

## 실크 피브로인 산 가수분해물이 db/db mice의 지방세포 대사에 미치는 영향

홍성의 · 박금주 · 서병선<sup>1</sup> · 도명술<sup>1</sup> · 현창기<sup>1\*</sup>

한동대학교 대학원 생명공학과, <sup>1</sup>생물식품공학부

## Effect of Silk Fibroin Hydrolysate on Adipocyte Metabolism in db/db Mice

Seong-Eui Hong, Kum-Ju Park, Byung-Sun Suh<sup>1</sup>, Myoung-Sool Do<sup>1</sup>, and Chang-Kee Hyun<sup>1\*</sup>

Department of Biotechnology, Graduate School, Handong University and

<sup>1</sup>School of Bioscience and Food Technology, Handong University, Pohang, Kyungbuk 791-708, Korea

**Abstract** – Effect of the acid hydrolysate of silk fibroin on obesity was investigated in obese(C57BL/KsJ-db/db) mice. After 8 weeks feeding of 1%(w/w) or 3%(w/w) fibroin hydrolysate, the extents of reduction in body weight were significantly higher than that of obese control. The weight reduction in female mice was higher than that in male mice. Plasma leptin in male mice increased up to 1.8-fold higher level than obese control by feeding hydrolysate. In case of female mice, however, it rather decreased with increased feeding concentration of hydrolysate. From the results of high glycine and serine contents of peptide fractions contained in fibroin hydrolysate, it was inferred that fibroin peptides might affect xylosyltransferase(XT) activity on chondroitin sulfate synthesis causing to change susceptibility of adipocytes to hormones such as insulin followed by the reduced leptin synthesis in female mice. The result of the higher lipolysis in hydrolysate-fed group than obese control indicated that the reduction in body weight was due to the increased lipolytic activities in male and female mice in common.

**Key words** – Silk fibroin hydrolysate, Adipocyte, Leptin, Glycerol, Weight reduction

최근 경제 생활 수준의 향상과 식생활의 서구화가 이루어지면서 국내 비만 인구가 빠르게 증가하고 있다. 2000년 국민영양조사는 전체 인구의 23% 이상이 경도 이상의 비만으로 보고하여 비만 인구의 증가와 그 심각성을 나타내었다.<sup>1)</sup> 인구의 급증과 함께 이에 대한 연구 또한 활발해지고 있는데 최근 많은 비만 관련 연구 결과들은 비만으로 인해 야기되는 여러 성인 질환과 그로 인한 사망률의 증가를 보여주고 있다. 미국 암학회가 조사한 바에 따르면 체질량 지수(body mass index, BMI)가 25를 넘어서는 경우 남녀 모두 체질량 지수와 사망률이 비례하며 체질량 지수가 23보다 큰 경우 체중이 1kg씩 증가함에 따라서 사망률이 약 2% 증가되는 것으로 알려지고 있다.<sup>2)</sup> 또한 Park 등은<sup>3)</sup> 비만이 여러 성인 질환과 밀접한 관련이 있음에 기인하며 실제로 비만 인구의 51.1%가 비만 관련 질병이 있는 것으로 보고하였으며 구체적인 비만 관련 질병으로는 고혈압(비만 인구

의 36.1%), 골관절염(27.5%), 지방간(18.0%), 당뇨(13.7%), 담석(6.0%), 고지혈증(5.6%), 동맥경화(5.6%), 정맥류(1.7%), 통풍(1.3%)이며 많은 성인 질환이 비만과 밀접한 관련이 있음을 보여준다.

비만 연구가 활발해진 것은 1994년 렙틴 유전자의 발견에서 시작된다.<sup>4)</sup> 렙틴은 백색 지방(white adipose tissue, WAT)에서만 분비되는 16 kDa의 단백질로 뇌하수체에 위치하는 렙틴 수용체와 결합하여 식욕을 저하시키고 에너지 대사를 증가시키는 역할을 한다.<sup>5-9)</sup> 지금까지의 보고에 의하면 렙틴은 체질량 지수와 비례관계를 가지며 지방 세포의 대사와 밀접한 관계를 가지므로 비만을 연구함에 있어 중요한 인자라 할 수 있다.<sup>10-15)</sup>

이렇듯 비만 인구가 증가하면서 이를 극복하기 위한 과학적 연구도 진행되고 있지만 일부 민간요법에서는 특정 천연물이 아직 그 효능이나 작용 기전이 과학적으로 규명되지 않은 채 무분별하게 남용될 소지가 있으므로 이에 대한 과학적 검증이 필요한 실정이다. 누에(*Bombyx mori*)는 본

\*교신저자(E-mail) : ckhyun@handong.edu

초강목 등의 동양의학 고서에서 성인병에 유효한 기능성들이 제시되고 있는데, 특히 누에로부터 생산되는 실크는 섬유상 단백질인 피브로인(fibroin)과 이를 부착시키는 고무상 단백질 세리신(sericin)으로 구성된 복합체로서 이 중 실크 피브로인은 최근 여러 연구 보고에 의해 그 생리 활성이 알려졌다<sup>16)</sup> 피브로인 또는 산, 효소를 이용한 피브로인 가수분해물에 의한 혈당강하효과와<sup>17-19)</sup> 알코올 흡수 저해 효과가<sup>20)</sup> 그 대표적인 연구 사례이다. 이 외에도 실크 피브로인을 투여한 쥐에서 혈중 콜레스테롤의 저하<sup>17)</sup> 등의 각종 성인병 관련 효과가 보고된 바 있으나 비만에 관련한 직접적인 효과를 과학적으로 제시한 보고가 없어 연구가 요구된다. 이에 본 연구에서는 렉틴 수용체의 돌연변이로 인하여 비만 연구에 유용한 모델로 이용되고 있는 db/db mice에 실크 피브로인 가수분해물을 장기적으로 투여한 뒤 체중 변화, 지방세포의 대표적인 단백질인 렉틴 농도 변화, 지방 분해의 산물인 글리세롤 분비 변화 등을 측정하여 실크 피브로인 유래 펩타이드 및 아미노산 혼합물의 항비만 효과를 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**누에고치의 정련 및 피브로인의 용해** - 정선된 누에고치를 (주)아미노젠(충남 연기군 소정면 소재 공장)으로부터 공급받아 실크 피브로인의 원료로 사용하였다. 우선 누에고치 10 g에 5%(w/v)농도의  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  수용액 500 ml을 처리하여 1시간동안 가열하고 여과지로 여과하여 용해된 세리신을 제거하였다. 열수를 이용하여 잔사를 수차례 세척함으로써 잔여 세리신과  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 을 제거하였다. 이로써 세리신이 제거되어 피브로인만 남아있는 피브로인 견사를 얻었다. 이 피브로인 견사는 산 가수분해물 제조에 직접 이용하거나 효소적 가수분해물 제조를 위해  $\text{CaCl}_2$ 에 위한 피브로인 용해를 실시하였다. 피브로인 견사 35 g에  $\text{CaCl}_2$  226.4 g, 증류수 346 g, 에탄올 280 ml을 혼합하고 90°C로 1시간 동안 가열하는 방법으로  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -에탄올 용액을 사용하여 용해시켰다.<sup>21)</sup> 용해된 피브로인 용액은 투석막에 넣어 증류수에 3일간 투석한 후 동결 건조하여 분말 상태의 피브로인을 얻어 실험에 사용하였다.

**피브로인의 산 가수분해** - 얻어진 피브로인에 2 N HCl 용액을 견사 중량의 80배 용량으로 첨가하여 100°C에서 4시간 동안 가열하면서 피브로인을 가수분해하였다. 제조된 가수분해물은 진한 암갈색을 나타내었고, 여기에 2 N NaOH를 첨가하며 중화시켜 pH 7.4가 되도록 하였다. 중화된 가수분해물에는 활성탄을 전체 용액 용량의 6%가 되도록 첨가하여, 60분 동안 교반함으로써 각종 비용해 물질 및 이취

등을 제거한 후 여과하여 투명한 액상의 가수분해물을 얻었다. 이 가수분해물 용액을 투석막을 사용하여 증류수로 1일 동안 투석하여 염을 제거하였다. 염이 제거된 가수분해물 용액을 동결건조하여 분말로 얻고 실험에 이용하였다.

**산 가수분해물로부터 펩타이드 분획 분리** - 산 가수분해된 피브로인 시료를 10 mg/ml의 농도가 되도록 증류수에 용해시킨 후 Sephadex G-25 gel chromatography column (2×60 cm)에 2 ml loading하여 3차 증류수로 elution시켜 펩타이드의 크기에 따른 분획을 분리하였다. 각 분획의 크기는 약 3 ml로 하고 각 분획의 214 nm에서의 UV 흡광도를 측정하여 chromatogram을 얻었다.

**아미노산 조성 분석** - 시료(0.5 mg)을 0.1% phenol을 함유하는 6N HCl에 의해 110°C에서 24시간동안 가수분해하였다. 가수분해물을 건조한 후 100  $\mu\text{l}$  coupling buffer(mixture of 0.7 ml acetonitrile, 0.2 ml triethylamine and 0.1 ml water)를 5  $\mu\text{l}$  phenylisothiocyanate(PITC)와 함께 첨가하고 실온에서 20분간 정치하여 아미노산의 phenylthiocarbonyl(PTC) 유도체를 형성시켰다. 시료를 진공 원심분리로 건조한 후 200  $\mu\text{l}$ 의 solvent A(1.4 mM sodium acetate and 0.1% triethylamine in 6% acetonitrile, pH 6.1)에 용해시켜 Pico-Tag column(3.9×300 mm, Waters Corporation, Milford, MA)에 loading하고 solvent A에 대하여 solvent B(60% acetonitrile)로 linear gradient를 주는 HPLC를 실시함으로써 각 아미노산 유도체의 함량을 정량하였다.

**실험동물 및 식이** - 비만증의 모델로 사용되는 실험동물은 한국생명공학연구소(대전)로부터 8주령된 수컷 C57BL/KsJ db/db mice(db/db)를 분양받아 사용하였고, 정상대조군 으로서는 8주령의 수컷 C57BL/KsJ +/- mice를 사용하였다. 실험 동물들은 밀방이 설치된 mouse cage에 각각 넣고 23 ± 3°C의 온도와 50 ± 5%의 습도에서 8주간 사육하였다. 12시간 간격으로 light-dark cycle이 이루어지도록 하였으며 피브로인 가수분해물을 급여하기 전 1주일간 적응시간을 두었다. 실험군은 정상(Lean)대조군, 비만대조군, 1% 급여군(1% FH, fibroin hydrolysate), 3% 급여군(3% FH)등의 4군으로 나누었으며, 사료는 고향사료를 급여하였고 1% 급여군 및 3% 급여군은 급여사료의 1%(w/w) 및 3%(w/w)에 해당하는 피브로인 가수분해물을 음용수에 용해시켜 공급하였다.

**시료 채취 및 처리** - 매주 일정한 시간에 체중을 측정하였으며 8주 사육 후 마취 없이 안와 채혈하였다. 채취한 혈액은 5,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액인 혈장을 분리하였으며 분리한 혈장은 렉틴과 글리세롤을 측정할 때까지 -80°C에 보관하였다.

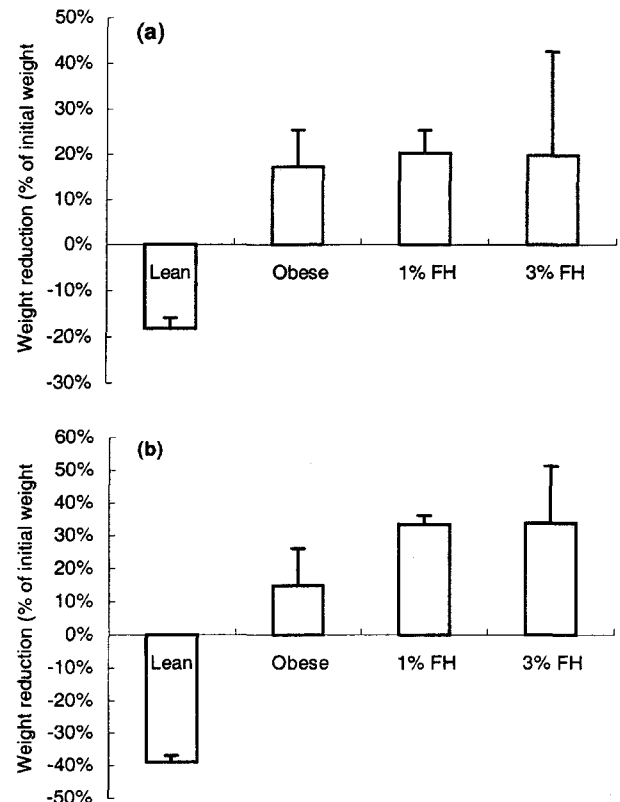
**Sandwich ELISA를 이용한 혈장 렉틴 농도 측정** - Mouse 렉틴에 특이적인 항체를 2.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 Maxicorp imm-

unoplate(Nunc, Roskilde, Denmark)의 각 well에 넣은 뒤 37°C, 한 시간동안 두어 고착시킨다. 비특이적인 결합을 방지하기 위해 3%(w/w) bovine serum albumin과 0.05% Tween-20이 포함된 인산완충액으로 37°C, 한 시간동안 반응시킨 뒤 db/db mice의 혈장을 100  $\mu$ l씩 넣고 동일한 조건으로 다시 반응시킨다. Biotin으로 표지된 렙틴 특이항체(R&D systems, Minneapolis, USA)를 250 ng/ml의 농도로 100  $\mu$ l씩 넣고 동일한 조건으로 반응시킨 뒤 biotin과 결합하는 streptavidin(R&D systems, Minneapolis, USA)을 200:1로 희석하여 넣는다. 각 반응이 끝난 뒤에는 0.05% Tween-20이 포함된 인산완충액으로 3회 세척하였으며 streptavidin 반응 후에는 3회 세척 후 인산완충액만으로 2회 더 세척하여 비특이적인 반응을 방지하였다. 발색 시약인 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(Amresco, Ohio, USA)를 100  $\mu$ l씩 넣고 발색 시킨 뒤 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 50  $\mu$ l씩 넣어 반응을 중단시키고 ELISA reader(Bio-Tek instruments, Vermont, USA)를 이용하여 450 nm의 흡광도를 측정하였다.

**혈중 글리세롤 농도 측정** - 혈중 글리세롤 농도는 quinoxaline dye를 이용한 혈중 글리세롤 측정용 diagnostic kit(Sigma)를 사용하여 측정하였다. 즉, GPO-Trinder 시약 1 ml에 혈장 10  $\mu$ l을 넣고 37°C에서 5분간 방치한 뒤 540 nm의 흡광도를 측정하였으며 글리세롤 표준곡선을 이용해 혈중 글리세롤 농도를 산출하였다.

## 결과 및 고찰

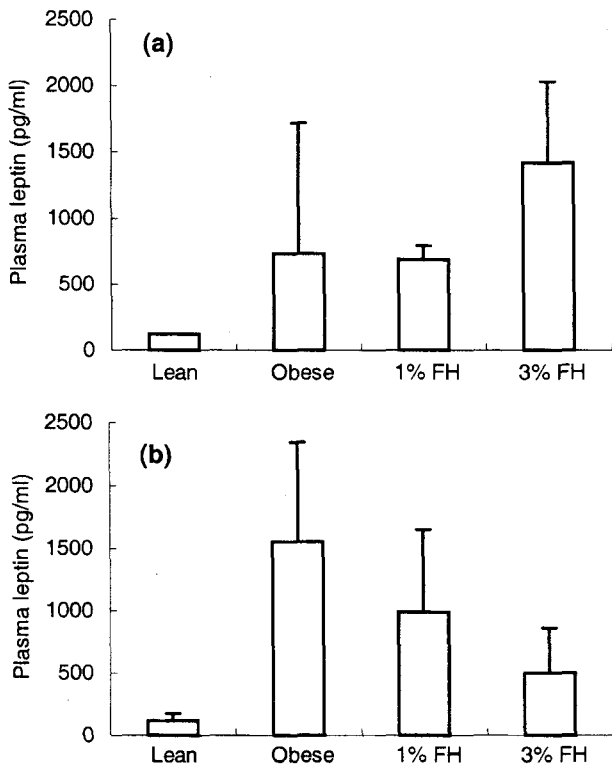
**식이 섭취량 및 체중의 변화** - 비만대조군과 정상대조군의 식이 및 음수 섭취량을 비교하여 보면 비만대조군은 정상대조군에 비해 식이, 음수 섭취량이 2배 가량 높은 것으로 나타났다(data not shown). 체중 변화량을 측정한 결과 Fig. 1(a) 및 (b)에서 보는 바와 같이 정상대조군은 8주 사육 이후 평균 11%의 체중 증가를 보인 반면, 1% 급여군에서 male mice의 경우에는 평균 20%, female mice의 경우에는 평균 34%의 체중이 감소하였다. 한편 이러한 체중 감소량은 비만대조군에서의 male mice 및 female mice가 보여준 각각 17% 및 15%의 체중 감소량보다 높은 수준으로 나타났다. 이 실험결과에서 female mice의 경우에는 비만대조군과의 체중 감소량 차이가 유의적으로 인정된 반면(p<0.01), male mice의 경우에는 그 유의성이 인정되지 않음으로써 피브로인 가수분해물의 급여에 의해 성별로 체중 감소 효과가 다르게 나타나는 특이한 현상을 보여주었다. 피브로인 가수분해물 3% 급여군에 있어서도 male의 경우에는 평균 20%, female의 경우에는 평균 34%의 체중 감소량을 나타내었으나 개체 간 체중치의 분산도가 높아 1% 급여군에 비



**Fig. 1.** The effect of silk fibroin hydrolysate on the weight reduction in (a) male and (b) female db/db mice. Lean: Lean control; Obese: Obese control; 1% FH: 1% silk fibroin hydrolysate fed group; 3% FH: 3% silk fibroin hydrolysate fed group (n=5 in each group).

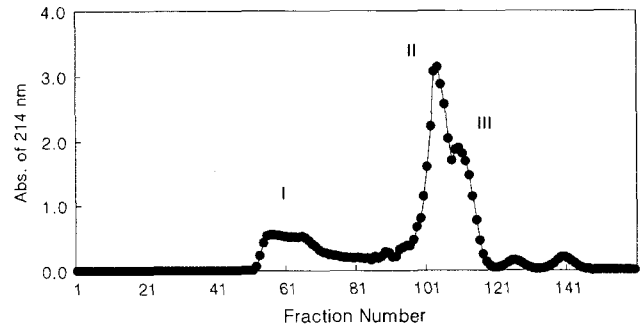
해 높은 체중 감소효과를 인정할 수 없었다. 3% 급여군에 1% 급여군에 비해 체중 감소 효과가 증가하지 않는 것은 피브로인 가수분해물 내에 펩타이드 성분과 함께 함유되어 있는 아미노산 성분이 상대적으로 고농도로 섭취됨으로써 체중의 감소를 저해하는 것으로 판단되었다. 결국 위와 같은 결과로부터 비만대조군과 비교한 체중 감소율의 평균치로 3-19% 정도의 체중 감소효과를 보여줌으로써 피브로인 가수분해물이 특히 female mice에 대한 항비만 효과를 가지고 있음을 확인하게 되었다.

**혈중 렙틴 농도의 변화** - 렙틴은 체지방량과 비례적인 관계를 보여줌으로써 비만 진단의 지표로 사용되는 단백질 호르몬이다. 본 연구에서는 체중 감소 효과를 검증하기 위해 실험 동물의 혈장 내 렙틴을 비교한 결과 비만대조군이 정상대조군에 비해 약 7배 가량의 렙틴을 분비하는 것으로 나타나 체지방량과 렙틴 분비의 비례 관계를 보여주었다. 또한 피브로인 가수분해물 급여군에서는 체중 감소효과 실험에서와 동일하게 성별에 따라 다른 양상을 나타내었다



**Fig. 2.** The effect of silk fibroin hydrolysate on the leptin secretion in (a) male and (b) female db/db mice. Lean: Lean control; Obese: Obese control; 1% FH: 1% silk fibroin hydrolysate fed group; 3% FH: 3% silk fibroin hydrolysate fed group (n=5 in each group).

(Fig. 2). Male mice의 경우 렙틴 분비에 있어 피브로인 가수분해물 1% 급여군에서는 비만대조군과 큰 차이가 없었으나 3% 급여군에서는 비만대조군에 비해 180% 정도로 증가된 렙틴 분비를 보였다(Fig. 2(a)). 반면 female mice의 경우에는 피브로인 급여에 의해 오히려 렙틴의 분비가 농도의존적으로 감소하는 양상을 보여 3% 급여시에는 비만군에 비해 50% 가량 렙틴 분비가 감소하였다(Fig. 2(b)). 이러한 차이는 우선 성별에 따른 지방 분포의 차이 또는 성호르몬의 영향에 의한 것으로 사료되었다. Weillke 등의 보고<sup>22)</sup>에 의하면 xylosyltransferase(XT)의 활성이 성별과 나이에 의존적임을 보여 주었다. 또한 XT는 Schwartz 등의 보고<sup>23)</sup>에 의하면 chondroitin sulfate의 serine residue에 xylose를 glycosylation시켜 생합성을 개시시키는 효소로서 이 촉매반응이 바로 extracellular matrix의 주성분인 chondroitin sulfate proteoglycan의 생합성에 있어 rate-limiting step으로 알려져 있다. XT의 활성을 측정하기 위해 XT의 수용체로는 화학적으로 탈당화된(deglycosylated) cartilage proteoglycan이나 실크 피브로인 등이 사용되는데,<sup>24,25)</sup> XT는 이러한 수용체



**Fig. 3.** Sephadex G-25 gel filtration chromatograms of the acid hydrolysate of silk fibroin.

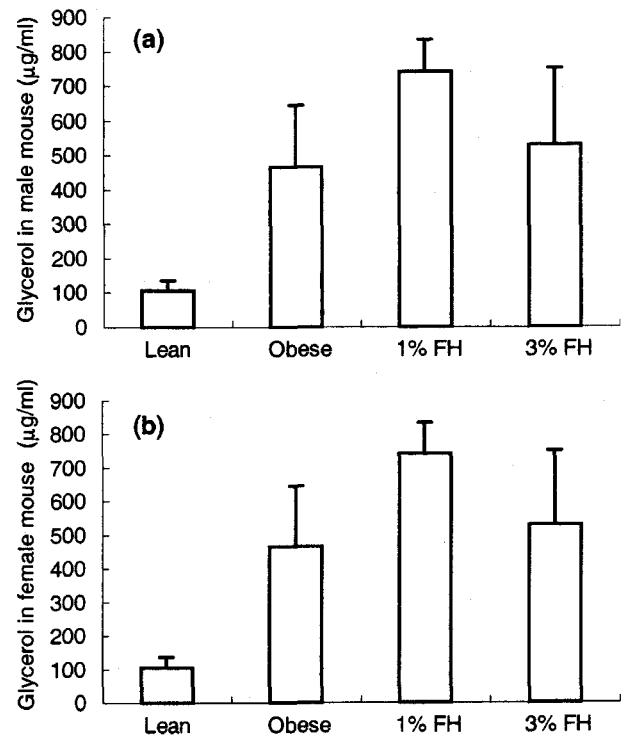
에 xylose를 첨가하게 된다. 또한 XT가 chondroitin sulfate 및 여러 수용체에 대하여 결합하는 부위의 공통적인 아미노산 배열(consensus sequence)이 serine-glycine-X-glycine 임이 밝혀지기도 하였다. 본 연구에서 db/db mice에 8주간 급여한 피브로인 가수분해물도 이러한 XT의 활성에 영향을 미쳤을 것으로 사료되었다. 우선 실크 피브로인 가수분해물을 Sephadex G-25 gel filtration chromatography에 의하여 분획 분리한 결과 세개의 주요 peak로 분리되었다(Fig. 3). 본 실험조건에서의 Sephadex G-25의 분리특성은 Hyun 등의 보고<sup>26)</sup>에서와 동일한 방법으로 조사한 결과, 분자량 10,000-3,000 사이, 3,000-1,000 사이, 1,000-500 사이, 500 이하의 펩타이드 분획이 각각 fraction number 50-90번, 91-110번, 111-120번, 121번 이상에서 용출되는 것으로 확인되었다(data not shown). 따라서 피브로인은 산 가수분해에 의해 분자량 3,000이하(아미노산 7, 8개 이하)의 비교적 짧은 펩타이드로 분해되었음을 알 수 있었다. 이들 분리된 펩타이드 분획 중 분획의 회수가 어려웠던 첫번째 peak를 제외한 두번째 및 세번째 peak, 그리고 분리 전 산 가수분해물의 아미노산 조성을 조사한 결과 모든 시료에서 높은 glycine 및 serine 함량이 나타남으로써 XT에 대한 수용체로서 적합한 특성을 가지고 있음을 확인할 수 있었다(Table I). 특히 세번째 peak로 나타난 펩타이드 분획의 경우는 가수분해물 전체와 비교할 때 glycine 및 serine함량이 높게 나타나는 것으로 보아 XT에 대한 결합부위로 제공될 수 있는 펩타이드가 다량 함유되어 있을 가능성이 높은 것으로 추정되었다. 한편 XT가 성별에 따라 활성이 달라 female보다는 male에서의 활성이 높음이 밝혀졌기 때문에<sup>22)</sup> 본 연구에서의 실크 피브로인의 급여효과가 성별로 다른 결과를 나타낸 것과 관련이 있을 것으로 판단되었다. 즉 피브로인 가수분해물(특히 XT 결합부위의 아미노산 배열을 갖는 펩타이드 성분)이 female mice에 장기적으로 급여되었을 때 XT는 chondroitin sulfate와 더불어 펩타이드 성분과 경쟁적으

**Table I.** Amino acid compositions (mol%) of the acid hydrolysate of fibroin and its separated peptide fractions

Amino acid	Acid hydrolysate		
	Hydrolysate	Fraction II	Fraction III
Gly	31.43	30.77	37.32
Ala	43.62	47.02	42.73
Val	5.60	5.60	1.91
Leu	1.25	1.57	0.35
Ile	1.62	1.26	0.39
Met	0.07	0.00	0.09
Ser	6.32	7.32	13.37
Thr	0.78	1.72	1.90
Cys	0.00	0.00	0.00
Pro	0.80	1.60	0.99
Asp	0.66	1.52	0.00
Glu	0.80	0.47	0.00
Phe	0.85	0.57	0.38
Tyr	1.26	0.00	0.26
Trp	0.00	0.00	0.00
Lys	1.20	0.59	0.30
Arg	3.74	0.00	0.00
His	0.00	0.00	0.00

로 결합하게 되어 상대적으로 전체적인 활성이 저하될 가능성이 있다. 결과적으로 chondroitin sulfate의 생합성이 저하되게 되면 세포 주변 extracellular matrix의 형성에 영향을 미침으로써 인슐린 등 호르몬에 대한 감수성이 변하게 되고 인슐린 작용은 렙틴의 생합성에 직접적인 영향을 미친다는 사실<sup>27)</sup> 등을 고려해볼 때 결국 female mice의 혈중 렙틴 농도가 피브로인 가수분해물 급여농도에 따라 감소하게 되는 것으로 추정되었다. 결국 이러한 렙틴 분비의 성별에 따른 차이로 인해 체중 감소 효과의 성별에 따른 차이가 유발된 것으로 생각되었다.

**혈중 글리세롤 농도의 변화** - 지방세포의 lipolysis 정도를 측정하기 위하여 혈중 글리세롤을 정량한 결과, 비만군은 정상군에 비해 4배 가량 높은 혈중 글리세롤 농도를 나타내었으며(Fig. 4) 이는 식이 섭취량이나 체중에 비례하는 결과로 사료되었다. 비만군에 비해 피브로인 가수분해물을 8주간 급여한 군의 혈장 글리세롤 농도는 유의적으로 높게 나타났으며 이 중 1% 급여군이 3% 급여군보다 더 높은 글리세롤 농도를 나타내었다. 이러한 경향은 앞의 체중 감소 효과 및 혈중 렙틴 농도의 결과와는 달리 성별로 차이없이 동일한 경향을 보여주었으나 한편으로는 각 군의 체중 감소현상과는 동일한 양상을 나타내어 체중 감소가 지방 분해물의 증가와 연관이 있음을 보여주었다. 즉 체중 감소 효



**Fig. 4.** The effect of silk fibroin hydrolysate on the lipolysis in (a) male and (b) female db/db mice. Lean: Lean control; Obese: Obese control; 1% FH: 1% silk fibroin hydrolysate fed group; 3% FH: 3% silk fibroin hydrolysate fed group (n=5 in each group).

과가 3% 급여군보다 1% 급여군에서 더 두드러졌음을 고려하여 볼 때 1% 급여시 지방의 분해가 촉진되어 혈중 글리세롤 분비가 활발해졌음을 알 수 있었다. 고농도의 피브로인 가수분해물을 급여한 경우에는 가수분해물 내에 함유되어 있는 아미노산 성분들이 고농도로 섭취됨으로 인해 오히려 지방분해 촉진작용이 억제되는 것으로 사료되었다. 또한 male mice의 경우에는 렙틴 분비와 관련된 지방세포 대사의 변화에 있어서 female mice와의 차이가 있었기 때문에 결국 지방분해작용의 영향이 체중 감소현상과 직접적인 연관성을 보이지 않은 것으로 판단되었다.

## 결론

실크 피브로인 가수분해물을 8주간 급여한 db/db mice에서 비만대조군에 비해 male mice는 3%, female mice는 19%의 체중 감소 촉진효과를 나타내었다. 지방 세포 대사 및 밀접하게 관련을 가지는 혈중 렙틴의 양을 비교해 본 결과, 비만대조군이 정상대조군에 비해 약 7배 가량의 렙틴을 분비하는 것으로 나타났으며 피브로인을 급여한 경우 성별

에 따라 다른 양상을 나타내었다. Male mice의 경우 3% 급여군에서 비만대조군에 비해 180% 정도 증가된 렙틴 분비를 보였다. 반면 female mice의 경우에는 오히려 급여농도에 따라 농도의존적으로 감소하는 양상을 보여 3% 급여시에는 비만대조군에 비해 50% 가량 렙틴 분비가 감소하였다. 이러한 현상은 성별에 따라 활성이 다르고 실크 피브로인과 관련이 있는 XT에 의해 chondroitin sulfate의 생합성과 렙틴 분비가 영향을 받은 결과인 것으로 추정되었다. 한편 각 군에서의 혈중 글리세롤 농도를 조사한 결과 비만대조군은 정상대조군에 비해 4배 가량 높은 혈중 글리세롤 농도를 나타내었으며 피브로인 가수분해물 1% 급여군이 3% 급여군에 비해 더 높은 체중 감소율을 나타낸 것과 동일하게 1% 급여군의 혈중 글리세롤 농도가 3% 급여군보다 더 높게 측정되었다. 이러한 결과로부터 지방분해 촉진작용에 의한 항비만 효과를 위해서는 고농도의 실크 피브로인 가수분해물 보다는 비교적 저농도로 사용하는 것이 유리할 것으로 사료되었다.

## 사 사

이 논문은 2001년도 학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었으며(KRF-2001-041-G00076) 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Ministry of Health and Welfare. (2000) 국민영양조사보고. p.24-25.
- Lew, E. A. and Garfinkel, L. (1979) Variations in mortality by weight among 750,000 men and women. *J. Chronic Dis.* **32**: 563-567.
- Park, J. H., Bae, Y. H., Lee, G. H. and Park, H. S. (1997) The recognition and practice about weight control in obese adults. *J. Kor. Soc. Study Obes.* **6**: 161-168 .
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. and Friedman, J. L. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**: 425-432.
- Campfield, L. A., Smith, F. J., Guisez, Y., Devos, R. and Burn, P. (1995) Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* **269**: 546-549.
- Castagna, L., De Gregorio, T., Allegra, A., Buemi, M., Corsonello, A., Bonanzinga, S., Catanoso, M., Ceruso, D. and Corica, F. (1998) Leptin: adipocyte hormone. *Recen. Prog. Med.* **89**: 200-207.
- Halaas, J. L., Gajiwala, K. S., Maffei, M., Cohen, S. L., Chait, B. T., Rabinowitz, D., Lallone, R. L., Burley, S. K. and Friedman, J. M. (1995) Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* **269**: 543-546.
- Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., Baker, M. B., Hecht, R., Winters D., Boone, T. and Collins, F. (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* **269**: 540-543.
- Prolo, P., Wong, M. L. and Licinio, J. (1998) Leptin. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **30**: 1285-1290.
- Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Marco, C. C., Mckee, L. J., Bauer, T. L. and Caro, J. F. (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* **334**: 292-295.
- Frederich, R. C., Hamann, A., Anderson, S., Lollman, B., Lowell, B. B. and Flier, J. S. (1995) Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet induced resistance to leptin action. *Nat. Med.* **1**(12): 1311-1314.
- McGregor, G. P., Desega, J. F., Ehlenz, K., Fischer, A., Hesse, F., Hegele, A., Lammar, C., Peiser, C. and Lang, R. E. (1996) Radioimmunological measurement of leptin in plasma of obese and diabetic subjects. *Endocrinology* **137**: 1501-1504.
- Mizuno, T. M., Bergen, H., Funbashe, T., Kleopoulos, S. P., Zhong, Y., Bauman, W. A. and Mobbs, C. V. (1996) Obese gene expression: reduction by fasting and stimulation by insulin and glucose in élan mice, and persistent elevation in acquired (diet-induced) and genetic (yellow agouti) obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**: 3434-3438.
- Saladin, R., DeVos, P., Guerre-Millo, M., Leturque. A., Girad, J., Staels, B. and Auwerx, J. (1995) Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* **377**: 527-529.
- Sinha, M. K., Ohannesiasn, J. P., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Magosin, S., Macro, C. and Caro, J. F. (1995) Nocturnal rise in leptin in lean, obese, and non-insulin dependent diabetes mellitus subjects. *J. Clin. Inves.* **97**: 1344-1347.
- Akai, H. (1999) New physiological functions of silk material. *Shokuhin to Kaihatsu* . **34**: 45-47.
- Luo, J., Chen, K., Xu, Q. and Hirabayashi, K. (1993) Study on foodization of fibroin and its functionality, In *The collection of papers for the second international silk conference*, p.73-87, China.
- Kim, Y. Y., Choue, R. W., Chung, S. H. and Koo, S. J. (1999) Anti-hyperglycemic effect of *Cortex mori radices* in db/db mice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**: 1057-1064.
- Park, K. J., Hong, S. E., Do, M. S. and Hyun, C. K. (2002) Stimulation of insulin secretion by silk fibroin hydrolysate in streptozotocin-induced diabetic rats and db/db mice. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**: 21-28.
- Kim, M. K., Lee, K.H., Lim, H. J., Lee, S. H. and Min, K.

- S. (1996) Preparation protocols for the functional polypeptide materials from cocoon. *Korean patent* 96712.
21. Ajisawa, A. (1970) Studies on the dissolution of silk fibroin. VI. The dissolution of silk fibroin and osmotic of neutral salt aqueous solution. *J. Seric. Sci. Jpn.* **39**: 139-142.
22. Weilke, C., Brinkmann, T. and Kleesiek, K. (1997) Determination of xylosyltransferase activity in serum with recombinant human bikunin as acceptor. *Clin. Chem.* **43**: 45-51.
23. Schwartz, N. B. (1977) Regulation of chondroitin sulfate synthesis. Effect of  $\beta$ -xylosides on synthesis of chondroitin sulfate proteoglycan, chondroitin sulfate chains, and core protein. *J. Biol. Chem.* **252**: 316-321.
24. Stoolmiller, A. C., Horwitz, A. L. and Dorfman, A. (1972) Biosynthesis of the chondroitin sulfate proteoglycan. Purification and properties of xylosyl-transferase. *J. Biol. Chem.* **247**: 3525-3532.
25. Campbell, P., Jacobsson, I., Benzing-Purdie, L., Roden, L. and Fessler, J. H. (1984) Silk-a new substrate for UDP-D-xylose:proteoglycan core protein  $\beta$ -D-xylosyltransferase. *Anal. Biochem.* **137**: 505-516.
26. Hyun, C. K. and Shin, H. K. (2000) Utilization of bovine blood plasma proteins for the production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Process Biochem.* **36**: 65-71.
27. Havel, P. J., Uriu-Hare, J. Y., Liu, T., Stanhope, K. L., Stern, J. S., Keen, C. L. and Ahren, B. (1998) Marked and rapid decreases of circulating leptin in streptozotocin diabetic rats: reversal by insulin. *Am. J. Physiol.* **274**: R1482-R1491.

(2002년 8월 8일 접수)