

## 3T3-L1 세포에서 소맥엽 에탄올추출물의 지질생성 억제효과

이선희\*\*\* · 신명걸\* · Bui Thi Thuy Luyen\*\*\* · 차지윤\* · 임지영\* ·

권세욱\* · 임성원\*\* · 서주원\*\*\*\* · 김영호\*\*\* · 김대기\*\* · 이영미\*<sup>#</sup>

\*원광대학교 약학대학 한약학과 및 원광한약연구소, \*\*전북대학교 의과대학 및 의과학연구소,  
\*\*\*충남대학교 약학대학 약학과,

\*\*\*\*명지대학교 자연과학대학 생명과학정보학부 및 농생명바이오식의약소재개발사업단

(Received October 29, 2011; Revised November 8, 2011; Accepted November 11, 2011)

### Inhibitory Effect of *Triticum aestivum* Ethanol Extract on Lipid Accumulation in 3T3-L1 Preadipocytes

Sun-Hee Lee\*\*\*, Mingjie Xin\*, Bui Thi Thuy Luyen\*\*\*, Ji-Yun Cha\*, Ji-Young Im\*, Se-Uk Kwon\*,  
Sung-Won Lim\*\*, Joo-Won Suh\*\*\*\*, Young-Ho Kim\*\*\*, Dae-Ki Kim\*\* and Young-Mi Lee\*<sup>#</sup>

\*Dept. of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University and Wonkwang-Oriental Medicines Research Institute,  
Iksan 570-749, Korea

\*\*Dept. of Immunology and Institute of Medical Science, Chonbuk National University Medical School, Jeonju 561-180, Korea

\*\*\*College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

\*\*\*\*Division of Bioscience and Bioinformatics, College of Natural Science and Research Center for Bio Food and Drug Materials,  
Myongji University, Yongin 449-728, Korea

**Abstract** — Non-alcoholic fatty liver disease is known to be frequently associated with obesity and type 2 diabetes. We examined the effects of EtOH extracts from *Triticum aestivum* on lipid accumulation during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes to screening the candidate materials in preventing non-alcoholic fatty liver disease. The lipid level in adipocytes was determined by Oil Red O staining. The treatment of 50% ethanol, but not water and 100% ethanol extracts, from *Triticum aestivum* at concentration of 0.5 mg/ml inhibited lipid accumulation in 3T3-L1 cells, revealing no cell toxicity. Thus, the fractions of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc and BuOH were separated from 50% EtOH extract to characterize anti-adipogenic effect. The CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fraction at concentration of 50 µg/ml effectively inhibited the lipid accumulation in the adipocytes compared to those of EtOAc and BuOH at concentration of 50 µg/ml. The intracellular triglyceride accumulation also was significantly reduced by treatment of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fraction in concentration-dependent manner. Western blot analysis showed that the CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fraction attenuated the intracellular level of fatty acid synthase(FAS) accompanied by attenuated expression of Peroxidase proliferator-activated receptor γ (PPARγ) adipogenic transcription factor. These results suggest that CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fraction from 50% EtOH extract of *Triticum aestivum* may has the potent anti-adipogenic effects by inhibiting the transactivation of PPARγ.

**Keywords** □ *Triticum aestivum*, 3T3-L1 preadipocytes, lipid accumulation, fatty acid synthase. anti-adipogenesis

비알콜성 지방간(non-alcoholic fatty liver disease)은 가장 일반적인 간질환으로서 중성지질(triglyceride)의 함량이 전체 간 무게의 5%를 초과할 경우로 정의된다. 비알콜성 지방간은 서구인의 경우 20-30%의 유병률을 보이며, 특히 비만이나 제2형 당뇨병

병의 경우 비알콜성 지방간을 유도하는 가장 중요한 위험인자로 작용하기 때문에 지방세포의 분화에 대한 관심이 더욱 집중되고 있다.<sup>1)</sup> 비만은 에너지 섭취와 소비간의 불균형에 의해 섭취가 소비를 능가 할 때 과도하게 체지방이 축적되는 현상으로 지방세포의 수와 크기가 증가하는 것으로 알려져 있고, 내장과 복부지방의 축적에 따른 체형의 변화뿐만 아니라 인슐린 저항성, 이상 지질혈증, 고혈압, 당뇨병, 동맥경화증 등 각종 질환의 발병률을 증가시키는 위험요소이다.<sup>2)</sup>

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 063-850-6807 (팩스) 063-855-6807  
(E-mail) ymlee@wku.ac.kr

지방세포의 분화과정은 일생을 통해 지방전구세포에서 지방세포로 지속적으로 전환되는데, 지방세포 분화를 유도하는 외부 신호 중 인슐린은 가장 널리 알려져 있는 호르몬으로 지방세포의 대사조절에 중추적인 역할을 담당하고 있다. 인슐린은 또한 당질의 흡수와 중성지방의 합성을 증가시켜 지질의 형태로 에너지를 저장 한다.<sup>3)</sup> 지방세포 내의 지방구(lipid droplet)는 지질의 대사 및 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 분화된 지방세포에서 중성지방의 합성과 이로 인한 세포내 지방의 축적을 조절한다. 이와 같이 지방세포 형성(Adipogenesis)은 세포 형태의 변화, 호르몬 민감성의 변화, 유전자 발현의 변화 및 단백질 발현 변화 등의 복합적인 과정으로 인해 일어나며, 비만, 당뇨 등의 대사성질환과 연계되어 있다.<sup>4)</sup> 지방세포 형성과정은 CCAAT/enhancer binding proteins(C/EBPs)와 Peroxidase proliferator-activated receptor  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ) 등의 전사인자의 발현이 증가하고 이들에 의해 지방산합성효소(Fatty acid synthase, FAS)가 유도되어 세포내 지질 축적이 조절된다고 보고되고 있다.<sup>5,6)</sup>

소맥(*Triticum aestivum* Lamarck)은 화본과 식물로 주로 온대 지방에서 재배하며 세계적으로 주식이용률과 생산량이 높은 작물이다. 소맥엽 주스가 암세포의 세포자살을 유도하여 항암치료에 효과가 있다고<sup>7)</sup> 알려져 항암치료에 이용하기도 하고, 발암성 물질 7,2-dimethylbenz(a)anthracene의 활성을 억제한다는 보고가 있다. 또한 대장암 진행을 조절<sup>8)</sup>하거나 항염증<sup>9)</sup> 및 항산화 효과<sup>10)</sup>가 있다는 다양한 약리학적 효능이 보고되었다. 최근 본 연구자는 streptozotocin(STZ)으로 유도한 제1형 당뇨 마우스모델에서 소맥엽 물 추출물을 투여에 의한 혈당 및 체중개선을 보고한 바 있으나, 지방세포에서 지질생성에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다.

본 연구에서는 소맥엽의 물, 50% 에탄올, 100% 에탄올 추출물에 대한 지방세포의 지질 축적에 대한 억제효과를 조사하였으며 그 결과 50% 에탄올에서 강력한 지질 축적의 억제효과를 확인하였다. 아울러 50% 에탄올로부터 얻은 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물이 3T3-L1 지방전구세포에서의 지질생성 및 지방세포 분화에 미치는 효과에 대하여 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용한 시료는 금강 우리밀 품종(*Triticum aestivum* L.)을 국립식량과학원에서 공급받아 일정 온도(평균  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ )를 유지하며 무균 유기농 발아용 피트머스 위에서 발아, 재배하였다. 발아 후 2주간 재배된 소맥엽을 수확하여 동결건조 하고, 일정 크기로 분쇄하여 분말화 하였다. 3T3-L1 지방전구세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)으로부터 분양 받았다. 세포배양을 위한 Dulbecco's modified Eagle's Media(DMEM) 및 fetal

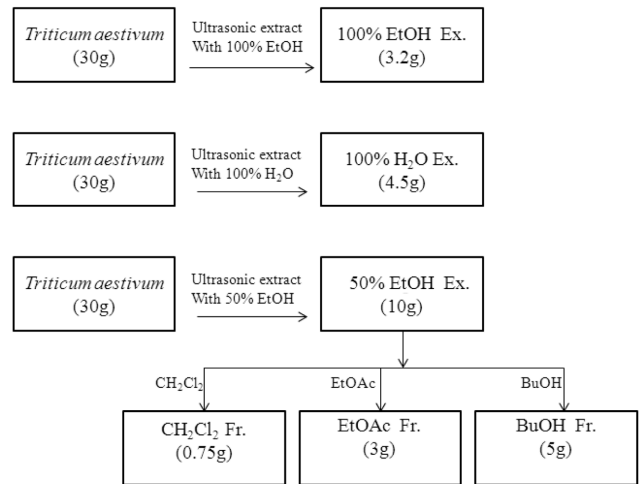


Fig. 1 – Preparation of *Triticum aestivum* extracts and fractions.

bovine serum(FBS)는 Hyclone(Logan, UT)에서 구입하였고, penicillin(100 units/ml)-streptomycin(100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )은 WeiGENE(Daegu, Korea)에서 구입하였다. 세포증식 분석시약 Cell Counting Kit-8(CCK-8)은 Dojindo사(Tokyo, Japan)에서 구입하였으며 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 위하여 사용된 insulin, dexamethasone 및 IBMX와 지방세포 내 triglyceride 생성을 확인하기 위하여 사용된 Oil Red O는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO)에서 구입하였다.

### 추출물 제조

본 실험은 우리밀 품종(금강소맥)을 국립식량과학원으로부터 Fig. 1과 같이 추출물은 3가지(물, 50% 에탄올, 100% 에탄올)로 제조하였다. 물 추출물은 소맥엽 동결 분말 시료(30g)를 1의 정제수로 1시간 동안 가온 추출하여 여과한 후, 회전감압농축기(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압농축 하여 3.2 g을 얻었다. 50% 에탄올과 100% 에탄올 추출물은 소맥엽 동결 분말 시료(30g)를 50% 에탄올, 100% 에탄올로 1시간 초음파 추출하여 여과한 후 회전감압농축기(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압농축하여 각각 10 g, 4.5 g을 얻었다. 이 중 50% 에탄올 추출건조물 10 g을 3차 증류수에 현탁시킨 다음 계통분획법에 의하여  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0.75 g), EtOAc(3 g), BuOH(5 g)를 얻었다. 보다 완전한 건조를 위해 동결건조를 실시하고, 생산된 소맥엽 추출물 및 분획물은 실험 직전까지 빛으로 부터 차단된  $4^\circ\text{C}$ 에 보관하였다.

### 3T3-L1 세포배양과 분화유도

3T3-L1 지방전구세포(American Type Culture Collection, Rockville, MD)의 배양과 유지는 10% FBS를 넣은 DMEM 배지로 5%  $\text{CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$ 에서 60% 세포가 자랐을 때 계대배양을 하도록 하였다. 세포를 탈락시켜 24-well plate에 well 당  $2 \times 10^4$

세포를 분주하여 세포가 100% 밀집되게 배양하였다. 이러한 조건하에서 3T3-L1은 preadipocyte 상태를 유지한다고 알려져 있다.<sup>11)</sup> 3T3-L1 cell이 confluent stage에 도달하면 2일 후 10% FBS와 MDI solution(0.5 mM IBMX, 0.1  $\mu$ M dexamethasone, 10  $\mu$ g/ml insulin)을 포함한 DMEM 배지를 2일 동안 처리하였고 다시 10% FBS와 10  $\mu$ g/ml insulin을 포함한 DMEM을 2일 동안 처리하였다. 그 후 10% FBS를 포함한 DMEM으로 교환하고 모두 8일 동안 배양하여 세포 내 지방구의 형성을 근거하여 지방세포로 분화를 확인하였다.

### 세포생존율 분석

추출물에 의한 3T3-L1 지방전구세포의 세포독성을 확인하기 위해 CCK-8 kit를 사용하였다. 세포를 96 well plate에  $5 \times 10^3$  cells/well로 분주하여 24시간 동안 안정화 시킨 후, 시료를 농도별로 희석한 배지를 처리하여 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건의 incubator에서 48시간을 배양하였다. 배양 후 CCK-8 시액 10  $\mu$ l를 각 well에 첨가하여 다시 1시간 배양하고 그 배양액을 450 nm에서 흡광도 측정하였다.

### Oil red O 염색

세포 내 지방구 생성을 확인하기 위하여 중성지방과 반응하는 Oil Red O 염색을 실시하였다. 분화시작일로부터 8일째 되던 날 배지를 제거하고 PBS로 세척한 후, 상온에서 1시간 동안 4% formaldehyde로 세포를 고정하고, 60% isopropanol로 세척하였다. Oil red O 시액으로 20분간 염색시킨 후 증류수로 3회 세척한 다음 염색된 세포를 위상차 현미경을 이용하여 관찰하였다. 또한 정량적 분석을 위하여 100% isopropanol을 이용하여 지방을 추출한 후 96 well plate에 200  $\mu$ l씩 옮겨서 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Oil red O 시액으로 지방 함량은 대조군의 평균 흡광도에 상대적인 백분율로 나타내었다.

### Triglyceride 함량의 측정

분화된 3T3-L1세포 내 중성지방(triglyceride)함량은 세포를 수집하여 배지를 제거하고 (주)아산제약(Seoul, Korea)에서 구입한 효소활성분석 kit들을 사용하여 제공된 프로토콜에 따라 550 nm에서 흡광도를 측정하여 결과를 얻었다.

### FAS 발현량 분석

분화된 지방세포에 발현하는 PPAR $\gamma$ 와 FAS 단백질을 확인하기 위해 Western blot법으로 분석하였다. 3T3-L1 세포를 MDI 존재하에서 48시간 배양 후 PBS 용액으로 2회 세척한다. PRO-PREP protein extraction solution(iNtRON Biotech., Gyeonggi-do, Korea)를 넣고 4°C에서 20분간 용해시킨 후 4°C에서 20분간 원심분리하여 세포 lysate인 상층액을 수거하여 단백질을 정

량하였다. 각각의 세포 시료에서 단백질 30  $\mu$ g를 취하여 SDS loading buffer와 혼합 후 10% 또는 7.5% SDS polyacrylamide gel에 loading하여 전기영동하고 PVDF membrane에 transfer하였다. 항원항체반응을 실시하기 위해 5% skim milk용액에 1시간 Blocking하고 1차 항체로 rabbit anti-FAS mAb 또는 rabbit anti-PPAR $\gamma$  mAb(Cell Signaling, Danvers, MA)를 사용하여 4°C에서 18시간 반응시켰다. 이후 membrane을 세척하고 2차 항체로 HRP가 결합된 goat anti-rabbit IgG polyAb로 40분간 반응시켜 Chemiluminescent detection kit(Invitrogen Co., Carlsbad, CA)를 넣고 특정 단백질을 발색시켰다.

### 통계처리

실험결과는 평균(mean)  $\pm$  표준편차(SD)로 나타내었고 통계적 유의성은 Student's *t*-test를 이용하여 그룹간의 차이를 통계처리한 후  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 검정하였다.

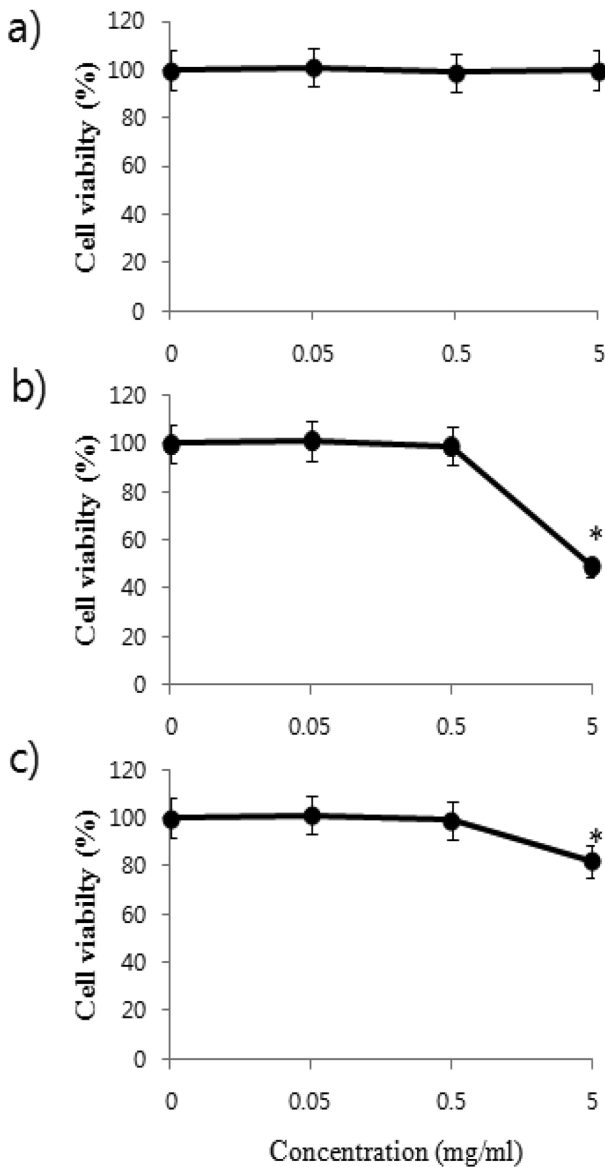
## 결과 및 고찰

### 세포독성시험

3T3-L1 지방전구세포를 이용하여 소맥엽 물 추출물, 50% 에탄올 추출물 및 100% 에탄올 추출물의 세포독성 범위를 확인하기 위하여 세포증식 분석용 CCK-8 kit 이용하여 세포 생존율을 측정하였다(Fig. 2). 추출물 각각 0, 0.05, 0.5 및 5 mg/ml 농도에서 세포를 48시간 배양하여 측정된 결과 모든 추출물에서 0.5 mg/ml 농도까지 세포 생존율에 영향을 미치지 않았다. 따라서 이후의 3T3-L1 지방전구세포의 분화 유도실험에서는 세포독성이 없는 농도범위인 0.5 mg/ml까지 사용하였다. 하지만 소맥엽의 에탄올 추출물의 경우 다른 천연물 알코올 추출물을 연구한 보고와 비교해 볼 때<sup>12-14)</sup> 비교적 세포독성이 낮은 것으로 생각된다.

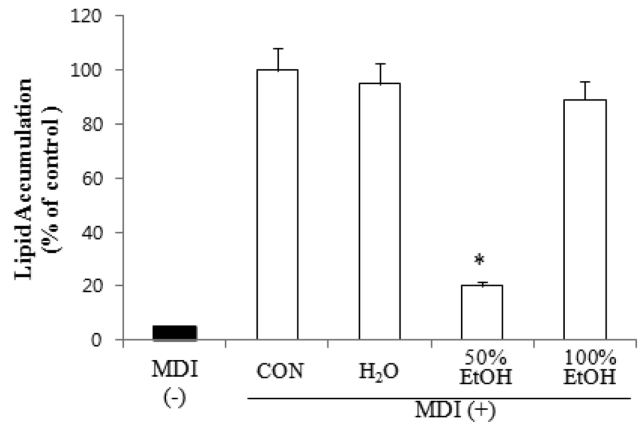
### 지방생성 억제효과

3T3-L1 지방전구세포에 소맥엽 물 추출물, 50% 에탄올 추출물 또는 100% 에탄올 추출물을 0.5 mg/ml에서 처리한 후 실험방법에 따라 세포 분화를 유도하고 세포내 지방구 및 중성지방의 축적에 미치는 영향을 확인하기 위해 Oil-Red O 시액으로 염색하였다. 그 결과 MDI 분화유도제만 처리한 세포에서 배양 4일째부터 지방구 형성이 관찰되었으며, Oil Red O염색에 의해 중성지방 축적이 확인되었다. Fig. 3에서 같이 MDI 존재하에서 물 추출물과 100% 에탄올 추출물을 처리한 세포에서는 지방세포 분화에 영향을 미치지 않았지만 세포 50% 에탄올 추출물 처리군에서만 3T3-L1 세포의 분화를 억제하였으며 Oil Red O염색을 통한 세포내 중성지방의 함량이 미분화 세포 수준으로 분화가 현저히 억제되었다. 따라서 본 연구자는 소맥엽 50% 에탄올 추출물에 지방세포 분화를 억제하는 활성물질이 존재한다고

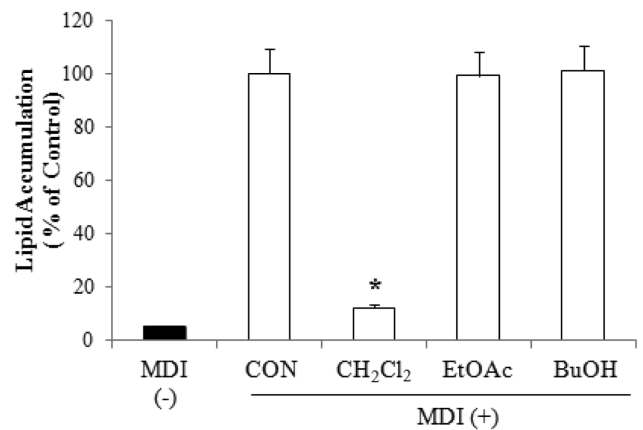


**Fig. 2** – Cell viability of 3T3-L1 preadipocytes treated with H<sub>2</sub>O(a), 50% EtOH(b), or 100% EtOH(c) extract from *Triticum aestivum* at various concentrations. Cell growth was determined using CCK-8 Kit. \*Significant differences were determined by Student's *t*-test at *p*<0.05.

생각되어, 이를 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 에틸아세테이트(EtOAc), 부탄올(BuOH)순으로 분획물을 취하고, 각각에 대한 지방세포 분화에 미치는 영향을 조사하였다. 우선 각각의 분획에 대한 세포 독성을 확인하기 위해 소맥엽 50% 에탄올 추출물에서 시행한 방법과 동일하게 0, 5, 50, 500 mg/ml 농도에서 세포 생존율을 확인하였다. 그 결과는 에틸아세테이트와 부탄올 분획물들은 최고 농도인 500 mg/ml까지 세포의 생존율에 영향을 미치지 않았지만 디클로로메탄 분획물은 50 mg/ml 농도까지 세포의 생존율에 영향을 미치지 않았다. 따라서 3T3-L1 지방전구세포의 분화 유

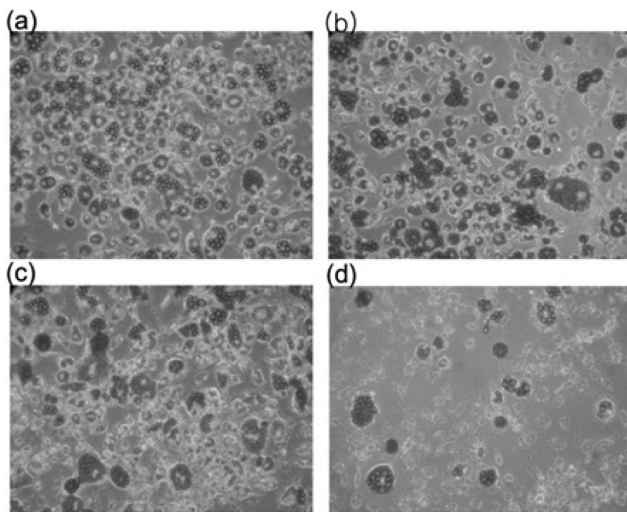


**Fig. 3** – Effect of H<sub>2</sub>O, 50% EtOH, and 100% EtOH extracts from *Triticum aestivum* on the lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. Cells were cultured in the presence or absence of MDI for 8 days, and then lipid content was measured by optical density stained with Oil red O reagent. Values are expressed as the mean±SD of at least three independent experiments, each performed in triplicate (n=3). \*Significant difference compared to control group at *p*<0.05.



**Fig. 4** – Effect of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, and BuOH from 50% EtOH *Triticum aestivum* on the lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. Cells were cultured in the presence or absence of MDI for 8 days, and then lipid content was measured by optical density stained with Oil red O reagent. Values are expressed as the mean±SD of at least three independent experiments, each performed in triplicate (n=3). \*Significant difference compared to control group at *p*<0.05.

도실험에서 세포독성이 없는 농도범위인 50 mg/ml 농도에서 지방세포 분화 억제효과를 조사하였다(Fig. 4). 그 결과 50% 에탄올 추출물 유래 50 mg/ml 디클로로메탄 분획물을 처리한 세포에서 세포분화를 유의적으로 억제함을 관찰하였다. 또한 MDI에 의해 분화가 유도된 세포에서 Oil Red O염색에 의한 중성지방의 함량과 비교한 결과 디클로로메탄 분획물을 처리한 세포 내에서 중성지방 상대함량이 88%의 감소를 나타내었다. 반면에 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물은 전혀 영향을 미치지 않았다. 한편

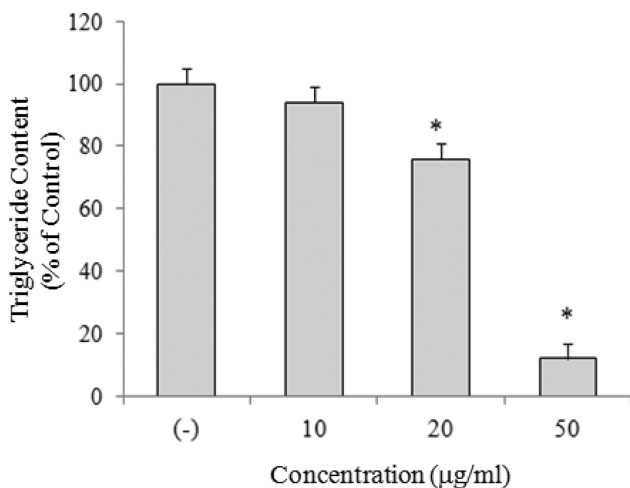


**Fig. 5** – Effect of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  fraction from 50% EtOH *Triticum aestivum* on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. Cells were cultured in the presence of MDI for 8 days and then stained with Oil Red O solution for macroscopic assay ( $\times 200$ ). (a) MDI, (b) MDI+10 mg/ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  fraction, (c) MDI+20 mg/ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  fraction, (d) MDI+50 mg/ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  fraction,

Oil-Red O 염색에 대한 현미경적 관찰에서도 디클로로메탄 분획물이 0, 10, 25 또는 50 mg/ml의 농도범위에서 농도 의존적으로 3T3-L1 세포의 지방 축적을 억제하는 것으로 확인 되었다(Fig. 5).

#### 지방세포의 분화억제 효과

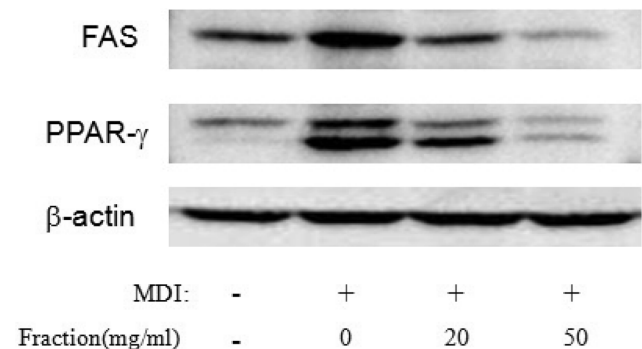
지방세포에 중성지방(triglyceride)이 축적되는 과정은 세포내



**Fig. 6** – Effect of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  fraction from 50% EtOH extract of *Triticum aestivum* on the triglyceride content in differentiated 3T3-L1 cells. Cells were cultured in the presence of MDI for 8 days and then collected for the triglyceride analysis. Values are expressed as the mean $\pm$ SD of at least three independent experiments. \*Significant difference compared to control group at  $p < 0.05$ .

로 유입되는 포도당의 대사과정과 세포내 *de novo* 지방산 합성 과정 등으로 인한 지속적인 중성지방이 생성으로 중성지방이 지방구에 축적되어 시간이 지날수록 지방구끼리 결합하여 그 크기가 점점 증가하게 된다.<sup>15)</sup> 지방세포의 지방구는 중성지방과 perilipin A 등과 같은 지질, 단백질로 구성되어 있기 때문에 중성지방의 감소를 세밀하게 확인하기 위해 triglyceride의 함량을 효소분석법으로 측정하였다(Fig. 6). Oil Red O 염색법에 의한 결과와 마찬가지로 10~50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 분화된 3T3-L1 세포내의 중성지방의 함량이 농도 의존적으로 감소하는 것으로 나타났다.

지방세포분화의 첫 단계는 인슐린의 반응에 의하여 전사인자 발현으로 C/EBP $\beta$ 와 C/EBP $\delta$ 의 발현에 이어 C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$ 가 연쇄적으로 유도된다고 알려져 있다. 이들 전사인자들의 반응은 지방세포 분화에 관여하는 단백질 합성을 유도하며, 중성지방을 합성하는 효소 FAS의 지속적인 발현을 자극한다.<sup>16)</sup> 본 연구에서 지방세포가 분화하는 과정에서 PPAR $\gamma$  및 FAS의 단백질 발현에 50% 에탄올 추출물 유래 디클로로메탄 분획물이 미치는 영향을 Western blot법으로 조사하였다(Fig. 7). 3T3-L1 지방전구세포에 MDI+10% FBS +DMEM 존재하에서 2일간, insulin+10% FBS +DMEM 존재 하에서 2일간 총 4일간 배양하고 분화되는 세포에서 PPAR $\gamma$  및 FAS의 발현 수준을 분석한 결과 MDI 분화유도제만 처리한 세포에서 PPAR $\gamma$  및 FAS의 단백질 발현이 현저히 증가하는 것을 확인되었다. MDI 존재하에서 디클로로메탄 분획물을 20과 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  처리한 세포에서 농도 의존적으로 PPAR $\gamma$  및 FAS 단백질 발현이 억제되었다. 특히 50% 에탄올 추출물 유래 디클로로메탄 분획물 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  처리한 세포는 PPAR $\gamma$  및 FAS 단백질 발현 수준이 음성대조군 3T3-L1 지방전구세포와 유사한 수준으로 억제되는 것을 확인하였다. 이와 같이 소맥엽의 50% 에탄올 추출물에서 디클로로메탄 분획물만이 현저하게 유의적인 지방 축적의 감소를 보인 것은 매우 흥미로운 발견이다. 50% 에탄올 추출물만이 지방세포 분화를 억제



**Fig. 7** – Effect of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  fraction from 50% EtOH extract of *Triticum aestivum* on the expression of fatty acid synthase (FAS) and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- $\gamma$ ) in 3T3-L1 cells using Western blot assay.

한 것은 2가지 가설이 가능하다. 첫째는 유효물질이 극성 물질로 알코올과 물에 양쪽에 잘 녹는 특성 있는 것으로 생각되고 둘째는 100% 에탄올 및 물에 녹는 지방분화 억제물질을 중화 또는 세포보호물질들이 함유되어 있을 가능성이 있다. 아울러 소맥엽의 100% 에탄올 추출물에서도 50% 에탄올 추출물의 디클로로메탄 분획물에 존재하는 지방분화 억제물질이 존재 할 것으로 판단되지만 실제 지방세포 분화를 유도하지 못한 것은 농도에 따른 두 가지 효능이 나타나는 것에 기인했을 가능성이 예측된다.

Flavonoid는 과일 및 채소 등의 사람이 섭취하는 다양한 식물에 일반적으로 함유되어 있는 polyphenolic compounds의 한 종류로서 항암, 항염증, 항산화 등의 생리활성 기작에 밀접히 관여하고 있다.<sup>12,13)</sup> 또한 flavonoid는 지방세포의 분화를 억제하는 효과가 보고되고 있다.<sup>17,18)</sup> 본 연구에서 지방세포 분화를 억제하는 50% 에탄올 추출물의 디클로로메탄 분획물에는 flavonoid가 함유되어 있을 것으로 판단된다. 최근 소맥엽에 항산화 효과가 높은 배당체 및 polyphenol 물질군이 함유되어 있음이 보고되었으며,<sup>19)</sup> Cavaliere 등은 *Triticum durum*에서 tricetin, apigenin, luteolin 등의 flavonoid를 확인 분석하였다.<sup>20)</sup> 소맥엽에 함유되어 있는 luteolin은 식물계에 많이 분포된 flavonoid 중의 하나로서 PPAR $\gamma$  전사인자의 발현을 억제하여 3T3-L1 세포의 지방세포로의 분화를 억제한다고 보고되었다.<sup>21)</sup> 그러나 흥미롭게도 Ding 등은 반대로 luteolin이 PPAR $\gamma$  전사인자의 발현을 자극하여 3T3-L1 세포의 지방세포로의 분화를 촉진한다고 보고하였다.<sup>22)</sup> 최근 소맥엽에서 분석한 luteolin에 C-glycosides가 결합되어 있다고 보고되었다.<sup>20)</sup> 이를 근거로 luteolin의 glycosylation의 여부에 따라 상반된 결과를 보였을 가능성을 고려할 수 있을 것이다. 하지만 본 연구의 50% 에탄올 추출물의 디클로로메탄 분획물의 지방분화를 억제효과에 대한 flavonoids의 구조적 차이에 의한 관련성을 설명하기 위해서는 이들의 분자세포 생물학적 작용기전을 규명하기 위한 체계적인 연구가 필요할 것이다.

### 감사의 말씀

본 논문은 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(과제번호: PJ0080932011)의 지원에 의해 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 1) Cortez-Pinto, H., Camilo, M. E., Baptista, A., De Oliveira, A. G. and De Moura, M. C. : Nonalcoholic fatty liver: another feature of metabolic syndrome? *Clin. Nutr.* **18**, 353 (1999).
- 2) Levy, R. I. : Cholesterol, lipoproteins, apoproteins, and heart

- disease: present status and future prospects. *Clin. Chem.* **27**, 653 (1981).
- 3) Delgado, J. S. : Evolving trends in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur. J. Intern. Med.* **19**, 75 (2008).
- 4) Frayn, K. N., Karpe, F., Fielding, B. A., Macdonald, I. A. and Coppack, S. W. : Integrative physiology of human adipose tissue. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **27**, 875 (2003).
- 5) Darlington, G. J., Ross, S. E. and MacDougald, O. A. : The role of C/EBP genes in adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* **273**, 30057 (1998).
- 6) Schoonjans, K., Peinado-Onsurbe, J., Lefebvre, A. M., Heyman, R. A., Briggs, M., Deeb, S., Staels, B. and Auwerx, J. : PPARalpha and PPARgamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPARE in the lipoprotein lipase gene. *Embo. J.* **15**, 5336 (1996).
- 7) Lai, C. N. : Chlorophyll: The active factor in wheat sprout extract inhibiting the metabolic activation of carcinogens in vitro. *Nutri. Cancer* **3**, 19 (1979).
- 8) Ben-Arye, E., Goldin, E., Wengrower, D., Stamper, A., Kohn, R. and Berry, E. : Wheat grass juice in the treatment of active distal ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Scand. J. Gastroenterol.* **37**, 444 (2002).
- 9) Watzl, B. : Anti-inflammatory effects of plant-based foods and of their constituents. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **78**, 293 (2008).
- 10) Kulkarni, S. D., Tilak, J. C., Acharya, R., Rajurkar, N. S., Devasagayam, T. P. and Reddy, A. V. : Evaluation of the antioxidant activity of wheat grass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. *Phytotherapy Research* **203**, 218 (2006).
- 11) Morikawa, M., Nixon, T. and Green, H. : Growth hormone and the adipose conversion of 3T3 cells. *Cell* **29**, 783 (1982).
- 12) Havsteen, B. : Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 1141 (1983).
- 13) Middleton, E., Kandaswamy, C. and Theoharides, T. C. : The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.* **52**, 673 (2000).
- 14) Seelinger, G., Merfort, I. and Schempp, C. M. : Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta. Med.* **74**, 1667 (2008).
- 15) Brasaemle, D. L., Subramanian, V., Garcia, A., Marcinkiewicz, A. and Rothenberg, A. : Perilipin A and the control of triacylglycerol metabolism. *Mol. Cell Biochem.* **326**, 15 (2009).
- 16) Guo, X. and Liao, K. : Analysis of gene expression profile during 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Gene* **251**, 45 (2000).
- 17) Wang, J. Q., Li, J., Zou, Y. H., Cheng, W. M., Lu, C., Zhang, L., Ge, J. F., Huang, C., Jin, Y., Lv, X. W., Hu, C. M. and Liu,

- L. P. : Preventive effects of total flavonoids of *Litsea coreana* leave on hepatic steatosis in rats fed with high fat diet. *J. Ethnopharmacol.* **121**, 54 (2009).
- 18) Lee, M. J., Rao, Y. K., Chen, K., Lee, Y. C. and Tzeng, Y. M. : Effect of flavonol glycosides from *Cinnamomum osmophloeum* leaves on adiponectin secretion and phosphorylation of insulin receptor-beta in 3T3-L1 adipocytes. *J. Ethnopharmacol.* **29**, 79 (2009).
- 19) Calzuola, I., Gianfranceschi, G. L. and Marsili, V. : Comparative activity of antioxidants from wheat sprouts, *Morinda citrifolia*, fermented papaya and white tea. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **57**, 168 (2006).
- 20) Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. and Lagan, A. : Identification and mass spectrometric characterization of glycosylated flavonoids in *Triticum durum* plants by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **19**, 3143 (2005).
- 21) Park, H. S., Kim, S. H., Kim, Y. S., Ryu, S. Y., Hwang, J. T., Yang, H. J., Kim, G. H., Kwon, D. Y. and Kim, M. S. : Luteolin inhibits adipogenic differentiation by regulating PPAR $\gamma$  activation. *Biofactors* **35**, 373 (2009).
- 22) Ding, L., Jin, D. and Chen, X. : Luteolin enhances insulin sensitivity via activation of PPAR $\gamma$  transcriptional activity in adipocytes. *J. Nutr. Biochem.* **21**, 941 (2010).