

율무, 보리, 미강 유기용매 추출물의 항산화능과 포도당 및 지방산 대사에 미치는 영향

박태식 · 이수연 · 김현진* · 김경탁* · 김영준** · 정인혜** · 도완녀*** · †이혜정****

이길여 암당뇨연구원, *한국식품연구원, **고려대학교 식품생명공학과
강릉원주대학교 식품영양학과, *가천의과학대학교 식품영양학과

Extracts of Adlay, Barley and Rice Bran have Antioxidant Activity and Modulate Fatty Acid Metabolism in Adipocytes

Tae-Sik Park, Su-Yeon Lee, Hyun-Jin Kim*, Kyung-Tack Kim*, Young Jun Kim**

Inhye Jeong**, Wan-Nyo Do*** and †Hye-Jeong Lee****

Lee Gil Ya Cancer and Diabetes Institute, Incheon 406-840, Korea

**Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea*

***Dept. of Food and Biotechnology, Korea University, Seoul 136-713, Korea*

****Dept. of Food & Nutrition, Gangnung-Won Ju National University, Gangneung 220-711, Korea*

*****Dept. of Food & Nutrition, Gachon University of Medicine and Science, Incheon 406-799, Korea*

Abstract

Adlay, barley and rice bran were extracted using various concentrations of methanol(10% and 80%) and chloroform : methanol(2 : 1) to examine the biological activities of these raw grains. Extraction with 80% methanol resulted in high Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity(VCEAC), in the order of barley > rice bran > adlay, as determined by DPPH and ABTS assays. In addition, the extracts of adlay and rice bran showed high cellular antioxidant activity in HepG2 cells possibly due to the presence of polyphenol glycosides in these grains. We examined the expression of glucose/fatty acid metabolizing genes in differentiated 3T3-L1 adipocyte cells. Glut1 was downregulated after treatment with rice bran and no changes in the expression of Glut4 was observed. In contrast, genes involved in fatty acid metabolism, CD36 and aP2, were upregulated. Since these physiological changes were matched with peroxisome proliferator activating receptor γ (PPAR γ) agonism, we suggest that the extracts from adlay, barley and rice bran may play preventive roles against aging and diabetes via antioxidant activity and increased uptake of fatty acids by adipocytes.

Key words: antioxidant activity, fatty acid metabolism, PPAR γ , aging, diabetes.

서론

최근 사회적 생활 방식의 변화와 서구적 식습관의 선호에 따라 성인병의 유병율이 급격하게 증가하고 있다(Must 등 1999). 특히 운동 부족, 앉아서 일하는 노동양식, 그리고 고지방 식이에 의한 과영양 상태는 비만을 초래하게 되고 증가된

혈중 지방산 및 중성지방은 당뇨병, 고지혈증, 관상동맥질환, 고혈압 등 성인병 발병의 원인이 된다(Must 등 1999).

건강 증진과 질병 예방을 위한 자연식 식이요법이 당뇨병 환자에게 적용되어 왔으며 꾸준한 관심이 집중되어 왔다. 따라서 식품함유물이 가지는 생리활성과 영양소 조절을 통하여 성인성 질환의 발병을 예방하고자 하는 연구가 활발히 수

† Corresponding author: Hye-Jeong Lee, Dept of Food and Nutrition, Gachon University of Medicine and Science, 534-2 Yeonsu-dong, Yeonsu-Gu, Incheon 406-799, Korea. Tel: +82-2-820-4232, Fax: +82-2-813-3570, E-mail: hjlee@gachon.ac.kr

행되고 있다. 이 중 주식으로 섭취되는 잡곡류의 생리 활성과 영양학적 역할의 규명 연구가 진행되고 있다(Brand-Miller 등 2008).

이 중 율무는 연구가 활발히 진행되어 식품뿐 아니라 한약 재료 이용되어 왔으며 그 생리활성이 널리 알려져 왔다. 알려진 율무의 생리활성물질인 coixol은 진통작용을 가지고 있고(Ukita & Tanimura 1961), 종자에 함유되어 있는 항암성분인 coixenolide(Numata 등 1994), 혈당 강하 성분인 coixans A, B, C가 널리 알려져 있다(Takahashi 등 1986). 또한, 율무는 혈중 중성지방을 감소시키고 HDL-콜레스테롤을 증가시켜 동맥경화의 발생을 저해하며(Chung 등 1988; Kim 등 2004), 염증 관련 cytokine의 증가를 일으켜 면역기능의 증강 가능성이 제시되고 있다(Ryu & Kim 2006). 이 외에도 보리에 함유되어 있는 catechine과 proanthocyanidine이 항산화 및 항암효과가 있으며(Kim 등 2004), 보리 함유 식이는 LDL-콜레스테롤을 낮추어 관상동맥질환의 발병에 예방효과가 있음이 알려져 있다(Behall 등 2004; McIntosh 등 1991). 미강은 섬유소의 함량이 높은 것으로 알려져 있으며, 함유 다당체인 SRBPS2a가 항종양 효능을 가지고 있음이 알려져 있다(Renuka Devi & Arumughan 2007; Wang 등 2009).

비만에 의한 혈중 유리지방산의 증가가 인슐린 저항성을 유발하는 원인 중 하나로 알려져 있다(Petersen & Shulman 2006). 이때 증가된 혈중 유리지방산을 기질로 이용하여 지방 독성(lipotoxicity)을 갖는 지질대사체가 세포 내에서 합성되고 인슐린 신호 전달계를 저해하여 혈중 포도당의 조직 내 유입이 감소하게 된다. 이러한 인슐린 저항성의 치료에는 1) 선택적인 섭식을 통한 지질 섭취의 감소나 지방산 산화를 증가시키는 약물의 섭취를 통해 지방 조직을 감소시킴으로 혈중 지방산 농도를 저하시키거나, 2) 혈중 지방산의 지방조직 유입을 증가시키는 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) 항진제 치료와 같은 방법이 적용되고 있다(Lee 등 2003). 곡류 섭취에 의한 영양학적 효능의 예로 성인이 곡류 생식을 일정기간 섭취 시 BMI가 감소하며(Seo 등 2001), 율무 추출물이 뇌하수체의 neuropeptide Y와 leptin receptor를 감소시키고 혈중 중성지방의 감소와 leptin의 증가를 유발하여 결과적으로 지방조직의 성장을 저해한다는 연구결과가 보고되었다(Kim 등 2004; Kim 등 2007). 또한 율무, 메밀, 보리의 섭취가 비만에 기인하여 발병하는 성인성 만성 질환의 여러 위험인자들을 억제됨이 최근 1보고되었다(Son 등 2008). 이와 같이 대사성 질환의 원인으로 알려진 비만이 곡류 및 곡류 추출물의 섭취에 의해 예방된다는 사실에 비추어 볼 때 잡곡류 성분의 생리활성을 이용하여 비만에 대한 영양학적 효능을 갖는 기능성 식품으로서의 개발이 가능할 것이다.

본 연구에서는 율무, 보리, 미강을 유기용매로 추출한 추

출물의 항산화능을 측정하고, 분화된 지방세포에서 세포 내 포도당 및 지방산의 유입과 대사 조절에 대한 영향을 분석하여 곡류 추출물이 포도당/지방산 대사에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 곡류의 시료 추출

율무, 미강, 찰보리는 농협 하나로 마트에서 구입하였고, 실험에 사용된 시약 및 표준품은 Sigma-Aldrich(USA)에서 구입하여 사용하였다. 분쇄한 율무(adlay), 찰보리(barley), 미강(rice bran) 10 g을 10% 메탄올(Me10), 80% 메탄올(Me80), 클로로포름과 메탄올 혼합용매(2:1)(Ch:Me) 100 ml로 각각 실온에서 12시간 추출한 후 상등액을 동결건조하여 본 실험에 사용하였다.

2. 항산화능 측정

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) 소거능력은 spectrophotometer를 이용해 측정하였다. 추출물 시료를 준비한 후, 517 nm에서 0.7의 값을 나타내도록 DPPH 용액을 맞춰 놓았다. 시료 0.1 ml와 DPPH 용액 2.9 ml를 섞은 뒤 30 min 간 암반응시키고 표준물질의 O.D.에 대한 농도의 표준 회기곡선을 구한 뒤 시료의 항산화능을 백분율로 측정하였다(van den Berg 등 1999).

다른 방법으로 ABTS(stable oxidized free radical)의 소거능력을 통해 항산화 효과를 측정한다. 70°C에서 1.0 mM AAPH(2,2'-azobis-(2-amidinopropane)HCl)와 2.5 mM ABTS(2,2'-azobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)을 100 ml의 PBS에 30 min간 녹여준다. 상온에서 서서히 식혀주면서 ABTS 용액이 0.65 정도의 O.D.를 나타낼 때까지 734 nm에서 회색한다. 용액을 필터로 여과한 후, 37°C에서 측정한다. 20 ml의 시료과 980 ml의 ABTS 용액을 10 min간 반응시키면서 O.D.를 측정한 후 항산화능을 측정하였다. DPPH radical과 ABTS radical의 소거능은 항산화능은 아래와 같은 공식에 의하여 구하였다(Brand-Williams 등 1995).

$$\text{Antioxidant capacity(\%)} = 100 - 100 \times \frac{\text{Sample의 O.D.} - \text{Blank의 O.D.}}{\text{Control의 O.D.} - \text{Blank의 O.D.}}$$

Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity(VCEAC)는 vitamin C 표준용액을 준비하여 DPPH와 ABTS에 대한 항산화능을 측정하고 표준 회기곡선을 구한 후 각 곡류 추출물 100 mg/ 100 ml에서 항산화능을 측정하여 그에 대비하는 vitamin C의 농도(X ml/100 ml)를 계산한다.

3. 세포 항산화능의 측정

HepG2 세포를 2주에 걸쳐 10% FBS를 함유한 RPMI 1640 배양액에서 계대배양을 통해 활성화시키고, 6×10^4 HepG2 cells/well/100 μl 를 96 well-plate에 seeding하여 24시간 동안 배양한다. 배지를 걷어내고 10 μM quercetin 또는 2,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 시료와 25 μM 의 DCFH-DA를 100 μl 의 media에 혼합하여 처리한다. 한 시간 뒤 600 μM ABAP/100 μl HBSS의 oxidant를 첨가해 준 뒤 fluorometer(485 nm ex/538 em)로 1 hr 동안 5 min 간격으로 측정한다(Wolfe & Liu 2007). 세포 항산화능은 아래와 같은 공식에 의해 구하였다.

$$\text{Cellular antioxidant activity unit(\%)} = 100 - \left(\frac{\int SA}{\int CA} \right) \times 100$$

$\int SA$ 는 시료의 time curve에 대한 적분된 area under curve (AUC)이며, $\int CA$ 는 대조군 curve에 대한 적분된 AUC이다. Quercetin 10 μM 의 세포항산화능에 대비하여 요구되는 곡류 추출물의 농도의 계산은 다음과 같다.

$$\mu\text{g of extracts equivalent to CAA of } 10 \mu\text{M quercetin} = 2,000 \mu\text{g} \times (\text{CAA of quercetin} / \text{CAA of grain extracts at } 2,000 \mu\text{g/ml})$$

4. 3T3-L1 지방세포 배양 및 추출물 처리

비분화된 3T3-L1 지방세포를 10% calf serum과 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)에 배양한다. 3T3-L1 지방세포의 분화를 위해 인슐린 5 $\mu\text{g/ml}$, 0.25 μM dexamethasone, 0.5 mM isobutylmethylxanthine를 2일 동안 10% fetal bovine serum (FBS)과 DMEM에서 배양한다. 이후 1 $\mu\text{g/ml}$ 인슐린을 포함한 FBS/DMEM에서 2일 동안 배양한다. 울무, 보리, 미강을 10% 메탄올, 80% 메탄올, 클로로포름 : 메탄올(2 : 1)로 각각 추출한 후 동결 건조한 분말을 dimethylsulfoxide(DMSO)에 용해하여 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 FBS/DMEM으로 48시간 동안 분화된 3T3-L1 세포에 처리하였다.

5. RNA 추출 및 RT-PCR 분석을 통한 유전자 발현 정량

각 추출물을 48시간 동안 처리한 후 Trizol로 RNA를 추출하고 cDNA synthesis kit(Invitrogen)을 이용하여 cDNA를 합성한다. 유전자 발현은 각 유전자에 대한 primer와 SYBR Green Master mix(Applied Biosystem)을 이용하여 7300 Real-Time PCR system(Applied Biosystem)으로 측정한다(Park 등 2008). 측정된 특정 유전자와 사용된 Primer 목록은 Table 1에 나타내었다.

6. 통계 분석

분석 결과에 대한 통계 분석은 Prism 3.0(GraphPad Software)

Table 1. Primer sequences for expression of glucose/fatty acid metabolizing genes

Gene ¹⁾	Sense/ antisense	Primer sequence
Actin	Sense	5'-GACGTTGACATCCGTAAG-3'
	Antisense	5'-CAGTAACAGTCCGCCT-3'
GLUT1	Sense	5'-TCGTAACGAGGAGAACC-3'
	Anti-sense	5'-GGCCGTGTTGACGATA-3'
GLUT4	Sense	5'-AGAGTCTAAAGCGCCT-3'
	Anti-sense	5'-CCGAGACCAACGTGAA-3'
PDK4	Sense	5'-GACCGCTTAGTGAACAC-3'
	Antisense	5'-GTAACGGGTCCACTG-3'
CD36	Sense	5'-ATTGGTCAAGCCAGCT-3'
	Antisense	5'-TGTAGGCTCATCCACTAC-3'
ap2	Sense	5'-CAGCTCCTCTCGAAG-3'
	Antisense	5'-CCC GCCATCTAGGGTTA-3'
ACS1	Sense	5'-TACCCGACGTTGAGAGC-3'
	Anti-sense	5'-CATCTACTGCGACCTGA-3'
LpL	Sense	5'-AGCCAAACTCCCAGGACCAC-3'
	Anti-sense	5'-TCCAGCAGCAAAGCAGAAGG-3'

¹⁾ Actin, control gene; CD36, Fatty acid transporter; PDK4, Pyruvate dehydrogenase kinase4; ap2, Adipocyte Protein 2; GLUT1, Glucose transporter 1; GLUT4, Glucose transporter 4; LpL: Lipoprotein lipase; ACS1: Fatty Acyl CoA synthase 1.

을 이용하여 평균, 표준편차, *t*-test를 수행하였다. *p*<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 울무, 보리, 미강 추출물의 항산화능 측정

울무, 보리, 미강을 10%, 80% 메탄올, 클로로포름 : 메탄올(2 : 1)로 각각 추출하고, 추출물에 의한 활성산소 제거능의 생리활성을 측정하였다. 먼저 ABTS에 대한 free radical 소거능으로 항산화능을 측정하였다. 보리, 미강, 울무 모두 80% 메탄올로 추출한 샘플에서 가장 높은 항산화능을 나타내었으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 항산화능이 증가함을 발견할 수 있었다. 이때 보리 = 미강 > 울무 순으로 활성이 나타났다(Table 2) Ch : Me 추출물에서는 항산화 활성이 나타나지 않았는데(data not shown). 이 원인은 ABTS 항산화능 측정방법이 수용성 용액을 사용하기 때문에 유기용매 추출물의 용해도가 낮은 원인 때문으로 사료된다. 항산화능 측정의 또 다른 대표적 분석 방법인 DPPH 분석법을 이용하여 추출물의 free radical 소거능을 측정하였을 때에도 보리, 미강, 울

무 모두 80% methanol로 추출한 샘플에서 가장 높은 항산화능을 나타내었다. 이 경우에는 보리>미강>율무 순으로 활성이 나타났다(Table 3). DPPH 분석법은 용매를 메탄올로 쓰기 때문에 수용성 용액을 용매로 사용하는 ABTS assay보다 높게 나타날 경우 폴리페놀류와 같은 지용성 성분이 많은 것으로 해석할 수 있으며, 반대의 경우 항산화 활성이 지용성물질보다 수용성 고분자물질에 많이 존재하는 것으로 예측할 수 있다. 본 실험에서는 두 분석법간 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 특히 미강의 경우는 다른 두 곡류 추출물과 달리 ABTS 라디칼에 대한 항산화능이 상대적으로 높아 수용성 항산화물질이 더 많이 존재함을 추측할 수 있었다.

이 결과를 항산화 효과의 표준물질인 비타민 C와의 비교한 상대적인 소거능(Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity; VCEAC)으로 비교 및 분석하면 Table 4와 같다. 그러나 모든 시료에서 현저히 높은 VCEAC는 관찰되지 않았으며, 메탄올 80% 추출물에서 메탄올 10% 추출물이나 클로로포름 : 메탄올 추출물보다 항산화 활성이 더 높게 나타났다. 보리에서 메탄올에 의해 추출된 폴리페놀은 약 30% 증가된 TBA 항산화

Table 4. Vitamin C equivalent antioxidant capacity¹⁾ (VCEAC) of the grain extracts on DPPH and ABTS radicals

(mg/100 ml)	ABTS	DPPH
Barley Me10	0.10	0.19
Rice bran Me10	0.59	0.5
Adlay Me10	ND	0.1
Barley Me80	1.83	1.96
Rice bran Me80	1.89	1.02
Adlay Me80	0.95	1.11
Barley Ch : Me	ND	0.4
Rice bran Ch : Me	ND	0.72
Adlay Ch : Me	ND	0.4

¹⁾ VCEAC(Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity): Antioxidant activity of the sample 100 mg/100 ml equivalent to vitamin C X mg/100 ml according to the standard curve of vitamin C. ND: not detected.

Table 2. Antioxidant capacity(%) of grain extracts on ABTS radicals

Conc. (mg/100 ml)	20	40	60	80	100
Barley Me10 ¹⁾	1.75±0.01	1.90±0.01	1.75±0.01	2.05±0.01	2.85±0.01
Rice bran Me10	5.63±0.15	1.98±0.01	3.14±0.01	6.31±0.14	5.27±0.03
Adlay Me10	0.47±0.01	0.08±0.01	0.11±0.01	<0	0.24±0.01
Barley Me80 ²⁾	1.63±0.01	3.49±0.01	7.09±0.10	8.44±0.04	10.51±0.04
Rice bran Me80	5.14±0.10	2.35±0.01	5.43±0.02	8.51±0.10	10.73±0.15
Adlay Me80	ND	2.37±0.01	4.22±0.01	5.40±0.01	6.78±0.05

¹⁾ Me10, methanol 10% extracts; ²⁾ Me80, methanol 80% extracts; ND: not detected. n=3. Mean±S.D.

Table 3. Antioxidant capacity(%) of grain extracts on DPPH radicals

Conc. (mg/100 ml)	20	40	60	80	100
Barley Me10 ¹⁾	6.50±0.02	5.97±0.04	5.92±0.04	6.16±0.02	5.92±0.03
Rice bran Me10	6.59±0.03	7.06±0.01	6.69±0.06	3.89±0.21	7.54±0.02
Adlay Me10	4.14±0.01	5.99±0.06	6.06±0.05	5.13±0.03	5.47±0.05
Barley Me80 ²⁾	8.16±0.02	9.68±0.03	10.98±0.14	13.27±0.01	15.23±0.02
Rice bran Me80	7.00±0.02	7.29±0.11	7.82±0.19	9.96±0.12	10.30±0.21
Adlay Me80	1.82±0.04	2.58±0.23	7.86±0.09	8.56±0.20	10.74±0.04
Barley Ch : Me ³⁾	3.64±0.06	4.74±0.14	5.85±0.10	6.51±0.06	7.02±0.03
Rice bran Ch : Me	ND	4.67±0.11	7.00±0.22	8.05±0.17	8.70±0.05
Adlay Ch : Me	2.74±0.08	5.92±0.15	6.13±0.06	6.53±0.06	7.05±0.02

¹⁾ Me10, methanol 10% extracts; ²⁾ Me80, methanol 80% extracts, ³⁾ Ch : Me, chloroform:methanol extracts(2 : 1). ND, not detected. n=3. Mean±S.D.

능을 나타내는 연구결과가 보고되고 있어(Seog 등 2002) 메탄올 80% 추출물에서 관찰된 상대적으로 높은 항산화능은 폴리페놀 류의 배당체에 기인하는 것으로 추측된다. 한편, 미강의 메탄올 추출물은 약 30%의 TBA 항산화능을 증가시키고 (Chun 등 1999; Renuka Devi & Arumughan 2007), 미강에서 추출된 tocotrienol은 높은 항산화능을 가지며 세포내 항산화 관련 효소인 superoxide dismutase와 glutathione peroxidase의 활성을 증가시킨다는 연구가 보고된 바 있다(Woo 등 2005). 이러한 곡류 추출물에서 보여지는 항산화능은 보리에 함유된 폴리페놀과, 미강에서 유래된 추출물에 함유된 tocotrienol 및 ferulic acid가 각각 항산화 효능에 기여하는 것으로 사료된다(Renuka Devi & Arumughan 2007; Tamakawa 등 1997).

2. 울무, 보리, 미강 추출물의 세포 항산화능 측정

간세포인 HepG2 세포를 배양한 후 각 추출물 2,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 시료를 처리하여 항산화능을 측정하였다. 양성 대조군으로 10 μm 의 quercetin을 처리하여 비교하였을 때 80% 메탄올로 추출된 울무와 미강에서 유의적으로 높은 항산화능을 나타내었다. 하지만 나머지 그룹에서는 거의 세포 내 항산화능을 나타내지 않았다. 10 μm 의 quercetin과 같은 정도의 항산화능을 나타내기 위해서는 미강 메탄올 80% 추출물은 1,097 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 울무 메탄올 80% 추출물 1,058 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 정도의 고농도가 요구됨을 알 수 있었다. 클로로포름 : 메탄올 추출물의 경우 세포 항산화능이 나타나지 않았는데, 이는 지용성 성분의 용해도가 원인일 것으로 사료된다(Table 5).

Table 5. Cellular antioxidant capacity(CAA) in HepG2 hepatocytes(%)

	Cellular antioxidant capacity(%) ¹⁾	μg extracts equivalent to CAA of 10 μm quercetin
Quercetin	28.9 \pm 5.9	
Barley Me10	12.1 \pm 7.6	4,778
Rice bran Me10	25.5 \pm 6.5	2,266
Adlay Me10	19.7 \pm 7.8	2,931
Barley Me80	ND	-
Rice bran Me80	52.7 \pm 6.8	1,097
Adlay Me80	54.6 \pm 5.9	1,058
Barley Ch : Me	ND	-
Rice bran Ch : Me	ND	-
Adlay Ch : Me	ND	-

¹⁾ Each grain extracts 2,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or quercetin 10 μm were applied to HepG2 hepatocytes for 1 hr. ND: not detected. Mean \pm S.D.

3. 포도당/지방산 대사조절에 대한 추출물의 영향

지방세포인 3T3-L1 세포를 분화시킨 후 각 추출물을 첨가하여 포도당/지방산 유입 및 대사에 관련된 유전자 발현 조절에 대한 영향을 관찰하였다. 포도당의 세포 내 유입에 관여하는 glucose transporter(GLUT) 1은 미강 메탄올 10%, 울무 메탄올 80%, 보리 클로로포름 : 메탄올(2 : 1) 추출물에 의해 발현이 감소되었고 다른 포도당 유입 관련 단백질인 GLUT4는 미강 메탄올 10%, 울무 메탄올 80%, 보리 메탄올 80%, 울무와 보리 클로로포름 : 메탄올(2 : 1) 추출물에 의해 유전자 발현이 감소하였다. 이는 일부 추출물에 의해 포도당 transporter의 발현이 감소되어 포도당 유입이 감소된다는 것을 의미한다. 해당과정에서 피루브산이 acetyl CoA로 변화하는 데 관여하는 pyruvate dehydrogenase를 조절하는 pyruvate dehydrogenase kinase 4(PDK4)가 미강 메탄올 80%과 미강 클로로포름 : 메탄올(2 : 1) 추출물에 의해 유전자 발현이 증가함으로써 포도당의 해당 과정이 저해된다는 것을 알 수 있었다(Table 6). PDK4의 경우, 세포 내 지질 증가에 따라 발현이 조절되어 해당과정과 지방산 산화 정도를 결정하는 효소로 유기용매에 의해 추출된 지용성 성분에 의해 발현이 증가되는 것으로 사료된다.

지방산은 지방 조직에서 중성지방의 분해에 의해 생성되어 간에서 생성된 단백질인 알부민에 부착되어 조직에 전달된다. 이때에 알부민-지방산의 세포 내 유입을 담당하는 CD36는 보리와 미강의 클로로포름 : 메탄올(2 : 1) 추출물에 의해 유전자 발현이 증가하여 유리 지방산의 세포 내 유입이 증가할 것으로 예상된다. 유입된 유리지방산의 세포내 수송에 관여하는 adipocyte protein 2(aP2)의 발현 또한 보리 메탄올 10%, 미강 메탄올 10%, 미강 메탄올 80%, 울무와 미강의 클로로포름 : 메탄올(2 : 1) 추출물에 의해 증가되었다. 세포 내 유리지방산에 Coenzyme A를 부착하여 중성 지방 합성과 지방산 산화의 전구체로서 fatty acyl CoA를 만드는 acyl CoA synthase 1(ACS1)은 보리 클로로포름 : 메탄올(2 : 1) 추출물에 의해 발현이 증가하였다. 하지만 Very Low Density Lipoprotein(VLDL)이나 chylomicron과 같은 혈중 지방단백질의 세포 내 유입과 중성지방 분해를 담당하는 Lipoprotein Lipase(LpL)의 발현은 변화하지 않았다(Table 6). 이러한 결과는 지방세포 내 지방산의 유입 관련 유전자의 증가는 혈중 지질 감소에 기여할 것으로 해석된다.

당뇨병 치료에 가장 널리 사용되는 Thiazolidinedione(TZD) 계열의 PPAR γ 핵수용체 활성화 기전은 지방세포에서 지방산 유입 관련 유전자인 aP2, LpL, CD36의 발현을 증가시켜 지방산의 세포 내 유입을 증가시켜 혈중 지방산을 감소시킨다(Forman 등 1996; Lee 등 2003). 이 결과로 인슐린의 영향을 받는 근육 세포의 인슐린 감수성이 증가되고 세포 내 포도당 유입이 증가되어 혈중 포도당이 감소된다(Lee 등 2003). 본

Table 6. Modulation of expression profile of glucose/fatty acid metabolizing genes by grain extract treatment

	GLUT1	GLUT4	PDK4	CD36	aP2	ACS1	LpL
Control	1.0 ±0.17	1.0 ±0.3	1.0 ±0.3	1.0 ±0.4	1.0 ±0.11	1.0 ±0.19	1.0 ±0.37
Barley Me10	0.65±0.26	0.37±0.03	0.93±0.06	1.59±0.07	1.14±0.15	0.95±0.04	0.91±0.07
Rice bran Me10	0.87±0.20	0.84±0.38	0.82±0.14	0.99±0.21	1.53±0.14*	0.65±0.04	0.95±0.28
Adlay Me10	0.58±0.02*	0.28±0.01*	0.94±0.05	1.29±0.17	2.31±0.05*	0.71±0.14	0.60±0.02
Barley Me80	0.35±0.10*	0.23±0.06*	1.31±0.13	1.86±0.10	1.40±0.14	1.33±0.18	1.22±0.13
Rice bran Me80	0.65±0.24	0.26±0.12*	1.58±0.15	1.78±0.21	2.23±0.80	1.18±0.08	1.09±0.14
Adlay Me80	0.97±0.07	0.71±0.14	1.84±0.15*	1.93±0.03	1.59±0.13*	0.64±0.19	1.22±0.08
Barley Ch : Me	0.73±0.08	0.27±0.04*	1.59±0.11	2.04±0.25	2.48±0.36*	1.08±0.26	1.16±0.05
Rice bran Ch : Me	0.44±0.13*	0.17±0.07*	1.61±0.10	2.20±0.29*	1.46±0.19	1.77±0.06*	1.23±0.07
Adlay Ch : Me	0.72±0.35	0.43±0.14	3.51±0.29*	7.75±1.12*	3.67±0.85*	1.27±0.21	1.12±0.06

n=3, Mean±S.D., *p<0.05.

연구에서 관찰된 곡류 추출물에 의해 PPAR γ 활성화의 영향을 받는 유전자인 CD36와 aP2가 일부 추출물에 의해 발현이 증가되는 결과는 혈중 지방산 감소의 가능성을 제시하고 있다. 따라서 곡류의 섭취는 지방 섭취의 감소로 인하여 지방조직의 감소와 혈중 지방의 감소를 유발하며(Seo 등 2001) 이와는 독립적으로 지방세포의 포도당/지방산 대사가 조절되는 영양학적 효능을 갖는다고 제안한다.

요약 및 결론

본 연구는 주식으로 소비되는 곡류와 그 부산물의 생리적 활성 연구로서 노화와 당뇨병의 저해에 대한 연관성을 탐색하였다. 다양한 농도의 메탄올과 클로르포름으로 보리, 미강, 율무를 추출하여 항산화능과 포도당/지방산 대사를 측정하였다. 일부 추출물의 항산화능은 잘 알려진 항산화물질인 비타민 C에 비교했을 때 낮으나 유의적인 효능을 보였으며 세포에서 항산화능을 측정하였을 때 quercetin에 비해 낮지만 유의적인 효능이 세포에서도 관찰되었다. 분화된 지방세포 3T3-L1에서 일부 추출물의 처리는 포도당 유입체인 GLUT1과 GLUT4의 유전자 발현을 감소시켰으며, PDK4의 발현을 증가시켜 포도당의 유입의 저해와 해당과정의 저해를 초래할 것으로 예상된다. 한편, 지방산 유입 및 대사 유전자인 CD36와 aP2의 발현이 증가되었다는 사실은 지방세포 내 지방산의 유입이 증가되어 지방세포의 성숙에 추출물이 기여한다는 증거를 보여주고 있다.

결론적으로 곡류 추출물에서 나타나는 항산화 효과는 활성산소의 감소를 초래하여 세포의 노화를 예방할 수 있을 것으로 예상된다. 또한, 지방세포에서 나타나는 포도당 유입 감소 및 지방산 유입증가는 혈중 지방산의 감소를 초래하여 성인성 만성질환의 예방에 기여할 수 있는 영양학적 효능을 가

질 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Behall KM, Scholfield DJ, Hallfrisch J. 2004. Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. *Am J Clin Nutr* 80:1185-1193
- Brand-Miller J, McMillan-Price J, Steinbeck K, Caterson I. 2008. Carbohydrates-the good, the bad and the whole grain. *Asia Pac J Clin Nutr* 17 Suppl 1:16-19
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss Technol* 28:25-30
- Chun HS, You JE, Kim IH. 1999. Comparative antimutagenic and antioxidative activities of rice with different milling fractions. *Korean J Food Sci Technol* 31:1371-1377
- Chung BS, Suzuki H, Hayakawa S, Kim JH, Nishizawa Y. 1988. Studies on the plasma cholesterol-lowering component in Coix. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35:618-623
- Forman BM, Chen J, Evans RM. 1996. The peroxisome proliferator-activated receptors: ligands and activators. *Ann NY Acad Sci* 804:266-275
- Kim H, Kwak NJ, Lee JY, Choi BH, Lim Y, Ko YJ, Kim YH, Huh PW, Lee KH, Rha HK, Wang YP. 2004. Merlin neutralizes the inhibitory effect of Mdm2 on p53. *J Biol Chem* 279:7812-7818
- Kim SO, Kwak SH, Lee BH, Lee DH, Lim H, Yoo SE, Chung HJ, Lee MG. 2004. Dose-dependent pharmacokinetics of KR-31378, a new neuroprotective agent for ischaemia-reperfusion damage in dogs. *Biopharm Drug Dispos* 25:143-148

- Kim SO, Yun SJ, Jung B, Lee EH, Hahm DH, Shim I, Lee HJ. 2004. Hypolipidemic effects of crude extract of adlay seed (*Coix lachrymajobi* var. *mayuen*) in obesity rat fed high fat diet: relations of TNF-alpha and leptin mRNA expressions and serum lipid levels. *Life Sci* 75:1391-1404
- Kim SO, Yun SJ, Lee EH. 2007. The water extract of adlay seed (*Coix lachrymajobi* var. *mayuen*) exhibits anti-obesity effects through neuroendocrine modulation. *Am J Chin Med* 35: 297-308
- Lee CH, Olson P, Evans RM. 2003. Minireview: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Endocrinology* 144:2201-2207
- McIntosh GH, Whyte J, McArthur R, Nestel PJ. 1991. Barley and wheat foods: influence on plasma cholesterol concentrations in hypercholesterolemic men. *Am J Clin Nutr* 53: 1205-1209
- Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. 1999. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA* 282:1523-1529
- Numata M, Yamamoto A, Moribayashi A, Yamada H. 1994. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine *Coix lachryma-jobi*. *Planta Med* 60:356-359
- Park TS, Hu Y, Noh HL, Drosatos K, Okajima K, Buchanan J, Tuinei J, Homma S, Jiang XC, Abel ED, Goldberg IJ. 2008. Ceramide is a cardiotoxin in lipotoxic cardiomyopathy. *J Lipid Res* 49:2101-2112
- Petersen KF, Shulman GI. 2006. Etiology of insulin resistance. *Am J Med* 119:S10-16
- Renuka Devi R, Arumughan C. 2007. Antiradical efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran. *Food Chem Toxicol* 45:2014-2021
- Ryu HS, Kim HS. 2006. Effect of Job's tear(*Yul-moo*) extracts on mouse spleen and IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha cytokine production by peritoneal macrophage. *Korean J Food Nutr* 19:201-206
- Seo JS, Bang BH, Yeo IB. 2001. Effect of improved obesity with sprout raw grains and vegetables. *Korean J Food Nutr* 14: 150-160
- Seog HM, Seo MS, Kim HM. 2002. Antioxidative activity of barley polyphenol extract(BPE) separated from pearling by-products. *Korean J Food Sci Technol* 34:889-892
- Son BK, Kim JY, Lee SS. 2008. Effect of adlay, buckwheat and barley on lipid metabolism and aorta histopathology in rats fed an obesogenic diet. *Ann Nutr Metab* 52:181-187
- Takahashi M, Konno C, Hikino H. 1986. Isolation and hypoglycemic activity of coixans A, B and C, glycans of *Coix lachryma-jobi* var. *mayuen* seeds. *Planta Med* 64-65
- Tamakawa K, Iizuka S, Fukushima S, Endo Y. 1997. Antioxidant activity of polyphenol extracts from barley bran. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 44:512-515
- Ukita T, Tanimura A. 1961. Studies on the anti-tumor component in the seeds of *Coix lachrymal-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf, II. *Chem Phar Bul* 19:47-52
- van den Berg R, Haenen G, van den Berg H, Bast A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurement of mixtures. *Food Chem* 66:511-517
- Wang L, Huang H, Wei Y, Li X, Chen Z. 2009. Characterization and anti-tumor activities of sulfated polysaccharide SRBPS2a obtained from defatted rice bran. *Int J Biol Macromol* 45: 427-431
- Wolfe KL, Liu RH. 2007. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 55:8896-8907
- Woo KM, Lee YS, Kim YH. 2005. Antioxidant effects of toco-trienol in rice bran. *Korean J Crop Sci* 50:4-7

(2009년 8월 12일 접수; 2009년 9월 5일 채택)