

Article

파래기모자반 추출물이 3T3-L1 지방세포 분화에 미치는 영향

공창숙¹ · 이정임² · 권명숙¹ · 서영완^{2,3*}

¹신라대학교 의생명과학대학 식품영양학과
(46958) 부산광역시 사상구 백양대로 700번길

²한국해양대학교 해양과학기술대학 해양생명과학부

³한국해양대학교 해양과학기술전문대학원 해양과학기술융합학과
(49112) 부산광역시 영도구 태종로 727

Inhibitory Effect of Crude Extracts from a Brown Alga
Sargassum siliquanstrum on 3T3-L1 Adipocyte Differentiation

Chang-Suk Kong¹, Jung Im Lee², Myeong Sook Kwon¹, and Youngwan Seo^{2,3*}

¹Department of Food and Nutrition, College of Medical and Life Sciences, Silla University
Busan 46958, Korea

²Division of Marine Bioscience, College of Ocean Science and Technology,
Korea Maritime and Ocean University

³Department of Convergence Study on the Ocean Science and Technology,
Ocean Science and Technology School, Korea Maritime and Ocean University
Busan 49112, Korea

Abstract : In this study, the potential capacity of the crude extract and its solvent fractions from *S. siliquanstrum* against adipocyte differentiation were evaluated in 3T3-L1 adipocytes. The anti-adipogenic effect of *S. siliquanstrum* was evidenced by the fact that its crude extract decreases the lipid accumulation of differentiating cells and the expression levels of crucial adipogenesis markers, peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ and CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) α . All solvent fractions except the water fraction showed an observable decrease in lipid accumulation and PPAR γ and C/EBP α expressions. In conclusion, these results suggest that *S. siliquanstrum* possesses obesity inhibiting components, which may possibly be used as a valuable anti-obesity agent for reducing the risk of obesity.

Key words : *Sargassum siliquanstrum*, adipogenic differentiation, 3T3-L1, antiobesity

1. 서 론

해양생물자원의 하나로 분류되는 해조류는 서식 위치에 따라 크게 녹조류, 갈조류, 홍조류의 3가지로 분류할 수

있다. 이 중 갈조류는 특히 카로티노이드 색소, 후코잔틴이 엽록소를 덮고 있어 특유의 갈색을 띠며, 광합성을 위한 엽록소뿐만 아니라 크산토페일을 함유하고 있어 수심 30 m의 깊은 물속에서도 성장이 가능하다. 갈조류는 해조류 중 가장 발달된 체계를 갖고 있으며 미네랄, 식이섬유, 리놀산, 비타민 등의 생리 활성 물질을 다량 함유하고 있

*Corresponding author. E-mail : ywseo@kmou.ac.kr

어 식품 소재로서 뿐만 아니라 의약품, 사료원료, 화장품 원료 등의 다양한 분야에 이용되고 있다(Ali et al. 2000; Lahaye and Kaeffer 1997; Dawczynski et al. 2007; Ruperez 2002; Sanchez-Machado et al. 2003). 갈조류에는 톳, 미역, 다시마, 감태, 대황, 모자반류 등이 여기에 속한다. 현재 우리나라에서 자생하는 약 28종의 모자반류 중에서 수산업에서 중요한 역할을 하는 것은 약 10종으로 주로 연안 동물들의 먹이로 사용되거나 식용 나물로 이용되고 있다. 그 외에도 비료나 해조분, 알긴산 등의 원료로 쓰이기도 한다(Kim et al. 2011).

본 연구에 사용된 파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*)은 모자반목 모자반과에 속하는 갈조류 중의 하나로 한국과 일본에 주로 분포하며, 우리나라에서는 동해안 중부이남에서부터 남해안 및 제주도 일대 등에 폭넓게 자생하고 있으며 식용보다는 주로 사료로 많이 이용되고 있다(Kim et al. 2008; Lee et al. 2008; Kang 1987). 파배기모자반의 생리활성에 관한 연구에서는 항균활성, 항산화활성, 세포독성억제활성, 간보호 활성 등이 있는 것으로 보고되고 있으나, 항비만 활성에 관한 연구는 보고되지 않았다(Cho et al. 2007; Lee et al. 2007; Numata et al. 1992; Park et al. 1997). 따라서 본 연구에서는 해조류를 이용한 항비만 활성 소재 개발 연구의 일환으로 파배기모자반의 용매 추출물 및 분획물을 제조하여 3T3-L1 지방전구세포 모델을 이용하여 지방세포 내에서의 중성지방생성 및 지방세포분화조절인자의 발현에 미치는 영향을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

실험재료

파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*) 시료는 2003년 7월 제주도 해역에서 직접 채취하여 세척 후 응달에서 자연 건조한 후 사용하기 전까지 -25°C 의 냉동고에 보관하였다.

시료의 추출 및 순차분획

냉동보관한 *S. siliquastrum* 시료를 해빙하여 세절한 후, acetone과 methylene chloride(1:1)의 혼합 용매를 사용하여 실온에서 24시간동안 추출한 후 여과하였다. 이 과정을 2번 반복하였으며, 얻어진 추출액은 40°C 수욕 상에서 진공농축기(EYELA JAPAN, N-N series)로 농축하여 acetone/methylene chloride(A+M) 조추출물을 얻었다(3.36 g). 여과하고 남은 잔사에 동량의 methanol(MeOH) 용매를 부어 위와 동일한 과정을 반복하여 MeOH 조추출물을 얻었다(131.13 g).

두 종류의 용매추출물을 합한 조추출물(57.25 g)은 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하고 각 용매 분획층을

감압 농축하여 *n*-hexane(7.24 g), 85% aq. MeOH(8.05 g), *n*-BuOH(3.02 g), H_2O (38.94 g) 분획층을 얻었다. 이 때 얻어진 조추출물과 용매 분획층은 dimethylsulfoxide(DMSO)로 희석하여 실험에 사용하였다.

3T3-L1 지방전구세포의 배양 및 지방세포로의 분화 유도

3T3-L1 preadipocytes(ATCC)는 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 100 unit/mL penicillin, 100 ng/mL streptomycin이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Corning, Manassas, VA, USA)으로 37°C , 5% CO_2 조건에서 배양하였다.

배양된 세포는 6.0×10^3 cell/mL이 되도록 6 well plate에 분주하여 배양하였으며, 세포가 confluent해졌을 때 $5 \mu\text{g/ml}$ insulin, $0.25 \mu\text{M}$ dexamethazone, 0.5 mM IBMX의 분화유도물질(MDI: Methylisobutylxanthine, Dexamethasone, Insulin의 첫글자)이 함유된 DMEM으로 배양하여 48시간 분화를 유도하였다. 그 후 10% FBS와 $5 \mu\text{g/ml}$ insulin만이 함유된 DMEM과 시료를 2일 간격으로 교체하면서 분화를 유도하였으며, 6일 동안 분화를 유도한 후 세포 조직과 배양액을 각각 모아 실험에 사용하였다.

Oil-Red O 염색

3T3-L1 지방전구세포의 지방세포로의 분화능은 Oil-Red O 염색으로 확인하였다. 배양된 세포를 phosphate buffered saline(PBS)로 세척하고 10% formalin으로 10분간 고정된 다음 PBS로 세척 후 Oil-Red O를 처리하여 실온에서 1시간 염색하였다. 염색 후 염색액을 제거하고 다시 PBS로 세척하여 세포내 지방구 생성 정도를 현미경으로 관찰하였다.

Triglyceride 농도 측정

TG 측정은 Green and Kehinde의 방법을 이용하였다(Green and Kehinde 1974). Trypsin-EDTA 처리로 세포를 분리한 다음 원심분리(12,000 rpm, 3 min, 4°C)하여 상층액을 제거하였다. Pellet에 homogenizing buffer(KCl 154 mM, Tris 50 mM, EDTA 1 mM)의 비율로 만들어진 triglyceride extraction solution으로 세포 내 triglyceride를 추출하였다. Triglyceride의 농도는 TRIGLYZYME-V "EiKen" kit (신양화학, Korea)를 사용하여 spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

Released glycerol 농도 측정

분화유도된 세포의 배양액을 이용하여 free glycerol 함량을 측정하였다. Glycerol 정량은 효소 반응법을 이용하여 free glycerol reagent(Sigma, USA)를 반응시켜 측정하였다. 37°C 로 pre-warmed된 free glycerol reagent 1 mL에

Table 1. Gene-specific primers used for the RT-PCR

Gene	Direction	Sequence
PPAR γ	Forward	5'-TTT TCA AGG GTG CCA GTT TC-3'
	Reverse	5'-AAT CCT TGG CCC TCT GAG AT-3'
C/EBP α	Forward	5'-TTA CAA CAG GCC AGG TTT CC-3'
	Reverse	5'-GGC TGG CGA CAT ACA GTA CA-3'
β -actin	Forward	5'-CCA CAG CTG AGA GGG AAA TC-3'
	Reverse	5'-AAG GAA GGC TGG AAA AGA GC-3'

collect한 배양액 10 μ L를 넣어 37°C에서 15분간 incubation 시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

상기와 동일한 조건에서 배양한 세포를 PBS로 세척하고 Trizol reagent (Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하고 정량하였다. 동량의 RNA(2 μ g)와 Oligo-dT(Sigma-Aldrich Co.)를 혼합하여 70°C에서 5분간 반응시켜 냉각한 다음, RT Buffer 5 μ L, M-MLV RT 1 μ L, 10 mM dNTP 5 μ L, DEPC water 1 μ L를 첨가하여 37°C에서 1시간 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA에 PCR Green buffer(5X) 5 μ L, DNA polymerase 0.125 μ L, 10 mM dNTP 0.5 μ L, DEPC water 17.375 μ L와 염증관련 primer를 첨가하였으며 internal control로는 β -actin을 사용하였다(Table 1). Thermal Cycle(Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, USA)을 이용하여 95°C에서 2분간 Denaturation, 95°C에서 30초간 Denaturation, 60°C에서 45초간 Annealing, 72°C에서 1분간 Extension 과정을 30번 반복함으로써 증폭시킨 후 마지막으로 72°C에서 5분간 Extension한 후에 4°C에서 종결하였다. 증폭된 PCR 산물들은 TAE buffer(Biosesang, Gyeonggi-do, Korea)를 전해질로 사용한 1.5% agarose gel에 loading하여 100 V에서 20분간 전기영동시킨 후, Ethidium bromide(EtBr, Amresco, Solon, OH, USA) 용액에서 30분 동안 반응시킨 다음 UV(Davinch-Chemi imagerTM, CAS-400SM, Seoul, Korea) 하에서 mRNA 발현을 확인하였다.

Western blot에 의한 단백질 발현 분석

상기와 동일한 조건에서 배양한 세포를 PBS로 세척하고 RIPA buffer(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 첨가하여 세포를 균질화하였다. 회수한 세포는 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취한 다음 BCA Protein Assay Kit(Thermo scientific, Meridian Rd., Rockford, USA)를 이용하여 단백질 농도를 정량하였다. 동일 양의

단백질(20 μ g)을 SDS-PAGE법을 통해 전기영동하여 분리한 후 nitrocellulose membrane에 transfer한 다음, 5% skim milk로 1시간 동안 blocking하고, 1차 항체(1:1,000)를 붙여 1시간 이상 반응시켰다. TBS-T buffer(Biosesang)로 세척한 후 2차 항체는 1:10,000 비율로 처리하여 상온에서 1시간 반응시켰다. TBS-T buffer로 세척하고 암실에서 detecting solution(AmershamTM ECLTM Western Blotting Detection Reagents, Buckinghamshire, UK)에 반응시킨 후, 이미지분석장치(Davinch-chemiTM Imager, CAS-400SM, Seoul, Korea)를 이용하여 단백질 발현 정도를 분석하였다.

통계처리

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 결과들의 유의성을 검정하기 위하여 분산분석(ANOVA)을 행한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였으며, 그 결과는 평균(Mean) \pm 표준편차(Standard deviation, SD)로 표시하였다. 모든 통계 분석은 Statistic Analysis System(v8.2 SAS Institute Inc., NC, USA) 통계프로그램을 이용하여 처리하였다.

3. 결과 및 고찰

조추출물의 Glycerol 분비 및 중성지방 생성에 미치는 영향

중성지방은 체내에서 세포의 중요한 에너지원으로 사용되지만 여분의 중성지방의 축적은 비만의 원인으로 작용하며 체내 여러 호르몬의 작용에 의해 중성지방의 생성이 촉진되거나 분해된다(Kong et al. 2011). 중성지방은 분해되면 지방산과 glycerol로 분해되므로 배지에 녹아있는 glycerol의 분비량과 세포 내에 축적되어 있는 중성지방함량을 측정하여 파배기모자반 유래 용매추출물이 지방전구 세포의 분화에 미치는 영향을 살펴보았다(Fig. 1). 파배기모자반을 A+M 및 MeOH를 이용하여 추출한 조추출물을 0.5 mg/mL 및 1 mg/mL의 농도로 처리하여 회수한 배양액으로부터는 세포 내에 분비된 glycerol 함량을 측정하였으며, 상층배양액을 제거하고 남은 세포를 이용하여 세포 내의 중성지방(triglyceride, TG) 함량을 측정하였다. MDI를 처리하지 않은 정상군에 비해 MDI를 처리한 대조군은 중성지방함량이 약 3배로 증가하였으나, MDI와 조추출물의 처리에 의해 유의적으로 감소하였다. MeOH 조추출물 처리군과 A+M 조추출물 처리군을 비교한 결과 중성지방생성억제 효과는 A+M 조추출물 처리군에서 높게 나타났다. Glycerol 분비량은 MDI를 처리한 대조군에 비해 조추출물 처리군에서 농도 의존적으로 증가시키는 경향을 보였으며, MeOH 조추출물 처리군에 비해

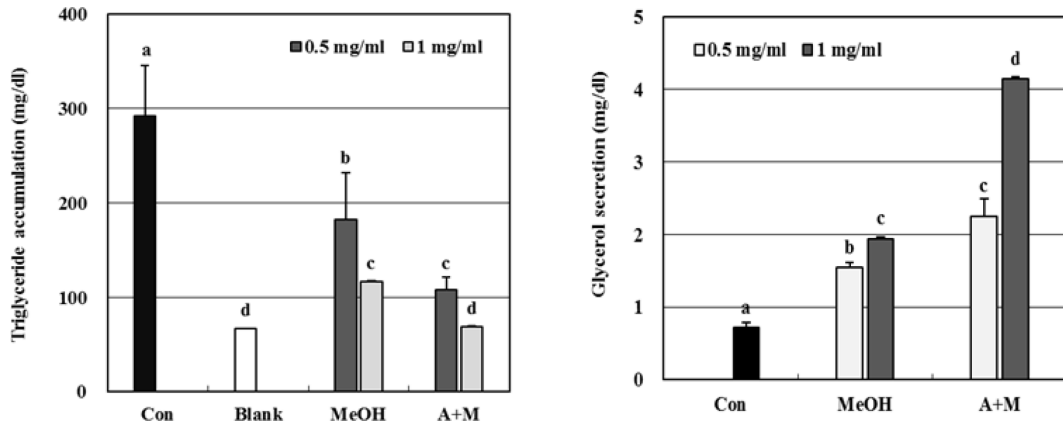


Fig. 1. Effect of crude extracts from *Sargassum siliquastrum* on lipid accumulation and lipolytic activity in 3T3-L1 adipocytes. Confluent 3T3-L1 preadipocytes were differentiated into adipocytes for 6 days. (A) The lipid accumulation was measured by triglyceride assay. (B) The lipolytic activity was determined by measuring glycerol levels secreted in medium. ^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test. Con, fully differentiated control adipocytes (+MDI: 0.5 mM methylisobutylxanthine, 0.25 μ M dexamethasone and 5 μ g/mL insulin). Blank, preadipocytes

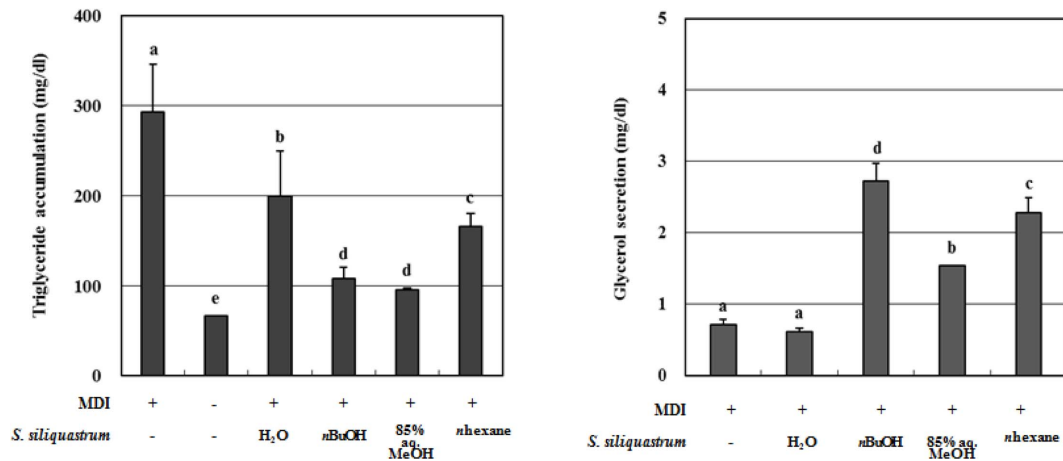


Fig. 2. Effect of the solvent fractions from *Sargassum siliquastrum* on lipid accumulation and lipolytic activity in 3T3-L1 adipocytes. Confluent 3T3-L1 preadipocytes were differentiated into adipocytes for 6 days. (A) The lipid accumulation was measured by triglyceride assay. (B) The lipolytic activity was determined by measuring glycerol levels secreted in medium. ^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test. Confluent differentiated control adipocytes (+MDI: 0.5 mM methylisobutylxanthine, 0.25 μ M dexamethasone and 5 μ g/mL insulin). Blank, preadipocytes

A+M 조추출물 처리군에서 glycerol 분비량이 유의적으로 증가하였다.

분획물의 Glycerol 분비 및 중성지방 생성에 미치는 영향

파배기모자반 유래 조추출물을 사용하여 극성순서에 따라 순차적으로 분획하여 얻은 n-hexane, 85% aq. MeOH, n-BuOH, H₂O 분획물의 지방세포내 glycerol 분비 및 중성지방 축적에 미치는 영향을 검토하였다(Fig. 2). 파배기모자반 조추출물로부터 얻어진 분획물을 0.5 mg/mL 농도

로 처리하여 회수한 배양액으로부터 세포 내에 분비된 glycerol 함량을 측정된 결과, 물층은 glycerol 분비에 전혀 영향을 미치지 않았으나 다른 분획물 처리군은 MDI를 처리한 대조군에 비해 glycerol 분비량이 유의적으로 증가하였다. 중성지방 생성억제효과는 MDI를 처리한 대조군과 비교한 결과 85% aq. MeOH, n-BuOH 및 n-hexane 층을 처리한 군에서 높게 나타났다.

또한 파배기모자반 조추출물로부터 얻어진 분획물이 분화과정 중 세포내 지방구의 형성에 미치는 영향을 Oil

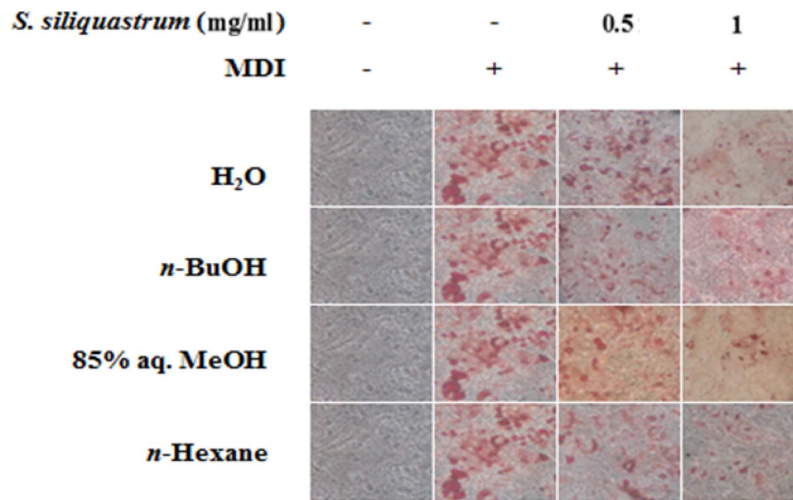


Fig. 3. Observation of lipid droplets stained with Oil-Red O staining in 3T3-L1 adipocytes treated with the solvent fractions from *S. siliquastrum*

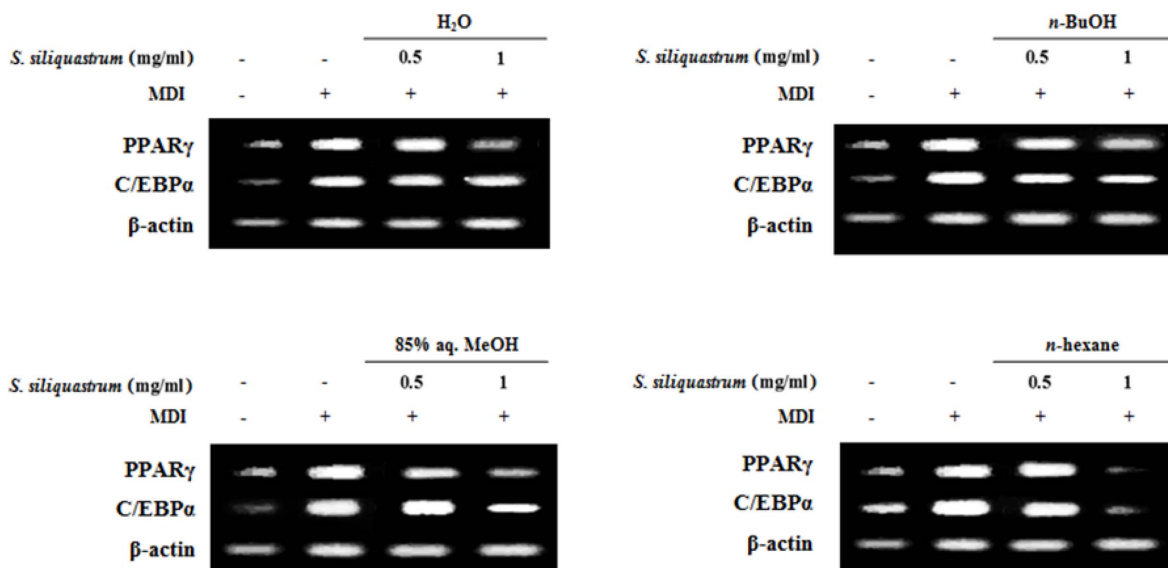


Fig. 4. Effect of the solvent fractions from *S. siliquastrum* on PPAR γ and C/EBP α gene expressions in 3T3-L1 adipocytes. The expression levels of adipogenic transcription factor PPAR γ and C/EBP α were determined by RT-PCR analysis

Red O 염색법으로 확인하였다(Fig. 3). 중성지방 함량 측정의 결과에서와 같이 대조군에 비해 분획물의 처리에 의해 지방구의 형성이 억제 되었으며 85% aq. MeOH, *n*-BuOH 및 *n*-hexane 층을 처리한 군에서 지방구 형성 억제 효과가 높게 나타났다. 이들 결과로부터 파배기모자반 유래 분획물의 처리에 의해 분화과정 중 세포내에 생성된 중성지방이 glycerol과 지방산으로 분해되어 세포 내 중성지방의 함량을 감소시키는 것으로 사료되며 이들 분획물로부터 중성지방 생성억제 및 분해능이 높은 항비만 활성 물질의 분리가 기대된다.

지방세포 분화조절 인자 발현에 미치는 영향

지방전구세포의 분화과정은 C/EBP family 및 PPAR γ 와 같은 분화조절전사인자의 상호작용에 의해 초기, 중기, 후기의 각 단계별로 진행된다(Kong et al. 2011; Kong and Seo 2012). 특히 분화 후기단계에서는 PPAR γ 와 C/EBP α 의 활성화가 촉진되어 활성화된 이들 분화조절전사인자에 의해 지방세포 특이 유전자 발현의 유도과 함께 지방세포로의 분화가 완성된다(Clarkson et al. 1995; Rosen et al. 2001; Schoonjans et al. 1996). 따라서 파배기모자반의 중성지방 생성억제 및 분해효과가 지방세포분화조절인자들

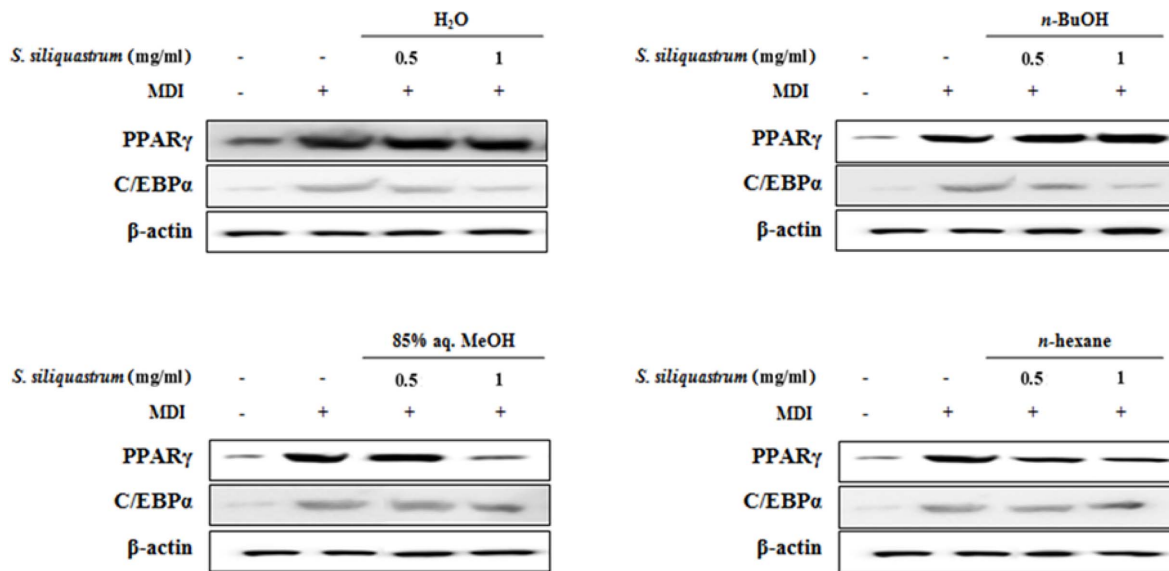


Fig. 5. Effect of the solvent fractions from *S. siliquastrum* on PPAR γ and C/EBP α protein expressions in 3T3-L1 adipocytes. The expression levels of adipogenic transcription factor PPAR γ and C/EBP α were determined by Western blot analysis

의 발현에 의한 것인지 확인하기 위하여 유전자(Fig. 4) 및 단백질 수준(Fig. 5)에서의 PPAR γ 와 C/EBP α 발현양상을 검토하였다. 파배기모자반 분획물의 유전자 발현 양상을 검토한 결과 다른 분획물에 비해 85% aq. MeOH 및 *n*-hexane 층에서 PPAR γ 와 C/EBP α 발현의 감소폭이 가장 높음을 확인하였다.

4. 결 론

우리나라에서 많이 발견되는 모자반 중에 하나인 파배기모자반은 항균, 항산화, 세포독성억제, 간보호 효과 등의 생리활성이 보고되고 있다. 본 연구에서는 항비만 활성소재 개발 연구의 일환으로 파배기모자반으로부터 얻은 조추출물과 분획물이 3T3-L1 지방세포의 분화에 미치는 영향을 검토하였다. 조추출물을 이용하여 파배기모자반의 중성지방 생성억제효과를 확인한 후 조추출물을 극성순서에 따라 순차적으로 분획하여 얻은 *n*-hexane, 85% aq. MeOH, *n*-BuOH, H₂O 분획층이 지방세포 내 중성지방 축적량에 미치는 영향을 검토하였다. 분획물층 중, 물층은 glycerol 분비 및 중성지방의 감소에 크게 영향을 미치지 않았으나, 다른 분획물에서는 높은 중성지방의 감소 및 분해 효과를 나타내었다. 또한 이들 분획물의 처리에 의해 지방세포분화 관련 전사인자인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현이 저하되었다. 이들 결과로부터 파배기모자반 유래 조추출물과 분획물에 의해 지방세포는 glycerol과 지방산으로 분해되어 세포 내 중성지방의 함량을 감소키는 것으로 사

료되며 이들 분획물에 함유된 화합물을 분리할 경우, 중성지방 생성억제능 및 분해능을 가지는 생리활성물질이 얻어질 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 2012년 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(No. 2012R1A1A2002851)의 연구결과입니다.

참고문헌

- Ali MS, Jahangir M, Saleen M, Pervez MK, Hameed S, Ahmad VU (2000) Metabolites of marine algae collected from Karachi-coasts of Arabian sea. *Nature Pro Sci* 6(2):61-65
- Cho SH, Kang SE, Cho JY, Kim AR, Park SM, Hong YK (2007) The antioxidant properties of brown seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. *J Med Food* 10(3): 479-485
- Clarkson RW, Chen CM, Harrison S, Wells C, Muscat GE, Waters MJ (1995) Early responses of trans-activating factors to growth hormone in preadipocytes: differential regulation of CCAAT enhancer-binding protein-beta (C/EBP beta) and C/EBP delta. *Mol Endocrinol* 9(1):108-120
- Dawczynski C, Schubert R, Jahreis G (2007) Amino acids,

- fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem* **103**(3):891–899
- Green H, Kehinde O (1974) Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. *Cell* **1**(3):113–116
- Kang JW (1987) Marine botany. Daehan Book Publishing Co., Seoul, 497 p
- Kim AR, Song EJ, Kim MJ, Lee SY, Kim KBWR, Kim JH, Kim SJ, Hong YK, Park JG, Kim JH, Lee JW, Byun MW, Ahn DH (2008) Effects of gamma irradiation on antioxidant properties and physical characteristics of *Sargassum siliquastrum* water extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **37**(3):357–361
- Kim MJ, Song EJ, Kim KBWR, Lee CJ, Jung JY, Kwak JH, Choi MK, Kim DH, Sunwoo C, Choi JS, Choi HD, Ahn DH (2011) Effect of *Sargassum fulvellum* extracts on shelf-life and quality improvement of bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **40**(6):867–874
- Kong CS, Kim JA, Bak SS, Byun HG, Kim SK (2011) Anti-obesity effect of carboxymethyl chitin by AMPK and aquaporin-7 pathways in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutri Biochem* **22**(3):276–281
- Kong CS, Seo Y (2012) Anti-adipogenic activity of isohamnetin 3-*O*- β -D-glucopyranoside from *Salicornia herbacea*. *Immunopharm Immunot* **34**(6):907–911
- Lahaye M, Kaehler B (1997) Seaweed dietary fibres: structure, physico-chemical and biological properties relevant to intestinal physiology. *Sci Aliment* **17**(6):563–584
- Lee SY, Kim JH, Kim KBWR, Song EJ, Kim AR, Park SM, Han CS, Ahn DH (2007) Antimicrobial activities of medicinal herbs and seaweeds extracts against microorganisms isolated from the rice warehouses. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **36**(4):476–480
- Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim JH, Kim AR, Kim MJ, Moon JH, Kang HM, Lee HD, Hong YK, Ahn DH (2008) Effect of extracts from *Sargassum siliquastrum* on shelf-life and quality of bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **37**(4):490–496
- Numata A, Kanbara S, Takahashi C, Fujiki R, Yoneda M, Usami Y, Fujita E (1992) A cytotoxic principle of the brown alga *Sargassum tortile* and structures of chromenes. *Phytochemistry* **31**(4):1209–1213
- Park JC, Choi JS, Song SH, Choi MR, Kim KY, Choi JW (1997) Hapatoprotective effect of extracts and phenolic compound from marine algae in bromobenzene-treated rats. *Korean J Pharmacogn* **28**(4):239–246
- Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai S, Freeman MW, Gonzalez FJ, Spiegelman BM (2001) C/EBP α induces adipogenesis through PPAR: a unified pathway. *Gene Dev* **16**(1):22–26
- Ruperez P (2002) Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chem* **79**(1):23–26
- Sanchez-Machado DI, Lopez-Cervantes J, Lopez-Hernandez J, Paseiro-Losada P (2003) Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chem* **85**(3):439–444
- Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Lefebvre AM, Heyman RA, Briggs M, Deeb S, Staels B, Auwerx J (1996) PPAR alpha and PPAR gamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. *EMBO J* **15**(19):5336–5348

Received Oct. 22, 2015

Revised Nov. 24, 2015

Accepted Nov. 28, 2015