

고지방/고콜레스테롤 식이 랫트 모델에서 홍삼에 의한 고중성지방혈증 개선 효과

김혜음^{1,2} · 김현준^{1,2} · 홍미현^{1,2,3} · 고선미⁴ · 황승미⁴ · 임동중⁴ · 안유미^{1,2} · 이호섭^{1,2} · 강대길^{1,2,3} · 이윤정^{1,2*}

1: 원광대학교 한의과대학 생리학교실, 2: 원광대학교 한방심신증후군연구센터, 3: 원광대학교 식품산업융복합학과, 4: 진안홍삼연구소

Effect of Korean Red Ginseng on Hypertriglyceridemia in High Fat/high Cholesterol Diet Rat Model

Hye Yoom Kim^{1,2}, Xian Jun Jin^{1,2}, Mi Hyeon Hong^{1,2,3}, Seon Mi Ko⁴, Seung Mi Hwang⁴, Dong joong Im⁴,
You Mee Ahn^{1,2}, Ho Sub Lee^{1,2}, Dae Gill Kang^{1,2,3}, Yun Jung Lee^{1,2*}

1: College of Oriental Medicine and Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University,

2: Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Wonkwang University,

3: Department of Convergence Technology for Food Industry, Wonkwang University, 4: Institute of Jinan Red Ginseng

Korean Red Ginseng (RG) are used as a traditional treatment for improve blood circulation. This experimental study was designed to investigate the inhibitory effects of Korean red ginseng on lipid metabolism in high fat/cholesterol diet (HFCD)-induced hypertriglyceridemia. Sprague Dawley rats were fed the HFCD diet with/without fluvastatin (Flu, positive control) 3 mg/kg/day, and RG 125 or 250 mg/kg/day, respectively. All groups received regular diet or HFCD diet, respectively, for 13 weeks. The last three groups treatment of Flu and RG 125, and RG 250 orally for a period of 9 weeks. Group 1, regular diet; group 2, HFCD diet; group 3, Flu + HFCD diet; group 4, RG 125 + HFCD diet; group 5, RG 250 + HFCD diet. As a result, treatment with low or high doses of RG markedly attenuated plasma levels of triglycerides and augmented plasma levels of high-density lipoprotein (HDL) in HFCD-fed rats. RG and Flu also led to an increase in lipoprotein lipase activity in the HFCD group. On the other hand, RG and Flu led to a decrease in fatty acid synthase and free fatty acid activity in the HFCD group. Treatment with RG suppressed increased expressions of PPAR- α and AMPK in HFCD rat liver or muscle. In addition, the RG attenuated triglyceridemia by inhibition of PPAR- γ and FABP protein expression levels and LXR and SREBP-1 gene expression in liver or muscle. The RG significantly prevented the development of the metabolic disturbances such as hypertriglyceridemia and hyperlipidemia. Taken together, the administration of RG improves hypertriglyceridemia through the alteration in suppression of triglyceride synthesis and accentuated of triglyceride decomposition. These results suggested that RG is useful in the prevention or treatment of hypertriglyceridemia.

keywords : Korean Red Ginseng, Triglyceride, Hypertriglyceridemia, Triglyceride synthesis, Metabolism

서 론

우리나라는 생활의 변화로 인하여 고탄수화물 및 동물성지방의 과다섭취가 증가하였으며 이는 심혈관계 질환의 발병률을 증가시킨다고 알려져 있다¹⁾. 심혈관계 질환의 발생 위험을 증가시키는 요인으로는 고지혈증, 고혈압, 당뇨병, 비만, 가족력, 흡연, 스트레스 및 성격 등이 있다고 보고되고 있으며, 특히 고지혈증은 심혈관계 질환 중 관상동맥 질환의 가장 중요한 독립인자로 알려져 있다^{2,3)}. 이는 2014년 통계청의 자료에서 뚜렷하게 나타나는데, 사망원

인이 암, 심장 질환, 뇌혈관 질환 순으로 나타남으로써 허혈성 심질환 및 뇌혈관 질환에 의한 사망원인이 중요한 요인인 것을 확인할 수 있다⁴⁾. 고지혈증 및 고중성지방혈증을 유발하는 환경적 요인 중 식이요인의 영향이 크다고 알려져 있으며, 그 요인으로는 고지방, 고당질, 포화지방산 및 콜레스테롤 등이 있다³⁾. 심혈관계 질환의 주요 위험인자인 고지혈증 및 고중성지방혈증은 중성지방의 농도가 혈액속에서 증가했거나, 콜레스테롤과 지방 및 LDL콜레스테롤(저밀도 지단백)이 과도하게 많은 상태를 말한다. 고지혈증 및 고중성지방혈증은 관동맥질환의 일차적인 원인인지는 확실하지 아직 밝혀지

* Corresponding author

Yun Jung Lee, Hanbang Cardio-Renal Research Center, Wonkwang University, 460, Iksan-daero, Iksan, Jeonbuk 54538, Republic of Korea

E-mail : shrons@wku.ac.kr · Tel : +82-63-850-6447

Received : 2017/08/31 · Revised : 2017/12/08 · Accepted : 2017/12/26

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 <http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2018.02.32.1.43>

Available online at <https://kmpath.jams.or.kr>

지 않았지만 중요한 위험인자로 알려져 있다⁵⁾. 6개월동안 고콜레스테롤혈증 환자에게 지방 및 콜레스테롤 섭취를 제한하여 감소시킨 결과, 혈중 LDL-콜레스테롤 농도는 크게 감소하였으며, 관상동맥 경화증 환자의 경우 동맥경화증의 협착이 되지 않고 이로 인하여 병변 부위가 감소하는 현상을 나타냄으로써 지방 및 콜레스테롤의 섭취가 고지혈증 및 고중성지방혈증을 유발에 영향을 준다고 보고되고 있다⁶⁾. 지방은 고에너지원으로써 지용성 비타민이나 필수지방산의 흡수에 필요하나 과잉 섭취를 하게되면 장내 2% triglyceride로 구성된 다량의 chylomicron과 식이성 콜레스테롤이 합성되면서 비장 조직으로 옮겨가게 되면 일차적으로 중성지방(Triglyceride) 형태로 조직에 저장된다⁷⁾. 중성지방은 우리 몸속에 존재하는 지질의 한 종류로 지방조직에 가장 많이 들어 있다. 중성지방의 가장 큰 역할은 체내 활동의 에너지원이 되는 것이며, 근육 등에서 에너지로 사용되는데 남은 분량은 지방조직 속 지방세포에 저장된다⁸⁾. 동물성 지방의 과다섭취 등을 통하여 중성지방의 저장량이 일정량 이상 증가한 상태가 되면 비만증을 유도한다고 알려져 있으며, 이는 심근경색 및 동맥경화증의 심혈관계 질환의 질환의 발생이 증시킨다⁹⁾. 따라서 고지혈증 및 고중성지방혈증이 관상동맥 질환을 포함한 동맥경화증의 위험인자로 주목받고 있기 때문에^{10,11)} 아직은 연구가 미미한 고중성지방혈증의 개선시키는데 홍삼 추출물이 효과가 있는지 알아보기 위하여 연구를 진행하게 되었다.

오랜 세월 동안 사용된 인삼은 건강기능식품시장이 확대됨으로써 더더욱 각광을 받고 있다. 인삼의 주요 효능으로 알려진 혈행개선, 면역력 증강, 기억력 증진, 항염 및 항암효과 등에 관하여 다방면으로 보고되고 있다¹²⁻¹⁴⁾. 이러한 효능은 인삼의 특유한 성분인 진세노사이드(ginsenoside)는 일반 도라지, 마늘, 양파 등 다른 식물체에 존재하는 사포닌과는 다른 화학구조적 특징을 가지고 있으며 그 효능이 다르게 나타 난다¹⁴⁾. 홍삼은 증숙과정(오랜 전통적 방식)을 통해서 얻어진 유용사포닌이 백삼(인삼)에 비하여 더 많기 때문에 효능을 증대시킨다고 알려져 있다¹⁵⁾. 홍삼의 효능은 인삼과 크게 다르지는 않으나, 항염 효과, 혈액 순환 개선효과, 항암효과, 감염방어 작용 등이 인삼보다 우수하다는 연구가 보고되어 있다¹⁶⁻¹⁸⁾. 최근에는 항알리지 작용, 기억력개선 작용, 발기부전효과에 관한 연구가 보고되었다^{19,20)}. 이처럼 홍삼에 관한 연구는 많이 되어 있으나, 홍삼에 따른 실질적인 고지혈증 및 고중성지방혈증에 의한 중성지방의 합성 및 분해 효과에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 고지방/고콜레스테롤 식이를 실시한 랫트에서 유발되는 고중성지방혈증에 따른 비만 그리고 인슐린 저항성 등과 같은 대서성 질환을 홍삼의 투여로 인한 개선 효과를 검토하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 홍삼추출분말 시료의 제조

홍삼추출분말을 위한 인삼은 전북 진안삼 4년근으로 시중 판매자(간상도영농조합)를 통해 구입하였다. 홍삼가공추출물은 80도, 3시간 동안 3회 열수 추출하였으며 이를 60도에서 최종농도 65 brix까지 농축하였다. 가공된 액상농축액내에 부형제 40% 말토덱

스트린을 혼합한 후 이를 65도에서 분무 건조한 것을 실험에 사용하였다.

2. 실험동물 및 식이

실험은 원광대학교 동물실험 윤리위원회의 승인을 얻어 시행하였으며, 동물관리 규정을 준수하였다(WKU16-95). 8주령 수컷 SD 계통의 흰쥐를 샘타코(오산, 한국)에서 구입하여 총 13주간 실험에 사용하였다. 흰쥐는 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 50-60%의 항온항습 장치에서 12시간씩 암기와 명기를 조절하면서 1주간 적응기간을 가진 후 연구를 진행하였다. Control group은 13주 동안 regular diet를 시켰으며, HFCD group은 60% kcal% fat과 lard 2205 kcal% (Research Diet, D12492)을 포함한 high fat/high cholesterol diet를 시켰다. control 그룹을 제외한 모든 그룹은 4주 동안 HFCD를 자유식이 함으로써 고중성지방혈증을 유도하였으며, 이 후 9주 동안 총 5개 그룹으로 다음과 같이 구분하여 연구를 진행하였다. 1) Control (regular diet), 2) HFCD (high fat/cholesterol diet, 고지방/고콜레스테롤 식이), 3) fluvastatin (HFCD + 3 mg/kg/day fluvastatin), 4) RG125 (HFCD + 홍삼 125 mg/kg/day), 5) RG250 (HFCD + 홍삼 250 mg/kg/day). Fluvastatin은 혈장 내 콜레스테롤 및 중성지방을 감소시키고, 조직학적인 지방 축적을 감소시켜 고지혈증에 사용되는 약물로서 본 연구에서 양성대조군으로 사용하였다.

3. 혈액 분석

8주째 실험이 종료되는 날 동물은 단두로 희생되었고 채혈된 혈액은 4°C 에서 10,000 rpm으로 10분 동안 원심분리 하여 혈장을 얻어 total cholesterol, triglyceride, glucose, HDL (high density lipoprotein) 등의 혈액생화학적 수치는 Hitachi 7080 (Hitachi, Tokyo, Japan)을 사용하여 분석하였다. 또한 fatty acid (abcam,UK, cat: ab65341) 및 lipoprotein lipase (Cusabio Biotech Co, USA, cat: CSB-E08494r), fatty acid synthase (Cusabio Biotech Co, USA, cat: CSB-E16440r)는 ELISA kit를 사용하여 분석하였다.

4. 단백질 분리와 western blot 분석

동물을 희생시킨 후 흉부대동맥 및 간조직을 수집하여 Homogenase buffer [20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 1 mM EDTA, 140 mM NaCl, 1% Triton X-100, 2.5 mM sodium pyrophosphate, 1 mM β -glycerolphosphate, 1 mM sodium vanadate, 1 $\mu\text{g/ml}$ leupeptin, 1 mM PMSF]로 용해시켜 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질은 Bradford (Bio-Bad, USA)법으로 정량하여 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE)로 전기 영동하여 분리하였다. 전기영동 후 gel 내 단백질들은 nitrocellulose membrane에 전이시켰다. Membrane을 5% (w/v) non-fat dry milk가 포함된 Tris-buffered saline [TBS: 10 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mM NaCl] with 0.1% Tween-20 (TBS-T) 용액에 1시간 동안 담궈 비특이적인 결합을 방지하기 위하여 blocking을 시행하였다. Blocking된 membrane

에 1차 항체를 1 : 1,000 비율로 희석한 후 4°C에서 반응시켰다. 그 후 TBS-T에 1 : 2,000 비율로 희석한 horseradish peroxidase (HRP)-conjugated anti-mouse 혹은 goat IgG 항체와 상온에서 반응시키고, TBS-T로 충분히 세척한 다음, enhanced chemiluminescence system을 이용하여 발현 측정 후 정량하였다. 항체는 AMPK1/2 (sc74461), ppar-α (sc398394), PPAR-γ (sc7273), FABPs (sc271529) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)를 이용하여 단백 발현량을 측정했다.

5. RNA 추출 및 real-time polymerase chain reaction (qPCR) analysis

RNA 추출 및 RT-PCR RNA의 분리는 cDNA Kit (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA)를 사용하여 제조사에서 제공된 방법에 따라 실시하였다. 추출된 total mRNA의 농도 및 순도를 UV 분광광도계(Spectrophotometer)를 이용하여 측정하였고, 샘플은 SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems)를 사용하여 정량적 실시간 중합 효소 연쇄 반응을 분석하였다. 실험에 사용된 primer는 LXR-1, sense: 5'-GAA GAA ACT GAA GCG GCA AG-3', anti-sense: 5'-TAG CAT CCG TGG GAA CAT CA-3', SREBP-1, sense: 5'-GGT TTT CAA CGA CAT CGA AGA-3', anti-sense: 5'-CGG GAA GTC ACT GTC TTG GT-3', 유전자 발현의 분석은 Step One Plus real-time PCR 시스템 (Applied Biosystems)으로 수행 하였다.

6. 통계처리

실험 결과는 각 군별 평균 ± 표준오차 (mean ± SE)로 표시하고, 각 군 별 유의성은 Systat사의 SigmaPlot version 10.0을 이용하여 Students t-test나 one-way ANOVA test를 통하여 p가 0.05 미만인 경우 유의한 차이로 판정하였다.

결 과

1. 홍삼 투여에 의한 혈장 내 콜레스테롤 및 지질 대사에 미치는 영향

고중성지방혈증 랫트 모델에서 혈장 내 지질 함량 분석 결과, 고지방/고콜레스테롤 식이 군에서 총콜레스테롤 (T-Cho) 함량이 일반식이 군에 비해 27.7% 정도 유의성 있게 증가하였으나, 홍삼 투여로 인해 12.21% 정도 유의성 있게 감소하는 결과를 보였다 (Table 1). Triglyceride (TG, 중성지방) 그리고 저밀도 콜레스테롤 (LDL-c)의 수치 역시 고지방/고콜레스테롤 식이 군에서 일반식이 군에 비해 유의성 있게 증가하였으나, 홍삼 투여로 인해 유의성 있게 감소되는 결과를 나타냈다. 고밀도 콜레스테롤 (HDL-c)은 고지방/고콜레스테롤 식이 군에서 일반식이 군과 유의성 있는 변화가 보이지 않았으나 홍삼 투여 군에서는 유의성 있는 증가효과를 보였다(p < 0.05).

2. 홍삼추출물 투여에 의한 중성지방 농도 개선 효과

간 조직내 중성지방 함량을 측정한 결과, 일반식이에 비하여

고지방/고콜레스테롤 식이에 의하여 중성지방 농도는 증가했고, fluvastatin (positive control)군에서 감소효과를 확인할 수 있었으며, 홍삼 투여로 인해 유의적으로 감소했다. 따라서 고지방/고콜레스테롤 식이에 의하여 조직에 중성지방에 축적되며, 이를 홍삼 투여군이 개선시키는 효과가 있는 것으로 사료된다(Fig. 1).

Table 1. Effect of treatment RG on plasma lipids

	Cont	NC	Flu	RG125	RG250
T-Cho (mg/dl)	72.25±4.00	92.27±3.10***	81.00±3.55#	77.86±3.44##	69.29±3.52###
TG (mg/dl)	77.41±2.27	283.83±1.637***	106.12±4.35###	106.05±4.95###	88.15±3.59###
Glucose (mg/ml)	96.43±3.92	112.0±2.90***	100.67±2.70#	105.63±2.62	91.33±4.18#
LDL-C (mg/dl)	48.98±3.30	65.09±3.84**	65.44±3.62	63.73±5.97	50.54±5.13#
HDL-C (mg/dl)	10.27±0.27	10.67±0.39	12.00±0.73#	11.20±0.80	13.10±0.85#

Values were expressed as mean ± S.E. Cont (regular diet), NC (negative control, HFCD), Flu. (HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), RG125 (HFCD + 125 mg/kg/day of RG), and RG250 (HFCD + 250 mg/kg/day of RG). **p<0.01, ***p<0.001 vs. Control; #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 vs. NC. Abbreviations: Cont, control; NC, negative control; HFCD, high fat/cholesterol diet; RG, Korean red ginseng; Flu, fluvastatin; T-Cho, total cholesterol ; TG, triglyceride ; HDL-c, high-density lipoprotein cholesterol ; LDL-c, low-density lipoprotein cholesterol.

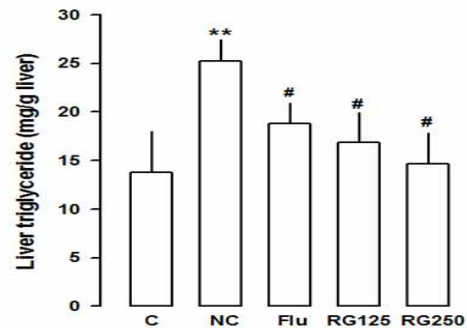


Fig. 1. Effect of RG on liver triglyceride content in high fat/cholesterol-diet rats. Control (C, regular diet), NC (negative control, high fat/cholesterol-diet, HFCD), Flu. (HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), RG125 (HFCD + 125 mg/kg/day of Korean red ginseng), and RG250 (HFCD + 250 mg/kg/day of Korean red ginseng). Values are expressed as mean±S.E. **p<0.01 vs. Control; #p<0.05 vs. NC.

3. Glycerol-6-phosphate dehydrogenase (GPDH) 활성 저해 효과

GPDH는 지방 및 근육세포에서 dihydroxyacetone phosphate를 glycerol-6-phosphate로 전환함으로써 중성지방 생합성에 관여하는 효소 중의 하나이다. 따라서 홍삼에 의한 중성지방 생성 감소에 GPDH의 관여 여부를 알아보기 위해 epididymal fat pad에서 측정하였다. 고지방/고콜레스테롤 식이 비해 모든 군에서 GPDH 활성을 현저히 저해하였다. 특히 RG250 군에서의 GPDH 활성이 저해되는 것으로 나타났다. 따라서 지방 세포 내 중성지방 생성 저해는 홍삼에 의한 GPDH 활성 저해가 관여하는 것으로 확인되었다(Fig. 2).

4. 홍삼추출물 투여에 의한 중성지방 합성 조절 유전자 분석

고중성지방혈증 랫트 모델에서 중성지방 합성 조절 유전자의 역할에 대하여 살펴보고자 간 조직에서 real-time PCR을 진행했다. lipogenesis, fatty acid biosynthesis 및 중성지방 maturation에

연관된 유전자인 LXR, SREBP-1의 발현을 real-time PCR을 통하여 살펴 본 결과, 고지방/고콜레스테롤 식이에 의하여 LXR와 SREBP-1의 발현량이 일반식이에 비하여 증가되는 것을 확인하였고, 홍삼 투여로 인해 유의성 있게 감소시켰다(Fig. 3). 따라서 홍삼 투여군의 중성지방합성 억제효과가 확인되었고 이는 홍삼투여의 효능이 체내 중성지방 조절과 관련됨을 시사한다.

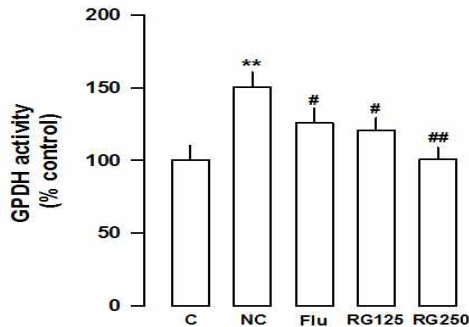


Fig. 2. Effect of RG on plasma glycerol-6-phosphate dehydrogenase (GPDH) activity in high fat/cholesterol-diet rats. Control (C, regular diet), NC (negative control, high fat/cholesterol-diet, HFCD), Flu. (HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), RG125 (HFCD + 125 mg/kg/day of Korean red ginseng), and RG250 (HFCD + 250 mg/kg/day of Korean red ginseng). Values are expressed as mean±S.E. **p<0.01 vs. Control; #p<0.05, ##p<0.01 vs. NC.

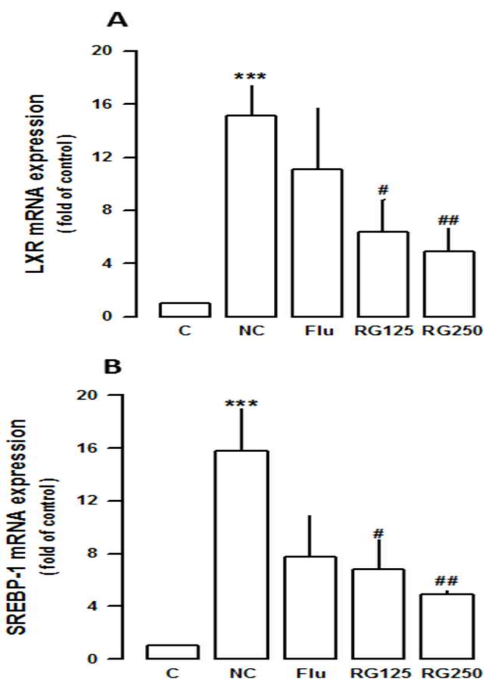


Fig. 3. Effect of RG on liver (A) LXR and (B) SREBP-1 gene expression in high fat/cholesterol-diet rats. Control (C, regular diet), NC (negative control, high fat/cholesterol-diet, HFCD), Flu. (HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), RG125 (HFCD + 125 mg/kg/day of Korean red ginseng), and RG250 (HFCD + 250 mg/kg/day of Korean red ginseng). Values are expressed as mean±S.E. ***p<0.001 vs. Control; #p<0.05, ##p<0.01 vs. NC.

5. 홍삼추출물 투여에 의한 유리지방산 합성효소(Fatty acid synthase, FAS)와 유리지방산(Free fatty acid, FFA)의 측정

중성지방이 가수 분해되어 생성된 유리지방산은 혈액에 방출하고 근육이나 간으로 이동되기 때문에 본 연구에서는 혈액을 이용하여 FFA를 측정했다. 그 결과, 일반식이에 비하여 고지방/고콜레스테롤 식이에 의하여 FFA는 증가했고, positive control 군에서 감소효과를 확인 할 수 있었으며, 홍삼 투여로 인해 유의적으로 감소했다(Fig. 4).

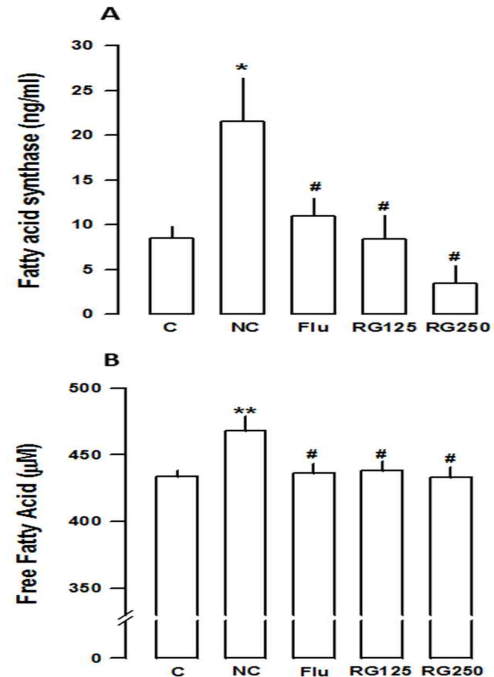


Fig. 4. Effect of RG on plasma (A) fatty acid synthase and (B) free fatty acid level in high fat/cholesterol-diet rats. Control (C, regular diet), NC (negative control, high fat/cholesterol-diet, HFCD), Flu. (HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), RG125 (HFCD + 125 mg/kg/day of Korean red ginseng), and RG250 (HFCD + 250 mg/kg/day of Korean red ginseng). Values are expressed as mean±S.E. *p<0.05, **p<0.01 vs. Control; #p<0.05 vs. NC.

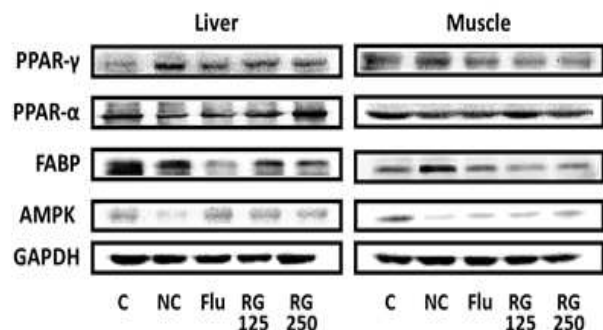


Fig. 5. Effects of RG on the expression of PPAR-γ, FABP, PPAR-α, and AMPK in the liver and muscle of high fat/cholesterol-diet rats. Each electrophoretogram is representative of the results from three individual experiments. Values are expressed as mean±S.E.

6. 홍삼추출물 투여에 의한 중성지방의 전환에 관여하는 조절인자에 대한 발현변화(지질대사관련 단백질발현량)

13주간 고지방/고콜레스테롤 식이를 통한 랫에서 홍삼 투여

에 의한 간과 근육에서의 중성지방 조절 마커인 PPAR- γ , FABP, PPAR- α , AMPK의 발현변화를 확인하기 위하여 western blotting을 실시하였다. 중성지방 합성에 있어 중요 조절 인자인 PPAR- γ 및 FABP의 변화를 살펴본 결과, 고지방/고콜레스테롤 식이군은 일반식이군에 비해 간과 근육에서의 PPAR- γ 및 FABP의 발현이 각각 유의성 있게 증가하였지만, 홍삼 투여로 인하여 증가되었던 발현이 각각 유의성 있게 감소한 것을 확인할 수 있었다($p < 0.01$, Fig. 5). 또한 중성지방 분해 기능에 있어 중요조절 인자인 PPAR- α 및 AMPK의 변화를 살펴본 결과, 고지방/고콜레스테롤 식이군은 일반식이군에 비해 PPAR- α 및 AMPK의 발현이 유의성 있게 확연히 감소하였지만, 홍삼 투여로 인하여 발현이 유의성 있게 증가한 것을 확인할 수 있었다 ($p < 0.01$, Fig. 6). 따라서 홍삼 투여군은 중성지방합성 및 분해에 모두 관여하고 있음을 시사한다.

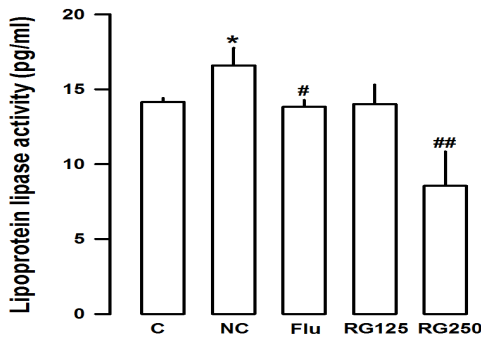


Fig. 6. Effect of RG on plasma Lipoprotein lipase (LPL) activity in high fat/cholesterol-diet rats. Control (C, regular diet), NC (negative control, high fat/cholesterol-diet, HFCD), Flu. (HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), RG125 (HFCD + 125 mg/kg/day of Korean red ginseng), and RG250 (HFCD + 250 mg/kg/day of Korean red ginseng). Values are expressed as mean \pm S.E. * $p < 0.05$ vs. Control; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. NC.

7. 지단백지방분해효소 (Lipoprotein lipase, LPL) 활성 측정

LPL은 혈중지단백으로부터 중성지방을 분해하는 효소로 고중성지방혈증의 발생에 기여하는 중요한 요인이 되기 때문에 본 연구에서 측정하였다. 그 결과, 일반식이에 비하여 고지방/고콜레스테롤 식이에 의하여 LPL의 활성이 감소되는 것을 확인하였고, positive control 군에서 증가효과를 확인할 수 있었으며, 홍삼 투여로 인해 유의적으로 증가하면서 control군 수준으로 돌아오는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 6). 따라서 고지방/고콜레스테롤 식이에 의한 지단백지방분해효소 활성의 감소를 개선시키는 역할을 함으로써 고중성지방혈증개선 효능을 가질것으로 보인다.

8. 홍삼과 상엽의 혼합 투여에 의한 혈액 생화학 분석

간기능을 측정하는 검사에서 간세포손상의 지표인 aspartate transferase (GOT)와 alanine transferase (GPT)를 비교해본 결과, 고지방/고콜레스테롤 식이군에서 GOT가 증가하였으며 RG250 군의 감소효과가 가장 컸으며 ($p < 0.001$), RG125군에서 역시 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). GPT에서 RG250군은 유의성있게 감소하였고, RG125군은 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 보이지 않았다. 그러므로 고지방/고콜레스테롤 식이군에서 경증의 간세포손상을 보여주고 있으며 홍삼 투여로 인해 개선효과를 보여주고

있다(Fig. 7).

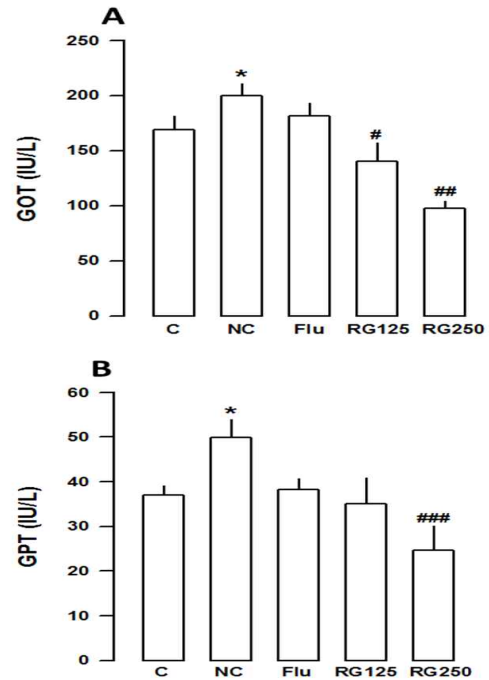


Fig. 7. Effect of RG on metabolic parameters in high fat/cholesterol-diet rats. Control (C, regular diet), NC (negative control, high fat/cholesterol-diet, HFCD), Flu. (HFCD + 3 mg/kg/day of fluvastatin), RG125 (HFCD + 125 mg/kg/day of Korean red ginseng), and RG250 (HFCD + 250 mg/kg/day of Korean red ginseng). Values are expressed as mean \pm S.E. * $p < 0.05$ vs. Control; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ vs. NC.

고찰

본 연구는 고지방/고콜레스테롤 식이에 의해 유도된 고중성지방혈증에 있어서 홍삼의 섭취가 개선효과를 보이는지 검증하기 위해 진행됐다. 총 13주간 실시한 고지방/고콜레스테롤 식이군에서 중성지방의 증가와 저밀도 콜레스테롤 (LDL-콜레스테롤)의 증가로 나타남으로써 고중성지방혈증이 유발된 것으로 보고 연구를 진행했다. 본 연구에서 양성대조군에 사용된 fluvastatin은 고지혈증에 사용하는 약물로써 콜레스테롤 및 중성지방을 감소시키고, 조직학적 지방 축적을 감소시킨다고 보고되었다²¹⁾. 고 콜레스테롤 혈증 토끼에서 fluvastatin이 내피 기능, 지질 과산화 및 대동맥 동맥 경화 개선효과가 있으며, GPT수치를 호전시키며, 간의 조직학적 소견을 개선시킨다고 알려져 있다²²⁾. 따라서 홍삼의 고중성지방혈증에 있어서 개선효과를 비교하기에 적합한 약물이다.

본 연구에서 고콜레스테롤 식이와 함께 fluvastatin 및 홍삼을 투여 하였을 때 중성지방과 LDL-콜레스테롤 함량은 유의적으로 감소하였으며, 고밀도 콜레스테롤 (HDL-콜레스테롤) 함량은 유의적으로 증가하였다. 정상상태에서 중성지방과 콜레스테롤은 조직세포에서 합성된 지질과 균형을 이루며 혈관 내 순환 lipoprotein들의 농도는 항상성에 의해 적절하게 조절되나, 유전적 요인을 비롯한 환경적 요인에 의하여 체내의 지질 균형이 깨지게 되면서 혈장 lipoprotein인 LDL-콜레스테롤 농도가 증가하게 되고, HDL-콜레스테롤 농도는 감소하게 되면서 고혈압 및 동맥경화증과 같은 심혈

관계 질환을 유발한다고 알려져 있다²³⁾.

중성지방축적에 미치는 영향을 알아보기 위하여 간에서 중성지방 함량을 측정된 결과 고콜레스테롤 식이군에서 중성지방함량은 증가하였으며, fluvastatin 및 홍삼을 투여 하였을 때 중성지방의 축적을 유의적으로 저해하였다. 중성지방은 뇌와 적혈구를 제외한 모든 장기의 체내 주요 에너지원이다. 간은 중성지방을 합성하여 장기에 공급하는 중요한 역할을 하나 중성지방이 과량 생산되면 이득보다는 문제점이 더 많다. 고지방/고중성지방혈증은 LDL-콜레스테롤을 많이 생성시켜 죽상동맥경화증을 악화시킨다²⁴⁾. 또한 중성지방이 증가할수록 심혈관계 사망률이 증가하는 것이 최근에 알려졌다²⁵⁾, 반대로 HDL-콜레스테롤이 낮을수록 심혈관계 사망률이 증가하기 때문에 홍삼의 투여로 인한 간의 중성지방의 감소는 심혈관계 질환에 유용하게 사용될 수 있다^{24,25)}.

본 연구를 통해서 고지방/고콜레스테롤 식이에 의한 중성지방 합성에 관하여 알아보고자 연구를 진행했다. SREBP-1과 LXR α 는 지방과 간에서 중성지방 합성에 중요한 역할을 하는 전사인자로, 간 조직에서 특히 SREBP-1c의 발현이 우세하다^{26,27)}. LXR은 지방산과 중성지방 합성의 전사인자인 SREBP-1의 발현을 증가시킨다. LXR α 의 발현이 감소되면 SREBP-1 발현이 감소하게되므로 지방산 합성이 감소하고 결과적으로 간 조직에 중성지방 농도가 감소하여 축적을 억제하는 역할을 하게 된다²⁶⁾. 또한 FABP는 세포막에서 지방세포내로 지방산 흡수를 촉진시키는 단백질 지방산 결합단백질이다²⁸⁾. FABP 유전자를 제거한 동물에서는 혈당 감소 및 혈중 중성지방감소가 나타나기 때문에 고혈당과 중성지방 개선의 공통 기전 연구의 바이오마커로 사용 된다고 알려져 있다²⁹⁾. PPAR γ 는 주로 지방 조직에 발현되는 전사인자로 중성지방합성에 관여하며 PPAR γ 의 발현이 감소되면 지방조직에서의 중성지방 합성이 감소하여 혈중 중성지방 개선효과를 나타낸다고 알려져 있다³⁰⁾. 홍삼이 중성지방합성에 관여하는지 알아보기 위하여 그 조절 인자들인 LXR와 SREBP-1, FABP, PPAR γ 의 발현량을 연구한 결과, 고지방/고콜레스테롤 식이에 의해서 일반식이에 비하여 증가되고 홍삼 투여로 인해 유의성 있게 감소시켰다. 따라서, 홍삼 투여군의 중성지방합성 억제효과가 확인되었고 이는 홍삼투여의 효능이 체내 중성지방 합성에 있어서 조절함으로써 관여하고 있음을 시사한다.

홍삼의 중성지방 합성 개선 효과를 확인하고, 고지방/고콜레스테롤 식이로 유도된 랫트에 홍삼이 중성지방 분해에도 영향을 주는 지 알아보고자 연구를 진행했다. 지단백질 분해효소(LPL)은 혈중지단백으로부터 중성지방을 분해하는 효소로 고중성지방혈증의 발생에 기여하는 중요한 요인이다³¹⁾. 간세포 내에서 중성지방은 콜레스테롤, 인지질 및 여러 아포지단백질과 함께 VLDL을 구성하여 혈액으로 방출되고, 이후 LPL에 의해 분해되기 때문에^{31,32)} 중성지방의 분해에 중요한 역할을 한다. 지방산 산화에 있어서 PPAR α 는 핵수용체의 하나로서 주로 간, 심장, 근육, 신장에서 발현되어 지방산의 산화와 아포지단백질의 합성을 조절한다³³⁾. PPAR α 발현이 증가하면 LPL 발현촉진, 간의 지방산 산화를 촉진시켜 중성지방 분해가 증가하는 역할을 한다. AMP-activated protein kinase(AMPK)는 골격근에서 지방산 대사에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다³⁴⁾. SREBP-1c와 PPAR γ 의 발현을 억제하고 FAS와 같은 지방합성 효

소의 발현을 억제함으로써 중성지방 생성을 억제시킨다. AMPK의 활성화에 대한 효과는 에너지 대사 조절과 밀접하게 연관되어 있는 표적장기(간, 근육, 지방, 췌장)에 관여되어 있으며, 간에서 AMPK가 활성화가 되면 지방산과 콜레스테롤의 합성을 억제하고 지방산의 산화를 촉진한다. 골격근에서 AMPK가 활성화되면 지방산의 산화와 당 흡수를 촉진하며 지방세포에서는 지방분해와 지방생성을 억제한다고 알려져 있다³⁵⁾. 고지방/고콜레스테롤 식이군에서의 LPL의 활성 및 PPAR α , AMPK의 발현량이 감소되지만 홍삼 투여로 인해 유의적으로 증가하면서 고지방/고콜레스테롤 식이에 의한 지단백지방분해효소 활성이 감소되었던 것을 개선시키는 역할을 한다고 보고, 이는 고중성지방혈증을 개선에 있어서 중성지방 분해 역할이 관여하고 있음을 시사한다. 더불어 간 손상을 비교하기 위해 혈청 GOT, GPT 정량을 실시한 결과, 홍삼 투여에 의하여 GOT, GPT 농도가 감소함을 확인하였다. 그러므로 고지방/고콜레스테롤 식이에 의한 간조직 손상의 심각성을 의미하고 이는 홍삼 투여에 의하여 개선될 수 있음을 시사한다.

결 론

고지방/고콜레스테롤 식이를 투여한 흰쥐에서 4주간 자유 식이 하여 유발한 후 9주간 홍삼을 함께 투여했을 때 전반적인 지질 대사 개선과 함께 중성지방 농도의 감소를 나타냈다. 특히, 지방세포 내 중성지방 생성 저해는 홍삼에 의한 GPDH 활성 저해와 중성지방합성 억제 및 유리지방산 생성 억제, 지단백지방분해효소 활성의 억제를 통하여 중성지방의 합성 및 분해에 관여하고 있는 것으로 확인됐다. 따라서, 고중성지방혈증에 있어 홍삼을 이용한 새로운 치료 방향을 제시하는데 유용할 것으로 사료되며 앞으로 그 활용방안이 기대된다.

감사의 글

본 연구개발결과는 2016년 전라북도 진안홍삼(향토)명품화사업 내 사업단 지원에 의해 연구 진행되었습니다.

References

1. Kreuzer J, Viedt C, Brandes RP, Seeger F, Rosenkranz AS, Sauer H, et al. Platelet-derived growth factor activates production of reactive oxygen species by NAD(P)H oxidase in smooth muscle cells through Gi1. *FASEB J*. 2003;17:T38-40.
2. Krauss RM. Triglycerides and atherogenic lipoproteins: rationale for lipid management. *Am J Med*. 1998;105:58S-62S.
3. Janes PJ, Leith CA, Pederson RA. Meal-frequency effects on plasma hormone concentrations and cholesterol synthesis in human. *Am J Clin Nutr*. 1993;57:868-74.
4. Korea National Statistical Office. Annual report on the

- cause of death statistics. General statistics. Korean Statistical Information Service, Seoul, J Korean Med Assoc. 2016;59(3):221-32
5. Michael S. Brown, Joseph L. Goldstein. Disorders of intermediary metabolism. In: Isselbach, Brownwald, Wilson et al. editors. Harrison's Principles Of Internal Medicine. 13th ed. New York: McGraw-Hill. 1994. 2058 p.
 6. Watts GF, Lewis B, Brunt TNH, Lewis S, Coltart DJ, Smith DR, Mann JI, Swan AV. Effects on coronary artery disease of lipid lowering diet of diet plus cholestyramine. in the St. Thomas, atherosclerosis regression study (STARS). *Lancet* 1992;339:563-9.
 7. Shin MK, Han SH. Effect of lotus leaf powder on lipid concentration in rats fed high fat diet rats. *Korean J. Food Culture* 2006;21:202-8.
 8. Myung-A Kim. Triglyceride and Cardiovascular Disease. *J Lipid Atheroscler.* 2013;2(1):1-8.
 9. Golan M, Fainaru M, Weizman A. Role of behavior modification in the treatment of childhood obesity with the parents as the exclusive agent of change. *Int. J. Obesity* 1998;22:1217-24.
 10. Grundy SM. Hypertriglyceridemia. Atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1998;81(4A):18B-25B.
 11. Assmann G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglyceride to incidence of atherosclerotic coronary artery disease(the PROCAM experience). *Prospective Cardiovascular Munster study.* *Am J Cardiol* 1992;70(7):733-7.
 12. Jang SK, Kim JH, Chung YS, Ahn DC, Kang MJ, Lee DG, Kim SH. An Experimental Study on the Effect of Immunopotential and the Anticancer Effect of Red Ginseng Extract. *J Ginseng Res* 1994;18:151-9.
 13. Cho JY, Kim AR, Yoo ES, Baik KU, Park MH. Ginsenosides from *Panax ginseng* differentially regulate lymphocyte proliferation. *Planta Med.* 2002;68:497-500.
 14. Lee EJ, Ko E, Lee J, Rho S, Ko S, Shin MK, et al. Ginsenoside Rg1 enhances CD4(+) T-cell activities and modulates Th1/Th2 differentiation. *Int Immunopharmacol.* 2004;4:235-44.
 15. An YE, Cho JG, Baik NI, Choi SW, Hur NY, Park SJ, et al. Isolation of 20(S)-Ginsenoside Rg3 and Rg5 from the puffed red ginseng. *Food Engineering progress.* 2010;14(2):159-65.
 16. Choi KS, Song H, Kim EH, Choi JH, Hong H, Han YM, et al. Inhibition of hydrogen sulfide-induced angiogenesis and inflammation in vascular endothelial cells: potential mechanisms of gastric cancer prevention by Korean red ginseng. *Ginseng Res.* 2012;36:135-45.
 17. Park HM, Kim SJ, Go HK, Kim GB, Kim SZ, Kim JS, et al. Korean red ginseng prevents ethanol-induced hepatotoxicity in isolated perfused rat liver. *Korean J. Vet. Res.* 2011;51:159-64.
 18. Park HM, Kim SJ, Mun AR, Go HK, Kim GB, Kim SZ, et al. Korean red ginseng and its primary ginsenosides inhibit ethanol-induced oxidative injury by suppression of the MAPK pathway in TIB-73 cells. *J. Ethnopharmacol.* 2012;141:1071-6.
 19. Bae EA, Han MJ, Shin YW, Kim DH. Inhibitory effects of Korean red ginseng and its genuine constituents ginsenosides Rg3, Rf, and Rh2 in mouse passive cutaneous anaphylaxis reaction and contact dermatitis models. *Biol. Pharm. Bull.* 23006;29:1862-7.
 20. Choi WY, Lee CG, Seo YC, Song CH, Lim HW, Lee HY. Effect of high pressure and steaming extraction processes on ginsenosides Rg3 and Rh2 contents of cultured-root in wild ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Korean J. Med. Crop Sci.* 2012;20:270-6.
 21. Tokumoto T, Tanabe K, Ishida H, Shimmura H, Ishikawa N, Goya N, Akiba T, Toma H. Impact of fluvastatin on hyperlipidemia after renal transplantation. *Transplant Proc.* 2004;36(7):2141-4.
 - 22.17. Jorge PA, Almeida EA, Ozaki MR, Jorge M, Carneiro A. Effects of atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, and simvastatin on endothelial function, lipid peroxidation, and aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84(4):314-9.
 23. Park SH, Jang MJ, Hong JH, Rhee SJ, Choi KH, Park MR. Effects of mulberry leaf extract feeding on lipid status of rats fed high cholesterol diets. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2007;36:43-50.
 24. Rade N, Pejic, MD, and Daniel T. Lee, MD. Hypertriglyceridemia. *JABFM.* 2006;19(3).
 25. Krauss RM. Triglycerides and atherogenic lipoproteins: rationale for lipid management. *Am J Med.* 1998;105:58S-62S.
 26. Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, Ferré P, Fougère F. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie.* 2004;86(11):839-48.
 27. Zhang Y, Breevoort SR, Angdisen J, Fu M, Schmidt DR, Holmstrom SR, Kliever SA, Mangelsdorf DJ, Schulman IG. Liver LXR α expression is crucial for whole body cholesterol homeostasis and reverse cholesterol transport in mice. *J Clin Invest.* 2012;122(5):1688-99.
 28. Wang G, Bonkovsky HL, de Lemos A, Burczynski FJ. Recent insights into the biological functions of liver

- fatty acid binding protein 1. *J Lipid Res.* 2015;56(12):2238-47.
29. Newberry EP, Xie Y, Kennedy SM, Luo J, Davidson NO. Protection against Western diet-induced obesity and hepatic steatosis in liver fatty acid-binding protein knockout mice. *Hepatology.* 2006;44(5):1191-205.
30. Edvardsson U, Ljungberg A, Lindén D, William-Olsson L, Peilot-Sjögren H, Ahnmark A, Oscarsson J. PPARalpha activation increases triglyceride mass and adipose differentiation-related protein in hepatocytes. *J Lipid Res.* 2006;47(2):329-40.
31. Nevin DN, Brunzell JD, Deeb SS. The LPL gene in individuals with familial combined hyperlipidemia and decreased LPL activity. *Arterioscler Thromb.* 1994;14(6):869-73.
32. Wung SF, Kulkarni MV, Pullinger CR, Malloy MJ, Kane JP, Aouizerat BE. The lipoprotein lipase gene in combined hyperlipidemia: evidence of a protective allele depletion. *Lipids Health Dis.* 2006;5:19.
33. Sozio MS, Lu C, Zeng Y, Liangpunsakul S, Crabb DW. Activated AMPK inhibits PPAR- α and PPAR- γ transcriptional activity in hepatoma cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011;301(4):G739-47.
34. Lee WH, Kim SG. AMPK-Dependent Metabolic Regulation by PPAR Agonists. *PPAR Research.* 2010;549101:10.
35. Zhang BB, Zhou G, Li C: AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab* 2009;9:407-16.