

## DHEA의 항비만 효능 및 ob 유전자 (leptin)의 발현에 미치는 영향

정기경 · 신미희 · 한형미 · 강석연 · 김태균 · 강주혜 · 문애리\* · 김승희#

식품의약품안전청 국립독성연구소 약리부, \*덕성여자대학교 약학대학

(Received March 30, 2000)

## The Effects of DHEA on the Antiobesity and Obese Gene Expression in Lean and Genetically Obese(ob/ob) Mice

Ki Kyung Jung, Mi Hee Shin, Hyung Mee Han, Seog Youn Kang, Tae Gyun Kim, Ju Hye Kang, Aree Moon\* and Seung Hee Kim#

Department of Pharmacology, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration, Nokbun-dong, Eunpyung-gu, Seoul, 122-704, Korea

\*College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul, 132-714, Korea

**Abstract** — Leptin, the product of the ob gene, is a small peptide molecule synthesized by white adipocytes with an important role in the regulation of body fat and food intake. Based on the evidence that synthesis of leptin is regulated by female sex hormone, estrogen, this present study was investigated whether sex hormone precursor, DHEA, can regulate obese gene expression in lean and genetically obese (ob/ob) mice. Antiobesity activity of DHEA was evaluated by determining body weight, food consumption, epididymal fat weight and serum levels of cholesterol and triglyceride in ICR, C57BL/6J, and ob/ob mice. The treatment of C57BL/6J lean and obese mice with a diet containing 0.3% and 0.6% DHEA resulted in lowered rates of weight gain in comparison to non-treated mice, although much greater response was found in the obese mice. All other concentrations of DHEA (0.015%, 0.06%, 0.15%, 0.3%) except the highest one(0.6%) showed no significant effects on weight gain in ICR mice. Food consumption was significantly decreased in all mice treated with 0.6% DHEA, whereas it was not decreased in ICR mice at lower concentrations than 0.6% DHEA. DHEA decreased significantly epididymal adipose tissue weight and serum triglyceride levels dose dependently in lean and obese mice. However, serum cholesterol levels were decreased at lower concentrations than 0.15% DHEA and increased at concentrations of 0.3% and 0.6% DHEA in lean and obese mice. These increases in serum cholesterol levels at high concentrations of DHEA might result from the fact that DHEA has a cholesterol moiety, thereby interfered the assay system. As an approach to elucidate the mechanism for antiobesity activity of DHEA, we examined mRNA levels of obese gene in the adipocyte and obese gene product (leptin) in the serum. The results showed that DHEA did not affect obese gene expression in ICR and C57BL/6J mice. Therefore, we concluded that antiobesity activity of DHEA was not modulated by obese gene expression.

**Keywords** □ Antiobesity, dehydroepiandrosterone, obese gene.

비만은 현대에 이르러 흡연과 함께 가장 중요한 건강문제로 대두되고 있으며 특히 청소년들의 항비만효과와 관련된 의약품 및 건강보조식품의 남용은 사회적

으로 많은 문제점을 야기시키고 있다. 비만은 일반적으로 에너지원의 섭취와 체내에서의 에너지 소비의 불균형에 의해 에너지원이 소비를 능가할 때 과도한 칼로리가 지방조직에 저장되는 현상이 지속됨으로써 유발된다. 비만증 환자의 일부는 당뇨, 고혈압, 동맥경화, 심장질환과 같은 성인병을 동반하므로 비만증의 치료

# 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-380-1812 (팩스) 02-380-1811

와 예방은 국민보건의 필수적인 요인이 된다. 그러나 비만으로 인한 체중 줄이기, 아름다운 몸매 가꾸기 등의 다이어트 식품 광고를 보거나 방문판매원에 의해 구입하여 복용한 결과 구토, 복통, 호흡곤란 등 부작용을 일으키거나 전혀 체중 감량 효과가 없어서 환불을 요구한 경우 등의 피해사례가 보고되고 있다. 따라서 건강보조식품이나 특수영양식품 등의 용도, 용법, 용량 등에 대하여 엄격한 심사를 거친 식품만이 판매, 광고할 수 있어야 하며 특히 이들에 대한 효능검색 및 작용기전 연구가 절실히 요구된다고 생각된다. 지금까지 비만에 대한 분자수준의 병리학적 기전은 밝혀져 있지 않지만 자연적으로 생긴 비만 쥐에서 유전적인 병인에 대하여 연구가 되어왔다. 설치류에서 비만에 관한 돌연변이가 일어난 위치는 다섯군데 밝혀져 있으며<sup>1)</sup> 그 중에서도 가장 활발하게 연구되고 있는 모델은 obese(ob)와 diabetes(db) mouse이다. ob/ob와 db/db mouse는 이미 수십년전에 chromosome 6과 4에 있는 단일 유전자의 돌연변이로 인해 생긴다는 것이 알려졌다<sup>2,3)</sup> 정확한 유전자 손상부위가 어딘지는 지난 수십년 동안 밝혀지지 않았다. 1970년대에 Coleman은 ob/ob와 db/db mouse를 이용한 parabiosis (외과적 수술에 의한 결합) 실험을 통해 체중을 조절하는 circulating factor가 있을 것이라고 제시하였다.<sup>4)</sup> 지난 20년동안 이 circulating factor를 분리하기 위해 노력하였으나 실패하였으며 1994년 Zhang 등이 positional cloning technique을 이용하여 ob gene을 cloning하고 그 유전자 산물이 167개의 아미노산으로 구성되어 있는 leptin임을 확인하였다.<sup>5)</sup> Leptin은 혈액으로 분비되면서 21개의 아미노산으로 된 signal peptide가 떨어져 나가고 나머지 146개의 아미노산으로 구성된 mature form을 형성한다. 이 leptin을 설치류에 투여했을 때 식욕억제와 체중감소효과가 있음이 보고되었으며 또한 leptin을 외측 혹은 3번 뇌실에 직접투여했을때도 같은 결과를 얻었으며 이는 중추신경계내에 있는 leptin receptor에 작용하여 energy balance를 조절한다는 것이 밝혀져 있다.<sup>6-9)</sup> Leptin의 발현에 영향을 미치는 요인으로는 과식과 절식, 체중증가와 감소등이 있으며 호르몬으로는 glucocorticoid, insulin, estrogen등이 있으며 그외 cytokine과 endo-toxin등이 leptin의 발현에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다. 특히 estrogen이 leptin 발현을 촉진한다는 연구보고를 토대로 본 연구에서는 성호르몬의 전구물질이며 건강

보조식품으로 알려진 DHEA의 항비만 효능을 체중감소, 식욕억제, 지방조직의 무게 변화, 혈중 콜레스테롤과 triglyceride의 변화로 측정된 후 ob 유전자의 발현에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

## 실험방법

### 시약 및 재료

DHEA는 Sigma chemical Co.(St. Louis, MD., U.S.A.)로부터 구입하였으며 Northern blot에 사용된 probe를 제조하기 위한 primer(A set: AATGTGCTGGAGACCCCTGT, CAGCATTTCAGGCTAACATC, B set: GAGGGATCCCTGCTCCAGCAGCTGCAAGGT, TACATGATTCTTGGGAGCCTGGTGGCCTTT)는 Gibco BRL로부터 구입하여 사용하였다. [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P] dCTP(250  $\mu$ Ci)는 Amersham Life Science Ltd. (Buckinghamshire HP7 9NA, England)로부터, mouse leptin RIA kit는 Linco Research Inc.(St. Louis MO, U.S.A.)로부터 구입하여 사용하였으며 그 외의 시약은 특급이상을 사용하였다.

### 실험동물

실험에 사용된 ICR과 C57BL/6J 마우스는 8주령으로서 국립독성연구소에서 수령 받았으며 C57BL/6J ob/ob 마우스는 16주령된 것을 연세대학교에서 구입하여 사용하였다. 사양관리는 온도 22 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 습도 50 $\pm$ 10%, 조도 120 Lux에서 실험기간에 따라 사육하였으며 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 시험물질 조제 및 투여

DHEA가 항비만 효과와 ob gene의 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 수컷 C57BL/6J와 ICR mice를 군당 10마리로 하여 DHEA의 농도를 0.015%, 0.06%, 0.15%, 0.30%, 0.60%되게 사료에 혼합하여 2주간 섭취시켰으며, ob/ob mice에는 군당 3마리로 하여 DHEA를 0.15%, 0.30%, 0.60%로하여 2주간 섭취시켰다.

### 항비만 효능측정

시험물질인 DHEA를 2주간 투여하는 동안 매일 체중과 사료섭취량을 측정하였으며 투여가 끝난 후

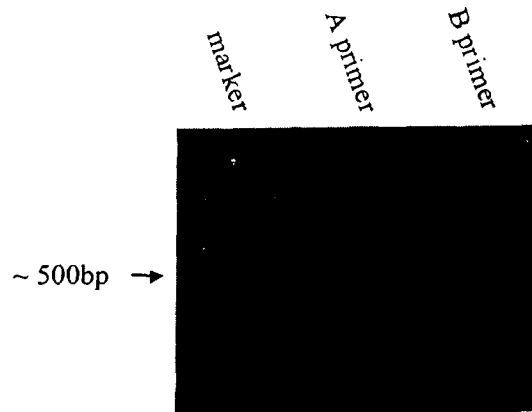
심장으로부터 채혈하여 전혈을 얻었으며 전혈을 5000×g로 10분간 원심분리하여 혈청을 제조하였다. 동물을 희생시켜 부고환 지방조직을 떼내어 무게를 측정하였다.

제조된 혈청으로부터 Technicon RA-XT system을 이용하여 total cholesterol과 triglyceride를 측정하였다.

**Ob gene 발현정도 측정**

**Mouse ob cDNA 제조** - mouse ob cDNA를 제조하기 위해 마우스 부고환 지방조직으로부터 TRIZOL reagent(Life Technologies Inc., Grand Island, N.Y. 14072 U.S.A.)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. cDNA 합성을 위해 RNA(5 µg)에 primer인 oligo(dT)(0.5 µg)와 DEPC-treated water(12 µl)를 더한 다음 70°C에서 10분간 반응시키고 1분간 얼음속에 방치하였다. RNA/primer 혼합물을 10×PCR buffer(2 µl), 25 mM MgCl<sub>2</sub>(2 µl), 10 mM dNTP mix (1 µl), 0.1M DTT(2 µl)를 함유한 반응액에 넣고 가볍게 혼합한 다음 42°C에서 5분간 반응시켰다. 이 반응액에 SUPERSCRIPT II RT(200 unit, Gibco BRL Inc.) (1 µl)를 첨가하고 42°C에서 50분간 반응시키고 반응 종결을 위해 70°C에서 15분간 반응후 얼음속에 방치한 후 RNase H(1 µl)를 넣고 37°C에서 20분간 다시 반응시켰다. ob cDNA를 증폭하기 위해 위의 RT 반응액(1 µl)에 2.5 units의 Ampli Tag DNA polymerase (Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, New Jersey, U.S.A.), 2 set의 primer (A set; primer 1: AATGTGCTGGAGACCCCTGT, primer 2: CAGCATTCAGGCTAACATC, B set; primer 1: GAGGGATCCCTGCTCCAGCAGCTGCAAG-GT, primer 2: TACATGATTCTTGGGAGCCTGGTGGCCTTT)를 각각 400 pmol, PCR 반응액(100 µl: provided by Perkin Elmer)을 넣고 94°C에서 3분, 95°C에서 30초, 58°C에서 45초, 72°C에서 45초(35 cycle)동안 PCR (GeneAmp PCR system 9600, Perkin Elmer Co.)을 수행하였다. 이 PCR products를 agarose gel에서 전기영동한 결과 약 500 bp와 550 bp였으며 이 중 500 bp cDNA를 RNA 분석을 위해 probe로 사용하였다(Fig. 1).

**Northern blot analysis** - Total RNA을 얻기 위해 지방조직 1g을 TRIZOL reagent(Life Techno-



**Fig. 1** - Electrophoretic patterns of RT-PCR products of total RNA from epididymal adipose tissue of mice. The arrow indicates amplified ob cDNA (about 500 bp).

logies, Grand Island, N.Y. 14072 U.S.A.)10 ml에 넣고 tissue mizer로 균질화한 다음 formamide 20 µl에 녹였다. RNA(20 µg)을 formaldehyde 반응액(20 µl)에 넣고 65°C에서 10분 동안 가열한 다음 2.2M formaldehyde를 함유하고 있는 1% agarose gel를 이용하여 전기영동하였다. gel을 Hybond-N nylon hybridization membrane(Amersham International plc)에 blotting하고 [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]dCTP random-priming labelled mouse ob cDNA probe로 hybridization한 다음 5×SSC와 0.1% SDS가 들어있는 용액으로 42°C에서 20분간 세척하였다. 이 membrane을 X-ray film에 노출시킨 다음 현상하고 Bio-image analyzer BAS 2000 (Fuji Film Institution, Tokyo, Japan)을 이용하여 band를 정량하였다.

**혈중 leptin 정량** - 제조된 혈청으로부터 Mouse leptin RIA kit(Linco Research Inc., St. Louis, MO, U.S.A.)를 이용하여 leptin을 정량하였다. 각 tube에 assay buffer(0.025M EDTA, 0.1% sodium azide, 0.05% triton X-100, 1% RIA grade BSA를 함유한 0.05M phosphosaline, pH 7.4) 100 µl, mouse leptin antibody 100 µl를 넣고 4°C에서 20시간 반응시켰다. 그 다음 [<sup>125</sup>I] mouse leptin(<3 µCi) 100 µl를 넣고 4°C에서 20시간 반응시킨다음 precipitating reagent 1.0 ml을 넣고 4°C에서 20분간 방치한 후 3000×g로 원심분리하고 상등액을 버린 다음 gamma counter(Hewlett Packard Co., Palo Alto, CA, U.S.A.)로 1분간 counting하였다.

### 통계처리

모든 실험결과는  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$ 로 표기하였으며 대조군과 투여군과의 차이는 Student's t-test로 유의성을 검정하였고  $P < 0.05$ 인 경우 유의성이 있다고 판정하였다.

### 실험결과

#### 항비만 효과

미국에서 건강보조식품으로 판매되고 있는 DHEA의 항비만 효과를 알아보기 위해 수컷 C57BL/6J lean mice와 ICR mice에는 DHEA를 0.015%, 0.06%, 0.15%, 0.30%, 0.60%로, 섭취시켰으며 C57BL/6J ob/ob mice에는 0.15%, 0.30%, 0.60%로 사료에 섞어 2주간 섭취시켰으며 C57BL/6J lean mice는 0.30%와 0.60%군에서 유의성 있는 체중 감소 효과를 보였으며 ICR mice에서는 0.60%군만이 유의성 있는 체중 감소변화를 보였다. C57BL/6J ob/ob mice의 경우 모든 군에서 DHEA 투여 다음날부터 용량 의존적으로 체중이 감소하였다(Fig. 2A, B, C).

DHEA 투여에 대한 사료섭취량을 관찰한 결과 C57BL/6J와 ICR mice에서는 투여 7일째까지 0.60%

군에서 유의성 있는 감소가 관찰되었으나 7일째 이후는 유의성 있는 변화가 없었으며 C57BL/6J ob/ob mice의 경우 0.30%와 0.60%에서 유의성 있는 감소효과를 보였다(Fig. 2D, E, F).

DHEA가 지방조직무게에 영향을 미치는지 알아보기 위해 2주간의 투여가 끝난 후 부검하여 부고환 지방조직을 떼내어 무게를 측정하였다. C57BL/6J lean mice에서는 0.15% 이상의 DHEA 투여군에서 부고환 지방조직의 무게를 유의성있게 감소시켰으며 ob/ob mice와 ICR mice에서는 모든 DHEA 투여군에서 용량 의존적으로 감소 경향을 보였으나 고용량 투여군인 0.6% DHEA투여군에서만 유의성있는 감소를 보였다(Fig. 3).

비만의 생화학적 지표중 혈중 cholesterol과 triglyceride에 대한 DHEA의 영향을 알아본 결과 혈중 cholesterol의 변화 양상은 저농도군에서는 감소경향을 보이나 고농도군(0.30%, 0.60%)에서는 오히려 증가하였다(Table D). 혈중 triglyceride는 C57BL/6J lean mice와 ob/ob mice의 전 농도군에서 유의성 있는 감소효과를 보였으며 ICR mice에서는 오히려 약간의 증가경향을 나타냈지만 유의성은 없었다(Table D).

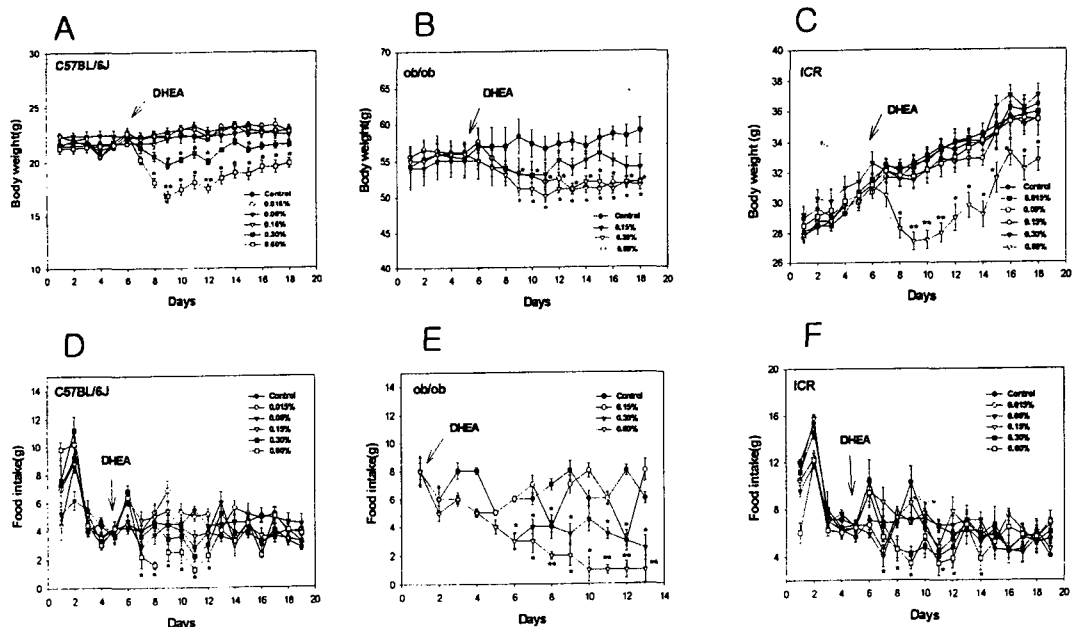


Fig. 2 - Effects of DHEA on body weight and food intake in C57BL/6J lean mice (A and D), C57BL/6J ob/ob mice (B and E), and ICR mice (C and F). Values for body weight and food intake are  $\text{mean} \pm \text{SE}$  and arrows represent first administration. \*significantly different from the control group ( $p < 0.05$ ) \*\*significantly different from the control group ( $p < 0.01$ )

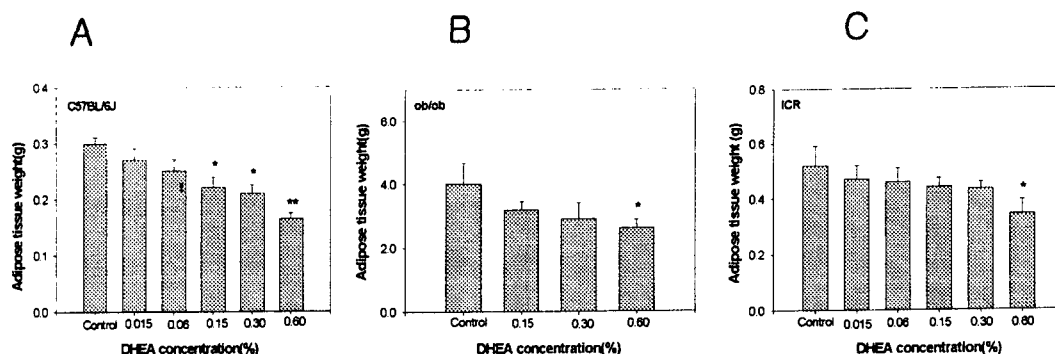


Fig. 3 – Effects of DHEA on epididymal adipose tissue weight in C57BL/6J lean mice(A), C57BL/6J ob/ob mice(B) and ICR mice(C). Values for body weight and food intake are mean ± SE. \*significantly different from the control group (p<0.05) \*\*significantly different from the control group (p<0.01)

Table I – Effects of DHEA on serum cholesterol and triglyceride in C57BL/6J lean, obese and ICR mice

A. C57BL/6J

Group	No	Serum cholesterol (mg/dl) (Mean ± SE)	Serum triglyceride (mg/dl) (Mean ± SE)
Control	6	89.1 ± 12.4	173.0 ± 14.8
0.015% DHEA	6	83.5 ± 2.1	148.0 ± 9.6
0.06% DHEA	6	94.9 ± 5.7	*126.3 ± 8.6
0.15% DHEA	6	78.6 ± 1.6	*132.9 ± 10.9
0.30% DHEA	6	118.6 ± 11.1	**107.0 ± 6.4
0.60% DHEA	6	*127.3 ± 8.40	**101.0 ± 1.2

B. ob/ob

Group	No	Serum cholesterol (mg/dl) (Mean ± SE)	Serum triglyceride (mg/dl) (Mean ± SE)
Control	3	233.0 ± 15.5	157.0 ± 15.1
0.15% DHEA	3	188.9 ± 25.3	*88.9 ± 12.4
0.30% DHEA	3	187.6 ± 18.8	*87.4 ± 10.3
0.60% DHEA	3	250.0 ± 15.1	*88.2 ± 19.1

C. ICR

Group	No	Serum cholesterol (mg/dl) (Mean ± SE)	Serum triglyceride (mg/dl) (Mean ± SE)
Control	6	164.8 ± 12.0	174.8 ± 14.4
0.015% DHEA	6	143.3 ± 12.3	170.7 ± 20.4
0.06% DHEA	6	142.0 ± 7.40	186.5 ± 24.1
0.15% DHEA	6	140.2 ± 8.09	181.0 ± 12.1
0.30% DHEA	6	169.5 ± 15.0	185.6 ± 17.1
0.60% DHEA	6	*198.3 ± 17.7	185.7 ± 36.0

\*Significantly different from the control group (p<0.05)

\*\*Significantly different from the control group (p<0.01)

Ob gene의 발현

DHEA의 항비만 효과가 ob gene 발현 조절을 통해 나타나는가를 알아보기 위해 mRNA level과 ob

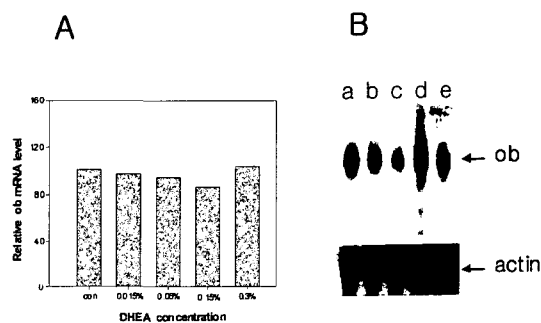
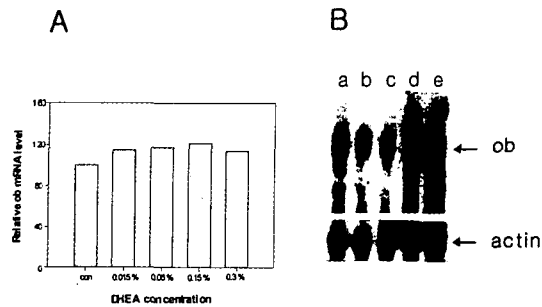


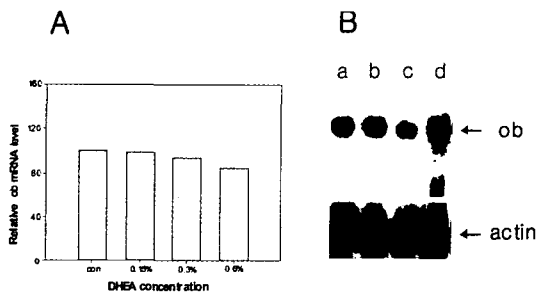
Fig. 4 – Expression levels of ob mRNA in epididymal adipose tissues of C57BL/6J lean mice after treatment with DHEA for 2 weeks. Relative mRNA levels quantitated by image analyser(A), and Northern blot analysis of epididymal adipose tissue(B) are shown as a function of DHEA concentrations. Lane(a) control; (b) DHEA 0.015%; (c) DHEA 0.06%; (d) DHEA 0.15%; (e) DHEA 0.30%

gene으로부터 합성된 leptin의 혈중 농도를 측정하였다. mRNA 분석을 위해 DHEA의 투여가 끝난 후 부고환지방조직을 떼내어 RNA를 분리한 다음 mouse ob cDNA probe(Fig. 1)를 사용하여 측정하였으며 image analyzer로 band를 분석하여 상대적인 mRNA 양으로 나타내었다. 이들 두 물질들에 대한 ob mRNA 발현은 세 종류의 mice 모두에서 변화가 없었다(Fig. 4, 5, 6). 그러나 lean mice의 mRNA 양보다 obese mice의 mRNA 양이 약 2.5배이상 더 많았다.

DHEA에 대한 혈중 leptin의 변화를 알아보기 위해 세 종류의 mice에 DHEA를 다양한 농도로 투여했을 때 C57BL/6J lean mice와 ICR mice에서는 대조군



**Fig. 5** - Expression levels of ob mRNA in epididymal adipose tissues of C57BL/6J ob/ob mice after treatment with DHEA for 2 weeks. Relative mRNA levels quantitated by image analyser(A), and Northern blot analysis of epididymal adipose tissue(B) are shown as a function of DHEA concentrations. Lane (a) control; (b) DHEA 0.15%; (c) DHEA 0.30%; (d) DHEA 0.60%



**Fig. 6** - Expression levels of ob mRNA in epididymal adipose tissues of ICR mice after treatment with DHEA for 2 weeks. Relative mRNA levels quantitated by image analyser(A), and Northern blot analysis of epididymal adipose tissue(B) are shown as a function of DHEA concentrations. Lane (a) control; (b) DHEA 0.015%; (c) DHEA 0.06%; (d) DHEA 0.15%; (e) DHEA 0.30%

**Table II** - Determination of serum leptin levels using mouse leptin RIA kit in ICR and C57BL/6J mice

Group	No	Serum leptin (ng/dl) (Mean $\pm$ SE)	
		C57BL/6J	ICR
Control	6	1.27 $\pm$ 0.06	1.32 $\pm$ 0.31
0.015% DHEA	6	1.07 $\pm$ 0.03	1.49 $\pm$ 0.20
0.06% DHEA	6	1.28 $\pm$ 0.12	1.37 $\pm$ 0.15
0.15% DHEA	6	1.23 $\pm$ 0.10	1.43 $\pm$ 0.11
0.30% DHEA	6	1.06 $\pm$ 0.12	1.54 $\pm$ 0.31
0.60% DHEA	6	1.06 $\pm$ 0.13	1.38 $\pm$ 0.18

에 비해 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며(Table II), C57BL/6J ob/ob mice의 경우에는 혈중 leptin이

검출되지 않았다.

## 고 찰

Leptin은 뇌의 중추신경계에 작용하여 식욕과 energy balance를 조절하는데 중요한 역할을 하며 leptin의 합성과 분비에 영향을 미치는 요인으로는 지방세포의 크기, glucocorticoids,  $17\beta$ -estradiol, insulin 등이 보고되어 있으며 이들 호르몬들은 leptin의 합성을 촉진한다고 보고되어 있다.<sup>11-14)</sup> 본 연구에서 시험물질로 사용된 DHEA는 sex hormone의 전구물질로서 thermogenesis에 관여하는 효소들을 유도하고<sup>15)</sup> metabolic efficiency를 낮추며<sup>16)</sup> glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)의 활성을 저해하여 NADPH 생성을 억제함으로써 지방 합성을 저해한다는 것이 보고<sup>17)</sup>되어 있으나 DHEA가 leptin 생성에 미치는 영향에 대해서는 연구된바 없다. 본 연구에서는 ob 유전자에 결함이 있는 유전적 비만쥐와 정상쥐를 사용하여 시험물질이 비만에 미치는 영향을 비교 측정하고자 하였으며 또한 ob gene의 발현에 미치는 영향을 측정하고자 하였다. DHEA를 사료에 섞어 2주간 섭취시켰을 때 wild type의 경우 DHEA 0.6%군에서 유의성 있는 체중 감소효과를 나타내었으며 obese type에서는 DHEA의 모든 투여군에서 유의성 있는 감소효과를 보이는 차이를 나타내었다. 또한 실험기간 동안 C57BL/6J lean mice와 ICR mice는 같은 8주령에서 시작하였으나 C57BL/6J lean mice에서는 체중증가에 변화가 거의 없었으나 ICR mice의 경우는 실험이 종료될 때까지 계속해서 체중이 증가한 것으로 보아 연령은 비슷하지만 두 동물간의 성장시기가 달라 DHEA에 대한 감수성이 다를 수도 있을 것으로 생각되었다. 본 실험의 결과에서도 C57BL/6J lean mice는 DHEA 0.3%와 0.6%군에서 체중감소 효과를 보였으며, obese type은 DHEA 0.15%이상의 군에서 체중감소 효과를 보였고 ICR mice의 경우, DHEA 0.6%군에서만 체중감소 효과가 있는 것으로 보아 inbred mice인 C57BL/6J mice가 outbred인 ICR mice보다 DHEA에 대한 감수성이 큰 것으로 사료되었다.

사료섭취량은 lean type의 경우 0.6% DHEA 투여군의 고용량군에서는 감소경향을 보였으나 유의성 있는 변화는 없었으며 obese mice에서는 0.30%와 0.60%에서 유의성 있는 감소효과를 보였다. Yen 등<sup>18)</sup>

은 Avy/a mice에 DHEA를 투여했을 때 식욕은 억제되지 않고 체중이 감소하였다고 보고하였으며 Schwartz 등<sup>19)</sup>도 C3H-Avy/A mice에서 DHEA가 식욕억제 없이 체중을 감소시켰다고 보고하였다. 그러나 Coleman 등<sup>20)</sup>은 DHEA가 대부분의 mutant obese mice에서는 식욕을 억제시키지 않았으나 ob/ob C57BL/6J에서 식욕억제 효과를 보였다고 보고하였으며 이러한 실험결과들은 DHEA가 대사효율을 감소시킨다는 것을 시사한다. 그렇지만 DHEA가 lean mice와 obese mice에서 서로 다른 식욕조절효과를 보이기 때문에 DHEA의 항비만 실험에서 식욕억제 효과를 제외할 수는 없을 것으로 보인다.

Mohan 등<sup>21)</sup>은 식이 유도 비만 동물모델에서 DHEA가 체중을 감소시킬 뿐만 아니라 지방조직의 무게, 혈중 콜레스테롤, 혈중 triglyceride의 농도를 감소시킨다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 DHEA가 C57BL/6J lean mice와 obese mice에서 부고환의 지방조직 무게와 혈중 triglyceride의 농도를 용량의존적으로 감소시켰으나 ICR mice의 경우, 지방조직의 무게는 감소되었으나 혈중 triglyceride는 유의성있는 변화를 보이지 않았다. 그러므로 DHEA가 두 strain에서 triglyceride의 분해에 관여하는 효소를 다르게 조절할 것으로 사료되었다. 그러나 혈중 cholesterol은 DHEA 0.15%까지는 감소경향을 보였으나 고용량군에서는 오히려 증가함을 보였으며 이는 시험물질인 DHEA가 cholesterol 모핵을 가지고 있으므로 cholesterol 함량 측정시 cholesterol과 동일한 반응을 일으킴으로써 DHEA가 cholesterol로 인식되기 때문인 것으로 사료되며 따라서 이를 배제할 수 있는 다른 측정법으로 분석되어야 할 것이다.

DHEA의 이러한 항비만 효과가 중추신경계에 직접적으로 작용하는지 또는 leptin의 합성을 변화시켜 작용하는지는 아직까지 보고되어 있지 않아 본 연구에서 C57BL/6J lean type과 obese type 그리고 ICR mice를 이용하여 DHEA가 leptin의 합성에 영향을 미치는지를 알아보기 위해 mRNA level과 ob gene product인 leptin을 측정한 결과 세가지 strain 모두에서 변화가 없었다. 그러나 Fig. 5에서 보는 바와 같이 lean mice의 mRNA 양보다 obese mice의 mRNA 양이 약 2.5배이상 더 많았다. 이러한 결과는 C57BL/6J ob/ob mice의 ob 대립 유전자 내에 돌연변이가 일어나 gene product인 leptin이 제기능을 하지 못함으로

써 feedback loop의 조절을 받을 것으로 생각되며, 또한 C57BL/6J ob/ob mice의 경우에는 혈중 leptin이 검출되지 않았는데 이는 ob gene의 105번째 아미노산(Arg) codon(CGA)이 stop codon(TGA)로 바뀌어 정상적인 leptin이 합성되지 않은 것으로 생각된다. 따라서 DHEA의 항비만 효능은 음성 mouse에서 ob 유전자 발현을 통해서 나타나는 것이 아니라 다른 경로를 통해서 항비만 효과를 나타내는 것으로 사료된다. 이러한 결과는 DHEA가 estrogen의 전구물질임에도 불구하고 female에서의 estrogen에 의한 leptin 생성 촉진 효과와 달리, male에서는 leptin 생성에 영향을 미치지 않은 점으로 보아 male과 female mice에서 DHEA의 대사가 다르기 때문인 것으로 사료된다. 최근 Pineiro 등<sup>22)</sup>은 Dihydrotestosterone, androstenedione, dehydroepiandrosterone sulfate(DHEA-S)가 여성의 지방조직을 배양한 *in vitro* system에서 leptin 분비를 억제하였으며 남성의 지방조직에서는 그러한 효과가 없었을 뿐만 아니라 testosterone은 두가지 모델 모두에서 효과가 없었다고 보고하였다. 따라서 본 연구결과와 이들의 연구결과를 종합해볼 때 DHEA는 female 동물에서 leptin의 발현에 간접적으로 작용할 수 있다는 것을 시사한다. 향후, obese female animal model을 이용하여 DHEA와 leptin 발현과의 상관관계를 연구해 볼 필요가 있다고 사료된다.

## 문 헌

- 1) Friedman, J. M. and Leibel R. L. : Trackling a weighty problem. *Cell* **69**, 217 (1992).
- 2) Ingalls, A. M., Diclie, M. M. and Snell, G. D. : Obese, a new mutation in the mouse. *J. Hered.* **41**, 317 (1950).
- 3) Hummel, K. P., Dickie, M. M. and Coleman, D. L. : Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* **153**, 1127 (1966).
- 4) Coleman, D. L. : Effects of parabiosis of obese and diabetes and normal mice. *Diabetologia* **9**, 294 (1973).
- 5) Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. and Friedman, J. M. : Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**, 425 (1994).
- 6) Campfield, A. L., Smith, F. J., Guisea, Y., Devos, R.

- and Burn, P : Recombinant mouse OB protein : evidence for a peripheral signal linking a adiposity and central neural networks. *Science* **269**, 546 (1995).
- 7) Halaas, J. L., Gajiwala, K. S., Maffei, M., Cohen, S. L., Chait, B. T., Rabinowitz, D., Lallone, R. L., Burley, S. K., Freidman, J. M. : Weight reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* **269**, 543 (1995).
  - 8) Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., Baker, M. B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T. and Collins, F. : Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* **269**, 540 (1995).
  - 9) Stephens, T. W., Bashinski, M., Bristow, P. K., Bue-Valleskey J. M., Burgett, S. G., Craft, L., Hale, J., Hoffmann, J., Hsiung, H. M., Kriauciunas, A., Mackellar, W., Rosteck, P. R., Schoner, B., Smith, D., Tinsley, F. C., Zhang X. Y. and Helman, M. : The role of neuropeptide Y in the anti-obesity action of the obese gene product. *Nature* **377**, 530 (1995).
  - 10) Gura, T. : Obesity sheds its secrets. *Science* **275**, 751 (1997).
  - 11) Hamilton, B. S., Paglia, D., Kwan, A. Y. M. and Deitel, M. : Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese human. *Nature-Med.* **1**, 953 (1995).
  - 12) De Vos, P., Saladin R., Auwerx, J. and Staels B. : Induction of ob gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. *J. Biol. Chem.* **270**, 15958 (1995).
  - 13) Murakami, T., Iida, M. and Shima, K. : Dexamethasone regulates obese expression in isolated rat adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **214**, 126 (1995).
  - 14) Saladin, R., De Vos, P., Guerre-Millo, M., Leturque, A., Girard, J., Staels, B. and Auwerx J. : Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* **377**, 527 (1995).
  - 15) Jonathan, R. S., Arch, M. A. and Phil, D. : The contribution of increased thermogenesis to the effect of anorectic drugs on body composition in mice. *Am. J. Clin. Nutr.* **34**, 2763 (1981).
  - 16) Mohan, P. F. and Cleary, M. P. : Effect of short-term DHEA administration on liver metabolism of lean and obese rats. *Am. J. Physiol.* **255**, E1 (1988).
  - 17) Granholm, N. H., Staber, L. D. and Wilkin, P. J. : Effects of dehydroepiandrosterone on obesity and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in the lethal yellow mouse (strain 129/Sv-Ay/Aw). *J. Exp. Zool.* **242**, 67 (1987).
  - 18) Yen, T. T., Allan, J. A., Pearson, D. V., Acton, J. M. and Greenberg, M. M. : Prevention of obesity in Avy/a mice by dehydroepiandrosterone. *Lipids* **12**, 409 (1977).
  - 19) Schwartz A. G., Hard, G. C., Pashko, L. L., Abou-Gharbia, M. and Swern, D. : Dehydroepiandrosterone : an anti-obesity and anti-carcinogenic agent. *Nutr. Cancer* **3**, 46 (1981).
  - 20) Coleman, D. L., Schwizer, R. W. and Leiter, E. H. : Effect of genetic background on the therapeutic effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) in diabetes-obesity mutants and in aged normal mice. *Diabetes* **33**, 26 (1984).
  - 21) Mohan, P. F., Ihnen, J. S., Levin, B. E. and Cleary, M. P. : Effects of dehydroepiandrosterone treatment in rats with diet induced obesity. *J. Nutr.* **120**, 1103 (1990).
  - 22) Pineiro, V., Casabiell, X., Peino, R., Lage, M., Camina, J. P., Menendez, C., Balter, J., Dieguez, C. and Casanueva, F. : Dihydrotestosterone, stanozolol, androstendione and dehydroepiandrosterone sulphate inhibit leptin secretion in female but not in male samples of omental adipose tissue in vitro: lack of effect of testosterone. *J. Endocrinol.* **160**, 425 (1999).