

동과자 에탄올 추출물이 비알코올성 지방간 세포 모델에 미치는 효과

최준용¹, 김소연¹, 권민정², 김군하², 주명수², 한창우¹

¹부산대학교 한의학전문대학원 내과학교실, ²부산대학교 한의학전문대학원 응용의학부

Effects of Ethanol Extract of Benincasa Seeds on the Experimental Cellular Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease

Jun-young Choi¹, So-yeon Kim¹, Min-jung Kwun², Kyun-ha Kim², Myung-soo Joo², Chang-woo Han¹

¹Dept. of Internal Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University,

²Division of Applied Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University

ABSTRACT

Objectives : In this study, we investigated the effect and the underlying mechanism of ethanol extract of Benincasa seeds on a cellular model of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) established by treating HepG2 cells with palmitate.

Methods : We evaluated ethanol extract of Benincasa seeds (EEBS) for its hepatic lipid-lowering potential in fatty acid overloaded HepG2 cells. After incubation in palmitate containing media with or without EEBS, intracellular neutral lipid accumulations were quantified by Nile red staining. We also investigated the effect of EEBS on lipogenesis and β -oxidation. LXR α -dependent SREBP-1c activation, expression of lipogenic genes, and expression of β -oxidation related genes were determined with or without pretreatment of EEBS.

Results : EEBS significantly attenuated palmitate-induced intracellular neutral lipid accumulation in HepG2 cells. EEBS suppressed fatty acid synthesis by inhibiting LXR α -dependent SREBP-1c activation. EEBS also repressed SREBP-1c mediated induction of lipogenic genes, including ACC, FAS, and SCD-1. However, EEBS had no effect on β -oxidation related CPT-1 and PPAR α gene expression.

Conclusions : Our results suggest that EEBS has an efficacy to decrease hepatic lipid accumulation, and this effect was mediated by inhibiting the LXR α -SREBP-1c pathway that leads to expression of lipogenic genes and hepatic steatosis. Therefore, the Benincasa seeds may have a potential clinical application for treatment of this chronic liver disease.

Key words : Benincasa seed, NAFLD, LXR α , SREBP-1c

1. 서 론

비알코올성 지방간 질환(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 내장지방증가, 당뇨, 고혈압 및

고지혈증 등을 포함하는 대사성 증후군의 일부로 간세포 내 중성지방의 미만성 침윤이 발생한 경우를 말하며, 알코올성 간질환과 유사한 조직학적 손상 패턴을 나타낸다¹. 최근 대사성 질환의 유병률 증가와 함께, 만성 간질환에서 그 비중이 점차 증가하는 것으로 보고되고 있는데², 비교적 가벼운 경우에는 단순 지방간(steatosis) 소견만을 나타내 기도 하지만, 염증을 동반하는 지방간염(steatohepatitis)

· 교신저자: 한창우 경남 양산시 물금읍 부산대학로 49
부산대학교 한의학전문대학원
TEL: 055-360-5957 FAX: 051-510-8420
E-mail: yeast10@hanmail.net

으로 나타날 수 있으며, 염증이 장기간에 걸쳐 유지되거나 반복될 경우에는 섬유화(fibrosis) 및 간경변증(cirrhosis)으로 진행할 수도 있다³.

증가하는 유병률과 비가역적 조직 손상을 유발할 수 있다는 사실을 인지함에 따라 근래에는 비알코올성 지방간 질환의 기전 연구와 치료약 개발을 위한 노력이 활발히 이루어지고 있으나, 여전히 효과적인 표준 치료법은 제시되지 못하고 있으며, 이에 따라 한의계에서도 비알코올성 지방간질환 치료제 개발을 위한 연구가 다양하게 진행되고 있다⁴⁻⁷.

동과자(冬瓜子)는 박과(Cucurbitaceae) 동과 *Benincasa hispida* Cogniaux의 씨를 말하며⁸, 동과는 한국을 비롯한 태국, 인도, 몽고, 일본 등의 주변 아열대 지역에 널리 분포한다⁹. 전통한의학에서 동과는 《本經》에서부터 그 기록이 나타나는데, 《東醫寶鑑》에는 “너무 비만하여 몸을 여위고 가볍게 하면서 건강하고 싶을 때는 동과를 장기간 복용할 수 있다”는 기록이 있으며¹⁰, 최근 연구에서도 비만¹¹, 고혈압¹², 당뇨¹³ 및 고혈당에 의한 혈관 손상¹⁴ 등에 효능이 밝혀졌다.

이에 저자는 이러한 문헌기록과 현대연구들을 바탕으로 동과자가 지방간에도 효능이 있을 것으로 추정하였다. 이러한 가설을 확인하기 위하여 HepG2 cell에 palmitate를 처리하여 유도한 지방간 질환 세포 모델에 동과자 에탄올 추출물이 미치는 영향을 관찰하고, 동과자의 anti-lipogenic effect의 기전을 이해하기 위해, 동과자 에탄올 추출물이 lipogenesis에 관여하는 LXR α , SREBP-1c, ACC, FAS, SCD-1 과 β -oxidation에 관여하는 CPT-1, PPAR α 에 미치는 영향을 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 재료와 방법

1. 동과자 에탄올 추출물 조제

실험에 사용된 동과자는 대한약전외한약(생약)

규격집에 근거하여 (주)옴니허브로부터 구매한 것을 사용하였다. 동과자 200 g을 정량하여 체분기로 분쇄하였다. 용매로 에탄올 600 ml을 가하여 60 °C에서 8시간 추출한 후 여과하였다. 여과한 잔사에 다시 에탄올 600 ml을 가하여 동일한 추출의 과정을 거쳐 여과한 다음, 처음 얻은 여과액과 함께 감압 농축하고 동결건조하여 5 g의 동과자 에탄올 추출물을 얻었다(수율 2.5%).

2. 재 료

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), Palmitate, Nile Red, T0901317 은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. SREBP-1 antibody(SC8984), Lamin A/C antibody(SC7293), CPT-1 antibody(SC98834), PPAR α (SC9000), β -Actin(SC47778) 및 horseradish peroxidase (HRP)-conjugated goat anti-rabbit IgG(SC2004)는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였다.

3. 세포 배양

Human hepatocellular carcinoma 세포주인 HepG2 cell을 American Type Culture Collection(Manassas, VA, USA)로부터 구입하였다. 100 U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin 및 10% heat-inactivated fetal bovine serum을 포함한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)을 이용하여, 37 °C, 5% CO₂ 환경에서 배양하였다.

4. 세포 활성도의 측정

MTT assay를 통해 세포 활성도를 측정하였다. 96-well plate에 10⁴ cells/well의 밀도로 HepG2 Cell을 seeding하였다. 하룻밤 경과 후, 준비된 동과자 에탄올 추출물(10, 50, 100, 500, 1000 μ g/ml)을 투약하고 24시간 배양하였다. 각 well에 MTT (final concentration, 500 μ g/ml)를 처리하고 4시간 뒤 medium을 제거하였다. 활성이 있는 세포들이 MTT

동과자 에탄올 추출물이 비알코올성 지방간 세포 모델에 미치는 효과

를 환원하여 생성한 formazan crystal을 DMSO를 사용하여 용해하였고, background subtraction을 630 nm로 하고 570 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

5. 지방산 처리

Palmitate를 isopropanol에 50 mM 농도가 되도록 녹였다. 최종 투약 농도는 0.5 mM, 용매에 대하여 1% 농도였다. 배양액은 1% bovine serum albumin을 함유한 DMEM을 사용하였다.

6. Nile Red 염색으로 지방량 측정

동과자 에탄올 추출물과 함께 또는 0.5 mM palmitate만으로 24시간 처리된 HepG2 세포들을 상온에서 15분간 4% paraformaldehyde로 고정하였다. PBS로 세척 후, 상온에서 5분간 Nile Red(100 ng/ml)를 처리하여 세포 내 중성 지방을 염색하였다. Olympus FV-1000 confocal laser scanning microscope (Tokyo, Japan)를 이용하여 촬영하고, Image J 1.46 software를 이용하여 형광을 정량화하였다.

7. Western blot 분석

Total cell lysate는 protease inhibitor Cocktail(Roche, Indianapolis, IN, USA)를 포함한 radioimmunoprecipitation assay(RIPA) buffer(50 mM Tris-HCl(pH 8.0), 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1% sodium orthovanadate, 1% Triton X-100, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS)를 사용하여 추출하였다. Nuclear protein은 NE-PER™ nuclear extraction kit(Thermo Scientific, IL, USA)를 이용하여 추출하였다. Bradford assay로 정량 후 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)로 전개하고 Polyvinylidene fluoride(PVDF) membrane에 transfer하였다. 5% skim milk가 들어 있는 Tris-buffered saline(TBS)로 상온에서 1시간 동안 blocking하였다. 각각의 specific primary antibody와 4 °C에서 하루밤 동안 반응시킨 다음 horseradish peroxidase(HRP)가 결합되어 있는 2차 항체와 상온에서 1시간 동안 반응

시켰다. SuperSignal® chemiluminescence detection kit(Thermo Scientific, IL, USA)를 이용하여 band를 검출하였으며, lamin A/C band를 control로 사용하였다.

8. RNA 추출과 semi-quantitative RT-PCR

Lipogenesis 관련 유전자들의 발현을 semi-quantitative RT-PCR을 이용하여 확인하였다. RNeasy Mini Kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 total RNA를 추출하고, M-MLV Reverse Transcriptase (Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 추출된 total RNA를 역전사하여 cDNA를 합성하였다. TaqPCRx DNA Polymerase(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)와 각각의 primer(Bioneer)를 사용하여 합성된 cDNA를 증폭하였으며, 각각의 primer는 아래와 같다. 증폭된 DNA는 1.2% agarose gel에 전기영동하고 ethidium bromide으로 염색 후 자외선으로 band를 확인하였으며, GAPDH를 control로 사용하였다.

hLXRα :

5'-ACAACCTGGGCATGATCGAGA-3'

5'-AAGCCGGGTAGCTGTTTTAGC-3'

hSREBP-1c :

5'-CAGTGGAGGGAACACAGACG-3'

5'-AAAGACTGGGCTGTCAGGCT-3'

hACC :

5'-GGAACAGTGTGCGGTGAAAC-3'

5'-TCACTAGTGATCCGAGCAGC-3'

hFAS :

5'-GACATCGTCCATTCGTTTGTG-3'

5'-GTTGACATTGTAICTCGGCGG-3'

hSCD-1 :

5'-GCCCCCTCTACTTGAAGACG-3'

5'-CGAGCTTTGTAAAGCGGTG-3'

hGAPDH :

5'-AAGGGTCATCATCTCTGCC-3'

5'-GTGATGGCATGGACTGTGGT-3'

9. 통계 분석

통계에는 PASW Statistics Data Editor v18 Korean(SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 프로그램을 사용하였다. 모든 측정값은 평균(mean) ± 표준오차(SEM)으로 표시하였다. One-way analysis of variance(ANOVA) test 로 그룹 간 비교를 시행하였고, 사후분석은 Turkey test를 사용하였다. 모든 검정에서 $P < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판단하였다.

III. 결 과

1. 동과자 에탄올 추출물이 HepG2 cell의 활성도에 미치는 영향

동과자 에탄올 추출물이 세포 독성을 유발하지 않는 한계 농도를 확인하기 위해 MTT assay를 시행하였다. 동과자 에탄올 추출물을 10 µg/ml 에서 1000 µg/ml 사이의 여러 농도로 투약하고 24시간 배양한 다음 MTT assay로 HepG2 cell의 활성도를 측정하였다. 동과자 에탄올 추출물은 측정 최고 용량인 1000 µg/ml 까지는 HepG2 cell의 활성도를 저하시키지 않았다(Fig. 1). 이 결과로 동과자 에탄올 추출물이 1000 µg/ml 이하의 농도에서는 HepG2 cell에 세포 독성을 유발하지 않음을 확인하였으며, 세포 독성을 일으키는 한계 농도를 확인하지는 못하였으나 동과자의 안전 범위가 매우 넓은 것으로 추정할 수 있었다.

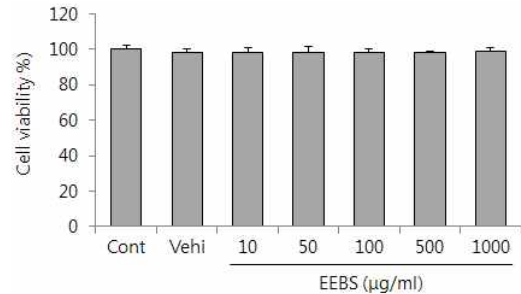


Fig. 1. Effect of EEBS on cell viability.

To evaluate cytotoxic effect of EEBS on HepG2 cells, an MTT assay was conducted. The cells were treated with various concentration of EEBS for 24h prior to MTT assay. Data are presented as the mean±SEM (n=4).

2. 동과자 에탄올 추출물이 palmitate에 의해 유발된 HepG2 cell의 steatosis에 미치는 영향

동과자 에탄올 추출물이 간세포 내 지방 축적을 감소시키는지 확인하기 위해 palmitate를 처리하여 유발한 비알코올지방간 세포 모델에 동과자 에탄올 추출물을 처리하였다. HepG2 cell에 지방증을 유발시키기 위해 1% bovine serum albumin을 포함한 배지에서 0.5 mM palmitate를 첨가하여 24시간 배양하였다. Palmitate에 의해 세포 내 지방 축적이 증가한 것을 Nile Red staining을 통해 확인할 수 있었으며, Palmitate에 의해 발생한 세포 내 지방 축적은 동과자 에탄올 추출물 300 µg/ml이 함께 투여된 경우 통계적으로 유의하게 감소하였다(Fig. 2). 이 결과로 동과자 에탄올 추출물이 세포 내 지방 축적을 주요 특징으로 하는 실제 비알코올성 지방간질환에서도 지방증을 감소시키는 효과가 있을 것으로 추정할 수 있었다.

동과자 에탄올 추출물이 비알코올성 지방간 세포 모델에 미치는 효과

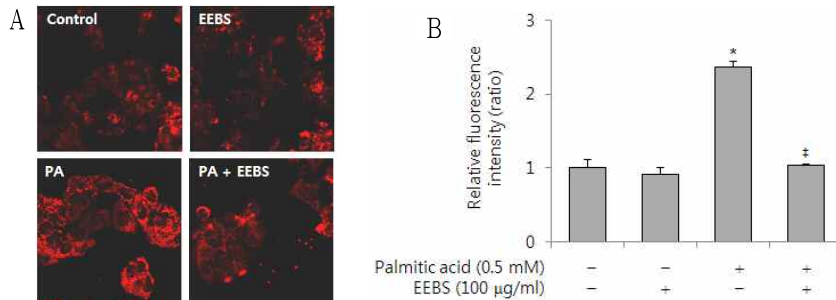


Fig. 2. Effects of EEBS on intracellular lipid accumulation in HepG2 cells.

HepG2 cells were treated with palmitate and/or EEBS for 24h. After incubation, the cells were stained with Nile red. (A) Intracellular lipid droplets were viewed by fluorescence microscopy (original magnification $\times 400$). (B) Cellular steatosis was quantified for each condition using four random low power fields of view. The fluorescence intensity was expressed as the means \pm SEM (n=4). * $P < 0.01$, compared to untreated cells; † $P < 0.01$, compared to palmitate treated cells.

3. 동과자 에탄올 추출물이 LXR α -SREBP-1c pathway에 미치는 영향

동과자 에탄올 추출물이 세포 내 지방 축적을 감소시키는 기전을 확인하기 위하여, lipogenesis를 유발하는 주요 신호 체계인 LXR α -SREBP-1c pathway에 동과자 에탄올 추출물이 미치는 영향을 조사하였다. HepG2 cell에 LXR α agonist인 T0901317 10 μ M을 처리하여 24시간 배양하였다. T0901317에 의해 LXR α mRNA 발현이 증가되는 것을 확인하였으며, 동과자 에탄올 추출물을 함께 투여할 경우

LXR α mRNA 발현 증가가 억제되었다(Fig. 3A). SREBP-1c는 간세포 lipogenesis의 핵심적 조절인자로서 LXR α 에 의해 발현이 증가한다. 본 실험에서도 HepG2 cell에 T0901317 10 μ M을 24시간 처리한 경우 LXR α mRNA의 증가와 함께, SREBP-1c mRNA와 SREBP-1c protein의 발현도 증가하는 것이 확인되었다. T0901317에 의해 증가한 SREBP-1c mRNA 및 protein level 또한 동과자 에탄올 추출물이 함께 투여된 경우 통계적으로 유의하게 감소하였다(Fig. 3B).

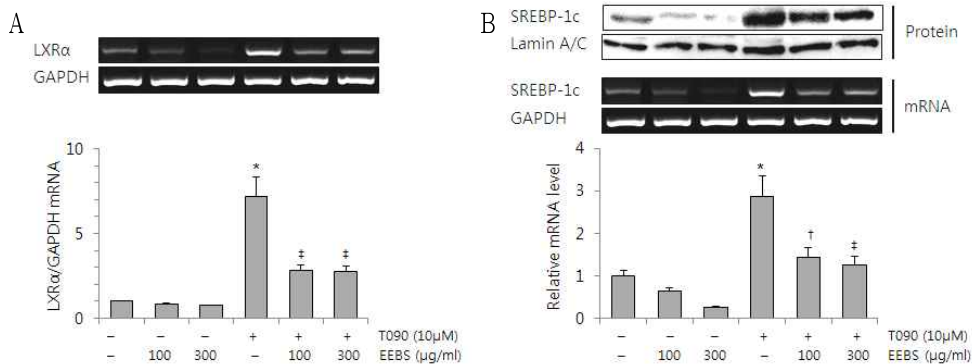


Fig. 3. Effect of EEBS on LXR α -SREBP-1c pathway in HepG2 cells.

The effect of EEBS on the expression level of LXR α (A) by PCR, and SREBP-1c (B) by Western blot analysis and PCR. The intensity of each PCR band was measured by densitometric analysis (ImageJ), and relative expression of each gene was calculated over GAPDH. Data are presented as the mean \pm SEM (n=4). * $P < 0.01$, compared to untreated cells; † $P < 0.05$, ‡ $P < 0.01$, compared to palmitate treated cells.

4. 동과자 에탄올 추출물이 ACC, FAS, SCD-1에 미치는 영향

다음으로 SREBP-1c의 타겟 효소들로서 Fatty acid 합성에 관여하는 ACC, FAS, SCD-1에 동과자 에탄올 추출물이 미치는 영향을 조사하였다.

T0901317 10 μ M 24시간 처리에 의해 ACC, FAS, SCD-1 mRNA level 또한 증가하였으며, LXR agonist에 의한 lipogenic genes의 발현 증가 역시 동과자 에탄올 추출물을 함께 투여할 경우 통계적으로 유의하게 감소하였다(Fig. 4).

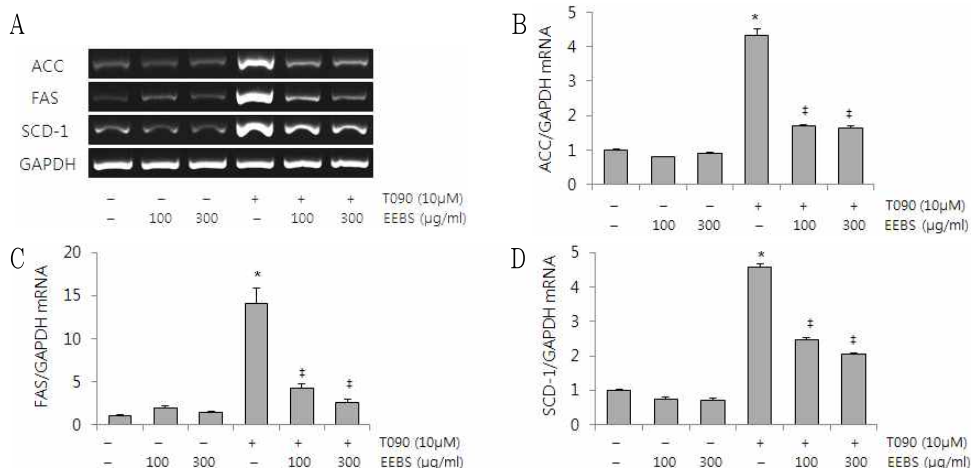


Fig. 4. Effect of EEBS on expression of lipogenic genes in HepG2 cells.

Expression of lipogenic genes were determined by semi-quantitative RT-PCR (A), and relative mRNA levels of ACC (B), FAS (C), SCD-1 (D) was represented on each bar graph. Data are presented as the mean \pm SEM (n=4). * P <0.01, compared to untreated cells; # P <0.01, compared to palmitate treated cells.

5. 동과자 에탄올 추출물이 CPT-1, PPAR α 에 미치는 영향

동과자 에탄올 추출물이 β -oxidation에 미치는 영향을 관찰하기 위해 HepG2 cell에 동과자 에탄올 추출물을 투여하고 PPAR- α , CPT-1의 변화를 관찰하였다. 농도와 시간을 달리하는 여러 차례의 반복 실험에서도 동과자 에탄올 추출물은 PPAR α , CPT-1의 발현에 영향을 미치지 않았다(Fig. 5). 따라서, 동과자 에탄올 추출물이 비알코올성 지방간을 완화시키는 기전이 β -oxidation을 증가시키는 방법을 통해 일어날 가능성은 비교적 낮은 것으로 추정되었다.

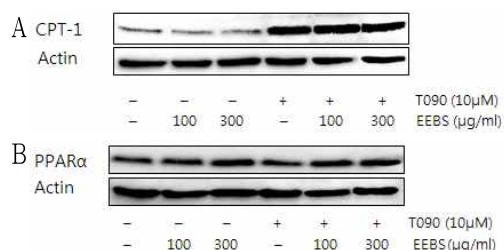


Fig. 5. Effect of EEBS on expression of β -oxidation related genes in HepG2 cells.

To know whether or not EEBS increases fatty acid β -oxidation, protein level of CPT-1 (A) and PPAR α (B) were measured by Western blot analysis. As seen in above figures, EEBS had no effect on the two β -oxidation related genes expression.

IV. 고찰 및 결론

비알코올성 지방간 질환(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 단순지방증 또는 지방간염으로부터 간섬유화 및 간경변증에 이르는 다양한 임상상을 포함하는 간질환으로, 전세계적인 비만 인구의 증가에 따라 비알코올성 지방간 질환의 유병률도 점점 증가하고 있다¹. 근래 국내 유병률은 일반성인의 18% 정도까지 보고되고 있으나, 서구화되는 식습관과 생활양식의 변화에 따른 운동부족 등으로 인해 국내 유병률도 점점 증가하여, 향후에는 비알코올성 지방간 질환이 만성 간질환의 중요한 원인으로 자리 잡을 것으로 생각된다¹⁵.

인슐린 저항성(insulin resistance)은 비알코올성 지방간 질환의 초기에서부터 관찰되어지는 주요한 병리 기전이다¹⁶. 인슐린 저항이 유발되면 지방조직에서는 hormone-sensitive lipase(HSL)의 활성이 증가하여 중성지방이 분해됨으로써 혈 중 유리 지방산(free fatty acid, FFA)의 농도가 증가하게 되며¹⁷, 이에 비례하여 간으로의 유리 지방산 유입이 증가하게 된다¹⁸. 인슐린 저항이 유발되어 혈중 인슐린 농도가 증가하면 간 내에서도 lipogenic gene들의 발현이 촉진되어 지방산의 합성이 증가하게 된다¹⁹. 간으로 유입되거나 간 내에서 합성된 지방산은 미토콘드리아에서 산화 과정을 통해 ATP를 생산하는데 이용되거나, 에스테르화 과정을 통해 중성지방(triglyceride)으로 변환되어진 후, 간 내에 저장되거나 very low density lipoprotein(VLDL)에 포함되어 혈중으로 이동하게 된다²⁰. 따라서, 간으로의 지방산 유입 또는 간 내의 지방산 합성이 증가하거나, 혈중으로의 이동이나 산화 과정이 억제되는 경우 지방간증(hepatic steatosis)이 발생하게 된다고 볼 수 있다²¹.

동과자(冬瓜子)는 박과(Cucurbitaceae) 동과 *Benincasa hispida* Cogniaux의 씨를 말한다⁸. 전통 한의학에서는 淸肺化痰, 利水消腫, 排膿 효능이 있어, 肺熱咳嗽, 水腫, 肺癰, 腸癰 등에 주로 사용해

왔으며⁸, 《東醫寶鑑》에 “너무 비만하여 몸을 여위고 가볍게 하면서 건강하고 싶을 때는 동과를 장기간 복용할 수 있다”는 기록이 있어 비만을 치료하는데에도 사용되어졌음을 알 수 있다¹⁰. 최근 연구에서는 항산화 작용²², 항노화작용²³, 소염진통 효과²⁴ 등이 밝혀졌으며, 위산저하증²⁵, 위궤양^{26,27}, 우울증^{28,29} 등의 질환에 효과가 있고, 대사증후군에 포함되는 비만¹¹, 고혈압¹², 당뇨¹³, 고혈당에 의한 혈관 손상¹⁴ 등에도 효과가 있는 것으로 밝혀졌다.

본 연구에서는 이러한 문헌기록과 현대연구들을 바탕으로 동과가 지방간에도 효능이 있을 것으로 추정하였고, 이러한 가설을 확인하기 위하여 HepG2 cell에 palmitate를 처리하여 유도한 지방간질환 세포 모델을 이용하였다. 동과자 에탄올 추출물이 간 세포 내 지방 축적을 감소시키는지 확인하기 위해 palmitate와 함께 동과자 에탄올 추출물을 처리하고, Nile Red staining을 통해 세포 내 축적된 지방을 관찰한 결과 동과자 에탄올 추출물을 동시에 투여한 경우 지방 축적 정도가 통계적으로 유의하게 감소하는 것을 확인하였다. 다음으로 동과자 에탄올 추출물이 세포 내 지방 축적을 감소시키는 기전을 확인하기 위하여, 동과자 에탄올 추출물이 fatty acid synthesis와 β -oxidation 관련 유전자들에 대해 미치는 영향을 조사하였다. LXRA는 nuclear hormone receptor의 하나로 lipid homeostasis에 관여하는 주요 조절 인자이다³⁰. LXRA는 인슐린에 반응하여 lipogenesis를 유발하며, SREBP-1c는 LXRA의 주요 타겟 유전자로서, SREBP-1c가 작용하면 ACC, FAS, SCD-1과 같은 지방산 합성 관련 유전자들의 발현을 증가하게 된다³¹. 본 실험에서는 LXRA agonist인 T0901317을 처리하여 LXRA, SREBP-1c, ACC, FAS 및 SCD-1의 발현을 증가시켰으며, 동과자 에탄올 추출물을 함께 투여할 경우 이들 유전자의 발현이 모두 감소하는 것을 확인하였다. 한편 동과자 에탄올 추출물이 β -oxidation에 미치는 영향을 관찰하기 위해 HepG2 cell에 동과자 에탄올 추출물을 투여하고 β -oxidation에 관여하는 것

으로 알려진 PPAR- α ^{32,33}와 CPT-1³⁴의 변화도 확인하였다. 그러나 농도와 시간을 달리하는 여러 차례의 반복 실험에서도 동과자 에탄올 추출물은 PPAR α 와 CPT-1의 발현에는 영향을 미치지 않았다.

이상의 결과를 요약하면 동과자 에탄올 추출물은 비알코올성 지방간 실험 모델에 있어서 유의한 지방증 완화 작용이 있는 것으로 판단되며, 이러한 반응이 LXR α -SREBP-1c signal pathway를 통해 lipogenic enzyme들이 발현되는 과정을 억제함으로써 나타난다는 것을 알게 되었다. 이러한 결과는 한의학에서의 동과자 사용에 대한 현대의학적 근거가 될 수 있으며, 향후 추가적인 연구가 진행된다면 비알코올성 지방간질환의 새로운 치료제로도 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(2011-0014035)

참고문헌

- Smith BW, Adams LA. Non-alcoholic fatty liver disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2011;48(3):97-113.
- Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999;107(5):450-5.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002;346(16):1221-31.
- Sung TS, Son GM. Effect of Cnidi rhizoma boiling extract solution on enzyme and hormone of plasma, and liver in the fatted rats induced by high fat dietary. *Korean J Food & Nutrition* 1994;7(2):108-13.
- Yun KS, Woo HJ, Lee JH, Kim YC. Effect of Injinchunggan-tang & Injinsaryung-san on NASH induced by MCD-diet in A/J mice. *Korean J Orient Int Med* 2009;30(2):410-21.
- Choi MY, Woo HJ, Kim YC, Lee JH. Effects of gamisaenggan-tang on high fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J Orient Int Med* 2009;30(2):365-74.
- Yoo JY, Lee JH. Effects of Saenggantangami-bang on nonalcoholic fatty liver disease model induced by fatty acids. *Korean J Orient Int Med* 2010;31(2):143-57.
- Wu JN. An illustrated Chinese materia medica. New York: Oxford University Press; 2005. p. 134.
- Nakashima M, Shigekuni Y, Obi T, Shiraishi M, Miyamoto A, Yamasaki H, et al. Nitric oxide-dependent hypotensive effects of wax gourd juice. *J Ethnopharmacol* 2011;138(2):404-7.
- Huh J. Donguibogam. Seoul: Beobin Press; 1999, p. 745.
- Wang W, Wang WX, Sun BH, Zhao DZ, Gao P. Effect of haidonghua powder(HDHP) on hypothalamic obesity in rats. *Zhongguo Zhong yao za zhi* 2000;25(8):490-2.
- Huang HY, Huang JJ, Tso TK, Tsai YC, Chang CK. Antioxidant and angiotension-converting enzyme inhibition capacities of various parts of Benincasa hispida (wax gourd). *Die Nahrung* 2004;48(3):230-3.
- Patil RN, Patil RY, Ahirwar B, Ahirwar D. Evaluation of antidiabetic and related actions of some Indian medicinal plants in diabetic rats. *Asian Pac J Trop Med* 2011;4(1):20-3.
- Moon MK, Kang DG, Lee YJ, Kim JS, Lee HS. Effect of Benincasa hispida Cogniaux on

- high glucose-induced vascular inflammation of human umbilical vein endothelial cells. *Vascul Pharmacol* 2009;50(3-4):116-22.
15. Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21(1 Pt 1):138-43.
 16. Marra F, Gastaldelli A, Svegliati Baroni G, Tell G, Tiribelli C. Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Trends Mol Med* 2008;14(2):72-81.
 17. Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002;23(2):201-29.
 18. Wahren J, Sato Y, Ostman J, Hagenfeldt L, Felig P. Turnover and splanchnic metabolism of free fatty acids and ketones in insulin-dependent diabetics at rest and in response to exercise. *J Clin Invest* 1984;73(5):1367-76.
 19. Chen G, Liang G, Ou J, Goldstein JL, Brown MS. Central role for liver X receptor in insulin-mediated activation of Srebp-1c transcription and stimulation of fatty acid synthesis in liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(31):11245-50.
 20. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004;114(2):147-52.
 21. Pettinelli P, Obregon AM, Videla LA. Molecular mechanisms of steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Hosp* 2011;26(3):441-50.
 22. Bimakr M, Rahman RA, Taip FS, Adzahan NM, Sarker MZ, Ganjloo A. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Crude Oil from Winter Melon(Benincasa hispida) Seed Using Response Surface Methodology and Evaluation of Its Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Fatty Acid Composition. *Molecules* 2012;17(10):11748-62.
 23. Sabale V, Kunjwani H, Sabale P. Formulation and in vitro evaluation of the topical antiageing preparation of the fruit of Benincasa hispida. *J Ayurveda Integr Med* 2011;2(3):124-8.
 24. Qadrie ZL, Hawisa NT, Khan MW, Samuel M, Anandan R. Antinociceptive and anti-pyretic activity of Benincasa hispida (thumb.) cogn. in Wistar albino rats. *Pak J Pharm Sci* 2009; 22(3):287-90.
 25. Mandal U, De D, Ali KM, Biswas A, Ghosh D. Effect of different solvent extracts of Benincasa hispida T. on experimental hypochlorhydria in rat. *J Adv Pharm Technol Res* 2012;3(1):41-6.
 26. Grover JK, Adiga G, Vats V, Rathi SS. Extracts of Benincasa hispida prevent development of experimental ulcers. *J Ethnopharmacol* 2001; 78(2-3):159-64.
 27. Rachchh MA, Jain SM. Gastroprotective effect of Benincasa hispida fruit extract. *Indian J Pharmacol* 2008;40(6):271-5.
 28. Chandre R, Upadhyay BN, Murthy KH. Clinical evaluation of Kushmanda Ghrita in the management of depressive illness. *Ayu* 2011; 32(2):230-3.
 29. Dhingra D, Joshi P. Antidepressant-like activity of Benincasa hispida fruits in mice: Possible involvement of monoaminergic and GABAergic systems. *J Pharmacol Pharmacother* 2012;3(1):60-2.
 30. Laffitte BA, Chao LC, Li J, Walczak R, Hummasti S, Joseph SB, et al. Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proc Natl Acad*

- Sci U S A* 2003;100(9):5419-24.
31. Repa JJ, Liang G, Ou J, Bashmakov Y, Lobaccaro JM, Shimomura I, et al. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta. *Genes Dev* 2000;14(22):2819-30.
 32. Lee CH, Olson P, Evans RM. Minireview: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Endocrinology* 2003;144(6):2201-7.
 33. Kersten S, Seydoux J, Peters JM, Gonzalez FJ, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. *J Clin Invest* 1999;103(11):1489-98.
 34. McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51(1):7-18.