J Korean Soc Food Sci Nutr
41(7), 895~900(2012)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.7.895

동과 분획물이 3T3-L1 지방세포 분화 억제에 미치는 영향

유양희 · 전우진†
전남대학교 식품영양학과, 생활과학연구소

Effects of Fractions from *Benincasa hispida* on Inhibition of Adipogenesis in 3T3-L1 Preadipocytes

Yanghee You and Woojin Jun†
Dept. Food and Nutrition, and Human Ecology Research Institute, Chonnam National University, Gwangju 550-757, Korea

Abstract

The effects of three fractions, hexane (BHHH), chloroform (BHHC), and ethyl acetate (BHHE), from water extract of *Benincasa hispida* on the underlying mechanisms of adipogenesis were investigated in 3T3-L1 cells. Intracellular lipid droplets were stained with Oil Red O dye and quantified. Compared to control, lipid accumulation significantly decreased by 11% and 13% upon treatment with BHHC and BHHE, respectively at a concentration of 50 μg/mL. Intracellular triglyceride (TG) levels were also reduced by 21% and 16%, respectively, at the same concentration. To determine the mechanism behind the reductions in TG content and lipid accumulation, glycerol release and expression levels of adipogenic marker genes were measured. The levels of free glycerol released into culture medium increased by 13% and 17% upon treatment with BHHC and BHHE, respectively. In subsequent measurements using real-time polymerization chain reaction, the mRNA levels of PPARγ, C/EBPα, and leptin significantly decreased upon treatment with BHHE (45%, 67%, and 35%) in comparison with non-treated control. These results suggest that BHHE inhibits adipocyte differentiation by blocking PPARγ, C/EBPα, and leptin gene expression in 3T3-L1 cells, resulting in reduced lipid accumulation, increased glycerol release, and intracellular triglycerides.

Key words: *Benincasa hispida*, adipogenesis, 3T3-L1, lipid accumulation, triglyceride

서 론

비만은 지방의 축적과 에너지 저장을 위한 조절 과정에서 주로 발생하게 된다(1). 지방세포 내에 과도한 지방의 축적인 비만은 당뇨병, 고혈압, 심혈관 질환을 포함한 만성질병을 유발하게 되는 원인으로 알려져 있다(2,3). 따라서 세포내 지방의 축적을 예방하거나 축적된 지방을 분해하도록 자극하는 방안에 대한 연구가 최근 많은 관심을 끌고 있다(4). 지방세포 내의 지방구(lipid droplet)는 지질의 대사 및 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 지방구 내에 주로 존재하고 있는 triglyceride(TG)의 분해와 이로 인한 glycerol의 유출은 세포 내 지방의 축적을 조절하는 중요한 기전으로 여겨져 왔다(5).

전지방세포인 3T3-L1은 생물학적 특성과 적절한 배양 조건으로 지방세포로 분화하는 특징을 갖고 있으며, 지방세포의 분화과정(adipogenesis)을 연구하는데 널리 이용되고 있다(6-8). Retinol(9)와 vitamin E(10) 등은 분화를 억제하며 ascorbate(11), cadmium(12) 등은 지방세포의 분화를 촉진시키는 물질로써 보고된 바 있다. 전지방세포인 3T3-L1은 여러 호르몬과 다양한 전사인자들에 의해 지방세포로 분화되면서 세포내 지방을 축적한다. 이러한 과정을 지방세포 분화 또는 지방세포 형성과정(adipogenesis)이라 하며 이 과정에 관여하는 중요한 인자로는 peroxisome proliferator activated receptor γ(PPARγ)와 CCAAT-enhancer-binding protein α(C/EBPα)가 있다(13,14). PPARγ는 nuclear hormone receptor superfamily 중 하나이며, retinoid X receptor(RXR)와 heterodimer를 형성하여 표적유전자의 발현을 조절하는 전사인자이고, C/EBPα는 basic leucine zipper 군에 속하는 전사인자로써 제일 처음 지방세포 분화에 관여하는 인자로 밝혀졌다. 이들 두 인자는 분화 초기에 발현되는 각종 유전자들의 발현을 증가시키고 지방세포가 분화되는 동안 leptin과 adiponetin, glucose transporter 4와 같은 adipogenic gene들의 발현을 조절한다(15,16).

동과(*Benincasa hispida*)는 박과(*Curcurbitaceae*)에 속하는 한해살이 덩굴 식물로써 동과자(冬瓜子), 과자(菓子), 지지(地支), Wax gourd, Kundur, winter melon, Petha,

†Corresponding author. E-mail: wjjun@chonnam.ac.kr
Phone: 82-62-530-1337, Fax: 82-62-530-1339

Beligo 등으로 알려져 있다. 열대 아시아가 원산지이며 말레이시아, 영국, 인도, 중국, 일본과 한국의 전라도 일부에서 재배되고 있다(17). 동과는 원형과 타원형이 있으며 2~3 kg에서 15~20 kg까지 있으나 보통 10 kg 이하로 날로 먹을 수 있고 늙은 오이와 박속의 중간 맛을 지니며 익으면 껍질에 하얀 과분이 붙으며, 과분은 찐득거리는 특징을 나타낸다. 동의보감(18)에 살찐 사람은 국이나 나물을 만들어서 먹으면 살이 빠진다고 하였고, 과육은 비만증, 당뇨병, 수종병, 간장질환 및 위궤양을 치료하는데 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 대·소장 운동기능을 강화시키고 이뇨작용과 변비억제작용을 한다고 알려진 바 있다(19,20). 동과에서는 flavonoid c-glycoside, acylated glucose, benzyl glycoside를 포함한 4개의 triterpenes와 2개의 sterols, cucumisin이 분리 보고된 바 있다(21,22). 본 연구에서는 현재까지 수행된 바가 없는 동과 열수추출물의 계통분획 된 분획물들을 대상으로 3T3-L1 지방세포 분화과정 중의 작용 효과와 기전을 검증하여 동과의 항비만 효과를 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 분획물의 제조

본 연구에서 사용한 동과(*Benincasa hispida*)는 광주광역시에서 재배되어 수확된 것으로 씨앗을 제거하고 동결건조(Ilshin Lab, Seoul, Korea) 한 후 추출기(Kyungseo machine, Incheon, Korea)를 이용하여 정제수를 투입하고 100 °C의 온도에서 4시간 0.7~0.75 kg/cm^{2}의 압력 조건에서 추출하여 동결분말 후 분쇄(Hanil, Incheon, Korea)하여 (주)한국인스팜으로부터 제공받았다(BHH). BHH는 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 용매를 이용하여 순차적으로 분획하였으며 각 분획의 용매를 감압농축(EYELA, Tokyo, Japan)시켜 헥산 분획물(BHHH), 클로로포름 분획물(BHHC), 에틸아세테이트 분획물(BHHE)을 각각 0.2%, 0.2%, 0.5% 획득하였고, 각 분획물은 -20°C에서 보관하면서 실험에 이용하였다.

재료 및 시약

Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), newborn calf serum(NCS), fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycine, D-PBS은 Hyclone사(Waltham, MA, USA)에서 구입하였다. MDI(0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine, 0.5 μM dexamethasone, 10 μg/mL insuline)와 Oil red O, 3-(4,5-dimethylthiazon-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bormide(MTT), free glycerol reagent, free glycerol standard solution은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. AdipoRed™는 Cambrex bioscience(Walkersville, MA, USA)에서, RNeasy mini kit와 QuantiFast™ SYBR® Green RT-PCR kit는 Qiagen(Valencia, CA, USA)에서 구매하여 이용하였다.

3T3-L1 세포 배양과 분화

3T3-L1 전지방세포는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)에서 구입하였고, DMEM에 10% NCS를 이용하여 37°C, 5% CO_2의 조건에서 배양하였다. 분화 배양액으로는 DMEM에 10% FBS를 이용하였다. 3T3-L1 전지방세포의 분화는 세포분화를 위해 각 well에 세포를 배양한 후 100% confluency가 되면 2일간 그대로 유지시켰다. 전지방세포에 MDI를 포함한 10% FBS DMEM 배지로 지방세포분화를 유도하고 72시간 후 1 μg/mL insulin이 함유된 10% FBS DMEM으로 이틀 동안 배양하였다. 그 후 2일째에 10% FBS DMEM로 배양액을 교체하여 지방세포분화를 유도하였다. 지방세포 분화 유도동안 시료를 처리하지 않은 군을 N.Control, 10 μM의 Troglutazone을 처리한 군을 P.Control, 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트 각 분획물을 25 μg/mL와 50 μg/mL의 농도로 처리한 군을 각각 BHHH-L, BHHH-H, BHHC-L, BHHC-H, BHHE-L, BHHE-H로 명명하였다. 각 시료를 분화하는 동안 처리하고 분화가 완성되는 시점인 8일째에 세포독성, Oil Red O 염색, intracellular TG 함량, free glycerol 함량, real-time polymerization chain reaction 실험을 수행하였다.

세포독성

탈수소효소의 작용에 의해 노란색의 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 청자색의 비수용성 MTT formazan으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하여 생존하는 세포가 형성하는 formazan의 함량으로 세포독성을 간접적으로 측정하는 방법인 MTT assay를 이용하여 측정하였다. Well dish에 분화가 완료된 세포를 D-PBS로 2회 세척한 후 D-PBS에 용해시킨 50 mg/mL MTT 시약을 첨가하여 37°C에서 2시간 배양한 후 상층액을 제거하고 DMSO를 처리하여 형성된 formazan을 용출한 후 ELISA reader(Bio-Tek, Winooski, VT, USA)를 통해 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Oil Red O 염색

8일째 well dish에서 배지를 제거한 뒤, D-PBS로 2회 세척하고, D-PBS로 제조한 10% formaldehyde용액을 첨가하여 상온에서 30분간 세포를 고정하였다. 10% formaldehyde 용액을 제거한 후 D-PBS로 2회 세척하고 isopropyl alcohol로 제조된 Oil Red O 염색액을 처리하여 1시간 상온에서 염색하고, 염색액을 제거한 후 D-PBS로 2회 세척하였다. D-PBS를 각 well에 첨가한 후 현미경으로 관찰한 후 100% isopropyl alcohol을 각 well에 처리하여 세포의 지방구에 염색된 Oil Red O 염색액을 용출한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Intracellular triglyceride 함량

AdipoRed™는 hydrophobic Nile Red solution으로써 intracelluar TG의 양을 용이하게 측정할 수 있는 형광염색제

로써 분화된 세포내의 TG를 정량적으로 측정하기 위해 사용하였다. 8일째에 배지를 제거한 뒤 D-PBS로 2회 세척한 후 AdipoRed^{TM} 시약을 처리하여 37°C에서 10분간 배양한 후 D-PBS로 2회 세척하여 형광 정도를 excitation 485 nm, emission 572 nm에서 측정하였다.

Free glycerol 함량

8일째 배양액 50 µL와 free glycerol reagent를 50 µL 처리하고 37°C에서 10분간 처리한 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Free glycerol 함량은 free glycerol standard 시약을 이용하여 동일한 반응을 수행하고 standard curve를 작성한 후 이를 이용하여 계산하였다.

Real-time polymerase chain reaction(RT-PCR)

분화 5일째에 각 well의 세포를 D-PBS로 2회 세척한 후 cell pellet을 모아 3,000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 세포의 pellet을 모아 세포내 총 RNA를 RNeasy Mini kit를 이용하여 추출하였다. 1 mg의 총 RNA를 QuantiFast^{TM} SYBR® Green RT-PCR kit를 이용하여 actin(5′-ACGGCCAGGTCATCACTATTG-3′, 3′-CAAGAAGGAAGGCTGGAAAAGA-5′), PPARγ(5′-GCCCACCAACTTCGGAATC-3′, 3′-TGCGAGTGGTCTTCCATCAC-5′), C/EBPα(5′-GAGCTGAGTGAGGCTCTCATTCT-3′, 3′-TGGGAGGCAGACGAAAAAAC-5′)와 leptin(5′-CTCCATCTGCTGGCCTTCTC-3′, 3′-CATCCAGGCTCTCTGGCTTCT-5′) primer와 함께 reverse transcription 반응 50°C에서 10분을 수행한 후, denaturation 반응 95°C에서 10초, annealing과 extention 반응 60°C에서 30초간 총 40 cycle을 반응시킨 후 Rotor-gene 6000 software version 1.7(Corbett, Sydney, Australia)을 이용하여 분석하였다.

통계분석

본 실험 결과는 평균(mean)±표준편차(SD)로 나타내었고, 각 군간의 결과 비교 및 유의성 검정은 Student t-test와 Duncan multiple range test를 이용하여 통계처리한 후 $p<0.05$ 수준에서 유의수준을 검정하였다.

결과 및 고찰

세포독성

동과 분획물들의 세포독성 농도범위를 3T3-L1 세포 분화 과정 중 처리하여 분화 8일째에 MTT 실험방법으로 측정하였다(Fig. 1). 동과 열수추출물(BHH)의 생리활성 측정 범위였던 300 µg/mL의 농도에 기초하여, 각 분획물들을 50, 100, 200, 300 µg/mL 농도에서 측정한 결과, 100 µg/mL부터 모든 분획물은 세포의 성장과 분화에 영향을 나타내었다. 따라서 이후의 모든 실험에서는 안전한 농도범위인 25 µg/mL와 50 µg/mL의 분획물의 농도에서 다음의 연구를 수행하였다. 식품 소재들의 분획물을 대상으로 수행한 다른 연구들과 비교

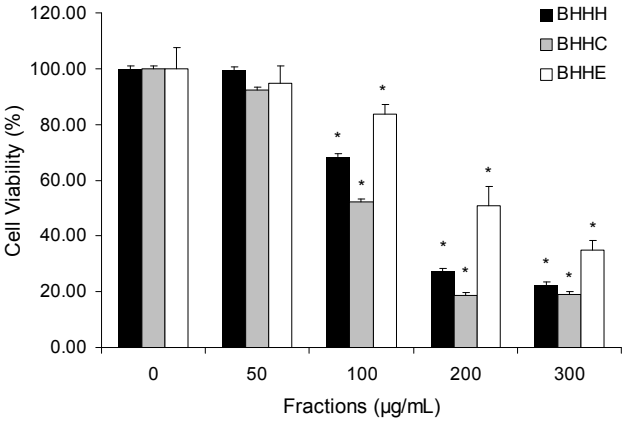

Fig. 1. Effects of three fractions from *Benincasa hispida* on cell viability in 3T3-L1. The cells were incubated during differentiation with various concentrations of three fractions from *Benincasa hispida*, and the cell viability was determined by MTT assay. The values were calculated as a percentage of cell viability of the control cells not treated with fractions. Each value was expressed as the mean±SD of at least three independent experiments. *Significant difference compared to control group at $p<0.05$.

하여 세포의 안전 유효범위가 상이하게 나타났다(21,22). 이는 소재들의 사용부위가 다르며, 추출용매의 차이에서 기인한 것으로 판단된다.

지방세포의 지방구 염색

동과 분획물이 3T3-L1세포가 전지방세포에서 지방세포로의 분화과정에 작용하여 지방구의 생성을 억제하는지 확인하기 위해 Oil Red O 염색액을 이용하여 3T3-L1세포 내에 생성된 지방구 염색 실험을 수행하여 각 군을 비교한 결과 BHHH-L과 BHHH-H는 92.9%와 95.1%로 N.Control의 100.0%와 비슷한 지방구 생성율을 나타내었고, BHHC-L과 BHHC-H는 85.0%, 88.7%이고, BHHE-L과 BHHE-H는 90.3%, 87.0%로 BHHC와 BHHE는 N.Control과 통계적 유의차를 나타내었다. 모든 분획물 처리 군에서 P.Control은 112.2%로 통계적 유의차가 나타났다. Fig. 2B는 염색된 지방구를 현미경으로 관찰하여 나타낸 것으로 분화가 유도된 N.Control과 P.Control과 비교하여 BHHC와 BHHE의 지방구의 염색율이 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 3T3-L1 세포에서 lipid accumulation 함량은 지방세포의 지방 축적을 비교 평가하는 가장 일반적인 방법으로 항비만 활성과 관련하여 보고된 소재들을 대상으로 한 연구에서 소재를 처리하지 않은 군과 비교 시 항비만 활성을 갖는 소재들은 adipogenesis 과정에서 lipid accumulation의 감소에 효과가 나타나는 것으로 제시되고 있다(4,21,22). 따라서 본 연구의 50 µg/mL의 BHHC와 BHHE가 3T3-L1 지방세포의 adipogenesis 과정 중 작용하여 지방세포 내 lipid accumulation을 억제시키는 것을 확인할 수 있었다.

세포내부의 triglyceride 함량

대부분의 지방구는 TG와 perilipin A와 같은 단백질로 구

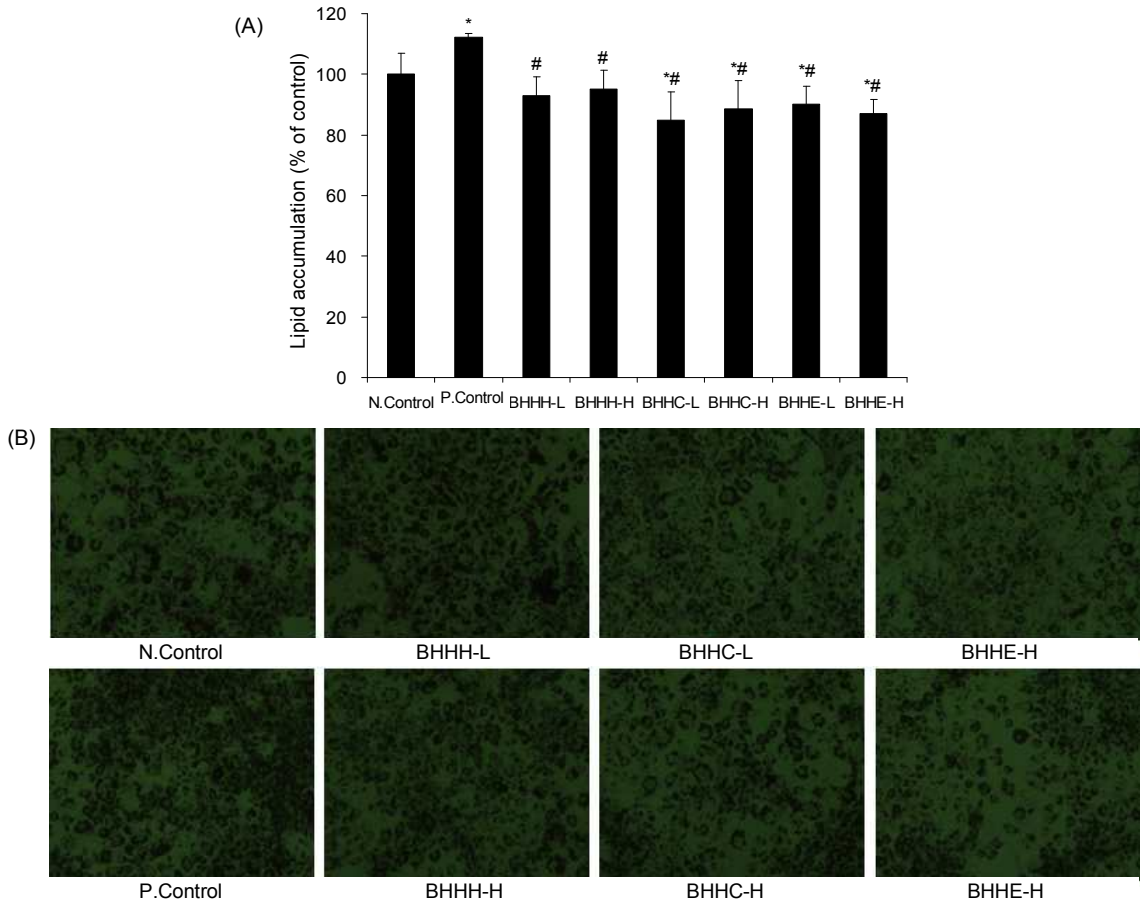

Fig. 2. Inhibitory effects of three fractions from *Benincasa hispida* on the lipid accumulation in 3T3-L1. The cells were incubated during differentiation with various concentrations of three fractions from *Benincasa hispida*, and lipid accumulation levels were determined by Oil Red O stain. The values were calculated as a percentage of absorbance of N.Control. Each value was expressed as the mean±SD of at least three independent experiments. *Significant difference compared to N.Control group at $p<0.05$. #Significant difference compared to P.Control group at $p<0.05$.

성되어 있다. 본 연구에서 지방구의 감소를 보다 세밀하게 확인하기 위해 세포 내의 TG 함량을 형광염색법에 의해 측정하였다(Fig. 3). Oil Red O의 결과와 같이 50 μg/mL의 BHHC와 BHHE 처리에 따라 세포 내부의 TG 함량이 21.1%와 16.4%로 감소하였고 N.Control군과 통계적 유의차이가 나타났다. 본 연구에서 동과 분획물 중 50 μg/mL의 BHHC와 BHHE는 지방세포의 지방구 내 TG 생성 억제 효과를 나타내는 것으로 나타났다.

Free glycerol 함량

지방세포 내 축적된 지방구에 존재하는 TG가 분해되면 glycerol과 지방산으로 나누어지는데 인체의 경우 glycerol은 세포 외 혈액으로 유리되어 간으로 이송되게 된다(23). 마찬가지로 3T3-L1 지방세포계에서는 free glycerol의 함량이 지방구 내 TG의 분해 정도를 간접적으로 나타내는 척도가 된다. 본 연구에서 동과 분획물들을 처리한 결과 N.Control과 비교하여 BHHC는 10.1%와 13.4% 감소하였고, BHHE는 12.6%와 16.6%로 낮게 나타났으며 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. 또한 P.Control과 비교하여서는 모든 동과 분획물들이 통계적 유의차를 나타내었다(Fig. 4). 지방 분해 작용을 갖는 시료들을 대상으로 수행한 연구들에서 시료 처

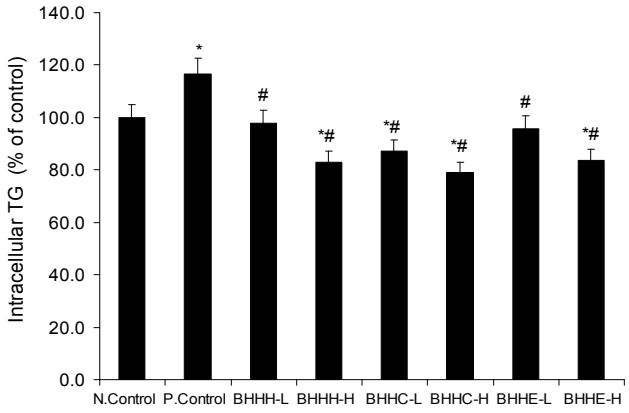

Fig. 3. Inhibitory effects of three fractions from *Benincasa hispida* on the intracellular triglyceride (TG) in 3T3-L1. The intracellular TG content was fluorescently quantified by Aipo-Red™ assay kit. Each value was expressed as the mean±SD of at least three independent experiments. *Significant difference compared to N.Control at $p<0.05$. #Significant difference compared to P.Control at $p<0.05$.

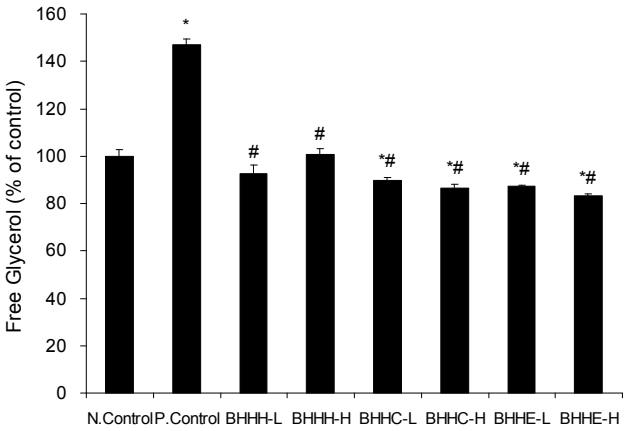

Fig. 4. Inhibitory effects of three fractions from *Benincasa hispida* on glycerol release in culture medium. The values were calculated as a percentage of free glycerol content of the N.Control not treated with fractions from *Benincasa hispida*. Each value was expressed as the mean±SD of at least three independent experiments. *Significant difference compared to N. Control at $p<0.05$. #Significant difference compared to P.Control at $p<0.05$.

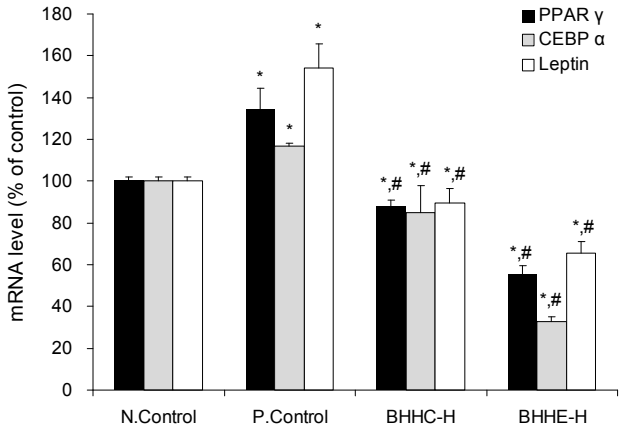

Fig 5. The effects of three fractions from *Benincasa hispida* on mRNA of PPARγ, C/EBPα, and leptin. The values were calculated as a percentage of each transcriptional factor versus actin as an internal control. Each value was expressed as the mean±SD of at least three independent experiments. *Significant difference compared to N.Control at $p<0.05$. #Significant difference compared to P.Control at $p<0.05$.

리에 따라 free glycerol 함량이 증가하는 것으로 보고된 바 있으나(4,21), 본 연구에서는 동과 분획물들 처리에 따라 free glycerol 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 adipogenesis 초기단계부터 시료를 처리하여 adipogenesis 마지막 단계에서 배양액 중 free glycerol 함량을 비교한 것으로 지방구 생성 감소, 지방세포의 지방구내 TG 함량 감소 함께 배양액으로 유출되는 free glycerol 함량의 감소가 나타난 것으로 보이며, 이러한 결과는 동과 분획물들(BHHC, BHHE)이 전지방세포의 분화를 억제하여 지방구 생성이 적고, 이렇게 생성된 지방구의 분해로 인한 배양액 중 유출되는 free glyceol의 총량이 감소한 것에 기인하는 것으로 판단된다.

PPARγ, C/EBPα, leptin mRNA의 발현

동과 분획물에 의한 지방축적 감소가 어떤 분자생물학적 메카니즘에 의해 유도되는지 확인하기 위해 adipogenesis 억제 효과를 나타내었던 BHHC와 BHHE를 전지방세포의 분화를 유도하는 과정에 처리하고 PPARγ, C/EBPα, leptin mRNA의 발현을 확인하였다. 전지방구에서 지방세포로 분화하는 과정에는 지방 축적에 의한 지방구 생성의 형태학적 변화뿐만 아니라 지방세포 특이적 단백질 marker들의 발현 증가와 같은 생화학적 변화가 나타나며, 이와 함께 지방세포 분화와 관련된 transcription factor들의 발현과 adipokine들의 분비가 증가 또는 감소 양상을 나타낸다. 그중 가장 중요한 활성인자로 PPARγ, C/EBPα, leptin을 들 수 있다(24-27). PPARγ와 C/EBPα들은 분화 초기에 발현이 유도되어 분화 후기가 되면 다양한 adipogenic 유전자들의 발현을 유도하며, 분화된 지방세포에서 발현양이 현저하게 증가되는 양상을 나타낸다. 또한 이들은 leptin 등의 adipokine과 같은 adipogenic protein들의 발현에 중요한 역할을 한다(28,29). 동과 분획물들에 의한 adipogenesis 억제가 PPARγ와 C/EBPα에 발현 억제에 의한 것인지와 leptin 발현에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해 real-time PCR을 실시하여 그 발현 정도를 비교하였다. PPARγ의 경우 N.Control과 비교하여 BHHC-H와 BHHE-H가 12.5%와 44.5% 감소하였고, CEBPα의 경우 N.Control과 비교하여 BHHC-H와 BHHE-H가 15%와 67%로 감소하는 것으로 나타났다. Leptin의 경우 각 분획물 별로 10.2%와 34.5% 감소가 나타난 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 동과 분획물 BHHC와 BHHE는 주요 transcriptional factor들의 발현을 억제함으로써 세포 내 TG의 생성을 줄일 수 있었던 것으로 판단된다.

결론적으로 동과 분획물, 특히 BHHE는 BHHC와 비교하여 상대적으로 높은 anti-adipogenesis 활성을 나타냈으며, 이는 PPARγ, C/EBPα, leptin의 발현 감소에 의한 것으로 판단된다. 이에 BHHE는 항비만 기능성 소재로 활용될 수 있을 것으로 생각된다. 향후 *in vivo* 평가를 통해 추가적인 작용기전이 밝혀지면 BHHE는 항비만 기능성 소재로 널리 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서 동과 물추출물의 계통분획을 통해 획득된 세 가지 분획물인 핵산 분획(BHHH), 클로로포름 분획(BHHC), 에틸아세테이트 분획(BHHE)들을 3T3-L1 분화과정 중에 처리한 후, Oil Red O 염색법에 의한 lipid accumulation, 지방구내 triglyceride 함량을 평가하고, free glycerol release 함량과 adipogenesis와 관련된 transcription factor들의 발현 함량을 비교하여 동과 물추출물 중 anti-adipogenesis 활성 분획물을 밝히고, 이 분획물의 작용 메커니즘을 규명하고

자 하였다. 50 μg/mL 농도의 BHHC와 BHHE의 처리는 분화된 지방세포 내 지질 축척을 11%와 13%로 낮추었다. 지방세포 내 중성지방(TG)의 함량은 동일 농도의 각 분획물에서 21%와 16%로 낮게 나타났다. TG 함량의 감소와 지방구내 지질 축적의 감소, 즉 anti-adipogenesis 메커니즘을 밝히기 위해 free glycerol 분비량을 평가하였다. 동일 농도의 BHHC와 BHHE에서 각각 13%와 17% 감소되어 나타났다. BHHC와 BHHE는 세포가 분화하는 동안 PPARγ, C/EBPα, leptin의 mRNA 발현을 억제하는 것으로 나타났다. 특히 BHHE의 경우 각 transcriptional factor들의 발현을 45%, 67%, 35%로 현저히 억제시키는 우수한 anti-adipogenetic 소재로 나타났다. 이에 BHHE는 항비만 기능성 소재로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 전남대학교 연구년 교수연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Spiegelman BM, Flier S. 1996. Adipogenesis and obesity; rounding out the big picture. *Cell* 87: 377-389.
2. Kopelman PG. 2000. Obesity as a medical problem. *Nature* 404: 635-643.
3. Visscher TL. 2001. The public health impact of obesity. *Annu Rev Publ Health* 22: 355-375.
4. Cha SY, Jang JY, Lee YH, Lee GY, Lee HJ, Hwang KT, Kim YJ, Jun YJ, Lee JM. 2010. Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrica* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 813-819.
5. Frayn KN, Karpe F, Fielding BA, Macdonald IA, Coppack SW. 2003. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27: 875-888.
6. Aihaud G, Grimaldu P, Negrel R. 1992. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr* 12: 207-233.
7. Boney CM, Staats BM, Atiles AD, Dercole AJ. 1994. Expression on insulin-like growth factor- I (IGF- I) and IGF-binding proteins during adipogenesis. *Endocrinology* 135: 1863-1868.
8. Choi JH, Rhim CH, Kim JY, Yang JS, Choi JS, Byun DS. 1986. Basic studies on the development of diet for the treatment of obesity in the inhibitory effect of alginic acid as a diet fiber on obesity. *J Kor Fish Soc* 19: 303-311.
9. Sato M, Hiragun A, Mitsui H. 1980. Preadipocytes possess cellular retinoid binding proteins and their differentiation is inhibited by retinoids. *Biochem Biophys Res Commun* 95: 1839-1845.
10. Kawada T, Aoki N, Kamei Y, Maeshige K, Nishiu S, Sugimoto E. 1990. Comparative investigation of vitamins and their analogues on terminal differentiation from preadipocytes to adipocytes of 3T3-L1 cells. *Comp Biochem Physiol* 96: 323-326.
11. Cno M, Aratani Y, Kitagawa I, Kitagawa Y. 1990. Ascorbic acid phosphate stimulate type Ⅳ collagen synthesis and accelerate adipose conversion of 3T3-L1 cells. *Exp Cell Res* 187: 309-314.
12. Harrison SA, Buxtaon JM, Clancy BM, Czech MP. 1991. Evidence that erythroid-type glucose transporter intrinsic activity is modulated by cadmium treatment of mouse 3T3-L1 cells. *J Biol Chem* 266: 19438-19449.
13. Darlington GJ, Ross SE, MacDougald OA. 1998. The role of C/EBP genes in adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 273: 30057-30060.
14. Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai X, Freeman MW, Gonzalez FJ, Spiegelman BM. 2001. C/EBPα induces adipogenesis through PPAR: a unified pathway. *Genes Dev* 16: 22-26.
15. Morrison RF, Farmer SR. 2000. Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation. *J Nutr* 130: 3116-3121.
16. Rosen ED, Macdougald OA. 2006. Adipocyte differentiation from the in side out. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7: 885-896.
17. Lim SJ, Jeong JG, Kim MW, Choi SS, Han HK, Park JE. 2003. Effects of *Benincasa hispida* intake blood glucose and lipid level in streptozotocin induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 36: 335-343.
18. Huh J. 1994. *The handbook of oriental medicine*. Namsan-dong, Daegu, Korea. p 1170.
19. Warier PK. 1994. *Indian medicinal plants*. Orient longman limited, Delhi, India. p 261.
20. Sharma LK. 1984. *Food medicines. Practical nature cure.* Natural Care Publishing House, Pudukkottai, India. p 169.
21. Lee JM, Yoon HK, Lee YH, Park JJ, You YH, Jang JY, Yang JW, Jun WJ. 2010. The potential effects of ethyl acetate fraction from *Curcuma longa* L. on lipolysis in differentiated 3T3-L1 adipocytes. *J Med Food* 13:1-7.
22. Jeong HJ, Yoon SJ, Pyun YR. 2008. Polysaccharides from edile mushroom Hinmogi (*Tremella fuciformis*) inhibit differentiation of 3T3-L1 adipocyte reducing mRNA expression of PPARγ, CEPBα, and leptin. *Food Sci Biotechnol* 17: 267-273.
23. Liu F, Kim J, Li Y, Liu X, Li J, Chen X. 2001. An extract of *Lagerstroemia speciosa* L has insulin-like glucose uptake stimulatory and adipocyte differentiation-inhibitory activities in 3T3-L1 cells. *J Nutr* 131: 2242-2247.
24. Rosen ED, Walkey CJ, Ouigserver P, Spiegelman BM. 2000. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes & Dev* 14: 1293-1307.
25. Jeon T, Hwang SG, Hirai S, Matsui T, Yano H, Kawda T, Lim BU, Ki D. 2004. Red yeast rice extract suppress adipogenesis by down-regulating adipogenic transcription factors and gene expression in 3T3-L1 cells. *Life Sci* 75: 31945-3203.
26. Cowherd RM, Lyle RE, McGehee Jr RE. 1999. Molecular regulation of adipocyte differentiation. *Semin Cell Dev Biol* 10: 3-10.
27. Cornelius P, Mac Dougald OA, Lane MD. 1994. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr* 14: 99-129.
28. Gustafson B, Jack MM, Cushman SW, Smith U. 2005. Adiponectin gene activation by thiazolidinediones requires PPAR gamma 2, but not CEBP alpha-evidence for differential regulation of the aP2 and adiponectin genes. *Biochem Biophys Res Commun* 308: 933-939.
29. Hsu CL, Yen GC. 2007. Effects of flavonoids and phenolic acids on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocyte. *J Agric Food Chem* 55: 8404-8410.

(2012년 5월 2일 접수; 2012년 6월 2일 채택)