

삼백초 추출물의 3T3-L1 세포에 대한 지방축적 억제효과

신옥수¹, 신연호¹, 이강혁², 김건용², 김기호², 박정극³, 안계일⁴, 송계용^{1*}

Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes with Ethanol Extracts of *Saururus chinensis*

Ok-Su Shin¹, Youn-Ho Shin¹, Kang-Hyun Lee², Gun-Yong Kim², Ki-Ho Kim², Jung-Keug Park³, Jae-Il Ahn⁴, and Kye-Yong Song^{1*}

접수: 2012년 9월 11일 / 게재승인: 2012년 11월 16일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Obesity increases the risk of many adult diseases, such as atherosclerosis, diabetes, hypertension, ischemic heart disease and breast cancer. Inhibition of adipogenesis is an effective way in the anti-obesity management. Because of main components of *Saururus chinensis* is flavonoid, it has been showed some improvement by its antioxidant effects on the atherosclerosis, heart disease and diabetic hyperlipidemia. But mechanism of anti-obesity effect of *S. chinensis* is not clear. We investigated the effects of ethanol extracts of *S. chinensis* on adipogenesis in the 3T3-L1 pre-adipocyte. The 3T3-L1 cell line is commonly used to study adipogenesis *in vitro*. In this study, ethanol extracts of *S. chinensis* significantly decrease the lipid accumulation in the 3T3-L1 cells proved by measuring triglyceride contents and Oil red O staining. The proposed mechanism of inhibition of adipogenesis in the 3T3-L1 cells with ethanol extracts of *S. chinensis* is

down-regulation of transcriptional factors and adipocyte-specific genes such CCAAT/enhancer binding protein α (C/EBP α) and Peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) in concentration dependent pattern. These results suggest that ethanol extracts of *S. chinensis* inhibits adipogenesis in the 3T3-L1 cells and can be used as a safe and efficient natural substance to manage anti-obesity.

Keywords: 3T3-L1, anti-obesity, anti-adipogenesis, *Saururus chinensis*

1. 서론

현대사회는 최근 경제적 수준 향상과 서구화된 생활 습관으로 비만을 비롯한 다양한 대사증후군이 발생하여 이를 예방하고자 하는 많은 노력들이 지속되고 있다 [1,2]. 이 중 비만 (Obesity)은 과도한 지방세포 증가와 분화, 에너지 섭취와 소비간의 불균형으로 인한 체내 지방 축적 증가가 주된 원인으로 알려져 있으며 [3], 그 외 유전적 요인 등 복합적인 원인으로 인하여 비만과 연관된 질병의 이해와 치료를 위해 지방세포의 분화와 지방대사에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 [4].

생활 습관의 변화와 함께 고단백, 고지방의 동물성 식품 섭취가 증가되어 고혈압, 동맥경화증 (atherosclerosis), 관상동맥성 심장질환 및 고지혈증 등 심장순환기계 질환 (coronary heart disease, CHD)과 더불어 당뇨병 (Diabetes mellitus) 등의 발병과 치명적인 합병증이 문제시 되고 있는 실정이다 [5].

비만은 지방세포의 수와 크기가 증가됨에 따라 증상이 심해지는 것으로 알려져 있다 [6]. 인체에 지방을 축적하는

¹중앙대학교 의과대학 병리학교실

¹Department of Pathology, Chung-Ang University, 84 Heukseouk-Ro, Seoul 156-756, Korea
Tel: +82-2-820-5656, Fax: +82-2-825-7823
e-mail: sky@cau.ac.kr

²바이오랜드 생명공학연구소

²R&D center, Bioland, 59 Songjeongni 2-gil, Byeongcheon, Dongnam, Cheonan, Chungnam 330-863, Korea

³동국대학교 의생명공학과

³Department of Medical Biotechnology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

⁴충북테크노파크 바이오센터

⁴Bio Center, Chungbuk Technopark, 686-4, Yangcheon, Ochang, Cheongwon, Chungbuk 363-883, Korea

세포는 단기간동안 축적하는 간세포 (hepatocyte)와 장기간 동안 축적하는 지방세포 (adipocyte)로 나뉘어져 있는데 이중 비만과 관련이 있는 것은 지방세포이다. 지방세포는 전구지방세포 상태로 존재하다가 적절한 환경하에서 지방 세포로 분화되어 세포 내 지방을 축적하는데 이 전구지방 세포의 분열 및 지방세포의 생성을 억제하는 물질은 비만을 예방하거나 치료할 수 있을 것으로 생각된다. 최근 비만관련 하여 세포수준의 연구는 생쥐 (mouse)에서 유래된 3T3-L1 지방전구세포를 이용하여 활발한 연구를 하고 있다 [7].

삼백초 (*Saururus chinensis*)는 삼백초과 (*Saururuaceae*)에 속하는 다년생 초본으로 우리나라를 비롯한 중국, 일본 등지에서 자생하거나 재배된다. 삼백초는 주로 6월에서 8월에 꽃이 피고 백색의 3~4개의 잎으로 이루어져 있으며, 잎, 꽃, 뿌리 3가지가 흰색이기 때문에 삼백초라고 한다 [8]. 삼백초의 주성분은 플라보노이드 (Flavonoid) 성분인 케세틴 (Quercetin), 퀘르시트린 (Quercitrin), 이소퀘르시트린 (Isoquercitrin)을 비롯한 루틴 (Rutin), 수용성 태닌 (Tannin) 등을 함유하고 있다. 삼백초의 주성분인 케세틴, 퀘르시트린 및 태닌은 생육 초기에 높게 나타나는 생육시기 별 함량을 나타내며, 케세틴은 흰 잎, 퀘르시트린은 잎, 태닌은 꽃에서 부위별 함량이 높은 특성을 나타내고 있다 [9,10]. 이러한 삼백초의 주성분은 항산화 작용과 함께 모세혈관 강화, 항균, 항암성, 노화방지, 동맥경화 및 심장질환에 대한 약리 효과가 있다고 알려져 있다 [11]. 현재 삼백초는 전초나 뿌리를 건조한 것이 약용으로 사용되고 있는데, 이러한 삼백초 건조 추출물은 스트렙토조토신 (Streptozotocin)으로 유발된 당뇨병 흰 쥐의 고혈당, 고중성지방, 고콜레스테롤 증상 등에 효과가 있는 것으로 증명되었다 [12].

본 실험에서는 3T3-L1 지방전구세포를 삼백초 추출물로 처리하여 지방세포의 분화 및 지방생성 억제에 미치는 영향을 관찰하여 지방저해 활성을 관찰하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료의 추출

삼백초는 경북 영천 임고면에서 재배하여 8월말에 수확한 음지에서 건조한 것을 사용하였다. 음지에서 건조한 지상부 (61 g)를 5~6 cm 크기로 세절한 다음 10배 (w/w)의 70% (w/w)에탄올에 침적하여 상온에서 2일간 추출하였다. 추출한 용액을 다시 250 mesh로 여과하고, 여과한 원물을 상기 방법과 동일한 방법으로 재추출하였다. 이후 얻은 여과액을 밀리포어 필터 (milipore filter, 0.45 μ m)로 여과하고 회전식 감압농축기로 농축, 총 3.6 g (수율 5.9%)을 획득하여 실험에 사용하였다.

2.2. 지방세포 배양 및 분화

3T3-L1 지방전구세포는 미국 세포 은행 (American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA)을 통하여 구입하였다. 실험에 사용한 3T3-L1 지방전구세포는 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco Co, USA)와 1% penicillin-streptomycin

(P/S, Gibco Co, USA)가 첨가된 배양액 (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)를 이용하여 37°C, 5% CO₂/95% air가 공급되는 조건의 인큐베이터 (incubator)에서 배양하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 분화 유도하기 위하여 세포를 6 well plate의 각 well에 1.25 × 10⁵ cells/well로 분주 하고 2일 후 배지를 교환하여 3-4일째에 세포가 완전히 융합상태가 되게 하였다. 융합상태에서 첫날에는 10% FBS와 MDI solution (0.5 mM 3-iso Butyl-1-methylxanthine, 1 μ M dexamethsone, 5 μ g/mL insulin) (Sigma Co, USA)를 처리하여 분화를 유도 하였고 [3], 이때, 시료가 지방세포분화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 시료를 well당 10, 25, 50, 75 그리고 100 μ g/mL의 농도별로 함께 처리하였다. 분화 유도 2일 후, 배지를 시료, 10% FBS, 1% P/S, 5 μ g/mL insulin이 포함된 DMEM으로 교환 하였고, 분화 유도 4일째부터는 시료와 함께 2일에 한번씩 10% FBS와 1% P/S가 포함된 DMEM으로 교환하여 세포를 분화시켜 8일간 지방을 유도한 지방세포에서 실험하였다.

2.3. MTS 분석

세포배양을 마친 후, 세포에 대한 독성 측정은 5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2H-tetr-a-zolium inner salt (MTS) assay 방법으로 분석하였다 [14]. 이는 mitochondrial dehydrogenases에 의하여 MTS가 formazan으로 전환되는 것을 측정하는 것이다. 먼저 지방세포의 분화를 유도한 마지막 날 배양액을 제거하고 10% 혈청이 포함된 배양액에 MTS Cell Viability reagents (Promega, WI, USA)를 Well당 2 mL씩 넣어준 다음 4시간동안 반응시킨 후, 490 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 대조군인 Ethanol에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다. 농도별로 추출물이 갖는 흡광도는 세포를 뺀 배지를 같이 배양하여 대조군과 실험군의 흡광도를 비교해서 보정하였다.

2.4. Triglyceride (TG) 분석

삼백초 추출물로 처리한 지방세포와 처리하지 않은 지방세포의 중성지방 함유량을 분석하기 위하여 지방세포 분화배양을 최종적으로 마친 세포배양액을 수거하여 분석에 사용하였다. 수거한 세포배양액을 배양액 내 중성지방의 잔류량을 측정할 수 있는 LabAssayTM Triglyceride kit (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan)를 이용하여 분석하였다.

2.5. Oil Red O 염색

먼저 염색할 세포가 있는 배양용기에서 배양액을 제거 후 phosphate-buffered saline (PBS)로 2회 세척하였다. 그 다음 실온에서 10% formaldehyde로 60분동안 고정한 다음 고정액을 제거한 후, 다시 PBS로 3회 세척하였다. 지방세포 내의 지방의 염색을 위하여 필터지로 여과한 Oil Red O 용액으로 실온에서 60분동안 처리한 다음 PBS로 2회 세척하면 지방 구 (lipid droplet)만이 붉은색으로 염색되는데 이러한 염색된 지방구를 사진으로 기록하였다. 이러한 지방구를 이소프로판올 (Isopropanol)로 녹여내어 540 nm에서 흡광도를 측정하여 지방세포내에 남아있는 지방을 수치로 나타내어 비교

하고자 하였다.

2.6. Western blot

지방세포를 ice-cold lysis buffer (20 Mm Tris-HCl (Ph 7.4), 2 μM EDTA, 500μM sodium orthovanadate, 1% Triton X-100, 0.1% SDS, 10 μM NaF, 10 μg/mL leupeptin and 1 mM PMSF)로 용해시킨 뒤 13,000 g로 4℃에서 30분간 원심분리한 후 상층액을 이용하여 단백질을 정량하였다. 단백질 정량은 표준으로 bovine serum albumin을 사용한 Bio-Rad DC protein assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)으로 측정하였다. 총 단백질 (10-50 μg)은 10% polyacrylamide gel을 이용하여 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)으로 분리한 다음 nitrocellulose membrane으로 전이시켰다. Membrane은 PBST (0.1% v/v Tween-20 in PBS, Ph 7.2)에 5%로 녹인 skim milk로 한 시간 동안 차단하고, β-actin (1 : 5000 dilution, Sigma, USA), PPARγ (1 : 1000 dilution, Cell Signaling, USA), C/EBPα (1 : 1000 dilution, Cell Signaling, USA)의 primary antibody를 넣고 4℃에서 하룻밤 동안 반응시킨 다음 mouse IgG Ab-H&L (1 : 5000 dilution, Abcam, UK)인 secondary antibody를 넣고 실온에서 한 시간 동안 반응시켰다. Membrane은 각 단계마다 PBST로 5분마다 다섯번 세척해주었다. 결과는 Amersham ECL system (Amersham-Pharmacia Biotech, Arlington Heights, IL)을 이용하여 검출하였다.

2.7. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)

실험한 세포 (3T3-L1)에서 Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 이용하여 RNA를 추출하였고 total RNA는 정량 후, Premix kit (Clontech, Mountain View, CA, USA)을 이용하여 cDNA로 합성하였다. 합성된 cDNA는 28 cycle로 PCR 반응시킨 후 1.5% agarose gel에 전기영동하여 결과를 확인하였다. PCR 반응조건은 95℃ 15분, 95℃ 30초 (denaturation), 55℃ 30초 (annealing), 72℃ 30초 (extension)로 증폭하였다. PCR 증폭을 위해 사용된 primer 염기서열은 PPARγ (forward 5'-AGACATCAGCGCCTA CATCT-3', reverse 5'-GCTCCCGGTAGTCAAAGTC-3'), C/EBPα (forward 5'-GAACAGCAACGAGTACCGGGTA-3'), β-actin (forward 5'-GACATGGAGAAAATCTGGCA-3' reverse 5'-AATGTCACGCACGATTTCCC-3')를 사용하였다.

2.8. 통계분석

모든 실험결과에 의한 통계처리는 실험으로부터 얻어진 결과를 SigmaPlot (SyStat Software) 프로그램을 이용하여 student t-test를 수행하였고, 평균값의 통계적 유의성은 p < 0.05 수준에서 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 3T3-L1의 분화에 대한 삼백초의 효과

세포 배양 완료 후 삼백초 추출물의 세포독성영향을 알아보

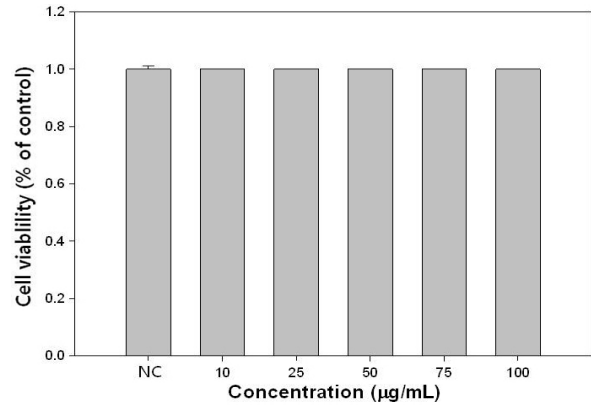


Fig. 1. The confluent 3T3-L1 cells were treated with *S. chinensis* containing various concentrations for 7 days. Cell viability was determined by MTS assay. No cytotoxic effect was noted.

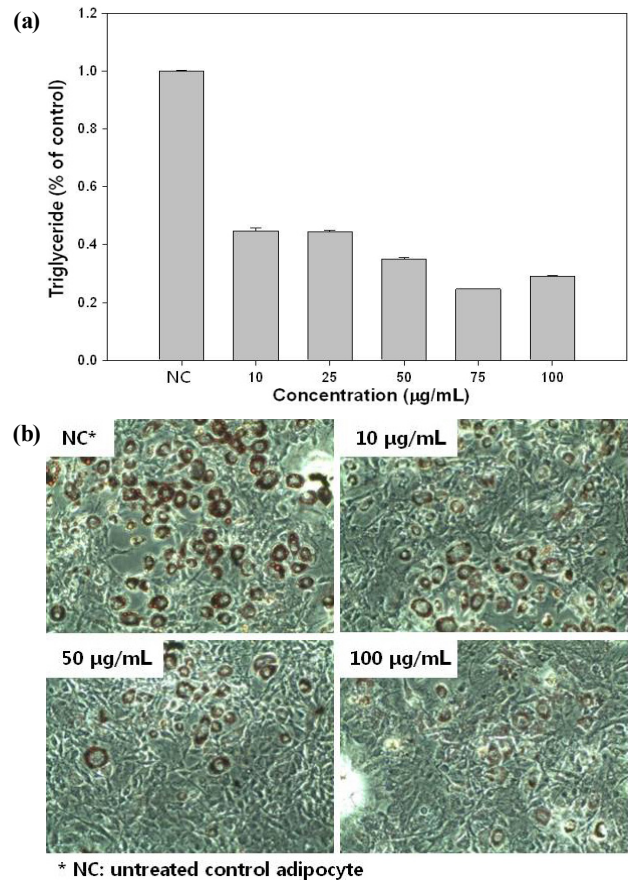


Fig. 2. The effects of *Saururus chinensis* on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. The confluent 3T3-L1 cells were treated with *S. chinensis* containing various concentrations for 7 days. The lipid secretion was measured by triglyceride (TG) assay (A) and Oil Red O assay (B). The lipid accumulation feature is confirmed by Oil Red O staining. Significant inhibitory effect was noted ($p < 0.05$).

기 위하여 10~100 μg/mL의 농도에서 MTS 분석을 통하여 확인한 결과 고농도인 100 μg/mL에서도 cell viability가 95% 이상인 것으로 측정되어 세포 독성이 없는 것으로 확인되었다 (Fig. 1). 또한 분화시 나타나는 중성지방의 축적 정도

를 알아보는 TG 분석법과 Oil red O 염색을 통하여 확인한 결과, MDI만을 이용하여 배양시킨 대조군에 비하여 10, 25, 50, 75 그리고 100 $\mu\text{g/mL}$ 로 처리된 군에서 농도의존적으로 중성지방의 양이 감소하는 경향을 보였으며, 75 $\mu\text{g/mL}$ 에서 중성지방이 75%로 최대 감소하였고 (Fig. 2(a)), 또한 Oil Red O 염색을 통하여서도 지방구 (Lipid droplet)의 축적 정도가 감소되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2(b)).

3.2. 지방세포분화 전사인자와 표지인자의 발현에 대한 삼백초의 효과

지방세포분화에 결정적 역할을 하는 중요한 전사인자인 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ)와 C/EBP α (CCAAT/enhancer binding proteins)가 삼백초 추출물 처리 시 얼마만큼의 영향을 받았는지 알아보기 위하여 western blot을 통하여 단백질 발현량을 확인해 보았다 (Fig. 3). 이 결과 분화만 시킨 대조군과의 차이가 극명히 나타났으며, PPAR γ 의 isoform인 PPAR γ 1과 PPAR γ 2의 발현이 억제되었으며, 이 중 PPAR γ 2는 PPAR γ 1과 함께 지방세포에 특이적으로 발현되나 분화를 촉진하는 활성이 PPAR γ 1에 비해 약간 높는데, 삼백초를 처리했을 때 농도의존적으로 발현량이 감소되는 것을 확인할 수 있었고, C/EBP α 의 isoform인 p42 (42 kDa)와 p30 (28 kDa) 역시 지방세포가 분화됨에 따라 증가하는 데, 삼백초를 농도의존적으로 처리했을 때 발현량이 현저하게 감소되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 또한 전사인자들과 분화 표지인자들을 RT-PCR을 통한 gel electrophoresis를 통해 확인한 결과에서도 PPAR γ 가 대조군에 비하여 25, 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 농도의존적으로 감소되었으며, 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 발현이 억제되었다. 또다른 전사인자인 C/EBP α 에서도 삼백초 추출물 처리 시 50 $\mu\text{g/mL}$ 이상에서 농도의존적으로 발현량이 감소되었다 (Fig. 4).

식생활의 서구화와 식습관의 변화 등으로 현대인의 식생활 불균형이 초래됨에 따라 비만을 비롯한 대사증후군을 유발하는 질병이 증가하고 있다. 때문에 이들 대사증후군을 예방하고자하는 노력들이 지속되고 있으며 건강 기능성 식품에 대한 관심도 증가하고 있다 [15]. 지방세포 분화 억제를 통한 항비만 연구에 이용되는 세포주들 중 3T3-L1 섬유아세포 (fibroblast)는 전구지방세포 (preadipocyte)의 단계를 거쳐 지방세포 (adipocyte)로 분화 (adipogenesis)하며 지방세포로 분화 되는 과정 중의 세포내 지방 축적과 지방세포 분화와 연관된 주요 전사인자 (PPAR γ , C/EBP α)의 발현양상을 비교하는 분자생물학적인 기법들이 이용되고 있다 [16,17].

삼백초 (*Saururus chinensis*)는 삼백초과에 속하는 다년생 초본으로 예로부터 다양한 약효를 가지고 있어 민간에서 약으로 널리 사용되고 있으며, 특히 부종, 이뇨, 해독 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다 [18]. 삼백초의 주성분은 플라보노이드 성분인 케세틴, 케르시트린, 이소케르시트린을 비롯한 루틴, 수용성 태닌 등을 함유하고 있다. 이 중 플라보노이드는 항산화 특성을 가진 대표적인 polyphenol 화합물로서 식물의 색과 풍미에 관여하며 병원체와 곤충들의 공격에 대한 방어 기능 및 항암, 항바이러스, 항염, 항알러지 등의 활성을 나타낸다 [18,19].

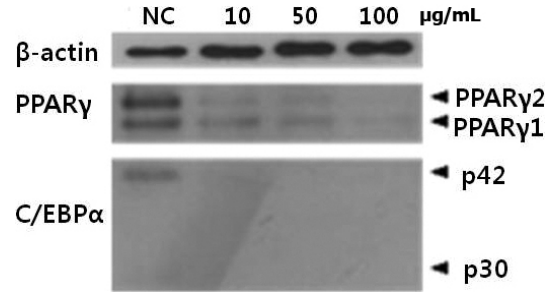


Fig. 3. The effects of *Saururus chinensis* on the expression of transcriptional factors and adipocyte-specific genes. The confluent 3T3-L1 cells were treated with *S. chinensis* containing various concentrations for 7 days. The protein levels of PPAR γ , C/EBP α were analyzed by western blot.

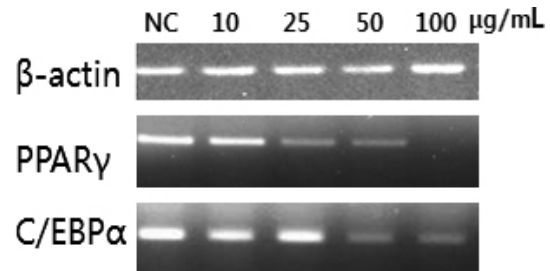


Fig. 4. The effects of *Saururus chinensis* on the expression of transcriptional factors and adipocyte-specific genes. The confluent 3T3-L1 cells were treated with *S. chinensis* containing various concentrations for 7 days. The mRNA expression of PPAR γ , C/EBP α were confirmed by electrophoresis.

최근 들어 비타민 E, flavonoids, phenolic acid, carotenoid 등 많은 항산화 물질이 천연식물에서 발견됨에 따라 천연 물질을 이용한 항산화제 탐색이 활발히 진행되고 있다. 플라보노이드는 일반적으로 식물에서 당과 결합된 형태로 존재하며 잎, 과일, 차, 약용식물에서 발견된다. 천연 항산화제의 대부분은 우리나라를 비롯한 동양권에서 오랜 기간 질병치료와 예방의 목적으로 사용되어온 한약재가 많으며 식물의 2차 대사산물이 가지는 생체에 대한 생리활성 효과를 이용하는 천연재료로서 경험적으로 선택·이용되어 왔기 때문에 인체에 대한 안전성은 상당부분 검증된 것으로 볼 수 있다 [20].

이렇게 항산화 효능에 효과가 있는 천연물질의 연구결과 등 [21]에서 삼백초와 여러 다양한 물질의 혼합액에 대한 연구가 활발한데 반해 아직 삼백초 단일물질에 대한 연구는 전무한 실정이다 [21,22].

본 연구에서는 3T3-L1 세포를 생체 외 (*in vitro*)에서 지방세포로 분화시키는 과정에 삼백초 추출물을 첨가하여 분화 억제를 통한 항비만 효과를 확인하고자 하였다. 지방세포 분화에서 나타나는 중성지방의 양을 중성지방의 수치 측정 (TG assay)과 Oil Red O 염색을 통하여 지방축적의 정도를 알아보았다. 그리고 지방세포의 분화와 지방합성에 관련된 인자들의 발현량을 western blot과 RT-PCR을 통하여 알아보았다.

먼저 삼백초의 추출과정을 거쳐 3T3-L1 preadipocyte가 adipocyte로 분화유도과정에서 10-100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 세포

독성을 확인 한 결과 전체적인 농도에서 독성이 없음을 확인 하였으며 (Fig. 1), 분화유도물질과 함께 48시간 처리 후 배지를 교환하여 6일 후 중성지방의 수치 측정 (TG assay)과 Oil Red O 염색법으로 축적된 지방을 염색하였고, 분화유도물질만을 처리한 군과 비교시 추출물의 처리 농도가 증가함에 따라 유의적으로 지방축적이 감소되었다 (Fig. 2,3). 또한 중성지방의 양이 감소되는 것이 지방생성이 억제되어 지방 축적이 감소되는지를 알아보기 위하여 Protein 발현과 RNA level에서 확인하였다. 중성지방의 형성은 몇 가지 주요 효소들의 도움에 의해 합성되는데, 이 효소들은 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ), C/EBPs (CCAAT/enhancer binding proteins)과 같은 여러 transcription factors에 의해 조절이 된다. PPAR γ 는 preadipocyte에서 지방 세포로 분화되는 과정 중 지방생성의 관여에 가장 중요한 역할을 하는 전사인자이며 특히 후기 분화의 주요 전사인자로 알려져 있다 [6]. PPAR γ 는 alternative promoter와 alternative splicing 과정을 통하여 PPAR γ 1과 PPAR γ 2의 2개의 isoform이 존재하며 지방세포에는 PPAR γ 2가 더 많이 존재한다. 이들은 지방세포의 분화와 관련된 여러 가지 enzyme들의 발현에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 인슐린에 의해 활성화되는 C/EBPs등과 함께 지방합성과 저장에 관여하는 효소들의 발현을 조절하는 역할을 한다 [23]. 이 때, C/EBP α 는 지방세포의 전사조절분자 중의 하나로서 PPAR γ 와 마찬가지로 지방세포의 후기 분화 과정에 주요 전사인자이다. C/EBPs는 alternative translational start site로 인해 C/EBP α 를 포함한 몇 가지 isoform이 나타나는데, 그 중 42 kDa인 p40은 28 kDa인 p30보다 강력한 전사 활성화 인자이다. 이 C/EBPs가 다양한 섬유모세포에서 과다 발현하게되면 adipogenesis를 유도한다고 보고되어 있다 [23,24]. 본 연구에서는 이들의 mRNA 발현에 미치는 삼백초 추출물의 효과를 살펴본 결과, 후기 분화에 중요한 역할을 하는 PPAR γ 1과 PPAR γ 2를 포함하는 PPAR γ 가 대조군에 비하여 줄어든 것을 확인하였고 (Fig. 3,4), C/EBP α 의 isoform인 p40과 p30 역시 대조군에 비하여 줄어든 것을 확인하여 PPAR γ 와 C/EBP α 가 분화 후기에 발현되어 지방 세포로 분화되는 과정 중 지방생성을 감소시킴으로써 비만을 억제하는 것으로 판단되어 이러한 결과를 통해, 본 실험에서 사용한 삼백초 추출물은 항비만 소재로서 체지방 축적억제에 효과가 있음을 확인하였다.

감사

본 연구는 바이오랜드 생명공학연구소의 천연신소재를 이용한 지방생성억제 효능 제품 개발에 관한 연구비의 지원으로 수행한 연구결과로 이에 감사드립니다.

References

1. Lee, S. R., C. H. Park, E. Y. Kuan, Y. Q. Lu, H. Kim, K. C. Kim,

H. U. Son, H. J. Lee, J. C. Heo, and S. H. Lee (2011) Comparison of anti-adipogenesis activity by several grape extracts. *Korean J. Food Preserv.* 18: 119-123.

2. Kim, D. J., J. H. Jung, S. G. Kim, H. K. Lee, S. K. Lee, H. D. Hong, B. Y. Lee, and O. H. Lee (2011) Antioxidants and anti-obesity activities of hot water and ethanolic extracts from *Cheonnyuncho*. *Korean J. Food Preserv.* 18: 366-373.

3. Bradford, B. L. and M. S. Bruce (2000) Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature* 404: 652-660.

4. Rayalam, S., M. A. Della-Fera, and C. A. Baile (2008) Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J. Nutritional Biochemistry* 19: 717-726.

5. Dave, S., N. J. Kaur, R. Nanduri, H. K. Dkhar, A. Kumar, and P. Gupta (2012) Inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis and lipolysis by stem bromelanin in 3T3-L1 adipocytes. *PLoS One* 7: e30831.

6. Park, M. Y., D. W. Seo, J. Y. Lee, M. K. Sung, Y. M. Lee, H. H. Jang, H. Y. Choi, J. H. Kim, and D. S. Park (2011) Effects of *Panicum miliaceum* L. extract on adipogenic transcription factors and fatty acid accumulation and 3T3-L1 adipocytes. *Nutr. Res. Pract.* 5: 192-197.

7. Kim, T. J. (1996) *Korean Esource Plants*. pp. 66-67. Seoul National University Press, Seoul. Korea.

8. Seo, C. S., W. H. Lee, H. W. Chung, E. J. Chang, S. H. Lee, Y. Jahng, B. Y. Hwang, J. K. Son, S. B. Han, and Y. S. Kim (2009) Manassantin A and B from *Saururus chinensis* inhibiting cellular melanin production. *Phytother. Res.* 23: 1531-1536.

9. Choi, H. N., Y. H. Park, J. H. Kim, M. J. Kang, S. M. Jeong, H. H. Kim, and J. I. Kim (2011) Renoprotective and antioxidant effects of *Saururus chinensis* baill in rats fad a high-fructose diet. *Nutr. Res. Pract.* 5: 365-369.

10. Kim, H. S. (2006) The Effects of *Saururus chinensis* baill extract administration on the blood glucose, electrolyte and lipid metabolism in stz-induced hyperglycemic rats. *J. Life Science* 16: 911-918.

11. Hwang, J. Y., J. Zhang, M. J. Kang, S. K. Lee, H. A. Kim, and J. I. Kim (2007) Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Sarurus chinensis* baill in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr. Res. Pract.* 2: 100-104.

12. Yoon, B. R., B. J. Cho, H. K. Lee, D. J. Kim, S. K. Rhee, H. D. Hong, K. T. Kim, C. W. Cho, H. S. Choi, B. Y. Lee, and O. H. Lee (2012) Antioxidant and anti-adipogenic effects of ethanolic extracts from tartary and common buckwheats. *Korean J. Food Preserv.* 19: 123-130.

13. Lee, M. S., C. T. Kim, I. H. Kim, and Y. H. Kim (2011) Effects of capsaicin on lipid catabolism in 3T3-L1 adipocytes. *Phytother. Res.* 25, 935-939.

14. Desai, A., T. Vyas, and M. Amiji (2008) Cytotoxicity and apoptosis enhancement in brain tumor cells upon coadministration of paclitaxel and ceramide in nanoemulsion formulations. *J. Pharma Sci.* 97: 2745-2756.

15. Spiegelman, B. M. and S. Filer (1996) Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell.* 87: 377-389.

16. Raylama S., M. A. Della-Fera, and C. A. Baile (2008) Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J. Nutr. Biochem.* 19: 717-726.

17. Chin, H. S., K. J. Pack, S. H. Pack, and J. K. Kim (2009) The effects of herbal extract mixture on anti-obesity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 32-38.

18. Kang, S. R., E. Y. Park, M. S. Park, J. Park, and Y. C. Kim (2011)

- Antioxidative and collagen synthetic abilities of *Gardenia fructus* and *Saururus chinensis* water extracts. *J. Investigative Cosmetology* 7: 165-171.
19. Lee, J. W., H. J. Park, J. S. Kim, E. Y. Choi, S. N. Han, E. S. Seong, C. Y. Yu, Y. S. Kwon, and M. J. Kim (2011) Isolation of flavonol glycoside related to antioxidant activity from hippophae rhamnoides leaves. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 19: 251-256.
 20. Yahagi, Tadahiro., Akihiro Daikonya, and Susumu Kitanaka (2012) Flavonol acylglycoside from flower of *Albizia julibrissin* and their inhibitory effects on lipid accumulation in 3T3-L1 cells. *Chem. Pharm. Bull.* 60: 129-136.
 21. Kim, M. J., I. J. Kim, S. Y. Nam, C. H. Lee, T. Yun, and B. H. Song (2006) Effects of drying methods on contents of active components, antioxidant activity and color values of *Saururus chinensis* Baill. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* 14: 8-13.
 22. Choi, M. J., H. K. Jung, Y. S. Jeong, S. C. Park, and J. H. Hong (2010) Anti-allergic activities of fermented *Eriobotrya japonica* and *Saururus chinensis* extracts in 2,4-dinitrochlorobenzene-induced BALB/c mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1611-1618.
 23. Rosen, E. D. (2005) The transcriptional basis of adipocyte development. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 73: 31-34.
 24. Evans, R. M., G. D. Barish, and Y. X. Wang (2004) PPARs and the complex journey to obesity. *Nat. Med.* 10: 355-361.