

효소 처리한 감태(*Ecklonia cava*) 분획물의 항비만 효과

김슬영 · 윤인주¹ · 권창주¹ · 최정욱 · 김영민 · 강미혜 · 이민경 · 남택정*

부경대학교 식품영양학과 · ¹주영엔에스(주)

The Effects of Anti-Obesity on Enzyme-treated *Ecklonia cava* Extracts

Seul-Young Kim, In-Jue Yun¹, Chang-Ju Kwon¹, Jung-Wook Choi, Young-Min Kim, Mi-Hye Kang, Min-Kyeong Lee and Taek-Jeong Nam*

Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Ju Yeong NS Co., Ltd., Chuncheon 200-957, Korea

Obesity is a worldwide problem that contributes to serious diseases, including diabetes, hypertension, and atherosclerosis. Recently, much research has examined functional natural materials and their anti-obesity activity. This study investigated the effect of enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts on mice fed a high fat diet. To test the anti-obesity effects of a diet containing the enzyme-treated *E. cava* extracts (EEc), C57BL/6NTacSam mice were divided into six groups : normal diet (ND), high-fat diet (HFD), high-fat with Garcinia extract diet (GHD), and three high-fat with EEc diet (EHD250, EHD500, and EHD1000) groups. After 9 weeks, body weight was increased significantly in the HFD group compared to all of the EHD groups, and the weights of the liver, perirenal fat and epididymal fat paralleled the increase in body weight. The serum GOT, GPT, triglyceride, total cholesterol, and LDL-cholesterol levels were lower in the EHD1000 group than in the HFD group. The glucose and leptin concentrations were lowest in the EHD1000 group and C/EBP family expression was decreased in a dose-dependent manner. These results indicate that *E. cava* extracts not only have anti-oxidation functions but also anti-obesity effects.

Key words : *Ecklonia cava*, Obesity, Mouse, C/EBP family

서 론

대사증후군의 원인인 비만은 세계적으로 가장 문제가 되고 있는 질병 중 하나로써, 급격한 경제 발전과 생활의 변화로 인하여 최근 들어 우리나라에서도 비만이 증가하는 추세이다(Jang and Choi, 2003). 세계보건기구에서는 비만을 만성질환으로 분류하고 있으며(Pi-Sunyer, 1991), 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증 등 다양한 성인병의 원인이 되는 것으로 알려져 있다(Shin and Han, 2006). 꾸준한 비만치료제의 개발에도 불구하고 현재 시판되고 있는 치료제는 부작용을 동반하고 있기 때문에 항비만 효능을 가진 천연물질의 개발 및 연구가 필요하다(Ko, 2004). 항비만 효능을 가진 육상식물에 대한 연구는 많이 이루어지고 있으며, 최근 들어 해조류의 다양한 생리활성 기능들이 알려지면서 새로운 자원으로 주목을 받고 있다(Lee et al, 2012).

본 연구에 사용된 감태(*Ecklonia cava*)는 주로 우리나라 제

주도 연안에 많이 서식하고 있는 다시마목(Laminariales) 미역과(Alariaceae)의 다년생 해조류이다(Wi et al., 2008). 주로 전복이나 소라의 양식에 많이 이용되어 식용으로는 거의 이용되지 않았으나(Sim, 2003), 이후 다양한 연구결과를 통해 항산화(Athukorala et al., 2006), 항염증(Shin et al., 2006), 고혈압 억제효과(Hong et al., 2006) 및 갱년기 증상완화(Kang and Kim, 2009) 등의 효능을 가진 것으로 보고되었고, 최근 들어서는 감태에 있는 phlorotannin의 다양한 polyphenol 성분들이 알려지면서 감태를 이용한 생리활성 연구가 활발하게 진행되고 있다(Shin, 2011). 감태의 항비만 효과에 관한 기존 연구들을 살펴보면, lipase 저해활성에 대한 연구에서는 감태의 에탄올 추출물이 가수분해 추출물에 비하여 높은 저해활성을 나타낸다고 보고하였고(Jung et al., 2011), 감태의 polyphenol 추출물인 seanol은 지질대사 및 당대사에 효과가 있다고 하였다(Kwon, 2013). 본 연구에서는 감태에 있는 유효성분의 분리 및 정제를

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0363>



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.

Kor J Fish Aquat Sci 47(4) 363-369, August 2014

Received 25 July 2014; Accepted 5 August 2014

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5846 Fax: +82. 51. 629. 5842

E-mail address: namtj@pknu.ac.kr

위하여 소화효소인 rapidase press L과 rohament CL을 사용하여 감태분획물(enzyme-treated *E. cava* extracts; EEc)을 추출하였고, 지방합성 경로를 차단하여 식욕억제 및 체중저하효과를 나타내는 것으로 알려져 있는 *garcinia* 추출물(Hong et al., 2009) 양성 대조군으로 사용하여 감태의 항비만 효과를 *in vivo* 수준에서 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

감태분획물의 제조

본 연구에 사용된 감태(*Ecklonia cava*)는 제주산 감태원물을 구입하여 1차 세척하고 뿌리와 줄기 및 중심 잎을 제거한 가지 잎을 5 cm 내외가 되도록 세절하고 완전 건조하여 칩 형태로 제조한 것을 시료로 사용하였다. 염에 의한 영향이 있는 지 확인하고자 시료 10 g을 25배수의 증류수에 2분간 교반하고 100 mesh sieve로 여과한 여과액을 염도 측정기(PAL-3, ATAGL, JAPAN)를 이용하여 측정하였다. 그 결과 0.1%로 측정되어 염에 의한 영향은 받지 않도록 하였다.

감태 칩(Taekyugnongsan, Jeju-do, Korea) 30 kg을 추출 탱크에 넣고 정제수 750 L와 2종의 효소 rapidase press L 0.3 kg, rohament CL 0.3 kg을 투입한 후 50℃에서 24시간 추출하였다. 추출 후 여과한 여액에 주정을 투입하여 18시간 침지하였다. 이후 3,000 rpm에서 분당 21 rpm의 속도로 여과과정을 거친 후 농축기를 이용하여 최종 분말 제품 3.56 kg을 회수하였으며, 이를 감태분획물(EEc; JY202-MM130126R)로 명명하였다.

실험동물의 식이 및 사육

본 연구에 사용된 실험동물은 부경대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(승인번호 2013-01). 생후 4주령 C57BL/6N Tac 수컷 mouse (15-18 g)를 샘타코(Samtako Bio Korea, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하여 사판되는 고휘사료로 1주일간 예비사육 한 후, 10마리씩 6군으로 나누어 9주간 사육하였다. 실험동물의 분류는 정상식이군(ND), 고지방식이군(HFD), *garcinia* 고지방혼합식이군(GHD), 감태분획물(EEc) 고지방혼합식이군(EHD250, EHD500, EHD1000)으로 나누었으며, AIN-76 semipurified diet (MP0290545220, MP biomedical, LLC, OH, USA)를 기본 사료로 사용하였다. 실험 식이는 비만을 유도하기 위하여 지방함량을 총 열량의 37% 수준으로 증가시키고, 지질 급원으로 lard와 corn oil을 사용하였다. 실험식이에 첨가된 *garcinia* 추출물 및 효소를 이용한 EEc은 (주)주영엔에스(Ju Yeong NS Co., Ltd, Gangwon-do, Korea)로부터 제공받았으며 *garcinia* 250 mg/kg/day, EEc 250, 500, 1,000 mg/kg/day로 조성하여 급이하였고, 사육실의 온도는 23±2℃, 습도 50±5%, 12 h light-dark cycle로 조절하였다. 실험군의 분류 및 식이조성은 Table 1 및 2와 같다.

채혈 및 장기 중량 측정

실험동물의 혈액은 실험종료 전 24시간 절식시킨 다음 복강 대정맥에서 회수하였다. 혈액은 2,500×g에서 20분간 원심분리(Supra-22K, Hanil, Korea)하여 혈청을 분리한 뒤, -70℃에서 냉동보관 하여 실험에 사용하였다.

간, 신장, 부고환과 주변지방을 적출하여 생리식염수에 세척한 후 여과지로 여분의 물기를 제거하여 무게를 측정하고 액체 질소로 급속냉동 시킨 후 -70℃에서 냉동보관 하였다.

체중변화, 식이섭취량 및 식이효율 측정

체중은 1주일에 1회, 일정한 시간에 측정하였으며 예비사육 직후의 체중을 초기(initial) 체중으로 하였고, 9주 후의 체중을 마지막(final) 체중으로 하여 체중 증가량을 계산하였다. 식이는 1일 1회 매일 일정한 시간에 규칙적으로 급이하고 다음 날 같은 시간에 잔량을 조사하여 1일 섭취량을 기록하였다. 식이효율은 체중 증가량을 9주간의 총 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

혈액분석

혈청 중 glutamic oxaloacetic tansaminase (GOT), glutamic pyruvic tansaminase (GPT), total cholesterol (T-CHO), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) 함량은 혈액생화학측정기(Thermo fisher Scientific, USA)를 이용하여 측정하였다. 혈청 중 triglyceride 함량은 TG 측정 kit (AM 157S-K, Asan Pharm, Seoul, Korea)를 사용하였고, 혈당 함량 및 혈청 leptin 농도는 glucose 측정 kit (AM 201-K, Asan Pharm)와 Leptin ELISA kit (ADI-900-019A, Enzo Life Sciences, Switzerland)를 사용하여 각각 측정하였다.

간 조직 내 Triglyceride 함량

간 조직 내 triglyceride를 측정하기 위하여 간 조직을 세척한 후 PBS buffer에 넣고 균질화하였다. 그런 다음 원심분리(2,500×g, 4℃, 10 min)하여 상층액을 회수한 후, TG 측정 kit를 이용하여 측정하였다.

Western blot에 의한 단백질 발현 분석

조직 내의 단백질 발현 변화를 관찰하기 위하여 간 조직을

Table 1. Manufacture of experimental diets

Group	Diet
ND (n=10)	Normal diet group
HFD (n=10)	High fat diet group
GHD (n=10)	High fat diet + Garcinia 250mg/kg/day
EHD250 (n=10)	High fat diet + EEc 250mg/kg/day
EHD500 (n=10)	High fat diet + EEc 500mg/kg/day
EHD1000 (n=10)	High fat diet + EEc 1,000mg/kg/day

Table 2. The composition of experimental diets

Ingredients ¹	(g/kg diet)					
	ND	HFD	GHD	EHD250	EHD500	EHD1000
casein	200	169.60	169.60	169.60	169.40	169.60
DL-methionine	3	2.54	2.54	2.54	2.54	2.54
sucrose	500	424.00	424.00	424.00	423.50	423.50
corn starch	150	127.20	127.20	127.20	127.05	127.05
cellulose	50	42.40	42.40	42.40	42.35	42.35
corn oil	50	42.40	42.40	42.40	42.35	42.35
mineral mix	35	29.68	29.68	29.68	29.65	29.65
vitamin mix	10	8.48	8.48	8.48	8.47	8.47
choline bitartrate	2	1.70	1.70	1.70	1.70	1.70
lard		144.16	144.16	144.16	143.99	143.99
cholesterol		8.48	8.48	8.48	8.47	8.47
sample			2.50	2.50	5.00	10.00
total (g)	1,000	1,000.64	1,000.90	1,000.90	1,000.00	1,000.05
calorie	3,850	4,562.24	4,562.24	4,562.24	4,556.86	4,556.86
fat	450	1,679.04	1,679.04	1,679.04	1,677.06	1,677.06
fat (% calorie)	11.7	36.80	36.80	36.80	36.80	36.80

Groups are the same as in Table 1.

¹ The diets compositions were based on AIN-76 semipurified diet.

RIPA buffer (1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate, 1 mM EGTA, 150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5)에 넣어 마쇄한 후 원심분리(2,500 × g, 4°C, 10 min) 하여 상층액을 회수하였다. BCA protein assay kit (Pierce Biotechnology, IL, USA)를 사용하여 단백질 농도를 측정 후 동일한 농도의 단백질을 취하여 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) 한 다음 Polyvinylidene fluoroide (PVDF) membrane (Millipore, USA)에 transfer하였다. Membrane은 실온에서 1% BSA/TBS-T로 blocking 시킨 후, 1차 항체를 TBS-T에 1:1,000 비율로 희석하여 반응시켰다. 1차 항체 반응이 끝난 membrane을 TBS-T 용액으로 세척한 다음 2차 항체를 TBS-T에 1:10,000 비율로 희석하여 실온에서 반응시켰다. Super signal west pico luminal/enhancer solution (Pierce Biotechnology, USA)을 사용하여 KODAK X-ray film에 감광시켜 나타나는 밴드로 단백질 발현 정도를 확인하였다.

통계처리

모든 실험결과는 각 군별의 평균과 표준편차(mean ± S.D.)로 나타내었으며, 각 실험군 간의 유의성은 SPSS ver. 18.0 프로그램을 사용하여 통계처리 하였다. 각 군에 대한 유의성 검증은 ANOVA test와 Duncan's multiple range test를 P<0.05 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

장기무게, 체중변화, 식이섭취량 및 식이효율

실험 종료 후 간, 신장과 부고환 장기 및 주변지방의 무게를 측정 한 결과를 Table 3에 제시하였다. 간 무게 측정 결과 HFD군에 비하여 GHD군과 EHD군에서 유의적 감소를 나타내었으며, 특히 EHD1000군은 HFD군에 비하여 34.4% 감소하여 양

Table 3. Effect of the enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts on the lipid profiles

	ND	HFD	GHD	EHD250	EHD500	EHD1000
Liver (g)	1.08±0.05 ^{ac}	1.54±0.12 ^b	1.17±0.07 ^a	1.09±0.06 ^{ac}	1.08±0.07 ^{ac}	1.01±0.14 ^c
Perirenal fat (g)	0.43±0.05 ^a	0.74±0.11 ^b	0.38±0.03 ^{ac}	0.36±0.02 ^c	0.37±0.01 ^{ac}	0.36±0.04 ^c
Epididymal fat (g)	0.21±0.06 ^a	0.59±0.11 ^b	0.26±0.04 ^a	0.22±0.04 ^a	0.24±0.02 ^a	0.22±0.05 ^a

Groups are the same as in Table 1.

Within each column, values with different superscripts are significantly from each other (P<0.05), as determined by Duncan's multiple range test.

성 대조군인 GHD군보다도 감소하는 경향을 나타내었다. 신장 및 부고환 주변지방의 무게는 HFD군에 비하여 GHD군, EHD군에서 유의적인 감소를 나타내었고, EEC 농도에 따른 유의적 차이는 나타나지 않았다.

9주간의 실험기간 동안 변화된 체중과 식이섭취량, 식이효율을 측정된 결과를 Table 4에 나타내었다. 체중 증가량은 실험 종료 직후 체중(final)에서 예비사육 직후의 무게(initial)를 뺀 것으로 나타내었으며, HFD군에 비하여 GHD군 및 EHD군에서 유의적인 감소를 나타내었다. 특히, EHD1000군은 6.4 ± 0.34 g/9 weeks로 ND군 7.2 ± 0.27 g/9 weeks보다도 더 낮은 체중 증가량을 보여 EEC에 의한 체중감소효과를 확인하였다. 각 군별 식이효율은 HFD군은 ND군에 비해 80.6% 증가하였으며, EHD군은 ND군과 GHD군 수준과 유사하였다.

Kwon은 감태의 polyphenol 추출물인 seanol을 비만 모델 마우스에 경구 투여한 결과 체중과 식이효율에서 감소효과를 나타내었는데, 이는 seanol이 영양소의 소화흡수에 영향을 미쳐 체중 및 식이효율이 감소된 것이라고 하였다(Kwon, 2013). 본 실험에서는 고지방식이에 인한 체중 증가가 EEC섭취에 의하여 정상식이군 수준으로 감소되는 것을 확인하였다. 즉, 비만을 유도한 그룹과 비교하여 EEC를 고지방식사와 혼합하여 급이한 그룹의 경우 농도의존적인 체중저하 효과를 확인할 수 있었다.

혈청 중의 GOT 및 GPT 활성

혈청 중의 GOT 및 GPT 농도 측정 결과를 Fig. 1에 나타내었다. GOT 및 GPT는 간세포에 다량 존재하는 효소이며, 간 손상 시 혈액으로 유출되어 혈청 수치가 증가됨으로써 간 손상의 지표로 활용되고 있다(Friedman et al., 2003). GOT 및 GPT 활성 변화를 측정된 결과 HFD군이 ND군에 비하여 유의적 증가를 보였고, EHD군에서 농도의존적으로 감소하였다. 이는 고지방식이군에서는 간 조직 내에 지방 축적이 발생하여 GOT, GPT 활성이 증가하였으나, 증가된 GOT 및 GPT의 활성이 EEC식이군에서는 저하된 것으로 보아 EEC가 간 독성 예방 효과와 간 기능 회복에 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

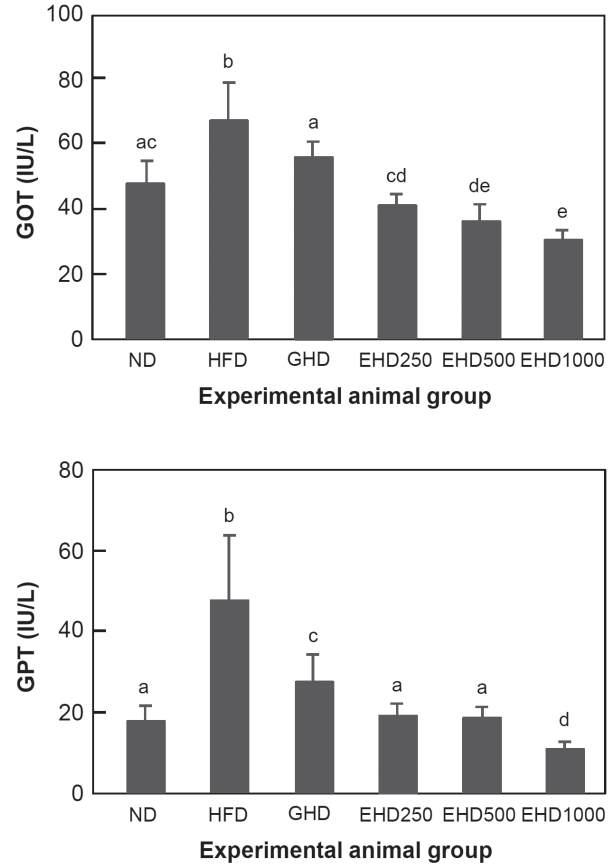


Fig. 1. Effect of the enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts on GOT and GPT activities in serum. Groups are the same as in Table 1. High-fat diet and EHD 250, 500, 1,000 (*E. cava* extract 250, 500, 1,000 mg/kg/day mouse) group were feeding for 9 weeks. Different superscripts represent significantly different results ($P < 0.05$).

혈청 내 지질 함량

EEC식이에 따른 혈청 중 triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol의 함량을 측정하였다(Table 5).

Table 4. Effect of the enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts on the weight gain, food intake and FER

	ND	HFD	GHD	EHD250	EHD500	EHD1000
Body weight						
Initial (g)	20.3±0.66 ^{NS1}	20.3±0.64	20.4±0.65	20.3±0.70	20.4±0.71	20.4±0.73
Final (g)	27.5±0.79 ^{ac}	35.9±2.45 ^b	28.8±0.66 ^{ad}	29.0±0.38 ^d	29.8±0.89 ^d	26.8±0.60 ^c
Food intake (g/day)	2.3±0.30 ^a	2.8±0.52 ^b	2.5±0.29 ^{ab}	2.5±0.31 ^{ab}	2.5±0.34 ^{ab}	2.5±0.28 ^{ab}
Body weight gain (g/9 week)	7.2±0.27 ^a	15.5±1.86 ^b	8.4±0.22 ^c	8.6±0.40 ^{cd}	9.4±0.47 ^d	6.4±0.34 ^a
Food efficiency ratio (FER)	0.3±0.01 ^a	0.6±0.07 ^b	0.3±0.01 ^{ac}	0.4±0.02 ^{cd}	0.4±0.02 ^d	0.3±0.01 ^e

Groups are the same as in Table 1.

Within each column, values with different superscripts are significantly from each other ($P < 0.05$), as determined by Duncan's multiple range test.

¹ NS: not significant.

Table 5. Effect of the enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts on triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total cholesterol, glucose and leptin contents in serum

	ND	HFD	GHD	EHD 250	EHD 500	EHD 1000
TG (mg/dL)	67.4±2.57 ^{ab}	80.9±5.83 ^b	54.3±6.45 ^a	54.1±2.58 ^a	62.5±4.02 ^a	61.7±5.65 ^a
HDL-C (mg/dL)	89.4±3.54 ^a	118.9±8.67 ^b	117.1±6.86 ^b	129.3±8.32 ^b	123.9±15.82 ^b	101.8±1.88 ^a
LDL-C (mg/dL)	14.4±2.70 ^a	24.6±2.44 ^b	20.4±2.10 ^c	16.5±2.69 ^d	16.3±0.94 ^d	18.5±1.66 ^{cd}
T-CHO (mg/dL)	78.9±2.98 ^a	173.4±5.79 ^b	113.8±6.72 ^c	96.0±7.36 ^d	98.8±4.04 ^d	104.3±7.15 ^d
Glucose (mg/dL)	201.5±13.23 ^a	226.5±12.66 ^b	165.8±16.36 ^c	166.2±13.13 ^c	137.9±16.44 ^d	123.0±14.04 ^d
Leptin (pg/mL)	314.0±90.15 ^{ac}	617.4±60.33 ^b	438.0±78.37 ^c	217.6±118.25 ^{ac}	306.1±58.63 ^{ac}	171.9±18.60 ^{ac}

Groups are the same as in Table 1. Values are mean ± SD. Within each column, values with different superscripts are significantly from each other ($P < 0.05$), as determined by Duncan's multiple range test.

혈청 중 total cholesterol 함량은 ND군에 비하여 HFD군에서 119.9%로 급격한 증가를 나타내었으며, HFD군에 비해 EHD군에서는 유의적인 감소를 보였다. 또한 LDL-cholesterol 함량은 ND군에 비하여 HFD군에서 70.2% 증가하였고, HDL-cholesterol 함량은 HFD군에 비하여 유의적인 증가는 보이지 않았으나 EHD250군, EHD500군에서 각각 129.3 mg/dL, 123.9 mg/dL로 8.8%, 8.35%의 증가를 보여주었다. HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol은 체내 cholesterol을 운반하는 역할을 하며, 특히 LDL-cholesterol의 경우 체내 다른 조직에 cholesterol을 축적하여 심혈관계 질환의 발병의 원인이 된다(Imano et al., 2011). 본 실험 결과, EEC는 고지방식이에 의하여 증가된 total cholesterol 및 LDL-cholesterol 함량의 수치를 감소시켜 비만에 의한 고지혈증, 심혈관계 질환의 위험성을 줄여줄 것으로 여겨진다.

Triglyceride 함량 측정 결과, ND군과 HFD군에서는 유의적 차이를 나타내지 않았지만, HFD군에 비하여 GHD과 EHD군에서는 유의적인 감소경향을 나타내었다. 복부비만일수록 혈중 triglyceride의 함량이 높은 것으로 알려져 있는데(Lee et al., 2011), 본 연구에서도 부고환 주변 지방의 무게가 가장 많았던 HFD군에서 혈중 triglyceride 함량이 증가되는 것을 확인할 수 있었다(Table 5).

혈청 glucose 함량 및 leptin 농도

혈청 glucose 함량 및 leptin 농도 측정 결과를 Table 5에 나타내었다. 혈청 glucose 함량 측정 결과 HFD군은 226.4±12.66 mg/dL로 ND군에 비하여 유의적인 증가를 나타내었고, EHD250, EHD500, EHD1000군은 각각 166.2±13.13 mg/dL, 137.9±16.44 mg/dL, 123.0±14.04 mg/dL로 HFD군에 비하여 26.6%, 39.1%, 45.7%씩 감소하였다. 이러한 결과는 해조류에 다량 함유되어있는 알긴산이 포도당의 흡수를 저해하여 혈중 glucose 수치를 낮추어 주었다는 연구결과(Lee et al., 2004)와 동일하게 본 연구의 EEC 또한 비만에 의한 당뇨병 및 내당능 장애에 효과가 있을 것으로 사료된다.

Leptin은 지방조직에서 생산되는 Obese (Ob) 유전자의 산물

로 비만일 경우 leptin의 혈중 농도가 높아지는 것으로 알려져 있다(Meier, 1995). Leptin은 뇌 시상하부에서 neuropeptide Y (NPY)와 α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH)의 분비를 자극함으로써 식욕을 조절하고 체내 지방 축적을 조절하는 기능을 하게 된다. 지방조직에서 분비되는 leptin의 양은 지방세포의 수, 크기와 관련이 있으며 지방조직의 양이 감소하면 혈중 leptin의 양이 줄어드는 것으로 알려져 있다(David and Michael, 2004). 본 연구에서 혈중 leptin의 농도는 ND군에 비하여 HFD군에서 유의적인 증가를 나타내었고, EHD군에서 농도에 따른 유의적인 감소는 나타나지 않았으나 HFD군에 비하여 유의적인 감소를 보였다. 특히 EHD1000군의 혈중 leptin 농도는 171.9 pg/mL로 HFD군(617.4 pg/mL)에 비해 73.0% 감소되었다. Hong et al. (2001)은 고지방식이가 체중증가 및 혈중 leptin의 농도를 증가시킨다고 하였는데, 본 실험에서 HFD군의 혈중 leptin 농도가 증가된 것과 같은 경향을 보여주었다. 또한 앞서 고찰한 바와 같이 체중 감소 및 장기 주변 지방량의 감소를 볼 때 EEC는 지방조직의 축적을 저해하고 그로 인해 leptin의 분비량이 줄어드는 것으로 사료된다.

간 조직 내 triglyceride 측정 결과

9주간 EEC를 고지방식이와 혼합하여 급이한 마우스의 간 조직에서의 triglyceride 함량에 미치는 영향을 측정된 결과를 Fig. 2에 제시하였다. HFD군이 144.5±16.25 mg/dL로 ND군 74.4±12.84 mg/dL에 비하여 94.4% 증가하였으며 특히 EHD1000군은 52.5±13.34 mg/dL로 HFD군에 비하여 63.7% 감소하여 EHD군 중에서도 triglyceride의 축적이 가장 저해되었음을 확인할 수 있었다. Triglyceride는 간 조직 내의 지방세포에 흡수, 저장되어 간 기능을 떨어뜨리고 비만의 원인이 된다. 간 조직 내의 지질 함량의 감소는 항비만 효과의 중요 지표가 되며, Kwon은 감태에서 추출한 seanol을 고지방식이와 함께 급이한 결과 간 조직 내 triglyceride 함량이 최대 47%까지 감소하였다고 보고하였다(Kwon, 2013). 또 연잎 추출물의 간 조직 지질함량에 미치는 영향에 대한 연구에서도 연잎 추출물 급이에 따른 혈청 지질의 감소와 함께 간 조직 내 지질함량에도 감소효

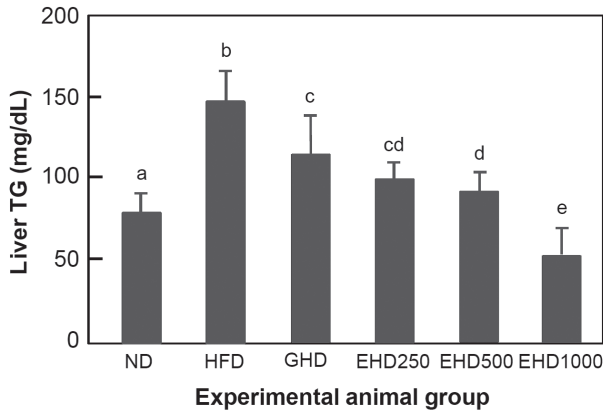


Fig. 2. Effect of the enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts on triglyceride (TG) in liver tissue. Groups are the same as in Table 1. High-fat diet and EHD 250, 500, 1,000 (*E. cava* extract 250, 500, 1,000 mg/kg/day mouse) group were feeding for 9 weeks. Different superscripts represent significantly different results ($P < 0.05$).

과가 있었다고 하여(Lee and Lee, 2011), 본 연구와 유사한 결과를 보여주었다.

지방생성 억제효과

마우스의 간에서 회수한 단백질을 지방생성억제효과를 western blot을 통해 분석한 결과, HFD군에서는 CCAAT/enhancer-binding proteins (C/EBP) family의 발현이 유의적으로 증가하고, EHD군에서 농도의존적으로 감소하는 것을 관찰할 수 있다(Fig. 3). C/EBP family는 갈색지방세포와 백색지방세포에서 발현되는 전사인자로 C/EBP β 와 C/EBP δ 는 지방세포 분화초기 단계에서 발현이 증가되고 C/EBP α 는 분화과정의 후반기에 발현이 촉진되는 인자로 알려져 있다(Cowherd et al.,

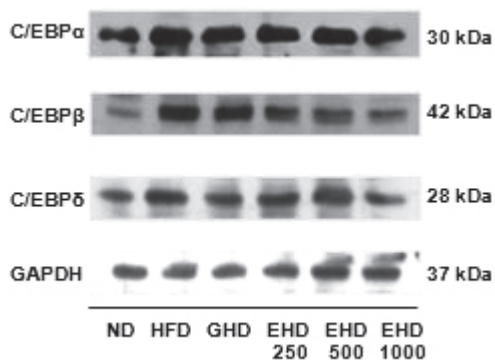


Fig. 3. Effect of the enzyme-treated *Ecklonia cava* extracts on the expression of C/EBP family in liver tissue. Groups are the same as in Table 1. High-fat diet and EHD 250, 500, 1,000 (*E. cava* extract 250, 500, 1,000 mg/kg/day mouse) group were feeding for 9 weeks.

1999). C/EBP family는 adipogenic transcription factor들 중에서 PPAR γ 와 함께 지방세포 분화에 중요한 역할을 하는 인자들로써(Park et al., 2011) AMP-activated protein kinase (AMPK) 경로를 활성화 시켜 에너지 대사 조절에 관여하고 항비만 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Cho et al., 2010). 본 연구에서는 EHD군에서 C/EBP family 발현이 감소함을 확인하였는데, 이는 EEC가 지방세포 생성을 억제하고 triglyceride 생성을 감소 시킴으로써 항비만효과를 나타내는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2013년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행되었습니다(수산실용화기술개발사업, 111090-03-3-HD110). 이에 감사드립니다.

References

- Athukorala Y, Kim KN and Jeon YJ. 2006. Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food Chem Toxicol* 44, 1065-1074. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2006.01.011>.
- Cho YM, Lee SM, Kim YH, Jeon GU, Sung JH, Jeong HS and Lee JS. 2010. Defatted grape seed extracts suppress adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39, 927-931.
- Cowherd RM, Lyle RE and McGehee Jr RE. 1999. Molecular regulation of adipocyte differentiation. *Semin Cell Dev Biol* 10, 3-10.
- David LN and Michael MC. 2004. Principles of biochemistry, 4th edition, W.H. Freeman and Company, New York, U.S.A., 910-917.
- Friedman SF, Martin P and Munoz JS. 2003. Laboratory evaluation of the patient with liver disease. In: *Hepatology, a textbook of liver disease*. Zakim D and Boyer TD, eds. Saunders publication, Philadelphia, U.S.A., 661-709.
- Hong JH, Kim BK, Son BS, Chee HY, Lee BH, Shin HC, Lee KB and Song KS. 2006. Antihypertensive effect of *Ecklonia cava* extract. *Kor Soc Pharm* 37, 200-205.
- Hong KH, Kang SA and Kim SH. 2001. Effects of high fat diet on serum leptin and insulin level and brown adipose tissue UCP1 expression in rats. *Korean J Nutr* 34, 865-871.
- Hong SY, Park JY, Sohn JS, Kim JH and Kim MK. 2009. Effects of garcinia cambogia extract feeding on body weight and lipid profiles in rats fed a high-carbohydrate or high-fat diet. *Food Sci Biotechnol* 18, 649-654.
- Imano H, Noda H, Kitamura A, Sato S, Kiyama M, Sankai T, Ohira T, Nakamura M, Yamagishi K, Ikeda A, Shimamoto T and Iso H. 2011. Low-density lipoprotein cholesterol and risk of coronary heart disease among Japanese men and women: the circulatory risk in communities study (CIRCS). *Prev Med* 52, 381-386. <http://dx.doi.org/10.1016/j.p>

- ypmed.2011.02.019.
- Jang JY and Choi HJ. 2003. Effects of *Artemisia Iwayomogi* oligosaccharide on the blood Lipids, abdominal adipose tissues and leptin levels in the obese rats. Korean J Nutr 36, 437-445.
- Jung JY, Kim KBWR, Lee CJ, Kwak JH, Kim MJ, Kim DH, Sunwoo C, Kim TW and Ahn DH. 2011. Inhibitory effect of *Ecklonia cava* extracts against lipase activity and stability effect of temperature and pH on their activity. J Korean Soc Food Sci Nutr 40, 969-974.
- Kang SR and Kim MY. 2009. The effect of *Ecklonia cava* extracts on bone turnover markers in ovariectomized rats. J Life Sci 19, 1841-1846.
- Ko DU. 2004. Effect of Job's tears on the obesity range of rat. Ph.D. Thesis, Graduate School of Yongin University, Gyeonggi-do, Korea, 1-6.
- Kwon HJ. 2013. Biological activities and anti-obesity effect of Gam-Tae (*Ecklonia cava*). M.S. Thesis, Graduate School of Gyeongsang National University, Gyeongsangnam-do, Korea, 33-51.
- Lee HS, Choi JH, Kim YG and Lee CH. 2012. Effect of dietary intake of *Salicornia herbacea* L. hot water extract on anti-obesity in diet-induced obese rats. J Korea Soc Food Sci Nutr 41, 950-956.
- Lee JJ, Park MR, Kim AR and Lee MY. 2011. Effects of ramie leaves on improvement of lipid metabolism and anti-obesity effect in rats fed a high fat/high cholesterol diet. Korean J Food Sci Technol 43, 83-90.
- Lee KS, Choi YS and Seo JS. 2004. Sea tangle supplementation lowers blood glucose and support antioxidant systems in streptozotocin-induced diabetic rats. J Med Food 7, 130-135.
- Lee KS and Lee KY. 2011. Effect of Lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract on serum and liver lipid levels of rats fed a high fat diet. J Korean Soc Food Sci Nutr 40, 1544-1547.
- Meier CA. 1995. Advances in the understanding of the molecular basis of obesity. Eur J Endocrinol 133, 761-763.
- Park JA, Park C, Han MH, Kim BW, Chung YH and Choi YH. 2011. Inhibition of adipocyte differentiation and adipogenesis by aged black garlic extracts in 3T3-L1 preadipocytes. J Life Sci 21, 720-728.
- Pi-Sunyer FX. 1991. Health implications of obesity. Am Soc Nutr 53, 1595S-1603S.
- Shin HC. 2011. Nutraceutical application of seanol. Food Industry and Nutrition 16, 5-11.
- Shin HC, Hwang HJ, Kang KJ and Lee BH. 2006. An anti-oxidative and antiinflammatory agent for potential treatment of osteoarthritis from *Ecklonia cava*. Arch pharm Res 29, 165-171.
- Shin MK and Han SH. 2006. Effects of Lotus (*Nelumbo Nucifera Gaertner*) leaf powder on lipid concentrations in rats fed high fat diet rats. Korean Food Culture 21, 202-208.
- Sim JM. 2003. Studies on the nutritional evaluation of *Ecklonia cava kjellman* and *Ecklonia* Residues and their dietary effects on immunocompetence and productivity in chicken. Ph.D. Thesis, Graduate School of Konkuk University, Seoul, Korea, 1-20.
- Wi MY, Hwang EK, Kim SC, Hwang MS, Baek JM and Park CS. 2008. Regeneration and maturation induction for the free-living gametophytes of *Ecklonia cava kjellman*. J Korea Fish Soc 41, 381-388.