

뽕잎추출물이 Zucker Rat의 체지방 축적에 미치는 효과

김순경 · 김선여* · 김휘준** · 김애정***†

순천향대학교 식품영양학과

*경희대학교 동서의학대학원

**순천향대학교 의과대학 임상병리학과교실

***대전대학교 식품영양과

The Effect of Mulberry-Leaf Extract on the Body Fat Accumulation in Obese fa/fa Male Zucker Rats

Soon-Kyung Kim, Sun-Yeou Kim*, Hwi-Jun Kim** and Ae-Jung Kim***†

Dept. of Food Science and Nutrition, Soonchunghyang University, Chungnam 336-745, Korea

*Graduate School of East-West Medical Science, Kyunghee University, Seoul 130-701, Korea

**Dept. of Clinical Pathology, College of Medicine, Soonchunghyang University, Chunan Hospital, Chunan 330-090, Korea

***Dept. of Food and Nutrition, Hyejeon College, Chungnam 350-702, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate whether the obesity of obese fa/fa male Zucker rats can be ameliorated by mulberry leaves. There was no significant difference between mulberry treatment group and control group in body weight gain and food efficiency ratio. It also showed decreases of plasma triglyceride and total-cholesterol concentration compared to the control group. But there was no change in plasma leptin concentration between the control and mulberry treatment groups. These results suggest that mulberry leaves reduce serum lipid levels, but do not effect the plasma leptin concentration.

Key words: obese fa/fa Zucker rat, body weight, mulberry, leptin

서 론

최근 양잠부산물 중 뽕잎, 상백피, 잠분 등과 같은 잠상유래산물에 대한 생리활성 연구가 여러 분야에서 진행되고 있다. 특히 잠상산물 중 뽕잎은 항고혈압, 항당뇨, 콜레스테롤 저하, 발암억제 및 체지방 축적 억제 효능이 있다고 보고되었고 flavones, steroids, triterpenes, amino acids, vitamins 과 다량의 미네랄 성분이 존재하는 것으로 알려져 있다(1,2) 최근 동물을 이용한 *in vivo* 실험을 통해 혈당강화 작용, 콜레스테롤치 저하작용 등이 있는 것으로 일부 확인되었고(3) 항산화성 성분의 존재도 밝혀지고 있어 최근 늘어나고 있는 성인병등의 예방 및 치료에 효과가 있을 것으로 예상되고 있다. 이외에도 많은 유용한 성분이 있는 것으로 알려져 있으나 아직 그 성분과 구조가 밝혀지지 않은 것이 많다. 특히 체지방 축적 억제에 관한 연구는 거의 이루어지고 있지 않으며, 단지 뽕잎의 풍부한 섬유소가 당의 흡수를 억제하고 변의 배설량을 늘려 비만을 일부 억제하는 것으로 보고되고 있다(4,5).

한편 비만은 여러 가지 대사장애와 만성퇴행성 질환 등과 관련이 있음이 밝혀지면서 비만자의 체중감소에 많은 관심을 두고 여러 분야에서 연구가 이루어지고 있다. 최근 우리나라도 비만인구가 증가되면서 비만의 치료에 대한 관심은 더욱 고조되고 있다. 1998년 한국인의 비만율은 남자 22.5, 여자 23.2%로 보고되었고(6), 2000년 말레이시아 비만 연구 협회에 의하면 한국인이 아시아에서 2번째로 비만자가 많은 것으로 나타났다(7). 이처럼 비만인구 비율이 과거에 비해 점점 증가되는 추세를 보이고 있고 그 심각성도 더해지고 있다. 따라서 체중조절에 대한 관심이 높아지고, 다양한 비만치료 프로그램이 제시되고 있으나 성공률도 낮고 오히려 건강에 해가 되는 결과가 초래되기도 한다.

최근 유행되고 있는 체중조절을 위한 프로그램 및 식사요법은 일시적으로 체중감소가 나타나지만, 대부분 각종 영양소의 부족과 대사이상으로 인한 영양실조, 빈혈, 부종, 간기능저하, 면역력 감소 등의 부작용을 초래하고 갈습결핍에 의한 골다공증, 체단백질 손실에 의한 노화촉진 등의 문제를 갖고 있다(8). 따라서 일반식사와 함께 섭취가 가능하며 부

†Corresponding author. E-mail: kaj419@hycjeon.ac.kr
Phone: 82-41-630-5249, Fax: 82-41-632-5714

작용 없이 체지방을 억제할 수 있는 천연식품 소재의 개발이 필요할 것으로 여겨진다. 그런데 앞에서 언급된 뽕잎은 누에의 먹이로서 농약이 사용되지 않아 안전하며 독성이 전혀 없고(9) 풍부한 섬유소를 갖고 있어 체지방 축적 억제에 효과가 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구에서는 유전적으로 비만이 유도된 쥐를 이용하여 뽕잎추출물의 체지방 축적 억제 효과 및 그 작용기전을 알아보고자 하였다

Leptin은 비만유전자(ob gene)에 의해 지방세포에서 분비되는 16-kDa의 단백질로서 시상하부의 포만증추에 작용하여 식욕과 에너지 소모 조절에 관여한다(10).

비만유전자의 돌연변이에 의해 leptin이 결핍된 ob/ob 마우스의 경우, 유전자 재조합 leptin을 투여하면 사료섭취량이 줄고 체중이 감소되며 에너지 소모를 증가시킴으로서 비만증이 개선되는 것으로 알려져 있다(11). 설치류에서는 leptin의 결여가 체중증가의 한 원인이 되는 것으로 보고되어 있다. 또한 Collins 등(12)은, leptin이 지방을 조절하고, 또 체내 지방이 증가하면 고감신경계에 신호를 주어 갈색 지방조직층에서 체온을 상승시켜 에너지 소비를 증가시키는 것으로 보고하고 있다.

따라서 본 연구에서는 유전적으로 비만이 유도된 obese fa/fa Zucker rat을 이용하여 뽕잎 추출물을 투여하고 이에 따른 체중의 변화와 혈액내 leptin, insulin, 지질과 콜레스테롤 함량 변화, 간과 brown adipose tissue 중량을 측정하였다.

재료 및 방법

재료

실험동물 : 4주령의 obese fa/fa male Zucker rat을 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 2주간 실험환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

뽕잎추출물의 조제 : 건조된 뽕잎 1 kg을 세절하여 85% 메탄올 3 L를 가한 후 1시간 동안 초음파추출을 시행한 후 여과하였다. 이러한 과정을 3회 반복하여 얻어진 여액을 감압·농축한 후 냉동건조하여 추출물을 95 g을 얻어 이를 시료로 사용하였다.

실험내용

실험동물 및 사육 : 4주령의 obese fa/fa male Zucker rat 각각 10마리를 대조군(control)과 실험군(이하 뽕잎투여군, MLE-250으로 칭함)으로 분류하여 2주간 적응시킨 후 실험을 시작하였다.

뽕잎 추출물투여는 냉동건조된 메탄올추출물을 saline에 녹여 250 mg/kg of body weight의 농도로 1일 1회 경구투여하였고, 대조군에는 동량의 생리식염수를 동일한 방법으로 경구투여하였으며 3주동안 사육하였다.

실험 기간 중 체중은 실험시작 전과 실험기간 동안 오전 10시경에 매일 측정하였으며, 실험사료는 일반고형사료(삼

양사료)를 사용하였고 매일 오전 9시에 전날에 급여한 사료량에서 먹고 남은 양을 뺀 값을 섭취량으로 사용하였다.

각 장기의 무게를 측정하기 위하여 실험 종료 후 urethane으로 마취한 후, 간과 brown adipose tissue의 중량을 측정하였다.

혈중 insulin, 지질, 및 leptin 함량 측정 : 실험 종료 후 각각 urethane으로 마취한 후, 심장천자법으로 심장에서부터 혈액을 채취하였다. 미리 ice bath에 방치한 EDTA tube에 넣어 1500 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후, -70°C에서 assay 전까지 보관하였다 시험에 사용하였다.

혈장 중 Insulin 함량은 rat insulin standard(Linco, St. Louis, MO)를 이용하여 radioimmunoassay법으로 측정하였다. 혈장 중 총콜레스테롤 함량은 Sigma Chemical Co.(Linco, St. Louis, MO)에서 나온 콜레스테롤 측정용 kit을 이용하여 측정하였다. 혈장 중 중성지질 함량은 Sigma Chemical Co.(Linco, St. Louis, MO)에서 나온 triglyceride kit을 이용하여 측정하였다. 혈장 중 leptin 함량은 Linco leptin assay kit(Linco, St. Louis, MO)를 이용하여 radioimmunoassay법으로 측정하였다.

통계처리

모든 자료는 SAS(Statistical Analysis System) program을 이용하여 평균과 표준 오차를 구하였고, 뽕잎추출액 투여군과 비교군간의 결과치는 Student's t-test로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

뽕잎추출물의 체지방 축적 억제 효과를 알아보기 위하여 유전적으로 비만이 유도된 obese fa/fa male Zucker rat을 대조군과 뽕잎투여군(MLE-250)으로 분류하였다. 이 후 동일한 식이를 섭취시키고, 뽕잎투여군에는 뽕잎추출물을 체중 1 kg당 250 mg의 용량으로 3주간 투여하였다. 체지방 축적 억제 효과를 관찰하기 위한 지표로 체중의 변화, 사료 섭취량, 혈청 중 leptin, insulin, 중성지질과 콜레스테롤 함량과 간, brown adipose tissue 중량 등을 측정한 결과 및 고찰은 다음과 같다

체중과 사료섭취량 및 사료이용효율

3주 동안 뽕잎추출물(250 mg/kg 체중)을 처리한 뽕잎투여군의 경우 146%의 체중증가를 보였고, 대조군은 157%의 체중증가를 보여 유의적인 차이는 없었으나 뽕잎투여군의 체중은 10%정도 감소하는 경향을 보였다. 실험기간 동안의 두 군의 체중증가율은 뽕잎투여군이 1, 2, 3주 후 각각 115, 129, 146%, 대조군이 120, 140, 157%로 나타냄으로써 뽕잎투여군의 체중증가 과정이 대조군에 비해 완만하였다. 1일당 체중증가량은 대조군 5.18 g, 뽕잎투여군은 4.15 g으로 뽕잎투여군의 체중증가량이 대조군에 비해 적게 나타났으나 유의적인 차이는 없었다(Table 1). 이는 선행 연구인 Kim 등

Table 1. Effects of methanol extract from mulberry leaves on the body weight gain of control and MLE-250 group

Group	Body weight (g)				
	Begin	After 1 week	After 2 weeks	After 3 weeks	21 days (weight gain during 3 weeks)
Control ¹⁾ (% of body weight)	235.00±9.60 ³⁾ (100)	283.00±11.60 (120)	328.80±14.20 (140)	367.80±21.40 (157)	132.00±8.66 (6.29)
MLE-250 ²⁾ (% of body weight)	236.00±9.60 (100)	272.00±11.30 (115)	305.00±17.70 (129)	345.40±19.00 (146)	109.00±5.40 (5.19)

¹⁾Control: obese fa/fa male Zucker rat (n=10).

²⁾MLE-250: obese fa/fa male Zucker rat was supplied rat with mulberry leaf extract of 250 mg/kg body weight (n=10)

³⁾Values are mean±SE.

Table 2. Effects of mulberry leaf methanol extract on food intake, body weight gains and food efficiency ratio (FER)

	Food intake (g/day)	Body weight gains (g)		FER
		21d (g)	g/day	
Control ¹⁾	25.69±1.23 ³⁾	132.00±12.34	6.29±0.23	0.205±0.02 (100)
MLE-250 ²⁾	25.61±1.12	109.00±10.24	5.19±0.45	0.185±0.03 (90)

¹⁾Control: obese fa/fa male Zucker rat (n=10).

²⁾MLE-250: obese fa/fa male Zucker rat was treated with mulberry leaf extract of 250 mg/kg body weight (n=10)

³⁾Values are mean±SE

Table 3. Effects of mulberry leaf methanol extract on plasma leptin, triglyceride and cholesterol levels of control and MLE-250 group

	Leptin (ng/mL)	Insulin (u/mL)	Triglycerides (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	HDL-cholesterol (mg/dL)	HDL-cho/total chol
Control ¹⁾	27.54±6.25 ³⁾ (100)	8.35±3.69 (100)	342.80±10.96 (100)	194.40±1.78 (100)	34.00±7.64 (100)	0.18 (100)
MLE-250 ²⁾	32.52±7.56 (118)	8.39±1.82 (101)	214.60±40.01 (63)**	167.18±1.56 (86)* ¹⁾	46.30±0.44 (136)	0.28 (156)*

¹⁾Control: obese fa/fa male Zucker rat (n=10).

²⁾MLE-250: obese fa/fa male Zucker rat (n=10), was treated with mulberry leaf methanol extract of 250 mg/kg body weight

³⁾Values are mean±SE.

*p<0.05, **p<0.01

(3)과 Kim 등(13)의 연구에서 인체나 rat에서 다소의 체중감소가 보였던 결과와 유사하였다. 즉 이를 통해볼 때 뽕잎은 체중감소 효과를 가진 것으로 여겨진다.

체중의 감소가 사료섭취량에 의하여 영향을 받는지를 관찰한 결과(Table 2), 두 군 모두 1일 사료섭취량은 각각 25.69 g, 25.61 g으로 차이가 없었다. 그러나 사료이용효율은 대조군과 비교군간에 유의적인 차이는 없었으나 대조군 0.205, 뽕잎투여군이 0.185로 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다. 이는 Lee 등(14)의 연구에서 뽕잎을 사료에 첨가했을 때, 사료이용효율이 낮아진 결과와 같은 경향을 나타낸 것이다.

Leptin, insulin, 중성지질 및 콜레스테롤 함량의 변화

뽕잎 추출물의 혈장중 leptin, insulin, 콜레스테롤, 중성지질(TG)에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 실험 종료 후 혈액을 채취하여 혈장지질관련 요인을 측정하였다(Table 3과 Fig. 1). Leptin은 비만유전자의 생산물로 지방세포에서 생성되어 분비되며(15) 음식섭취와 열량소비를 변화시켜 체중을 조절하는 역할을 한다. 비만 유전자의 돌연변이로 leptin이 결핍된 ob/ob 마우스에서 과식증, 저대사증, 인슐린비의

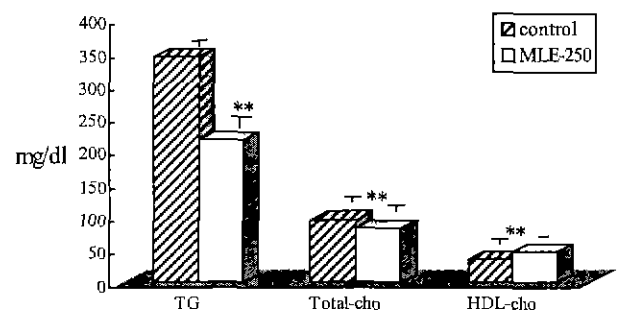


Fig. 1. Content of triglyceride (TG), total-cholesterol and HDL-cholesterol in control and MLE-250 group after treatment methanol extracts from mulberry leaves.

Values are mean±SE. **p<0.01

존형 당뇨병, 비만증이 나타나고(16), 이들 마우스에 유전자 재조합 정상 leptin을 투여하게 되면 식욕감퇴와 열량소모율 증가로 체중을 감소시키는 것으로 알려져 있다(17). 본 연구에서는 뽕잎 추출물이 투여된 군의 leptin함량에 유의적인 차이는 없었다.

설치류에서는 인슐린이 직접적으로 비만 mRNA(obmRN

Table 4. Effects of mulberry leaf methanol extract on liver weight and brown adipose tissue weight of control and MLE-250 group

	Liver	Brown adipose tissue
Control ¹⁾	11.80±0.94 ³⁾ (3.51)	2.54±0.27 (0.75)
MLE-250 ²⁾	13.40±1.34 (3.95)	3.04±0.91 (0.89)

¹⁾Control: obese fa/fa male Zucker rat (n=10)

²⁾MLE-250: obese fa/fa male Zucker rat was treated with mulberry leaf extract of 250 mg/kg body weight.

³⁾Values are mean±SE.

A)를 증가시킨다는 것이 밝혀져 있는데, 본 연구에서는 뽕잎 추출물 투여에 따른 인슐린의 함량은 뽕잎투여군에서 대조군에 비해 다소 증가를 보였으나 유의적이지 않았다.

총 콜레스테롤(대조군의 86%)과 중성지질함량(대조군의 63%)은 뽕잎투여군에서 대조군에 비하여 유의적으로 낮게 나타나 뽕잎 추출물이 중성지질 및 콜레스테롤 억제 효과가 있음을 알 수 있었다. Kim 등(3)은 고콜레스테롤로 유도한 고지혈증 rat에 체중 1 kg당 1.0 g의 뽕잎 추출물을 투여했을 때 중성지질 및 혈청콜레스테롤이 유의적으로 감소효과가 있었다는 연구결과를 발표한 바 있다.

HDL-콜레스테롤 함량은 뽕잎투여군(대조군의 136%)이 대조군에 비하여 높았으나 유의적이지는 않았다. 그러나 총 콜레스테롤 중의 HDL-콜레스테롤이 차지하는 비율은 뽕잎투여군(대조군의 158%)이 유의적(p<0.05)으로 더 높게 나타났다. 즉 뽕잎은 단순히 고지혈증을 억제할 뿐만 아니라 관상동맥경화증을 비롯한 각종 동맥경화증을 예방할 수 있는 가능성을 보여주고 있다.

이러한 결과에 기초할 때, 뽕잎은 고지혈증 예방에 관련된 조절기능을 생체에 충분히 발휘할 수 있는 기능성 식품의 중요한 자원으로 이용될 수 있으리라 판단된다.

간과 brown adipose tissue 중량

뽕잎추출물의 투여가 장기에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험 종료후 간과 갈색지방조직의 중량을 체중과 비교하여 살펴보았다(Table 4). 대조군과 뽕잎투여군 사이의 간 중량에 있어서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

貫山 등(5)은 뽕잎 중의 식이섬유가 체지방이 축적되는 것을 억제한다고 보고하였는데 이를 알아보기 위하여 brown adipose tissue의 변화를 살펴본 결과 뽕잎추출물의 투여로 인한 유의적인 중량이 감소되는 결과는 나타나지 않았다.

요 약

뽕잎의 체지방 축적 억제 효과를 알아보기 위하여 유전적으로 비만이 유도된 obese fa/fa male Zucker rat에 뽕잎 추출물을 경구투여하였다. 그 후 체중의 변화, 사료섭취량, 혈장 중 leptin, insulin, 중성지질과 콜레스테롤 함량과 간, brown adipose tissue 등의 중량을 측정하였다. 3주 동안 뽕잎추출

물을 250 mg/kg of body weight의 농도로 처리한 뽕잎투여군의 경우 141%의 체중증가를 보였고, 대조군은 148%의 체중증가를 보여 뽕잎투여군의 체중증가가 7%정도 낮았으나 유의적인 차이는 없었다. 1일당 체중증가량은 대조군 5.18 g, 뽕잎투여군은 4.15 g으로 뽕잎투여군이 대조군에 비해 낮게 나타났다. 1일 사료섭취량은 각각 25.69 g, 25.61 g으로 두군 간의 사료섭취량에 차이는 없었다. 사료이용효율은 대조군과 뽕잎투여군간에 유의적인 차이는 없었으나 대조군 0.205, 뽕잎투여군 0.185로 시료를 투여함에 따라 사료이용효율이 저하되는 경향이였다. Leptin과 insulin 함량은 대조군과 뽕잎투여군에서 유의적인 차이가 없었으나, leptin과 insulin 함량은 뽕잎투여군에서 각각 18%, 0.5% 높게 나타났다. 총 콜레스테롤과 중성지질함량은 뽕잎투여군이 대조군에 비하여 유의적으로(p<0.01) 낮게 나타났다. 총 콜레스테롤 중 HDL-콜레스테롤이 차지하는 비율은 뽕잎투여군(대조군의 158%)이 유의적으로(p<0.05) 더 높게 나타났다. 대조군과 뽕잎투여군간의 전체 체중당 간, brown adipose tissue 중량의 비율은 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이상의 결과에서 뽕잎 추출물을 obese fa/fa male Zucker rat에 체중당 250 mg의 용량으로 3주간 경구투여함으로써 대조군에 비하여 10% 정도의 체중감소를 보였고 사료섭취효율의 저하 효과도 관찰되었다. 또한 leptin의 함량은 증가되었고, 중성지질과 총 콜레스테롤은 유의적으로 감소되었고, 총 콜레스테롤 중 HDL-콜레스테롤이 차지하는 비가 높아짐을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 순천향대학교 교육개혁추진연구의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1 Kondo, Y. : Trace constituents of mulberry leaves *Nippon Sanshigaku Zasshi*, **26**, 349-353 (1957)
- 2 Katai, K. : Trace components in mulberry leaves. *J. Chem Soc. Jpn.*, **18**, 379-383 (1942)
- 3 Kim, S.Y., Lee, W.C., Kim, H.B., Kim, A.J. and Kim, S.K. : Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.* **27**, 1217-1222 (1998)
- 4 Sericulture and Entomology, NIAST, R.D.A. : Prospect and usage of biologically active compounds of sericulture. Symposium, p.3 (1995)
- 5 貫山道子, 山田利治, 成松次郎, 鈴木 誠, 高橋恭一, 有賀勲 : 機能性食品に關する共同研究事業報告 日本神奈川縣 p.74-90 (1993)
- 6 <http://healthguide.kahasa.re.kr/kor/magazine/sept/magazine0201.html>
- 7 <http://www.chosun.com/w21data/html/news/200004/200004030004.html>
- 8 Kim, E.M. : Popular obesity diet. *Korean Society for the Study of Obesity*, **7**, 253-263 (1998)
- 9 Sericulture and Entomology, NIAST, R.D.A. : Prospect and

- usage of biologically active compounds of mulberry leaves. Symposium, p.3-12 (1999)
10. 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**, 425-432 (1994)
 11. 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**, 540-543 (1995)
 12. Collins, S., Kuhn, C.M., Petro, A E., Swick, A.G., Chrnyk, B.A. and Surwit, R S : Role of leptin in fat regulation. *Nature*, **380**, 667 (1996)
 13. Kim, S K , Kim, Y.S., Kim, A.J. and Kim, S.Y. : Antihyperlipidemic effects of mulberry leaves in adult females. *Soonchunhyang J. Nat. Sect.*, **5**, 167-171 (1999)
 14. Lee, H.S., Kim, Y.S., Lee, W.C., Lee, S.D., Moon, J.Y. and Ryu, K.S. : Effects of silkworm powder, mulberry leaves and mulberry root bark administrated to rat on gastrointestinal function. *Korean J. Seric. Sci.*, **4**, 29-35 (1999)
 15. Maffei, M., Halaas, J. and Ravussin, E. leptin levels in human and rodent : measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight reduced subjects. *Nature Med*, **1**, 1155-1161 (1995)
 16. Zhang, Y, Proenca, R., Maffei, M., Barone, M, Leopold, L and Friedman, J.M. : Positional of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, **372**, 425-432 (1994)
 17. Considine, R.V., Sinha, M.K., Heiman, M L., Kraucunas, A., Stephens, T.W., Nvce, MR, Ohannesian, J.P., Marco, C.C., Mckee, L J, Bauer, T.L. and Caro, J.F. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl J Med*, **334**, 292-295 (1996)

(2000년 12월 22일 접수)