

천연소재 혼합물의 보충급여가 부고환 지방세포 크기에 미치는 영향

김현숙¹ · 김태우² · 김대중³ · 황하진³ · 이현주³ · 최 먼^{3,4*}

¹강원대학교 BK21 뉴트라슈티컬사업단, ²강원대학교 축산식품과학과
³강원대학교 식물생명공학과, ⁴강원대학교 생명공학연구소

Effects of Natural Plants Supplementation on Adipocyte Size of the Epididymal Fat Pads in Rats

Hyun Sook Kim¹, Tae Woo Kim², Dae Jung Kim³, Ha Jin Hwang³,
Hyun Joo Lee³ and Myeon Choe^{3,4*}

¹BK21 Nutraceutical, ²Dept. of Animal Products Science, ³Dept. of Plant Biotechnology, and
⁴Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract

Obesity is increasingly recognized as a serious public health threat. Anti-obesity nutraceuticals that are safe and effective for the control and treatment of obesity are the subject of intense research throughout the world. The purpose of this study was to assess the effects of plants such as *Akebia quinata*, corn silk, *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa*, *Coix lachrymajobi* var. *mayuen*, and *Lentinus edodes* on fat cell size and serum lipid profile of rats. Male Sprague-Dawley rats were weighed, randomly assigned and fed AIN-76A basal or high fat diet for 6 weeks. Serum triacylglycerol level of rats fed a normal diet was significantly decreased with natural plants supplementation. Adipocytes from the epididymal fat pads of rats fed a high fat diet were larger than those of rats fed a normal diet. Fat cell size significantly ($p < 0.05$) decreased with natural plants supplementation. Therefore, we found that natural plants supplementation can be used for the treatment of obesity, possibly by decreasing the body fat.

Key words: obesity, nutraceutical, adipocyte, epididymal, lipid

서 론

비만은 유전적, 환경적 및 사회적 요인 등 다양한 원인들이 관여하는 복합적 증후군으로, 섭취한 에너지 중 체내 대사활동으로 소비되고 남은 것이 지방조직에서 중성지방으로 축적되어 발생된다(1,2). 현재까지 개발된 비만 치료제는 탁월한 효능을 나타내나 불면증, 신경불안, 두통, 혈압상승, 위장장애, 지용성 비타민 흡수 억제 등의 부작용이 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 부작용으로 인해 최근에는 식품 및 천연물을 통한 항비만 소재에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. Kim 등(3)은 백자인, 대북피, 계혈, 오배자의 높은 체장 지방분해효소 저해능을 입증하였고, Kim 등(4)은 민간요법에서 사용되고 있는 차전자, 고삼, 산사자의 추출물이 고지방식으로 유도된 비만쥐의 부고환 지방세포의 평균 면적과 간소엽 내 지방면적 비율을 감소시켜 항비만 효능을 나타냈다고 하였다. 또한 솔잎, 홍차, 녹차 추출물 혼합물을 섭취시킨 흰쥐에서 체중 및 체지방 감소 효과가 보였으며,

홍차와 녹차의 항비만 효과는 부분적으로 위장관에서 체장 지방분해효소와 α -amylase의 활성 억제에 의한 탄수화물과 지방의 소화감소에 기인하는 것으로 검증되었으며(5), 고지방식을 섭취시킨 흰쥐에서 동과의 섭취는 부고환 지방세포 크기를 감소시키고 내장 지방량과 체중 증가는 유의적인 상관관계를 보였다고 하였다(6). 또한 베타글루칸에 의해 내장 및 복부지방 무게가 감소하여 체지방 축적이 억제되었고(7), 전통 한약재로 구성된 조성물에 의해 체중과 부고환 및 신장후 지방조직이 용량 의존적으로 감소하였다고 보고하였다(8).

비만은 과다한 지방세포의 분화와 이와 연관된 질병의 이해와 치료를 위해 지방세포 및 지질 대사에 대한 연구가 진행되고 있다(9). 지방세포 수와 크기는 과잉 섭취된 열량에 의해 기하급수적으로 증가하며, 일단 형성된 지방세포 수는 식사나 운동과 같은 노력에 의해 감소되지 않는 반면 지방세포 크기는 어느 정도 조절이 가능하다고 알려져 있다(10,11). 본 연구에서는 으름덩굴(*Akebia quinata*), 옥수수수염(corn

*Corresponding author. E-mail: mchoe@kangwon.ac.kr
Phone: 82-33-250-8645, Fax: 82-33-250-6470

silk), 산사(*Crataegus pinnatifida* var. *psilosa*), 울무(*Coix lachrymajobi* var. *mayuen*), 표고(*Lentinus edodes*) 등의 천연소재 혼합물의 섭취가 혈중 지질 농도 및 부고환 지방세포의 크기에 미치는 영향을 관찰하여 지방축적의 억제를 유도할 수 있는 기능성식품 소재를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 천연소재 중 으름덩굴, 옥수수수염, 산사, 울무, 표고를 Table 1과 같은 비율로 배합하여 분말형태로 분쇄하여 재료로 사용하였다. 천연소재 혼합물은 0.02 g/mL 농도로 음수에 혼합하여 공급하였다.

실험동물 및 식이

12주령의 Sprague Dawley 수컷 흰쥐 28마리를 일주일간 적응시킨 후 난괴법에 의하여 일반식이군(ND), 일반식이+천연소재섭취군(NDD), 고지방식이군(HD), 고지방식이+천연소재섭취군(HDD)으로 분류하였다. 실험기간 동안 식이 섭취량과 체중은 2일마다 측정하였고 온도 $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 10\%$ 에서 12시간 주기로 명암 조절하여 6주간 사육하였다. 실험식은 Table 2에서와 같이 일반식이군은 AIN-76A diet를 공급하였고 고지방식이군은 AIN-76A diet에 40% (중량 %)의 우지가 들어간 식이를 공급하였으며, 식이와 음수는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

Table 1. Contents of natural plants mixture (%)

Materials	Contents
<i>Akebia quinata</i>	4.4
Corn silk	8.9
<i>Crataegus pinnatifida</i> var. <i>psilosa</i>	66.7
<i>Coix lachrymajobi</i> var. <i>mayuen</i>	4.4
<i>Lentinus edodes</i>	6.3
Other component	9.3
Total	100

Table 2. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Normal diet ¹⁾	High-fat diet ²⁾
Casein	200.0	200.0
DL-methionine	3.0	3.0
Cornstarch	150.0	150.0
Sucrose	500.0	345.0
Cellulose	50.0	50.0
Corn oil	50.0	50.0
Lard	-	205.0
Salt mixture ³⁾	35.0	35.0
Vitamin mixture ³⁾	10.0	10.0
Choline bitartrate	2.0	2.0
Fat% (calories)	11.7	40.0

¹⁾Normal diet: AIN-76A diet #100000.

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

³⁾According to AIN-76.

혈액 분석

혈액은 복대정맥으로부터 채취한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻어 총콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, 중성지방의 농도를 아산제약(ASAN, Korea) 상업용 kit를 이용하여 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedwald 등 (12)의 방법으로 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{LDLc} = (\text{TC} - \text{HDLc}) - \frac{\text{TG}}{5}$$

복부지방세포의 크기 측정

내장 지방량을 측정하기 위해 체지방으로 가장 많은 부위를 차지하는 부고환의 지방조직을 적출하여 중량을 측정한 후 지방세포의 크기를 측정하였다(13). 부고환 지방은 10% formalin으로 48시간 고정된 후 동결절편기(cryostat microtome)를 이용하여 18 μm 로 절편하였고 Oil-red-O 지방염색방법으로 지방세포를 염색하였다. 염색 후 60% iso-propanol을 이용하여 탈색한 뒤 현미경(BX-50, Olympus) 하에서 디지털카메라를 이용하여 이미지를 측정하였다. 지방세포의 크기 분석을 위해 Fluor Chem 8900 image analysis program을 이용하여 지방세포의 직경을 측정하였으며, 지방세포의 직경은 절대적 수치가 아닌 상대적 수치로 측정하였다.

통계처리

실험 결과는 SAS program(SAS 9.1 version)을 이용하여 분석하였고 평균과 표준오차로 나타내었다. 실험군간 유의성은 ANOVA에 의하여 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

체중 및 지방조직 무게

천연소재를 섭취시킨 흰쥐의 체중 증가량, 식이효율 및 부고환 지방조직의 무게는 Table 3과 같다. 실험기간 동안의 체중 변화를 보면 일반식이군에 비해 고지방식이군의 체중 증가량이 유의적으로 높았으며, 천연소재 섭취에 의해 일반

Table 3. Body weight gain, feed efficiency ratio (FER) and epididymal pads weight of rats

Groups ¹⁾	Body weight gain (g)	FER	Epididymal fat (g)
ND	67.6 \pm 5.2 ²⁾	0.06 \pm 0.01 ^c	17.0 \pm 1.6
NDD	45.0 \pm 5.9 ^a	0.05 \pm 0.01 ^c	17.7 \pm 1.3
HD	129.8 \pm 6.3 ^a	0.16 \pm 0.01 ^a	23.9 \pm 1.2
HDD	99.7 \pm 6.2 ^b	0.14 \pm 0.01 ^b	20.0 \pm 1.9

¹⁾ND, normal diet; NDD, ND+plants extract; HD, high fat diet; HDD, HD+plants extract.

²⁾Values are mean \pm SE. Values with different letters within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test.

Table 4. Effects of selected plants on the levels of total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and triacylglycerol in rats (mg/dL)

Group ¹⁾	Total cholesterol	LDL-cholesterol	Triacylglycerol	HDL-cholesterol
ND	191.6 ± 1.4 ^{ab2)}	75.5 ± 1.5 ^{ab}	225.2 ± 3.3 ^a	71.1 ± 0.8 ^b
NDD	194.8 ± 1.1 ^a	78.6 ± 1.2 ^a	202.6 ± 2.7 ^b	75.7 ± 1.0 ^a
HD	187.8 ± 1.9 ^{bc}	71.0 ± 0.9 ^c	213.9 ± 6.1 ^{ab}	74.1 ± 1.3 ^{ab}
HDD	184.3 ± 1.6 ^c	72.0 ± 1.5 ^{bc}	203.2 ± 4.9 ^b	71.6 ± 0.9 ^b

¹⁾Groups are the same as in Table 3.

²⁾Values are mean ± SE. Values with different letters within a column are significantly different from each other at α=0.05 as determined by Duncan's multiple range test.

식이군에서는 67.6 ± 5.2 g vs 45.0 ± 5.9 g으로 33.53%, 고지방식이군에서는 129.8 ± 6.3 g vs 99.7 ± 6.2 g으로 23.19% 감소한 것으로 나타났다. 비만에 있어서 체중의 증가보다는 체지방의 증가, 특히 복강 내에 위치한 지방조직 증가가 건강상의 위해요인으로 작용한다는 것이 잘 알려져 있다 (14,15). 부고환 지방조직의 무게를 측정된 결과 고지방식이군이 23.9 ± 1.2 g으로 가장 많았고, 고지방식사와 천연소재를 함께 섭취했을 때 20.0 ± 1.9 g으로 부고환 지방조직의 무게가 감소되었다. 이는 Kang 등(16)의 연구에서 커피 섭취량이 증가할수록 부고환 지방조직과 내장 지방무게는 줄어드는 경향을 보였고, 체중이 가장 많이 나가는 군의 부고환 지방조직과 내장 지방무게가 다른 군에 비해 많은 경향을 보인다는 연구결과와 일치하였다.

혈중 지질 함량

혈액 중 중성지방, 총콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤 농도는 Table 4에서와 같다. 총콜레스테롤과 LDL은 천연소재 보충급여에 의한 유의적인 감소 효과가 나타나지 않았으나 중성지방은 일반대조군이 225.2 ± 3.3 mg/dL, 천연소재 섭취군 202.6 ± 2.7 mg/dL로 유의적으로 감소하였다. 고지방식이를 급여한 백서의 혈청 지질 농도에 관한 연구에서 고지방식사와 천마 분획물을 섭취시킨 결과, 중성지방 함량이 21.5% 감소되었으며, 총콜레스테롤 함량을 36.9% 감소시키는 효능을 확인하였다(17). 또한 같은 추출물은 혈중 중성지방 함량을 감소시켰으나 총콜레스테롤과 HDL은 유의성을 확인할 수 없었다고 하였다(18). Shimoda 등(19)은 green coffee bean 추출물이 혈중 중성지방 농도를 효과적으로 억제하였고, 이는 지방분해 성분으로 알려진 카페인이 지방 흡수를 억제했기 때문이라고 제안하였다. HDL은 일반대조군에서 천연소재 섭취에 의해 유의적으로 증가하였다.

부고환 지방세포 크기

부고환 지방조직을 염색하여 image analyzer로 측정된 결과는 Fig. 1, 2와 같다. 일반식이군에 비해 고지방식이군의 부고환 지방세포 크기가 유의적으로 증가된 것으로 나타났으며, 고지방식으로 인하여 증가된 지방세포는 천연소재 섭취로 인하여 유의적으로 감소하였다. 지방세포 직경이 증대된 것은 고지방식이 섭취로 인한 지방세포내 중성지방의 축

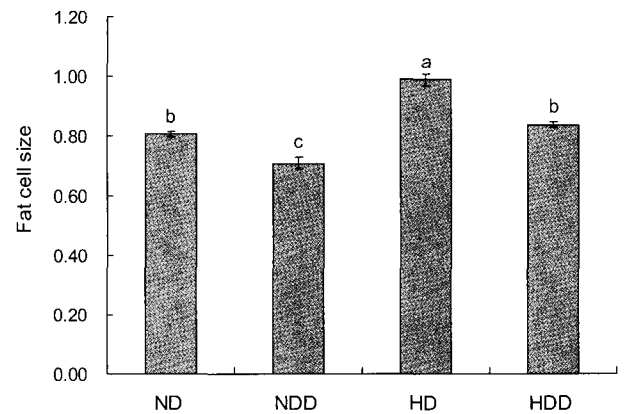


Fig. 1. Effects of selected plants on adipose cell size of epididymal fat pads.

Groups are the same as in Table 3.

Hematoxylin and eosin staining of epididymal adipose tissue. Mean cross-sectional area of fat cells in epididymal adipose tissue. Values marked by different alphabets were significantly different by ANOVA with post hoc. Duncan's test (p<0.05).

적이 이루어진 것을 의미하며 지방세포 크기의 측정은 항비만 효능을 입증할 수 있는 효과적인 방법이라 할 수 있다. 체중 증가량과 혈액내 중성지방 함량, 부고환 내장지방 무게를 고려하여 볼 때 고지방식이 섭취로 인한 지방세포의 크기가 증대된 비만형 비만으로 판단할 수 있다. 일반적으로 형성된 지방세포의 수효는 감소되지 않으나 지방세포의 크기는 어느 정도 조절이 가능하다고 알려져 있다. 본 연구에서 세포의 크기를 측정할 때 같은 면적 안에 나타난 지방세포 크기를 측정했기 때문에 천연소재 섭취군의 지방세포 크기가 작다는 것은 천연소재에 의해 체지방 축적이 억제되어 지방세포의 hypertrophy를 억제하는 것으로써 천연소재의 좋은 효과라고 사료된다. Kang 등(16)은 0.6% 커피 섭취 시 렘틴 농도는 대조군에 비해 높았지만, 부고환 지방조직의 지방세포 크기에 변화가 없었다고 하였다. Moon 등(8)은 전통 한약제로 구성된 천연조성물에 의해 체중과 부고환 및 신장후 지방조직이 용량 의존적으로 감소하였고, 지방조직내의 지방세포 평균 단면적이 용량 의존적으로 감소하여 지방조직 억제 효과가 뚜렷함을 보고하였다. Kim(9)은 황백메탄을 추출물이 지방대사에 관여하는 중요한 효소인 fatty acid synthase와 pancreatic lipase에 대한 저해활성을 나타내지 않았으나, 지방세포 분화 저해활성은 낮은 농도에서도

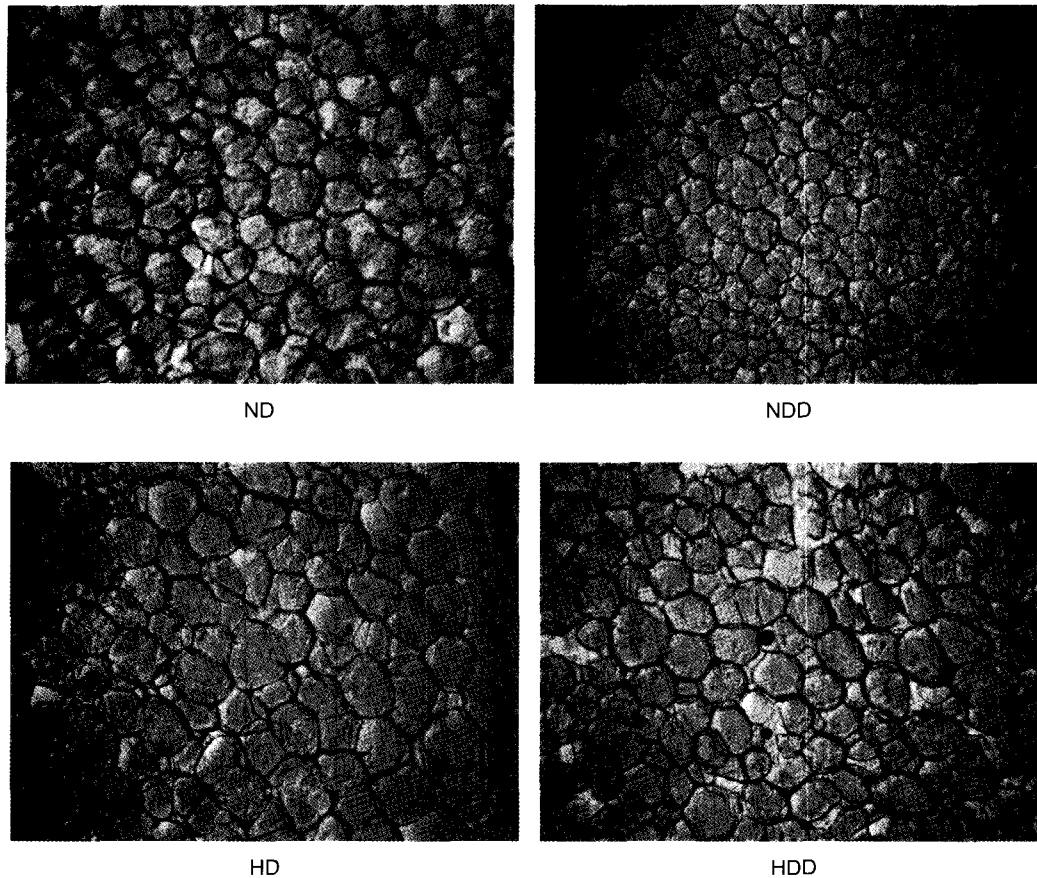


Fig. 2. Effects of selected plants on adipose cell image of epididymal fat pads.

Groups are the same as in Table 3. Hematoxylin and eosin-stained sections of adipose tissue. Images captured at 10× magnification. Each image was generated in less than 5 min.

관찰되었다고 하였다. Kang 등(6)은 동과 15% 섭취시 부고환 지방조직의 지방세포 크기가 감소하여 체지방 축적의 억제효과를 제시하였으며, 이러한 억제효과는 지방 합성에 관여하는 lipogenic enzymes 활성이 감소되거나 지방을 조직으로 유입하는 lipoprotein lipase의 활성 감소 또는 지방을 분해하는 hormone sensitive lipase 활성의 증가에 의해 일어날 수 있다고 하였다.

요 약

본 연구에서는 천연소재 혼합물이 혈중 지질 함량 및 부고환 지방세포의 크기에 미치는 영향을 측정하였다. 그 결과 혈액 중 총콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤은 천연소재 섭취에 의한 유의적인 감소 효과가 나타나지 않았지만, 중성지방은 정상식이군에서 감소하였고 HDL 콜레스테롤은 정상식이군에서 증가하였다. 부고환 지방조직은 고지방식이 섭취에 의해 지방세포 크기가 유의적으로 증가되었으나 천연소재 섭취로 인하여 유의적으로 감소하였다. 이는 천연소재 섭취에 의해 체지방 축적이 억제되어 지방세포의 hypertrophy를 억제했기 때문으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2005년 중기청 산학협력실사업과 강원대학교 BK21 뉴트라슈티컬사업단의 일부 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Grundy SM. 1998. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am J Clin Nutr* 67: 563S-572S.
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. 1997. Obesity solutions: report of a meeting. *Nutr Res* 55: 150-156.
3. Kim YJ, Kim BH, Lee SY, Kim MS, Park CS, Rhee MS, Lee KH, Kim DS. 2006. Screening of medicinal plants for development of functional food ingredients with anti-obesity. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 221-226.
4. Kim YS, Byun SH, Kim SC, Kum M, Cho EH. 2000. Effect on cure and prevention of an obesity. *Kor J Herboloy* 15: 37-43.
5. Jeon JR, Kim JY, Lee KM, Cho DH. 2005. Anti-obese effects of mixture contained pine needle, black tea and green tea extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 375-381.

6. Kang KJ, Lim SJ, Jeong JG, Han HK, Choi SS, Kim MH, Kwon SY. 2003. Effects of wax guard on weight, triglyceride, leptin and fat cell size in rats fed on a high fat diet. *Korean J Nutr* 36: 446-451.
7. Kang SA, Jang KH, Hong KH, Choi WA, Jung KH, Lee IY. 2002. Effects of dietary β -glucan on adiposity and serum lipids levels in obese rats induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 1052-1057.
8. Moon GA, Choi SM, Kim SH, Kim SS, Kang JY, Yoon Y. 2003. Human and animal study on the natural food for obesity and metabolic syndrome risk factors. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1394-1400.
9. Kim JB. 2001. New horizon in atherosclerosis research: Insights into fat cell differentiation and insulin sensitivity with ADD1/SREBP1 and PPAR γ . *Korean J Lipidol* 11: 79-83.
10. Sisk M, Azin MJ, Hausman DB, Jewell DE. 1999. Effect of conjugated linoleic acid on fat pad weights and cellularity in Sprague Dawley and Zucker rats. *FASEB* 3116: A536.
11. Flier JS. 1995. The adipocyte: storage depot or node on the energy information superhighway. *Cell* 80: 15-18.
12. 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.
13. Chen HC, Farese RV Jr. 2002. Determination of adipocyte size by computer image analysis. *J Lipid Res* 43: 986-989.
14. Bjorntorp P. 1998. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand* 723: 121-134.
15. Bjorntorp P. 1990. "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis* 10: 493-496.
16. Kang KJ, Choi SS, Han HK, Kim KJ, Kwon SY. 2004. Effects of instant coffee on weight, plasma lipids, leptin, and fat cell size in rats fed on a high fat diet. *Korean J Food Sci Technol* 36: 478-483.
17. Hong HD, Kim YC, Keum IK, Kim SS, Kim KI, Han CK. 2005. Effect of *Gastrodiae rhizoma* fractions on serum lipid concentrations in rats fed with high fat diet. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 370-374.
18. Lee JS, Lee KH, Jeong JH. 1999. Effects of extract of *Pueraria radix* on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 218-224.
19. Shimoda H, Seki E, Aitani M. 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC Complement Altern Med* 6: 9-17.

(2007년 1월 15일 접수; 2007년 2월 27일 채택)