및 동물성 지방 섭취량의 증가와 함께 당뇨, 비만환자나 고지혈증, 심장병, 뇌졸중, 고혈압 및 동맥경화증 등의 만성 성인병 환자가 증가되었다. 이러한 만성 퇴행성 질환 중에서도 심혈관계 환자의 수가 급증되어 그로 인한 사망률이 전체 사망요인의 3순위를 차지하고 있다(1). 이러한 관점에서 이들 병리상태를 호전시킬 수 있는 치료방법이나 예방할 수 있는 방법 모색이 사회적으로 중요시되고 있다. 따라서 저칼로리식품이나 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 수준을 저하시키기 위한 천연물질을 이용한 기능성식품 개발에 많은 관심을 갖게 되었다(2).

최근에는 천연 기능성식품 중에서 누에, 뽕잎, 상백피 및 동충하초 등의 잠상관련 물질이 기능성 신소재로 부각되고

있으며, 일본에서는 기능성식품 개발과 잠엽의 사양화를 막기 위한 일환으로 뽕잎을 이용한 식품을 개발하여 시판되고 있다(3). 우리나라에서도 양잠소득을 증진시킬 수 있는 잠엽의 새로운 소득원으로 뽕잎을 이용한 식품을 개발하고 있으며, '입는 양잠에서 먹는 양잠'으로 사업이 전환되고 있다. 특히 잠상산물 중 뽕나무(*Morus alba* L.)의 잎에 존재하는 성분은 크게 휘발성 성분과 비휘발성 성분으로 나눌 수 있으며 휘발성 성분으로는 guaiacol, eugenol, methyl salicylate, benzaldehyde 및 phenylacetaldehyde(4) 등이며 비휘발성 성분은 플라보노이드가 주류를 이루어 그 함량이 매우 높고 종류 또한 매우 다양하다.

즉, rutin(5,6), quercetin(7), isoquercetin(8,9), astragalins(8,10), quercetin-3-triglucoside, quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside(8,11) 및 kaempferol-3-O- β -D-glucopyr-

*Corresponding author. E-mail: mrpark@sangju.ac.kr
Phone: 82-54-530-5304, Fax: 82-54-530-5309

anoside(11,12) 등의 플라보노이드가 있으며 alkaloid 성분으로서 α -glucosidase 저해활성을 갖는 1-deoxynojirimycin(DNJ) (13)과 N-containing sugars(14,15)를 발견하였다. 또한 50여 종의 각종 무기성분이 분석되고 있으며 아미노산은 methionine 등 21종이 있으며 그 중 숙취를 없애주는 alanine과 aspartic acid, glutamic acid의 함량이 많은 것으로 알려져 있다.

지금까지 췌장의 생리활성에 대한 연구로는 주로 당뇨병에서 α -glycosidase 활성억제에 대한 혈당강하 효과나 (16,17), 췌장 물분획물의 혈당강화, 혈액 유동성 향상, 중금속의 흡착과 해독효과, 암 발생 억제, 노화억제(17,18) 및 Yen 등(19)은 췌장의 항산화 성분에 대한 연구 보고에서 췌장 메탄올 추출물은 α -토코페놀에 비해 과산화지질 생성 억제 효과가 강하다고 보고하였다. 특히 뽕나무류에는 플라보노이드 계열의 화합물이 다량으로 함유되어 있어 생체내 지질과산화 억제, 혈중 중성지방과 콜레스테롤 수준, 동맥경화증 및 고지혈증 등의 성인병에 대한 예방 효과가 있을 것으로 기대된다(20-22).

이와같이 그동안 췌장의 생리활성에 관한 여러 연구결과에서 그 기능성 성분의 우수성이 입증되었음에도 불구하고 고콜레스테롤 및 고지혈증에 대한 연구는 아직까지 미비하다. 그러므로 본 연구에서는 췌장의 지질대사 개선효과를 입증하고자, 고콜레스테롤 식이를 공급한 쥐에게 췌장추출물을 식수로 공급한 후 혈액, 간장, 부고환지방 및 분변에서의 지질 함량 측정 및 간조직의 UDP-glucuronyl transferase와 부고환지방조직의 lipoprotein lipase 활성 측정을 통하여 지질대사 개선효과를 검토하였다.

재료 및 방법

췌장 채취 및 엑기스의 제조

본 실험에 사용한 YK-209 뽕잎은 영천 양잠농협 협동조합에서 재배한 것으로 2003년 5월말부터 6월 중순까지 채취

한 것을 사용하였다. 채취한 뽕잎은 생잎을 채취하여 수세한 후 동결건조하였으며 뽕잎 167.5 kg을 5.5 ton의 정제수로 65°C에서 4시간 동안 추출농도 5°Brix로 추출하여 여과한 후 65°C에서 6시간 동안 추출농도 52°Brix로 농축하여 수율 65%, 추출농도 36°Brix의 농축액 110 kg을 제조하여 본 실험에 엑기스제조용 원료로 사용하였다.

실험동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 100 ± 10 g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 (주)바이오 제노믹스사(Biogenomics, Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일주일간 예비사육 후 난피법에 의해 크게 정상군과 고콜레스테롤군으로 구분하였고, 정상군은 정상식이군(N군)과 정상식이에 췌장추출물 0.16% 공급한 군(NM군)으로 나누었으며, 고콜레스테롤군은 1% 고콜레스테롤 식이군(HC군)과 1% 고콜레스테롤 식이에 췌장추출물 공급수준에 따라 각각 0.08%(HCL군), 0.16%(HCM군) 및 0.32%(HCH군) 췌장추출물 공급군 등으로 나누어 4주간 사육하였다 (Table 1). 체중은 실험기간 동안 3일에 한 번씩 측정하였고 식이섭취량은 전 실험기간 동안 매일 일정시간에 측정하였다. 사육실의 온도는 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 습도는 $50 \pm 10\%$ 로 조절하였다. 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 전 체중증가량과 같은 기간 동안의 식이섭취량으로부터 계산하였다.

혈청의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량과 동맥경화지수(atherogenic index, A.I.) 측정

혈청내 중성지방 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit (Asan Co., Korea)을 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 혈청 중성지방 농도를 계산하였다. 혈청내 총콜레스테롤 측정은 표준 효소비색법에 의한 kit(Asan Co., Korea)을 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 혈청 콜레스테롤 농도를 계산하였다. HDL-콜레스테롤 측정을 위하여 2%

Table 1. Composition of experimental diets

(g/kg diet)

Ingredients	Groups ¹⁾					
	N	NM	HC	HCL	HCM	HCH
Con starch	650	650	638	638	638	638
Casein	150	150	150	150	150	150
Sucrose	50	50	50	50	50	50
Mineral mix	40	40	40	40	40	40
Vitamin mix	10	10	10	10	10	10
Corn oil	50	50	50	50	50	50
Cellulose	50	50	50	50	50	50
Cholate	0	0	2	2	2	2
Cholesterol	-	-	10	10	10	10
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Mulberry leaf extract (%)	-	0.16	-	0.08	0.16	0.32

¹⁾N: no supplement of mulberry leaf extract group, NM: 0.16% mulberry leaf extract group, HC: high cholesterol group with no supplement of mulberry leaf extract, HCL: high cholesterol group with 0.08% mulberry leaf extract, HCM: high cholesterol group with 0.16% mulberry leaf extract, HCH: high cholesterol group with 0.32% mulberry leaf extract.

dextron sulfate와 1 M MgCl₂ 침전액(1:1)을 가하여 그 상층액을 시료로 표준효소법에 의한 kit(Asan Co., Korea)을 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. LDL-콜레스테롤은 Friedewald 식(23) (Total cholesterol - (HDL cholesterol + TG/5))에 의하여 계산하고, atherogenic index는 {Total cholesterol - (HDL cholesterol)/HDL cholesterol} 식(24)으로 산출하였다.

간의 UDP-glucuronyl transferase 활성 측정

간 microsome에서 UDP-glucuronyl transferase 활성도는 Reinke 등(25)의 방법으로 측정하였다. 시험관에 working substrate-용액(0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 3 mL, 15 mM UDP-glucuronic acid 1 mL, 10 mM p-nitrophenol 1 mL, 10 mM MgCl₂ · H₂O 1 mL, 0.2% bovine albumin 1 mL, 0.5%(v/v) Triton X-100 1 mL) 0.8 mL를 가하여 3분간 preincubation시킨 후 0.15 M KCl로 현탁시킨 microsome 시료와 증류수 0.2 mL를 가하여 37°C에서 20분간 반응시키고 0.3 N perchloric acid 0.5 mL를 가하여 2,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 0.5 mL를 취하여 1.6 M glycine buffer(pH 10.3) 2.0 mL를 가하여 436 nm에서 흡광도를 측정하였다.

간, 부고환 지방, 분변중 지질 함량 측정

간조직의 지질은 Folch 등(26)의 방법에 따라 추출하였고, 간조직의 총콜레스테롤 및 중성지방 함량은 Sale 등(27)에 의해 변형된 방법을 이용하였다. Folch 등(26)의 방법에 따라 간조직 0.5 g을 취한 후 5 mL chloroform:methanol(2:1) 용액으로 균질화하여 조직 지질을 추출하였으며, 동량의 추출용매로 3번 추출하였다. 추출액은 여과지 Whatman(No. 2)로 걸러내고 질소가스로 건조시킨 후 동일 추출용매 1 mL에 다시 녹이고, 그 중 100 µL를 취하여 다시 질소가스로 완전히 건조시켰다. Sale 등(27)에 의해 변형된 방법에 따라 여기에 다시 1 mL ethanol을 가하여 섞은 후, 그 중 200 µL를 취하여 500 µL 증류수에 녹여 효소반응법으로 조직 지질을 정량하였다.

부고환 지방의 lipoprotein lipase(LPL) 활성 측정

말초조직 중 LPL 활성이 비교적 높은 것으로 알려진 부고

환 지방을 detergent solution(2 mg/mL sodium deoxycholate, 0.08 mg/mL Nonidet P₄₀, 0.05 mg/mL heparin, 10 mg/mL BSA-0.25 M sucrose in Tris buffer) 10 volume으로 균질화시켰다(28). 부고환 지방 균질액은 4°C, 12,000×g에서 15분간 원심분리 후 상층액을 취하여 LPL활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였다. LPL 활성은 Parkin 등(29)에 의해 수정된 Riley와 Robinson 법(30)에 의해 측정되었다. 효소 활성을 위한 기질은 triolein(600 mg)에 lecithin(in chloroform) 36 mg과 glycerol 10 mL를 가하여 균질화시켜 제조하였다. 제조된 기질과 apolipoprotein C-II 기질을 위한 horse serum을 preincubation한 후 20% albumin solution(pH 8.1)과 0.7 M Tris-HCl buffer(pH 8.1), 증류수를 섞어 assay mixture를 만들었다. 효소반응은 assay mixture 1 mL와 효소원 0.4 mL를 섞어 37°C에서 1시간동안 incubation시켜 수행하였고 이때 생성된 free fatty acids 양을 ACS-ACOD법을 이용한 효소시약 kit(榮研 Co., Japan)으로 측정하였다. LPL활성 단위는 조직 g당 1시간 동안 방출된 µmole fatty acids로 표시하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군 별로 표준차이가 있는가를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며 분산분석(ANOVA 검증) 결과 유의성이 발견된 경우 군 간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

체중증가량, 식이섭취량, 엑기스섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 실험동물의 체중증가량, 식이섭취량, 엑기스섭취량 및 식이효율을 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 체중증가량은 N군에 비해 HCM 및 HCH군에서 다소 증가하였으나 실험군간에 유의적인 차이는 없었다. 식이섭취량 및 식수섭취량은 실험군간의 유의적인 차이가 없었다. 이는 Kim 등(31)의 보고에서 고탄수화물 식이와 함께 뽕잎에서 추출한 물질을 10주간 섭취시킨 쥐에서 식이섭취량과 체중에서 실험군간에 유의적인 차이가 없었다는 결과와 일치하였다. 식이효율은 N군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군에서

Table 2. Effects of mulberry leaf water extract on body weight gain, food intake, water intake and food efficiency ratio (FER) in rats fed high cholesterol diet

Groups	Body weight gain (g)	Food intake (g/day)	Water intake (mL)	FER (%)
N	112.80 ± 8.96 ^{NS}	31.18 ± 9.84 ^{NS}	55.26 ± 15.52 ^{NS}	0.13 ± 0.03 ^{NS}
NM	118.83 ± 9.91	38.11 ± 2.93	56.15 ± 5.42	0.16 ± 0.02
HC	103.60 ± 6.02	33.25 ± 8.08	53.27 ± 10.92	0.13 ± 0.03
HCL	100.38 ± 16.52	33.15 ± 9.70	48.94 ± 5.77	0.16 ± 0.03
HCM	119.25 ± 9.07	38.65 ± 1.10	55.38 ± 5.67	0.17 ± 0.02
HCH	125.50 ± 15.74	41.16 ± 1.38	57.79 ± 9.02	0.17 ± 0.02

The experimental conditions are the same as Table 1.

N, NM values are mean ± SE (n=5). HC, HCL, HCM, HCH values are mean ± SE (n=6).

NS: not significant.

다소 높았으나 실험군간의 유의적인 차이는 없었다. 식이효율이 HC군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군에서 증가되지 못한 것은 뽕잎 증의 섬유소가 에너지원으로 이용되지 못하고 장내용물의 부피를 증가시켰으며 뽕잎 성분이 콜레스테롤 축적을 초기 단계부터 억제시켜 체중 증가가 억제된 것이라 고 사료된다.

혈청 지질 함량

정상상태에서 식이성 중성지방과 콜레스테롤은 조직세포에서 합성된 지질과 균형을 이루며 혈관내 순환 lipoprotein들의 농도는 항상성에 의해 적절하게 조절되나, 유전적 요인과 환경적 요인에 의해 체내 지질의 균형이 깨어질 수 있으며, 그 결과 혈장 lipoprotein인 LDL 농도의 증가와 HDL 농도의 감소가 유발되었을 때, 동맥경화증, 고혈압 및 심혈관계 질환을 유발하게 된다. 이러한 결과로 발생하는 고지혈증은 죽상경화유발성 지단백(atherogenic lipoprotein)을 증가시키고, 죽상경화발병을 유발하는 LDL 증가와 HDL 감소로 관상동맥질환의 위험율을 높인다.

뽕잎추출물의 지질대사 개선 기능을 관찰하기 위한 혈청 지질조성 결과(Table 3)에서 혈청 중성지방의 농도는 N군(39.61 ± 7.00)에 비해 HC군(70.42 ± 3.11)이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나, HC군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군은 각각 54.10 ± 3.26 , 55.75 ± 3.44 및 53.30 ± 2.93 으로 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었다. 이러한 결과는 Kang과 Kyoung(32)의 5% 뽕잎 분말 투여군이 5% 셀룰로오스 분말 투여군에 비해 유의적으로 감소되었다는 보고 및 Kim 등(33)의 뽕잎추출물을 투여함으로써 중성지질이 저하된 보고와도 유사하였다. 또한 Doi 등(34)의 보고에서 1%의 콜레스테롤 식이에 건조 뽕잎분말 10%를 첨가한 식이를 토끼에게 급여한 결과 중성지질의 농도가 억제되었고, 1% 콜레스테롤에 건조 뽕잎 분말 2.5%를 급여한 식이군에서의 중성지질 수준 개선에 효과적이었다고 보고한 결과와 유사하였다. 혈청 총 콜레스테롤 함량은 N군(127.63 ± 40.31)에 비해 HC군(396.45 ± 26.84)에서 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 HC군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군에서는 각각 259.78 ± 32.82 , 265.74 ± 53.10 및 294.50 ± 27.91 로 유의적($p < 0.05$)으로 감소

되었다. 동맥경화를 유도하는 물질인 LDL-콜레스테롤 함량은 N군(48.27 ± 6.36)에 비해 HC군(324.16 ± 17.38)에서 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 HC군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군에서는 각각 257.15 ± 11.80 , 237.60 ± 13.41 및 264.84 ± 19.51 로 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었다. 반면 말초조직의 콜레스테롤을 제거하는 HDL-콜레스테롤은 N군(60.96 ± 1.75)에 비해 HC군(16.85 ± 0.84)이 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었으나 HC군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군에서는 각각 21.40 ± 2.43 , 24.44 ± 2.23 및 24.44 ± 1.58 로 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었다. 동맥경화지수(atherogenic index)는 N군(1.25 ± 0.57)에 비해 HC군(22.45 ± 2.55)이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 HC군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군에서는 각각 13.61 ± 2.53 , 11.14 ± 2.13 및 14.78 ± 2.26 으로 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었다. 이와 같이 뽕잎추출물 투여가 혈중 콜레스테롤을 유의적으로 저하시키고 중성지방 농도의 저하에도 영향을 미치는 것으로 볼 때 고지혈증의 예방뿐만 아니라 동맥경화증에 대한 예방 및 치료효과에도 기대할 수 있을 것으로 본다.

이러한 결과는 뽕잎에 다량 함유되어있는 섬유소 중 불용성 섬유소가 체내에 존재하는 독성물질의 배설을 증가시켜 주고 장의 운동도 활발하게 해 주며 또한 불포화지방산인 oleic acid, linoleic acid 및 linolenic acid와 β -sitosterol과 같은 식물성 스테롤이 콜레스테롤의 배설을 증가시킴으로써 혈중 콜레스테롤 함량을 감소시키는 것으로 알려져 있으나(33) 확실한 기전은 앞으로 더욱 연구가 필요하겠다.

간의 UDP-glucuronyl transferase 활성

콜레스테롤의 제거수단의 하나인 UDP-glucuronyl transferase(UDP-GTase)는 UDP-glucuronic acid를 glucuronic acid로 전환 촉매하는 내인성, 외인성 화학물의 해독기전에 중요한 효소로 담즙합성에 필요한 황색 담즙색소인 빌리루빈의 생성에 관여한다(35,36). 지방분해산물과 콜레스테롤의 유화는 담즙산의 생리적 기전이며, 이 담즙산 pool은 담즙산의 장간 재순환과 콜레스테롤 전구체로부터 담즙산의 합성에 의해 만들어진다. 장기간에 걸친 변중 담즙산의 배설 증가는 장간 담즙산 pool의 잠재적인 감소를 초래하며, 식이

Table 3. Effects of mulberry leaf water extract on serum levels of triglyceride (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and atherogenic index in rats fed high cholesterol diet (mg/dL)

Groups	TG	Total cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol	AI ¹⁾
N	39.61 ± 7.00^c	127.63 ± 40.31^c	60.96 ± 1.75^a	48.27 ± 6.36^c	1.25 ± 0.57^c
NM	39.98 ± 5.41^c	129.22 ± 27.80^c	66.85 ± 3.75^a	48.68 ± 5.60^c	1.25 ± 0.72^c
HC	70.42 ± 3.11^a	396.45 ± 26.84^a	16.85 ± 0.84^c	324.16 ± 17.38^a	22.45 ± 2.55^a
HCL	54.10 ± 3.26^b	259.78 ± 32.82^b	21.40 ± 2.43^b	257.15 ± 11.80^b	13.61 ± 2.53^b
HCM	55.75 ± 3.44^b	265.74 ± 53.10^b	24.44 ± 2.23^b	237.60 ± 13.41^b	11.14 ± 2.13^b
HCH	53.30 ± 2.93^b	294.50 ± 27.91^b	24.44 ± 1.58^b	264.84 ± 19.51^b	14.78 ± 2.26^b

The experimental conditions are the same as Table 1.

All values are mean \pm SE (n=10).

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

¹⁾AI: atherogenic index.

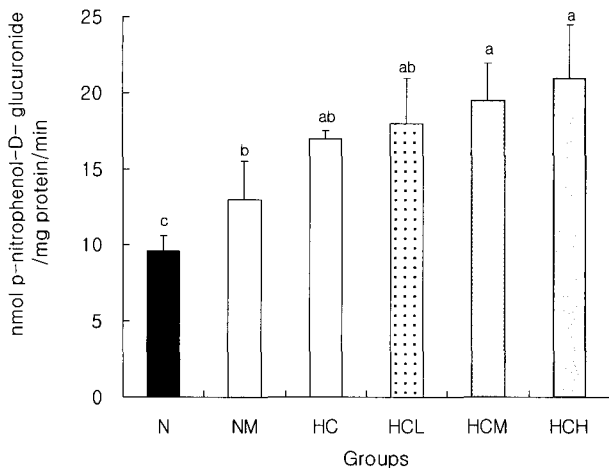


Fig. 1. Effect of mulberry leaf water extract on hepatic UDP-glucuronyl transferase activity in rat fed high cholesterol diets.

The experimental conditions are same as Table 1. N, NM values are mean ± SE (n=5). HC, HCL, HCM, HCH values are mean ± SE (n=6). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

와 내인성 지질 특히 콜레스테롤의 소모를 증가시키게 되므로 혈중 콜레스테롤의 감소에 기여할 수 있다. 이러한 간의 담즙대사와 관련된 glucuronidation을 알아보기 위해 UDP-glucuronyl transferase 활성을 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. N군(9.64±1.25)에 비해 HC군(16.67±0.62)에서 활성이 유의적(p<0.05)으로 증가되었으며, HC군에 비하여 HCL, HCM 및 HCH군은 각각 17.97±3.4, 19.32±2.38 및 20.97±3.85로 증가되었으나 유의적인 차이는 없었다.

간의 지질 함량

간조직 중의 총지방, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량 측정 결과는 Table 4와 같다. 간조직중의 총지방 함량을 측정 한 결과 N군(67.00±11.51)에 비해 HC군(256.25±13.77)이 유의적(p<0.05)으로 증가되었으나 HC군에 비해 HCL, HCM 및 HCH군에서는 각각 197.14±26.12, 197.14±16.04 및 184.00±20.43로 유의적(p<0.05)으로 감소되었다. 간조직

Table 4. Effects of mulberry leaf water extract on hepatic total lipid, triglyceride and total cholesterol in rats fed high cholesterol diet (mg/g)

Groups	Total-Lipid	Triglyceride	Cholesterol
N	67.00 ± 11.51 ^c	11.11 ± 1.27 ^b	1.80 ± 0.09 ^c
NM	70.00 ± 12.75 ^c	11.07 ± 0.74 ^b	1.99 ± 0.17 ^c
HC	256.25 ± 13.77 ^a	18.99 ± 1.59 ^a	4.96 ± 0.10 ^a
HCL	197.14 ± 26.12 ^b	17.56 ± 1.13 ^{ab}	4.57 ± 0.20 ^{ab}
HCM	197.14 ± 16.04 ^b	16.74 ± 1.36 ^{ab}	4.49 ± 0.29 ^{ab}
HCH	184.00 ± 20.43 ^b	15.54 ± 0.87 ^{ab}	4.46 ± 0.15 ^b

The experimental conditions are the same as Table 1. N, NM values are mean ± SE (n=5). HC, HCL, HCM, HCH values are mean ± SE (n=6). Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

의 중성지방 함량은 N군(11.11±1.27)에 비해 HC군(18.99 ± 1.59)이 유의적(p<0.05)으로 증가되었으나 HC군과 각 뽕잎엑기스 공급군 간의 유의적인 차이는 없었다. 간조직의 콜레스테롤 함량은 N군(1.80±0.09)에 비해 HC군(4.96±0.10)이 유의적(p<0.05)으로 증가되었으나 HCH군은 4.46±0.15로 HC군에 비해 유의적(p<0.05)으로 감소되었다. 이로써 뽕잎추출물 0.32% 공급군인 HCH군에서 HC군에 비해 간장의 총지방 및 콜레스테롤 농도가 유의적(p<0.05)으로 저하되어 지방간에 대한 보호효과를 살펴볼 수 있었다.

부고환 지방의 lipoprotein lipase 활성

고지단백질혈증의 경우 LPL 활성 저하로 인한 동맥경화증을 유발한다는 사실로 미루어 보아(37) 간 및 혈청내 콜레스테롤 함량과 더불어 지방조직내 LPL 활성 측정도 매우 중요한 의미가 있다. Lopez-Soriano 등(38)은 중양을 가진 마우스에서의 지질대사 연구결과 중양을 가진 동물의 부고환 지방에서 LPL 활성이 유의적으로 감소되어 고지혈증을 유발시킬 수 있다고 보고하였다. 말초조직에서의 중성지방 제거율을 평가하기 위한 부고환 지방의 lipoprotein lipase (LPL) 활성측정 결과는 Fig. 2와 같다. N군(27.39±1.2)에 비해 HC군(43.77±1.61)이 유의적(p<0.05)으로 증가되었으며 이는 고콜레스테롤 식이로 인한 고지혈증을 제어하기 위한 생체조절로 볼 수 있다. 그러나 HCM군과 HCH군은 각각 34.35±1.44과 31.56±1.27로 HC군에 비하여 유의적(p<0.05)으로 감소되었다.

부고환 지방의 지질 함량

지방조직은 지방의 저장과 그 분해를 통해 체내 지방수급의 중요한 역할을 담당하고 있다(39-41). 부고환 지방의 총

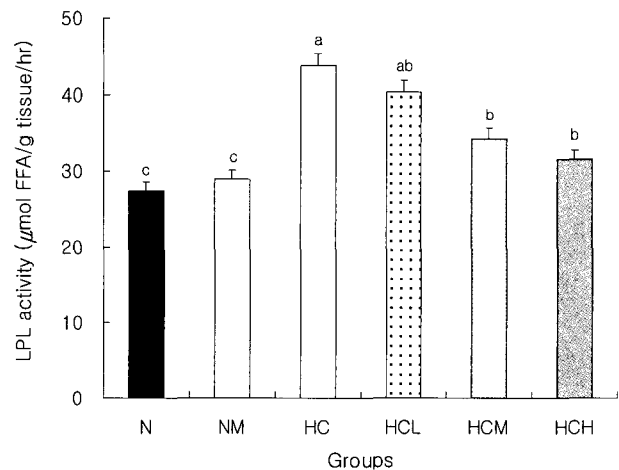


Fig. 2. Effect of mulberry leaf water extract on epididymal fat tissue lipoprotein lipase activity in rats fed high cholesterol diets.

The experimental conditions are the same as Table 1. N, NM values are mean ± SE (n=5). HC, HCL, HCM, HCH values are mean ± SE (n=6). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

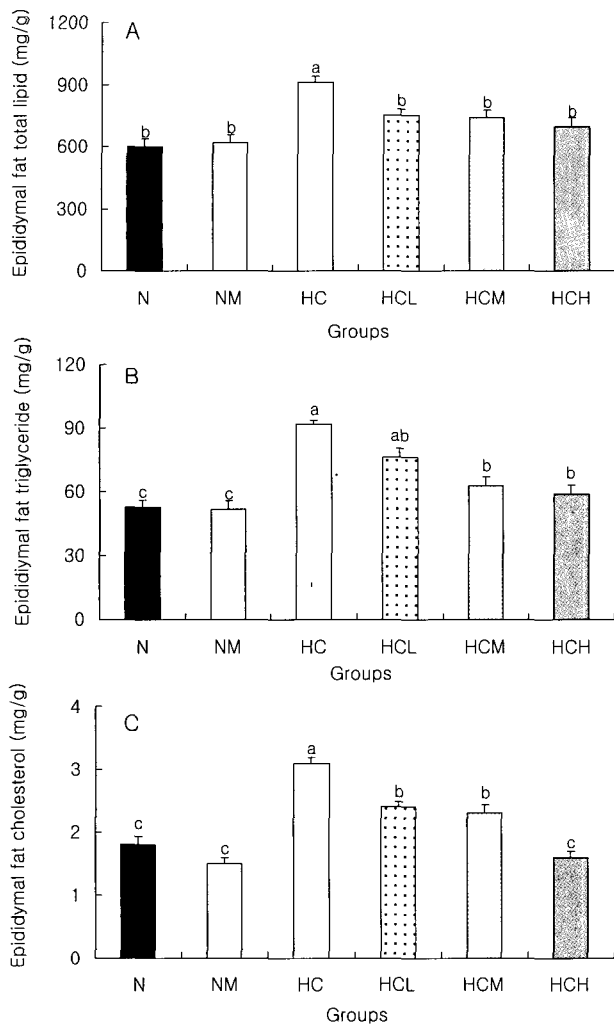


Fig. 3. Effects of mulberry leaf water extract on epididymal fat tissue total lipid (A), triglyceride (B) and cholesterol (C) in rats fed high cholesterol diet.

The experimental conditions are the same as Table 1. N, NM values are mean \pm SE (n=5). HC, HCL, HCM, HCH values are mean \pm SE (n=6). Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

지질 함량은 N군에 비해 HC군이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎추출물 공급군들은 N군 수준이었다(Fig. 3-A). 중성지방 함량은 N군에 비해 HC군이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나, HCM 및 HCH군은 HC군에 비해 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었다(Fig. 3-B). Cruz와 Williamson (42)은 흰쥐 지방조직내 LPL 활성과 중성지방의 지방 조직 내로의 유입은 서로 상관관계가 매우 높음을 시사하면서 LPL이 지방 조직내 지방 축적을 조절하는 인자라고 보고하였다. 따라서 HCM 및 HCH군에서의 중성지방 함량 감소는 뽕잎 추출물 공급으로 인한 이들 군에서의 LPL의 활성 저하에 기인한 것으로 사료된다. 콜레스테롤 함량은 N군에 비해 HC군이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 HCH군은 N군 수준이었다(Fig. 3-C).

분변중 지질 함량

분변으로의 지질배설량을 알아보기 위한 변의 지질을 분석한 결과는 Table 5와 같다. 본 실험은 총 4주간의 실험기간 동안 1주, 2주, 4주째 분변으로 실험을 행하였다. 총지질 함량은 1주째에 N군(62.50 ± 2.89)에 비해 HC군(145.00 ± 0.00)이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으며 HCM(230.00 ± 20.49) 및 HCH(275.00 ± 21.24)군은 HC군에 비하여 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었다. 2주째에도 1주째와 동일한 경향이였다. 4주째에는 N군(337.50 ± 25.96)에 비해 HC군(972.50 ± 14.75)이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 고콜레스테롤 공급군간의 유의적인 차이는 없었다(Table 5). 중성지방 함량은 1주째에는 N군(12.46 ± 0.57)에 비해 HC군(25.07 ± 1.14)이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 고콜레스테롤 공급군간의 유의적인 차이는 없었다. 2주째에는 N군에 비해 고콜레스테롤 공급군이 다소 증가되었으나 N군과의 유의적인 차이는 없었다. 4주째에는 N군(17.05 ± 0.32)에 비해 HC군(19.42 ± 0.95)이 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 HCH(14.88 ± 0.32)군은 HC군에 비해 유의적으로 감소되었다(Table 5). 콜레스테롤 함량은 1, 2, 4주째 모두 N군에 비해 고콜레스테롤 공급군들이 유의적으로($p < 0.05$)으로 증가되었으나 뽕잎추출물 공급으로 인한 유의적인 차이는 없었다(Table 5).

이와 같이 고콜레스테롤 식이 흰쥐에 뽕잎추출물의 생체

Table 5. Effects of mulberry leaf water extract on fecal total lipid, triglyceride and total cholesterol in rats fed high cholesterol diet (mg/day)

Total lipid	1 week	2 week	4 week
N	62.50 ± 2.89^c	43.33 ± 7.64^c	337.50 ± 25.96^b
NM	75.00 ± 11.55^c	60.00 ± 7.07^c	645.00 ± 26.06^b
HC	145.00 ± 0.00^b	222.50 ± 10.61^b	972.50 ± 14.75^a
HCL	150.00 ± 15.49^b	243.33 ± 10.41^b	1001.67 ± 47.52^a
HCM	230.00 ± 20.49^a	485.00 ± 14.14^a	1068.33 ± 38.84^a
HCH	275.00 ± 21.24^a	438.33 ± 14.14^a	1151.67 ± 34.03^a
Triglyceride	1 week	2 week	4 week
N	12.46 ± 0.57^b	9.79 ± 0.55^a	17.05 ± 0.32^b
NM	10.98 ± 0.19^b	7.94 ± 0.36^b	13.86 ± 0.70^c
HC	25.07 ± 1.14^a	10.65 ± 0.69^a	19.42 ± 0.95^a
HCL	24.11 ± 0.92^a	10.07 ± 0.51^a	18.97 ± 0.80^a
HCM	29.98 ± 1.06^a	9.33 ± 0.95^{ab}	18.93 ± 0.97^a
HCH	28.88 ± 0.54^a	8.98 ± 0.89^{ab}	14.88 ± 0.32^c
Total cholesterol	1 week	2 week	4 week
N	11.05 ± 1.77^b	10.38 ± 1.04^b	13.58 ± 5.61^b
NM	11.36 ± 1.32^b	12.20 ± 0.22^b	13.55 ± 1.33^b
HC	51.99 ± 1.01^a	50.46 ± 0.79^a	47.27 ± 4.32^a
HCL	52.20 ± 1.87^a	48.91 ± 1.94^a	48.47 ± 3.14^a
HCM	54.36 ± 1.65^a	49.92 ± 0.94^a	50.80 ± 1.57^a
HCH	52.82 ± 1.23^a	49.78 ± 1.31^a	51.47 ± 0.46^a

The experimental conditions are the same as Table 1. N, NM values are mean \pm SE (n=5). HC, HCL, HCM, HCH values are mean \pm SE (n=6). Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

내 지질대사 개선 작용의 하나로 간조직의 UDP-GTase 활성을 조절하여 혈액, 간 및 부고환 조직의 콜레스테롤 함량을 감소시켰다. 또한 말초조직에서의 중성지방 제거하는 LPL의 활성을 통하여 혈액 및 부고환 지방에서의 중성지방 함량을 감소시켜 체내의 지질대사를 개선 기능이 우수한 것을 관찰할 수 있었다. 이로써 뽕잎추출물은 지질대사 개선 작용이 우수하므로 이를 이용한 건강보조식품 개발이 기대되며 앞으로 더 심도있는 연구가 필요하겠다.

요 약

본 연구는 뽕잎추출물의 지질대사 개선효과를 검정하고자 하였다. 실험동물은 체중 100 ± 10 g 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷을 구입하여 난괴법(randomized complete block design)에 의해 정상식이군(N group), 정상식이에 0.16% 뽕잎추출물 공급군(NM group), 고콜레스테롤식이 공급군(HC group)과 고콜레스테롤식이에 뽕잎추출물 공급군으로 나눈 후 다시 뽕잎추출물의 급여 수준에 따라 뽕잎추출물을 0.08% 공급한 군(HCL group), 뽕잎추출물을 0.16% 공급한 군(HCM group), 뽕잎추출물을 0.32% 공급한 군(HCH group) 등 각 군 모두 10마리씩 하였다. 식이와 식수는 자유 공급시켰으며 4주간 사육한 후 희생시켰다. 체중증가량, 식이섭취량, 식수섭취량 및 식이효율은 실험군간의 유의적인 차이는 없었다. 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, A.I 등은 고콜레스테롤군에 비해 뽕잎추출물 공급군이 유의적으로 감소되었으며 HDL-콜레스테롤은 고콜레스테롤군에 비해 뽕잎추출물 공급군이 유의적으로 증가되었다. UDP-glucuronyl transferase(UDP-GTase) 활성은 N군에 비해 HC군에서 유의적으로 증가되었으나 고콜레스테롤 식이군간의 유의적인 차이는 없었다. 간조직중의 총지방 및 콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤군에 비해 뽕잎추출물 공급군에서 유의적으로 감소되었다. 콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤 식이군간의 유의적인 차이가 없었다. Lipoprotein lipase 활성은 HC군에 비하여 HCM 및 HCH군에서 유의적으로 감소되었다. 부고환 지방 중의 총지질, 중성지방, 콜레스테롤 함량은 HC군에 비해 뽕잎추출물 공급군에서 유의적으로 감소되었다. 분변 중으로 배설되는 총지질, 중성지방, 콜레스테롤 함량은 HC군에 비해 뽕잎추출물 공급군에서 증가되었다. 이상의 결과에서 뽕잎추출물의 고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 혈액, 간, 부고환 조직 및 분변중의 지질대사 개선효과가 규명되었다.

감사의 글

이 논문은 2004년 한국학술진흥재단에서 시행한 지방대학우수과학자지원(과제번호: C00536)에 의해 수행된 연구

결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. 대한통계협회. 2004. 사망원인 통계 연보.
2. Kohomoto T, Fukui F, Takaku H, Machida Y, Mitsuoka T. 1998. Effect of isomaltooligosaccharide on human fecal flora. *Biofidobacteria Microflora* 7: 61-67.
3. Kim AJ, Yuh CS, Bang IS, Woo KJ. 2006. Study on preparation and quality of jelly using mulberry leaf powder. *Kor J Food Cookery Sci* 22: 56-61.
4. Kim HB, Kim AJ, Kim SY. 2003. The analysis of functional materials in mulberry fruit and feed product development trends. *Food Sci Industry* 36: 49-60.
5. Naitoh K. 1968. Studies on the micro constituent in mulberry leaves part 2. Isolation of rutin and quercetin from mulberry leaves. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* 42: 422-425.
6. Shin KH, Young HS, Lee TW, Choi JS. 1995. Studies on the chemical component and antioxidative effects of *Solanum lyratum*. *Kor J Pharmacogn* 26: 130-138.
7. Kim JS, Kang SS, Lee MW, Kim OK. 1995. Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continentalis*. *Kor J Pharmacogn* 26: 239-243.
8. Onogi A, Osawa K, Yasuda H, Sakai A, Morita H, Tokawa H. 1993. Flavonol glycosides from the leaves of *Morus alba*. *Shoyakugaku Zasshi* 47: 423-425.
9. Kang SS, Woo WS. 1984. Flavonol glycosides from the leaves of *Zizyphus jujuba*. *Kor J Pharmacogn* 15: 170-178.
10. Kim JS, Kang SS, Lee MW, Kim OK. 1995. Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continentalis*. *Kor J Pharmacogn* 26: 239-243.
11. Kodama T, Ishida H, Kokubo T, Yamakawa T, Noguchi H. 1990. Glucosylation of quercetin by a cell suspension culture of vitis species. *Agric Biol Chem* 54: 3238-3288.
12. Do JC, Yu YJ, Jung KY, Son KH. 1992. Flavonoids from the leaves of *Polygala japonica*. *Kor J Pharmacogn* 23: 9-13.
13. Yoshikumi Y. 1994. Inhibition of intestinal α -glycosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. *Agric Biol Chem* 52: 121-126.
14. Asano N, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. 1994. Sugars with nitrogen in the ring isolated from the leaves of *Morus bombycis*. *Carbohydr Res* 253: 235-245.
15. Yagi M, Kouno T, Acyagi Y, Murai H. 1976. The structure of morano line, a piperidine alkaloid from morus species. *Nippon Nogei Kagaku* 50: 571-572.
16. Basnet P, Kadota S, Terashima S, Simazu M, Namba T. 1993. Two new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. *Chem Pharm Bull* 41: 1238-1243.
17. Kimura M, Chen F, Nakashimqa N, Kimura I, Asano N, Koya S. 1995. Anti hyperglycemic effect of N-containing sugars delived from mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Traditional Medicine* 12: 214-219.
18. Sung GB. 1998. Recent mulberry research trend and direction for the improvement. *Korean J Seric Sci* 40: 180-184.
19. Yen GC, Wu SC, Duh PD. 1996. Extraction and identification of anti-oxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *J Biol Chem* 261: 12879-12882.
20. Fujimoto T, Nomura T. 1985. Components of root bark of cudrania tricuspidata 3. Isolation and structure studies on the flavonoids. *Planta Med* 51: 190-196.

21. Kim SH, Kim NJ, Choi JS, Park JC. 1993. Determination of flavonoids by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* Bureau. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 68-72.
22. Chen F, Nakashima N, Kimura I, Kimura M, Asano N, Koya S. 1995. Potentiating effects on pilocarpine-induced saliva secretion by extracts and N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozotocin-diabetic mice. *Biol Pharm Bull* 18: 1676-1680.
23. Friedwald WT, Levy RI, Fedreicson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without was of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-506.
24. Fiordaliso M, Kok N, Desager JP, Goethals F, Deboyser D, Roberfoid M, Delzenne N. 1977. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 30: 163-167.
25. Reinke LA, Moyer MJ, Notley KA. 1986. Diminished rates of glucuronidation and sulfation in perfused rat liver after chronic ethanol administration. *Biochem Pharmacol* 35: 439-447.
26. Folch JM, Lees M, Stanley GHS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 26: 497-509.
27. Sale FD, Marchesini S, Fishman PH, Berra B. 1984. A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. Academic Press, New York. p 347-350.
28. Iverius PH, Ostlund-Lindqvist AM. 1986. Preparation, characterization and measurement of lipoprotein lipase. *Methods Enzymol* 129: 691-704.
29. Parkin SM, Walker K, Ashby P, Robinson DS. 1980. Effects of glucose and insulin on the activation of lipoprotein lipase and on protein synthesis in rat adipose tissue. *Biochem J* 188: 193-199.
30. Riley SE, Robinson DS. 1974. Studies on the assay of clearing factor lipase. *Biochem Biophys Acta* 369: 371-387.
31. Kim MS, Choue RW, Shung SH, Koo SJ. 1998. Blood glucose lowering effects of mulberry leaves and silkworm extracts on mice fed with high-carbohydrate diet. *J Kor Nutr* 31: 117-125.
32. Kang JO, Kyoung SK. 1995. The effect of dry edible leaves feeding on serum lipids of hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 502-509.
33. Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1217-1222.
34. Doi K, Kojima T, Fujimoto Y. 2000. Mulberry leaf extract inhibits the oxidative modification of rabbit and human low density lipoprotein. *Biol Pharm Bull* 23: 1066-1071.
35. Paul HA. 1979. Lipophilicity of acceptor substrate as a factor in late foetal rat liver microsomal UDP-glucuronosyl-transferase activity. *Biochem Pharmacol* 29: 999-1006.
36. Bandary S, Reddy BS. 1981. Diet and excretion of bile acids. *Cancer Res* 41: 3766-3768.
37. Semenkovich CF, Coleman T, Daugherty A. 1998. Effects of heterozygous lipoprotein lipase deficiency on diet-induced atherosclerosis in mice. *J Lipid Res* 39: 1141-1151.
38. Lopez-Soriano J, Llovera M, Carbo N, Garcia-Martinez C, Lopez-Soriano FJ, Argiles JM. 1997. Lipid metabolism in tumour-bearing mice: studies with knockout mice for tumour necrosis factor receptor 1 protein. *Mol Cell Endocrinol* 132: 93-99.
39. Carrozza G, Livrea G, Caponetti R, Manasseri L. 1979. Response of rat hepatic fatty acid synthesis and activities of related enzymes to changes in level of dietary fat. *J Nutr* 109: 162-170.
40. Iritani N, Fukuda E, Inoguchi K. 1980. Reduction of lipogenic enzymes by shellfish triglycerides in rat liver. *J Nutr* 110: 1664-1670.
41. Toussant MJ, Wilson MD, Clarke SD. 1981. Coordinate suppression of liver acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthetase by polyunsaturated fat. *J Nutr* 111: 146-153.
42. Cruz ML, Williamson DH. 1992. Refeeding meal-fed rats increased lipoprotein lipase activity and deposition of dietary [¹⁴C] lipid in white adipose tissue and decrease oxidation to ¹⁴CO₂. *Biochem J* 285: 773-778.

(2006년 6월 15일 접수; 2006년 11월 9일 채택)