

## 난소절제 랫드에서 제니스테인과 콩단백질이 지질 대사에 미치는 영향\*

이영민<sup>\*\*,\*\*\*</sup> · 정명호<sup>\*\*</sup> · 이연숙<sup>\*\*\*</sup> · 송지현<sup>\*\*§</sup>

질병관리본부 국립보건연구원 생명의학부 대사영양질환과, \*\* 서울대학교 식품영양학과<sup>\*\*\*</sup>

### Effect of Genistein and Soy Protein on Lipids Metabolism in Ovariectomized Rats\*

Lee, Young Min<sup>\*\*,\*\*\*</sup> · Jung, Myeong Ho<sup>\*\*</sup> · Lee, Yeon Sook<sup>\*\*\*</sup> · Song, Jihyun<sup>\*\*§</sup>

Division of Metabolic Disease,<sup>\*\*</sup> Department of Biomedical Sciences, National Institute of Health, Seoul 122-701, Korea  
Department of Food and Nutrition,<sup>\*\*\*</sup> Seoul National University, Seoul 130-701, Korea

#### ABSTRACT

Postmenopausal women or ovariectomized rats are associated with increased cholesterol levels, which are risk factors of metabolic syndrome and cardiovascular diseases. Increased prevalence of metabolic syndrome after menopause might be associated with estradiol deficiency. Harmful effect of estradiol hampers the casual usage of hormone to prevent the metabolic syndrome. Soy protein has been reported to show several beneficial effects on health, however it is unclear which components of soy protein is responsible for anti-obesity and hypocholesterolemic effects. Soy isoflavones, genistein and daizein, are suggested to have anti-obesity and hypocholesterolemic effects but with inconsistency. The present study investigated the effect of supplementation of genistein (experiment I) and soy protein containing isoflavones (experiment II) to high fat diet on body weight gain, food intake, liver and fat tissue weight and the lipid levels in ovariectomized rats. Plasma and hepatic lipid contents and the mRNA levels of genes encoding lipid metabolism related proteins, such as CPT1 and HMGR were measured. Ovariectomy increased body weight, fat tissue weight and plasma and hepatic lipid levels which increase the risk of metabolic syndrome. Soy protein could improve plasma and hepatic lipids levels. Soy protein also increased hepatic CPT1 and HMGR mRNA levels. Plasma and hepatic lipids levels could not be decreased by dietary genistein alone. In contrast, lipids levels could be decreased by isoflavone-fortified soy protein, suggesting that the ingestion of soy protein enriched with isoflavone gives more benefit for protecting postmenopausal women from metabolic syndrome. (*Korean J Nutrition* 38(4) : 267~278, 2005)

KEY WORDS : ovariectomy, genistein, soy protein, CPT1, HMGR.

#### 서론

대사증후군 또는 인슐린저항성 증후군은 인슐린저항성 혹은 내당능장애가 이상지방혈증, 복부비만, 고혈압과 함께 나타나는 상태이다.<sup>1,2)</sup> 대사증후군이 나타나는 경우 그렇지 않은 경우보다 심혈관질환, 뇌혈관질환 그리고 당뇨병의 위험성을 증가시켜 사망률이 증가하게 된다.<sup>3)</sup>

여러 연구 결과에 따르면 연령이 증가할수록 대사증후군의 유병률이 증가하였고, 특히 여성의 경우 50세 이상에서 40%이상을 나타내면서 남성의 경우보다 유병률이 급격히 증가하였다.<sup>4,5)</sup> 50세 이후의 시기는 여성의 경우 단순한 연령증가 뿐 아니라 폐경기에 접어들게 되는 시기로 폐경기에서 관찰되는 대사증후군의 유병률 증가는 여성호르몬 분비 불균형 및 감소에 기인한 것으로 보인다. 폐경 후 여성에서 혈중 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤, lipoprotein (a)의 수준이 폐경 전 여성이나 호르몬 치료를 받는 여성보다 유의적으로 높았으며,<sup>6)</sup> 폐경이 된 여성들에게서 심혈관질환의 유병률이 급격히 증가하여 남성 환자에 비해 좋지 않은 증상을 나타내는 것이 알려져 있고 에스트로겐 투여로 심혈관질환이 개선되었다.<sup>7,8)</sup> 그러나 폐경기에 사용되는 호르몬 대체 요법은 생식기관에서 암을 발생시키는 등 여러 부작용이

접수일 : 2005년 3월 28일

채택일 : 2005년 5월 16일

\*This work was supported in part by a Korea National Institute of Health intramural research grant (348-6111-211-207) and a grant of the Korea Health 21 R & D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (03-PJ1-PG3-22000-0014).

§To whom correspondence should be addressed.

보고되고있어<sup>9,10</sup> 폐경기 여성들이 대사증후군 및 심혈관질환의 예방과 치료를 위한 호르몬 사용을 기피하는 실정이다.

따라서 에스트로겐의 유해한 성질 때문에 에스트로겐 대체 물질을 고려해야 하며 그 대안 물질로 phytoestrogens을 생각할 수 있겠다. Phytoestrogens은 그 구조가 에스트로겐과 비슷하여 에스트로겐 수용체에 결합할 수 있다.<sup>11,12</sup> 대표적인 phytoestrogens에는 isoflavone, lignan 등이 있고, 제니스테인은 isoflavone 중 주요한 물질로, 대두에 많이 함유되어 있다. 이소플라본을 포함하는 콩단백이 심혈관질환에 대해 이로운 효과를 갖는 것은 잘 알려져 있어 특히, 콩단백질에 의한 혈중 콜레스테롤 저하 효과에 관한 연구는 오랫동안 많이 수행되어 왔으나 콩단백질의 어떤 성분이 혈중 지질에 영향을 미치는지에 대해서는 아직까지 명확하지 않다. 이소플라본의 콜레스테롤 저하 효과에 대한 많은 결과들이 보고되었지만 그 결과가 일치하지 않으며 단일 이소플라본을 조사한 연구는 거의 수행되지 않았다.<sup>13-17</sup>

혈중 콜레스테롤 수준은 콜레스테롤 생합성의 rate-limiting 효소인 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR)를 조절할 수 있다. HMGR은 feedback control에 의하여 조절되어, 대사산물이 적으면 효소 활성이 높고 대사산물이 많으면 효소 활성이 낮다.<sup>18</sup> 따라서 고지방식에 의해서 HMGR의 mRNA 발현 수준이 감소하였고,<sup>19</sup> 콩단백질에 의해서 그 발현 수준이 증가한 것이 보고된 바 있으나<sup>20</sup> 제니스테인 첨가에 의한 HMGR mRNA의 발현 수준을 조사한 연구는 없는 실정이다.

대사증후군에서 혈중 지질 농도의 증가뿐만 아니라 간 조직의 지방 침착의 증가 또한 중요한 문제로 대두되고 있다. 간 조직의 지방 함량 증가는 알코올이나 비만, 당뇨에 의해서 공통적으로 나타나고 있으며,<sup>21</sup> 최근 연구에 의하면 비알코올성 지방간 환자에게서 대사증후군의 위험 인자가 군집해서 나타나고 동맥경화증도 관찰되어<sup>22</sup> 인슐린 저항성이 지방간 발생에 중추적인 작용을 하는 것으로 보인다. 한편으로는 지방간으로 인해 인슐린 저항증이 악화될 수도 있을 것이다.

간 조직의 중성지질 합성과 분비의 불균형 및 지방산의 산화 감소에 의하여 간의 지질 대사가 변경되면 지방 축적이 일어나게 된다. 지방산은 주로 미토콘드리아 내에서  $\beta$ -oxidation 과정을 거쳐 분해되는데 조직으로 운반되는 지방산의 대부분인 긴 사슬 지방산은 아실 CoA로 활성화 된 후 carnitine palmitoyltransferase (CPT)에 의해서 조절된다.<sup>23</sup> CPT 중 대표적인 isoform인 CPT1은 PPAR $\alpha$ 와 PPAR $\gamma$ 의 리간드에 의해서 활성이 증가하였고<sup>24</sup> 노인의 경우 말초 혈액세포의 CPT1의 mRNA 수준이 젊은 사람에 비해 50%

정도로 연령에 따른 변화가 있음을 관찰하였다.<sup>25</sup>

본 연구에서는 폐경 및 식이 중 제니스테인 또는 콩단백질의 첨가가 혈중 지질 농도와 간조직의 지질 수준에 미치는 영향을 관찰하였고 이와 관련된 기전을 탐색하기 위해 간의 지방산 산화를 조절하는 CPT1과 콜레스테롤 생합성을 조절하는 HMGR의 mRNA 발현 수준을 real time RT-PCR을 이용하여 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험설계 및 식이

난소절제 랫드에서 이소플라본과 콩단백질이 혈중과 간 중 지질 농도에 미치는 영향을 알아보고자, 실험 I에서는 난소절제 후 제니스테인을 1,000 ppm 수준으로 식이에 첨가하였고, 실험 II에서는 이소플라본을 함유하는 콩단백질을 제공하여 지질 대사 관련 요인을 측정한 후 비교 분석하였다 (Fig. 1).

실험 I에서는 Sprague Dawley계 암컷 쥐를 sham 수술 (n = 13)이나 난소절제수술 (n = 16)하고 3주 후 각 수술군을 두 군으로 나누어 제니스테인 (BioSpectrum Co. Ltd., Seoul, Korea)이 첨가되지 않은 고지방식이 (지방함량과 콜레스테롤이 각각 식이 중 18%, 1% 차지)나 제니스테인이 식이 중 0.1% 수준으로 첨가된 실험식을 4주 동안 제공하였다 (Table 1). 즉 실험군은 4군으로 sham 군 (S, n = 6), sham-제니스테인 첨가 군 (S + G, n = 7), 난

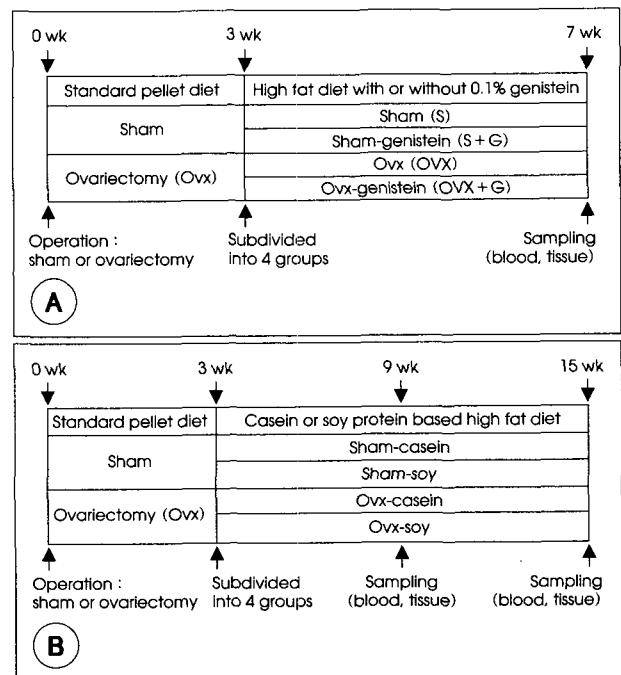


Fig. 1. Experimental designs. A: experiment I, B: experiment II.

**Table 1.** Composition of experimental diets in experiment I (g/kg diet)

	S <sup>1)</sup> and OVX	S + G and OVX + G
Cornstarch	469.692	470.692
Casein	140	140
Sucrose	100	100
Beef tallow	180	180
Cholesterol	10	10
Fiber	50	50
Mineral mixture <sup>2)</sup>	35	35
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	10	10
L-cystein	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5
TBHQ <sup>4)</sup>	0.008	0.008
Genistein	-	1

1) S: sham-operated + high fat diet, S + G: sham-operated + high fat diet with 0.1% genistein, OVX: ovariectomized + high fat diet, OVX + G: ovariectomized + high fat diet with 0.1% genistein  
 2) Mineral mixture: AIN-93M mineral mixture (ICN, CA, USA)  
 3) Vitamin mixture: AIN-93VX vitamin mixture (ICN, CA, USA)  
 4) TBHQ: Tert-butylhydroquinone

소절제 군 (OVX, n = 8), 난소절제-제니스테인 첨가 군 (OVX + G, n = 8) 으로 구성되었다.

실험 II에서는 Sprague Dawley계 암컷 쥐를 두 군으로 나누어 sham 수술 (n = 25)과 난소절제수술 (n = 27)을 시행하고 3주 후에 각 수술군을 두 군으로 나누어 고지방식이 (지방함량이 식이 중 15% 차지)에 단백질 급원을 카제인과 콩단백질로 다르게 한 실험식이를 제공하였다 (Table 2). 즉 실험식이군은 sham 수술-카제인 (sham-casein, n = 13), sham 수술-콩단백질식이 (sham-soy, n = 12), 난소절제수술-카제인 (ovx-casein, n = 14), 난소절제수술-콩단백질식이 (ovx-soy, n = 13)이다. 콩단백질의 급여기간에 따른 효과를 알아보기 위하여 식이 공급 후 6주에 각 군 당 6마리씩 희생하였고 12주에 나머지 랫드를 희생하였다. 실험식이와 음용수는 자유섭취 시켰고 체중은 일주일에 1회, 식이섭취량은 일주일에 3회 측정하였다.

**2. 시료 수집 및 저장**

일정기간 동안 실험식이를 공급하고 나서 12시간 동안 절식시킨 (overnight fasting) 후 CO<sub>2</sub>로 마취시키고 복대정맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액은 항응고제 (sodium heparin)로 처리된 튜브에 담아 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 혈액 채취 후 간과 신장주변의 지방을 채취하여 무게를 측정하고 액체질소로 급속 냉동하였으며 혈액과 조직은 분석 시 까지 -80°C에 보관하였다.

**3. 혈중 지질 분석**

혈중 총 콜레스테롤, 중성지질, HDL-콜레스테롤은 효소

**Table 2.** Composition of experimental diets in experiment II (g/kg diet)

	Sham-casein <sup>1)</sup> and ovx-casein	Sham-soy and ovx-soy
Cornstarch	550.6	550.6
Casein	200	-
Soy protein <sup>2)</sup>	-	200
Corn oil	25	25
Beef tallow	125	125
Fiber	50	50
Mineral mixture <sup>3)</sup>	35	35
Vitamin mixture <sup>4)</sup>	10	10
DL-methionine	3	3
Choline chloride	1.4	1.4

1) Sham-casein: sham-operated + casein based high fat diet, sham-soy: sham-operated + soy protein based high fat diet, ovx-casein: ovariectomized + casein protein based high fat diet, ovx-soy: ovariectomized + soy protein based high fat diet  
 2) SUPRO<sup>®</sup> soy containing 3.4 mg isoflavone/g protein (Solae Co. MO, USA)  
 3) Mineral mixture: AIN-93M mineral mixture (ICN, CA, USA)  
 4) Vitamin mixture: AIN-93VX vitamin mixture (ICN, CA, USA)

kit (ASAN Diagnostics, Korea)를 이용하여, 유리지방산은 효소법 (Nippon Shoji Co.)을 이용하여 혈장에서 측정하였다. 혈장의 LDL-콜레스테롤은 Friedewald법<sup>26)</sup> [LDL-cholesterol = total cholesterol - HDL-cholesterol - (triglyceride/5)]에 의거하여 산출하였다.

**4. 간중 지질 분석**

간의 total lipid는 Bligh & Dyer<sup>27)</sup>의 방법을 이용하여 추출하였고 isopropanol에 용해시킨 후 효소 kit를 이용하여 triglyceride (YD diagnostics, Korea), total cholesterol (ASAN diagnostics, Korea)을 측정하였다.

**5. Real time RT-PCR**

간조직에서 TRI reagent (Molecular Research, Cincinnati, Ohio)를 사용하여 RNA를 추출 후 real time RT-PCR 방법으로 mRNA 수준을 정량하고 이를 핵 DNA에 의해 code 되는 18S rRNA mRNA로 표준화 시켰다.<sup>28)</sup> 사용된 rat CPT1의 forward와 reverse primer는 각기 5-tatgtgaggatgctgcctcc-3' 과 5-ctcggagagctaagcttgtc-3' 이며 rat HMGR는 5'-agggaacatgcaccaagaag-3' 와 5'-aaagagccagaaaccaagca-3' 이다.

**6. 통계처리**

실험의 결과는 SPSS 통계 package를 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준오차를 계산한 후, 난소절제와 식이의 영향은 two-way ANOVA 검정을 하였고, 군간의 차이는 p < 0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증

**Table 3.** Body weight, weight gain, food intake and FER of rats in experiment I

	S <sup>1)</sup>	S+G	OVX	OVX+G
Initial B.W., g	232.2 ± 3.4 <sup>2)NS3)</sup>	232.2 ± 3.4	232.2 ± 3.4	232.2 ± 3.4
OVX (at 3 week) B.W., g	267.4 ± 7.0 <sup>b</sup>	267.4 ± 7.0 <sup>b</sup>	304.0 ± 2.9 <sup>a</sup>	304.0 ± 2.9 <sup>a</sup>
Final B.W. (at 7 week), g	292.1 ± 7.2 <sup>b</sup>	310.1 ± 15.2 <sup>b</sup>	371.0 ± 10.9 <sup>a</sup>	356.4 ± 6.8 <sup>a</sup>
Weight gain (for 7 wks), g/d	1.2 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>a</sup>
Weight gain (for 4 wks), g/d	1.0 ± 0.2 <sup>c</sup>	1.2 ± 0.2 <sup>bc</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.2 <sup>ab</sup>
Intake (for 4 wks), g/d	13.1 ± 0.5 <sup>b</sup>	12.9 ± 0.5 <sup>b</sup>	15.2 ± 0.6 <sup>a</sup>	15.0 ± 0.6 <sup>a</sup>
FER <sup>4)</sup> (for 4 wks)	0.07 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>bc</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>ab</sup>

1) S: sham-operated + high fat diet, S+G: sham-operated + high fat diet with 0.1% genistein, OVX: ovariectomized + high fat diet, OVX+G: ovariectomized + high fat diet with 0.1% genistein

2) Data are expressed as Mean ± S.E

3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. NS:  $p \geq 0.05$

4) FER: food efficiency ratio = weight gain (g/day)/food intake (g/day)

**Table 4.** Body weight, weight gain, food intake and FER of rats in experiment II

	Sham-casein <sup>1)</sup>	Sham-soy	Ovx-casein	Ovx-soy
Initial B.W., g	244.5 ± 4.3 <sup>2)NS3)</sup>	244.5 ± 4.3	244.5 ± 4.3	244.5 ± 4.3
OVX (at 3 week) B.W., g	270.7 ± 7.7 <sup>b</sup>	270.7 ± 7.7 <sup>b</sup>	313.4 ± 8.9 <sup>a</sup>	313.4 ± 8.9 <sup>a</sup>
Final B.W. (at 9 week), g	351.1 ± 21.3 <sup>ab</sup>	332.3 ± 13.6 <sup>b</sup>	401.4 ± 18.3 <sup>a</sup>	380.8 ± 20.0 <sup>ab</sup>
Weight gain (for 9 wks), g/d	1.7 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.2 <sup>a</sup>
Weight gain (for 6 wks), g/d	1.9 ± 0.2 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.2 <sup>ab</sup>
Intake (for 6 wks), g/d	16.3 ± 1.2 <sup>NS</sup>	14.5 ± 0.7	16.2 ± 0.8	15.3 ± 0.8
FER <sup>4)</sup> (for 6 wks)	0.12 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>a</sup>
Final B.W. (at 15 week), g	378.0 ± 23.9 <sup>NS</sup>	365.1 ± 22.0	420.6 ± 16.4	411.7 ± 21.1
Weight gain (for 15 wks), g/d	1.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.2 <sup>a</sup>
Weight gain (for 12 wks), g/d	1.3 ± 0.1 <sup>NS</sup>	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2
Intake (for 12 wks), g/d	16.7 ± 1.1 <sup>NS</sup>	15.5 ± 0.7	16.1 ± 0.6	15.4 ± 0.7
FER (for 12 wks)	0.08 ± 0.00 <sup>NS</sup>	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.01

1) Sham-casein: sham-operated + casein based high fat diet, sham-soy: sham-operated + soy protein based high fat diet, ovx-casein: ovariectomized + casein protein based high fat diet, ovx-soy: ovariectomized + soy protein based high fat diet

2) Data are expressed as Mean ± S.E

3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. NS:  $p \geq 0.05$

4) FER: food efficiency ratio = weight gain (g/d)/food intake (g/d)

하였다. 변수들 간의 상관성은 Pearson's correlation으로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중과 식이섭취량, 식이효율

난소절제수술과 sham 수술을 시행하고 3주 후 체중을 측정한 결과 실험 I에서 S 군의 체중은 초기 무게보다 15% 증가한 것에 비해 OVX 군의 체중은 31% 증가하였다 (Table 3). 식이공급 후 체중증가량의 경우 실험 I에서 OVX 군의 체중이 가장 많이 증가하였고 S 군의 체중이 가장 적게 증가하였다. 제니스테인 첨가는 S 군에는 큰 영향없이 OVX 군에서 통계적 유의성은 없으나 체중증가를 억제하였다.

식이단백질을 달리한 실험 II에서도 ovx 수술에 의한 체

중증가효과는 ovx 수술 후 3주에 관찰되어 sham 군이 10% 증가한 반면 ovx 군이 28% 증가하였다. ovx 수술에 의한 체중증가효과는 실험 식이공급을 시작한 6주 후와 12주 후에도 모두 관찰할 수 있었다 (Table 4). 실험식이 공급 후의 효과만 구별하여 관찰해보면 6주간의 식이 콩단백질 공급은 카제인 공급군에 비해 체중증가가 적은 경향을 나타내어 체중증가가 ovx-casein 군이 가장 많이 증가하였고 sham-soy 군이 가장 적게 증가하였다. 12주의 실험식이 공급 후의 체중증가는 sham-soy 군에서 가장 적었으나 군간의 차이는 없었다.

실험 I에서 OVX 군이 식이섭취량이 증가했을 뿐 아니라 식이섭취량에 대한 체중증가비율이 S 군에 비해 2배의 효율을 보였다. 그러나 OVX+G 군은 제니스테인 첨가에 의해 OVX 보다 같은 식이섭취량에 대해 체중증가는 29% 적었다. 실험 II에서는 난소절제술에 의한 식이섭취량의 증가

도 관찰할 수 없었고 식이효율도 6주에 sham-soy 군의 식이효율은 유의적으로 낮게 관찰되었으나 12주에는 군간의 차이가 없었다.

본 연구에서 난소절제를 시행한 후 3주에 난소절제를 하지 않은 랫드보다 체중이 유의적으로 증가한 것은 난소절제술이 유의적으로 체중을 증가시켰다고 보고한 다른 실험들의 결과와 일치하였다.<sup>29,30)</sup> 난소절제에 의한 체중 증가에는 식이섭취량의 증가가 중요한 요인으로 작용하나<sup>31)</sup> 본 연구에서처럼 식이효율이 증가한 것으로 보아 대사율의 변경으로 체중이 증가한 것으로 생각되어진다.

Tovar 등,<sup>32)</sup> Demonthy 등<sup>33)</sup>의 연구에서 보고된 것처럼 실험 II에서도 6주 동안의 콩단백질 공급이 체중증가를 억제하는 경향을 관찰할 수 있었던 반면, 이소플라본의 체중 감소 효과에 대해서는 공급 수준이나 공급 방법 등에 따라 상반된 결과를 보이고 있으며<sup>34-36)</sup> 본 연구의 실험 I에서 S 군과 OVX 군에서 제니스테인의 첨가가 다른 작용을 나타낸 것처럼 개체의 호르몬 상태 또한 영향을 주는 것으로 보인다.

**2. 조직 무게의 변화**

실험 I에서 평균 간 조직 무게는 OVX 군과 OVX + G 군의 경우 S 군에 비해 각각 34%, 31% 증가하여 난소절제

술은 간 무게를 유의적으로 증가시켰다 (Table 5). 그러나 난소절제에 의해 체중증가도 동시에 나타난 상태이어서 체중에 대한 상대적 간의 무게는 군간에 유의적 차이는 없었다. 난소제거에 의해 식이섭취 증가 및 콜레스테롤이 함유된 고지방식이에 따른 고지혈증으로 간에 지방축적이 크게 증가하여 간의 무게 증가를 관찰할 수 있었으나 실험 II에서는 난소절제군에서 간의 무게가 증가하지 않았고 오히려 난소절제에 의한 체중 증가로 인해서 간의 상대적 무게가 난소절제수술 군에서 유의적으로 감소하였다 (Table 6). 한편 실험 II의 실험기간이 더 길었음에도 불구하고 실험 I에서 측정된 sham 군의 상대적 간 무게가 실험 II에서도 50% 정도 더 무거운 것은 실험식이 성분의 차이, 즉 실험 I의 식이가 동물성 지방 18%, 콜레스테롤 1%를 함유한 것에서 비롯된 것 같다. Peluso 등<sup>37)</sup>은 대조 식이를 단순탄수화물의 양을 증가시키고 복합탄수화물과 식물성 유지의 양을 감소시키고 동물성 지방과 콜레스테롤 등을 첨가 시킴으로써 atherogenic 식이로 전환시켜 SD rat에게 공급하였을 때 대조 식이에 비해 atherogenic 식이군의 상대적 간 무게가 69% 증가함을 관찰하였다. 따라서 식이 중 높은 함량의 동물성 지방과 콜레스테롤에 의해서 간의 무게가 증가하며 난소절제 상태가 간의 무게 증가를 유의적으로 가

**Table 5.** The liver and fat tissue weight of rats in experiment I

	S <sup>1)</sup>	S + G	OVX	OVX + G
Liver, g	10.04 ± 0.62 <sup>2)NS3)</sup>	10.85 ± 0.77 <sup>b</sup>	13.42 ± 0.56 <sup>a</sup>	13.14 ± 0.98 <sup>a</sup>
Relative liver weight, g/100 g B.W.	3.42 ± 0.14 <sup>NS</sup>	3.48 ± 0.11	3.62 ± 0.14	3.67 ± 0.22
Retroperitoneal fat, g	5.06 ± 0.32 <sup>c</sup>	6.92 ± 1.26 <sup>bc</sup>	10.35 ± 0.83 <sup>a</sup>	9.69 ± 1.24 <sup>ab</sup>
Relative fat weight, g/100 g B.W.	1.73 ± 0.10 <sup>b</sup>	2.18 ± 0.35 <sup>ab</sup>	2.78 ± 0.19 <sup>a</sup>	2.69 ± 0.36 <sup>a</sup>

1) S: sham-operated + high fat diet, S + G: sham-operated + high fat diet with 0.1% genistein, OVX: ovariectomized + high fat diet, OVX + G: ovariectomized + high fat diet with 0.1% genistein  
 2) Data are expressed as Mean ± S.E  
 3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. NS: p ≥ 0.05

**Table 6.** The liver and fat tissue weight of rats in experiment II

	Sham-casein <sup>1)</sup>	Sham-soy	Ovx-casein	Ovx-soy
<b>6 weeks</b>				
Liver, g	7.96 ± 0.47 <sup>2)NS3)</sup>	7.59 ± 0.48	7.42 ± 0.36	7.60 ± 0.53
Relative liver weight, g/100 g B.W.	2.26 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.37 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.91 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.87 ± 0.06 <sup>b</sup>
Retroperitoneal fat, g	11.58 ± 1.96 <sup>ab</sup>	8.97 ± 1.77 <sup>b</sup>	12.29 ± 1.39 <sup>ab</sup>	14.91 ± 1.86 <sup>a</sup>
Relative fat weight, g/100 g B.W.	3.10 ± 0.41 <sup>NS</sup>	2.67 ± 0.40	3.13 ± 0.26	3.64 ± 0.29
<b>12 weeks</b>				
Liver, g	8.77 ± 0.45 <sup>NS</sup>	8.79 ± 0.45	8.07 ± 0.41	7.92 ± 0.37
Relative liver weight, g/100 g B.W.	2.33 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.87 ± 0.08 <sup>b</sup>	1.91 ± 0.07 <sup>b</sup>
Retroperitoneal fat, g	12.64 ± 1.59 <sup>NS</sup>	10.86 ± 1.58	14.26 ± 0.76	13.46 ± 1.91
Relative fat weight, g/100 g B.W.	3.28 ± 0.23 <sup>NS</sup>	2.91 ± 0.25	3.29 ± 0.01	3.15 ± 0.28

1) Sham-casein: sham-operated + casein based high fat diet, sham-soy: sham-operated + soy protein based high fat diet, ovx-casein: ovariectomized + casein protein based high fat diet, ovx-soy: ovariectomized + soy protein based high fat diet  
 2) Data are expressed as Mean ± S.E  
 3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. NS: p ≥ 0.05

증시키는 것이 관찰되었다.

Fat mass의 경우 실험 I에서는 난소절제에 의하여 2배 이상 증가하였고 상대적 무게 또한 61%나 증가하였으며 실험 II에서도 난소절제군에서 신장 주변의 지방 조직 무게가 증가하는 경향이 나타났다. 실험 I에서 식이 중 제니스테인이 지방 조직 무게에 미치는 효과는 체중에서 나타난 경향과 비슷하여 S 군에서는 지방 조직 무게를 약간 증가시키는 경향이 있었고 OVX 군에서는 약간 감소시켰다. 실험 II에서 콩단백질 섭취로 인한 지방 조직의 상대적 무게는 6주에 sham 군에서는 14% 감소하였으나 ovx 군에서는 16% 증가하는 경향을 보였고 12주에는 체중과 마찬가지로 군간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 마우스를 이용한 연구에서는 콩단백질 및 제니스테인에 의해 지방 조직 무게가 감소된다고 일관적으로 보고하나 랫드를 이용한 연구들

은 수행된 연구가 적었다.<sup>36,39)</sup> 특히, 난소절제 모델에서 지방 조직에 대해 콩단백질 및 제니스테인이 미치는 영향에 대해서는 거의 수행되어진 연구가 없는 실정이어서 추후 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

3. 혈중 지질 수준의 변화

콜레스테롤과 중성지질 등 혈중 지질 수준에 대한 난소절제와 제니스테인 및 콩단백질의 효과를 Table 7과 8에 제시하였다. 실험 I에서 two-way ANOVA에 의하면 총 콜레스테롤 함량이 난소절제에 의하여 증가하는 경향이였다 (p = 0.088). 난소절제나 제니스테인에 의해서 혈중 지질 수준이 군간에 유의적인 차이가 없어 고콜레스테롤 고지방식이로 인해 과잉지방이 장기간 공급되면 혈중 지질농도가 매우 높아져 난소절제나 제니스테인 등의 실험조건에 의해서

Table 7. The effect of ovariectomy and genistein on plasma lipid levels in experiment I

	S <sup>1)</sup>	S+G	OVX	OVX+G	Ovx	Gen	Ovx × gen
NEFA <sup>4)</sup> , $\mu$ Eq/L	481.37 ± 80.06 <sup>2)NS3)</sup>	480.56 ± 49.51	398.99 ± 19.17	483.25 ± 48.12	0.416	0.395	0.386
TG, mg/dl	50.00 ± 8.43 <sup>NS</sup>	47.63 ± 4.59	42.14 ± 3.10	58.69 ± 5.50	0.770	0.203	0.093
Total-cholesterol, mg/dl	116.83 ± 7.48 <sup>NS</sup>	127.33 ± 13.34	141.03 ± 9.93	139.15 ± 8.14	0.088	0.675	0.547
HDL-cholesterol, mg/dl	11.52 ± 1.66 <sup>NS</sup>	14.61 ± 2.36	15.59 ± 1.35	14.86 ± 1.69	0.241	0.518	0.298
LDL-cholesterol, mg/dl	99.58 ± 6.79 <sup>NS</sup>	103.02 ± 16.18	116.26 ± 10.2	122.56 ± 10.57	0.134	0.681	0.904
AI <sup>5)</sup>	10.03 ± 1.33 <sup>NS</sup>	9.04 ± 1.93	8.53 ± 0.99	9.02 ± 1.18	0.589	0.859	0.600

1) S: sham-operated + high fat diet, S + G: sham-operated + high fat diet with 0.1% genistein, OVX: ovariectomized + high fat diet, OVX + G: ovariectomized + high fat diet with 0.1% genistein  
 2) Data are expressed as Mean ± S.E  
 3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. NS: p ≥ 0.05  
 4) NEFA: non esterified fatty acids  
 5) AI: atherogenic index = (total-cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

Table 8. The effect of ovariectomy and soy protein on plasma lipid levels in experiment II

	Sham-casein <sup>1)</sup>	Sham-soy	Ovx-casein	Ovx-soy	Ovx	Soy	Ovx × soy
<b>6 weeks</b>							
NEFA <sup>4)</sup> , $\mu$ Eq/L	797.34 ± 87.26 <sup>2)NS3)</sup>	821.32 ± 46.20	950.58 ± 101.23	1032.63 ± 100.13	0.048	0.547	0.741
TG, mg/dl	27.57 ± 7.15 <sup>NS</sup>	16.98 ± 4.07	26.50 ± 6.99	34.24 ± 6.46	0.213	0.823	0.161
Total-chol, mg/dl	72.73 ± 8.75 <sup>b</sup>	64.24 ± 3.98 <sup>b</sup>	98.62 ± 2.80 <sup>c</sup>	95.49 ± 5.21 <sup>c</sup>	0.000	0.316	0.640
HDL-chol., mg/dl	18.43 ± 2.43 <sup>NS</sup>	21.48 ± 1.13	20.38 ± 1.25	23.46 ± 1.58	0.254	0.082	0.996
LDL-chol, mg/dl	48.79 ± 6.23 <sup>b</sup>	39.37 ± 3.93 <sup>b</sup>	72.93 ± 3.05 <sup>c</sup>	65.18 ± 3.30 <sup>c</sup>	0.000	0.060	0.848
AI <sup>5)</sup>	3.02 ± 0.21 <sup>b</sup>	2.00 ± 0.16 <sup>c</sup>	3.91 ± 0.29 <sup>c</sup>	3.12 ± 0.23 <sup>b</sup>	0.000	0.001	0.629
<b>12 weeks</b>							
NEFA, $\mu$ Eq/L	649.73 ± 51.54 <sup>2)NS3)</sup>	809.30 ± 84.98	729.27 ± 93.91	842.03 ± 43.79	0.454	0.077	0.754
TG, mg/dl	41.73 ± 3.56 <sup>ab</sup>	33.81 ± 2.14 <sup>b</sup>	47.59 ± 2.05 <sup>c</sup>	37.86 ± 2.82 <sup>b</sup>	0.082	0.004	0.743
Total-chol, mg/dl	86.88 ± 7.99 <sup>NS</sup>	72.08 ± 4.59	92.03 ± 8.49	75.98 ± 3.48	0.516	0.034	0.928
HDL-chol., mg/dl	24.85 ± 1.56 <sup>NS</sup>	20.86 ± 2.88	21.98 ± 1.73	23.11 ± 1.32	0.871	0.457	0.186
LDL-chol, mg/dl	53.68 ± 6.23 <sup>NS</sup>	44.46 ± 6.05	60.54 ± 7.09	45.30 ± 4.04	0.535	0.057	0.627
AI	2.46 ± 0.17 <sup>NS</sup>	3.42 ± 1.47	3.18 ± 0.21	2.34 ± 0.21	0.781	0.931	0.179

1) Sham-casein: sham-operated + casein based high fat diet, sham-soy: sham-operated + soy protein based high fat diet, ovx-casein: ovariectomized + casein protein based high fat diet, ovx-soy: ovariectomized + soy protein based high fat diet  
 2) Data are expressed as Mean ± S.E  
 3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. NS: p ≥ 0.05  
 4) NEFA: non esterified fatty acids  
 5) AI: atherogenic index = (total-cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

**Table 9.** The effect of ovariectomy and genistein on hepatic lipid levels in experiment I

	S <sup>1)</sup>	S + G	OVX	OVX + G	Ovx	Gen	Ovx × gen
Total-chol, mg/g liver	23.28 ± 3.58 <sup>2)NS3)</sup>	23.11 ± 2.60	26.78 ± 1.76	24.61 ± 1.40	0.297	0.622	0.674
Total-chol, mg/liver	240.64 ± 47.50 <sup>b)</sup>	242.73 ± 38.49 <sup>b)</sup>	356.06 ± 21.36 <sup>o)</sup>	305.73 ± 27.36 <sup>ab)</sup>	0.013	0.474	0.441
TG, mg/g liver	14.59 ± 2.77 <sup>NS)</sup>	12.02 ± 1.32	16.03 ± 1.25	14.50 ± 0.95	0.242	0.224	0.753
TG, mg/liver	149.05 ± 30.61 <sup>b)</sup>	125.87 ± 18.58 <sup>b)</sup>	213.44 ± 16.61 <sup>o)</sup>	178.40 ± 13.15 <sup>ob)</sup>	0.008	0.157	0.766

1) S: sham-operated + high fat diet, S + G: sham-operated + high fat diet with 0.1% genistein, OVX: ovariectomized + high fat diet, OVX + G: ovariectomized + high fat diet with 0.1% genistein

2) Data are expressed as Mean ± S.E

3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. NS:  $p \geq 0.05$

**Table 10.** The effect of ovariectomy and soy protein on hepatic lipid levels in experiment II

	Sham-casein <sup>1)</sup>	Sham-soy	Ovx-casein	Ovx-soy	Ovx	Soy	Ovx × soy
<b>6 weeks</b>							
Total-chol, mg/g liver	1.17 ± 0.16 <sup>2)NS3)</sup>	1.20 ± 0.06 <sup>o)</sup>	1.63 ± 0.17 <sup>o)</sup>	1.41 ± 0.14 <sup>ab)</sup>	0.025	0.504	0.378
Total-chol, mg/liver	9.01 ± 0.83 <sup>b)</sup>	9.05 ± 0.64 <sup>b)</sup>	12.04 ± 1.38 <sup>o)</sup>	10.44 ± 0.73 <sup>ab)</sup>	0.029	0.415	0.395
TG, mg/g liver	8.83 ± 0.76 <sup>b)</sup>	8.55 ± 1.96 <sup>b)</sup>	13.37 ± 1.07 <sup>o)</sup>	10.60 ± 1.61 <sup>ob)</sup>	0.032	0.297	0.392
TG, mg/liver	69.64 ± 5.95 <sup>NS)</sup>	68.49 ± 20.43	99.91 ± 10.82	78.75 ± 12.01	0.145	0.414	0.463

**12 weeks**

Total-chol, mg/g liver	1.34 ± 0.17 <sup>b)</sup>	1.33 ± 0.12 <sup>b)</sup>	2.05 ± 0.19 <sup>o)</sup>	2.31 ± 0.15 <sup>o)</sup>	0.000	0.460	0.439
Total-chol, mg/liver	11.51 ± 1.27 <sup>b)</sup>	11.71 ± 1.19 <sup>b)</sup>	16.60 ± 1.77 <sup>o)</sup>	18.25 ± 1.30 <sup>o)</sup>	0.001	0.534	0.627
TG, mg/g liver	7.88 ± 0.88 <sup>b)</sup>	7.04 ± 0.53 <sup>b)</sup>	15.08 ± 1.44 <sup>o)</sup>	17.92 ± 1.68 <sup>o)</sup>	0.000	0.446	0.165
TG, mg/liver	69.78 ± 8.77 <sup>b)</sup>	62.02 ± 5.78 <sup>b)</sup>	120.72 ± 12.31 <sup>o)</sup>	141.93 ± 13.82 <sup>o)</sup>	0.000	0.553	0.207

1) Sham-casein: sham-operated + casein based high fat diet, sham-soy: sham-operated + soy protein based high fat diet, ovx-casein: ovariectomized + casein protein based high fat diet, ovx-soy: ovariectomized + soy protein based high fat diet

2) Data are expressed as Mean ± S.E

3) Values with different alphabet within the same row are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. NS:  $p \geq 0.05$

는 영향을 받지 않는 것으로 고려된다. 실험 II에서 난소절제와 고지방식이 공급 후 6주에 혈중지질을 관찰하였는바, 혈중 유리지방산과 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 동맥경화 지수가 난소절제에 의해 증가하였고, 식이콩단백질에 의해 LDL-콜레스테롤이 감소하였고 ( $p = 0.06$ ), 동맥경화 지수가 유의적으로 감소하였다. 난소절제 후 실험식이를 공급한지 12주에는 난소절제 효과가 관찰되지 않았으나 콩단백질식이를 12주 동안 공급하였을 때 중성지질과 총 콜레스테롤이 유의적으로 감소하였고 LDL-콜레스테롤의 함량도 콩단백질식이에 의해서 감소하는 경향을 보였다 ( $p = 0.06$ ).

실험 II의 식이는 beef tallow 12.5%와 corn oil 2.5%를 함유하고 있고 콜레스테롤을 포함하지 않은 반면, 실험 I의 식이는 beef tallow 18%에 콜레스테롤 1%를 함유하고 있어 HDL-콜레스테롤을 제외한 혈중 지질 수준이 실험 I의 동물에서 모두 높았다. 즉, sham 군만 비교할 때 실험 II에 비해서 실험 I의 혈중 중성지질이 81%, 총 콜레스테롤이 61%, LDL-콜레스테롤이 2배 이상 높아 식이지방의 함량과 식이 콜레스테롤의 유무가 혈중 지질 수준에 영향을 주었다. 실험 I은 난소절제에 의한 효과가 적었으나 실험 II에서는 6주에는 콜레스테롤과 유리지방산의 수준이 난소절제에 의해 유의적으로 증가했다. 또한 고지방식이를 섭

취한 기간에 의해서도 혈중 지질 수준이 증가하여 실험 II의 12주에서 6주에 비해 중성지질이 증가 (각각 51%, 99%, 80%, 10%)하였으나 콜레스테롤 수준은 크게 다르지 않았다.

실험 I과 실험 II에서 각각 난소절제에 의해 총 콜레스테롤이 22%, 38% 증가하였고 LDL-콜레스테롤이 16%, 49% 증가한 추세는 폐경기 여성을 대상으로 한 연구, 난소절제 수술 후 여성의 혈중 지질 변화와 유사한 경향을 보여 주고 있어<sup>40,41)</sup> 실험동물에서 난소절제가 폐경기 모델을 잘 반영해주고 있는 것으로 고려되며 콜레스테롤 증가 등의 원인을 규명한다면 혈중지질 상승에 대한 예방이나 치료법을 고안해 낼 수 있을 것이다.

Anderson 등<sup>42)</sup>이 meta-analysis를 한 결과 콩단백질이 동물성 단백질에 비하여 혈청 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방 수준을 유의적으로 낮춘다고 결론 내렸으며 1999년 FDA도 콩단백질이 콜레스테롤 저하 효과가 있다는 주장을 허용한 바 있다. 콩단백질의 어떤 성분에 의해 콜레스테롤 저하 효과가 나타나는지와 그 기전에 대해서는 아직까지 확실하게 밝혀지지 않았으나 거론되는 여러 성분 중 이소플라본이 많은 주목을 받고 있다. Zhuo 등<sup>19)</sup>의 meta-analysis 연구에 의하면 이소플라본 함량이 높은 콩단백질

은 이소플라본 함량이 낮은 콩단백질에 비해 LDL-콜레스테롤을 유의적으로 감소시키나, 이소플라본 자체가 혈중 지질감소효과를 갖지는 않는 것으로 고려되기도 하여 혈중 콜레스테롤을 저하시키기 위해서 이소플라본을 섭취하는 것을 권장하기에는 자료가 충분치 않다고 보고하기도 한다.<sup>14,15,43)</sup>

특히 Peluso 등<sup>37)</sup>의 연구나 본 연구에서처럼 고콜레스테롤 식이를 공급한 경우는 제니스테인의 고콜레스테롤혈증 저하 효과가 미약한 것으로 관찰되었다.

실험 II에서처럼 콩단백질의 지질 저하 작용은 뚜렷하게 나타났으며 섭취 기간이 긴 경우 더욱 더 효과적이어서 6주에는 LDL-콜레스테롤만 식이에 의해서 감소되었지만 12주에는 LDL-콜레스테롤 외에 중성지질과 총 콜레스테롤이 식이에 의해서 유의적으로 감소되었음을 알 수 있어 제니스테인의 혈중 지질 저하 작용이 미약한 한편 콩단백질의 효과는 일관적으로 관찰되므로 콩단백질내의 성분 중 혈중 지질 강하에 효과적으로 작용하는 성분에 대한 탐색이 필요할 것으로 고려된다.

**4. 간 중 지질 수준의 변화**

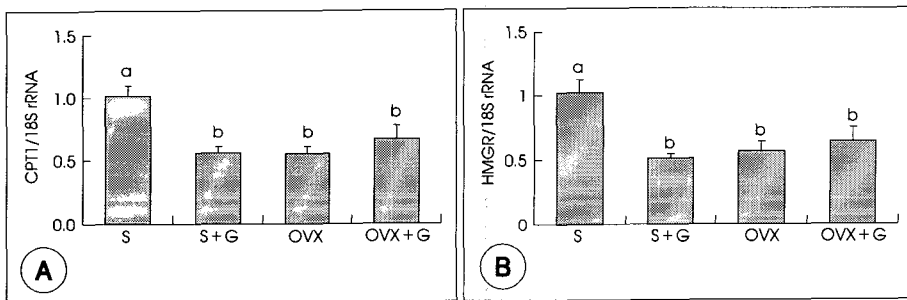
실험 I에서 간 단위무게 1 g 당 중성지질과 총 콜레스테롤이 군간에 차이가 없었으나 난소절제군의 간 무게 증가로 인해서 간 중 지질 함량이 난소절제에 의해서 유의적으로 증가함을 관찰하였다. 그러나 OVX + G에서는 지질 함량이 감소하는 경향을 보였다.

실험 II에서는 6주에 간 단위무게 1 g 당 간 중 중성지질과 총 콜레스테롤의 수준이 sham-casein 군보다 ovx-casein 군에서 유의적으로 증가하였고 난소절제군에 콩단백질

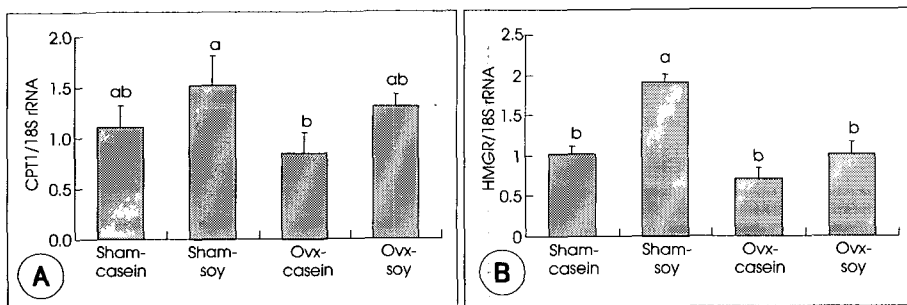
을 공급한 ovx-soy 군에서 지질 함량이 감소하는 경향을 보였으며 총 간 무게 당으로 표현했을 때도 비슷한 경향을 나타냈다. 그러나 12주에서는 난소절제가 간중 지질 함량을 유의적으로 증가시키기는 하였으나 식이에 의한 지질 함량 감소효과는 관찰되지 않았다.

혈중 지질과 마찬가지로 간 중 지질 함량 또한 실험 I과 II의 실험식이에 의해 영향을 받아, sham 군의 간 단위무게 당 중성지질은 실험 I의 경우가 실험 II에 비하여 65% 증가하였다. 총 콜레스테롤도 약 20배 정도 증가하여 식이 콜레스테롤에 의해 간 중 콜레스테롤 함량이 유의적으로 증가함을 볼 수 있었다.

난소절제 후 고콜레스테롤 식이를 공급한 경우 고콜레스테롤 식이로 인해 혈중 콜레스테롤이 증가하여 간에 콜레스테롤 축적이 매우 심하게 일어나며, 간 무게도 증가된 상태가 된다. 간 단위 무게 당 총 콜레스테롤과 중성지질이 난소절제에 의해 차이가 없다 할지라도 총 간 무게 당 총 콜레스테롤, 중성지질은 난소절제에 의해 증가하였다. 제니스테인 처리로 약간 콜레스테롤과 중성지질이 감소된 상태를 관찰하였다. 실험 II에서처럼 난소절제 후 콜레스테롤이 첨가되지 않은 고지방식이를 공급시킨 경우 혈중 중성지질이나 콜레스테롤은 실험 I의 OVX군의 65% 정도 수준이며 혈중 콜레스테롤의 경우 난소절제에 의해 유의적으로 증가됨을 관찰할 수 있었다. 이는 6주 간 중성지질, 콜레스테롤에도 반영되어 난소절제 군에서 간 중성지질이 51%, 콜레스테롤이 39% 유의적으로 증가되었고, 콩단백질에 의해서 그 수준이 감소됨을 알 수 있다. 12주에는 난소절제 효과는 관찰되나 콩단백질 효과는 관찰되지 않았다.



**Fig. 2.** The effect of ovariectomy and genistein on mRNA levels of CPT1 and HMGR in experiment I. Data are expressed as Mean ± S.E. Values with different alphabet are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.



**Fig. 3.** The effect of ovariectomy and soy protein on mRNA levels of CPT1 and HMGR in experiment II (12 weeks). Data are expressed as Mean ± S.E. Values with different alphabet are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.



Sohn 등<sup>44)</sup>은 햄스터에게 sham 수술과 난소절제수술을 시행하고 나서 65일 후에 두 군을 비교 관찰한 결과, 간 중 총 지질과 총 콜레스테롤은 군간에 차이 없었음을 보고한 바 있다. 그러나 Wang 등<sup>45)</sup>은 난소절제 랫드에서 sham 군에 비하여 간 조직의 총 콜레스테롤이 43%, 중성지질이 83% 증가함을 보여 ( $p < 0.05$ ), 실험동물 종간에 따라 또는 같은 랫드에서도 본 연구의 실험 I, II에서처럼 실험식이 조성에 따라 난소절제에 의한 간 조직의 지질 대사가 다를 것으로 여겨진다.

난소절제 혹은 폐경상태에서 고지방식을 섭취하게 되면 혈중 지질 특히, 콜레스테롤이 증가하며 이는 곧 간조직의 지질 함량을 증가시킬 것으로 예상된다. 즉 대사증후군의 위험인자가 군집해서 나타나며 지방간으로 진전될 수도 있음을 관찰할 수 있었다. 이 지방간은 이미 관찰된 인슐린저항성 악화와 관련될 것으로 고려된다.<sup>46)</sup>

### 5. 간 지질 대사 관련 CPT1과 HMGR mRNA 수준

난소절제와 실험식이에 의해 초래된 간지질 축적상태변화에 대한 기전을 규명하고자 간 지질대사의 대표적인 효소의 mRNA 수준을 관찰하였다. 즉 간의 지방산 산화를 조절하는 CPT1과 콜레스테롤 생합성을 조절하는 HMGR mRNA 수준을 real-time RT-PCR을 이용하여 측정하였다 (Fig. 2,

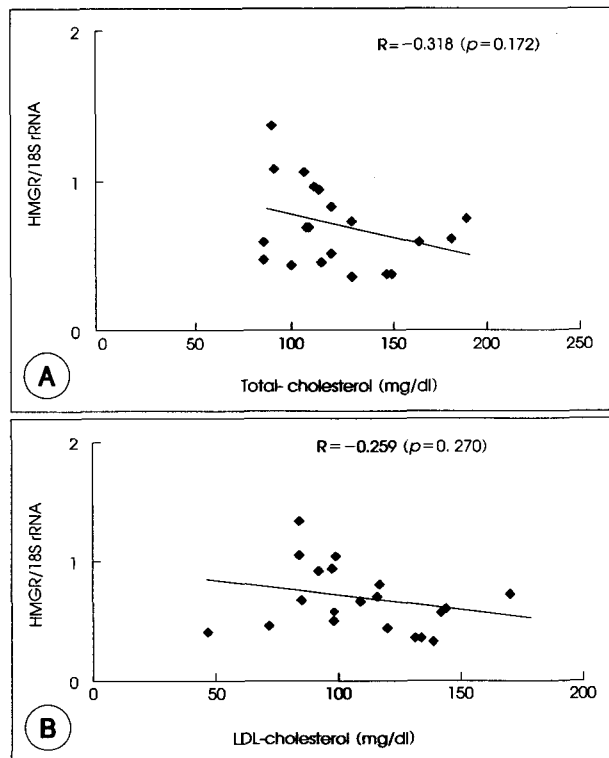


Fig. 4. Relationship between HMGR mRNA and plasma cholesterol levels in experiment I. Data are expressed as Pearson's correlation ( $p$  value).

3). 실험 I에서는 난소절제에 의해서 CPT1과 HMGR mRNA 수준이 유의적으로 감소하였다. 제니스테인의 효과는 난소 절제 상태에 따라 달라 S 군에서는 제니스테인의 첨가에 의해서 유의적으로 감소하였으나 OVX 군에서는 제니스테인의 첨가가 CPT1과 HMGR의 mRNA 발현 수준을 추가적으로 감소시키지는 않았다. S 군에서 제니스테인에 의해 CPT1의 mRNA 발현 수준이 감소한 것은 CPT1 발현이 에스트로겐이나 제니스테인에 의해 증가된다는 보고들<sup>47,48)</sup>과 본 연구에서 에스트로겐이 결핍된 난소절제군과 제니스테인을 투여한 난소절제군에서 모두 CPT1 mRNA 수준이 감소된 것으로 보아 제니스테인이 S 군에서는 오히려 에스트로겐 억제제로서 CPT1 mRNA를 감소시켰을 것으로 생각된다. 그러나 Grimbert 등<sup>49)</sup>은 에스트로겐에 의해 CPT1 활성이 감소된다고 하므로 에스트로겐이나 제니스테인이 지방산의 산화에 미치는 영향에 대해 좀더 직접적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

실험 II에서는 CPT1 mRNA 발현 수준이 sham 군과 ovx 군에 상관없이 식이콩단백질에 의해 증가하는 경향을 나타내어 콩단백질이 간에서 지방산 산화를 증가시킬 수 있는 가능성을 보였다.

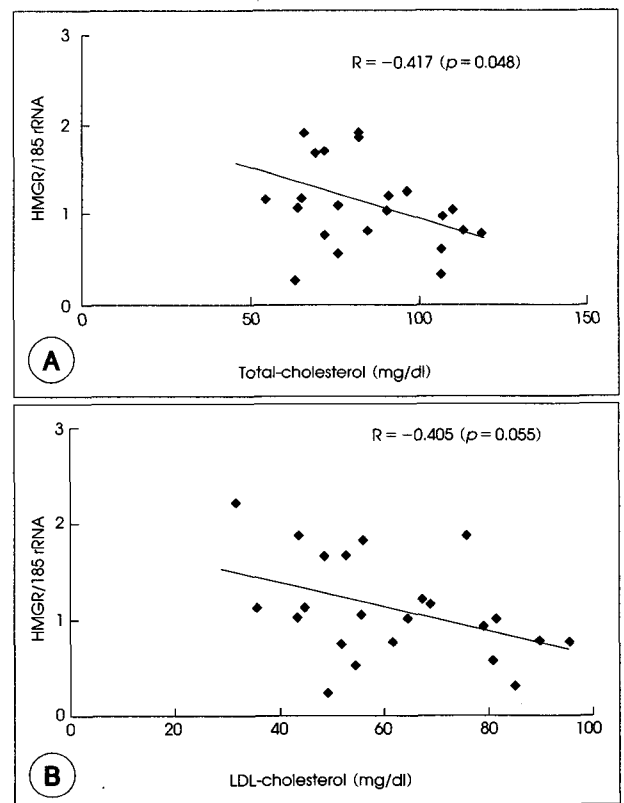


Fig. 5. Relationship between HMGR mRNA and plasma cholesterol levels in experiment II (12 weeks). Data are expressed as Pearson's correlation ( $p$  value).

HMGR의 경우 negative feedback 작용이 작동하여 HMGR의 최종 생성물인 콜레스테롤의 양이 많으면 활성이 저해될 것이나 카제인군에 비해 sham-soy 군에서는 콜레스테롤 양이 적어져 Ascencio 등<sup>20)</sup>의 연구처럼 HMGR의 mRNA 수준이 증가한 것으로 고려된다.<sup>18)</sup> HMGR mRNA 수준과 혈중 지질 수준과의 상관관계를 분석해보면 실험 I에서는 상관성을 보이지 않은 것에 비해 실험 II에서 혈중 총 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤과 음의 관계를 이룬 것은 (Fig. 4, 5) 콩단백질이 혈중 콜레스테롤 저하 효과를 지니며 이는 다시 간 HMGR mRNA에 대하여 상승작용을 일으키는 것으로 고려된다. 따라서 난소절제에 의한 혈중 콜레스테롤의 상승은 간의 HMGR mRNA를 저해할 수 있지만, 콩단백질의 혈중 콜레스테롤 저하 효과는 간의 HMGR mRNA를 상승시킨다고 고려된다.

## 요약 및 결론

난소절제 랫드에서 이소플라본과 콩단백질이 혈중과 간 지질 농도에 미치는 영향을 알아보고자, 실험 I에서는 Sprague Dawley계 암컷 쥐를 sham 수술 (n = 13)이나 난소절제수술 (n = 16)하고 3주 후 각 수술군을 두 군으로 나누어 이소플라본 중 활성이 강한 것으로 알려져 있는 제니스테인이 첨가되지 않은 고지방식이 (지방함량과 콜레스테롤이 각각 식이 중 18%, 1% 차지)나 제니스테인이 식이 중 0.1% 수준으로 첨가된 실험식을 4주 동안 제공하였다. 실험 II에서는 Sprague Dawley계 암컷 쥐를 두 군으로 나누어 sham 수술 (n = 25)과 난소절제수술 (n = 27)을 시행하고 3주 후에 각 수술군을 두 군으로 나누어 카제인식이나 이소플라본이 강화된 콩단백질 실험식을 제공하였다. 식이 공급 후 6주, 12주에 랫드를 희생하였다. 실험 I, II에서 체중증가량과 간, 지방조직의 무게, 혈중과 간 조직의 지질 함량을 측정하였고, 간 조직의 RNA를 추출하여 지방산 산화를 조절하는 CPT1과 콜레스테롤 생합성을 조절하는 HMGR의 mRNA 수준을 관찰하였다.

실험 I에서는 난소절제에 의해 체중, 식이섭취량, 지방조직의 무게가 증가하였으며, 간 중량이 증가하였다. 난소절제군에서 혈중 총 콜레스테롤이 증가하는 경향을 보였고, 총 간 중 콜레스테롤과 중성지질 함량이 증가하였으며, 간 조직의 CPT1과 HMGR mRNA의 발현수준이 유의적으로 감소하였다. 난소절제군에서 제니스테인 첨가식은 체중과 지방조직의 무게를 약간 감소시켰으나 혈중 지질 농도에는 영향을 미치지 못하였다. 난소절제군에서 제니스테인 첨가 식이는 간 1 g 단위무게 당 지질 농도는 변화시키지 못했으나,

총 간 중 콜레스테롤, 중성지질은 감소시켰다 (각각 14%, 17%). 제니스테인의 첨가는 S + G 군에는 CPT1과 HMGR mRNA의 발현수준을 유의적으로 감소시켰으나 OVX + G 군에서는 OVX 군과 유사하여 추가적 감소는 없었다.

실험 II에서도 난소절제에 의해 체중이 증가하였으나 콩단백질공급은 체중 감소 경향을 나타냈다. 식이공급 6주 후의 혈청 유리지방산과 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤이 난소절제에 의해서 유의적으로 증가하였으나 12주에는 난소절제에 의한 혈중 지질 수준변화는 없었으며 식이콩단백질 공급에 의해 혈중 총 콜레스테롤 외에 중성지질도 감소하였다. 난소절제는 간 중 지질 함량을 유의적으로 증가시켰고 간의 CPT1과 HMGR mRNA는 감소하는 경향을 보였다. 한편 콩단백질공급은 간 지질 함량을 감소시키는 경향이 있었다. 식이콩단백질에 의해서 CPT1 mRNA 발현 수준이 카제인 식이군에 비해 증가하는 경향을 나타냈고 HMGR의 경우 sham-soy 군에서 유의적으로 증가하였다.

폐경상태를 유발한 쥐에게 고지방식을 투여하면 체중이 증가하고 지방 조직의 무게가 증가하며 혈중 지질과 간 지질 함량이 증가하는 등 대사증후군 및 심혈관질환의 위험 인자가 관찰되지만 식이 중 카제인을 콩단백질로 대체시키면 혈중 지질 및 간 조직의 지질 수준이 개선되고 간의 CPT1과 HMGR의 mRNA를 증가시키는 것으로 나타났다. 그러나 제니스테인만 첨가하면 혈중 지질을 크게 개선시키지 못하여 혈중지질 및 간지질 개선 효과는 콩단백에 든 이소플라본 외의 다른 성분에 의하거나 과도한 콜레스테롤이 포함된 식이로 인해 제니스테인의 혈중지질 감소효과를 관찰하지 못한 것으로 고려된다. 따라서 폐경기 여성에게서 콜레스테롤 농도를 저하시키고 궁극적으로 심혈관질환을 예방하려면 제니스테인 만을 보충하는 것보다는 콩단백이나 제니스테인 강화 콩단백질을 섭취하여야 그 효과가 클 것으로 고려된다.

## Literature cited

- 1) Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37(12): 1595-1607, 1988
- 2) Isomaa B. A major health hazard: the metabolic syndrome. *Life Sci* 73(19): 2395-2411, 2003
- 3) Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 288: 2709-2716, 2002
- 4) Song J, Kim E, Shin C, Kim SS, Lee HK, Jung M, Jung SC, Jo SA, Jo I. Prevalence of the metabolic syndrome among South Korean adults: the Ansan study. *Diabet Med* 21(10): 1154-1155

- 2004
- 5) Carr MC. The Emergence of the Metabolic Syndrome with Menopause. *J Clin Endocrinology Metabolism* 88 (6) : 2404-2411, 2003
  - 6) Gordon T, Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM. Menopause and coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 89 (2) : 157-161, 1978
  - 7) Abbey M, Owen A, Suzakawa M, Roach P, Nestel PJ. Effects of menopause and hormone replacement therapy on plasma lipids, lipoproteins and LDL-receptor activity. *Maturitas* 33 (3) : 259-269, 1999
  - 8) Kannel WB, Levy D. Menopause, hormones, and cardiovascular vulnerability in women. *Arch Intern Med* 164 (5) : 479-481, 2004
  - 9) Cauley JA, Cummings SR, Black DM, Mascioli SR, Seeley DG. Prevalence and determinants of estrogen replacement therapy in elderly women. *Am J Obstet Gynecol* 163 (5 Pt 1) : 1438-1444, 1990
  - 10) Nabulsi AA, Folsom AR, White A, Patsch W, Heiss G, Wu KK, Szklo M. Association of hormone-replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. *Engl J Med* 328 (15) : 1069-1075, 1993
  - 11) Davis SR, Dalais FS, Simpson ER, Murkies AL. Phytoestrogens in health and disease. *Recent Prog Horm Res* 54: 185-210, 1999
  - 12) Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 139 (10) : 4252-4263, 1998
  - 13) Zhan S, Ho SC. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile. *Am J Clin Nutr* 81 (2) : 397-408, 2005
  - 14) Yeung J, Yu TF. Effects of isoflavones (soy phyto-estrogens) on serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr J* 2 (1) : 15-22, 2003
  - 15) Weggemans RM, Trautwein EA. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 57 (8) : 940-946, 2003
  - 16) Zhuo XG, Melby MK, Watanabe S. Soy isoflavone intake lowers serum LDL cholesterol: a meta-analysis of 8 randomized controlled trials in humans. *Nutr* 134 (9) : 2395-2400, 2004
  - 17) Belleville J. Hypocholesterolemic effect of soy protein. *Nutrition* 18 (7-8) : 684-686, 2002
  - 18) Panda T, Devi VA. Regulation and degradation of HMGCo-A reductase. *Appl Microbiol Biotechnol* 66 (2) : 143-52, 2004
  - 19) Vidon C, Boucher P, Cachefo A, Peroni O, Diraison F, Beylot M. Effects of isoenergetic high-carbohydrate compared with high-fat diets on human cholesterol synthesis and expression of key regulatory genes of cholesterol metabolism. *Am J Clin Nutr* 73 (5) : 878-84, 2001
  - 20) Ascencio C, Torres N, Isoard-Acosta F, Gomez-Perez FJ, Hernandez-Pando R, Tovar AR. Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats. *J Nutr* 134 (3) : 522-529, 2004
  - 21) Day CP, James OF. Hepatic steatosis: innocent bystander or guilty party? *Hepatology* 27 (6) : 1463-1466, 1998
  - 22) Brea A, Mosquera D, Martin E, Arizti A, Cordero JL, Ros E. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Associated With Carotid Atherosclerosis. A Case-Control Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* Feb 24, 2005
  - 23) Bonnefont JP, Djouadi F, Prip-Buus C, Gobin S, Munnich A, Bastin J. Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. *Mol Aspects Med* 25 (5-6) : 495-520, 2004
  - 24) Chakrabarti R, Vikramadithyan RK, Misra P, Hiriyani J, Raichur S, Damarla RK, Gershome C, Suresh J, Rajagopalan R. Ragaglitazar: a novel PPAR alpha PPAR gamma agonist with potent lipid-lowering and insulin-sensitizing efficacy in animal models. *Br J Pharmacol* 140 (3) : 527-537, 2003
  - 25) Karlic H, Lohninger A, Laschan C, Lapin A, Bohmer F, Huemer M, Guthann E, Rappold E, Pfeilstocker M. Downregulation of carnitine acyltransferases and organic cation transporter OCTN2 in mononuclear cells in healthy elderly and patients with myelodysplastic syndromes. *J Mol Med* 81 (7) : 435-442, 2003
  - 26) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18 (6) : 499-502, 1972
  - 27) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 (8) : 911-917, 1959
  - 28) Lee YM, Jung MH, Lee YS, Song JH. Effect of Ovariectomy and Genistein on Hepatic Mitochondrial Function. *Korean J Nutrition* 37 (9) : 786-793, 2004
  - 29) Meli R, Pacilio M, Raso GM, Esposito E, Coppola A, Nasti A, Di Carlo C, Nappi C, Di Carlo R. Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology* 145 (7) : 3115-3121, 2004
  - 30) Lemieux C, Picard F, Labrie F, Richard D, Deshaies Y. The estrogen antagonist EM-652 and dehydroepiandrosterone prevent diet- and ovariectomy-induced obesity. *Obes Res* 11 (3) : 477-490, 2003
  - 31) McElroy JF, Wade GN. Short- and long-term effects of ovariectomy on food intake, body weight, carcass composition, and brown adipose tissue in rats. *Physiol Behav* 39: 361-365, 1987
  - 32) Tovar AR, Murguía F, Cruz C, Hernandez-Pando R, Aguilar-Salinas CA, Pedraza-Chaverri J, Correa-Rotter R, Torres N. A soy protein diet alters hepatic lipid metabolism gene expression and reduces serum lipids and renal fibrogenic cytokines in rats with chronic nephrotic syndrome. *J Nutr* 132 (9) : 2562-2569, 2002
  - 33) Demonty I, Lamarche B, Deshaies Y, Jacques H. Role of soy isoflavones in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. *J Nutr Biochem* 13 (11) : 671-677, 2002
  - 34) Okazaki K, Okazaki S, Nakamura H, Kitamura Y, Hatayama K, Wakabayashi S, Tsuda T, Katsumata T, Nishikawa A, Hirose M. A repeated 28-day oral dose toxicity study of genistein in rats, based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening endocrine-disrupting chemicals. *Arch Toxicol* 76 (10) : 553-559, 2002
  - 35) Kyselova V, Peknicova J, Boubelik M, Buckiova D. Body and organ weight, sperm acrosomal status and reproduction after genistein and diethylstilbestrol treatment of CD1 mice in a multigenerational study. *Theriogenology* 61 (7-8) : 1307-1325, 2004
  - 36) Ohno S, Nakajima Y, Inoue K, Nakazawa H, Nakajin S. Genistein

- administration decreases serum corticosterone and testosterone levels in rats. *Life Sci* 74 (6) : 733-742, 2003
- 37) Peluso MR, Winters TA, Shanahan MF, Banz WJ. A cooperative interaction between soy protein and its isoflavone-enriched fraction lowers hepatic lipids in male obese Zucker rats and reduces blood platelet sensitivity in male Sprague-Dawley rats. *J Nutr* 130 (9) : 2333-2342, 2000
- 38) Aoyama T, Fukui K, Takamatsu K, Hashimoto Y, Yamamoto T. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition* 16: 349-354, 2000
- 39) Bhathena SJ, Velasquez MT. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr* 76 (6) : 1191-1201, 2002
- 40) Fukami K, Koike K, Hirota K, Yoshikawa H, Miyake A. Perimenopausal changes in serum lipids and lipoproteins: a 7-year longitudinal study. *Maturitas* 22 (3) : 193-197, 1995
- 41) Bruschi F, Meschia M, Soma M, Perotti D, Paoletti R, Crosignani PG. Lipoprotein (a) and other lipids after oophorectomy and estrogen replacement therapy. *Obstet Gynecol* 88 (6) : 950-954, 1996
- 42) Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 333 (5) : 276-282, 1995
- 43) Demonty I, Lamarche B, Jones PJ. Role of isoflavones in the hypocholesterolemic effect of soy. *Nutr Rev* 61 (6 Pt 1) : 189-203, 2003
- 44) Sohn E, Daggy BP, Arjmandi BH. Ovariectomized hamster: A potential model of postmenopausal hypercholesterolemia. *J Nutr Biochem* 10 (11) : 660-663, 1999
- 45) Wang JF, Guo YX, Niu JZ, Liu J, Wang LQ, Li PH. Effects of Radix Puerariae flavones on liver lipid metabolism in ovariectomized rats. *World J Gastroenterol* 10 (13) : 1967-1970, 2004
- 46) Song JH, Lee YM, Choi JS, Jung MH, Lee YS. Effect of genistein on glucose metabolism in ovariectomized rats. 2004 Experimental Biology meeting abstracts. *The FASEB Journal*, 18, abstracts#361.5
- 47) Kim S, Shin HJ, Kim SY, Kim JH, Lee YS, Kim DH, Lee MO. Genistein enhances expression of genes involved in fatty acid catabolism through activation of PPARalpha. *Mol Cell Endocrinol* 31;220 (1-2) : 51-58, 2004
- 48) Campbell SE, Mehan KA, Tunstall RJ, Febbraio MA, Cameron-Smith D. 17beta-estradiol upregulates the expression of peroxisome proliferator-activated receptor alpha and lipid oxidative genes in skeletal muscle. *J Mol Endocrinol* 31 (1) : 37-45, 2003
- 49) Grimbert S, Fisch C, Deschamps D, Berson A, Fromenty B, Feldmann G, Pessayre D. Effects of female sex hormones on mitochondria: possible role in acute fatty liver of pregnancy. *Am J Physiol* 268 (1 Pt 1) : G107-115, 1995