

고지방식이 마우스 비만모델에서 발효대두파우더의 체중증가량 변화와 지방간 개선

총배급¹, 이희영¹, 이혜림¹, 정해경¹, 윤연미², 윤미정³, 박선동⁴, 신순식¹

¹동의대학교 한의과대학 방제학교실 및 한의학연구소, ²동국대학교 사회과학대학 사회복지학과

³목원대학교 바이오건강학부, ⁴동국대학교 한의과대학 방제학교실

ABSTRACT

Fermented Soybean Powder Reduces Body Weight Gain and Improves Hepatic Lipid Accumulation in High Fat Diet-Fed Obese Male C57BL/6N Mice

Pei-Chin Tsung¹, Hee-Young Lee¹, Hye-Rim Lee¹, Hae-Gyeong Jeong¹,
Yuan-Mi Yin², Mi-Chung Yoon³, Sun-Dong Park⁴, Soon-Shik Shin¹

¹Dept. of Formula Science, College of Oriental Medicine & Research Institute of Oriental Medicine,
Dong-Eui University

²Dept. of Social Welfare, College of Social Science and ⁴Dept. of Formula Science, College of Oriental
Medicine, Dong-Guk University

³Dept. of Life Sciences, Mok-Won University

Objectives : We investigated the effects of fermented soybean(FSOB) on body weight and examined whether hepatic lipid accumulation are inhibited by it in high fat diet-fed obese male mice.

-
- 교신저자 : 신순식
 - 부산시 부산진구 양정2동 산45-1 동의대학교 한의과대학 방제학교실
 - Tel : 051-850-7414 E-mail : ssshin@deu.ac.kr
 - 접수 : 2010/ 11/ 27 수정 : 2010/ 12/ 01 채택 : 2010/ 12/ 08

Methods : 8 weeks old, high fat diet-fed obese male mice were divided into 5 groups: C57BL/6N normal, control, FSOB(1), (2) and (3). After mice were treated with FSOB for 9 weeks, we measured body weight gain, food intake, feeding efficiency ratio, fat weight, plasma leptin and lipid levels. We also did histological analysis for liver and fat on the mice.

Results :

1. Compared with controls, FSOB-treated mice had lower body weight gain and adipose tissue weight, the magnitudes of which were prominent in FSOB(3) and FSOB(1).

2. Compared with controls, FSOB-treated mice had lower feeding efficiency ratio and blood plasma leptin levels, the magnitude of which was prominent in FSOB(3).

3. Compared with controls, FSOB-treated mice had lower blood plasma total cholesterol and LDL-cholesterol levels.

4. Blood plasma AST and ALT concentrations were not changed by FSOB, indicating FSOB do not show any toxic effects.

5. Consistent with their effects on body weight gain, the size of adipocytes were significantly decreased by FSOB, whereas the adipocyte number per unit area was significantly increased, suggesting that FSOB decreased the number of large adipocytes. Hepatic lipid accumulation was decreased by FSOB.

Conclusions : These results demonstrate that FSOB effectively reduces body weight gain, feeding efficiency ratio, blood plasma leptin level and improves hepatic lipid accumulation.

Key word : fermented soybean, body weight gain, hepatic lipid accumulation

1. 緒 論

大豆(*Glycine max(L.) Merr.*)에는 비교적 풍부한 단백질, 지방과 탄수화물, carotene, vitamin B1, B2, nicotinic acid 등이 있다. 또한 soyasapogenol A, B, C, D, E의 isoflavone류가 들어 있으며, xylose, galactose, arabinose, rhamnose와 glucuronic acid와 같은 aglycone과 결합한 당이 들어 있고 aglycone

과 당의 비율은 1:1이다. 그밖에 choline, folic acid, folinic acid, pantothenic acid, biotin, sialic acid, vitamin B12와 가수분해산물중의 levulinic acid가 들어 있다¹⁾. 대두에 존재하는 isoflavones와 saponin 등의 활성물질이 *Bacillus subtilis*와 반응하여 생성된 발효산물 등에 의해서 다양한 기능성을 갖게 된다²⁾. 특히 isoflavones는 여성 호르몬인 estrogen과 구조가 유사하여 phytoestrogen으로 분

류되며³⁾, 항암효과, 고혈압 및 심혈관계 질환 예방 효과, 항산화 효과, 그밖에 폐경기 증후군, 골다공증 등에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다⁴⁻⁹⁾.

지방간은 지방(주로 중성지방)이 간 무게의 5% 이상인 경우로 정의한다. 지방간은 음주유무에 따라 크게 알코올성 지방간질환(alcoholic fatty liver disease, AFLD)과 비알코올성 지방간질환(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)으로 구분한다. 이의 구분은 임상적, 생화학적 및 간조직 생검으로는 감별을 할 수 없고 오직 음주량으로만 가능하다. 비알코올성 지방간질환은 대사증후군의 진단 기준에는 포함되지 않지만 대사증후군의 중요한 구성 인자로 인식되고 있다. 우리나라의 유병률은 성인 남자에서 21.6%, 성인 여자에서 11.2%로 총 16.1%로 확인되었다¹⁰⁾. 인슐린저항성은 NAFLD의 가장 중요한 인자로 알려져 있다¹¹⁾. 인슐린저항성과 관련이 있는 비만, 제2형 당뇨병 및 이상지혈증 등에서 흔히 NAFLD가 동반된다¹²⁻¹³⁾.

임상에서 발효대두파우더를 보조적으로 사용한 결과 지방간개선효과가 있는 것으로 나타나 동물 실험상에서도 같은 효과가 있는지를 검증하고자 본 실험을 수행하게 되었다. 본 연구에서는 8주령의 고지방식이 유발 수컷 마우스 비만모델을 이용하여 대두의 발효제품인 발효대두파우더의 투여가 체중증가량, 식이효율, 혈중 비만조절관련 지표와 독성지표, 지방조직의 무게는 어떻게 변화하는지, 그리고 지방간의 개선에는 어떤 영향을 주는 지에 대해서 조사하였다.

II. 실험재료 및 연구방법

1. 실험재료

1) 실험동물

공시동물로서는 KOATECH (Gyeonggi province, South Korea)에서 공급한 8주령의 C57BL/6N 수컷 마우스 40마리를 사용하였다. 각 군 당 8마리

를 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시하고, 이를 실험에 사용하였다.

사육환경은 온도 21±2 °C, 습도 55±5 %, 환기 횟수 15~17 회/hour, 조도 150~300 lux, 그리고 조명은 12시간 명암(점등: 06:00, 소등: 18:00)으로 조정하여 실험 기간동안 일정하게 SPF(specific pathogen free) 상태로 유지하였다. 고품사료(Harlan, USA)와 물은 자유 급이와 급수를 시켰다.

2) 실험물질

실험물질은(주)소미노네츄럴(Busan, South Korea)에서 제공한 발효대두파우더(FSOB)이다. 이는 국내산 대두를 미세분말한 후 유산균(락토바실러스균, 비피더스균, 코카스균 외)과 프락토올리고당, 기타 물질로 발효 후 올리고당과 함초, 게르마늄 등으로 알파공법의 오곡을 첨가하고 분쇄한 분말을 사용하였고, 대조물질은 autoclaved water(멸균수)를 사용하였다.

3) 실험군 및 투여방법

군당 8마리 수컷을 공시하였으며, 발효대두파우더를 1000, 2500, 5000mg/kg의 농도별로 45kcal% 고지방식이 사료에 혼합하여 9주간 투여하였다(Table 2).

Table 1. Experimental groups

Group	Treatment	Number	Sex
Normal	Low fat	8	male
	High fat (45kcal%) + FSOB (mg/kg BW)		
Control	0	8	male
FSOB(1)	1,000	8	male
FSOB(2)	2,500	8	male
FSOB(3)	5,000	8	male

2. 연구방법

1) 체중증가량 측정

FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)이 체중증가량에는 어떤 변화를 주는지 알아보기 위하여 매주 2회 9주 동안 체중을 측정하고, 이를 근거로 하여 체중증가량을 계산하였다.

2) 식이효율 측정

FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)이 식육과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 체중은 매주 2회, 사료섭취량은 매주 1회 9주 동안 측정하였고, 이를 근거로 하여 식이효율을 계산하였다.

3) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 실험시작 9주 후 12시간 절식한 뒤 diethyl ether로 마취한 다음 개복하여 복대정맥에서 혈액 1ml을 채취하였으며, 고속원심분리기(Micro 12, Hanil, Korea)를 이용하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 분리된 혈장은 냉동고(-20℃)에 보관하고 혈액생화학분석기(Selectra 2, Vitalab, Netherlands)를 사용하여 aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, triglyceride, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol(HDL-cholesterol), low density lipoprotein cholesterol(LDL-cholesterol), free fatty acid, glucose, insulin과 leptin의 혈중 농도를 각각 측정하였다.

4) 동물부검

채혈한 뒤에 부검하여 지방조직, 간장, 췌장, 비장, 심장과 신장의 무게를 측정하고, 이들의 크기와 색깔을 관찰하였다.

5) 조직의 형태학적 분석

마우스에서 분리한 조직은 10% phosphate-buffered formalin에서 하루 이상 고정하며 12시간 이상 흐르는 물에서 formalin을 세척한 후 60% ethanol에서 1시간, 70% ethanol에서 1시간, 80% ethanol에서 1시간, 90% ethanol에서 1시간, 95% ethanol에서 1시간, 100% ethanol에서 1시간 씩 단계적으로 탈수시켰다. Xylen에 1시간씩 3번의 투명과정 후 paraffin에 1시간 씩 2번 침투과정을 실시한다. 포매과정(embedding)을 거쳐 약 3 μm의 두께로 박절(paraffin-section)하여 slide 위에 조직을 얹고 건조시킨 후 hematoxylin-eosin 염색을 하였다. Slide의 물기를 없애고 mounting medium(Sigma, MO, USA)을 떨어뜨린 후 조직과 cover glass 주위에 공기가 생기지 않도록 주의하면서 cover glass를

덮어 영구보존 할 수 있도록 하였다. 조직의 사진촬영과 지방세포의 수 및 크기분석은 image analysis system(Image Pro-Plus, MD, USA)을 이용하였다.

3. 통계분석

모든 값은 mean ± standard deviation (SD)으로 표시하며, OriginLab Version 7.5 (OriginLab Corporation, MA, USA)의 one way ANOVA를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

III. 實驗 結果

1. 체중 증가량과 지방무게

FSOB(1)은 대조군에 비하여 3일째부터 통계적으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여 (P<0.05) 6일째까지 계속되었고, 다시 7일째부터 9일째까지 체중 감소변화가 없다가 그 이후 10일째부터 21일째까지 체중 감소가 계속되었고(P<0.05), 그 이후 27일째까지 체중 감소변화가 없다가, 다시 28일째부터 31일째까지 체중이 감소하였다(P<0.05). 그 이후 41일째까지 체중 감소변화가 없다가, 42일째부터 다시 체중이 감소하기 시작하여 (P<0.05) 점차 체중 감소량이 증가하여 마지막까지 계속되었다(P<0.001).

FSOB(2)는 대조군에 비하여 10일째부터 통계적으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여(P<0.05) 13일째까지 계속되었고, 그 이후 14일째부터 16일째까지 체중 감소변화가 없다가, 다시 17일째부터 21일째까지 체중이 감소하였다(P<0.05). 그 이후 22일째부터 27일째까지 체중 감소변화가 없다가, 다시 28일째부터 31일째까지 체중이 감소하였고(P<0.05), 그 이후 32일째부터 44일째까지 체중 감소변화가 없다가 다시 45일째부터 체중이 감소하기 시작하여(P<0.05) 마지막까지 그 체중 감소량이 더 증가하였다(P<0.001).

FSOB(3)은 대조군에 비하여 3일째부터 통계적

으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여 ($P<0.01$) 체중 감소량이 줄었다가 10일째부터 체중 감소량이 늘기 시작하여($P<0.001$) 17일째까지 계속되었고, 21일째까지 체중 감소량이 조금 줄었다($P<0.01$). 그 이후 22일째부터 27일째까지 체중 감소변화가 없다가 28일째부터 체중이 감소하기 시작하여($P<0.05$) 31일째까지 계속되었고, 32일째부터 41일째까지 체중 감소변화가 없었다. 그 이후 42일째부터 다시 체중이 감소하기 시작하여 ($P<0.05$) 44일째까지 계속되었고 다시 45일째부터 체중감소가 더 늘어나기 시작하여($P<0.01$) 52일째까지 계속되었고, 56일째부터 마지막까지 체중감소가 좀더 증가하였다($P<0.001$)(Fig. 1-A).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 15.98%, FSOB(2)는 10.04%, FSOB(3)은 16.22%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

9주 동안 약물을 투여한 뒤에 부검하여 생식기 주변 백색지방조직(epididymal adipose tissue, EAT), 후복벽 주변 백색지방조직(retroperitoneal adipose tissue, RAT), 사타구니 주변 피하지방조직(inguinal adipose tissue, IAT)과 갈색지방조직(brown adipose tissue, BAT)의 무게를 측정하였다. EAT와 RAT의 무게는 FSOB(1)과 FSOB(3)에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 적은 것으로 나타났으며, BAT의 무게는 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3) 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 적은 것으로 나타났다. IAT의 무게는 세 농도 모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없는 것으로 나타났다(Fig. 1-B).

이를 백분율로 환산하면, EAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 14.42%, FSOB(2)는 5.18%, FSOB(3)은 11.90%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, RAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 10.00%, FSOB(2)는 4.06%, FSOB(3)은 7.70%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나

타났으며, IAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 6.22%, FSOB(2)는 -2.30%, FSOB(3)은 3.64%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, BAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 12.00%, FSOB(2)는 12.00%, FSOB(3)은 14.28%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. 세 농도 중 EAT, RAT와 IAT의 경우 FSOB(1)에서, BAT의 경우 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

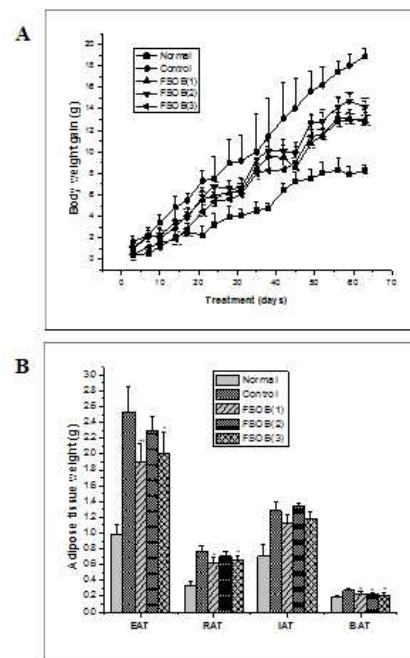


Fig. 1. Changes in body weight gain(A) and Adipose tissue weights(B) in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** <0.001 significantly different from control. FSOB = fermented soybean; EAT = epididymal adipose tissue; RAT = retroperitoneal adipose tissue; IAT = inguinal adipose tissue; BAT = brown adipose tissue.

2. 식이효율과 혈중 leptin 농도

식이효율은 아래의 공식에 대입시켜 최종 체중 증가량을 총 사료섭취량으로 나누어 산출하고 통

계분석하였다.

식이효율(feeding efficiency ratio: FER%) = $\frac{\text{체중증가량(g)}}{\text{사료섭취량(g)}} \times 100^{14-15}$

식이효율은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다($P < 0.001$)(Fig. 2-A).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군에 비하여

FSOB(1)은 16.56%, FSOB(2)는 9.58%, FSOB(3)은 17.90%의 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

실험시작 9주 후 혈장 내 leptin의 양을 측정된 결과, 그 값이 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다(Fig. 2-B).

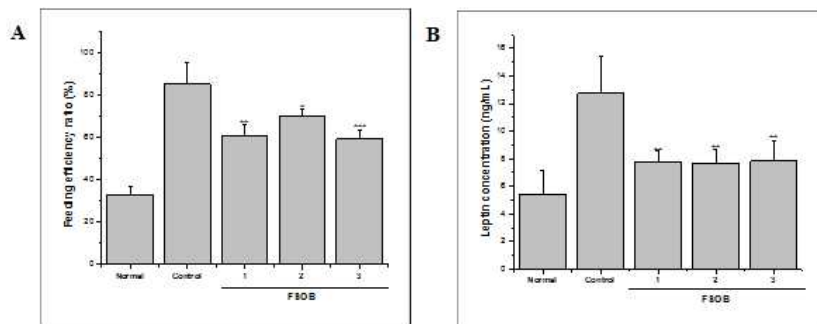


Fig. 2. Reduction of total feeding efficiency ratio (A) and fasting plasma leptin levels(B) in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** < 0.001 significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

3. 혈액생화학분석

1) 혈중 aspartate aminotransferase와 alanine aminotransferase 농도

실험시작 9주 후 혈장 내 aspartate aminotransferase와 alanine aminotransferase의 양을 측정된 결과, aspartate aminotransferase의 값은 FSOB(1)과 FSOB(2)는 대조군에 비하여 높게, FSOB(3)은 낮게 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 3-A). alanine aminotransferase의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮게 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났(Fig. 3-B).

2) 혈중 total cholesterol, HDL-cholesterol과 LDL

-cholesterol 농도

실험시작 9주 후 혈장 내 total cholesterol, HDL-cholesterol과 LDL-cholesterol의 양을 측정된 결과, total cholesterol의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(2)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났(Fig. 4-A). HDL-cholesterol의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(2)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났(Fig. 4-B). LDL-cholesterol의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나

타났으며, 세 농도 중 FSOB(1)과 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다(Fig. 4-C).

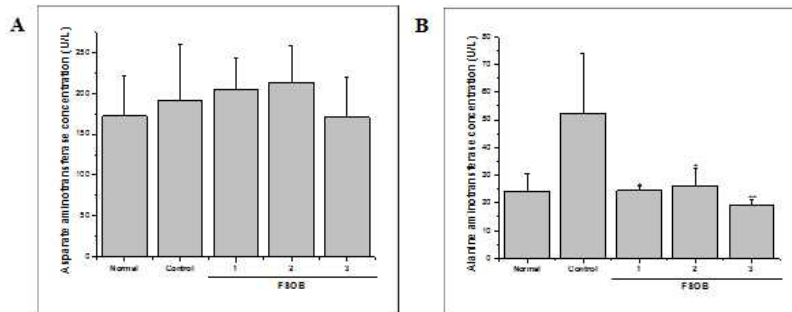


Fig. 3. Fasting plasma aspartate aminotransferase(A) and alanine aminotransferase(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

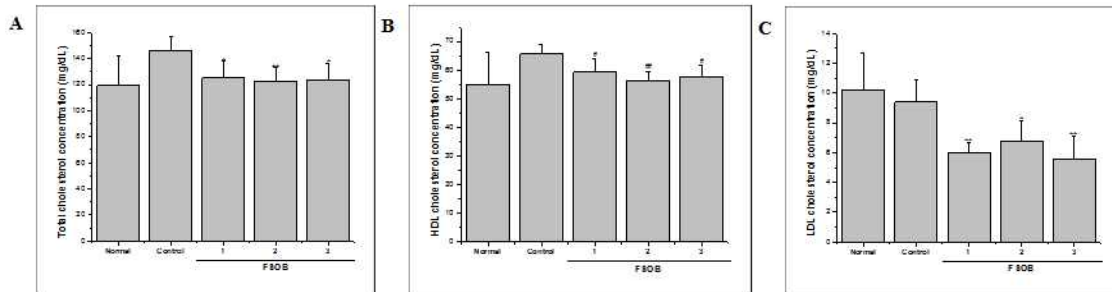


Fig. 4. Fasting plasma total cholesterol(A), HDL-cholesterol(B) and LDL-cholesterol(C) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1. HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein.

3) 혈중 free fatty acid와 triglyceride 농도

실험시작 9주 후 혈장 내 free fatty acid와 triglyceride의 양을 측정된 결과, free fatty acid의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(1)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다 (Fig. 5-A). triglyceride의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에

서 대조군에 비하여 높게 나타났으나 FSOB(1)과 FSOB(2)에서 통계적인 유의성이 있었다(Fig. 5-B).

4) 혈중 glucose와 insulin 농도

실험시작 9주 후 혈장 내 glucose와 insulin의 양을 측정된 결과, glucose와 insulin의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 낮게 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(2)에서만 통계적인 유의성이 있었다(Fig. 6).

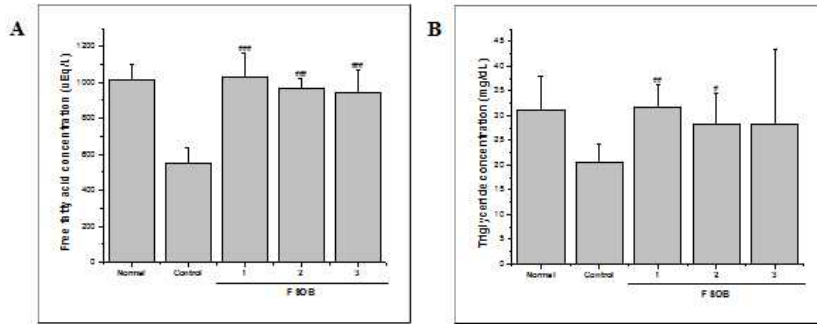


Fig. 5. Fasting plasma free fatty acid(A) and triglyceride(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** < 0.001 significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

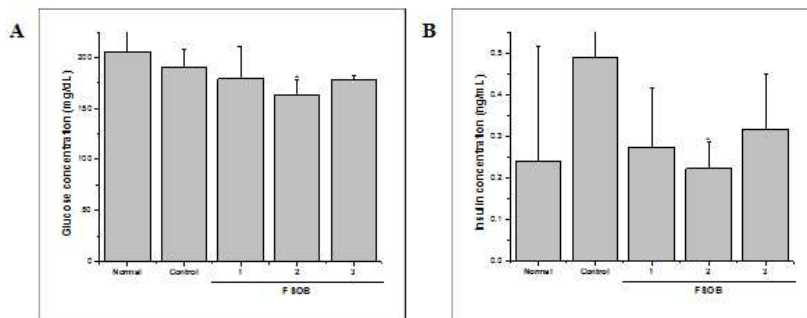


Fig. 6. Fasting plasma glucose(A) and insulin(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. * $P < 0.05$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

5. FSOB에 의한 지방조직 및 간조직의 histology와 morphology 변화

1) FSOB에 의한 지방조직의 histology와 morphology 변화

FSOB가 고지방식이 마우스 비만모델 지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 지방조직을 hematoxylin-eosin 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis system으로 관찰하였다. 정상군(normal)과 비교하여 대조군(control)에서 지방세포의 크기가 크게 증가되었다(normal, $3251.29 \pm 261.80 \mu\text{m}^2$; control, $7076.89 \pm 369.31 \mu\text{m}^2$). 그러나 고지방식이 마우스에 FSOB를 투여하면 지방세포의 크기가 감소하였다. 지방세포의

크기는 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소되었으며, 그 감소율은 19.88%, 12.32%와 14.06%로 나타났다(control, $7076.89 \pm 369.31 \mu\text{m}^2$; FSOB(1), $4728.89 \pm 268.63 \mu\text{m}^2$; FSOB(2), $5524.03 \pm 338.84 \mu\text{m}^2$; FSOB(3), $5332.06 \pm 463.38 \mu\text{m}^2$) (Fig. 7-A and B). 반면, 대조군과 비교하여 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 통계적으로 유의하게 단위면적당 지방세포의 수를 증가시켰으며, 그 증가정도는 19.90%, 12.36%와 14.22%였다(control, 38.22 ± 2.01 개; FSOB(1), 57.22 ± 3.34 개; FSOB(2), 49.00 ± 3.00 개; FSOB(3), 50.89 ± 4.35 개) (Fig. 7-A and C). 세 농도 중 FSOB(1)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

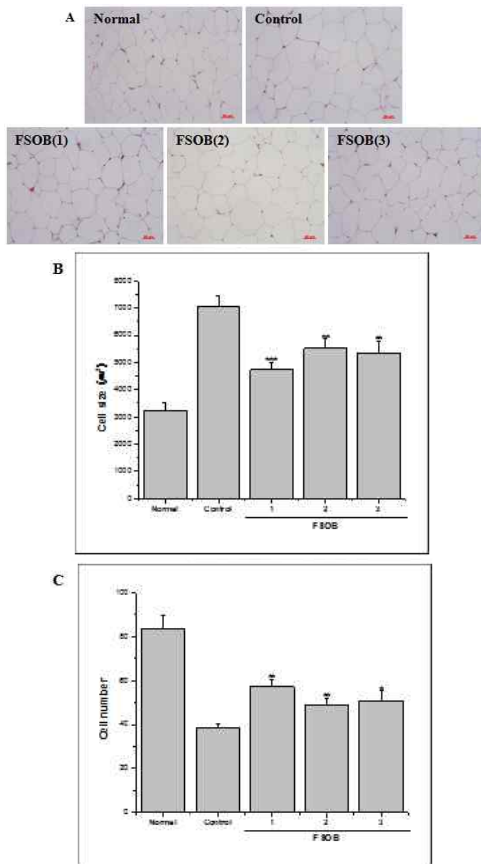


Fig. 7. Histology of epididymal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice.

(A) Representative hematoxylin and eosin sections of epididymal adipose tissue(original magnification X 50). (B) Size of epididymal adipocytes. (C) Number of epididymal adipocytes. The size and number of adipocytes in a fixed area($1,000,000 \mu m^2$) were quantified by an image analysis system. All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

2) FSOB에 의한 간조직의 지방축적 변화

고지방식이의 비만형질을 나타내는 비만마우스는 정상 마우스와 비교하여 상당량의 지방이 축적된 지방간을 보여주었으나 이러한 비만마우스에 FSOB를 투여하면 간의 지방축적이 감소되었다. 지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게

간세포의 지방축적은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 lesion score를 감소시켰으며, 그 감소정도는 64.94%, 46.80%와 57.18%였다. 세 농도 중 FSOB(1)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다(Fig. 8).

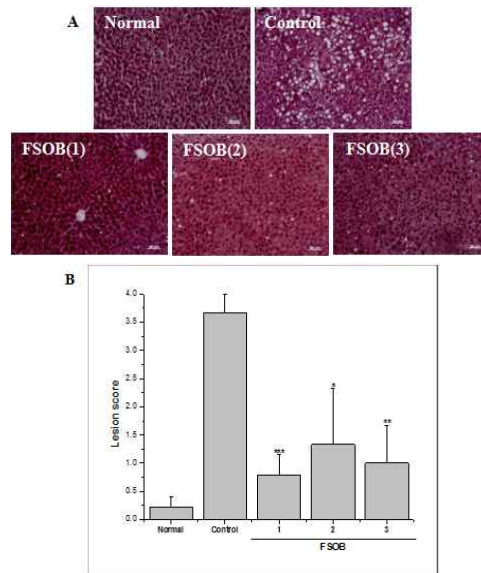


Fig. 8. Inhibition of hepatic lipid accumulation by FSOB in high fat diet-fed obese mice.

(A) Representative hematoxylin- and eosin-stained sections of livers are shown(original magnification X 50). (B) Histological analysis of hepatic lipid accumulation in high fat diet-fed obese mice. Pathological scores of hepatic accumulation are as follows: 0, no lesion; 1, mild; 2, moderate; 3, severe; 4, very severe. All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

IV. 考 察

비만은 에너지대사의 불균형으로 인하여 에너지 소비가 에너지섭취보다 적을 때 여분의 에너지가 지방으로 몸안에 축적되어 일어난다. 비만이나 제2형 당뇨병은 NAFLD 발생의 잘 알려진 위험

인자이다. NAFLD는 간에서 가장 많이 발생하는 질환이며¹⁶⁾, 일부에 있어서는 간염, 간경변 등의 만성 간질환으로 진행함¹⁷⁾ 밝혀지면서 최근 그 중요성이 점차 강조되고 있다. 동물실험에서 초콜을 이용하여 체중조절 및 지질대사를 개선하는 보고가 있었고¹⁸⁾, 세포실험에서 발효두유의 항비만 효과에 대한 보고가¹⁹⁾ 있으나 비만동물모델을 이용한 발효대두에 대한 체중조절과 지방간 개선에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 고지방식이 마우스 비만모델을 이용하여 발효대두파우더(FSOB)의 투여가 체중 증가량의 변화에 따라 지방무게에 어떤 영향을 미치는 지에 대해서 알아보았다.

체중증가량의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 15.98%, FSOB(2)는 10.04%, FSOB(3)은 16.22%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. EAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 14.42%, FSOB(2)는 5.18%, FSOB(3)은 11.90%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, RAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 10.00%, FSOB(2)는 4.06%, FSOB(3)은 7.70%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, IAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 6.22%, FSOB(2)는 -2.30%, FSOB(3)은 3.64%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, BAT의 경우, 대조군에 비하여 FSOB(1)은 12.00%, FSOB(2)는 12.00%, FSOB(3)은 14.28%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. 세 농도 중 EAT, RAT와 IAT의 경우 FSOB(1)에서, BAT의 경우 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. 따라서 체중감량효과와 일치하게 지방량을 전반적으로 개선시킨다는 것을 시사한다.

FSOB의 투여가 식이효율에는 어떤 변화를 주고 혈중 leptin 농도에는 어떻게 반영되는 지에 대해서 알아보았다.

식이효율은 대조군에 비하여 FSOB(1)은 16.56%,

FSOB(2)는 9.58%, FSOB(3)은 17.90%의 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. 혈중 leptin 농도의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 식이효율의 공식에서 의미하는 바와 같이 사료를 섭취하는 양이 많음에도 불구하고 체중의 증가가 적다는 것은 비만조절효과가 있는 것으로 생각할 수 있다. 식이효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 사용할 수 있고, 식이효율의 값이 적을수록 비만조절효과가 있다고 할 수 있다. 따라서 FSOB는 식이효율의 값에 따라 혈중 leptin 농도에도 반영되어 식이효율을 낮추고 혈중 leptin 농도도 낮추어 체중증가량을 줄이며 이에 따라 지방무게도 줄어드는 것으로 생각된다.

FSOB의 투여가 혈중 간장독성지표인 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT)와 체중조절과 관련된 지표인 total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, free fatty acid, triglyceride, glucose, insulin의 농도를 조사하였다. 왜냐하면 FSOB의 비만조절효과가 약리작용에 의한 경우도 있지만 이의 독성으로도 생길 수 있기 때문이다. aspartate aminotransferase의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없었다. alanine aminotransferase의 값은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮게 나타났으며, 세 농도 중 FSOB(3)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. AST와 ALT의 값이 생리적인 범위안에 있어서 간장독성으로부터는 안전한 것으로 생각된다. 더 세밀한 추가 안전성 시험이 요구된다.

FSOB(1)은 대조군에 비하여 혈중 free fatty acid, triglyceride의 농도 값은 높았고, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, glucose, insulin의 농도값은 낮은 것으로 나타났으며, 모든 지표

에서 통계적인 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. FSOB(2)는 대조군에 비하여 혈중 free fatty acid, triglyceride의 농도 값은 높았고, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, glucose, insulin의 농도값은 낮은 것으로 나타났으며, 모든 지표에서 통계적인 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. FSOB(3)은 대조군에 비하여 혈중 free fatty acid, triglyceride의 농도 값은 높았고, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, glucose, insulin의 농도값은 낮은 것으로 나타났으며, triglyceride 이외의 모든 지표에서 통계적인 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. FSOB는 체중감량효과와 일치하게 total cholesterol, LDL-cholesterol, glucose와 insulin의 농도값이 낮게 나타났음을 보여주고 있어 FSOB 투여의 실질적인 체중증가량 감소효과가 혈중 체중감량지표에 전반적으로 영향을 준다는 것을 입증해 주고 있음을 시사한다.

FSOB에 의하여 체중감량효과가 고지방식이 마우스 비만모델의 지방세포와 간세포의 조직학적, 형태학적 변화에 반영하는지를 조사하였다.

지방세포의 크기는 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소되었으며, 그 감소율은 19.88%, 12.32%와 14.06%로 나타났다. 반면에, 대조군과 비교하여 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 통계적으로 유의하게 단위면적당 지방세포의 수를 증가시켰으며, 그 증가정도는 19.90%, 12.36%와 14.22%였다. 지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게 간세포의 지방축적은 FSOB(1), FSOB(2)와 FSOB(3)의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 lesion score를 감소시켰으며, 그 감소정도는 64.94%, 46.80%와 57.18%였다. 세 농도 중 FSOB(1)에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. 따라서 체중감량효과와 일치하게 FSOB에 의하여 지방세포의 수는 증가하였고 그 크기는 감소하였으며, 간세포의 지방축적은 억제하는 것을 알 수 있다.

따라서 FSOB는 식이효율과 leptin 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량을 줄여 체중감량효과로 나타나고 동시에 지방간의 개선도 보여준다.

V. 結 論

고지방식이 유발 수컷마우스 비만모델을 이용하여 FSOB의 투여가 체중증가량과 지방조직의 무게, 식이효율과 혈중 leptin 농도, 혈중 비만관련 지표, 그리고 지방조직과 간조직의 조직학적, 형태학적 변화를 분석하고 평가하여 다음의 결론을 얻었다.

1. FSOB는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 체중증가량과 지방무게가 감소하였고, 그 효과는 FSOB(3)과 FSOB(1)에서 더 현저하였다.
2. FSOB는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 식이효율과 혈중 leptin 농도가 감소하였고, 그 효과는 FSOB(3)에서 더 현저하였다.
3. FSOB는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 혈중 total cholesterol과 LDL-cholesterol의 농도가 낮은 것으로 나타났다.
4. FSOB는 대조군에 비하여 혈중 AST와 ALT의 농도에 이상이 없는 것으로 나타났다.
5. 체중감량효과와 일치하게 FSOB에 의하여 지방세포의 수는 증가하였고 그 크기는 감소하였으며, 간세포의 지방축적은 억제하였다.

결론적으로 FSOB는 식이효율과 leptin 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량을 줄여 체중감량효과로 나타나고 동시에 지방간을 개선시키는 것으로 생각된다.

Acknowledgement

This research was supported by Korea Science

and Engineering Foundation(grant No. NRF-2010-0027498).

參考文獻

1. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(4冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:487-9.
2. Lee KA, Jang JO, Yoon HK, Kim MS. Antithrombotic activities of Cheongkookjang and Cheongkookjang fermented with green tea or mugwort. *Korean J Microbiol.* 2007;43:298-303.
3. Brouns F. Soya isoflavones: a new and promising ingredient for the health foods sector. *Food Research International.* 2002;35:187-93.
4. Watanabe S, Haba R, Terashima K, Arai Y, Miura T, Chiba D, Takamatsu M. Antioxidant activity of soya hypocotyl tea in humans. *Biofactors.* 2000;12:227-32.
5. Verdrengh M, Jonsson IM, Holmdahl R, Tarkowski A. Genistein as an anti-inflammatory agent. *Inflamm Res.* 2003;52:341-6.
6. Shon DH. Nutritional and bioactive components of soymilk and cow's milk (a review). *Korea Soybean Digest.* 1997;14:66-76.
7. Lee SY, Bae YJ, Lee SY, Choi MK, Choe SH, Sung CJ. The effect of soy isoflavone on sex hormone status and premenstrual syndrome in female college students. *Korean J Nutr.* 2005; 38:203-10.
8. Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. Genistein, daidzein and their β -glycoside conjugates: anti-tumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem.* 1993;41:1961-7.
9. Lee CH, Yang L, Xu JZ, Yeung SYV, Huang Y, Chen ZY. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. *Food Chemistry.* 2005;90:735-41.
10. Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006 Jan;21(1 Pt 1):138-43.
11. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med.* 1999;107(5): 450-5.
12. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2002;346(16):1221-31.
13. Friis-Liby I, Aldenborg F, Jerlstad P, Rundström K, Björmsson E. High prevalence of metabolic complications in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol.* 2004;39(9): 864-9.
14. 오창호. 『비만억제자인 α -MSH 유사체의 합성 및 약효분석』(신약개발연구개발사업 최종보고서). 서울:보건복지부. 2003:21.
15. Garrido-Polonio C, Garcia-Linares MC, Garcia-Arias MT, Lopez-Varela S, Garcia-Fernandez MC, Terpstra AH, Sanchez-Muniz FJ.. Thermally oxidised sunflower-seed oil increases liver and serum peroxidation and modifies lipoprotein composition in rats. *Br J Nutr.* 2004 Aug; 92(2):257-65.
16. Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: An agenda for clinical research. *Hepatology.* 2002;35(4):746-52.
17. Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology.* 1995; 22(6):1714-9.

18. 박찬성, 김동한, 김미림, 석장미, 김미려. 한방 초공환이 고지방식을 급여한 흰쥐의 체중 및 지질변화에 미치는 영향. 大韓本草學會誌. 2007;22(4):127-35.
19. 김지영, 정은정, 문숙희, 박건영. 3T3-L1 지방 세포에서 *Bacillus subtilis* KC-3 발효두유의 항비만 효과. 한국식품영양과학회지. 2010;39(8): 1126-31.