

조릿대 잎 추출물이 고지방식이 유도 비만 마우스 (C57/BL6J)의 혈장 Adiponectin, Resistin, C-reactive Protein 및 Homocysteine 농도에 미치는 영향

김은영 · 정은영 · 임현숙 · 허영란[§]

전남대학교 생활과학대학 식품영양학과, 전남대학교 생활과학연구소

The Effects of the *Sasa borealis* Leaves Extract on Plasma Adiponectin, Resistin, C-Reactive Protein and Homocysteine Levels in High Fat Diet-Induced Obese C57/BL6J Mice

Kim, Eun-Young · Jung, Eun-Young · Lim, Hyeon-Sook · Heo, Young-Ran[§]

Department of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

ABSTRACT

As obesity is known to be related to hyperlipidemia, diabetes and coronary heart disease, and other chronic diseases, many researches have focused on functional food materials showing anti-obesity activity. The adipokines secreted by adipose tissue, resistin and adiponectin are known to play an important role in the pathogenesis of chronic diseases directly. C-reactive protein and homocysteine are molecules regulated by adipose tissue indirectly also relate to the chronic diseases. This study was performed to study of the anti-obesity effects of *Sasa borealis* in diet-induced obese mice (C57/BL6J). The mice were divided into four group: NFD (Normal fat diet), HFD (High fat diet), BSE (High fat diet containing 5% of 70% ethanol extract of *Sasa borealis* leaves), BLW (High fat diet containing 5% of water extract of *Sasa borealis* leaves). The experimental diets were fed for 11 weeks. The final body weight of the mice in the groups of BSE and BLW groups were significantly lower than the HFD group. The effects of weight reduction were due to reduced body fat accumulation. The adiponectin levels are significantly decreased in HFD group compared than NFD group and increased taken by *Sasa borealis* containing diet. The resistin levels are not significantly different between experimental groups. The CRP and homocysteine levels are significantly higher in HFD group than NFD group and significantly decreased by *Sasa borealis* containing diet, especially BLW group. These results indicate that orally administered *Sasa borealis* not only has the effect of reducing the body weight and total fat weight, but preferable effect in adiponectin levels and related molecules as CRP and homocysteine. Therefore we expect the *Sasa borealis* may have an anti-obesity function and anti-metabolic syndrome effect in diet-induced obese mice. (*Korean J Nutr* 2007; 40(4): 303~311)

KEY WORDS : *Sasa borealis*, obesity, adipokines, C-reactive protein, homocysteine.

서 론

비만 즉, 지방조직의 과잉 축적이 당뇨병, 고혈압, 고지혈증 및 동맥경화성 질환 등 다양한 질환의 기반이 된다는 점이 잘 알려지면서, 최근에는 비만을 하나의 질환으로 인식하고 있다. 비만은 양에너지 평형 시에 지방세포의 수의

증식과 크기의 증대로 나타난다. 지방 조직은 잉여 에너지의 저장고가 아니라 하나의 내분비 기관으로서 adipokines이라는 여러 호르몬 유사물질을 분비하여 지방 대사와 당 대사를 포함한 체내 에너지 대사를 총체적으로 조절한다.¹⁾ 지방 세포에서 합성·분비되는 adipokines 중에서 leptin, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), adiponectin 및 resistin은 잘 알려져 있으며, 최근에는 visfatin, apelin 및 zinc- α 2-glycoprotein 등이 규명되었다.¹⁾ 이들 adipokines는 체내의 에너지 상태에 따라서 그 발현이 민감하게 조절되며 중추신경계와 주변 기관에 직접 혹은 간접적으로 작용하여 인슐린 민감도, 지방산 산화와 당

접수일 : 2007년 5월 7일

채택일 : 2007년 5월 22일

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : yrhuh@jnu.ac.kr

대사, 식욕조절 또는 염증반응 매개 작용 등을 수행한다.²⁾ 최근에는 비만과 함께 이상지혈증, 고혈압, 고혈당 및 고인슐린혈증과 같은 일련의 징후가 동시에 수반되는 대사증후군에서 adipokines의 역할 및 질병 유발 기전에 관한 연구가 주목 받고 있다.^{1,2)}

혈장 leptin 농도는 체지방량과 양의 상관관계가 있으며, 대사증후군의 요소인 인슐린 민감성 및 인슐린 농도, 혈압 등과도 양의 상관성을 보인다는 점은 널리 인정되고 있다.^{3,4)} 반면 adiponectin은 지방세포의 분화과정에서 발현이 증가하는 단백질로 정상 쥐의 지방조직에서는 높게 발현되지만, 비만 혹은 당뇨 모델 쥐에서는 그 발현이 현저히 감소하여 비만과 음의 상관관계가 있다.^{5,6)} Resistin의 경우는 상반된 보고가 공존하고 있어 비만이 resistin의 과발현을 유발하는지에 대한 일관된 결론을 도출하지 못하고 있다.^{7,8)} Adiponectin과 resistin은 인슐린과의 길항작용으로 비만 매개 당뇨 기전과 관련하여 많은 연구가 시도되고 있다.^{9,10)} 상기한 adipokines이 생체 대사를 조절하는 직접적인 기여인자 임에 비하여, 간에서 생성되는 C-reactive protein (CRP)과 아미노산 대사물질인 homocysteine (Hcy)은 IL-6와 같은 adipokines에 의해 생성이 조절되므로 간접적인 기여 인자로 간주된다.^{1,10)} 이들 CRP와 Hcy는 동맥경화성 심혈관 질환의 간접 예측인자로 쓰이며, 상기 연구 보고들^{1,9,10)}은 비만을 매개로 한 당뇨와 심혈관성 질환의 예측지표로써 adipokines의 역할 가능성을 시사 한다.¹⁰⁻¹²⁾

최근 천연물을 소재로 한 비만의 예방 및 개선을 위한 기능성 식품 개발에 대한 관심이 고조되어, 가르시니아 캄보지아 추출물,^{13,14)} 솔잎 추출물,¹⁵⁾ 녹차 추출물,^{16,17)} 한방 약재의 추출물¹⁸⁾ 등 국내외의 자생식물의 생물학적인 활성과, 약리적인 효과 및 의학적 이용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 죽엽은 벼과 (Graminae)에 속하는 대나무 속 및 조릿대 속의 잎을 말한다. 죽엽에 대한 성분연구로는 flavonoid계열 화합물과 triterpenoid계열인 arundion, milacin, friedelin 등이 보고되어 있다.¹⁹⁾ 죽엽 추출물의 항균성을 나타내는 주성분은 acetic, benzoic, phenylacetic, salicylic, 3-hydrobenzoic, guaiacol, phenol, 4-vinylphenol 등의 유기산과 페놀성분으로 알려져 있다.²⁰⁾ 대나무의 생리활성에 관한 연구로는 대나무 추출물이 고지방 및 고콜레스테롤 식이 급여를 섭취하는 흰쥐의 지방대사에 미치는 효과²¹⁾와 대나무 잎으로부터 분리한 chlorogenic acid의 항산화 활성²²⁾에 관한 연구 등이 있으나 각 연구마다 사용한 대나무의 종류에 따라 다른 활성을 보고하였다.^{21,22)} 이에 본 연구에서는 조릿대 잎 추출물을 고지방식으로 비만이 유도되는 C57/BL6J mice에 급여하여 지방 조직량 및

체중과 상관관계가 있다고 보고된 adipokines, 특히 당뇨와의 연관성이 거론되고 있는 adiponectin과 resistin 및 심혈관 질환의 예측인자인 CRP와 Hcy의 농도에 미치는 영향을 분석하고자 하였다. 본 연구결과는 조릿대 잎 추출물이 체중감량뿐만 아니라 비만으로 유발되는 여러 합병증을 예방하고 개선할 수 있는 기능성 식품소재로의 가능성이 있음을 확인해 주었다.

실험 재료 및 방법

실험 재료

본 연구에서 사용된 조릿대 잎은 전라남도 담양군 산야에서 채취하였다. 채취한 조릿대 잎은 증기를 이용하여 찐 후에 dry oven에서 30°C로 30시간에 걸쳐 건조시켜 밀봉한 후 4°C에서 냉장 보관하면서 추출에 사용하였다.

조릿대 추출물의 제조

조릿대 잎 에탄올 추출물은 마쇄된 조릿대 잎 중량의 20배의 70% 에탄올을 넣은 후 대량 추출기 [1 Ton Extractor, (주)베스트코리아, Korea]를 이용하여 95°C에서 20시간 추출하고 추출물을 다시 cheese clothes를 이용하여 여과하였다. 여과액을 대량 농축기 [Vacuum Batch Evaporator, (주)베스트코리아, Korea]를 이용하여 감압 농축한 후, 동결 건조 (SFDTS 10K, Samwon Freezing Engineering Co, Korea)하여 조릿대 잎 에탄올 추출물로 사용하였으며 조릿대 잎 열수 추출물은 조릿대 잎 건조 중량의 20배의 물을 넣은 후 조릿대 잎 에탄올 추출물과 같은 조건으로 같은 기구를 통하여 건조시켜 조릿대 물 추출물로 사용하였다.

실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 식이로 비만이 유도되는 형질을 가진 C57/BL6J 중의 4주령 된 생쥐 28마리를 일본 (Charles River Laboratories Japan, Inc. Japan)으로부터 구입하여 사용하였다. 실험 시작 전 1주일 동안 일반 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경 (23 ± 2°C, 습도 55 ± 5%)으로 유지하고 12시간씩 명암을 자동 조절하여 적응시켰다. 실험 시작 2주째부터 7마리는 정상 지방 식이를 급여하고 나머지 21마리에는 고지방식이를 16주간 급여하여 비만을 유도하였다. 비만의 유도여부는 정상 지방 식이를 급여 받는 군과 고지방 식이를 급여 받는 군과의 체중 차이와 공복혈당을 측정하여 확인하였다. 비만이 유도된 21마리는 고지방식이 대조군 (HFD), 조릿대 에탄올 추출물 급여군 (BSE), 조릿대 열수 추출물 급여군 (BLW)으로 각

각 7마리씩 각 그룹에 배정하였으며 HFD군은 고 지방 식이를, BSE군과 BLW군은 고지방식이에 각각의 추출물을 5%씩 첨가하여 제조한 실험 식이를 11주 동안 급여하였다. 한편 정상식이 대조군 (NFD)은 식이의 변동 없이 정상 지방 식이를 급여하였다. 실험 식이는 AIN-93G에 준하여 제조되었으며 조릿대 잎 추출물을 첨가한 실험식은 고지방식이에 분말화 된 추출물을 각각 5% (w/w)씩 첨가하여 제조하였다 (Table 1).

체중변화 및 식이 섭취량 측정

주 2회 식이 공급량으로부터 식이 잔량을 감하여 일일 식이 섭취량을 산출하였으며 체중은 1주일에 1회 측정 하였다.

실험동물의 희생 및 시료 채취

실험기간이 종료된 실험동물은 4시간 절식한 후 안와정맥에서 마취 없이 혈액을 채취하고 각 지방조직 (복부지방,

부고환지방, 피하지방조직)을 적출하여 무게를 측정하였다. 피하지방의 경우 장기 및 내장지방 (복부지방 및 부고환지방)을 적출 한 후, 몸체 (trunk)부분의 피부조직에서 훑어내는 방법으로 적출하였다. 채취한 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 ethylene diamine tetra acetate (EDTA)로 처리된 CBC Bottle에 넣어 ice box에 정치시킨 후 원심분리로 3,000 rpm, 4℃에서 15분간 원심 분리 후 혈장을 분리하여 분석 전까지 -70℃에서 보관하였다.

혈장 Adiponectin 및 resistin 농도 측정

혈장 adiponectin 농도는 Mouse Adiponectin (BioVendor Laboratory Medicine, inc. Czech Republic) Kit를 사용하였으며, resistin 농도는 Mouse Resistin (BioVendor Laboratory Medicine, Inc. Czech Republic) Kit를 사용하여 ELISA 방법으로 측정하였다.

혈장 C-reactive protein 및 homocysteine 농도 측정

혈장 CRP 농도는 active murine CRP ELISA Kit (Diagnostic systems Laboratory, Inc. USA)를 이용하여 측정하였다. Hcy 농도는 tri-n-butylphosphine을 이용하여 시료를 환원시킨 후 단백질을 침전시키고, ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulphonate를 사용하여 형광유도체를 만들어 HPLC로 분석하도록 제조된 Kit (Immundiagnostik AG, Inc. Germany)를 이용하여 분석하였으며, 이때 column은 prodigy ODS2, 150 × 3.2 mm, 5 μm (Phenomenex), Adsorbosphere C18, 3 cm guard column (Alltech)을 사용하였다.

통계처리

모든 통계분석은 SPSS (Statistical Package for the Social Science) version 12.0을 이용하여 실험군당 평균과 표준오차를 구하였다. NFD군과 HFD군의 차이는 독립표본 T-검정을 이용하여 p < 0.05 수준에서 검정하였다. HFD와 BSE군 및 BLW군의 차이는 일원배치분산분석 (Onway analysis of variance)를 한 후 α = 0.05수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였다. 각 요인간의 상관관계는 Pearson's correlation coefficient로 검증하였다.

결과 및 고찰

체중 변화 및 식이 섭취량에 미친 영향

실험기간 동안 체중 변화 및 식이 섭취량은 Fig. 1과 Table 2와 같았다. 실험 시작 시 HFD군 (19.40 ± 0.14 g)과

Table 1. Diet composition of the normal fat diet and the high fat diet

Ingredient	Normal fat diet (g/kg)	High fat diet (g/kg)
Casein, Lactic	200.00	200.00
L-Cysteine	3.00	3.00
Corn starch	397.49	48.19
Sucrose	100.00	100.00
Maltodextrin	132.00	132.00
Cellulose	50.00	50.00
Soy bean oil	70.00	70.00
Shortening	0.00	330.00
t-Butyltetra hydroquinone	0.01	0.01
Mineral mixture ¹⁾	35.00	50.00
Vitamin mixture ²⁾	10.00	14.30
Choline bitartrate	2.50	2.50

1) AIN93G Mineral mixture (g/kg): Calcium carbonate anhydrous (40.04% Ca) 357.00; Potassium phosphate monobasic (22.76% P, 28.73% K) 196.00; Potassium citrate H₂O (36.16% K) 70.78; Sodium chloride (39.34% Na, 60.66% Cl) 74.0; Potassium sulfate (44.87% K, 18.39% S) 46.60; Magnesium oxide (60.32% Mg) 24.00; Ferric citrate (16.5% Fe) 6.06; Zinc carbonate (57.47% Zn) 1.65; Sodium meta-silicate 9H₂O (9.88% Si) 1.45; Manganous carbonate (47.79% Mn) 0.6; Cupric carbonate (57.47% Cu) 0.30; Chromium potassium sulfate 12H₂O (10.42% Cr) 0.275; Boric acid (17.5% B) 0.0815; Sodium fluoride (45.24% F) 0.0635; Nickel carbonate (45% Ni) 0.0318; Lithium chloride (16.38% Li) 0.0174; Sodium selenate anhydrous (411.79% Se) 0.01025; Potassium ionate (59.3% I) 0.01; Ammonium paramelybdate 4H₂O (54.34% Mo) 0.00795; Ammonium vanadate (43.55% V) 0.0066; Powdered sucrose 221.026

2) AIN93G Vitamin mixture (g/kg): Nicotinic acid 3.000; Calcium pantothenate 1.600; Pyridoxine-HCl 0.600; Riboflavin 0.600; Folic acid 0.200; Vitamin B-12 2.500; Vitamin E acetate (500 IU/g) 15.000; Vitamin A Palmitate (500,000 IU/g) 0.800; Vitamin D-3 (400,000 IU/g) 0.250; Vitamin K-1 0.075; powdered sucrose 967.23

NFD군 (19.23 ± 0.46 g)의 체중은 유의한 차이가 없었으나 고지방 식이 급여 2주 후부터 HFD군 (23.18 ± 0.24 g)과 NFD군 (22.03 ± 0.61 g)이 유의한 차이를 나타내기 시작했다. 16주 후에 HFD군 (32.86 ± 0.55 g)의 체중이 NFD군 (24.40 ± 0.48 g)의 1.3배에 달하여 고지방식으로 인해 비만이 유발되었음을 확인할 수 있었다. 비만 유도 기간 중 양 군의 식이 섭취량에는 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과는 비만 유발에 지방 함량과 급원의 차이에서 기인했음을 시사한다. 비만 유도 후 조릿대 잎 에탄올 추출물과 열수 추출물을 각각 5% 첨가한 식이를 공급하여 체중 변화를 살펴본 바, 실험식이 급여 3주 후부터 HFD군과 BSE군 및 BLW군과의 체중이 유의한 차이를 나타냈으며 실험기간이 경과함에 따라 그 차이가 크게 벌어졌다. 실험 종료 시 HFD군의 체중은 36.06 ± 0.84 g이었고, BSE군과 BLW군의 체중은 각각 30.16 ± 0.60 g과 31.53 ± 0.58 g으로 HFD의 체중은 실험 시작 시에 비해 3.20 ± 0.58

g 유의하게 증가한 반면 BSE군은 3.04 ± 0.79 g이 유의적으로 감소하였고, BLW군은 1.40 ± 0.68 g 줄었으나 유의성은 없었다. 이러한 결과는 조릿대 잎 추출물이 체중감소를 유발하거나 적어도 체중의 증가를 억제하는 효과가 있음을 나타낸다.

한편 실험식이 급여 11주 동안의 식이 섭취량은 HFD군은 206.69 ± 18.60 g, NFD군은 217.76 ± 16.20 g, BSE군은 223.00 ± 27.50 g 및 BLW군은 241.89 ± 4.72 g으로 실험 기간 실험식이 섭취량의 유의적인 차이가 없었다. 또한 실험식이 급여 기간동안 열량 섭취량은 HFD군이 1155.39 ± 103.98 kcal, BSE군이 1187.27 ± 146.38 kcal 및 BLW군이 1287.81 ± 25.14 kcal로 세군 사이에 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과는 실험군의 체중 감소 효과가 식이 섭취량 및 열량 섭취량에 기인하지 않으며, 조릿대 잎 추출물의 효과임을 의미한다. 또한 조릿대 잎 추출물의 체중 감량 효과는 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물이 더 효과적임을 알려준다. 한편 NFD군은 11주 동안 유의적인 체중변화가 나타나지 않았으며 실험 종료 시의 체중은 23.49 ± 0.67 g으로 HFD군, BSE군 및 BLW군과 비교하여 유의하게 낮았다. 11주 동안 5% 조릿대 잎 추출물을 첨가한 실험 식이를 섭취한 군의 체중이 정상 식이 급여군 만큼의 체중에 도달하지는 않았지만 실험의 진행기간에 비례하여 지속적인 체중 감량 효과가 나타난 바, 본 연구기간보다 더 장기간 조릿대 잎 추출물을 급여 한다면 정상 수준만큼의 체중 감량 효과도 기대되며 이에 대한 후속 연구가 필요하다고 생각된다.

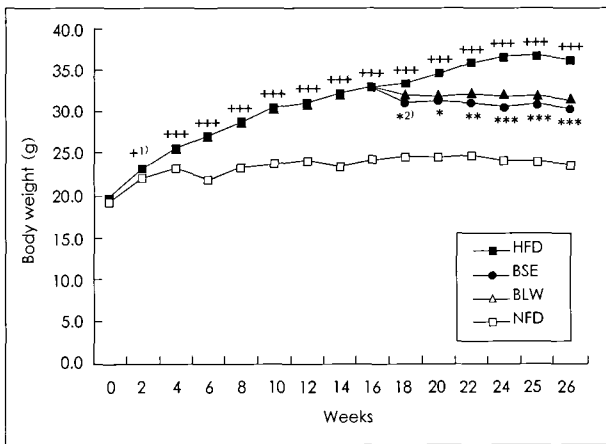


Fig. 1. Changes of body weight during the total experimental periods. 1) Significantly different between the NFD and the HFD by t-test (+: $p < 0.05$, +++: $p < 0.001$), 2) Significantly different between three experimental groups by ANOVA (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$).

지방조직의 무게에 미친 영향

조릿대 잎 추출물의 섭취가 체내 지방조직 축적에 미친 영향은 Fig. 2와 같았다. 본 연구에서는 복부 지방조직의 대표적인 백색 지방조직인 후 복강 지방조직 (retroperitoneal adipose tissue)과 부고환 지방조직 (epididymal adipose

Table 2. Effect of *Sasa borealis* leaves extract on body weight, food intake, and adipose tissue weights in C57/BL6J mice

	NFD	HFD	BSE	BLW
Body weight				
Initial (g)	$24.40 \pm 0.48^{1)****2)}$	32.86 ± 0.55	33.2 ± 1.00	32.93 ± 0.89
Final (g)	$23.49 \pm 0.67^{***}$	$36.06 \pm 0.84^{3)}$	30.16 ± 0.60^b	31.53 ± 0.58^b
Food intake				
Food intake (g/11 wks)	217.76 ± 16.20	206.69 ± 18.60	223.00 ± 27.50	241.89 ± 4.72
Calorie intake (kcal/11 wks)	$871.03 \pm 64.80^*$	1155.39 ± 103.98	1187.27 ± 146.38	1287.81 ± 25.14

NFD: mice fed the normal fat diet, HFD: mice fed the high fat diet, BSE: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves ethanol extract, BLW: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves water extract.

1) Values are mean \pm S.E. 2) Significantly different between the NFD and the HFD by t-test (*: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$). 3) Means with different small letters within a row are significantly different between three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

tissue) 및 피하 지방조직 (subcutaneous adipose tissue) 양의 합을 총 지방 조직 량으로 계산하였다. 또한 복강 지방조직과 부고환 지방조직 량의 합을 내장 지방조직 (visceral adipose tissue) 량으로 계산하였다(Fig. 2A). 총 지방조직의 양은 HFD군이 3.90 ± 0.48 g으로 가장 많았으며 BLW군은 2.15 ± 0.24 g이었고 BSE군은 1.48 ± 0.24 g으로 HFD군에 비하여 각각 유의하게 낮았다. NFD군의 총 지방량은 0.73 ± 0.1 g이었다. 내장 지방 조직량, 피하 지방 조직량 및 체지방량의 경우도 총 지방량과 동일한 경향을 나타내었다. 한편 열수와 에탄올 추출물 사이의 추출 용매에 따른 지방 조직량에 미친 영향은 유의한 차이는 없었다. 그러나 BSE군의 총 지방량이 다소 낮은 경향을 나타낸 바, 체중 감량 효과의 양상과 유사하였다. 이러한 결과들은 조릿대 잎 추출물의 체중 감량 효과가 체지방량 축적 감소에 기인함을 시사하며, 체지방량의 과도한 축적을 비만으로 정의하는바, 조릿대 잎 추출물이 체지방량 축적 감

소를 통한 비만의 예방 및 치료에 효과가 있는 것으로 사료된다. 죽엽의 생리활성 물질로 flavonoid계열 화합물과 triterpenoid계열인 arundion, miliacin, friedelin 등¹⁹⁾이 알려져 있고, 항균성을 나타내는 주성분은 acetic, benzoic, phenylacetic, salicylic, 3-hydrobenzoic, guaiacol, phenol, 4-vinylphenol 등의 유기산과 페놀성분으로 알려져 있다.²⁰⁾ 어떤 성분에 의해 체중감량 효과를 나타내는지에 대한 추후 연구가 필요하다.

혈장 Adiponectin 및 resistin 농도에 미친 영향

본 연구에서 조릿대 잎 추출물 첨가식이 급여가 혈장 adiponectin에 미친 영향은 Fig. 3A와 같았다. NFD군은 36.02 ± 5.30 μ g/mL이었고 HFD군은 22.58 ± 1.67 μ g/mL으로 NFD군에 비하여 HFD군이 유의하게 낮았다. 이러한 결과는 비만한 사람이나 동물모델의 혈중 adiponectin 농도가 정상체중자에 비해 감소되어 있다는 결과와 일치한다.^{23,24)}

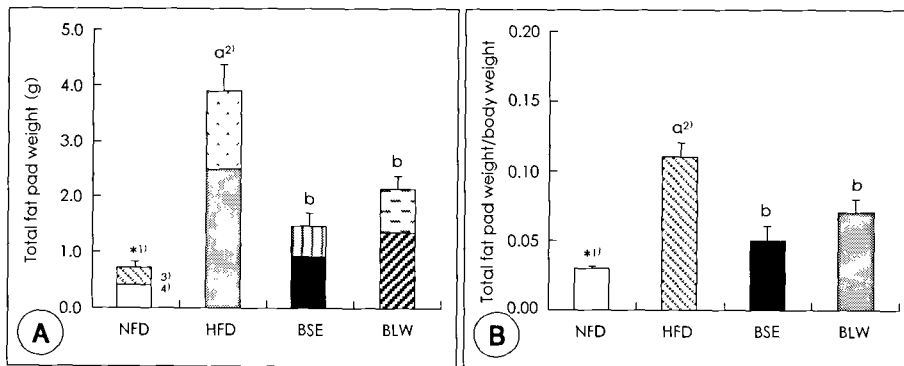


Fig. 2. Effect of *Sasa borealis* leaves extract on body fat accumulation in C57/BL6J mice. NFD: mice fed the normal fat diet, HFD: mice fed the high fat diet, BSE: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves ethanol extract, BLW: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves water extract. 1) Significantly different between the NFD and the HFD by t-test (*: $p < 0.05$). 2) Means with different small letters within a column are significantly different between three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). 3) Upper and 4) Lower stack bar represent the subcutaneous and visceral fat pad weight, respectively.

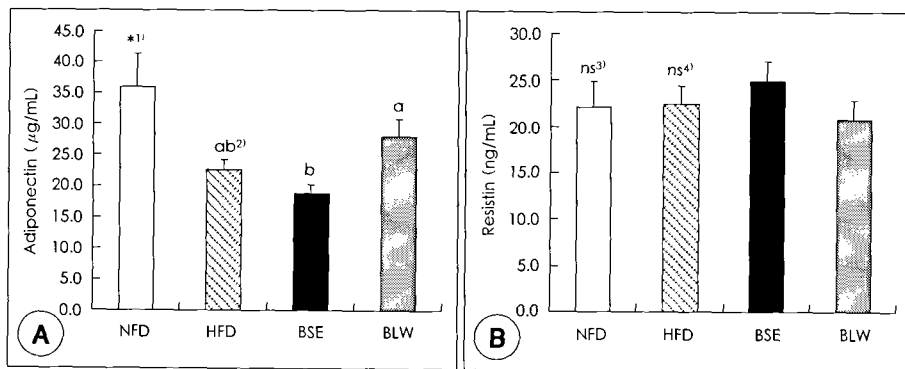


Fig. 3. Effect of *Sasa borealis* leaves extract on plasma adiponectin and resistin levels in C57/BL6J mice. NFD: mice fed the normal fat diet, HFD: mice fed the high fat diet, BSE: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves ethanol extract, BLW: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves water extract. 1) Significantly different between the NFD and the HFD by t-test (*: $p < 0.05$). 2) Means with different small letters within a column are significantly different between three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). 3) Means are not significantly different between NFD and HFD. 4) Means are not significantly different between three experimental groups.

Adiponectin은 adipocyte complement-related protein of 30 kD (ACRP30), adipose most abundant gene transcript (apM1), gelatin binding protein of 28 kD (GBD 28) 및 adipoQ 등 각기 다른 이름으로 불리는 물질로 오직 지방세포에서만 합성·분비되는 물질로 244개의 아미노산으로 구성되어 있으며, TNF- α 와 유사한 구조를 갖는 물질이다. 대부분의 adipokines가 비만 시에 증가되어 여러 가지 대사이상을 매개하거나 악화시키는 것과 달리 adiponectin은 비만 시에 감소되어 혈당강하, 항염증, 혈관보호작용 등의 유익한 효과를 발휘한다.^{6,23,24} 체지방량이 증가할수록 adiponectin이 감소하는 기전은 아직 확실치 않으나 지방세포의 양과 비례하여 증가하는 TNF- α 와 같은 물질에 의한 억제 작용이 관여할 것으로 생각되고 있다.^{25,26} 그러나 본 연구에서 조릿대 추출물을 급여한 BSE군과 BLW군의 adiponectin 농도는 각각 $18.78 \pm 1.49 \mu\text{g/mL}$ 과 $24.51 \pm 4.26 \mu\text{g/mL}$ 이었으며, HFD군과 비교해 유의한 차이가 없었으며, BSE군은 BLW군에 비하여 유의하게 낮은 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 상기 체지방량과 adiponectin과 관련된 보고^{6,23,24}와는 다른 결과를 나타내었으며, 이는 adiponectin 농도를 매개한다고 알려진 TNF- α 와 같은 다른 물질들과의 상관관계에 대한 추후 연구를 통해 규명되어야 할 것으로 생각된다.

Resistin은 3T3-L1 세포와 비만동물 모델에서 그 mRNA 발현이 증가하고, 성숙한 지방세포를 인슐린 감작제인 rosiglitazone에 노출시켰을 때 그 발현이 저하되는 단백질로, 지방조직의 증가와 인슐린저항성을 연결시키는 매개체로 생각된다.^{8,27} 또한 in vivo와 in vitro 실험 모델 모두에서 인슐린저항성을 야기시키는 것으로 알려져 비만 매개 제2형 당뇨병 발생 기전의 조절자로 여겨지고 있다.^{28,29} 본 연구에서 resistin 농도는 Fig. 3B와 같았다. HFD군이 $22.34 \pm 2.01 \text{ ng/mL}$ 이었고 NFD군은 $22.01 \pm 2.80 \text{ ng/mL}$ 으로 두 군 사이에 유의한 차이가 없었다. BSE군과 BLW군의 resistin 농도는 각각 $24.82 \pm 2.25 \text{ ng/mL}$ 와 $20.75 \pm 2.09 \text{ ng/mL}$ 로 HFD군과 유의한 차이는 없었다. 본 연구결과는 Steppan 등³⁰이 보고한 비만한 쥐에서 혈중 resistin 농도가 증가했다는 보고와 일치하지 않는다. 그러나 Boucher 등³⁰의 연구에서 고지방식을 급여한 C57BL/6J군과 정상식을 급여한 C57/BL6J군의 후 복막 지방 조직에서의 resistin mRNA의 차이가 유의적이지 않았다는 보고와 동일한 경향이였다. Jung 등³¹은 제2형 당뇨병 환자에게 rosiglitazone을 6개월간 투약하였을 때 혈중 resistin이 감소하였으나 비만과는 연관성이 없었다고 보고하였다. 또한 Ryu 등³²의 연구에서도 비만군과 당뇨군 및

비비만군 사이에 혈장 resistin 농도가 유의적인 차이를 보이지 않았다. 상기 연구는 사람을 대상으로 실시한 연구이므로 본 연구결과와 직접적인 비교는 어려우나 일관된 결과가 나타나지 않아 resistin과 비만의 상관관계에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 생각된다.

혈장 C-reactive protein 및 homocysteine 농도에 미친 영향

염증반응과 세포 및 조직대사의 비 특이적인 반응이 있을 때 증가하는 CRP는 심혈관 질환의 강력한 예측인자 및 독립적 위험인자로 알려져 있으며, CRP와 관련된 요인으로 연령, 흡연, 비만, 고혈압, 고지혈증 등이 제시되어 있다.^{10,33} 최근에는 CRP 농도가 이들 대사증후군의 구성요소와 밀접한 관계가 있으며, 혈관합병증의 예측인자이므로 CRP를 대사증후군의 한 요소로 보아야 한다는 의견이 제시되기도 하였다.² Sajio 등³⁴은 CRP가 내장지방조직과 관련이 있다고 하였으며, 지방섭취가 많을수록, 섬유질 섭취가 적을수록 CRP 농도도 증가한다고 보고하였다.³⁵ 비만에서 CRP 농도가 높은 것은 지방세포에서 IL-6과 같은 adipokine의 발현이 증가하고 혈중 분비가 상승된 때문으로 설명된다. IL-6은 간에서 CRP 분비를 자극하는 염증반응개시 인자이다. 즉, 지방세포가 CRP 농도를 조절하는 주요 조절자라고 할 수 있다.^{2,10,25} 최근 Ouchi 등²⁵은 지방세포에서 CRP mRNA의 발현을 보고하였으며, 혈중 adiponectin 농도와의 음의 상관관계를 갖는다고 하였다. 상기 보고들은 혈중 CRP 농도가 비만 연관 심혈관 질환의 발생기전과 밀접한 관련이 있음을 시사하며 비만 매개 심혈관 질환의 예측인자로서 유용 가능성을 제시한다. 본 연구에서 조릿대 잎 추출물 첨가식이 급여가 혈장 CRP에 미치는 영향은 Fig. 4A와 같았다. HFD군의 CRP 농도는 $4.82 \pm 1.14 \text{ ng/mL}$ 이었고 NFD군은 $2.83 \pm 0.82 \text{ ng/mL}$ 으로 HFD군이 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다. BSE군과 BLW군은 각각 $3.14 \pm 0.29 \text{ ng/mL}$ 와 $2.40 \pm 0.40 \text{ ng/mL}$ 이었으며, HFD군에 비하여 BSE군은 낮은 경향을 보였고, BLW군은 유의하게 낮았다. 이러한 결과는 고지방 식이로 인해 심혈관 질환의 위험률이 증가했으며, 조릿대 잎 추출물 특히, 열수 추출물의 섭취가 심혈관질환 위험률을 감소시킬 수 있음을 시사한다.

염증반응과 관련하여 아테롬성혈관 질환 유발인자 중의 하나로 Hcy가 잘 알려져 있다. 건강인과 당뇨, 비만 및 심혈관질환자를 대상으로 한 환자대조군 연구^{12,36-38} 및 in vivo 연구³⁹에서 고호모시스테인혈증과 고인슐린혈증 및 인슐린저항성과의 연관성이 밝혀짐에 따라 비만과 당뇨 및

심혈관 질환에서 Hcy의 역할 및 관련 기작이 주목받고 있다. 고인슐린혈증은 Hcy 대사관련 효소 즉 methylene tetrahydrofolate reductase와 cystathionine-β-synthase의 활성을 감소시킴으로써 고호모시스테인혈증을 야기한다.³⁷⁻³⁹⁾ Golbahar 등³⁹⁾은 최근 in vivo 연구에서 Hcy 자체가 인슐린저항증을 유발하므로 혈장 Hcy 상승을 비만과 제2형 당뇨병환자의 위험인자로 고려해야 한다고 하였다. 한편 고호모시스테인혈증도 대사증후군의 범주에 포함시켜야 한다는 주장도 있다.^{12,40)} 따라서 상기 연구 결과들을 종합해 볼 때, 혈장 Hcy 농도는 비만 매개 심혈관 질환의 예측 인자로 사용될 수 있음을 시사한다. 본 연구에서 조릿대 잎 추출의 식이를 통한 급여가 혈장 Hcy 농도에 미친 영향은 Fig. 4B와 같았다. HFD군의 Hcy 농도는 $16.13 \pm 0.47 \mu\text{mol/L}$ 이었고 NFD군은 $12.62 \pm 0.94 \mu\text{mol/L}$ 으로 HFD군이 NFD군에 비하여 유의하게 높았다. BSE군과 BLW군은 각각 $11.55 \pm 0.78 \mu\text{mol/L}$ 와 $11.85 \pm 1.07 \mu\text{mol/L}$ 이었으며, HFD군에 비하여 각각 유의하게 낮았다. 이러한 결과는 고지방 식이에 의해 심혈관 질환의 위험률이 증가했으며, 조

릿대 잎 추출물이 심혈관 위험률을 감소시킬 수 있다는 점을 시사한다.

조릿대 잎 열수추출물의 급여가 혈장 CRP와 Hcy 농도를 감소시켰고 에탄올 추출물이 Hcy 농도를 저하시킨 본 연구 결과는 조릿대 잎 추출물의 섭취가 심혈관 질환의 위험을 감소시킬 수 있음을 알려준다. 그러나 상기한대로 이들 두 인자 모두 비만과 밀접한 관련이 있는바, 이러한 효과가 체지방 축적의 감소에 의한 간접적 결과인지 아니면 CRP와 Hcy 대사를 직접적으로 조절한 때문인지에 대해서는 비비만 심혈관 질환 모델을 통한 추후 연구를 통해 검증되어야 할 것으로 생각된다.

체중과 혈장 Adiponectin, resistin, C-reactive protein 및 homocysteine과의 상관관계

체중과 혈장 adiponectin resistin, CRP 및 Hcy 농도와 의 상관관계는 Fig. 5와 같았다. Adiponectin은 체중과 유의한 음의 상관관계 ($r = -0.500, p < 0.05$)가 있었고, Hcy는 체중 ($r = 0.428, p < 0.05$), 체지방량 ($r = 0.496, p <$

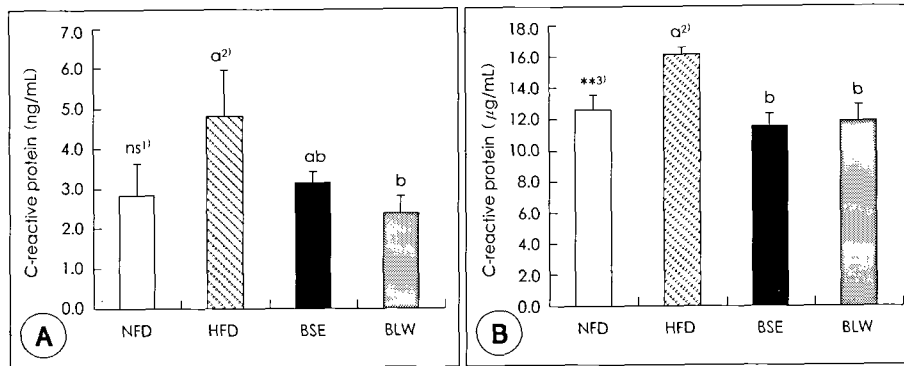


Fig. 4. Effect of *Sasa borealis* leaves extract on plasma C-reactive protein and homocysteine levels in C57/BL6J mice. NFD: mice fed the normal fat diet, HFD: mice fed the high fat diet, BSE: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves ethanol extract, BLW: mice fed the high fat diet containing 5% *Sasa borealis* leaves water extract. 1) Means with different small letters within a column are not significantly different between NFD and HFD. 2) Means with different small letters within a column are significantly different between three experimental groups by ANOVA with Duncan's multiple range test (*: $p < 0.05$). 3) Significantly different between the NFD and the HFD by t-test (**: $p < 0.01$).

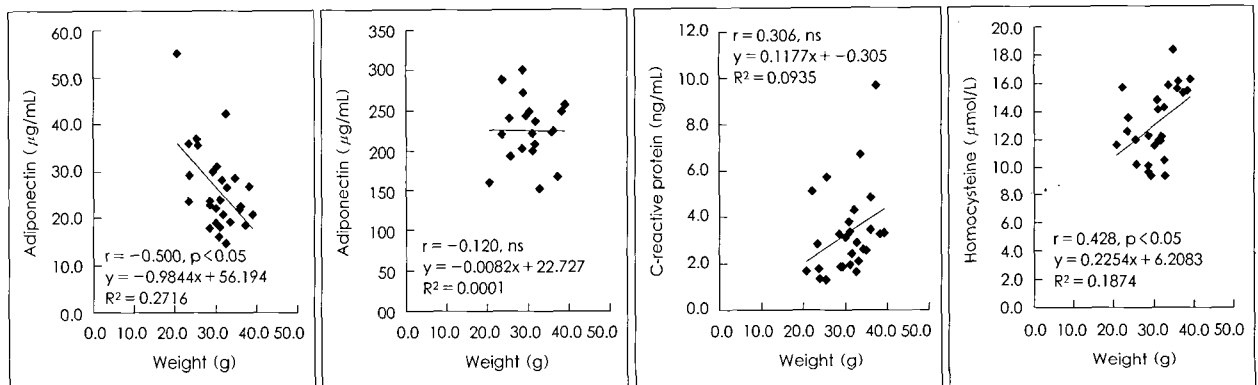


Fig. 5. Correlations between body weight and plasma adiponectin, resistin, C-reactive protein, and homocysteine levels.

0.05) 및 체지방률 ($r = 0.460$, $p < 0.05$)과 유의한 양의 상관관계를 보였으며, 부위별 지방량 즉 복부 지방량 ($r = 0.501$, $p < 0.05$), 부고환지방량 ($r = 0.519$, $p < 0.05$) 및 피하 지방량 ($r = 0.464$, $p < 0.05$)과도 모두 유의한 양의 상관관계를 보였다. 이러한 결과는 체지방이 증가함에 따라 adiponectin이 감소된다는 보고와 일치한다.^{6,23-26}) Resistin과 지방량과의 관계에는 상반된 결과들이 보고^{1-3,7}) 되고 있으나 본 연구에서는 유의한 관련성이 나타나지 않았다. 한편 Hcy 농도와 체중, 체지방량, 부위별 지방량 및 체지방률과 양의 상관성을 보인 본 연구결과는 혈장 Hcy 농도가 비만과 관련성이 높은 지표임을 시사한다.

요약 및 결론

본 연구에서는 조릿대 잎 추출물의 섭취가 식이로 비만이 유도된 C57/BL6J 마우스의 체중과 체지방량에 미치는 영향을 살펴보고, 지방조직에서 분비되는 adiponectin, resistin 및 CRP와 Hcy에 미치는 효과를 규명하였다. 즉, C57/BL6J 마우스에게 16주 동안 고지방식을 급여하여 비만을 유도하였고, 70% 에탄올 (BSE)과 열수 (BLW)로 추출하여 동결건조한 조릿대 잎 추출물을 고지방식에 5%로 첨가하여 11주 동안 급여한 실험군과 고지방식만을 섭취시킨 고지방식이 대조군 (HFD) 및 정상지방식만을 섭취시킨 정상식이 대조군 (NFD)으로 구분하여 체중 인자를 비교하였다. 실험 종료 후 조릿대 잎 추출물을 섭취한 BSE군 및 BLW군 모두 HFD군에 비하여 체중이 유의하게 낮았으며, 이러한 체중 감소 효과는 체지방량 축적 감소에서 기인하였고, 추출용매에 따른 감소 효과에는 유의한 차이가 없었다. 지방세포에서 분비되는 adipokines인 adiponectin과 resistin의 혈장 농도는 조릿대 잎 추출물을 섭취한 BSE군 및 BLW군 모두 HFD군에 비하여 감소하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. 한편 지방 세포에 의해 간접 조절을 받는 것으로 알려진 혈장 CRP는 HFD군에 비하여 BLW군에서 유의하게 저하되었고, 혈장 Hcy 농도는 BSE군과 BLW군 모두에서 HFD군에 비하여 유의하게 감소하였다. 본 연구결과는 조릿대 잎 추출물의 섭취가 고지방식으로 유도된 비만에 있어 체지방 축적 억제 등을 통한 체중감량효과가 있으며, 비만 매개 당뇨 및 심혈관 질환을 개선시킬 수 있는 기능성 식품소재로서의 가능성이 있음을 보여주었다.

■ 감사의 글

이 논문은 '2004년도 전남대학교 학술연구비 지원'에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Trayhurn P. Endocrine and signaling role of adipose tissue: new perspectives on fat. *Acta Physiol Scand* 2005; 184: 285-293
- 2) Fulop T, Tessier D, Carpentier A. The metabolic syndrome. *Pathologie Biologie* 2006; 54: 375-386
- 3) Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269(5223): 543-546
- 4) Ahren B, Larsson H, Whihelmsson C. Regulation of circulating leptin levels in humans. *Endocrinol* 1997; 7(1): 1-7
- 5) Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(1): 29-33
- 6) Havel PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 51-59
- 7) Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* 2003; 46(12): 1594-1603
- 8) Stepan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004; 255(4): 439-447
- 9) Lafontann M, Viguier N. Role of adipokines in the control of energy metabolism: focus on adiponectin. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6: 580-585
- 10) Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subject: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972-978
- 11) Martos R, Valle M, Morales R, Canete R, Gavilan MI, Sanchez-Margalet V. Hyperhomocysteinemia correlates with insulin resistance and low-grade systemic inflammation in obese prepubertal children. *Metabolism Clinical and Experimental* 2006; 55: 72-77
- 12) Oron-Herman M, Rosdotoai T, Sela BA. Hyperhomocysteinemia as a component of syndrom X. *Metabolism* 2003; 52: 1491-1495
- 13) Kovacs EMR, Westerterp-Plantenga MS, de Vries M. Effect of 2-week ingestion of (-)-hydroxycitrate and (-)-hydroxycitrate combined with medium-chain triglycerides on satiety and food intake. *Physiol Behav* 2001; 74: 543-549
- 14) Westerterp-Plantenga MS, Kovacs EMR. The paradoxical effect of (-)-hydroxycitrate on energy intake regulation in humans. *Int J Obes* 2002; 24: S189-192
- 15) Lee E. Effect of powdered pine needle on serum and liver lipid composition and antioxidative capacity in rats fed high oxidative fat. *J Korean Soc Food Nutr* 2003; 32: 926-930
- 16) Lee CH, Choi BK, Lee WC, Park CI, Yaziro F, Kimura S. Effect of dietary protein levels, caffeine and green tea and body fat composition in Wistar Rats. *J Korean Soc Food Nutr* 1999; 21: 595-600
- 17) Kao YH, Hipakka RA, Liao S. Modulation of obesity by green tea catechin. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1232-1234
- 18) Kim YJ, Kim BH, Lee SY, Kim MS, Park CS, Rhee MS, Lee KH, Kim DS. Screening of Medicinal Plants for Development of

- Functional Food Ingredients with Anti-Obesity. *J Kor Soc Appl Biol Chem* 2006; 49: 221-226
- 19) Kim MJ, Byun MW, Jang MS. Physiological and antibacterial activity of bamboo (*Sasa voreana Nakai*) leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1996; 25: 135-142
 - 20) Chuyen NV, Kurata T, Kato H, Fujimaki M. Antimicrobiol activity of kumazasa (*Sasa albomarginata*). *Agric Biol Chem* 1982; 46: 971
 - 21) Shin MK, Han SH. Effect of methanol extracts from bamboo (*Pseudosasa japonica Makino*) leaves extract on lipid metabolism in rats fed high fat and high cholesterol diet. *Korean J Die Culture* 2002; 17(1): 30-36
 - 22) Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem* 2001; 49(10): 4646-4655
 - 23) Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipokines and insulin resistance. *Diabetologia* 2003; 46: 1594-1603
 - 24) Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nature Medicine* 2001; 7: 941-946
 - 25) Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14: 561-566
 - 26) Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, Patel HR, Berg AH, Pajvani UB, Scherer PE, Ahima RS. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nature Medicine* 2004; 10: 524-529
 - 27) Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2000; 409(6818): 307-312
 - 28) Vidal-Puig A, O'Rahilly S. Resistin: a new link between obesity and insulin resistance? *Clin Endocrinol* 2001; 55: 437-438
 - 29) Shuldiner AR, Yang R, Gong DW. Resistin, obesity and insulin resistance-the emerging role of the adipocytes as an endocrine organ. *N Engl J Med* 2001; 345: 1345-1346
 - 30) Boucher J, Castan-Laurell I, Daviaud D, Guigne C, Buleon M, Carpenne C, Saulnier-Blache JS, Valet P. Adipokine expression profile on adipocytes of different mouse models of obesity. *Horm Metab Res* 2005; 37(12): 761-767
 - 31) Jung HS, Youn BS, Cho YM, Yu KY, Park HJ, Shin CS, Kim SY, Lee HK, Park KS. The effect of rosiglitazone and metformin on the plasma concentrations of resistin in patients type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2005; 54: 314-320
 - 32) Ryu ST, Park SO, Kim SH. The ratio of serum adiponectin and resistin concentrations with metabolic risk factors. *The Korean Soc Endocrinol* 2005; 20(5): 444-451
 - 33) Schwartz MW, Prigeon RL, Kan SE, Nicolson M, Moore J, Morawiecki A, Boyko EJ, Porte D. Evidence that plasma leptin and insulin levels are associated with body adiposity via different mechanisms. *Diabetes Care* 1997; 20(9): 1476-1471
 - 34) Saijio Y, Kiyota N, Kawasaki Y, Miyazaki Y, Kashimura J, Fukuda M. Relationship between C-reactive protein and visceral adipose tissue in healthy Japanese subjects. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2004; 6(4): 249-258
 - 35) Dana E, King MD, Brent M, Egan MD, Mark E, Geesey MS. Relationship of dietary fat and fiber to elevation of C-reactive protein. *Am J Cardiol* 2003; 92(11): 1335-1339
 - 36) Sanchez-Margalet V, Valle M, Ruz FJ, Gascon F, Mateo J, Goberna R. Elevated plasma total homocysteine levels in hyperinsulinemic obese subjects. *J Nutr Biochem* 2002; 13(2): 75-79
 - 37) Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, Stehouwer CD. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. *Atherosclerosis* 1998; 139(1): 197-198
 - 38) Emoto M, Kanda H, Shoji T, Kawagishi T, Komatsu M, Mori K, Tahara H, Ishimura E, Inaba M, Okuno Y, Nishizawa Y. Impact of insulin resistance and nephropathy on homocysteine in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24(3): 533-538
 - 39) Golbahar J, Aminzadeh MA, Kassab SE, Omrani GR. Hyperhomocysteinemia induces insulin resistance in male Sprague-Dawley rats. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2007; 76: 1-5
 - 40) Martos R, Valle M, Morales R, Canete R, Gavilan MI, Sanchez-Margalet V. Hyperhomocysteinemia correlates with insulin resistance and low-grade systemic inflammation in obese prepubertal children. *Metabolism Clinical and Experimental* 2006; 55: 72-77