韓國營養學會誌 2007; 40(8): 693~700

# 고지방식이를 섭취하는 흰 쥐에서 제니스테인 보충이 지방간 및 지질대사에 미치는 영향*

이선혜 · 김미현 · 박미나 · 이연숙§

서울대학교 식품영양학과, 생활과학연구소

# Effects of Genistein Supplementation on Fatty Liver and Lipid Metabolism in Rats Fed High Fat Diet*

**Lee, Seon-Hye · Kim, Mi Hyun · Park, Mi-Na · Lee, Yeon-Sook§**

*Department of Food and Nutrition, Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*

## ABSTRACT

This study was performed to investigate the effects of genistein, a kind of soy isoflavones, on fatty liver and lipid metabolism in rats fed high fat diet. Twenty four male Sprague-Dawley rats were divided into four groups by dietary fat and genistein contents then raised for six weeks. The rats (n = 6 / group) were fed normal fat diet (NOR), high fat diet (HF), high fat with 0.1% genistein (HF + 0.1%G) or high fat with 0.2% genistein (HF + 0.2%G). Hepatic total lipid, triglyceride, total cholesterol and Serum GPT, as a marker for fatty liver, were significantly increased by high fat diet. Also, serum total lipid, triglyceride, total cholesterol, glucose and insulin concentration, hepatic lipogenic enzyme (fatty acid synthase and malic enzyme) activities were significantly increased by high fat diet. However, hepatic total lipid, triglyceride, total cholesterol and Serum GPT were significantly decreased by genistein intake. Also, genistein supplementation decreased serum total lipid, triglyceride, glucose and insulin concentration, hepatic lipogenic enzyme (fatty acid synthase and malic enzyme) activities. There were no differences by genistein level except for serum insulin. These results suggest that fatty liver induced by high fat diet was caused by increased serum lipid profiles and hepatic lipogenesis, whereas, genistein may be useful in inhibiting of fatty liver by reducing serum lipid profiles and hepatic lipogenesis. (*Korean J Nutr* 2007; 40(8): 693~700)

**KEY WORDS**: fatty liver, isoflavone, genistein, lipid profile, lipogenic enzyme.

## 서 론

2005년 통계청에서 발표한 '사망원인통계연보'에 따르면 우리나라 성인 남성의 만성 질환으로 인한 사망률 중에서 간 질환에 의한 사망률이 27.5%로 보고되어,[1] 지방간 예방을 위한 영양적 대책 및 실험 연구의 필요성이 강조되고 있다.

지방간이란 간 총 무게의 5% 이상의 중성지방이 간 실질세포 내에 축적되어 있는 상태로 간의 무게가 증가하면서 비대해지고 혈청 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase)가 증가하는 특성을 보이며,[2] 장기간 방치 시 간염, 간 섬유, 간 경변 등의 심각한 간 질환으로 이행될 수 있다.

지방간의 원인은 알코올의 과다한 섭취로 인하여 발생되는 알코올성 지방간을 제외하면 고열량과 고지방식이, 단순당의 섭취와 관련된 영양 불균형을 들 수 있다. 특히 고열량 또는 고지방식이의 지속적인 섭취는 간에서의 지방합성과 분해 사이의 지질대사 장애를 초래하여 지방간을 유발한다.[3] 동물 실험 연구에 따르면 고지방식이를 섭취한 흰 쥐에서 간 조직의 지질 함량과 체중 당 간의 무게, 혈청 GOT와 GPT가 증가하여 지방간의 특성을 나타냈으며, 혈중 지질 성분과 포도당, 인슐린의 농도가 높게 나타났다.[4] 역학 연구 결과 지방간 환자들은 정상인보다 체중과다 이거나 비만인 경우가 많았으며, 동물성 지방의 섭취가 높은 것으로 나타났다.[5] 또한 성인 남녀를 대상으로 실시

접수일 : 2007년 11월 20일
채택일 : 2007년 12월 17일
*This research was supported in part by grants from Brain Korea 21.
§To whom correspondence should be addressed.
E-mail : lysook@snu.ac.kr

© 2007 The Korean Nutrition Society

된 인체 연구에서 초음파 조영술을 이용해 간 지방 밀도를 측정한 결과 혈청 포도당과 중성지방, GPT가 간 지방밀도와 양의 상관관계를 나타내었다.[6] 따라서 지속적인 고지방식이의 섭취는 지질 대사의 장애를 일으키고 비만, 고지혈증 등의 대사질환과 인슐린 저항성을 야기함으로서 지방간 유발의 위험요인으로 작용하는 것으로 여겨진다.

이소플라본 (isoflavone)은 대두에서 유래된 플라보노이드 (flavonoid)계 물질로 여성호르몬인 에스트로겐과 비슷한 구조와 활성을 나타내어 식물성 에스트로겐이라고도 불리어진다. 여러 선행연구에서 이소플라본은 지질대사와 관련되는 단백질의 발현을 조절하여 지질의 합성과 분해에 관여하고,[7,8] 비만과 고지혈증을 예방하며 인슐린 저항성의 감소 작용을 나타내는 생리활성 물질로 보고되어 있다.[9]

이러한 이소플라본의 작용은 지방간의 예방과 치료에도 영향을 미칠 것으로 기대할 수 있으나 현재까지 이소플라본이 지방간에 미치는 영향에 대한 연구는 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 고지방식이를 섭취하는 흰 쥐를 이용하여 대두 이소플라본의 일종인 제니스테인 (genistein)의 섭취가 지질대사를 개선하고 비만, 고지혈증, 혈중 인슐린의 농도 등을 감소시킴으로서 지방간을 억제하는 효과를 검토하고자 하였다.

## 연구방법

### 실험 설계 및 식이

4 주령 수컷 흰 쥐 (Sprague-Dawley rat) 24마리를 오리엔트바이오사 (오리엔트바이오 주식회사, 경기도 성남)로부터 구입하여, 서울대학교 실험동물자원관리원 사육장에서 사육하였다. 실험동물의 구입과 사육의 전 과정은 서울대학교 실험동물자원관리원의 규정에 따라 실행되었다.

실험동물은 1주 동안 고형사료로 적응시킨 후 체중에 따라 완전임의 배치법으로 각 군당 6마리씩 배치하여 정상지방군 (NOR), 고지방군 (HF), 고지방과 0.1%제니스테인 첨가군 (HF + 0.1%G), 고지방과 0.2% 제니스테인 첨가군 (HF + 0.2%G)으로 나누었다.

실험 식이의 조성은 AIN-93M을 기본으로 하였으며, 식이 중 지방과 제니스테인의 함량에 따라 4가지 종류의 식이로 제조하여 6주간 공급하였다 (Table 1). 지방의 급원으로는 우지 (beef-tallow, 롯데삼강 주식회사, 서울)를 이용하였고 이소플라본으로는 대두에서 추출된 순도 90% 이상의 제니스테인 (태평양 주식회사, 서울)을 이용하였다. 선행연구[15]에서 고지방식이를 섭취하는 실험동물에서 지질대사의 개선 효과를 보인 제니스테인 섭취량을 참고하여 본 연구의 제니스테인 섭취량을 0.1%와 0.2%로 선정하였다.

실험 식이와 식수는 완전 자유급식 (ad libitum)으로 급여하였다. 사육 환경은 온도 20 ± 2℃, 상대 습도 65 ± 5%, 12시간 명암 주기 (7 : 00–19 : 00)로 일정하게 조절하였다. 실험기간 동안 체중과 식이 섭취량은 일주일에 2회 일정한 시간에 측정하였다.

### 시료수집

사육기간이 종료된 실험동물에서 시료를 수집하기 전 12

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

| Ingredients[1] | NOR[2] | HF | HF + 0.1%G | HF + 0.2%G |
|---|---|---|---|---|
| Corn starch | 590.692 | 470.692 | 469.692 | 468.692 |
| Casein | 140 | 140 | 140 | 140 |
| Sucrose | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Beef tallow | 70 | 180 | 180 | 180 |
| Cholesterol | – | 10 | 10 | 10 |
| Fiber (cellulose) | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Mineral mix[3] | 35 | 35 | 35 | 35 |
| Vitamin mix[4] | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Methionine | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 1.8 |
| Choline bitartrate | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| TBHQ[5] | 0.008 | 0.008 | 0.008 | 0.008 |
| Genistein | – | – | 1 | 2 |
| Gross energy (kcal) | 3953 | 4463 | 4459 | 4455 |
| kcal fat (%) | 15 | 36 | 36 | 36 |

1) AIN-93M
2) NOR: Normal fat diet (n = 6), HF: High fat diet (n = 6), HF + 0.1%G, High fat diet with 0.1% genistein (n = 6), HF + 0.2%G, High fat diet with 0.2% genistein (n = 6)
3) AIN-93M mineral mix
4) AIN-93M vitamin mix

시간 이상 절식 (overnight fasting) 시킨 후 에테르 (ether)로 마취시킨 후 경동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 4℃, 3,000 rpm에서 20분 간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 분석 시까지 −80℃에서 냉동 보관하였다. 혈액 채취 후 곧바로 간을 적출하여 생리 식염수로 세척하고 여과지를 이용하여 물기를 제거한 후 중량을 측정하였다. 중량을 측정한 간은 액체 질소에 넣어 동결시킨 뒤 분석 시까지 −80℃에서 냉동 보관하였다.

## 생화학적 분석

### 혈청과 간 조직의 지질 분석

혈청 총 지질 농도는 Frings and Dunn의 방법[10]을 이용하여 spectrophotometer (DU-530, USA)로 540 nm에서 측정하였다. 혈청 중성지방과 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤은 효소시약 kit (아산제약, 서울)을 이용하여 spectrophotometer (DU-530, USA)로 500 nm에서 측정하였다.

간의 총 지질 함량은 Folch[11]법을 이용하여 분석하였다. 간의 중성지방과 총 콜레스테롤은 간의 총 지질을 isopropanol로 용해시킨 후 효소시약 kit (아산제약, 서울)를 이용하여 spectrophotometer (DU-530, USA)로 각각 550 nm와 500 nm에서 비색 정량하였다.

### 간 기능 관련 효소 분석

혈청 GOT와 GPT는 Reitman-Frankle법을 이용한 효소시약 kit (아산제약, 서울)로 spectrophotometer (DU-530, USA)를 사용하여 505 nm에서 비색 정량하였다.

### 혈청 포도당과 인슐린 측정

혈청 포도당은 혈액 자동 분석기 (Spotchem, KDK Co, Japan)로 측정하였고, 혈청 인슐린 농도는 ELISA kit (Mercordia, Sweden)를 이용하여 microplate reader (model 680, Bio-Rad)로 450 nm에서 측정하였다.

### 지방 합성 관련 효소의 활성 분석

간에서 지방 합성 관련 효소의 활성을 분석하기 위해 세포질 분획을 분리하여 세포질 분획의 단백질을 정량하였다. 간의 생 조직 1 g을 취하여 homogenization용 튜브에 넣고 homogenizing buffer (50 mM Tris-HCl, 154 mM KCl, 1 mM EDTA, pH 7.4, 4℃) 10 ml을 첨가한 후 일정한 속도로 균질화하였다. 균질화 한 것을 4℃, 3,000 g에서 20분 동안 원심 분리하여 얻은 상층액을 다시 4℃, 105,000 g에서 60분 동안 원심 분리하여 세포질 분획을 얻었다. 세포질 분획의 단백질 정량은 Lowry법을 이용한 protein quantification kit (Dojindo Co., Japan)를 사용하여 microplate reader (model 680, Bio-Rad)로 600 nm에서 측정하였다.

Fatty acid synthase (FAS)의 활성은 Linn의 방법[12]을 이용하여 간 세포질 분획에서 측정하였다. 1.5 ml cuvette에 90 mM potassium phosphate (pH 7.0), 0.18 mM EDTA, 0.1 mM acetyl-CoA, 0.2 mM NADPH를 넣은 후, 0.2 mM malonyl-CoA와 세포질 분획을 첨가하여 반응시켰다. Spectrophotometer (DU-530, USA)를 이용하여 340 nm, 25℃에서 단백질 1 mg 당 1분 동안 NADPH가 산화되는 정도를 측정하여 FAS의 활성을 계산하였다.

Malic enzyme (ME)의 활성은 Geer의 방법[13]을 이용하여 간 세포질 분획에서 측정하였다. 1.5 ml cuvette에 100 mM triethanolamine HCL buffer (pH 7.4), 100 mM L-malic acid solution, 20 mM $\beta$-NADP, 20 mM $Mncl_2$를 넣고 잘 섞은 후, 세포질 분획을 첨가하여 반응시켰다. Spectrophotometer (DU-530, USA)를 이용하여 340 nm, 25℃에서 단백질 1 mg 당 1분 동안 생성된 $\beta$-NADPH의 정도를 측정하여 ME의 활성을 계산하였다.

## 통계 분석

실험의 결과 측정치는 SAS program (SAS 9.1 version)을 이용하여 분석하였고, 평균과 표준오차 (mean ± SE)로 나타내었다. 실험군 간의 유의성은 ANOVA로 분석하고 Duncan's multiple range test를 이용하여 $\alpha$ = 0.05 수준에서 검정하였다.

# 결 과

## 체중과 식이 섭취량

실험동물의 체중 변화량과 식이 섭취량을 Table 2에 제시하였다. 최종 체중과 체중 증가량은 고지방식이를 섭취한 HF군에서 높은 경향을 보였으나 실험군 사이에 통계적 유의성은 인정되지 않았다. 제니스테인의 섭취에 의한 체중 감소 효과는 나타나지 않았다. 식이 섭취량은 NOR군에 비해 HF군에서 유의적으로 감소하였으나 ($p < 0.05$), 제니스테인은 식이 섭취량에 영향을 주지 않았다.

## 간 무게 및 간 기능 관련 효소

간의 무게 및 혈청 GOT, GPT를 Table 3에 제시하였다. 간의 무게는 NOR군에 비해 HF군에서 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 고지방식이의 섭취에 따라 간의 무게가 유의적으로 증가하여 지방간의 특성이 나타났고 제니스테인의 섭취에 따라 감소되는 경향을 보였지만 유의적인 차

**Table 2.** Effect of genistein supplementation on body weight and food intake in rats fed high fat diet

| Groups | Initial weight (g) | Final weight (g) | Weight gain (g/day) | Food intake (g/day) |
|---|---|---|---|---|
| NOR | 152.9 ± 2.6[1)NS2)] | 420.5 ± 10.8[NS] | 6.4 ± 0.2[NS] | 23.1 ± 1.1[a3)] |
| HF | 153.1 ± 2.3 | 429.7 ± 12.1 | 6.6 ± 0.3 | 19.0 ± 0.9[b] |
| HF + 0.1%G | 153.3 ± 1.6 | 425.3 ± 14.7 | 6.5 ± 0.3 | 18.9 ± 0.5[b] |
| HF + 0.2%G | 153.3 ± 1.6 | 419.3 ± 9.8 | 6.3 ± 0.2 | 18.4 ± 1.1[b] |

1) Values are mean ± SE of 6 rats per group
2) NS: not significantly different among groups
3) Values with different superscript within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

**Table 3.** Effect of genistein supplementation on liver weight and Serum GOT, GPT in rats fed high fat diet

| Groups | Liver (g) | Liver (g/100 g B.W) | GOT (IU) | GPT (IU) |
|---|---|---|---|---|
| NOR | 13.2 ± 0.7[1)b3)] | 3.14 ± 0.09[b] | 39.5 ± 4.1[NS2)] | 21.7 ± 2.5[b] |
| HF | 18.2 ± 0.8[a] | 4.33 ± 0.15[a] | 43.2 ± 5.3 | 39.2 ± 4.4[a] |
| HF + 0.1%G | 17.6 ± 0.6[a] | 4.09 ± 0.04[a] | 38.2 ± 2.5 | 25.5 ± 4.0[b] |
| HF + 0.2%G | 17.5 ± 0.9[a] | 4.09 ± 0.28[a] | 36.8 ± 2.7 | 23.3 ± 4.5[b] |

1) Values are mean ± SE of 6 rats per group
2) NS: not significantly different among groups
3) Values with different superscript within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

**Table 4.** Effect of genistein supplementation on hepatic lipid in rats fed high fat diet (mg/g, wet weight)

| Groups | Total lipid | Triglyceride | Total cholesterol |
|---|---|---|---|
| NOR | 31.1 ± 2.8[1)c2)] | 4.6 ± 0.1[b] | 1.3 ± 0.1[c] |
| HF | 51.1 ± 1.6[a] | 8.9 ± 0.5[a] | 5.3 ± 0.4[a] |
| HF + 0.1%G | 38.5 ± 1.2[b] | 6.6 ± 0.3[b] | 4.1 ± 0.5[b] |
| HF + 0.2%G | 38.2 ± 2.2[b] | 5.2 ± 0.3[b] | 3.6 ± 0.3[b] |

1) Values are mean ±SE of 6 rats per group
2) Values with different superscript within a column are significantly different at $p < 0.05$ y Duncan's multiple range test

**Table 5.** Effect of genistein supplementation on serum lipid profile in rats fed high fat diet (mg/dl)

| Groups | Total lipid | Triglyceride | Total cholesterol | HDL- cholesterol |
|---|---|---|---|---|
| NOR | 296.8 ± 15.4[1)c2)] | 69.3 ± 2.8[b] | 67.1 ± 5.9[b] | 51.9 ± 5.2[a] |
| HF | 484.1 ± 33.0[a] | 89.1 ± 6.4[a] | 113.3 ± 16.2[a] | 27.7 ± 2.7[b] |
| HF + 0.1%G | 405.1 ± 16.3[b] | 60.7 ± 2.8[b] | 102.9 ± 7.3[a] | 29.1 ± 3.7[b] |
| HF + 0.2%G | 379.3 ± 23.3[b] | 57.2 ± 2.7[b] | 94.5 ± 4.6[ab] | 24.4 ± 1.5[b] |

1) Values are mean ± SE of 6 rats per group
2) Values with different superscript within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

이는 없었다. 혈청 GPT는 NOR군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으나 ($p < 0.05$) 제니스테인의 섭취로 유의적으로 낮아졌다. 그러나 혈청 GOT는 실험군 간에 차이가 나타나지 않았다.

## 간 조직 중 지질 함량

간 조직 중 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤의 함량을 Table 4에 제시하였다. 지속적인 고지방식이의 섭취로 간의 지질 함량이 유의적으로 높아져 ($p < 0.05$) NOR군에 비해 HF군에서 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤의 함량이 각각 64%, 93%, 308% 증가되었다. 그러나 제니스테인의 섭취에 따라 낮아져 HF군에 비해 HF + 0.1%G군과 HF + 0.2%G군에서 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤의 함량이 유의적으로 감소되었다 ($p < 0.05$).

## 혈청의 지질 함량

혈청에서 측정한 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤의 함량을 Table 5에 제시하였다. 혈청의 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤의 함량은 고지방식이의 섭취로 유의적으로 증가되어 ($p < 0.05$) NOR군에 비해 HF군에서 각각 63%, 29%, 69% 증가되었다. 그러나 총 지질, 중성지방이 제니스테인의 섭취로 유의적으로 감소되었으며 ($p < 0.05$), 총 콜레스테롤의 함량도 제니스테인의 섭취함에 따라 감소되는 경향이 나타났다. HDL-cholesterol

은 NOR군에 비해 HF군에서 유의적으로 감소되었으나 ($p < 0.05$) 제니스테인의 섭취에 따른 효과는 나타나지 않았다.

### 혈당 및 인슐린 농도

혈청에서 측정한 포도당과 인슐린의 농도를 Table 6에 제시하였다. 혈청 포도당은 NOR군에 비해 HF군에서 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 그러나 HF군에 비해 HF + 0.1%G군과 HF + 0.2%G군에서 유의적으로 낮아 ($p < 0.05$) 제니스테인의 섭취에 의한 혈당 감소 효과를 보였다. 인슐린의 농도는 HF군에서 NOR군에 비해 유의적으로 증가되었지만 ($p < 0.05$) 제니스테인을 섭취한 HF + 0.2%G군에서 유의적으로 감소되었다.

### 지방합성 관련효소의 활성

간 세포질 분획에서 측정한 FAS와 ME의 활성을 Fig. 1에 제시하였다. FAS의 활성은 고지방식이의 섭취로 높아져 NOR군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었다 ($p < 0.05$). 그러나 제니스테인을 섭취한 HF + 0.1%G군과 HF + 0.2%G군은 NOR군과 비슷한 수준으로 FAS의 활성이 낮아졌다. ME의 활성도 고지방식이의 섭취에 의해 높아져 NOR군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었다 ($p < 0.05$). 그러나 HF + 0.1%G군과 HF + 0.2%G군은 HF군에 비해 ME의 활성이 유의적으로 낮아져 ($p < 0.05$) 제니스테인의 섭취에 의한 감소 효과를 보였다.

**Table 6.** Effect of genistein supplementation on serum glucose and insulin in rats fed high fat diet

| Groups | Glucose (mg/dl) | Insulin ($\mu$g/L) |
|---|---|---|
| NOR | 129.8 ± 4.5[1)b3)] | 0.51 ± 0.04[b2)] |
| HF | 176.3 ± 8.3[a] | 0.88 ± 0.05[a] |
| HF + 0.1%G | 142.3 ± 7.3[b] | 0.67 ± 0.13[ab] |
| HF + 0.2%G | 141.8 ± 10.8[b] | 0.53 ± 0.10[b] |

1) Values are mean ± SE of 6 rats per group
2) NS: not significantly different among groups
3) Values with different superscript within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

## 고 찰

본 연구에서 제니스테인의 섭취는 체중 증가량과 식이 섭취량에 영향을 주지 않았다. 선행 연구에 따르면 고지방식이를 섭취하는 실험동물에서 12주간의 제니스테인 (식이 중 0.2%)의 섭취로 체중 증가량이 유의적으로 억제되었다.[14,15] 그러나 본 연구에서는 체중 증가량이 제니스테인의 섭취에 의해 감소하는 경향은 보였지만 유의적인 효과는 나타나지 않았다. 이는 제니스테인의 섭취로 인한 체중의 증가 억제 효과가 실험동물의 종류와 기간, 섭취 용량 등에 따라 상이하게 나타나며, 열량의 소모 없이 제니스테인의 섭취만으로 유의적인 체중의 증가 억제효과가 나타나기에는 본 연구의 실험기간이 다소 짧았던 것으로 사료된다. 여러 연구에서 이소플라본의 섭취가 식이 섭취량을 억제한다는 연구 결과[16,17]와 무관하다는 연구 결과들[15,18,19]이 보고되어있다. 식이 섭취량은 본 연구결과 제니스테인의 섭취에 의해 변화되지 않았고, 아직까지 이소플라본의 섭취와 식이 섭취량의 관계는 명확하게 밝혀지지 않아 정확한 기전을 규명하기 위해 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다. 한편 본 연구에서 고지방식이의 섭취로 식이 섭취량이 유의적으로 감소하였는데, 이는 식이 지방이 소화관 내에서 포만감을 느끼게 하고 특유의 향미로 인해 식이 섭취량이 감소될 수 있으며, 동물은 스스로 에너지 섭취량을 조절할 수 있는 능력을 갖고 있으므로 식이 중 지방의 함량이 높으면 식이 섭취량이 감소될 수 있다고 설명되고 있다.[4]

지방간에서는 간 세포질 내 지방이 축적되면서 간의 무게가 증가하고 비대해지며 혈청 GOT, GPT 등의 간 기능 관련 효소가 증가한다.[2] GOT와 GPT는 아미노기 전이효

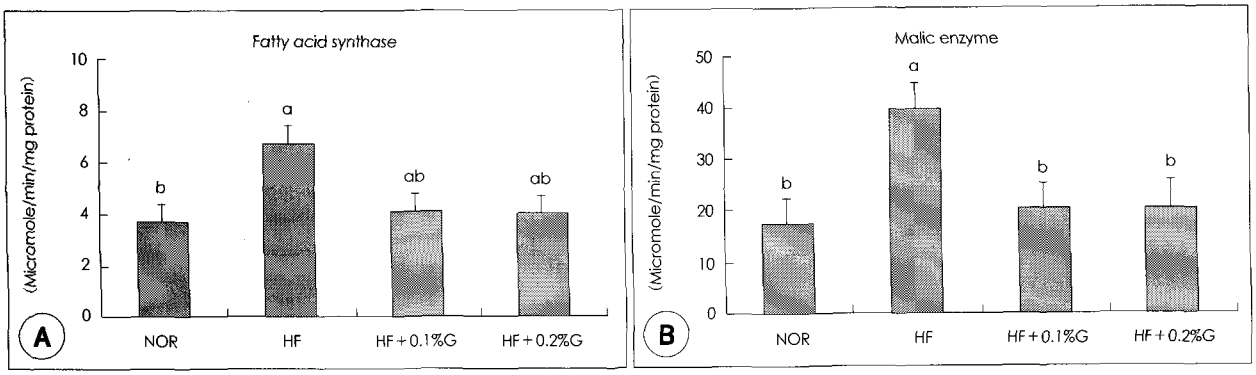


**Fig. 1.** Effect of genistein supplementation on hepatic (A) fatty acid synthase and (B) malic enzyme activities in rats fed high fat diet. Data are expressed as mean±SE of 6 rats per group. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

소 (amino transferase)의 일종으로 지방간, 간염 등의 간 질환의 판정에 지표로 이용된다. GOT는 간 조직과 심장근육 등에 존재하고 이들 장기가 손상되었을 때 상승한다. GPT는 간 세포질에 존재하고 GOT와 마찬가지로 간세포가 손상되었을 때 혈청에서 높은 수치를 나타낸다. 본 연구에서 고지방식이의 섭취는 간 조직의 지방 함량을 높여 간의 무게를 증가시키고, 간세포의 기능을 손상시켜 혈청 GPT를 높인 것으로 사료되며 지방간의 여러 특성을 유발하였다. Kuzu 등[20]의 연구에서도 제니스테인의 투여가 흰 쥐에서 혈청 GOT, GPT와 간 조직에서의 염증반응 및 괴사, 섬유화를 유의적으로 감소시켜 제니스테인이 간세포 손상과 간 기능 저하를 억제하는 데 긍정적인 작용을 하였다.

제니스테인이 지방간을 억제하는 기전으로는 우선 에스트로겐이 VLDL의 합성에 관여하는 apo B100의 mRNA 발현을 자극하는 것을 들 수 있다. 간에서 합성되는 apo B 100은 VLDL을 통해 중성지방을 간 외로 배출하는데 관여하여 간 조직 중의 지질함량을 조절하는 역할을 수행하므로 에스트로겐 결핍은 간 내 지질을 축적하여 지방간을 유발할 수 있다.[21] 따라서 에스트로겐과 비슷한 기능을 할 수 있는 제니스테인의 섭취는 본 연구에서 간 조직 중 총 지질과 중성지방, 총 콜레스테롤의 함량을 유의적으로 감소시켰으며, 여러 선행 연구에서 실험동물의 간 조직 중 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤 함량이 이소플라본의 섭취로 유의적인 감소를 보여 본 연구의 결과와 일치하였다.[15,16,18]

제니스테인에 의한 혈청 지질 성분의 감소효과는 여러 선행 연구에서 보고된 바 있다.[14-19] 고지방식이를 섭취하는 C57BL/6J 마우스에서 식이 중 제니스테인은 혈청 총 지질, 중성지방을 유의적으로 감소시켰고,[18] 총 콜레스테롤의 함량도 실험동물에서 이소플라본의 섭취로 유의적으로 낮아졌다.[14,15,19] 또한 Yang 등[17]의 동물 실험 연구에서 고지방식이를 섭취하더라도 제니스테인을 함께 섭취하면 혈청 총 콜레스테롤과 중성지방의 농도가 각각 정상지방식이를 섭취하는 것과 비슷한 수준으로 감소되었다. 그러나 이소플라본의 섭취로 인한 혈중 지질의 감소효과는 인체 연구에서는 나타나지 않았다는 연구결과들도 보고되어 있다.[22,23] 몇몇 연구에서 이소플라본의 섭취로 HDL-콜레스테롤의 농도가 증가하였다는 결과가 보고되었지만,[19,23] 본 연구에서는 제니스테인의 섭취가 HDL-콜레스테롤에 영향을 미치지 않았다. 따라서 혈청 지질 성분을 감소시키는 제니스테인의 효과는 실험 대상과 기간, 섭취량에 따라 다소 상이한 결과를 나타내는 것으로 사료되며 명확한 결론을 도출하기 위해 더 많은 연구가 필요할 것이라고 판단된다.

고지방식이의 섭취는 혈당과 인슐린의 농도를 증가시키고 말초조직에서 혈당의 이용, 인슐린 감수성, 당원합성효소의 활성을 저하시키는 것으로 보고되어 있다.[25] 제니스테인은 tyrosine kinase의 억제 인자로 작용함으로서 인슐린의 분비를 변화시키고,[26] in vitro 연구에서도 제니스테인이 $\alpha$-glucosidase의 포도당 결합부위에 결합함으로서 당 대사와 관련된 대사 질환에 긍정적으로 작용할 수 있을 것이라고 제언된 바 있다.[24] 그러므로 제니스테인의 섭취는 혈중 지질 성분과 함께 인슐린의 농도를 낮춤으로서 간으로 유입되는 지방의 양을 감소시켜 간 내 중성지방 pool의 증가를 억제하고 간 조직 중의 지질 함량을 감소시켜 지방간의 유발을 억제하는 것으로 사료된다.

이소플라본에 의한 또 다른 지방간의 억제 기전은 이소플라본이 간에서 지방합성효소의 활성을 억제하는 것으로 설명할 수 있다. 본 연구에서 고지방식이의 섭취로 FAS와 ME 등의 지방합성효소의 활성이 유의적으로 증가되었지만 제니스테인의 섭취로 유의적으로 감소되었다. 이는 제니스테인의 섭취가 간에서 지방합성을 억제하여 간 조직 중의 지질 함량을 낮추고 지방간의 유발을 억제한 것으로 사료된다. FAS는 지방산 합성효소로서 세포질에서 acetyl-CoA와 malonyl-CoA의 축합반응을 통해 긴 사슬 지방산의 합성 반응을 촉매하며, 식이 및 영양상태, 호르몬 등에 의하여 활성이 변화한다.[27] 이소플라본에 의한 FAS의 감소효과는 몇몇 선행 연구에서 보고되었다. Park 등[19]은 C57BL 당뇨 유발 마우스에서 제니스테인 (식이 중 0.02%)의 섭취로 간의 FAS 활성이 유의적으로 감소되었음을 보고하였고, Lee 등[18]의 연구에서도 제니스테인의 섭취로 FAS의 활성이 유의적으로 감소됨이 보고되었다. 또한 이소플라본과 같은 플라보노이드계 물질인 루테올린, 퀘르세틴, 캠프페롤의 처리가 in vitro 연구에서 FAS의 활성을 유의적으로 감소시켜 본 연구의 결과를 뒷받침하여 주었다.[28] ME는 간 지방합성에 관여하는 효소로 malate와 NADP가 pyruvate, CO2, NADPH로 전환되는 반응을 촉매 하여 지방합성에 필요한 NADPH를 공급해준다.[13] ME의 활성은 지방산의 조성과 갑상성 호르몬에 의해 영향을 받으며 포화지방산인 우지의 섭취와 갑상선 호르몬의 증가는 ME의 활성을 높이는 것으로 보고되어 있다.[29,30] 한편 이소플라본은 갑상선 호르몬을 합성하는데 필요한 효소인 thyroid peroxidase (TPO)와 5'-deiodinase (5'-DI)의 활성을 억제한다고 보고되어 있으며,[31] 동물실험과 in vitro 연구에서 제니스테인의 섭취는 TPO의 활성을 감소시켰다.[32] 또한 제니스테인과 같은 플라보노이드가 TPO와 5'-deiodinase (5'-DI)의 활성을 억제하여[33] 본 연구의 결과와 유사하였다.

## 요약 및 결론

본 연구는 대두 이소플라본의 일종인 제니스테인의 섭취가 고지방식이를 섭취하는 흰 쥐에서 지방간 억제에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행되었다. 실험동물은 식이 중 지방과 제니스테인의 함량에 따라 1) 정상지방군 (NOR), 2) 고지방식이군 (HF), 3) 고지방과 0.1%제니스테인 첨가군 (HF+0.1%G), 4) 고지방과 0.2%제니스테인 첨가군 (HF+0.2%G)으로 나누어 6주간 사육하였다.

그 결과 고지방식이의 섭취로 간 조직 내 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤의 함량과 혈청 GOT, GPT가 증가되어 지방간의 특성이 나타났다. 또한 혈청의 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤의 함량은 증가한 반면 HDL-콜레스테롤의 함량은 저하되었고, FAS와 ME 등의 지방합성효소의 활성과 혈청 포도당 및 인슐린 농도가 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 제니스테인의 섭취는 간 조직 내 총 지질, 중성지방, 총 콜레스테롤, 혈청 GPT를 유의적으로 감소시켜 고지방식이에 따른 지방간 생성을 억제하였다. 또한 혈청의 총 지질, 중성지방을 감소시키고 FAS와 ME 등의 지방합성효소의 활성과 혈청 포도당 및 인슐린 농도를 유의적으로 낮추었다. 제니스테인의 수준에 따른 영향은 혈청 인슐린을 제외한 다른 측정항목에서는 나타나지 않았다.

본 연구에서 나타난 제니스테인의 섭취에 의한 지방간 억제 효과는 혈청의 지질 성분과 인슐린의 농도를 낮춰 간으로 이동되는 지방산의 유입을 감소시키고, 지방합성효소의 활성을 낮춰 간에서 지방합성이 감소됨으로서 간의 지방축적이 억제되는 기전에 따른 결과로 사료된다.

이상의 결과에서 지방간은 고지방식이로 인한 지방 합성과 인슐린 농도의 증가로 일어나는 것으로 생각되며, 제니스테인의 섭취는 지질대사를 개선하고 지방 합성을 감소시킴으로서 지방간 유발의 억제 작용을 할 수 있는 것으로 사료된다.

### Literature cited


1) Korean National Statistical Office. 「Annual report on the cause of death statistics」; 2005
2) Jeong WG. Food and nutrition dictionary book. Korea Dictionary Research Publishing; 1997. p.896
3) Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: Causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion* 2006; 6: 1-28
4) Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Haung Y, Zhang L, Wang Y. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sciences* 2006; 79: 1100-1107
5) Kim MK, Kim HJ. A study on the nutritional status of korean fatty liver patients. *Korean J Nutr* 1993; 26(6): 715-727
6) Park YJ, Song KH, Noh MS, Hyun HJ. A study on the ultrasonographic liver fat density and serum enzymes for testing liver function in korean adults. *Korean J Nutr* 1998; 31(1): 28-35
7) Dang ZC, Audinot V, Papapoulos SE, Boutin JA, Lowik CW. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma) as a molecular target for the soy phytoestrogen genistein. *The Journal of Biological Chemistry* 2003; 278(2): 962-967
8) Heim M, Frank O, Kampmann G, Sochoky N, Pennimpede T, Fuchs P, Hunziker W, Weber P, Martin I, Bendik I. The phytoestrogen genistein enhances osteogenesis and repress adipogenic differentiation of human primary bone marrow stromal cells. *Endocrinology* 2004; 145: 848-859
9) Usui T. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocrine Journal* 2006; 53: 7-20
10) Frings CS, Fendley TW, Dunn RT, Queen CA. Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Clinical Chemistry* 1970; 18(2): 673-674
11) Folch. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 497
12) Linn TC. Purification and cristallization of rat liver fatty acid synthase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1981; 209(2): 613-619
13) Geer BW, Krochko D, Oliver MJ, Walker VK, Williamson JH. Enzymatic assay of malic enzyme. *Comp Biochem Physiol* 1980; 65B: 25-34
14) Kim S, Sohn I. Lee YS, Lee YS. Hepatic gene expression profiles are altered by genistein supplementation in mice with diet-induced obesity. *J Nutr* 2005; 135: 33-41
15) Song JH, Lee YM, Choi JS, Kim MH, Jung MH, Lee YS. Effects of genistein on hepatic metabolism and mitochondrial function in mice fed high-fat diets. *Nutrition* 2006; 22: 956-964
16) Jeong MK, Bang MH, Seol SM, Kim WK. The effects of isoflavone on lipid metabolism and immune responses in SD rat. *Korean J Nutr* 2002; 35(6): 635-642
17) Yang JY, Lee SJ, Park HW, Cha YS. Effects of genistein with carnitine administration on lipid parameters and obesity in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *J Med Food* 2006; 9(4): 459-467
18) Lee YS, Kim MH, Kim SH, Park HW, Kim WG. Effects of calcium and genistein on body fat and lipid metabolism in high fat-induced obese mice. *Korean J Nutr* 2006; 39(8): 733-741
19) Park SE, Choi MS, Cho SY, Seo JS, Jung UJ, Kim MJ, Sung MK, Park YB, Lee MK. Genistein and daidzein modulate hepatic glucose and lipid regulating enzyme activities in C57BL/KsJ-db/db mice. *Life Sciences* 2006; 79: 1207-1213
20) Kuzu N, Metin K, Dagli AF, Akdemir F, Orhan C, Yalniz M, Ozercan IH, Sahin K, Bahcecioglu IH. Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 36381, 6
21) Paquette A, Shinoda M, Lhoret RR, Prudhomme D, Lavoie JM. Time course of liver lipid infiltration in ovariectomized rat: Impact of a high-fat diet. *Muturitas* 2007; 58(2): 182-90
22) Hodgson JM, Puddey IB, Beilin LJ, Mori TA, Croft KD. Sup-

plementation with isoflavonoid phytoestrogens does not alter serum lipid concentrations a randomized controlled trial in humans. *J Nutr* 1998; 128: 728-732

23) Lee DH, Sung CJ, Lee HS, Kim MH, Seo YL. Effects of isoflavone supplementation on serum lipids in hyperlipidemic postmenopausal women. *Korean J Community Nutrition* 2001; 6(1): 69-75

24) Lee DS, Lee SH. Genistein, a soy isoflavone, is a potent a-glucosidase inhibitor. *FEBS Lett* 2001; 501(1): 84-86

25) Park KS, Lee KU, Park SW, Lee HK, Min HK. Mechanism of insulin resistance: Time dependence of the development of insulin resistance in high fat fed rats. *Diabetes* 1996; 21(2): 168-175

26) Sorenson RT, Brelje TC, Roth C. Effects of tyrosine kinase inhibitors on islets of lamgerhans: Evidence for tyrosine kinase in the regulation of insulin secretion. *Endo* 1994; 134(4): 1975-1978

27) Ronnett GV, Kim EK, Landree LE, Tu Y. Fatty acid metabolism as a target for obesity treatment. *Physiology & Behavior* 2005; 85: 25-35

28) Brusselmans, Vrolix R, Verhoeven G, Swinnen JV. Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. *J Biol Chem* 2005; 280(7): 5636-5645

29) Suh M, Kim HM, Na HK, Cho SH. Effects of dietary n-3 fats on hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme in rat. *Korean Biochem J* 1990; 23(3): 395-401

30) Dozin B, Magnuson MA, Nikodem VM. Tissue-specific regulation of two functional malic enzyme mRNAs by triiodothyronine. *Biochemistry* 1985; 24: 5581-5586

31) Doerge DR, Sheehan DM. Goitrogenic and estrogenic activity of soy isoflavones. *Environ Health Perspect* 2002; 110(3): 349-353

32) Chang HC, Doerge DR. Dietary genistein inactivates rat thyroid peroxidase in vivo without an apparent hypothyroid effect. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 168: 244-252

33) Divi RD, Doerge DR. Inhibition of thyroid peroxidase by dietary flavonoids. *Chem Res Toxocol* 1996; 9: 16-23