

열수 녹차추출물이 생쥐의 체중 및 부고환 지방축적 조절에 미치는 영향

박필준 · 김채욱 · 조시영 · 라찬수 · 서대방 · 이상준*

(주)아모레퍼시픽 기술연구원

Aqueous Spray-dried Green Tea Extract Regulates Body Weight and Epididymal Fat Accumulation in Mice

Pil Joon Park, Chae Wook Kim, Si Young Cho, Chan Su Rha, Dae Bang Seo, and Sang Jun Lee*

Amorepacific Corporation R&D Center

Abstract To obtain the best yield of the beneficial ingredients in green tea, such as catechins, green tea powder is most often prepared by ethyl alcohol extraction. However, the taste, cost and composition of ethyl alcohol extract is different from aqueous spray-dried green tea extract (aq-GTE). Specifically, aq-GTE has a better flavor, lower production costs and higher purity when compared to ethyl alcohol extract. In this study, we elucidated the effect of aq-GTE on diet-induced obesity in male C57BL/6J mice following dose-dependent oral administration of aq-GTE. After eight weeks, the body weight was reduced by 13-17% in mice fed 200 mg/kg bw aq-GTE (12.468 ± 0.45 g; $p < 0.05$) and 20-25% in mice fed 400 mg/kg bw aq-GTE (11.259 ± 0.61 g; $p < 0.05$) when compared with the high-fat diet (HFD) control group mice (14.714 ± 0.95 g; $p < 0.05$). The correlation between epididymal fat accumulation and body weight also decreased by approximately 26.6% ($p < 0.05$) in mice fed a HFD with aq-GTE 400 mg/kg bw. Finally, serum parameters such as the triglyceride, glucose and cholesterol levels in the HFD groups were reduced by the aq-GTE 400 mg/kg bw diet. Analysis on glutamic-pyruvic transaminase, blood urea nitrogen and development of hepatic steatosis revealed no histologic evidence of hepatotoxicity in HFD mice fed aq-GTE. Overall, our results imply that aq-GTE is able to regulate body weight and fat accumulation in mice.

Key words: aqueous spray-dried green tea extract, epididymal fat, anti-obesity, body weight.

서 론

최근까지의 다양한 연구결과들을 종합해 보면 당뇨병, 고지혈증, 심장병 등과 같은 여러 가지 신체적 장애의 주요 원인으로 언급되는 것이 바로 비만이다. 특히 이러한 장애들 중 비만과 제 2형 당뇨병은 매우 깊은 연관성을 가지고 있다고 밝혀져 있는데, 이것은 최근 몇 년간 인구의 증가와 더불어 매우 심각한 사회적 이슈로 언급되고 있다. 이와 더불어, 앞서 언급한 비만과 비만 연관 질병과의 관계에 대한 연구가 기하급수적으로 증가하고 있기 때문에, 이러한 비만을 억제하고 제어하는 방법을 계속 찾는 것이 향후 인체 건강을 위한 연구의 주요 이슈로 떠오르게 되었다(1-3).

‘차’는 전세계적으로 물을 제외하고 가장 많이 소비되는 음료이다. 특히 녹차는 처음 대중에게 선보인 순간부터 그들이 지닌 맛과 향의 이끌림에 의한 소비성향을 가졌지만, 현재는 영양학적이나 건강을 위하여 보다 그 관점이 넓어지고 있다(4). 차가 가진 많은 혼합물 중 특히 폴리페놀이 가진 다양한 질병 조절의 능력은 여러 연구에서 알려져 있다(5). 이러한 영양학적 관점의 녹

차 및 그 성분에 대한 연구는 항균성, 항암성 그리고 항비만의 능력과 같은 생물학 및 의학적 관점에서 매우 다방면으로 진행되어왔다(6-9). 이 연구들에 따르면 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 녹차의 일부 성분들은 갈색지방세포의 지방산화와 더불어 열발생을 자극, 체중의 감소와 더불어 지방 축적 저해 효과를 나타냄이 보고되었다. 이러한 열발생의 원인으로는 녹차의 주성분인 카테킨(catechin), 카페인(caffeine) 그리고 아미노산의 일종인 테아닌(theanine) 등 세가지 요소의 상호작용에 의한 것이라는 자료도 제공되었다(10). 앞서 언급한 연구들에서 사용된 녹차는 대다수가 추출물의 형태로서 사용이 되었지만, 녹차가 지닌 폴리페놀의 일종인 카테킨이 녹차 주요성분 중 부작용이 없이 항비만 효과에 가장 탁월하다는 연구결과가 보고된 이후 그 함유량을 높이기 위한 방법으로 주정 추출에 의한 추출물을 연구에 사용하게 되었다. 주정 추출에 사용되는 에틸 알코올(ethyl alcohol)은 카테킨의 추출 수율을 높이는 최적의 용매로 알려져 있지만, 녹차 자체가 가진 본연의 맛과 향을 잃어버리게 만드는 요인으로도 잘 알려져 있다(11). 더군다나, 카페인의 인체에 대한 저해적인 영향으로 인해 대다수의 경우 인위적인 방법을 통하여 추출물 제조과정 중 카페인을 제거하는 과정을 추가하여 최종 산물을 얻어내고는 한다(12-14).

일반적으로 녹차는 건조시킨 녹차 잎을 직접 혹은 망에 넣은 형태로 뜨거운 물에 담궈 녹차가 지닌 맛과 향, 그리고 여러 가지 성분을 섭취한다. 따라서, 녹차추출물을 주정이 아닌 열수 추출방식으로 생산할 경우 기존의 카테킨 함량보다는 낮은 수율로 획득되지만, 물에 우린 형태의 녹차야말로 그들이 가진 고유한

*Corresponding author: Sang Jun Lee, Amorepacific Corporation R&D Center, Yongin, Gyeonggi 446-729, Korea
Tel: 82-31-280-5601
Fax: 82-31-281-8392
E-mail: leesjun@amorepacific.com
Received September 16, 2009; revised November 19, 2009;
accepted November 26, 2009

향 및 본연의 맛과 더불어 적은 생산 비용으로 추출물을 얻을 수 있고, 인위적이지 않은 녹차 본연의 카테킨 함량비를 섭취할 수 있을 것이라 사료된다.

본 연구는 국내에서 자생하는 녹차를 이용하여 주정 추출방식이 아닌 열수 추출방식으로 얻어진 녹차 추출물을 이용, 열수 녹차추출물이 함유한 카테킨의 함량 및 비율이 고지방 식이요법을 통하여 비만을 유도한 생쥐에서 체중 증가 억제 및 지방 축적 저해에 충분한 효과를 나타낼 것이라 기대하고, 그러한 가정하에 그 효과의 검증을 위해 식이 유도 비만 모델로 잘 알려진 C57BL/6J 생쥐에 비만을 유도하면서, 녹차 열수추출물을 동시에 처리하여 효능을 평가하고자 하였다(15,16). 따라서 본 연구에서는 생쥐에 고지방 식이요법으로 비만을 유도하면서 열수 추출방식으로 얻어진 녹차추출물을 이용하여 생쥐의 체중과 체지방 함량에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

열수 녹차추출물

본 실험에서 사용한 녹차는 국내산 제주녹차로서 2008년 4월 초 경 수확한 첫물녹차를 Amorepacific Co. Ltd.(Yongin, Korea)에서 공급받아 사용하였다. 열수 녹차추출물(aq-GTE; aqueous spray dried green tea extract)은 Bioland Ltd.(Cheonan, Korea)에서 제조, 공급받아 사용하였고, 자세한 공정은 다음과 같다. 공급받은 녹차에 열수 분무건조 방법을 적용하고, 음용조건과 달리 생산공정에서 함량이 높아지는 다당류는 발효조정으로 침전하여 일부 제거를 실시하는 공정을 적용하여 최종산물을 추출하였다. 사용량은 현재 국내에는 기준이 없지만 일본에서 시판 중인 카테킨 병음료의 카테킨 하루 권장 섭취량(200 mg/kg/day)을 기준으로 설정하였으며, 권장량과 더불어 2배의 농도에서도 효능을 평가하였다.

카테킨 함량 분석

aq-GTE가 가진 폴리페놀 함량을 확인하기 위하여 분석을 실시하였다. aq-GTE 10 µL를 0.45 µm 나일론 주사기용 필터(Sartorius, Goettingen, Germany)를 통과하여 직접 LDL-HPLC system(LDC thermo pump 3500, LDC milton roy detector, Florida, USA)에 주입하여 분석하였다.

실험동물 및 사육관리

생후 7주령 된 수컷 C57BL/6J 생쥐를 Charles River Laboratories(Wilmington, MA, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 동물 입수 후 검역과 일주일간의 순화 기간을 거치도록 하였으며, 시험 실시 하루 전 각각 10마리씩 5그룹으로 군 분리를 시행하였으며, 각 개체 별로 우리를 분리하여 개별 사육을 실시하였다. 군 분리 실시 후 각 군의 평균체중에 대한 군간 차이는 MINITAB 15 Korea(Minitab Inc., Pennsylvania, USA)을 이용해 ANOVA 검정으로 통계학적 검증을 실시하여 확인하였다. 실험 동물의 사육환경은 온도(23±2°C), 습도(55±10%), 그리고 12시간 light/dark cycle 을 유지하도록 하였다. 사료는 마우스 전용사료(Purina, St. Louis, MO, USA)를 자유 급여하였으며, 음수는 자외선 소독한 상수도수를 자유 급여하였다. 실험동물 사육관리는 “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” 기준으로 하였으며, 실험은 Amorepacific Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)의 승인 하에 진행되었다.

실험군 및 실험물질 투여

NC군(normal control), HFD군(high-fat diet control), aq-GTE 100 mg/kg bw군(HFD 및 aq-GTE 100 mg/kg bw 투여군), aq-GTE 200 mg/kg bw군, aq-GTE 400 mg/kg bw군 등 5 개군으로 나누어 실험하였다. NC군은 일반 사료를 급여하고, HFD 및 동시에 aq-GTE를 섭취한 군은 고지방식 전용사료(D12492, Research Diet Inc., New Brunswick, NJ, USA)를 자유 급여하여 사육하였다. 실험 물질인 aq-GTE는 실험 직전 차가운 자외선 멸균수에 녹여서 4°C 냉장보관 하였으며, 매일 일정한 시간(오전 10시)에 경구 투여를 실시하였다. 경구 투여는 매주 월요일부터 금요일까지 실시되었으며, 토요일과 일요일에는 투여를 제외하였다. 본 실험 과정은 8주간 진행되었다.

생쥐의 체중 및 사료 섭취량 측정

본 실험기간 동안 생쥐의 체중은 매주 일정한 시간(수요일, 오전 10시)에 측정되었으며, 사료 섭취량 역시 동시에 각 우리별로 개별 측정을 실시하였다.

혈액 분석

8주의 실험기간 종료 후, 각 샘플의 혈액은 안와정맥총 채혈방법을 통하여 생쥐의 안구에서 채취하였다. 채취된 혈액은 Selectra E Clinical Analyzer(Vital Scientific NV, Dieven Netherlands)를 이용하여 혈액내의 TG(triglyceride), GLUC (glucose), CHOL(total cholesterol), HDLC(high-density lipoprotein cholesterol), LDLC (low-density lipoprotein cholesterol)의 농도를 각각 측정하였다. 이와 더불어 GPT(glutamic-pyruvic transaminase)와 BUN(blood urea nitrogen)을 측정하여 생쥐의 혈액에서 측정 가능한 조직 부작용 여부도 확인하였다.

조직 분석

생쥐의 조직에 이상증후 여부를 파악하기 위하여 조직분석을 실시하였다. 8주 실험 종료와 더불어 해부학적 분석을 위한 생쥐의 간 조직을 바로 적출, 10% buffered formalin(Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)에서 고정하였다. Formalin에 고정된 간조직은 paraffin에 담가 4-5 µm 수준으로 절편을 만들고, hematoxylin (Sigma, St. Louis, MO, USA)과 eosin(Sigma)으로 염색을 실시하였다. 이후의 조직학적 분석은 조직병리 담당자에 의하여 실시되었다.

통계 처리

In vivo 실험결과에 대한 통계분석은 MINITAB 15 Korea (Minitab Inc., State College, PA, USA)를 이용하여 one-way ANOVA를 실시하고, Student *t*-test를 이용하여 NC군과 HFD군 간의 통계학적 유의성을 검정하였다. 모든 결과는 각 실험군의 평균±표준 오차로 표시하였으며, 각 군의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 검정하였다.

결과 및 고찰

열수 추출녹차의 카테킨 함량

본 실험에 사용된 aq-GTE에 함유된 폴리페놀 성분을 분석한 결과를 보면(Table 1), 주요 성분으로 epigallocatechin(EGC), epigallocatechin gallate(EGCG), epicatechin(EC) 그리고 epicatechin

Table 1. Catechin contents (%) of the aqueous spray-dried green tea extract (aq-GTE)¹⁾

Extract	EGC ²⁾	EGCG ³⁾	EC ⁴⁾	ECG ⁵⁾	Etc	Total Catechin
aq-GTE	8.33	11.36	2.05	2.43	7.50	31.67

¹⁾Catechin content was analyzed by HPLC and presented as weight percent of the extract.

²⁾EGC: epigallocatechin

³⁾EGCG: epigallocatechin gallate

⁴⁾EC: epicatechin

⁵⁾ECG: epicatechin gallate

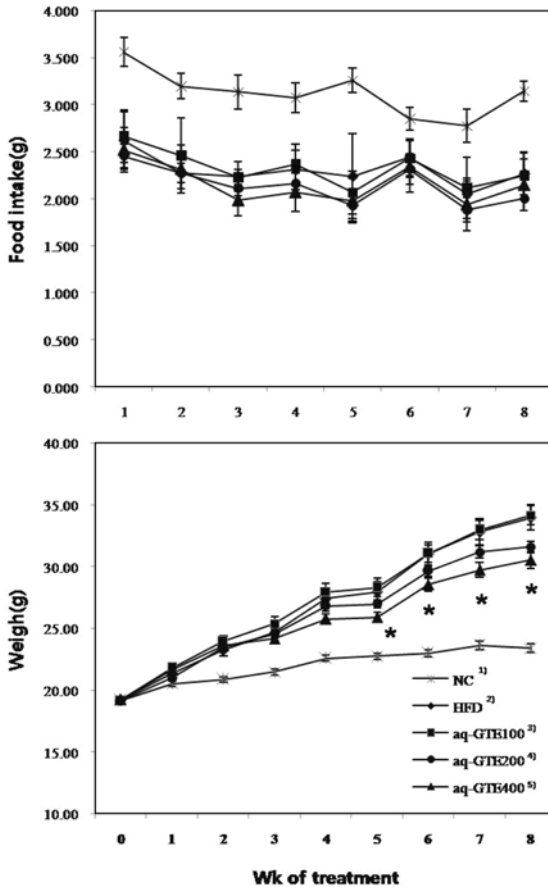


Fig. 1. Effect of aqueous spray-dried green tea extract (aq-GTE) on food intake and body weight of mice. (A) Food intake was monitored for each cage throughout the study. (B) Mice were weighted weekly throughout the study. Values are the means±SD of 10 animals. **p*<0.05 compared to the normal control group. ¹⁾NC: normal control, ²⁾HFD: high-fat diet, ³⁾aq-GTE100: 100 mg/kg bw of aq-GTE, ⁴⁾aq-GTE200: 200 mg/kg bw of aq-GTE, ⁵⁾aq-GTE400: 400 mg/kg bw of aq-GTE

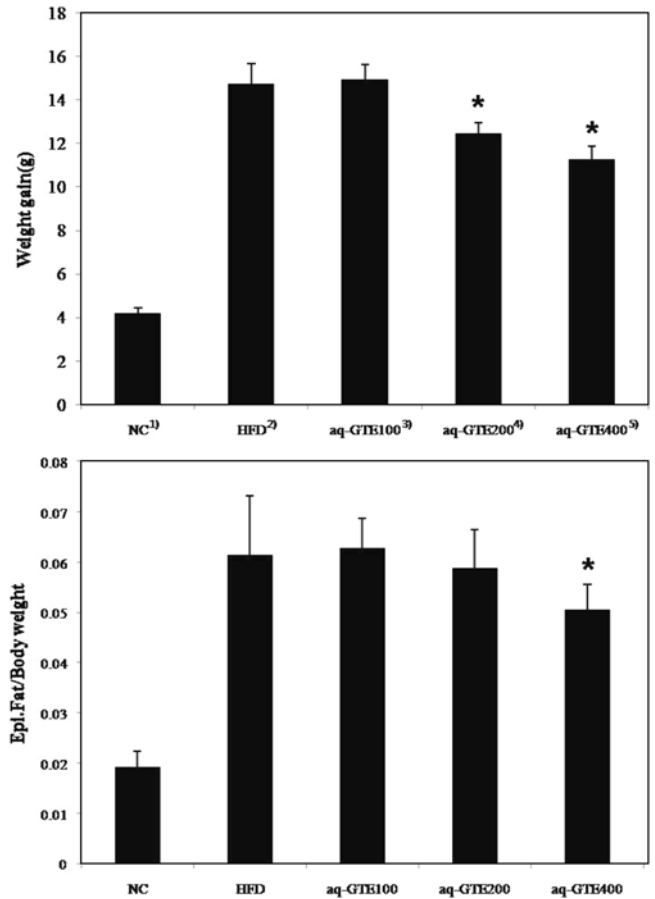


Fig. 2. Effect of aqueous spray-dried green tea extract (aq-GTE) on weight gain and the epididymal fat to body weight ratio. (A) Changes in total body weight for each group at 8 weeks. (B) The ratio of epididymal fat weight to whole body weight was calculated for each group. Values are the means±SD of 10 animals. **p*<0.05 compared to the HFD control group at the end of the experiments. ¹⁾NC: normal control, ²⁾HFD: high-fat diet, ³⁾aq-GTE100: 100 mg/kg bw of aq-GTE, ⁴⁾aq-GTE200: 200 mg/kg bw of aq-GTE, ⁵⁾aq-GTE400: 400 mg/kg bw of aq-GTE

gallate(EGC)와 그 외 성분으로 확인되었다. aq-GTE가 함유한 폴리페놀 가운데 가장 높은 수치로 존재하고 있는 성분은 EGCG였으며 그 함량비는 11.36%였다. 이와 더불어 주요한 네가지 폴리페놀 성분들과 그 외 성분들의 합을 구하면 그 함량비는 31.67%였으며, 카페인의 함량은 2.1%를 나타내었다(data not shown). 기존 주정추출 방식으로 추출된 녹차추출물의 폴리페놀 함량비에 따르면 주요 네 가지 성분들의 총 함량 대비 각 성분의 함량은 비슷한 수준을 유지하지만 가장 많은 양을 차지하고 있는 EGCG 성분은 주정추출 방식으로 추출시 조금 많이 획득되는 것으로 확인되었다(7).

사료 섭취량 및 체중 증가량

시험기간 중의 각 구간 사료 섭취량의 차이와 체중 증가량에 차이가 있는지를 확인하였다(Fig. 1A). 사료 섭취량의 그래프를 살펴보면 HFD 구간에는 특별한 차이를 나타내지 않았지만, NC 군과의 체중 변화를 살펴보면 HFD 군에서 체중 증가 현상이 실험 2주차부터 증가하여 실험이 종료되는 시점까지 지속되는 것으로 나타났다(Fig. 1B).

총 8주간의 실험이 종료된 시점에서 측정된 최종 무게는 NC 군이 23.38±1.16 g인데 비해 HFD 군이 33.93±3.22 g(*p*<0.05)으로

Table 2. Effect of aqueous spray-dried green tea extract (aq-GTE) on organ weight of mice¹⁾

	NC ²⁾	HFD ³⁾	High-fat diet (mg/kg bw)		
			aq-GTE (100)	aq-GTE (200)	aq-GTE (400)
Epididymal fat	0.451±0.019	2.102±0.061	2.145±0.063	1.862±0.059*	1.543±0.051*
Liver	0.937±0.040	1.038±0.031	0.890±0.026	0.786±0.025*	0.751±0.025*
Kidney	0.313±0.013	0.325±0.010	0.321±0.009	0.324±0.009	0.323±0.009
Spleen	0.108±0.005	0.063±0.002	0.062±0.002	0.060±0.002	0.061±0.002
Thymus	0.047±0.002	0.062±0.002	0.059±0.002	0.059±0.002	0.062±0.001

¹⁾Values are means±SD of 10 animals.²⁾NC: normal control³⁾HFD: high-fat diet**p*<0.05 vs. the HFD group.**Table 3. Effect of aqueous spray-dried green tea extract (aq-GTE) on serum levels in mice¹⁾**

	NC ²⁾	HFD ³⁾	High-fat diet (mg/kg bw)		
			aq-GTE (100)	aq-GTE (200)	aq-GTE (400)
TG ⁴⁾ (mg/dL)	37.6±19.53	141.0±45.12	43.3±26.36*	31.4±23.06*	28.0±17.30*
GLUC ⁵⁾ (mg/dL)	121.7±5.39	201.0±6.90	177.0±4.13*	170.4±9.92*	147.9±8.37*
CHOL ⁶⁾ (mg/dL)	101.00±2.79	176.55±4.83	157.36±2.86*	149.60±3.28*	137.65±5.12*
HDL C ⁷⁾ (mg/dL)	78.68±1.52	120.05±1.62	123.58±0.80	120.16±1.20	114.88±2.12
LDL C ⁸⁾ (mg/dL)	14.8±0.44	28.3±1.45	26.9±0.71	26.0±0.76	25.3±1.28
GPT ⁹⁾ (U/L)	72.04±17.82	103.33±17.04	60.67±5.87*	80.22±22.51*	58.83±8.52*
BUN ¹⁰⁾ (U/L)	33.73±1.85	21.51±0.48	18.36±0.37	19.84±0.66	21.52±0.68

¹⁾Values are means±SD of 10 animals.²⁾NC: normal control³⁾HFD: high-fat diet⁴⁾TG: triglyceride⁵⁾GLUC: glucose⁶⁾CHOL: cholesterol⁷⁾HDL C: high-density lipoprotein cholesterol⁸⁾LDL C: low-density lipoprotein cholesterol⁹⁾GPT: glutamic-pyruvic transaminase¹⁰⁾BUN: blood urea nitrogen**p*<0.05 vs. the HFD group.

약 30% 더 체중이 증가하였음이 확인되었으며, 이 결과는 비만이 정상적으로 유도되었음을 나타낸다. 이와 더불어 HFD 군에 비해 aq-GTE 200 mg/kg bw 군이 12.47±1.41 g(*p*<0.05)으로 13-17%의 감소치를, 또한 aq-GTE 400 mg/kg bw 군은 11.26±1.91 g(*p*<0.05)으로 약 20-25% 수준의 차이가 있음이 확인되었다. 이 결과는 체중 증가 억제에 aq-GTE가 농도 의존적으로 영향을 나타내는 한편 식이섭취량과 식이효율은 전체적으로 HFD 군과 시험군들 사이에 유의적 차이를 보이지 않았기 때문에 이는 aq-GTE의 섭취에 따른 체중 감소 효과로 생각된다(Fig. 2A). 이러한 경향은 고지방 식이에 의한 체중 증가를 식이 내에 사료에 주정 추출녹차 카테킨을 함께 공급함으로써 감소시켰다고 보고한 Murase 등(16)의 연구와도 비슷한 결과이다.

지방조직의 무게와 조직 변화

일반적으로 비만에 있어서 체중의 증가보다는 체지방의 증가가 건강에 보다 위대한 요소로 작용한다는 것이 잘 알려져 있다. 따라서 aq-GTE가 지방조직 및 그 외 조직에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 부고환 지방과 더불어 각 조직의 중량을 측정하여 Table 2에 제시하였다. NC 군의 부고환 지방 조직 무게는 0.937±0.040 g(*p*<0.05)인 것에 비하여 HFD 군의 부고환 지방 조직의 무게는 2.102±0.061 g(*p*<0.05)로 유의하게 증가함을 확인하였다. 이러한 HFD 군에 비하여 aq-GTE 200 mg/kg bw를 섭취한 군의

부고환 지방 무게는 1.862±0.059 g(*p*<0.05)으로 약 12.4%의 감소를 나타내었으며, aq-GTE 400 mg/kg bw를 섭취한 군은 1.543±0.051 g(*p*<0.05)으로 26.6%의 감소로 매우 유의한 차이를 나타내었다. 이 결과는 식이로 비만이 유도되는 생쥐에 있어 aq-GTE는 부고환 지방 축적에 저해효과가 있음을 확인하였다. 또한 체중감량이 다른 조직에 영향을 미치는지 여부를 파악하고자 측정된 다른 조직의 무게에서는 간조직을 제외하고는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 본 연구 과정 중에서 간조직의 무게 변화는 고지방 식이로 유도된 비만 생쥐의 간조직에 발생한 중성지방과 간 콜레스테롤의 영향 때문이라고 생각된다. 또한 이 결과는 Murase 등(16)이 기존 연구 결과에서 보고한 주정 녹차추출물을 11개월 간 섭취한 C57BL/6J 생쥐의 간 및 부고환 지방 무게가 감소하였다는 보고와 일치하는 결과이다(16). Murase 등(16)의 연구는 카테킨으로써 70, 140, 350 mg/kg bw의 섭취량을 사료에 섞어 섭취한 경우이며, 이는 우리가 사용한 카테킨 함량이 60, 120 mg/kg bw를 경구 투여 방식으로 직접 섭취한 경우와 유사한 결과를 나타낸다. 즉, 사료와 섭취 시 발생할 수 있는 손실을 따져보면 결국 같은 수준으로 섭취한 것으로 생각되고, 이러한 점으로 미루어 볼 때, aq-GTE에 함유된 카테킨의 항비만 효능은 유효한 것으로 사료된다.

본 실험에서 확인한 체중대비 부고환 지방의 무게 변화양상에 주목한 결과, HFD 군의 비율은 0.061±0.004 g(*p*<0.05)에 비해

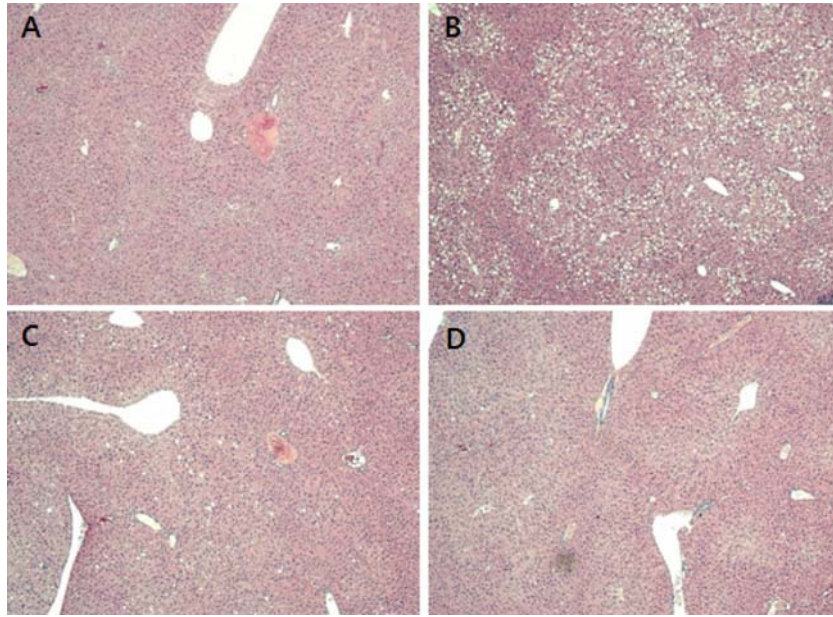


Fig. 3. Histologic evaluation of hepatic steatosis in normal control and high fat diet fed mice. Mice were fed either a normal diet (NC) or a high fat diet (HFD) with 0, 200, or 400 mg/kg bw of aq-GTE for 8 wk. Representative liver sections (original magnification: $\times 40$) from NC and HFD mice receiving aq-GTE are illustrated. (A) Liver sections from NC and (B) HFD fed control mice illustrate the severity of hepatic steatosis induced by a high fat diet. (C-D) Liver sections from mice fed a HFD with aq-GTE 200 and 400 mg/kg bw, illustrating the representative reduction in hepatic steatosis in mice fed a HFD in conjunction with aq-GTE at either concentration.

aq-GTE 400 mg/kg bw군은 0.050 ± 0.002 g($p < 0.05$)으로 약 18%의 감소율을 나타내었다(Fig. 2B). 이 결과는 aq-GTE가 체중의 조절 뿐만 아니라 부고환 지방, 즉 백색지방의 축적 자체를 저해하는 효과가 있음을 검증하는 것으로 판단된다. Murase 등(16)의 연구 결과를 보면 체중의 감소와 더불어 부고환 지방의 무게가 감소하였고 이 원인은 EGCG와 ECG가 지방 축적 저해에 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다.

혈청 내 지질 및 혈당 수준

비만에서는 지방대사와 당대사의 비정상적 흐름으로 인한 다양한 이상지혈증이 흔히 동반되고, 기존의 연구에 따르면 비만을 식이로 유도한 흰쥐의 경우 중성지방과 콜레스테롤, 그리고 혈당 수치 증가에 대한 결과가 보고된 바 있다(18,19).

Table 3에는 C57BL/6J 생쥐의 혈청속 여러 지표에 미치는 aq-GTE의 영향을 나타내었다. 중성지방 함량은 NC 군에서 37.6 ± 19.53 mg/dL를 나타낸 반면, HFD 군에서는 141.0 ± 45.12 mg/dL로 유의하게 증가하여 비만이 유도되었음을 확인하였고($p < 0.05$), aq-GTE 100, 200, 400 mg/kg bw를 섭취한 군은 각각 43.3 ± 26.36 , 31.4 ± 23.06 , 28.0 ± 17.30 mg/dL로 aq-GTE에 농도의존적으로 중성지방의 수치가 감소함을 확인할 수 있었다($p < 0.05$). 혈중 콜레스테롤 함량도 NC 군에서 101.00 ± 2.79 mg/dL인 반면, HFD 군에서 176.55 ± 4.83 mg/dL로 유의하게 증가하였고($p < 0.05$), aq-GTE를 100, 200, 400 mg/kg bw의 농도로 각각 섭취한 군에서는 157.36 ± 2.86 , 149.60 ± 3.28 , 137.65 ± 5.12 mg/dL로 수치가 유의적으로 낮아졌다($p < 0.05$). 또한 혈당의 경우를 확인해 보면, NC 군에서 121.7 ± 5.39 mg/dL인 반면, HFD 군에서 201.0 ± 6.90 mg/dL로 이 역시 수치가 증가하였고($p < 0.05$), aq-GTE를 100, 200, 400 mg/kg bw의 농도로 각각 섭취한 군에서는 177.0 ± 4.13 , 170.4 ± 9.92 , 147.9 ± 8.37 mg/dL로 유의적인 수치 변화를 나타내었다($p < 0.05$). 이 결과는 고지방 식이로 고지혈증을 유도한 대조군과 비교하여 주정 녹

차추출물을 섭취한 C57BL/6J 생쥐에서 중성지방과 콜레스테롤 및 혈당이 낮아진 Murase 등(16)의 연구결과와 비슷한 경향이고, Morita 등(17)이 실시한 열수 녹차추출물을 처리한 *in vivo* 결과와도 일치한다. HDL 콜레스테롤은 항동맥경화의 지표로서 조직의 콜레스테롤을 간으로 운반, 체외로 배설하는 역할을 하는 것으로 보고되어 있는데, 특히 대사성증후군, 당뇨, 심혈관계 질환자의 경우 낮은 HDL 콜레스테롤 수치를 나타낸다고 보고되어 있다(20,21). 하지만 Table 3에서 확인한 결과 aq-GTE를 섭취한 군과 그렇지 않은 군간에 특별한 차이를 확인할 수 없었다.

또한 실험모델의 이상증상 확인을 위하여 *in vivo* 실험에서 흔히 활용되는 방법으로, 혼합물을 섭취한 후 간 조직의 기능 및 건강상태를 확인하는 GPT(glutamic-pyruvic transaminase) 측정법과, 혈액내에 요소의 상태로 있는 질소량을 측정하여 신장기능을 측정하는 BUN(blood urea nitrogen) 측정기법을 사용하였다. 그 결과 GPT의 경우 NC 군(72.04 ± 17.82 U/L)에 비하여 HFD 군에서는 103.33 ± 17.04 U/L($p < 0.05$)로 유의하게 증가하였으나, 실험군에서는 NC 군과 특별한 차이를 나타내지 않았고, BUN 역시 모든 군에서 특별한 변화를 보이지 않았으며, 사육 중 외관 관찰 및 해부 시 외형적 관찰 결과에서도 특이한 이상증상은 나타나지 않았다.

조직 분석

비만이 식이로 유도된 생쥐의 경우 간 조직에 지방산(fatty acid)이 침착되어 steatosis가 발생한다고 알려져 있다(22). 따라서 본 실험에서 간 조직 내의 지질 침착 여부를 염색법을 통하여 확인하고 현미경으로 그 결과를 관찰하였다(Fig. 3). 그 결과 NC 군의 간 조직에서는 특별한 이상 현상이 관찰되지 않았지만, HFD 군의 간 조직에서는 육안으로 확연히 구별되는 지방의 침착을 통하여 비정상적인 조직의 형태를 확인할 수 있었다. 하지만 aq-GTE를 200 mg/kg bw 섭취한 군은 HFD 군보다 steatosis의 수가

눈에 띄게 감소되었으며, aq-GTE 400 mg/kg bw를 섭취한 군은 NC 군 수준으로 steatosis가 뚜렷하게 감소되는 경향이 관찰되었다. 일반적으로 간내 중성지방 감소는 지단백과 지방 합성을 억제시키는 결과를 초래하고 간의 지방산화를 가속화 시킨다고 알려져 있다. 또한 간내 콜레스테롤 합성을 저하시켜 혈액의 콜레스테롤 수준을 감소시키는 것으로 보고되어 있다. 본 연구에서 사용된 aq-GTE도 이와 같은 기전에 의거하여 비만에 따른 간내 지방 축적을 효과적으로 억제한 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 기존 주정추출 방법에 의하여 인위적으로 카테킨 함량을 높인 녹차추출물의 효능이 아니라 음용시 사용되는 녹차가 지닌 일반적인 카테킨 함량에 의한 항비만 효능을 검토하기 위해, 열수 분무건조 방법을 적용하여 제조된 국내산 제주 열수 녹차추출물(aq-GTE)을 C57BL/6J 생쥐에 고지방 식이를 통한 비만을 유도시키며 동시에 농도를 달리하여 8주간 섭취시킨 뒤, 체중과 체내 지방함량 및 혈중 지질함량에 대한 분석을 실시하여 항비만 효능을 확인하였다. 그 결과, aq-GTE 첨가시 HFD 군 간 식이 섭취량에는 차이가 없었으나 체중 증가량에 있어서는 aq-GTE에 농도 의존적으로 체중 증가량이 감소됨을 확인하였다. 또한 부고환 지방의 무게는 aq-GTE의 섭취 농도에 따라 유의하게 감소하였고, 체중 변화에 따른 비교에서도 통계적으로 유의하게 부고환 지방 무게의 감소가 확인되었다. 비만을 식이로 유도한 실험군에 나타나는 steatosis 증가 현상이 aq-GTE를 처리시 농도의존적으로 억제되어 감소하는 현상이 발생함을 관찰할 수 있었으며, 그 외에 혈액 분석을 통하여 확인할 수 있는 이상증상은 없는 것으로 확인되었다. 결론적으로 본 시험에서 사용한 aq-GTE는 C57BL/6J 생쥐에서 체중 증가와 체지방 축적 감소 및 지질 대사 개선 효과를 나타내었으며, 이는 기존의 주정추출 방식으로 카테킨 함량을 높인 녹차 추출물뿐만 아니라 일반 녹차의 카테킨 함량도 충분히 그 효과를 볼 수 있다는 결과를 검증한 것이고, 향후 aq-GTE의 인체에 미치는 효과에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

문 헌

- Pi-Sunyer FX. Health implications of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 1595S-1603S (1991)
- Seidell JC, Verschuren WM, van Leer EM, Kromhout D. Overweight, underweight, and mortality. A prospective study of 48,287 men and women. *Arch. Intern. Med.* 156: 958-963 (1996)
- Kannel WB, Cupples LA, Ramaswami R, Stokes J 3rd, Kreger BE, Higgins M. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham study. *J. Clin. Epidemiol.* 44: 183-190 (1991)
- Khokhar S, Magnudottir SGM. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J. Agr. Food Chem.* 50: 565-570 (2002)
- Setiawan VW, Zhang ZF, Yu GP, Lu QY, Li YL, Lu ML, Wang MR, Guo CH, Yu SZ, Kurtz RC, Hsieh CC. Protective effect of green tea on the risks of chronic gastritis and stomach cancer. *Int. J. Cancer* 92: 600-604 (2001)
- Benzie IF, Szeto YT. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agr. Food Chem.* 47: 633-636 (1999)
- Yang MH, Wang CH, Chen HL. Green, *oolong* and black tea extracts modulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats fed high-sucrose diet. *J. Nutr. Biochem.* 12: 14-20 (2001)
- Kuroda Y, Hara Y. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutat. Res.* 436: 69-97 (1999)
- Rumpler W, Seale J, Clevidence B, Judd J, Wiley E, Yamamoto S. *Oolong* tea increases metabolic rate and fat oxidation in men. *J. Nutr.* 131: 2848-2852 (2001)
- Zheng G, Sayama K, Okubo T, Juneja LR, Oguni I. Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine, and theanine, in mice. *In Vivo* 18: 55-62 (2004)
- Lee MH, Chen SC, Min BW. Effects of extraction method on the determination of tea tannin and catechins. *J. Chin. Agr. Chem.* 27: 82-88 (1989)
- Kim HJ, Jeon SM, Lee MK, Jung UJ, Shin SK, Choi MS. Antilipogenic effect of green tea extract in C57BL/6J-Lep *ob/ob* mice. *Phytother. Res.* 23: 467-471 (2009)
- Dulloo AG, Duret C, Rohrer D, Girardier L, Mensi N, Fathi M. Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 1040-1045 (1999)
- Ikeda I, Hamamoto R, Uzu K, Imaizumi K, Nagao K, Yanagita T. Dietary gallate esters of tea catechins reduce deposition of visceral fat, hepatic triacylglycerol, and activities of hepatic enzymes related to fatty acid synthesis in rats. *Biosci. Biotech. Bioch.* 69: 1049-1053 (2005)
- Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* 37: 1163-1167 (1988)
- Murase T, Nagasawa A, Suzuki J, Hase T, Tokimitsu I. Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: Stimulation of lipid catabolism in the liver. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 26: 1459-1464 (2002)
- Morita O, Kirkpatrick JB, Tamaki Y, Chengelis CP. Safety assessment of heat-sterilized green tea catechin preparation: A 6-month repeat-dose study in rats. *Food Chem. Toxicol.* 47: 1760-1770 (2009)
- Lee JS, Lee MK, Ha YT, Bok SH, Park HM, Jeong KS, Woo MN, Do GM, Yeo JY, Choi MS. Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppressed body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food Chem. Toxicol.* 44: 1875-1883 (2006)
- Jang JY, Choi HJ. Effects of *Artemisia hwayomogi* oligosaccharide on the blood lipids, abdominal adipose tissues, and leptin levels in the obese rats. *Korean J. Nutr.* 36: 437-445 (2003)
- Gordon T, Cassfelli WP, Hjortland MC, Kennel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, the Framingham study. *Am. J. Med.* 62: 707-716 (1977)
- Ascaso JF, Fernández-Cruz A, Santos PG, Mijares AH, Rojas AM, Millán J, Pallardo LF, Pedro-Botet J, Pérez-Jiménez F, Pía G, Pintó X, Plaza I, Rubiés-Prat J. Significance of high density lipoprotein-cholesterol in cardiovascular risk prevention: Recommendations of the HDL Forum. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* 4: 299-314 (2004)
- Utzschneider KM, Kahn SE. Review: The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Endoc. Metab.* 91: 4753-4761 (2006)