

Research Article



Received: Dec 5, 2023
Revised: Jan 2, 2024
Accepted: Jan 11, 2024
Published online: Feb 14, 2024

Correspondence to

Jung-In Kim

Department of Digital Anti-aging Healthcare,
Inje University, 197 Inje-ro, Gimhae 50834,
Republic of Korea.

Tel: +82-55-320-3236

Email: fdsnkiji@inje.ac.kr

*These authors contributed equally to this work.

© 2024 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID iDs

Ha-Neul Choi

<https://orcid.org/0000-0002-3859-7047>

Ae-Jin Jo

<https://orcid.org/0009-0006-0495-9165>

Ha-Na Kim

<https://orcid.org/0009-0004-9919-1253>

Jung-In Kim

<https://orcid.org/0000-0002-3829-2665>

Funding

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (No. 2016R1D1A3B03930584).

<https://e-jnh.org>

고지방·고단순당 식이 섭취 마우스에서 토종보리수 열매의 인슐린 저항성 및 고혈당 개선 효과

최하늘 ^{1,*}, 조애진 ^{2,*}, 김하나 ³, 김정인 ³

¹창원대학교 식품영양학과

²인제대학교 해운대백병원 영양팀

³인제대학교 디지털항노화헬스케어학과

Effects of autumn olive berry on insulin resistance and hyperglycemia in mice fed a high-fat, high-sucrose diet

Ha-Neul Choi ^{1,*}, Ae-Jin Jo ^{2,*}, Ha-Na Kim ³, and Jung-In Kim ³

¹Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Republic of Korea

²Department of Nutrition, Inje University, Haeundae Paik Hospital, Busan 48108, Republic of Korea

³Department of Digital Anti-aging Healthcare, Inje University, Gimhae 50834, Republic of Korea

ABSTRACT

Purpose: Type 2 diabetes mellitus is a metabolic condition marked by persistent elevated blood sugar levels resulting from insulin resistance. The effective management of diabetes mellitus involves strict regulation of the blood glucose levels. This study examined the effects of Autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) berry (AOB) on insulin resistance and hyperglycemia using a type 2 diabetes mellitus animal model.

Methods: Eight-week-old C57BL/6J mice were divided into four groups. The control group received a basal diet, while the high-fat, high-sucrose (HFHS) group was fed a HFHS diet containing 27% sucrose and 33% lard for 12 weeks. The low AOB (LAOB) and high AOB (HAOB) groups were offered a HFHS diet with a 0.5% and 1.0% AOB extract, respectively.

Results: The HAOB group showed significantly lower epididymal fat pad weight than the HFHS group. The LAOB and HAOB groups showed lower serum glucose levels and homeostasis model assessment for insulin resistance values than the HFHS group, and the HAOB group has lower serum insulin levels than the HFHS group. Supplementation with HAOB decreased serum cholesterol levels significantly compared with the HFHS group. The consumption of LAOB and HAOB reduced the serum triglyceride and hepatic total lipids and triglyceride levels compared to the HFHS group. In addition, LAOB and HAOB consumption in mice fed a HFHS diet increased adenosine monophosphate-activated protein kinase protein expression. Insulin receptor substrate-2 protein expression in the HAOB group was significantly higher than the HFHS group.

Conflict of Interest

There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest.

Author Contributions

Conceptualization: Kim JI; Formal analysis: Jo AJ, Kim HN; Funding acquisition: Kim JI; Investigation: Jo AJ; Methodology: Choi HN; Supervision: Kim JI; Writing - original draft: Choi HN and Jo AJ; Writing - review & editing: Kim JI.

Conclusion: AOB can alleviate hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus partly by mitigating insulin resistance.

Keywords: autumn olive berry; type 2 diabetes mellitus; blood glucose; insulin resistance; triglyceride

서론

당뇨병 (diabetes mellitus)은 인슐린의 결핍 또는 인슐린의 작용 저하로 인해 고혈당 (hyperglycemia)을 수반하는 만성 대사장애 질환으로 [1], 당뇨병이 장기간 진행되면 심장, 혈관, 눈, 신장 등 여러 기관에 손상을 초래하는 심각한 합병증이 초래된다. 전 세계적으로 당뇨병의 유병률과 사망률이 계속적으로 증가하고 있어, 주요 건강문제가 되고 있다 [2]. 당뇨병은 췌장 베타세포의 파괴로 인슐린이 결핍되어 발생하는 제 1형 당뇨병과 인슐린 저항성 (insulin resistance)으로 인해 발생하는 제 2형 당뇨병으로 분류되는데, 당뇨병 환자의 90% 이상이 제 2형 당뇨병을 가진 것으로 알려져 있다 [1]. 고지방 식사를 포함한 영양과잉과 현대적인 생활패턴은 비만과 제 2형 당뇨병의 발생을 증가시키는 중요한 요인으로 알려져 있다 [3]. 인슐린 저항성은 생리적 인슐린 농도에서 인슐린의 작용이 정상보다 저하된 상태로 정의된다 [4]. 인슐린 저항성이 증가하면 췌장의 베타세포에서 이를 보상하기 위해 인슐린 분비량을 증가시켜 정상 혈당을 유지하지만, 인슐린 저항성이 인슐린 분비능의 한계를 넘어서면 고혈당을 나타내며 제 2형 당뇨병이 초래된다 [5].

인슐린 저항성 상태에서는 간에서 중성지방의 합성이 증가되고, 간으로부터 혈액으로 중성지방을 함유한 very low density lipoprotein (VLDL)의 방출도 증가되어 이상지질혈증 (dyslipidemia)이 초래된다 [6]. 이상지질혈증은 당뇨병 환자에서 심혈관계 질환으로의 이행률과 사망률을 증가시키는데 [7], 심혈관계 합병증은 제 2형 당뇨병 환자의 가장 흔한 사망 원인이 된다 [8]. 따라서, 당뇨병의 치료에서 혈당을 정상수준에 가깝게 유지하며 [9] 이상지질혈증을 개선하여, 합병증의 발생을 지연하고 개선하는 것이 중요하다 [10]. 제 2형 당뇨병 환자는 경구혈당강하제인 인슐린 분비 촉진제, 인슐린 감수성 개선제, α -glucosidase 저해제 등을 사용하여 고혈당을 조절하지만, 이러한 약물들은 저혈당, 구토, 복부팽만, 설사 및 간 기능손상 등의 부작용을 초래할 수 있다 [11]. 따라서, 부작용이 없고 혈당조절 효과가 큰 혈당강하제를 천연물로부터 개발하려는 많은 연구들이 진행되고 있다 [12].

토종보리수 (autumn olive, *Elaeagnus umbellata* Thunb.)는 도금양목 (Myrtales), 보리수나무과 (Elaeagnaceae), 보리수나무속 (*Elaeagnus*)에 속하는 식물로, 주로 한국 및 중국, 일본, 대만 등의 동북아시아 지역에 분포되어 있으며, 열매는 약간 떼지만 단맛을 가지고 있어 식용이 가능하다 [13]. 토종보리수 열매는 블루베리, 라즈베리 등과 같은 건강증진 베리류와 유사한 함량의 폴리페놀을 함유하고 있으며 [14], 라이코펜 (lycopene)의 좋은 급원이라고 보고되었다 [15]. 토종보리수 열매는 *in vitro*에서 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl 라디칼 소거능이 우수하게 나타났다 [16]. 또한 토종보리수 열매의 100% 에탄올 추출물은 *in vitro*에서 경구혈당강하제인 acarbose 대비 92%의 α -glucosidase 저해활성을 보였고, *in vivo*에서도 α -glucosidase 저해 활성을 나타내어 식후혈당 증가를 완만하게 하였다고 보고되었다 [17]. 따라서, 토종보리수 열매는 당뇨병 개선효과가 우수할 것으로 사료되나, 식이로 유도된 제 2형 당뇨병 동물에서 토종

보리수 열매의 인슐린 저항성 개선효과를 조사한 연구는 미비한 실정이다. 따라서, 본 연구에서 고지방·고단순당 식이를 제공하여 제 2형 당뇨병을 유발한 마우스에서 토종보리수 열매의 인슐린 저항성 및 고혈당 개선 효과를 규명하고자 한다.

연구방법

토종보리수 열매 추출물의 제조

토종보리수 열매를 합천군 지역시장에서 구입하여 세척한 후, 동결건조하고 분쇄기를 사용하여 분쇄하였다. 토종보리수 열매 가루에 10배 (w/v)에 해당하는 100% 에탄올을 가하여 12시간 동안 실온에서 추출한 후, 여과지 (Whatman No. 1 paper; GE Healthcare, Chalfont St. Giles, UK)를 사용하여 추출액과 잔사를 분리하였다. 잔사에 10배 (w/v)에 해당하는 에탄올을 가하여 6시간 동안 추출한 후 여과하였고, 남은 잔사에 10배 (w/v)에 해당하는 에탄올을 가하여 6시간 동안 추출한 후, 여과하고 rotary evaporator (EYELA FDU-1100; EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 50°C에서 감압 농축하였다. 토종보리수 열매 추출물의 수득율은 36.7%로 나타났다.

실험동물 사육 및 식이조성

생후 7주령의 웅성 C57BL/6J 마우스를 Bio Genomics, Inc. (Seoul, Korea)에서 구입하여 일주일간 순응시킨 후, 난괴법에 따라 네 군 (n = 7)으로 나누었다. 대조군 (control) 및 고지방·고단순당군 (high-fat, high-sucrose, HFHS)에게는 각각 기본 식이 (basal diet) 및 고지방·고단순당 식이 (HFHS diet)를, 저농도 (low autumn olive berry, LAOB) 및 고농도 보리수 열매군 (high autumn olive berry, HAOB)에게는 고지방·고단순당 식이에 토종보리수 열매 추출물을 저농도 (0.5%) 및 고농도 (1.0%)로 첨가한 식이를 12주간 자유급식으로 제공하였다 (Table 1). 사육실의 온도는 21 ± 2°C, 습도는 55 ± 5%로 유지하였고, 명암은 12시간 간격으로 유지하였다. 동물

Table 1. Composition of basal and experimental diets (%)

Ingredient	Group			
	Control	HFHS	LAOB	HAOB
Corn starch ¹⁾	65.0	10.1	9.6	9.1
Casein ²⁾	20.0	20.0	20.0	20.0
Sucrose ³⁾	-	27.0	27.0	27.0
Alpha-cellulose ⁴⁾	5.0	-	-	-
Mineral mixture ⁵⁾	3.5	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture ⁶⁾	1.0	1.4	1.4	1.4
D,L-Methionone ⁴⁾	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate ⁴⁾	0.2	0.2	0.2	0.2
Tert-butyl hydroquinone ⁷⁾	0.001	0.007	0.007	0.007
Corn oil ³⁾	5.0	3.0	3.0	3.0
Lard ⁸⁾	-	33.0	33.0	33.0
Autumn olive berry extract	-	-	0.5	1.0

HFHS, high-fat, high-sucrose group; LAOB, low autumn olive berry group; HAOB, high autumn olive berry group.

¹⁾Daesang Co., Seoul, Korea.

²⁾ICN Pharmaceuticals Inc., Costa Mesa, CA, USA.

³⁾Cheiljedang Co., Seoul, Korea.

⁴⁾Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.

⁵⁾AIN-76 mineral mixture.

⁶⁾AIN-76 vitamin mixture.

⁷⁾Fluka Co. Milwaukee, WI, USA.

⁸⁾Lotte Foods Co., Ltd., Seoul, Korea.

의 체중과 식이 섭취량은 주 3회 측정하였고, 식이 섭취 효율 (feed efficiency ratio)은 체중 증가량을 식이 섭취량으로 나누어 계산하였다. 동물실험의 모든 과정은 인제대학교 동물자원 센터의 승인을 받아 진행하였다 (승인번호 2017-016).

시료수집

12주간의 사육기간이 지난 후, 마우스를 12시간 동안 절식시키고, 심장채혈법으로 희생시켰다. 혈액을 수집하여 1,500 × g에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 간조직과 부고환 지방을 수집하여 무게를 측정하였고, 간조직은 생리식염수로 세척하고 여과지를 사용하여 물기를 제거하였다. 수집한 간조직과 혈청은 -70°C에서 실험 전까지 보관하였다.

혈청 성분 분석

혈당, 혈청 중성지방, 콜레스테롤 및 high-density lipoprotein (HDL)-콜레스테롤 농도는 효소법에 의한 정량용 kit (Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)로 측정하였다. 혈청 인슐린 및 아디포넥틴 (adiponectin) 농도는 각각 mouse insulin kit (Mercodia, Uppsala, Sweden) 및 mouse adiponectin kit (Biovendor, Brno, Czech Republic)를 사용하여 enzyme-linked immunosorbent assay로 측정하였다. 인슐린 저항성 지표로 homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR)값을 Matthews 등 [18]의 방법에 따라 공복 인슐린 및 혈당치로부터 다음과 같은 계산식으로 산출하였다.

$$\text{HOMA-IR} = [\text{Fasting Plasma Insulin } (\mu\text{U/mL}) \times \text{Fasting Plasma Glucose } (\text{mmol/L})] / 22.5$$

간조직의 지질 함량 분석

간조직의 총 지질은 Folch 등 [19]이 제시한 방법을 변형하여 추출하였다. 간조직에 chloroform:methanol (2:1, v/v) 용매를 가하여 균질화시킨 후, 분액깔대기에 옮기고 증류수를 가하고 층을 분리시켰다. 하층액을 수집한 후 chloroform:methanol:water (8:4:3, v/v/v) 용매를 가한 다음 층을 분리시켰다. 하층액을 수집하여 rotary evaporator (EYELA FDU-1100; EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 농축시키고, chloroform으로 10 mL가 되도록 정용하여 사용하였다. 간조직의 총 지질량은 중량법으로, 중성지방 농도는 효소법에 의한 정량용 kit (Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)로 측정하였다.

간조직의 단백질 발현도 측정

간조직에 lysis buffer (PRO-PREP protein extraction solution; Intron Biotechnology, Seoul, Korea)를 가하여 균질화한 후, 13,000 × g로 4°C에서 30분간 원심분리하였다. 상층액을 취하고 단백질 농도를 BCA protein assay kit (INTRON Biotechnology)를 사용하여 측정하였다. Insulin receptor substrate (IRS)-2 및 adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) 단백질 발현을 측정하기 위하여 50 µg의 단백질을 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel을 사용하여 전기영동한 후, polyvinylidene membrane에 이동시켰다. 단백질이 부착된 membrane을 blocking solution (5% skim milk in PBST [10mM sodium phosphate, 0.9% NaCl, 0.1% Tween-20])에 담구어 상온에서 4시간 동안 blocking을 시행한 후, PBST를 사용해서 1:1,000으로 희석한 1차 항체와 4°C에서 24시간 동안 반응시키고 PBST로 3차례 세척하였다. Anti-IRS-2 antibody (IRS-2 rabbit IgG; Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA)와 anti-AMPK antibody (AMPK rabbit IgG; Cell Signaling Technology)를 1차 항체로 사용하였다.

Membrane을 1:1,000으로 희석한 2차 항체 (goat anti-rabbit-horseradish peroxidase antibody; Cell Signaling Technology)와 4°C에서 3시간 동안 반응시켰다. Membrane을 PBST로 3 차례 세척하고, enhanced chemiluminescence 용액 (GE Healthcare, Chalfont, St. Giles, UK)에 노출시킨 후, X-ray film (Fuji medical X-ray film; FUJIFILM Co., Tokyo, Japan)에 감광시켜 단백질 발현을 확인하고, ImageJ software (version 1.49; National Institute of Health, Bethesda, MD, USA)를 이용하여 발현을 정량화하였다. IRS-2 단백질의 발현은 GAPDH 발현량, AMPK 단백질의 발현은 β -actin 발현량으로 보정하여 정량 분석하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 평균 (mean) \pm 표준오차 (standard error)로 나타내었고. 유의성 검정을 위해 일원성 분산분석 (one-way analysis of variance)을 실시한 후, 사후검정에 Tukey's test를 사용하였다 ($p < 0.05$). 통계분석은 Statistics Analysis Systems (SAS) 통계프로그램 (ver 9.2; SAS Institute, Cary, NC, USA)을 사용하여 실시하였다.

결과

체중 및 부고환 지방무게

HFHS군의 체중과 체중 증가량,식이섭취효율은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$, **Table 2**). LAOB군 및 HAOB군의 체중과 체중 증가량,식이섭취효율은 HFHS군에 비해 감소하는 경향을 나타내었고, 대조군보다는 높게 나타났다. HAOB군의 부고환 지방무게는 HFHS군에 비해 유의하게 감소하였고 ($p < 0.05$), LAOB군의 부고환 지방무게는 HFHS군 및 HAOB군과 유의적인 차이가 없었다.

인슐린 저항성 및 고혈당 개선 효과

혈당 및 혈청 인슐린, HOMA-IR값, 아디포넥틴 농도를 조사한 결과를 **Table 3**에 제시하였다. HFHS군의 혈당, 인슐린 농도, HOMA-IR값은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). 그러나, LAOB 및 HAOB군의 공복혈당은 HFHS군보다 감소하였으며 ($p < 0.05$), 대조군과 유의적인 차이가 없었다. HAOB의 섭취는 HFHS군에 비해 인슐린 농도를 감소시켰고, LAOB 및 HAOB의 섭취는 HFHS군에 비해 HOMA-IR값을 감소시켰다. 네 군의 아디포넥틴 농도는 유의적인 차이가 없었다. HFHS 식이의 장기간 섭취는 IRS-2와 AMPK 단백질 발현도를

Table 2. Body weight, epididymal fat pad weight, food intake and feed efficiency ratio in the mice fed the experimental diets

Group	Control	HFHS	LAOB	HAOB
Initial body weight (g)	21.7 \pm 0.5 ^{ns}	21.8 \pm 0.5	21.8 \pm 0.5	21.9 \pm 0.5
Final body weight (g)	26.9 \pm 0.9 ^a	43.1 \pm 0.8 ^b	42.3 \pm 1.0 ^b	40.1 \pm 1.3 ^b
Weight gain (mg/day)	63 \pm 9 ^a	253 \pm 12 ^b	244 \pm 14 ^b	217 \pm 14 ^b
Epididymal fat pad weight (mg/g body weight)	16.1 \pm 1.4 ^a	35.1 \pm 1.8 ^c	32.7 \pm 1.7 ^{bc}	29.2 \pm 1.5 ^b
Food intake (g/day)	3.33 \pm 0.17 ^{ns}	3.21 \pm 0.12	3.18 \pm 0.12	3.09 \pm 0.06
Feed efficiency ratio ¹⁾ (%)	1.84 \pm 0.20 ^a	7.97 \pm 0.57 ^b	7.71 \pm 0.45 ^b	7.07 \pm 0.51 ^b

Values are mean \pm standard error (n = 7).

HFHS, high-fat, high-sucrose group; LAOB, low autumn olive berry group; HAOB, high autumn olive berry group; ns, not significant.

¹⁾Feed Efficiency Ratio (%) = Body Weight Gain (g/day)/Food Intake (g/day) \times 100.

Means in the same row not sharing a common letter are significantly different at $p < 0.05$.

Table 3. Serum glucose, insulin, HOMA-IR, and adiponectin levels in the mice fed the experimental diets

Group	Control	HFHS	LAOB	HAOB
Glucose (mg/dL)	121.0 ± 7.5 ^a	170.0 ± 8.7 ^b	141.1 ± 7.4 ^a	134.9 ± 8.2 ^a
Insulin (μU/mL)	16.9 ± 0.9 ^a	35.2 ± 2.7 ^c	30.1 ± 2.3 ^{bc}	26.9 ± 2.6 ^b
HOMA-IR ¹⁾	5.0 ± 0.4 ^a	14.5 ± 0.6 ^c	10.4 ± 0.8 ^b	9.0 ± 1.1 ^b
Adiponectin (ng/mL)	7.48 ± 0.63 ^{ns}	6.72 ± 0.45	8.18 ± 0.48	8.70 ± 0.78

Values are mean ± standard error (n = 7).

HFHS, high-fat, high-sucrose group; LAOB, low autumn olive berry group; HAOB, high autumn olive berry group; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; ns, not significant.

¹⁾HOMA-IR = (Insulin [μU/mL] × Glucose [mmol/L])/22.5.

Means in the same row not sharing a common letter are significantly different at p < 0.05.

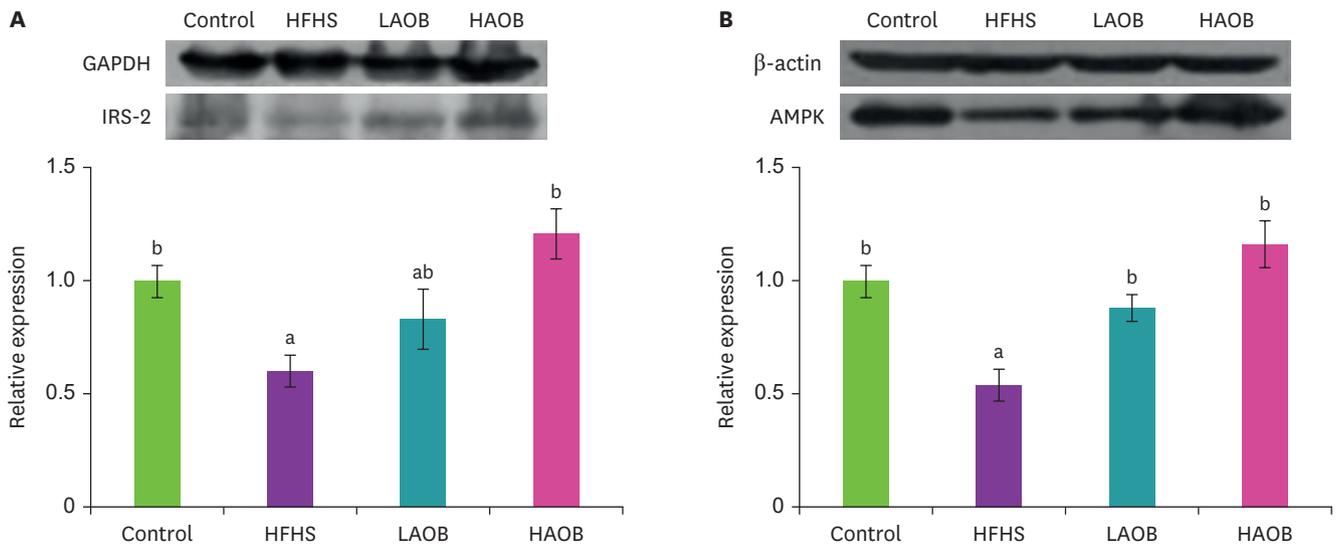


Fig. 1. Protein expression of IRS-2 (A) and AMPK (B) of the liver in the mice fed the experimental diets.

Eight-week-old C57BL/6J mice were fed a basal or HFHS diet with or without a 0.5% (LAOB) or 1.0% autumn olive berry extract (HAOB) for 12 weeks. Values represent mean ± standard error (n = 7). Bars that do not share a common letter are significantly different at p < 0.05.

IRS-2, insulin receptor substrate-2; GAPDH, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; AMPK, adenosine monophosphate-activated protein kinase; HFHS, high-fat, high-sucrose group; LAOB, low autumn olive berry group; HAOB, high autumn olive berry group.

대조군에 비해 유의적으로 감소시켰으나, HAOB 식이의 섭취는 IRS-2 발현도를 증가시켰고, LAOB 및 HAOB 식이의 섭취는 AMPK 발현도를 증가시켰다 (Fig. 1).

혈청 지질 및 간지질 개선 효과

HFHS군의 혈청 중성지방 및 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 증가하였으며, LAOB 및 HAOB 식이의 섭취는 혈청 중성지방 농도를, HAOB 식이의 섭취는 콜레스테롤 농도를 HFHS 군에 비해 유의적으로 감소시켰다 (p < 0.05, Table 4). 네 군의 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 간조직의 총 지질과 중성지방 농도는 대조군에 비해 유의적으로 증가되었으나, LAOB 및 HAOB의 섭취에 의해 유의적으로 감소되었다.

고찰

본 연구는 토종보리수 열매의 인슐린 저항성 개선 효과를 조사하기 위해 고지방·고단순당 함유 식이를 섭취하는 마우스에게 토종보리수 열매 추출물을 저농도 (식이의 0.5%) 및 고농도

Table 4. Serum and hepatic lipids in the mice fed the experimental diets

Group ¹⁾	Control	HFHS	LAOB	HAOB
Serum triglyceride (mg/dL)	98.5 ± 5.1 ^a	129.2 ± 7.0 ^b	106.1 ± 5.9 ^a	101.4 ± 6.4 ^a
Serum total cholesterol (mg/dL)	93.4 ± 6.7 ^a	138.8 ± 9.3 ^b	117.3 ± 6.3 ^{ab}	111.8 ± 6.2 ^a
Serum HDL-cholesterol (mg/dL)	51.5 ± 4.4 ^{ns}	59.1 ± 4.7	55.7 ± 3.4	61.2 ± 3.7
Hepatic total lipids (mg/g)	83.3 ± 5.5 ^a	149.0 ± 8.6 ^c	121.9 ± 6.0 ^b	114.3 ± 6.8 ^b
Hepatic triglyceride (mg/g)	16.8 ± 1.3 ^a	42.5 ± 2.7 ^c	34.2 ± 2.1 ^b	29.4 ± 2.7 ^b

Values are mean ± standard error (n = 7).

HFHS, high-fat, high-sucrose group; LAOB, low autumn olive berry group; HAOB, high autumn olive berry group; ns, not significant; HDL, high-density lipoprotein.

Means in the same row not sharing a common letter are significantly different at p < 0.05.

(식이의 1.0%) 수준으로 제공하여 인슐린 저항성 및 고혈당, 이상지질혈증에 미치는 영향을 조사하였다. C57BL/6J 마우스에서 HFHS 식이의 장기간 섭취는 비만과 제 2형 당뇨병을 유도한다고 보고되었다 [20-22]. 본 연구에서도 HFHS 식이는 C57BL/6J 마우스에서 체중과 체중 증가량, 부고환 지방무게를 증가시켰다. 토종보리수 열매 추출물을 고농도 수준으로 12주간 제공한 경우, HFHS군에 비해 내장지방인 부고환 지방무게를 유의적으로 감소시키고 체중을 감소시키는 경향을 나타내었고, 토종보리수 열매 추출물을 저농도 수준으로 제공한 경우, 부고환 지방무게를 감소시키는 경향을 나타내었다.

토종보리수 열매 추출물은 *in vitro*에서 췌장 리파아제 저해활성을 나타내었고, 중성지질을 경구 투여한 마우스에서 식후 혈청 중성지질 농도의 증가를 완만하게 하는 효과를 나타내었다 [23]. 췌장 리파아제는 식이의 중성지방을 소장에서 소화하는 단계에 관여하는 효소로, 이 효소를 저해하면 중성지방의 소화와 흡수 정도를 감소시켜, 비만 치료효과를 나타낸다 [24]. 선행연구에 의하면 췌장 리파아제 저해활성이 우수한 허니서클 베리 추출물을 마우스에게 고지방 식이와 같이 제공한 결과, 부고환 지방조직에서 지방산 합성 전사인자인 sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1c와 fatty acid synthase의 발현을 유의적으로 감소시켰으며, 지방세포크기와 부고환 지방 무게를 고지방 대조군에 비해 유의적으로 감소시켰다 [25]. 고농도 수준으로 제공한 토종보리수 열매 추출물이 HFHS군에 비해 부고환 지방무게를 감소시킨 것은 췌장 리파아제 저해활성에 기인한 것으로 사료된다. 향후 실험동물에게 고지방식이와 토종보리수 열매 추출물을 장기간 섭취시키고, 각 부위별 체지방 무게 및 지방 세포 크기, 분변으로 배설되는 지방의 양을 측정하여, 췌장 리파아제 저해활성을 *in vivo*에서 규명하는 연구가 필요하다고 사료된다.

HFHS 식이의 섭취는 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR값을 증가시키고 고혈당을 유도하였으나, 저농도 및 고농도 토종보리수 열매 추출물의 섭취는 인슐린 저항성을 개선하고 혈당을 낮추었다. 토종보리수 열매 추출물은 α-glucosidase 저해활성을 나타내고, 유전적인 제 2형 당뇨병 모델인 db/db mouse에서 공복 혈당과 당화혈색소를 감소시켰다 [17]. α-glucosidase 저해제의 장기간 섭취는 식후 고혈당을 완화함으로써 포도당 독성을 감소시켜 고혈당을 개선할 수 있다고 제시되었다 [26]. 따라서, 토종보리수 열매의 α-glucosidase 저해활성이 HFHS 식이로 유도된 고혈당을 완화시키는 데 기여한 것으로 사료된다. 아디포넥틴은 지방 세포에서 분비되는 사이토카인으로 인슐린 민감도를 높이고, 근육에서 지방산의 산화를 증가시켜 혈당을 감소시키고 체중 감소를 유도한다 [27]. 그러나, 본 연구에서 HFHS 식이를 섭취한 마우스에서 토종보리수 열매 추출물의 섭취는 아디포넥틴 농도에는 유의적인 영향을 주지 않았다.

마우스에서 HFHS 식이의 섭취는 간조직의 IRS-2 및 AMPK 단백질 발현을 억제하는 것으로 나타났는데, 이는 HFHS를 장기간 섭취한 C57BL/6J 마우스의 간조직에서 인슐린 신호전달인자들의 발현이 하향조절되어 인슐린저항성이 초래된다고 보고된 Yang 등 [21]의 연구 결과와 일치하였다. 토종보리수 열매 추출물의 섭취는 IRS-2 및 AMPK 단백질의 발현을 증가시킨 것으로 나타나, 토종보리수 열매는 인슐린 신호전달체계를 개선하는 것으로 사료된다. 인슐린이 표적기관의 수용체와 결합하면 인슐린 수용체 기질 (IRS)을 인산화시키고, 인산화된 IRS 단백질은 인슐린 신호전달 체계를 활성화한다 [28]. 활성화된 AMPK는 transducer of regulated CREB activity 2를 활성화하여, 간에서 당신생 합성과정을 억제시키고, 포도당이 근육세포로 유입되는 것을 촉진시켜 혈당을 감소시킨다. 따라서, AMPK는 메트포민과 같은 제 2형 당뇨병 치료제의 표적이 되고 있다 [29].

토종보리수 열매는 폴리페놀의 좋은 공급원으로 보고되었고, 열매의 떫은 맛은 폴리페놀에 기인한 것으로 제시되었다 [14-16,30]. 폴리페놀은 인슐린 신호전달 인자들을 상향조정하여 인슐린 민감성을 증가시키는 것으로 알려져 있다 [31,32]. 코코아의 주된 폴리페놀인 epicatechin은 HepG2 cell에서 IRS-1 및 IRS-2, AMPK 수준을 증가시켜 인슐린 저항성을 개선시켰다 [31]. Sadi 등 [32]은 resveratrol이 스트렙토조토신으로 제 1형 당뇨병을 유발한 흰쥐의 간에서 IRS-1, IRS-2, Akt 유전자 및 단백질 발현을 증가시키는 것으로 보고하였다. 따라서, 폴리페놀이 풍부한 토종보리수 열매 추출물의 장기간 섭취는 HFHS 식이로 제 2형 당뇨병을 유도한 마우스에서 인슐린 신호전달 체계를 개선하여 인슐린 저항성을 완화하고 공복혈당을 감소시킨 것으로 나타났다. 향후 토종보리수 열매로부터 인슐린 신호전달 인자를 상향조절하는 활성물질을 분리하는 연구가 필요하다고 사료된다.

인슐린 저항성은 지방조직에서 중성지방의 분해를 증가시켜 유리지방산을 혈액으로 방출시켜 간조직으로 다량 유입시킨다 [33]. 따라서, 간조직에서 중성지방 합성이 증가하여 축적되고, 중성지방을 함유한 VLDL이 간조직으로부터 혈액으로 다량 분비되어 이상지질혈증을 초래한다 [6]. HFHS 식이의 섭취로 인슐린 저항성이 초래된 마우스에서 간조직의 총지질 및 중성지방 함량과 혈청 중성지질 및 총콜레스테롤 농도가 증가하였다. 심혈관계 합병증은 제 2형 당뇨병 환자의 삶의 질을 떨어뜨리고 생명을 위협하는 심각한 합병증이다 [8]. 당뇨병 환자의 이상지질혈증은 고혈당과 함께 심혈관계 합병증을 초래하는 중요한 위험인자로 알려져 있다 [10].

토종보리수 열매 추출물의 섭취는 간조직의 총 지질 함량과 중성지방 농도를 감소시키고, 고중성지방혈증과 고콜레스테롤혈증을 개선시킨 것으로 나타났다. 폴리페놀류는 AMPK를 활성화시켜 간에서 지질합성에 관여하는 acetyl CoA carboxylase 활성을 저해하는 것으로 알려져 있다 [34,35]. 활성화된 AMPK는 중성지방 생합성 전사인자인 carbohydrate-responsive element-binding protein을 억제하고 SREBP-1c 발현을 감소시켜, 지방간과 이상지질혈증을 개선한다 [34,35]. 따라서, 토종보리수 열매의 폴리페놀 성분이 간조직의 지방 축적을 억제하는데 기여한 것으로 사료된다. 제 2형 당뇨병 환자는 건강한 사람에 비해 심혈관질환 위험이 4배 이상 높으며, 이는 혈당조절 능력이 저하될수록 위험도가 더욱 높아진다고 보고되었다 [36]. 당뇨병환자에서 중성지방을 감소시키는 치료는 심근경색, 뇌졸중과 같은 심혈관계 문제 및 사망률을 [37], 혈액 콜레스테롤의 저하는 정상인과 당뇨병환자에서 심혈관계 질환의 위험을 감소시켰다 [38]. 따라서, 제 2형 당뇨병 환자에 있어서 혈당조절을 비롯해 고중성지

방혈증과 고콜레스테롤혈증의 관리도 합병증의 관리 차원에서 매우 중요하다고 판단된다. 본 연구를 통해 토종보리수 열매는 지방간과 이상지질혈증을 개선한 것으로 나타나 심혈관계 합병증을 완화시킬 수 있는 소재로서의 가능성을 제시하였다.

요약

토종보리수 열매의 항당뇨 효과를 규명하기 위하여, 마우스를 네 군으로 나누어, 기본 식이, 고지방·고단순당 식이, 토종보리수 열매 추출물을 저농도 (0.5%) 및 고농도 (1.0%)로 첨가한 고지방·고단순당 식이를 12주간 제공하였다. 고지방·고단순당 식이를 섭취한 군은 대조군에 비해 체중 및 체중 증가량, 부고환 지방무게가 유의적으로 증가하였으나, 고농도 보리수 열매 추출물의 급여는 부고환 지방무게를 유의적으로 감소시켰다. 고지방·고단순당군은 대조군에 비해 혈당, 인슐린, HOMA-IR값이 유의적으로 증가하였으나, 고농도 보리수 열매 추출물은 인슐린 농도를 감소시켰고, 저농도 및 고농도 추출물은 혈당 및 HOMA-IR값을 감소시켰다. 고지방·고단순당군은 대조군에 비해 IRS-2 및 AMPK 단백질 발현도가 유의적으로 감소하였으나, 고농도 보리수 열매 추출물의 급여는 IRS-2 발현도를 증가시켰고, 저농도 및 고농도 보리수 열매 추출물의 급여는 AMPK 발현도를 증가시켰다. 따라서, 토종보리수 열매는 제 2형 당뇨병 동물에서 인슐린 저항성을 개선시켜 고혈당 개선효과를 나타낸 것으로 나타났다. 고지방·고단순당 식이를 섭취한 마우스에서 저농도 및 고농도 토종보리수 열매 추출물의 급여는 혈청 중성지방 농도 및 간조직의 총 지질과 중성지방 함량을 감소시켰고, 고농도 추출물의 급여는 혈청 콜레스테롤 농도를 감소시켜, 토종보리수 열매는 지방간과 이상지질혈증 개선효과를 나타내었다.

REFERENCES

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011; 34 Suppl 1(Suppl 1): S62-S69. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
2. Lovic D, Piperidou A, Zografou I, Grassos H, Pittaras A, Manolis A. The growing epidemic of diabetes mellitus. *Curr Vasc Pharmacol* 2020; 18(2): 104-109. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
3. Prasad M, Rajagopal P, Devarajan N, Veeraraghavan VP, Palanisamy CP, Cui B, et al. A comprehensive review on high-fat diet-induced diabetes mellitus: an epigenetic view. *J Nutr Biochem* 2022; 107: 109037. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
4. Lebovitz HE. Insulin resistance: definition and consequences. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109 Suppl 2: S135-S148. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
5. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1999; 104(6): 787-794. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
6. Matsuzaka T, Shimano H. New perspective on type 2 diabetes, dyslipidemia and non-alcoholic fatty liver disease. *J Diabetes Investig* 2020; 11(3): 532-534. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
7. Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2009; 5(3): 150-159. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
8. Orasanu G, Plutzky J. The pathologic continuum of diabetic vascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53(5 Suppl): S35-S42. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
9. Chamberlain JJ, Rhinehart AS, Shaefer CF Jr, Neuman A. Diagnosis and management of diabetes: synopsis of the 2016 American Diabetes Association standards of medical care in diabetes. *Ann Intern Med* 2016; 164(8): 542-552. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

10. Lazarte J, Hegele RA. Dyslipidemia management in adults with diabetes. *Can J Diabetes* 2020; 44(1): 53-60. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
11. Levetan C. Oral antidiabetic agents in type 2 diabetes. *Curr Med Res Opin* 2007; 23(4): 945-952. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
12. Agrawal N, Sharma M, Singh S, Goyal A. Recent advances of α -glucosidase inhibitors: a comprehensive review. *Curr Top Med Chem* 2022; 22(25): 2069-2086. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
13. Pei R, Yu M, Bruno R, Bolling BW. Phenolic and tocopherol content of autumn olive (*Elaeagnus umbellata*) berries. *J Funct Foods* 2015; 16: 305-314. [CROSSREF](#)
14. Gamba G, Donno D, Mellano MG, Riondato I, Biaggi MD, Randriamampionona D, et al. Phytochemical characterization and bioactivity evaluation of autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) pseudodrupes as potential sources of health-promoting compounds. *Appl Sci* 2020; 10(12): 4354. [CROSSREF](#)
15. Fordham IM, Clevidence BA, Wiley ER, Zimmerman RH. Fruit of autumn olive: a rich source of lycopene. *HortScience* 2001; 36(6): 1136-1137. [CROSSREF](#)
16. Khattak KF. Free radical scavenging activity, phytochemical composition and nutrient analysis of *Elaeagnus umbellata* berry. *J Med Plants Res* 2012; 6(39): 5196-5203. [CROSSREF](#)
17. Kim JI, Baek HJ, Han DW, Yun JA. Autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) berry reduces fasting and postprandial glucose levels in mice. *Nutr Res Pract* 2019; 13(1): 11-16. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
18. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7): 412-419. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
19. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1): 497-509. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
20. Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* 1988; 37(9): 1163-1167. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
21. Yang ZH, Miyahara H, Takeo J, Katayama M. Diet high in fat and sucrose induces rapid onset of obesity-related metabolic syndrome partly through rapid response of genes involved in lipogenesis, insulin signalling and inflammation in mice. *Diabetol Metab Syndr* 2012; 4(1): 32. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
22. Choi HN, Kang MJ, Lee SJ, Kim JI. Ameliorative effect of myricetin on insulin resistance in mice fed a high-fat, high-sucrose diet. *Nutr Res Pract* 2014; 8(5): 544-549. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
23. Kim JI, Jo AJ, Yun JA, Han DW, Baek HJ. Composition for preventing and treating of obesity or metabolic disease comprising *Elaeagnus umbellata* extracts. Korea patent KR 10-2110040. 2020 May 12.
24. Lunagariya NA, Patel NK, Jagtap SC, Bhutani KK. Inhibitors of pancreatic lipase: state of the art and clinical perspectives. *EXCLI J* 2014; 13: 897-921. [PUBMED](#)
25. Kim JY, Lee YS, Park EJ, Lee HJ. Honeysuckle berry (*Lonicera caerulea* L.) inhibits lipase activity and modulates the gut microbiota in high-fat diet-fed mice. *Molecules* 2022; 27(15): 4731. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
26. Lebovitz HE. α -Glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. *Diabetes Res* 1998; 6: 132-145.
27. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26(3): 439-451. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
28. Khalid M, Alkaabi J, Khan MA, Adem A. Insulin signal transduction perturbations in insulin resistance. *Int J Mol Sci* 2021; 22(16): 8590. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
29. Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, Hebrard S, Amouyal C, Mounier R, et al. Targeting the AMPK pathway for the treatment of Type 2 diabetes. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2009; 14(9): 3380-3400. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
30. Perkins-Veazie PM, Black BL, Fordham IM, Howard LR. Lycopene and total phenol content of autumn olive (*Elaeagnus umbellata*) selections. *HortScience* 2005; 40(30): 883-893. [CROSSREF](#)
31. Cordero-Herrera I, Martín MA, Bravo L, Goya L, Ramos S. Cocoa flavonoids improve insulin signalling and modulate glucose production via AKT and AMPK in HepG2 cells. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57(6): 974-985. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
32. Sadi G, Pektaş MB, Koca HB, Tosun M, Koca T. Resveratrol improves hepatic insulin signaling and reduces the inflammatory response in streptozotocin-induced diabetes. *Gene* 2015; 570(2): 213-220. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
33. Hirano T. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2018; 25(9): 771-782. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
34. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004; 114(2): 147-152. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

35. Zhang S, Xu M, Zhang W, Liu C, Chen S. Natural polyphenols in metabolic syndrome: protective mechanisms and clinical applications. *Int J Mol Sci* 2021; 22(11): 6110. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
36. Banach M, Surma S, Reiner Z, Katsiki N, Penson PE, Fras Z, et al. Personalized management of dyslipidemias in patients with diabetes-it is time for a new approach (2022). *Cardiovasc Diabetol* 2022; 21(1): 263. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
37. Yang XH, Tu QM, Li L, Guo YP, Wang NS, Jin HM. Triglyceride-lowering therapy for the prevention of cardiovascular events, stroke, and mortality in patients with diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis* 2023: 117187. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
38. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16(2): 434-444. [PUBMED](#) | [CROSSREF](#)