

고지방식이 유도 비만 랫드에 대한 유황오곡충 추출물의 지질감소 메카니즘

황보 종¹ · 박상오^{2†} · 박병성^{3†}

¹국립축산과학원, ²강원대학교 동물자원공동연구소, ³동물응용과학부
(2014년 9월 30일 접수; 2014년 11월 7일 수정; 2014년 11월 13일 채택)

Lipid lowering mechanism of sulfur-fed grain larvae extract in high-fat induced obesity rats

Jong Hwangbo¹ · Sang-Oh Park^{2†} · Byung-Sung Park^{3†}

¹National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Suwon 441-706
²Institute of Animal Resources, ³Devison of Applied Animal Science, Kangwon National University,
Chuncheon, Gangwondo, 200-701, Republic of Korea
(Received September 30, 2014; Revised November 7, 2014; Accepted November 13, 2014)

Abstract : This study was carried out to determine the action mechanism of sulfur-grain larvae extract (SGE) on anti-obesity and the reduction of blood lipid level in high-fat diet induced obese model animals. Animals were classified into a normal diet group (NC, normal control), HFD (high-fat diet without SGE), HFD 15 (high-fat diet + oral administration of 15 mg of SGE extract per 100 g body weight) and HFD 30 (high-fat diet + oral administration of 30 mg of SGE extract per 100 g body weight). The body weight gain declined in HFD 15 and HFD 30 groups compared with the HFD group, even though the diet intake increased significantly. The weight of liver and adipose tissue increased significantly in HFD group compared with in the HFD 15 and HFD 30 groups. Triglyceride, total cholesterol, LDL-C and AI decreased in HFD 15 and HFD 30 groups compared with in the HFD group, but the contents of HDL-C increased significantly. Expression of SREPB-1 α , SREPB-2 mRNA in the liver was lower in the high-fat diet group compared with the HFD group, but the expression of LPL mRNA in adipose tissue and PPAR α increased significantly. Fat accumulation in the liver tissues and liver damage were greatly reduced in HFD 15 and HFD 30 groups compared with in the HFD group. The size of adipocytes became smaller in the HFD 15 and HFD 30 groups compared with HFD group. In conclusion, this research discovered for the first time that grain maggot has anti-obesity effects, by reducing the abdominal fat of obese model animals and lowering blood lipid level through the down-regulation of SREPB-1 α and SREPB-2 mRNA and the up-regulation of PPAR- α mRNA.

Keywords : Sulfur, grain larvae, lipid, gene expression, obesity.

[†]Corresponding author (E-mail: sopark@kangwon.ac.kr; bspark@kangwon.ac.kr)

1. 서론

식생활 습관에 기인한 대사성 질환인 고지혈증, 심장혈관질환(coronary vascular disease, CVD), 비만, 당뇨병의 발병율이 증가하고 있다. 비만은 에너지 대사 불균형이 원인으로 과잉의 에너지가 지방세포로 전환되어 체내에 축적되고, 인슐린 저항성을 유발하고 염증반응을 증가시켜 고지혈증, 고혈압, 지방간, 당뇨병, CVD 그리고 암 발병의 원인이 될 수 있다[1-2]. 고지방식이 섭취는 혈액 내 중성지방과 유해 콜레스테롤로 알려진 LDL-C (low density lipoprotein-cholesterol)를 증가시키고 좋은 콜레스테롤인 HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol) 함량을 저하시킨다. 고지방식이 섭취로 인한 혈액 LDL-C의 증가는 CVD 사망률을 일으키는 주원인으로 밝혀졌으며 sterol regulatory element binding proteins (SREPB-1 α , SREPB-2), Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR α) 및 lipoprotein lipase (LPL) 유전자 발현은 지질대사를 조절하여 주므로 비만과 관련이 깊다[3-4]

유황 섭취는 항산화[5], 항비만[6], 항암[7-8], 류마티스관절염 예방에 효과적인 것으로 알려져 있다[9-10]. 식품으로부터 섭취하는 유황은 위를 보호하고 뼈와 근육을 튼튼히 하며 양기를 보호하고 지혈작용, 신경마비, 냉수족 등을 비롯한 다양한 생체활성 효과를 가지며 부작용을 줄이기 위하여 유황의 독성을 제거하는 법제화 기술이 개발되었고 닭에 대한 적용기술도 개발되었다[11-12].

파리유충 구더기(*Musca domestica* L.)를 이용한 상처치료, 화상 및 욕창환자에 대한 치료기술이 각광을 받기 시작했다[13-14]. 파리유충에 의한 치료는 *Staphylococcus aureus*와 같은 그람 양성균에 감염된 환자의 치료에 권장되고 있다[15]. 파리유충 추출물은 강력한 protease와 항균 펩타이드를 함유하고 있는 것으로 보고되었으며 우리나라에서 파리유충은 오크충(grain maggot)으로 사용되어 왔다[16-18]. 오크충은 독성이 없으며 다양한 약리적 효능이 알려져 왔다. 중약대사전에서 오크충은 피를 맑게 하고 열을 내리며, 본초강목에서는 열병의 열을 내리고, 본초편독에는 입술에 난 악성종기 치료에 쓴다고 되어 있다[19]. 오크충추출물의 항생제 내성균에 대한 항균 활성, 혈액지질, 혈당감소, 알코올성 간손상 보호

기능도 알려져 있다[19, 20].

그래서, 유황과 오크충이 지닌 생체활성 효과를 시너지화하기 위하여 고기능성 유황오크충을 생산하는 생물전환 기술이 개발되었다[19, 21-23a]. 그러나 유황 오크충 추출물로부터 항비만 효과에 관한 생체활성 효과는 알려져 있지 않기 때문에 본 연구에서는 비만 모델 랫드에게 유황오크충 추출물을 경구투여 해서 항비만 및 혈액지질 수준의 감소에 미치는 영향과 그 작용 메커니즘을 규명했다.

2. 실험

2.1. 추출물의 제조

옥수수, 설탕, 분유 등을 배지로 하여 인위적인 환경에서 사육한 유황오크충 (사료 내 유황분말 2.5%를 급여 후 생산한 오크충)을 (주)인섹트바이오 (강원도 춘천시)로부터 공급받아서 70°C 오븐 건조 후 수분을 제거하였다. 150 °C의 고온, 1,000 PSI로 30분 간 압착처리 및 핵산으로 지질을 완전히 제거하여 탈지하였다. 이 탈지 시료와 에탄올을 혼합 (w/v 1:10)한 다음 환류냉각시스템으로 60°C에서 3시간씩 3회 반복 추출하여 에탄올추출물을 얻었다. 추출물은 rotary vacuum evaporator (Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai CO., Japan)로 감압 농축하여 냉장보관하면서 시료로 사용하였다. 상기의 방법으로부터 유황 0.37%를 함유하는 유황오크충 에탄올추출물 (sulfur-fed grain larvae extract, SGE) 3.50%를 얻었다.

2.2. 실험설계 및 사양관리

동물실험은 유럽 위원회지침(EECDirective of 1986; 86/609/EEC)에 준해서 수행하였으며 강원대학교 동물실험윤리위원회(IACUC)의 승인 (No. 20100017)을 얻었는데 8주령(평균 체중 200 \pm 2.50 g)의 Sprague-Dawley 계통의 랫드 수컷 40마리를 대한바이오링크(충북 음성)로부터 구입하였다. 일주일 동안 사육환경에 적응시킨 후 40일 동안 사육하면서 추출물을 경구투여하였다. 처리구는 정상 대조군 (NC, normal control group with purified pellet diet), T1 (HFD, high-fat diet control group without EMS), T2 (HFD 15, high-fat diet group with oral administration of EMS 15 mg/100 g body

weight), T3 (HFD 30, high-fat diet group with oral administration of EMS 30 mg/100 g body weight)로 구분하여 10반복하여 케이지 당 1마리씩 개별 사육하였다. 정제펠렛식은 카제인 20.0%, 옥수수전분 51.15%, 말토덱스트린 10.0%, 설탕 7.0%, 대두유 5.0%, 분말 셀룰로스 5.0%, AIN 93G 미네랄 혼합제 1.00%, AIN 93G 비타민 혼합제 0.30%, L-시스틴 0.30%, choline bitartrate 0.25% 및 t-butylhydroquinone 0.0014%로써 배합하였다. 비만 모델동물은 고지방식이(40% 지방)를 급여하여 만들었다[24]. 고지방식은 정제펠렛식에 첨가되는 지방급원으로써 대두유 5%와 돼지기름 35%를 혼합하였으며 옥수수의 첨가량을 조절하여 제조하였다. 실험동물 사육실 온도는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $60 \pm 5\%$ 로 유지하였고 조명은 12간 주기로 조절하였다. 실험식이와 물은 무제한 공급하였고 실험기간 중 일일 평균 체중증가량, 식이섭취량을 조사하였다.

2.3. 경구투여

동물은 정제펠렛식이 (NC 그룹)와 고지방식이 (HFD, HFD 15, HFD 30 그룹)를 각각 급여하면서 매일 일정한 시간에 직경 1 mm의 위관을 통하여 SGE를 경구투여하였다. NC 그룹은 생리식염수 1 ml를, 고지방식이 그룹은 각 처리군에 해당하는 SGE 양을 생리식염수 1 ml에 용해하여 경구투여하였다.

2.4. 혈액, 기관채취 및 생화학적 분석

동물의 희생은 마취와 해부의 편리를 위하여 종료 12시간 전부터 식이를 철회하고 물만 공급하였다. 랫드를 Zoletil (10 mg/kg)과 Rompun (5 mg/kg) 2:1 혼합액을 복강주사로 마취하였다. 복대동맥으로부터 혈액 2 ml를 헤파린 처리된 주사기 (heparinized vacuum tube, Becton Dickinson Vacutainer System, Franklin lakes, NJ 07417, USA) 속으로 수집하였다. 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였으며 -196°C 액체질소에서 급속 동결한 다음 생화학적 분석 시까지 -20°C 에서 보관하였다. 간, 신장, 심장, 비장 및 복부지방은 채혈 후 즉시 떼어서 생리식염수로 혈액을 씻은 다음 여과지에 흡착시켜서 수분을 제거하고 기관의 무게를 측정하였다. 혈액의 지질분획 중 triglyceride, total cholesterol, HDL-C, LDL-C는 Diagnostic Kit

(Sigma chemical Co., St, Louis, MO, USA)를 이용하여 분석하였다. 심장혈관질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수(AI, atherogenic index)는 [(총콜레스테롤)-(HDL-C)]/HDL-C로써 계산하였다[25]. 간 기능효소 AST (Aspartate Aminotransferase), ALT (Alanine Aminotransferase)는 혈액 생화학적 자동분석기 (Fuji Dri-Chem 3500, Japan)로써 측정하였다.

2.5. 생체 유전자 SREPBs, PPAR α 발현

간에서 Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)에 대한 sterol regulatory element binding proteins (SREPB-1 α , SREPB-2), peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR α) 및 지방조직에서 β -actin에 대한 lipoprotein lipase (LPL) mRNA transcripts의 상대적인 수준을 Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)에 의해서 측정하였다[26b]. 요약하면, 간, 지방조직을 채취 후 액체질소에 급속 동결해서 -80°C 보관하였다. 30 mg의 간, 지방조직에 Xprep Tissue RNA Mini Kit (Philekorea Technology, PKT)의 lysis buffer를 사용하여 총 RNA를 추출하였다. RNA 농도는 NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer (USA)를 사용하여 260 nm에서 흡광도에 의해서 측정하였으며 추출된 RNA 300-500 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 를 얻었다. 추출된 1 μg RNA를 cDNA synthesis kit (PKT)를 이용하여 1st strand cDNA를 합성하였다. cDNA는 70°C 5분, 42°C 30분, 85°C 5분 배양하여 증폭하였다. 최종적으로, cDNA는 RT-PCR에 의해서 주형으로써 사용되고 기준 유전자(house keeping gene)에 대한 각 목표 유전자의 mRNA 전사에 관한 상대적인 농도를 확인하였다. RT-PCR은 QuantiMix SYBR Kit (PKT)를 이용하였으며 cDNA를 증류수로써 1/5로 희석한 후 각 프라이머 (Forward 및 Reverse)를 혼합하여 수행하였다. 유전자 발현은 Eco Real-Time PCR (Illumina Inc.)에서 제시한 유전자발현 프로토콜의 메뉴얼에 따라서 실행하였다. GAPDH와 β -actin은 기준유전자로써 mRNA의 농도 조절로써 사용하였다. Specific oligonucleotide primer는 Table 1과 같다.

2.6. 간, 지방세포의 전자현미경 관찰

간, 지방세포를 관찰하기 위해 혈액을 채취한

Table 1. sequences of specific oligonucleotide primer

Gene	Primers	
	Forward(5'→3')	Reverse(5'→3')
GAPDH	TGCACCACCAACTGCTTAG	GGATGCAGGGATGATGTTC
SREPB-1 α	ATGGACGAGCTGCCCTTCGGTGAG GCCGGCT	CCTGGCGATGGCTGTGTGCTG
SREPB-2	TTTGTGAGCAATCAAGTGGGAGAG TTC	GCTGCGTTCTGGTATATCAAAGG CTGC
PPAR α	CCCTCTCTCCAGCTTCCAGCCC	CCACAAGCGTCTTCTCAGCCATG
β -actin	CTCTTCCAGCCTTCCTTCT	AGCACTGTGTTGGCGTACAG
LPL	CAGCTGGGCCTAACTTTGAG	AATGGCTTCTCCAATGTTGC

Table 2. Effect of oral administration of SGE on diet intake, body weight gain and diet efficiency ratio (DER) in obese rats

Item ¹⁾	NC	HFD	HFD 15	HFD 30	P-value
Diet intake (g/day/head)	29.74 $\pm 0.58^a$	21.33 $\pm 0.42^c$	25.46 $\pm 0.63^b$	26.05 $\pm 0.47^b$	0.0231
Body weight gain (g/day/head)	5.87 $\pm 0.51^b$	8.18 $\pm 0.33^a$	6.37 $\pm 0.42^b$	6.09 $\pm 0.37^b$	0.0122
DER	0.20 $\pm 0.01^d$	0.39 $\pm 0.01^a$	0.27 $\pm 0.01^b$	0.25 $\pm 0.01^c$	0.0028

¹⁾NC: normal control, HFD: high-fat diet induced obese rats, HFD15: high-fat diet induced obese rats with SGE 15.0 mg/100 g body weight. HFD30: high-fat diet induced obese rats with SGE 30.0 mg/100 g body weight. Values are mean \pm standard errors (n=10). ^{a,b,c,d}Values with different superscripts within the same row are significantly different at $p < 0.05$.

이후 간, 복부지방 조직을 획득하여 3분 이내에 1 mm³로 자른 다음 0.1M cacodylate buffer, pH 7.4로 완충시킨 후 4% glutaraldehyde로써 전 고정, 수세하였다. 2% osmium tetroxide (O₅O₄, 2%)로 후 고정, 완충용액으로 세척하였고 에탄올로써 탈수하였다. Propylene oxide로 치환, EPON resin으로 조직 내의 탈수용매를 대체하고 채워주었다. 60°C에서 포매, 중합하였고 ultramicrotome로 300 nm 두께의 절편을 제작하여 toluidine blue로 염색하였다. 에너지 여과 투과전자현미경(EF-TEM, Leo 912AB, Carl Zeiss Inc., Germany)으로 간, 지방세포를 관찰하였다.

2.7. 통계분석

분석된 자료는 SAS program을 이용하여 통계 처리 하였으며 각 처리구의 평균과 표준오차를

구하고 분산분석을 실시한 다음 Duncan's multiple range test에 의하여 95% 수준에서 유의성 ($p < 0.05$)을 검정하였다[27].

3. 결과 및 고찰

3.1. 실험

3.1.1. 사양성적

실험결과, 비만모델 동물에서 SGE 투여가 체중을 크게 낮출 수 있다는 사실이 나타났다. 고지방식이를 섭취한 비만동물에게 SGE를 경구투여 하였을 때 식이섭취량, 체중 증가량, 식이효율은 Table 2와 같다. 식이섭취량은 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 30, HFD 15, NC 그룹이 유의

하게 높았다. HFD 15, HFD 30 그룹은 NC 그룹에 비해서 낮았으나 이들 사이의 차이는 없었다. 체중증가량은 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC이 유의하게 낮았으나 이들 세 처리구 간 차이는 없었다. HFD 15, HFD 30 그룹은 HFD 그룹에 비해서 25.55% 까지 체중감소를 나타냈으며 NC 그룹과 비슷하였다. 식이효율은 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 낮았으며 처리구 간 유의차가 있었다. 마늘로부터 분리한 황 함유물질인 thiacremonone가 비만 모델동물에서 체중감소, 혈액 중성지방과 혈당 감소를 경유한 항비만 억제효과[6] 및 오곡층 추출물을 공급한 비만 모델동물에서 체중 감소를 관찰결과는 본 결과를 지지해준다[19]. 결과는 실험기간 중 섭취한 고지방 식이에 기인한 에너지 섭취량이 높았기 때문이며 상대적으로 식이섭취량이 낮았음에도 불구하고 체중이 증가한 점은 근육 양의 증가보다는 간의 비대와 함께 축적된 체지방 증가에 기인하였을 것으로 볼 수 있다[28]. 동물의 식이섭취는 에너지 요구량에 의해서 결정되기 때문에 저에너지식이 섭취와 비교할 때 고에너지식을 섭취하는 경우 식이섭취량은 낮아지는 것으로 알려져 있다 [29-30].

3.1.2. 장기무게 변화

결과는 SGE 공급이 비만 모델동물에서 체지방

축적을 크게 낮추는 효과가 있는 것으로 나타났다. SGE를 투여한 그룹에서 조사한 간, 신장, 심장, 비장 및 지방조직의 무게변화는 Table 3과 같다. 처리구 간 차이가 없었던 신장, 심장, 비장을 제외한 간, 지방조직 무게는 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 유의하게 낮았으나 HFD 30, NC 사이의 유의차는 나타나지 않았다. 간 무게는 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 각각 15.23, 27.15, 28.48%, 지방조직 무게는 각각 12.43, 24.82, 45.53% 감소하였다. chow diet를 섭취한 동물과 비교할 때 고지방식을 섭취한 비만 모델동물에서 간 및 지방조직 무게가 증가하였고 오곡층 추출물을 공급했을 때 감소하였다는[19]의 보고는 본 결과를 지지해준다. 일반적으로 고지방식을 섭취하게 되면 간에서 지질대사 이상이 초래되어 간 조직 내 지질의 축적이 일어나므로 간 무게가 정상식을 섭취하였을 때보다 증가하는 것으로 알려졌다[31]. EMS 투여군에서 지방조직 무게가 낮았던 점은 EMS 내 함유된 항균펩타이드[2, 19]와 유허[6]의 시너지효과에 의해서 혈액지질의 양이 감소하였고 궁극적으로 복강조직에 이동된 지질의 양 역시 줄어들어 나타난 현상으로 볼 수 있다. 항균펩타이드는 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* 숫자를 증가시켜서 혈액 지질대사를 조절하여 줄으로써 중성지방과 콜레스테롤을 낮춘다[12, 26, 32]. 비만은 에너지

Table 3. Effect of oral administration of SGE on weight of organ and adipose tissues in obese rats (g/100 g body weight)

Item	NC	HFD	HFD 15	HFD 30	P-value
Liver	3.24 ±0.17 ^c	4.53 ±0.22 ^a	3.84 ±0.23 ^b	3.30 ±0.27 ^c	0.0207
Kidney	0.60 ±0.21	0.63 ±0.23	0.61 ±0.32	0.59 ±0.27	0.0105
Heart	0.30 ±0.08	0.39 ±0.10	0.37 ±0.10	0.35 ±0.14	0.0028
Spleen	0.31 ±0.04	0.32 ±0.11	0.30 ±0.08	0.33 ±0.07	0.0017
Adipose tissue	3.84 ±0.27 ^c	7.05 ±0.28 ^a	6.18 ±0.20 ^b	5.30 ±0.22 ^c	0.0337

Values are mean±standard errors (n=10). ^{a,b,c,d}Values with different superscripts within the same row are significantly different at p<0.05.

의 과잉섭취가 지방으로 전환하여 증가하며 피하 지방 또는 내장지방 형태로 신체 내부의 여러 부위에 축적된다. 지방의 과잉축적은 신체의 생리적, 생화학적 기능에 역효과를 갖는다[2]. 한편, 삼겹살과 같은 포화지방질의 섭취증가는 지방세포 숫자와 크기를 증가시키고 복부지방을 축적시킴으로써 비만을 유도할 수 있다는 점이 알려져 있다[33-35].

3.1.3. 혈액지질, AST, ALT 변화

고지방식을 섭취한 비만동물에게 SGE를 공급하였을 때 조사한 혈액지질, AST, ALT 변화는 Fig. 1과 같다. 중성지방은 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 각각 27.36, 32.40, 35.12% 유의하게 낮았으며 HFD 15, HFD 30 그룹은 NC 그룹에 비해서 높게 나타났다. 총콜레스테롤은 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 30, HFD 15, NC 그룹이 각각 26.33, 26.70, 27.53% 유의하게 낮았으나 이들 세 처리구 사이의 차이는 없었다. LDL-C은 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 각각 17.06, 38.70, 39.27% 유의하게 낮았다. HFD 30, NC 그룹은 HFD 15 그룹에 비해서 낮았으나 이 두 그룹 사이의 차이는 없었다. HDL-C는 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, HFD 그룹이 각각 142.27, 106.17, 109.09% 유의하게 높았다. HFD 15, HFD 30 그룹은 NC 그룹에 비해서 각각 5.81, 8.33% 유의하게 낮았다. AI는 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 30, HFD 15, NC 그룹이 각각 11.12, 59.72, 66.91% 유의하게 낮았다. AST는 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 각각 27.30, 28.97, 39.22% 유의하게 낮았다. HFD 15, HFD 30 그룹은 NC 그룹에 비해서 각각 119.61, 116.86% 유의하게 높았으나 이 두 그룹 사이의 차이는 없었다. ALT는 HFD와 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 각각 13.51, 18.97, 24.94% 유의하게 낮았으며 이 세 그룹 사이는 유의차가 있었다. chow diet를 섭취한 동물에서 파라유충 추출물의 혈액지질 감소[19, 21], 고지방식이 유도 비만 모델동물에서 혈액지질의 증가[30], 그리고 비만 모델동물에서 황 함유물질인 thiocremone가 혈액 중성지방과 혈당 감소를 경유한 항비만 효과를 나타냈다는 보고[6]는 본 결과를 지지해준다. 혈액 중성지방과 LDL-C의 높은 수준은 심근경색, 동맥경화증과 같은 심혈

관계질환으로 인한 사망률을 높이고 HDL-C의 수준 증가는 이를 예방하는데 큰 도움이 되는 것으로 알려져 있다[13, 36]. LDL은 동맥 내 콜레스테롤 축적에 가장 중요한 지질운반체로서 콜레스테롤 에스터를 간에서 혈액 및 신체 내 여러 부위의 말초조직 세포 속으로 수송해주며 HDL은 동맥으로부터 콜레스테롤을 간으로 운반해주는 지질단백질로서 혈액 HDL-C의 증가는 결국 혈액 및 조직으로부터 간에 이르는 콜레스테롤 운반능력을 높여주는 작용으로 즉 콜레스테롤의 역수송에 의하여 혈액 콜레스테롤을 제거하는 기능을 갖는다. 따라서 혈액 내 LDL-C가 많으면 건강에 해롭기 때문에 LDL-C를 나쁜 콜레스테롤이라고 부르며 HDL-C는 좋은 콜레스테롤이라고 부르고 있다[26, 36]. 동맥경화지수는 체내 HDL-C에 대한 중성지방의 함량을 나타내며 그 값이 임상에서 3.0 이상이면 동맥경화의 위험 수준으로 볼 수 있다[37]. 혈액 내 AST, ALT는 간 손상을 나타내는 지표로서 HFD 그룹에서 높았으나 HFD 15, HFD 30 그룹에서 이들의 수치가 줄어든 점으로 보아 유황 오크충 추출물의 공급이 어느 정도의 간 보호효과를 갖는 것으로 볼 수 있다[38]. 결과적으로, 유황오크충 추출물을 투여한 동물에서 이와 같은 혈액지질, AST, ALT의 감소가 관찰된 점으로 볼 때 비만인에 대한 지질대사 및 간 기능보호의 생체활성 효과를 갖는 것으로 볼 수 있다. 본 실험결과에서 발견한 중요한 사실은 고지방식을 섭취한 동물에서 SGE의 공급이 혈액 LDL-C를 낮춘다는 점이다.

3.1.4. 생체 유전자 SREPBs, PPAR α 발현

SGE를 투여한 랫드에서 SREPB-1 α , SREPB-2, PPAR- α , LPL mRNA의 상대적인 발현 수준은 Fig. 2와 같다. 간에서 조사한 SREPB-1 α , SREPB-2 mRNA 발현은 HFD그룹과 비교할 때 모든 그룹에서 낮았으나 이와 반대로 PPAR α , 지방조직에서 LPL mRNA 발현은 유의하게 증가하였다. SREPB-1 α mRNA는 HFD 그룹과 비교할 때 HFD 15, HFD 30, NC 그룹이 각각 37.68, 39.86, 46.38% 유의하게 감소하였다. HFD 15, HFD 30 그룹은 NC 그룹에 비해서 각각 116.22, 112.12% 유의하게 높았으나 이 두 그룹 사이의 차이는 없었다. SREPB-2 mRNA는 HFD 15, NC, HFD 30 그룹이 각각 24.02, 46.75% 유의하게 감소하였다. NC 그룹과 비교할 때 HFD 15 그룹은 119.39% 유의하게

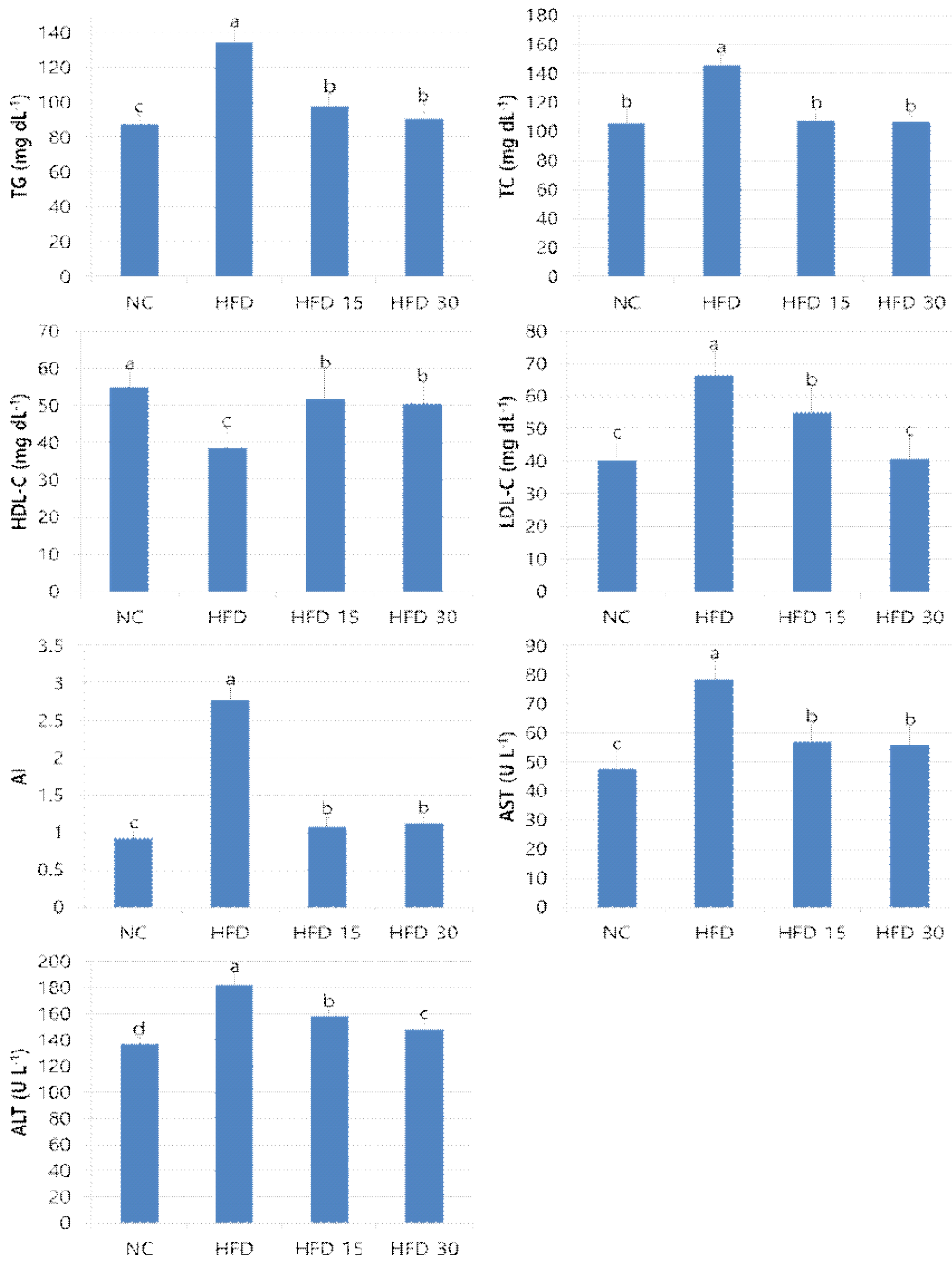


Fig. 1. Effect of oral administration of SGE on blood lipid profiles, ALT and AST in obese rats. Bars are mean±standard errors (n=10).
^{a,b,c,d}Values are significantly different at p<0.05.

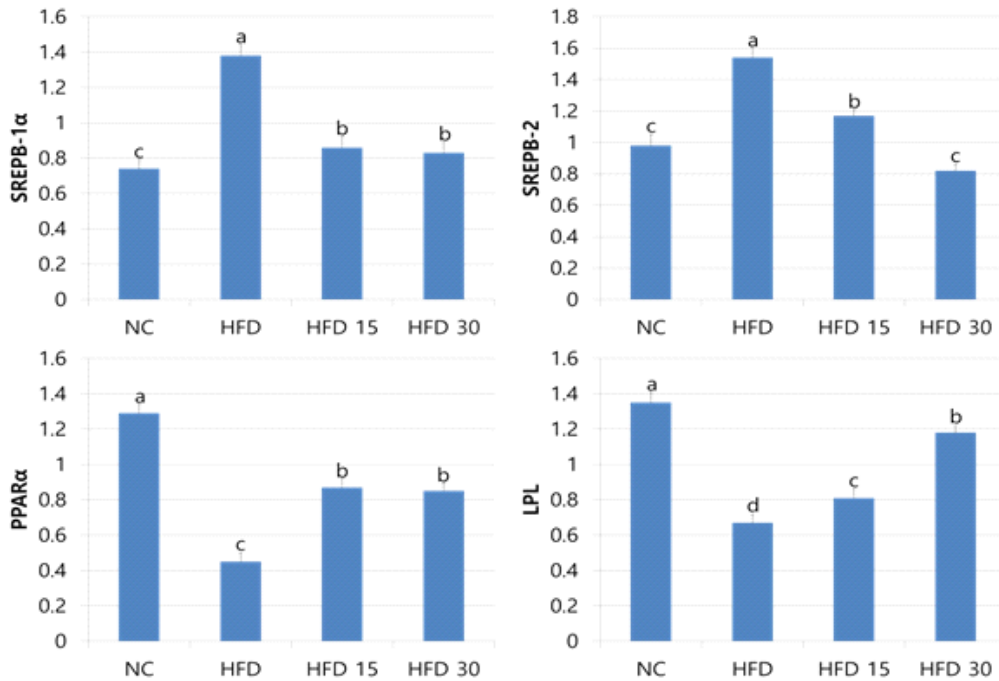


Fig. 2. Effect of oral administration of SGE on gene expression in obese rats. Bars are mean \pm standard errors (n=10).

^{a,b,c,d}Values are significantly different at $p < 0.05$.

높았으나 NC와 HFD 30 그룹 사이의 차이는 없었다. PPAR- α mRNA는 HFD 그룹과 비교할 때 NC, HFD 15, HFD 30 그룹이 각각 286.67, 193.33, 188.89% 유의하게 증가하였다. HFD 15, HFD 30 그룹은 NC 그룹과 비교할 때 각각 32.56, 34.11% 유의하게 낮았으나 이 두 그룹 사이의 차이는 없었다. 지방조직의 LPL mRNA 발현은 HFD 그룹과 비교할 때 NC, HFD 30, HFD 15 그룹이 각각 120.90, 176.12, 201.49% 증가하였으며 세 그룹 간 유의차가 있었다. 고콜레스테롤 식이를 섭취하는 동물에게 파리유충 추출물을 공급하였을 때 간에서 SREBP-1 α , SREBP-2 mRNA 발현을 억압함과 동시에 PPAR α mRNA 발현을 촉진시켰다는 보고[26]는 본 결과를 지지해준다. 지질대사와 관련한 목표 유전자 중 sterol regulatory element binding proteins (SREPBs: SREPB-1 α , SREPB-1c, SREPB-2)는 중성지방과 콜레스테롤의 생합성에 포함된 30개 이상의 유전자 발현을 활성화하는

중요한 전사활성 유전자이다[3, 4]. SREBP-1 α 는 콜레스테롤과 지방산 생합성 효소와 LDL 수용체 전사유전자의 발현을 촉진 조절하는 한편 SREBP-2는 LDL 수용체 전사유전자의 발현을 촉진조절해서 콜레스테롤 항상성 유지에 중요한 유전자를 조절한다[39]. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs: α alpha, gamma, delta) 핵 수용체 단백질로써 간에서 지질대사의 주요 조절자로서 비만과 관련이 깊다. PPAR- α 의 활성화는 지방산 수송 그리고 퍼옥시좀과 미토콘드리아에서 지방산의 β -산화에 포함된 유전자의 촉진 조절에 의한 지방산의 획득, 이용 및 분해를 높여준다[40-41]. 일반식이를 섭취하는 랫드와 비교할 때 고지혈증 모델동물에서 SREPBs mRNA 유전자발현은 억제되며 이는 혈액지질을 낮추는 원인이 될 수 있다[36]. LPL은 중성지방을 가수분해하고 지방조직에 유리지방산을 공급하여 혈액 중성지방을 낮춘다[1]. LPL은 지질분해를 담당하는 비울제한 효소로써 비만 조직에서

지질분해를 증가시켜 체중조절에 관여한다[42]. 결과는 EMS의 투여가 동물의 간에서 SREBP-1 α , SREBP-2 mRNA의 억압을 통하여 콜레스테롤 생합성 유전자 발현이 하향조절되었고 PPAR α mRNA, LPL mRNA의 활성을 통하여 지질분해 유전자가 상향조절된 것을 나타내며 궁극적으로 이러한 유전자 발현조절을 통하여 비만 방지효과를 갖는 것으로 볼 수 있다. 본 연구결과, SGE의 투여가 동물의 간 조직에서 SREBP-1 α , SREBP-2, PPAR α mRNA 그리고 지방조직에서 LPL mRNA 유전자 발현을 조절하여 줌으로써 혈액 LDL-C를 낮추고 동시에 체중조절 효과를 갖는다는 새로운 사실을 확인하였다.

3.1.5. 간, 지방세포의 형태학적 변화

본 실험결과, SGE를 공급한 동물에서 간 손상 보호 및 지방세포의 크기를 낮추는 데 크게 도움이 될 수 있다는 사실을 새로이 밝혔다. 간 및 지방세포의 형태학적 변화를 관찰한 SGE의 경구 투여효과를 조사한 결과는 Fig. 3과 Fig. 4와 같다. HFD 그룹의 간 세포는 정상식을 섭취한 NC 그룹과 비교할 때 포말형 지방과 매우 큰 지방이 침착되었다. 간 세포의 전반에 지방구가 뒤덮여 있어서 세포형태의 관찰이 불가능할 정도였으며 세포질 안에도 지방과잉 축적으로 백색을 나타냈다. 세포 소기관의 막과 형태가 명확하지 않은 지방간의 유발과 함께 지방조직 내 지방세포의 크기가 증가하였다(지방세포 수자와 크기는 측정하지 않았음). HFD 15, HFD 30 그룹의 간 세포는 HFD 그룹과 비교할 때 지방축적 감소와 함께 쿠퍼세포의 활성화된 모습이 보이며 중심정맥 주변부의 정상적인 간 실질세포가 잘 나타나고 고지방식으로 인한 간 손상을 크게 완화시키는 것으로 나타났다. HFD 15, HFD 30 그룹의 지방조직은 HFD 그룹과 비교할 때 지방조직 안에 지방세포의 크기가 줄어들었으며 NC 그룹에 가깝게 지방세포의 크기가 줄어드는 경향을 나타냈다. HFD 그룹에서 지방간이 발생한 점은 동물이 고지방식을 섭취함으로써 과잉의 지방이 간에 축적되었기 때문으로 생각된다. 과다한 지방은 지방세포에 계속 축적되어 지방이 에너지로써 소모될 때까지 지방세포의 크기는 계속 커진다. 비만은 지방세포 숫자보다는 크기가 증가하여 일어나는 것으로 알려졌다[34]. 한편, 비만은 내장지방의 축적으로 인슐린 저항성이 증가하여 지방세포가 거대화하고 대사증후군 및 CVD의 강력한

위험인자로서 알려져 있다[1, 33].

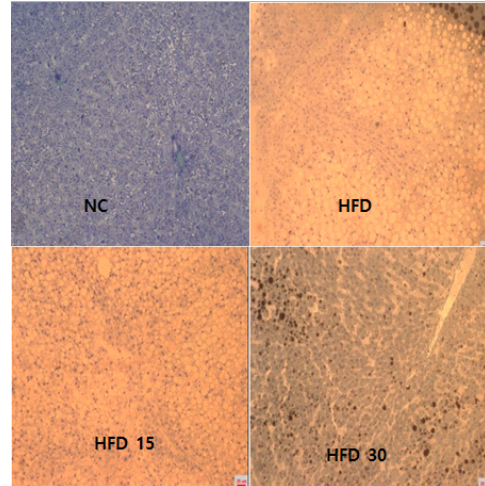


Fig. 3. Morphological change of liver by oral administration of SGE in obese rats.

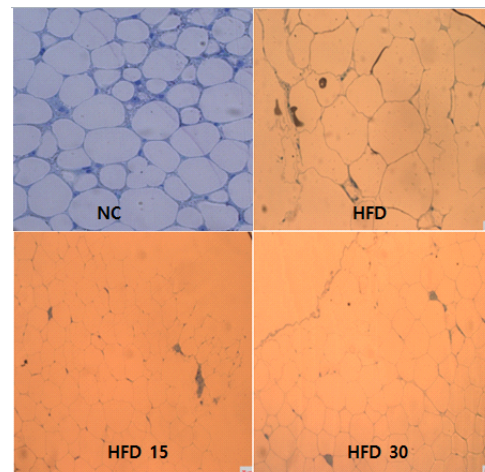


Fig. 4. Morphological change of fat cells by oral administration of SGE in obese rats.

4. 결론

본 연구결과는 비만 모델동물에서 유허오곡층 추출물을 공급해주면 중성지방, 총콜레스테롤, LDL-C 및 동맥경화지수를 낮추고 동시에 HDL-C를 높여줌으로써 복부지방 감소를 통한 항비만 효과를 갖는다는 사실을 최초로 확인하였

다. 이는 SREPB-1 α , SREPB-2 mRNA의 하향 조절과 동시에 PPAR- α mRNA의 상향조절 메카니즘으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 강원대학교 학술연구조성비로 연구하였으며 2014년도 강원대학교 Post-Doc. 지원으로 연구되었음.

References

1. T. Yamaguchi, Y. Miyashita, A. Saiki, F. Watanabe, H. Watanabe, and K. Shirai, Formula diet is effective for the reduction and differentiation of visceral adipose tissue in Zucker fatty rats, *J. Atheroscler. Thromb*, 19, 127-136 (2012).
2. E. J. Son, U. K. Pal, P. K. Mandal, G. E. Hong, S. K. Kim, and C. H. Lee, Hypolipidaemic effect of processed sulfur, *Allium tuberosum* Rottl. and fermented *Allium tuberosum* Rottl. in rat, *Asian J. Anim. Veter. Adv*, 7, 812-821 (2012).
3. L. N. Rodríguez, J. A. Gutiérrez, J. Arriola, D. D. La, R. I. Garza, J. W. Fahey, and S. O. Serna-Saldivar, Broccoli (*Brassica oleracea var. italica*) sprouts and extracts rich in glucosinolates and isothiocyanates affect cholesterol metabolism and genes involved in lipid homeostasis in hamsters, *J. Agric. Food Chem*, 59, 1095-1103 (2011).
4. G. Ji, X. Zhao, L. Leng, P. Liu, and Z. Jiang, Comparison of dietary control and atorvastatin on high fat diet induced hepatic steatosis and hyperlipidemia in rats, *Lipids in Health and Disease*, 10, 23-31 (2011).
5. G. Atmaca, Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids, *Yonsei Medical Journal*, 45, 776-788 (2004).
6. J. O. Ban, D. H. Lee, E. J. Kim, J. W. Kang, M. S. Kim, M.C. Cho, H. S. Jeong, J. W. Kim, Y. Yang, J. T. Hong, and D. Y. Yoon, Antiobesity effects of a sulfur compound thiacremonone mediated via down-regulation of serum triglyceride and glucose levels and lipid accumulation in the liver of db/db mice, *Phytother Res*, 26, 1265-1271 (2012).
7. X. Wu, F. Kassie, and S. V. Mersch, Induction of apoptosis in tumor cells by naturally occurring sulfur-containing compounds, *Mutation Res*, 89, 81-102 (2005).
8. J. Lee, H. J. Lee, J. D. Park, and S. K. Lee, Anti-cancer activity of highly purified sulfur in immortalized and malignant human oral keratinocytes, *Toxicol. In Vitro*, 22, 87-95 (2008).
9. T. Hasegawa, S. Kumanmoto, S. Ueno, and Y. Yoshikai, Methylsulfonylmethane (MSM). Suppressive effect of methylsulfonylmethane (MSM) on Type collagen-induced arthritis in DBA/1J mice, *Jpn. J. Pharmacol. Thera*, 32, 420-427 (2004).
10. L. S. Kim, L. J. Axelrod, P. Howard, N. Buratovich, and R. F. Water, Efficacy of methylsulfonylmethane (MSM) in osteoarthritis pain of the knee: a pilot clinical trial, *Osteoarthr. Cartilage*, 14, 286-294 (2006).
11. L. A. Kormarnisky, Sulfur: Its clinical and toxicologic aspects, *Nutrition*, 19, 54-61 (2003).
12. S. O. Park, B. S. Park, and J. S. Oh, Antibacterial activity of house fly maggot extracts against MRSA and VRE, *J. Environ. Biol*, 31, 865-871 (2010).
13. J. Jensen, B. Anette, D. SteenH. Kjeld, and H. Gunhild, The effect of palm oil, lard and puff-pastry margarine on postprandial lipid and hormone responses in normal-weight and obese young women, *Brit. J. Nutr*, 82, 469-471 (1999).
14. R. H. Eckel, S. M. Grundy, and P. Z. Zimmer, The metabolic syndrome, *Lancet*,

- 365, 1415 (2005).
15. J. Dome, L. Ale, Klemen, Z., S. Dragica, and G. C. Nina, Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria, *J. Med. Microbiol*, 57, 617-625 (2008).
 16. R. A. Sherman, M. J. R. Hall, and S. Thomas, Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions, *Annu. Rev. Entomol*, 45, 55-61 (2000).
 17. D. Jaklic, A. Lapanje, K. Zupani, D. Smrke, and N. Gunde-Cimerman, Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria, *J. Med. Microbiol*, 57, 617-621 (2008).
 18. A. Jang, S. O. Park, J. H. Shin, W. K. Choi, and B. S. Park, Antibacterial activity of ethanol extracts from house fly-maggot against various strains of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin-resistant *enterococci* strain, *Annal. Anim. Res. Sci*, 20, 6-11 (2009).
 19. S. O. Park, and B. S. Park, Effects of grain larvae extracts on hepatotoxicity and blood lipid in obese rats, *J. Anim. Vet. Adv*, 11, 988-994 (2012).
 20. S. O. Park, J. H. Sin, W. K. Choi, and B. S. Park, Effects of fly larvae extracts on reducing serum lipids and protection of liver damage in rats, Proceedings of KOCS International Symposium 2009, *Kor. J. Oil. Chem*, p139 (2009).
 21. B. S. Park, A study on the bioactive effect of ethanol extracts from fly larvae, *J. Environ. Agri. Res.*, 9, 9 (2007).
 22. B. S. Park, Preparations for prevention of metabolic disease from fly maggot fed sulfur, *Korean Patent*, 10-1174301 (2012).
 23. S. O. Park, B. S. Park, and J. Hwangbo, Bifidogenic effect of grain larvae extract on serum lipid, glucose and intestinal microflora in rats, *J. Biosci*, In press (2014).
 24. B. S. Park, N. K. Sungh, A. M. M. T. Reza, Obesity, obesity-related diseases and application of animal model in obesity research, An overview, *Kor. J. Oil Chem*, 30, 622-634 (2013).
 25. S. Mildner-Szkudlarz, and J. Bajerska, Protective effect of grape by-product-fortified breads against cholesterol/cholic acid diet-induced hypercholesterolaemia in rats, *J. Sci. Food Agric*, 93, 3271-3278 (2013).
 26. S. O. Park, and B. S. Park, Extracts of housefly maggot reduces blood cholesterol in hypercholesterolemic rats, *Korean J. Oil Chem*, 31, 101-112 (2014).
 27. SAS. SAS/STAT User's Guide, Statistics, SAS Inst. Inc., Cary, NC(2004).
 28. B. S. Tzang, S. F. Yang, S. G. Fu, H. C. Yang, H. L. Sun, and Y. C. Chen, Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters, *Food Chem*, 114, 1450-1455 (2009).
 29. L. F. M. van Zutphen, V. Baumans, and A. C. Beynen, Principles of laboratory animal science, Elsevier, Netherlands(1993).
 30. C. H. Park, D. I. Kim, H. K. Jung, G. D. Lee, K. S. Kim, and J. H. Hong, Effect of *Bulnesia sarmienti* single and complex extracts on serum lipid and body fat in rats fed high-fat diet, *Korean J. Food Sci. Technol*, 40, 449-452 (2008).
 31. M. A. Leo, M. Sato, and C. S. Lieber, Effect of hepatic vitamin A depletion on the liver in human and rats, *Gastroenterology*, 84, 562-573 (1983).
 32. N. J. Ha, Antiobesity and lipid-lowering effects of *Bifidobacterium spp.* in high fat diet-induced obese rats, *Lipids in Health and Disease*, 10, 116-125 (2011).
 33. S. B Hanauer, Obesity and visceral fat: a growing inflammatory disease, *Nat. Clin. Prac. Gastroenterol. Hepatol*, 2, 245-249 (2005).
 34. A. S. Greenberg and M. S. Obin, Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism, *Ann. J. Clin. Nutr*, 83, 461-465 (2006).
 35. O. A Adaramoye, O. Akintayo, J. Achem,

- and M. A. Fafunso, Lipid-lowering effects of methanolic extract of *Vernonia amygdalina* leaves in rats fed on high cholesterol diet, *Vascular Health and Risk Management*, 4, 235-241 (2008).
36. T. Rogi, N. Tomimori, Y. Ono, and Y. Kiso, The mechanism underlying the synergetic hypocholesterolemic effect of sesamin and α -tocopherol in rats fed a high-cholesterol diet, *J. Pharmacol. Sci.*, 115, 408-416 (2011).
37. L. Rosenfeld, Lipoprotein analysis, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 113, 1101-1108 (1989).
38. S. I. Alqasomi, Evaluation of hepatoprotective and nephroprotective activities of *Scrophularia hypericifolia* growing in Saudi Arabia, *Saudi Arabia Pharm. J.*, 22, 258-263 (2014).
39. N. Rotllan, and C. Fernández, MicroRNA regulation of cholesterol metabolism, *Cholesterol*, 2012, 8-15 (2012).
40. G. L. Kelley, and S. Azhar, Reversal of high dietary fructose-induced PPAR α suppression by oral administration of lipoxygenase/cyclooxygenase inhibitors, *Nutrition & Metabolism*, 2, 18-27 (2005).
41. A. C. Frazier, J. M. Ordovas, R. J. Straka, J. E. Hixson, I. B. Borecki, H. K. Tiwari, and D. K. Arnett, The PPAR alpha gene is associated with triglyceride, low-density cholesterol and inflammation marker response to fenofibrate intervention: the GOLDN study, *The Pharmacogenomics J.*, 12, 93-95 (2012).
42. H. Wang, R. H. Eckel, Lipoprotein lipase: from gene to obesity, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 297, 271-288 (2009).