

야콘잎 발효차가 고지방식이와 스트렙토조토신으로 유도한 제2형 당뇨병마우스의 혈당 및 당대사에 미치는 영향

김인숙¹ · 이진² · 이점숙² · 신동영³ · 김명주⁴ · 이미경^{2*}

순천대학교 교육대학원 영양교육전공,¹ 순천대학교 식품영양학과,²
순천대학교 자원식물개발학과,³ 대구산업정보대학 호텔조리계열⁴

Effect of Fermented Yacon (*Smallanthus Sonchifolius*) Leaves Tea on Blood Glucose Levels and Glucose Metabolism in High-Fat Diet and Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Mice

Kim, In-Sook¹ · Lee, Jin² · Lee, Jeom-Sook² · Shin, Dong-Young³ · Kim, Myung-Joo⁴ · Lee, Mi-Kyung^{2*}

¹Department of Nutrition Education, Graduate School of Education, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

²Department of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

³Department of Development in Resource Plants, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

⁴Faculty of Hotel Cuisine, Daegu Polytechnic College, Daegu 706-022, Korea

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the hypoglycemic activity of water extract of fermented yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves tea (Yacon LWE) in high-fat diet (HFD)/streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice. Male ICR mice were fed with a HFD (37% calories from fat) for 4 weeks prior to intraperitoneal injection with STZ (100 mg/kg body weight). Diabetic mice were supplemented with two doses of Yacon LWE (0.16% and 0.8%, wt/wt) for 6 weeks. The supplementation of high-dose Yacon LWE significantly lowered blood glucose levels and plasma ALT and AST activities compared with the control group. High-dose Yacon LWE also improved the insulin tolerance without any changes in plasma and pancreatic insulin concentrations in HFD/STZ-induced diabetic mice. Yacon LWE supplementation increased the insulin staining of pancreatic β -cells in a dose-dependent manner. Both 0.16% and 0.8% of Yacon LWE significantly elevated plasma leptin concentration, hepatic glucokinase activity and glucokinase/glucose-6-phosphatase ratio compared with the control group. However, glycosylated hemoglobin concentration was not different among the groups. These results suggest that high-dose Yacon LWE lowers the blood glucose level partly by enhancing insulin sensitivity and hepatic glucose metabolism in type 2 diabetic mice. (Korean J Nutr 2010; 43(4): 333~341)

KEY WORDS: fermented yacon leaves tea, type 2 diabetes, glucose metabolism.

서론

야콘 (*Smallanthus sonchifolius*)은 국화과에 속하는 다년생 괴근식물로서 남미의 에콰도르와 페루가 원산지이며¹⁾ 국내에는 1985년 일본으로부터 도입되어 전남 장성, 전북 김제, 경북 영주, 충북 괴산, 경기도 강화, 강원도 일부 지역에서 지배되고 있다.²⁾ 생식이 가능한 야콘의 괴근은 프락토올

리고당과 식이섬유가 다량 함유되어 있어 저칼로리 섬유질 식품의 좋은 공급원이다. 올리고당은 단맛을 가지고 있지만 독성이 없고 충치 예방효과가 있으며, 난소화성이기 때문에 대장까지 도달하기 전에 위나 장에서 흡수되지 않아 대장에 유익한 비피더스균 등의 증식에 효과적이다.³⁾ 또한 장내 유해 대장균을 감소시키고 혈중 콜레스테롤을 저하시켜 지방대사를 개선해주기 때문에 비만, 동맥경화, 당뇨병 등에 효과적인 기능성 식품 소재로 각광 받고 있다.⁴⁾ 또한 야콘잎의 추출물 또는 구성성분들의 항균작용,⁵⁾ 항당뇨작용⁶⁾ 및 항산화작용⁷⁾ 등이 보고되면서 전량 폐기되어 왔던 야콘잎에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

Volpato 등⁸⁾은 당뇨병을 유발시킨 쥐에서 야콘잎의

접수일 : 2010년 6월 10일 / 수정일 : 2010년 7월 2일

채택일 : 2010년 7월 7일

*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: leemk@sunchon.ac.kr

혈당저하 효과를 보고하였으며, Aybar 등⁸⁾은 10% 야콘잎 물추출물이 정상마우스의 혈당을 낮추었으며, 2% 야콘차를 스트렙토조토신 (streptozotocin, STZ)으로 유도한 당뇨쥐에게 30일간 투여하였을 때 유의적으로 혈당을 낮추었으며 혈장의 인슐린 농도를 높인 것으로 보고하였다. 야콘잎 추출물은 유전적으로 당뇨병이 발생하는 KK-Ay 마우스의 혈당을 효과적으로 개선하였으며,⁹⁾ 사람을 대상으로 한 시험에서 야콘잎과 줄기 분말이 식후 혈당을 낮추었다.¹⁰⁾ Genta 등¹¹⁾은 야콘잎 중의 sequiterpene lactone인 enhydrin을 비롯한 페놀화합물이 항당뇨 작용을 하는 것으로 보고하였다. 이와 같이 야콘잎을 항당뇨 기능성 소재로 활용하기 위한 연구들이 수행되고 있으나 식이로 유도한 인슐린 저항성을 병인으로 하는 제2형 당뇨병 모델에서의 연구는 아직 체계적이지 않은 실정이다.

따라서 본 연구는 고지방식이와 STZ으로 제2형 당뇨병을 유발한 마우스에게 야콘잎 발효차 열수추출물을 수준별로 급여한 후 혈당과 당대사 변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

야콘잎 발효차 및 열수추출물 제조

야콘잎 발효차를 제조하는데 사용한 야콘잎은 순천대학교 부속농장에서 재배한 것을 2008년 9월에 채취하여 사용하였다. 야콘잎 발효차 제조과정은 생 야콘잎을 세척하여 음건한 다음 12시간 쓴물빼기를 한 후, 절단하여 상온에서 12시간 발효시켰다. 그 후 살청기에서 330℃로 6분간 살청한 후 3분간 유념기로 유념하고 40℃에서 10시간 건조하여 제다하였다.

야콘잎 발효차 열수추출물은 야콘잎 발효차 분말시료 100 g을 둥근플라스크에 넣고 10배량의 증류수를 가하여 4시간 동안 가열추출하고 그 여액을 회전증발농축기로 감압농축하여 동결건조한 후 사용하였다. 야콘잎 발효차 열수추출물의 수율은 16.1%이었다.

실험동물 사육

4주령 ICR 마우스 33마리를 Biogenomics사 (Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 이들은 1주간 Lab. chow pellet 식이로 적응기간을 둔 후 고지방식이 (전체 열량의 37% 지방)를 4주간 급여하여 인슐린저항성을 유발하였다.

당뇨유발은 STZ을 0.1 M citrate 완충용액 (pH4.2)에 녹여 체중 kg당 100 mg을 일회 복강주사 (Sigma, St. Louis, MO, USA)하여 유발하였다. 당뇨유발 7일 후 혈당이 250

mg/dL인 마우스만을 사용하여 난괴법으로 대조군 (n = 9, Control), 저농도 야콘잎 발효차 열수추출물군 (n = 9, Low-Yacon LWE), 고농도 야콘잎 발효차 열수추출물군 (n = 9, High-Yacon LWE)으로 나누어 폴리카보네이트 사육 상자에 한 마리씩 분리하여 사육하였다. 동물 사육실의 환경은 항온 (22 ± 2℃), 항습 (50 ± 5%), 12시간 간격 (08 : 00~20 : 00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하였다.

본 실험에 사용한 기본식은 AIN-76¹²⁾의 식이조성에 준하였으며, 단백질 급원으로는 카제인 (Daejung, Siheung, Korea)을 공급하고, 탄수화물 급원은 옥수수 전분 (Daejung, Siheung, Korea)을 사용하였다. 고지방 식이는 총 열량의 37%가 되도록 옥수수기름 (Cheiljedang, Seoul, Korea)과 쇠기름 (Wako, Osaka, Japan)을 공급하였다. 야콘잎 발효차 열수추출물은 야콘잎 발효차 분말이 1%와 5% 수준이 되도록 조제 (Table 1)하여 6주간 급여하였으며 식이와 식수는 자유롭게 섭취 (*ad libitum*)하도록 하였고, 모든 실험 식이는 사육기간 동안 냉장 보관하였다.

체중은 매주 1회 2시간 절식 후 일정시각에 측정하였으며, 식이섭취량은 매일 일정시각에 측정된 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였다.

혈장 및 장기 채취

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후에테르를 흡입시켜 마취시킨 다음 복부 하대정맥 (inferior vena cava)으로부터 공복혈액을 채취하였다. 헤파린 처리된 혈액은 3,000 rpm (4℃)에서 15분간 원심분리하여 혈장을

Table 1. Composition experimental diet (g/100 g diet)

Groups Ingredients	Control	Low- Yacon LWE	High- Yacon LWE
Casein	20.0	20.0	20.0
Corn starch	34.0	33.84	33.2
Sucrose	15.0	15.0	15.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0
Corn oil	3.0	3.0	3.0
Beef tallow	18.0	18.0	18.0
AIN-mineral mixture ¹⁾	3.5	3.5	3.5
AIN-vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0	1.0
D,L-Methionine	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Fermented yacon leaves tea	-	0.16	0.8
Water extract			
Total	100.0	100.0	100.0

1) Mineral mixture (g/kg) according to AIN-76

2) Vitamin mixture (g/kg) according to AIN-76

분리하였다. 실험동물의 장기조직은 채혈 후 즉시 적출하여 PBS (phosphate buffered saline) 용액으로 수차례 헹군 후 표면의 수분을 제거하여 칭량하였으며, 즉시 액체질소로 급냉시켜 -70°C 에 보관하였다.

혈당, 내당능 및 인슐린내성 측정

혈당 측정은 매주 6시간의 절식 후 꼬리 채혈하여 혈당측정기 (GlucoDr supersensor, Allmedicus, Korea)를 이용하여 glucose oxidase 방법으로 측정하였다.

내당능 검사는 실험식이 급여 5주째 6시간 절식 후 포도당 용액을 체중 kg당 1 g씩 복강내로 투여한 다음 0, 30, 60 및 120분 경과 후에 꼬리 채혈하여 혈당을 측정하였다.

인슐린내성 검사는 실험식이 급여 6주째 6시간 절식 후 인슐린 (insulin) 용액을 체중 kg당 1 unit씩 복강내에 투여하고 0, 30, 60 및 90분 경과 후에 꼬리 채혈하여 혈당을 측정하였다.

혈장 중의 인슐린, C-펩티드 및 렙틴 농도 측정

혈장의 인슐린 농도는 mouse insulin ELISA kit (Crystal Chem Inc., IL, USA)를 사용하여 정량하였다. 인슐린 관련 기능성 지표인 C-펩티드는 mouse C-peptide ELISA (U-type) kit (Shinayagi Co., Ltd. Gunma, Japan)를 이용하여 측정하였다. 혈장 렙틴 함량은 mouse leptin ELISA kit (R&D systems, USA)를 사용하여 immunoassay로 측정하였다.

혈장 중의 aminotransferase 활성 측정

혈장 중의 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST) 활성은 혈액생화학자동분석기 (Fuji Dri-Chem 3,500, Fujifilm, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

췌장조직의 면역조직학적 관찰

췌장을 적출한 뒤 10% 포르말린 용액에 24시간 고정시킨 후 일반적인 파라핀 포매과정을 거쳐 poly-L-lysine으로 처리된 슬라이드에 5 μm 두께의 조직절편을 제작하였다. 이때 조직절편은 항체와 반응시키기 전 PBS로 세 번 정도 세척하였다. 인슐린 분비세포 (β -세포)에 대하여 avidin-biotin complex (ABC) 방법으로 췌장소도에 대한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 일반적인 합수과정을 거친 뒤, 조직내의 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 메탄올에 과산화수소수를 1% 농도로 첨가한 용액으로 30분간 반응시켰으며, 조직내의 비특이적인 반응을 방지하기 위해 산양의 정상 혈청을 사용하였다. 1차 항체로는 guinea pig anti-porcine insulin (Dako Co., USA)을 1 : 200으로 희

석한 용액을 사용하여 4°C 의 습윤 chamber에서 24시간 반응시켰고, 2차 항체로는 biotinylated anti-guinea pig IgG (Vector Co., USA)를 사용하였으며, 3차 항체로는 avidin-biotinylated horseradish peroxidase (Vector Co., USA)를 사용하였다. 각각의 염색 과정에서 사용된 항체는 0.1 M PBS로 희석하여 사용하였으며, 항원항체반응 후에는 기질에 대하여 갈색을 띄는 3, 3-diaminobenzidine (DAB)을 증류수 100 mL당 25 mg을 용해시키고 발색 직전에 과산화수소수의 농도가 0.003%가 되도록 용액을 제조하여 사용하였다. 면역조직화학적 염색 후에는 Mayer's hematoxylin으로 감별 염색한 뒤 탈수과정을 거쳐 봉입하였다.

간조직 중의 효소원 분리

간조직 효소원은 Hulcher와 Oleson¹³⁾의 방법을 수정·보완하여 사용하였다. 간조직을 0.1 M의 triethanolamine, 0.02 M의 EDTA 그리고 2 mM의 dithiothreitol (pH 7.0)을 포함한 완충용액을 이용하여 20% (w/v) 균질화한 다음 $600 \times g$ (4°C)에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마체 부분을 제거한 후 상층액을 얻었다. 이를 $10,000 \times g$ (4°C)에서 20분간 원심분리하여 상층액을 취한 후 $100,000 \times g$ (4°C)에서 1시간 초원심분리하여 시토졸 분획을 얻었다. 마이크로솜 침전물은 사용된 완충용액에 녹여 효소원으로 사용하였다. 각 효소원의 단백질 함량은 BSA (bovine serum albumin)을 표준으로 하는 Bradford¹⁴⁾의 방법을 사용하여 측정하였다.

간조직 중의 당대사 관련 효소 활성

Glucokinase (GK) 활성도는 Davidson와 Arion¹⁵⁾법 및 Newgard 등¹⁶⁾의 방법을 수정하여 측정하여 시토졸 단백질 1 mg당 1분간 생성되는 NADH의 nmol로 나타내었다. Glucose-6-phosphatase (G6Pase) 활성도는 Alegre 등¹⁷⁾의 방법을 이용하여 1분간 마이크로솜 1 mg 단백질당 생성되는 NADH의 nmol로 나타내었다. Phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) 활성도는 Bentle과 Lardy¹⁸⁾이 실시한 방법을 수정·보완하여 측정하여 시토졸 단백질 1 mg당 1분간 생성된 oxaloacetate의 nmol로 나타내었다.

통계처리

실험결과는 SPSS package 프로그램을 이용하여 실험군당 평균 \pm 표준오차로 표시하였고 각 군간의 평균치의 통계적 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하고 다군간의 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결 과

체중, 식이섭취량 및 장기무게에 미치는 영향

야콘잎 발효차 열수추출물이 제2형 당뇨병마우스의 체중, 식이섭취량과 장기무게 변화에 미치는 영향은 Table 2에 나타내었다.

실험 시작전 체중은 37.01~37.55 g으로 실험군간에 차이가 없었으며, 실험종료시 야콘잎 발효차 열수추출물 급여에 따른 유의적인 체중변화는 관찰되지 않았다. 일일 식이섭취량 및 체중 g당 간, 심장, 신장과 비장 무게 역시 실험군 간 차이가 없었다.

혈당 및 당화헤모글로빈 함량 변화에 미치는 영향

야콘잎 발효차 열수추출물을 6주 동안 급여한 제2형 당뇨병마우스의 혈당과 당화헤모글로빈 함량변화는 Fig. 1과 같다.

실험개시 실험군간의 혈당은 유사하였으나, 실험 6주 동안 대조군에 비하여 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 혈당 상승을 억제하는 것으로 나타났다. 특히, 고농도 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 실험 2주부터 혈당을 전반적으로 안정적으로 유지하였으며, 실험 5주째부터 대조군에 비하여 유의적으로 혈당을 낮추어 실험종료시 대조군에 비하여 21%의 혈당감소 효과를 나타내었다 (Fig. 1A). 반면 장기간의 혈당변화를 나타내는 당화헤모글로빈의 함량은 야콘잎 발효차 열수추출물 급여에 따른 영향이 관찰되지 않았다 (Fig. 1B).

내당능 검사와 인슐린 내성에 미치는 영향

야콘잎 발효차 열수추출물이 고지방식이와 STZ으로 유도한 당뇨병마우스의 내당능과 인슐린 내성에 미치는 영향은 Fig. 2에 나타내었다.

야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 내당능을 개선하지 못한 반면, 저농도의 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 제2형 당뇨병마우스의 인슐린 내성을 개선하는 경향이었고 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 유의적이었다.

혈장의 인슐린, C-펩티드 및 렙틴 농도에 미치는 영향

혈장 중의 인슐린, C-펩티드 및 렙틴 농도는 Table 3과 같다.

고지방식이와 STZ으로 유도한 제2형 당뇨병마우스에서 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 혈장의 인슐린과 C-펩티드 농도 변화에는 영향을 미치지 않았다. 반면, 혈장 중의 렙틴 농도는 모든 야콘잎 발효차 열수추출물군이 대조군에 비하여 1.2배 유의적으로 높았다.

Table 2. Effect of fermented yacon leaves tea water extract supplementation on body weight, food intake and organ weights in HFD/STZ-induced diabetic mice*

	Control	Low-Yacon LWE	High-Yacon LWE
Body weight (g)			
Initial	37.01 ± 0.88	37.55 ± 1.45	37.21 ± 1.09
Final	35.57 ± 0.75	38.35 ± 1.44	38.95 ± 1.84
Food intake (g/day)			
Food intake	5.76 ± 0.17	5.23 ± 0.25	5.04 ± 0.19
Organ weights (mg/g)			
Liver	52.35 ± 2.13	50.30 ± 1.81	47.01 ± 3.05
Kidney	18.87 ± 0.69	16.67 ± 1.32	15.40 ± 1.21
Heart	4.55 ± 0.19	4.28 ± 0.17	4.32 ± 0.10
Spleen	3.81 ± 0.41	3.04 ± 0.19	3.09 ± 0.20

*: Mean ± S.E. (n=9)

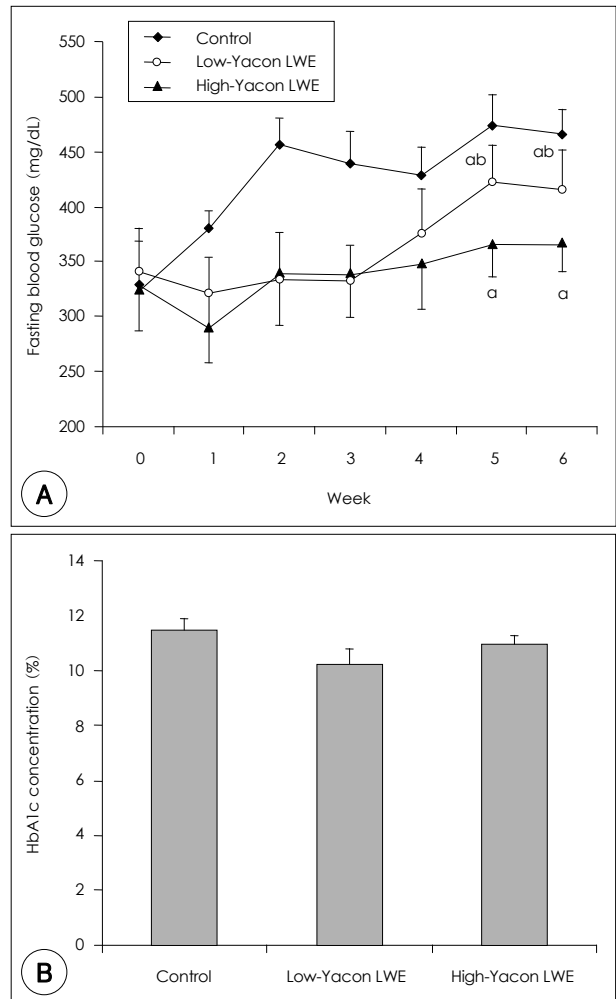


Fig. 1. Effect of fermented yacon tea water extract supplementation on fasting blood glucose level (A) and glycosylated hemoglobin concentration (B) in HFD/STZ-induced diabetic mice. Mean ± S.E. (n = 9). Means not sharing a common letter are significantly different among groups by Duncan's multiple range test (p < 0.05).

췌장의 면역조직학적 변화에 미치는 영향

야콘잎 발효차 열수추출물을 급여한 후 췌장의 면역조직학적 변화에 미치는 영향은 Fig. 3과 같다.

본 실험에서 대조군에 비하여 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군의 췌장내 β-세포가 많이 존재함을 확인할 수 있었

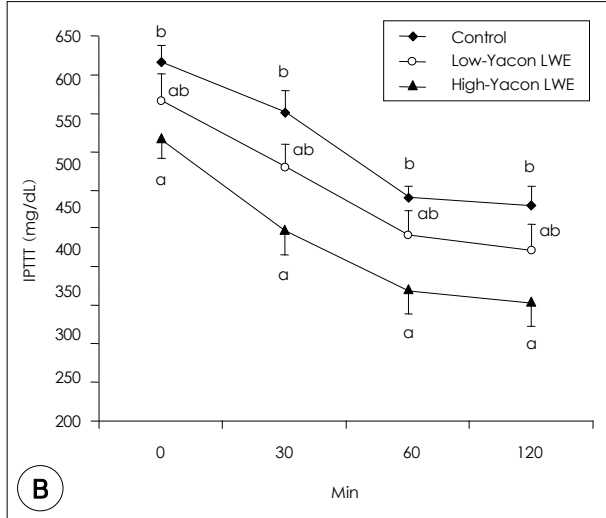
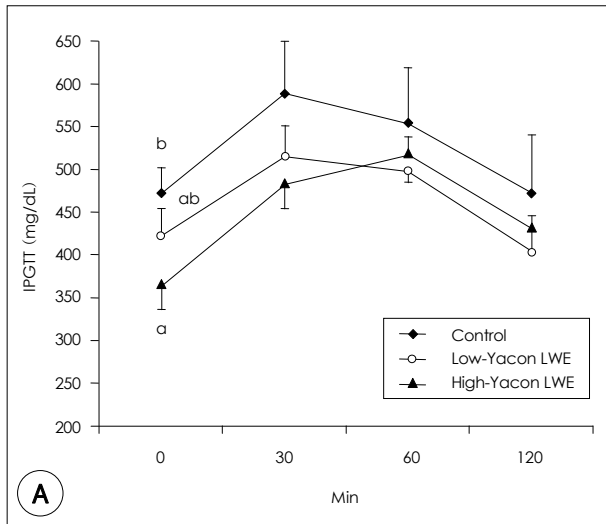


Fig. 2. Effect of fermented yacon tea water extract supplementation on glucose tolerance test (A) and insulin tolerance test (B) in HFD/STZ-induced diabetic mice. Mean ± S.E. (n = 9). Means not sharing a common letter are significantly different among groups by Duncan's multiple range test (p < 0.05).

Table 3. Effect of fermented yacon leaves tea water extract supplementation on plasma insulin, C-peptide and leptin concentrations in HFD/STZ-induced diabetic mice*

	Control	Low-Yacon LWE	High-Yacon LWE
Insulin (ng/mL)	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.07	0.29 ± 0.04
C-peptide (pg/mL)	100.01 ± 14.91	104.65 ± 10.26	85.98 ± 4.92
Leptin (ng/mL)	0.98 ± 0.04 ^a	1.21 ± 0.08 ^b	1.21 ± 0.07 ^b

*: Mean ± S.E. (n = 9)

Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups by Duncan's multiple range test (p < 0.05)

으며, 그 효과가 야콘잎 발효차 농도에 의존적이었다.

간조직 중의 당대사 관련 효소활성에 미치는 영향

고지방식이와 STZ으로 유도한 당뇨마우스에게 야콘잎 발효차 열수추출물이 간조직 중의 당대사 관련 효소활성에 미치는 영향은 Table 4와 같다.

간조직의 GK 활성은 대조군에 비하여 저농도와 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군에서 유의적으로 높았으며, G6Pase 활성은 고농도 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군이 대조군과 저농도 급여군에 비하여 낮았다. 그러나 GK/G6Pase 비는 역시 저농도와 고농도 야콘잎 발효차 열수추출물군 모두 대조군에 비하여 유의적으로 높았다. 한편, PEPCK 활성은 실험기간 유의적인 변화가 없었다.

혈장 중의 aminotransferase 활성에 미치는 영향

야콘잎 발효차 열수추출물이 간독성에 미치는 영향을 살펴본 결과 저농도 급여시 혈장의 ALT 활성만 대조군에 비하여 감소되는 경향을 보였으나 고농도 급여군에서는 AST와 ALT 활성 모두 각각 22%와 37% 유의적으로 낮았다 (Fig. 4).

고 찰

장기간의 고지방 급여는 인슐린 저항성을 유발하지만 당뇨병을 동반하지 않기 때문에¹⁹⁾ 고지방과 저농도의 STZ으로 유도한 당뇨동물들이 제2형 당뇨병 연구에 널리 사용되고 있다.^{20,21)} 본 실험에서도 고지방식이 (열량의 37%를 지방으로)를 4주간 급여한 마우스의 공복 혈당은 155 mg/dL로 정상 식이를 급여한 마우스의 122 mg/dL로 보다 약 27% 높게 나타났다. 이와 같이 고지방식으로 인슐린저항성을 유도한 후 STZ을 투여하여 제2형 당뇨병을 유발한 마우스에게 야콘잎 발효차 열수추출물을 수준별 (0.16%와 0.8%) 식이로 급여한 후 혈당과 관련 바이오마커 및 당대사의 변화를 측정하였다.

고지방식이와 STZ 투여는 췌장의 β-세포 기능장애와 인슐린 분비능을 저하시키는 것으로 알려져 있는데,²¹⁾ 본 실험에서도 당뇨대조군의 췌장 β-세포 염색이 현저히 감소되었

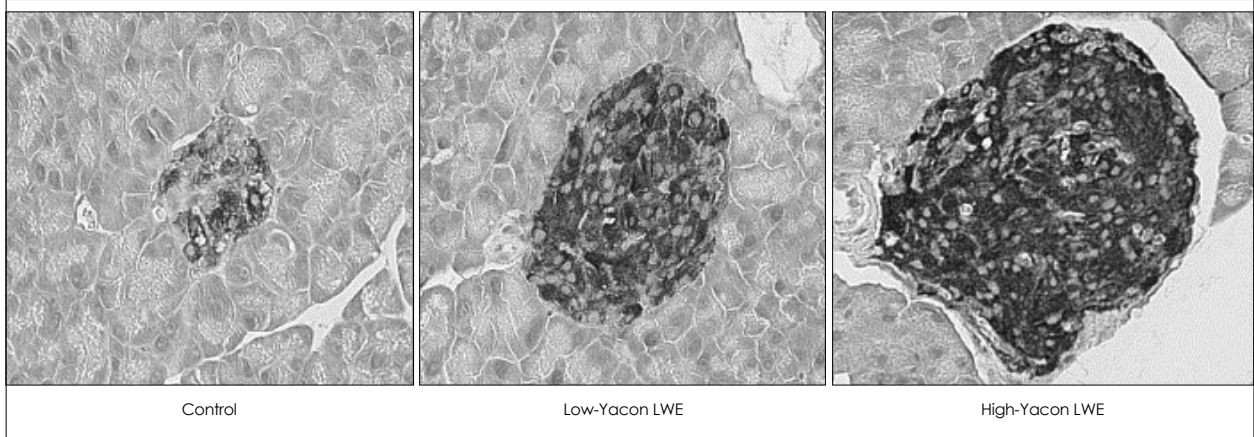


Fig. 3. Effect of fermented yacon tea water extract supplementation on immunohistochemical finding of islet for insulin in HFD/STZ-induced diabetic mice ($\times 200$).

Table 4. Effect of fermented yacon leaves tea water extract supplementation on hepatic glucose metabolic enzymes activities in HFD/STZ-induced diabetic mice*

	Control	Low-Yacon LWE	High-Yacon LWE
GK (nmol/min/mg protein)	15.52 \pm 1.51 ^a	25.36 \pm 2.73 ^b	25.72 \pm 2.69 ^b
G6Pase (nmol/min/mg protein)	80.58 \pm 2.90 ^b	70.39 \pm 4.50 ^b	56.79 \pm 2.30 ^a
PEPCK (nmol/min/mg protein)	37.73 \pm 2.49	40.26 \pm 1.57	44.82 \pm 2.44
GK/G6Pase	0.19 \pm 0.02 ^a	0.35 \pm 0.02 ^b	0.45 \pm 0.05 ^b

*: Mean \pm S.E. (n = 9)

Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups by Duncan's multiple range test (p < 0.05)

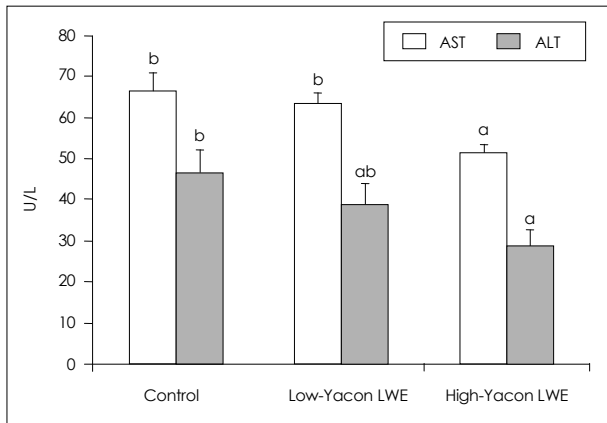


Fig. 4. Effect of fermented yacon tea water extract supplementation on plasma aminotransferase activity in HFD/STZ-induced diabetic mice. Mean \pm S.E. (n = 9). Means not sharing a common letter are significantly different among groups by Duncan's multiple range test (p < 0.05).

으며, 혈장 중의 인슐린 함량 (0.33 \pm 0.01 ng/mL)도 정상군 (0.63 \pm 0.02 ng/mL)에 비하여 유의적으로 낮아짐을 확인하였다. 제2형 당뇨병마우스에게 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 혈장 중의 인슐린 함량에는 영향을 미치지 않았으나 급여수준이 높을수록 대조군에 비하여 췌장의 크기도 컸으며 β -세포 염색도 많았다. 특히, 고농도의 야콘잎 발효

차 열수추출물 급여 5주째부터 혈당은 유의적으로 낮아지기 시작하여 실험 종료시에는 대조군에 비하여 21%의 혈당저하 효과가 나타났다. 이와 같이 본 실험결과는 야콘잎 발효차 열수추출물을 고농도로 섭취할 경우 제2형 당뇨병의 혈당이 개선됨을 제시한다. 본 실험에서 야콘잎 발효차 열수추출물은 내당능에는 영향을 미치지 않았으나, 인슐린 내성을 유의적으로 개선하였다. 이는 야콘잎 발효차 열수추출물이 식후 혈당개선에는 효과가 없었으나 인슐린 민감성을 개선하는 것으로 나타났다. 이와 같이 고농도의 야콘잎 발효차 섭취는 췌장의 인슐린 분비에 영향을 미치기보다는 인슐린 민감성을 개선함으로써 제2형 당뇨병의 혈당 개선에 부분적으로 기여할 것으로 사료된다. 반면, 장기간의 혈당개선 지표로 사용되는 당화헤모글로빈의 함량은 6주간의 야콘잎 발효차 급여에 따른 변화가 관찰되지 않았는데, 이는 야콘잎 발효차의 혈당개선 효과가 실험 5주부터 나타나기 시작하였기 때문인 것으로 생각된다.

한편, 렙틴은 지방세포에서 분비되는 호르몬으로 식이섭취와 에너지소비를 조절하고 당대사를 증가시키는데 중요한 역할을 한다.^{22,23} 렙틴이 결핍된 마우스와 사람에게서 비만, 인슐린저항성과 당뇨병이 발생되나,²⁴⁻²⁶ 많은 임상시험에서 혈장의 렙틴함량은 체질량지수와 양의 상관관계로 비만한 사

람에서 고렙틴혈증은 일반적이다.²⁷⁾ 고지방식이를 급여한 마우스는 혈장 렙틴농도가 높지만 고혈당을 유도하지는 않기 때문에 렙틴이 제2형 당뇨병에 미치는 영향을 연구하기 위해서는 고지방식이와 STZ으로 당뇨병을 유도한 동물모델이 적절한 것으로 보고되고 있다.²⁷⁾ 본 실험에서도 정상군에 비하여 고지방식이와 STZ으로 유도한 당뇨마우스의 혈장 렙틴 함량이 유의적으로 낮았으나 (자료 미제출), 야콘잎 발효차 열수추출물은 급여수준에 관계없이 렙틴함량을 개선하였다. Kusakabe 등²⁷⁾은 고지방과 STZ으로 유도한 제2형 당뇨동물에게 렙틴을 투여할 경우 당대사가 개선되고 인슐린민감성이 향상되었다고 보고하였다.

간은 정상적인 혈당을 유지하는데 중요한 역할을 하기 때문에 췌장과 독립적으로 당대사 질환을 예방 또는 치료하는데 있어 표적기관이 되고 있다.²⁸⁾ Valentov á 등²⁸⁾은 야콘잎의 페놀화합물이 간세포내 당생성을 감소시킨다고 보고한 바 있으며, 야콘잎의 chlorogenic acid, caffeic acid, enhydrin 등의 파이토케미컬 화합물들이 혈당조절에 기여한다고 보고하였다.^{11,29-31)} 본 실험에서도 야콘잎 발효차 열수추출물 100 g당 총 폴리페놀 화합물이 3.7 g으로 함유량이 높았다. 그러나 아직까지 야콘잎이 당대사에 미치는 구체적인 연구는 미비한 실정임으로 야콘잎 발효차 열수추출물이 제2형 당뇨동물의 간조직내 당대사 관련 효소활성에 미치는 변화를 측정하였다. 세포내에서 해당과정의 첫단계에 작용하여 글루코오스 이용 속도를 결정하는 효소 중의 하나인 GK 활성도는 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군 모두 대조군에 비하여 유의적으로 높았다. 반면 당신생 관련 효소인 G6Pase 활성은 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물군에서 대조군에 비하여 유의적으로 억제되었다. 그러나 GK/G6Pase 활성비는 저농도와 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물군이 대조군에 비하여 각각 1.8배와 2.4배 유의적으로 높았다. 특히, 공복시 혈당은 간조직내 GK 활성과 음의 상관관계 ($r = -0.526$, $p < 0.01$)를 보였으며, G6Pase 활성과는 양의 상관관계 ($r = 0.409$, $p < 0.01$)를 나타냄으로써 야콘잎 발효차 열수추출물은 간조직내에서의 당의 이용을 높이는 반면, 당신생을 억제하는 것으로 사료된다. 또 다른 당신생효소인 PEP-CK 활성은 실험군간에 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 이와 같이 야콘잎 발효차 열수추출물의 두 급여수준에서 효과적으로 당대사 효소활성에 영향을 미치는 것은 혈장 렙틴 변화와 유사한 양상이다. 특히, 혈장 중의 렙틴 함량은 간조직의 GK 활성과 양의 상관관계 ($r = 0.652$, $p < 0.001$)를 나타내었다. 또한 혈장의 AST와 ALT 활성은 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군이 대조군에 비하여 유의적으로 저하됨으로써 야콘잎 발효차의 간기능 개선 효과를 관찰

할 수 있었다.

이상의 결과에서 고농도의 야콘잎 발효차는 제2형 당뇨마우스의 인슐린 민감성과 렙틴 함량을 높이고 간조직에서 당대사를 효율적으로 조절함으로써 혈당을 개선하므로 야콘잎 발효차를 항당뇨 기능성 식품소재로의 가능성을 제시한다.

요 약

본 연구는 고지방식이와 STZ으로 제2형 당뇨병을 유발한 마우스에게 야콘잎 발효차 열수추출물을 수준별로 급여한 후 혈당과 당대사 변화를 살펴보았다. 4주령 ICR 마우스를 1주간 적응시킨 후 고지방식이 (전체 열량의 37% 지방)를 4주간 급여하여 인슐린저항성을 유발한 마우스에게 STZ (100 mg/kg body weight)을 일회 복강주사 하였다. 7일 후 공복시 혈당이 250 mg/dL인 마우스만을 사용하여 난괴법으로 대조군, 저농도 야콘잎 발효차 열수추출물군 (0.16%, wt/wt), 고농도 야콘잎 발효차 열수추출물군 (0.8%, wt/wt)으로 나누었으며, 야콘잎 발효차 분말이 1%와 5% 수준이 되도록 열수추출물을 식이에 첨가 조제하여 6주간 사육하였다. 체중, 일일 식이섭취량과 상대적 장기무게는 야콘잎 발효차 열수추출물 급여에 따른 유의적인 영향이 없었다. 실험 6주 동안 대조군에 비하여 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 혈당상승을 억제하였는데 특히, 고농도 야콘잎발효차 열수추출물 급여는 실험 5주째부터 대조군에 비하여 유의적으로 혈당을 낮추기 시작하여 실험종료시 대조군에 비하여 21%의 혈당을 개선하였다. 반면, 당화헤모글로빈의 함량은 야콘잎 발효차 열수추출물 급여에 따른 영향이 관찰되지 않았다. 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 혈장 중의 인슐린과 C-펩티드 함량 및 내당능을 개선하지 못하였으나 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물 급여는 제2형 당뇨마우스의 인슐린 내성을 유의적으로 개선하였다. 또한 혈장 중의 렙틴 농도는 모든 야콘잎 발효차 열수추출물군이 대조군에 비하여 1.2배 유의적으로 높았으며, 대조군에 비하여 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군의 췌장내 β -세포가 농도의존적으로 많이 존재하였다. 간조직의 GK 활성은 대조군에 비하여 저농도와 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군에서 유의적으로 높았으며, G6Pase 활성은 고농도 야콘잎 발효차 열수추출물 급여군이 대조군과 저농도 급여군에 비하여 낮았다. 그러나 GK/G6Pase 비는 저농도와 고농도 야콘잎 발효차 열수추출물군 모두 대조군에 비하여 유의적으로 높았다. 한편, PEPCK 활성은 실험군간 유의적인 변화가 없었다. 고농도의 야콘잎 발효차 열수추출물군의 혈장 AST와 ALT 활성은 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 이와 같이 고농

도의 야콘잎 발효차 열수추출물은 제2형 당뇨병마우스의 인슐린 민감성을 개선하고 간조직에서 당이용을 높이는 반면, 당신생을 억제함으로써 혈당저하에 효과적인 것으로 나타났다.

Literature cited

- Novel V. The lost crops of the Incas. *Ceres* 1984; 17: 37-40
- Ryu JH, Doo HS, Moon JG. Development of cultivation, propagation and manufactured food and new crop, yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl). Research Report of Ministry of Agriculture & Forestry; 1976, p.26
- Goto K. Isolation and structural analysis of oligosaccharides from yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Biosci Biotechnol Biochem* 1995; 59: 2346-2347
- Lee FZ, Lee JC, Yang HC, Jung DS, Eun JB. Chemical composition of dried leaves and stems and crude tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Korean J Food Preservation* 2002; 9: 61-66
- Lin F, Hasegawa M, Kodama O. Purification and identification of antimicrobial sesquiterpene lactones from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves. *Biosci Biotechnol Biochem* 2003; 67: 2154-2159
- Aybar MJ, Sánchez Riera AN, Grau A, Sánchez SS. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2001; 74: 125-132
- Valentová K, Cvak L, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. *Eur J Nutr* 2003; 42: 61-66
- Volpato G, Vieira F, Almeida F, Camara F, Lemonica I. II World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare organized by ICMAP-ISHS-SAIPA, Mendoza, Argentina Abstract; 1997. p.349
- Miura T, Itoh Y, Ishida T. Hypoglycaemic and hypolipidemic activity of the leaf of *Smallanthus sonchifolius* in genetically type 2 diabetic mice. *J Tradit Med* 2004; 21: 275-277
- Ogose N, Ai T, Terada S, Yoshioka K, Tago K, Tishimura A, Kajimoto Y, Kajimoto O. The inhibitory effect of the food which consists of the extract from the leaf and stem of yacon on the postprandial increase in blood glucose for subjects with normal blood glucose or borderline diabetes. *Japanese Pharmacology & Therapeutics* 2006; 34: 737-746
- Genta SB, Cabrera WM, Mercado MI, Grau A, Catalán CA, Sánchez SS. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions. *Chem Biol Interact* 2010; 185: 143-152
- American Institute of nutrition. Report of the American Institute of nutrition Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 1977; 107: 1340-1348
- Hulcher FH, Oleson WJ. Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J Lipid Res* 1973; 14: 625-631
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254
- Davidson AL, Arion WJ. Factors underlying significant underestimations of glucokinase activity in crude liver extract: physiological implications of higher cellular activity. *Arch Biochem Biophys* 1987; 253: 156-167
- Newgard CB, Hirsch LJ, Foster DW, McGarry DJ. Studies on the mechanism by which exogenous glucose is converted into liver glycogen in the rat. *J Biol Chem* 1983; 258: 8046-8052
- Alegre M, Ciudad CJ, Fillat C, Guinovart JJ. Determination of glucose-6-phosphatase activity using the glucose dehydrogenase-coupled reaction. *Anal Biochem* 1988; 173: 185-189
- Bentle LA, Lardy HA. Interaction of anions and divalent metal ions with phosphoenolpyruvate carboxykinase. *J Biol Chem* 1976; 251: 2916-2921
- Chalkley SM, Hettiarachchi M, Chisholm DJ, Kraegen EW. Long-term high-fat feeding leads to severe insulin resistance but not diabetes in Wistar rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282: E1231-E1238
- Mu J, Woods J, Zhou YP, Roy RS, Li Z, Zycband E, Feng Y, Zhu L, Li C, Howard AD, Moller DE, Thornberry NA, Zhang BB. Chronic inhibition of dipeptidyl peptidase-4 with a sitagliptin analog preserves pancreatic beta-cell mass and function in a rodent model of type 2 diabetes. *Diabetes* 2006; 55: 1695-1704
- Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* 2005; 52: 313-320
- 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: 543-546
- Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-770
- Muzzin P, Eisensmith RC, Copeland KC, Woo SL. Correction of obesity and diabetes in genetically obese mice by leptin gene therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14804-14808
- Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903-908
- Licinio J, Caglayan S, Ozata M, Yildiz BO, de Miranda PB, O'Kirwan F, Whitby R, Liang L, Cohen P, Bhasin S, Krauss RM, Veldhuis JD, Wagner AJ, DePaoli AM, McCann SM, Wong ML. Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptin-deficient adults. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 4531-4536
- Kusakabe T, Tanioka H, Ebihara K, Hirata M, Miyamoto L, Miyayama F, Hige H, Aotani D, Fujisawa T, Masuzaki H, Hosoda K, Nakao K. Beneficial effects of leptin on glycaemic and lipid control in a mouse model of type 2 diabetes with increased adiposity induced by streptozotocin and a high-fat diet. *Diabetologia* 2009; 52: 675-683
- Valentová K, Truong NT, Moncion A, de Waziers I, Ulrichová J. Induction of glucokinase mRNA by dietary phenolic compounds in rat liver cells in vitro. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 7726-7731
- Jirovský D, Horáková D, Kotouek M, Valentová K, Ulrichová

- J. Analysis of phenolic acids in plant materials using HPLC with amperometric detection at a platinum tubular electrode. *J Sep Sci* 2003; 26: 739-742
- 30) Lachman J, Fernandez EC, Orsak M. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use-a review. *Plant Soil Environ* 2003; 49: 283-290
- 31) Simonovska B, Vovk I, Andresek S, Valentová K, Ulrichová J. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *J Chromatogr A* 2003; 1016: 89-98