

핑거루트(*Boesenbergia pandurata*) 추출물의 고지방 식이를 섭취한 마우스의 내장 지방 축적에 대한 효능

명길선 · 안영태 · 이명희 · 박도영 · 안영민 · 허철성[†]

한국야쿠르트 중앙연구소

Fingerroot (*Boesenbergia pandurata*) Extract Inhibits the Accumulation of Visceral Fat in C57BL/6J Mice

Kil-Sun Myoung, Young-Tae Ahn, Myoung-Hee Lee, Do-Young Park,
Young-Min Ahn, and Chul-Sung Huh[†]

R&BD Center, Korea Yakult Co., Ltd., Gyeonggi-do 446-901, Korea

Abstract

Boesenbergia pandurata (Roxb.) Schltr. has been reported to possess anti-oxidative and anti-inflammatory properties. The aim of this study was to investigate the effect of *Boesenbergia pandurata* extract (BPE) in a high-fat diet (HFD)-induced obese mice model. C57BL/6J mice were fed with either the high-fat diet or a 0.5% BPE-supplemented HFD for 8 weeks. The BPE-containing HFD significantly reduced body weight gain and the accumulation of visceral fat mass in mice model without altering the amount of food intake. Moreover, mice fed with BPE-containing HFD had lower concentrations of lipids in their blood, lower hepatic lipid accumulation, and lower serum leptin levels compared with the HFD-fed mice. RT-PCR analysis showed that the expression levels of peroxisome proliferators-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2) and CCAT/enhancer binding protein α (C/EBP α) genes in the epididymal fat tissue of mice fed the BPE-containing HFD increased 1.16- and 1.30-fold, respectively, compared to mice fed HFD only. In conclusion, BPE attenuated visceral fat accumulation and improved dyslipidemia in a mice model with HFD-induced obesity.

Key words: *Boesenbergia pandurata*, fingerroot, obesity, high-fat diet, visceral adiposity

서 론

비만은 오랜 기간에 걸쳐 에너지 소비량에 비해 영양소를 과다 섭취할 경우 에너지 불균형에 의해서 유발된다. 비만은 산업화됨에 따라 전 세계적으로 급격히 증가하고 있는 가장 심각한 대사 질환 중의 하나이며, 체내지방 축적, 특히 내장 지방의 축적은 이상 지질혈증, 포도당 대사장애, 인슐린 저항성, 고혈압 등과 같은 대사이상과 밀접한 관련이 있다(1). 보통 에너지 섭취를 조절하고 적당한 운동을 병행하는 등의 일반적인 생활 습관 개선 이외에도 약물을 통해 비만을 치료하기도 하는데, 비만 치료에 사용되는 약물은 식욕억제제와 지방의 흡수를 저해하는 약으로 나눌 수 있다. 하지만 일반적으로 이러한 약들은 장기간 사용 시 부작용이 우려되는 단점이 있어 최근 안전한 식품소재를 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 연구의 결과로 천연물 소재로는 *Garcinia cambogia*(2), *Ilex paraquariensis* 추출물(3), *Eucommia leaf*(4) 등과 같은 천연 추출물들이 고지방식이 (high-fat diet, HFD)로 비만이 유도된 설치류에서 항비만

효과 및 내장지방의 축적 억제에 효과가 있다고 보고되었다.

핑거루트[*Boesenbergia pandurata*(Roxb.) Schltr.(syn. *Kaempferia pandurata*(Roxb.))]는 인도네시아, 태국, 미얀마 등 열대 아시아 국가들에서 향신료나 근육통, 감기, 관절염, 충치, 위장장애 등의 질병치료에 민간요법으로 사용되었다. 또한 핑거루트는 항균, 항염증, 항산화 등의 다양한 생리활성을 갖고 있다고 보고되었다(5-7). 또한 국내에서도 산화방지제나 피부 보습제, 구강청결제 등의 형태로 제품에 이용되고 있고, 식품공전에는 등록되어 있지 않으나 식용이 가능한 것으로 알려져 있으며, 동남아시아에서는 이미 식용경험이 풍부한 상태였다. 최근에 고지방식으로 비만을 유도한 쥐에서 핑거루트의 활성성분 중 하나인 panduratin A가 AMP-activated protein kinase(AMPK)의 활성화를 통하여 항비만 효과를 나타내는 것으로 보고되었다(8). 본 연구에서는 핑거루트 추출물(BPE)의 체중증가 예방효과를 *in vitro* 및 *in vivo*에서 확인하고 분자생물학적 작용기전을 밝히고자 수행하였다.

[†]Corresponding author. E-mail: cshuh@re.yakult.co.kr
Phone: 82-70-7835-6037, Fax: 82-31-8005-7831

재료 및 방법

핑거루트 추출물(BPE)의 제조

핑거루트의 근경(rhizome)은 인도네시아 자카르타에서 구입하였다. 핑거루트의 근경 1 kg을 건조 분쇄한 후 4 L의 95% 에탄올을 첨가하고 2일간 상온에서 침지하였다. 침지한 추출물을 여과하고 감압 증류장치(evaporator)을 이용하여 농축시킨 후 핑거루트 에탄올추출물(BPE)을 제조하였다. BPE가 HFD로 비만을 유도한 쥐에서 AMPK의 활성화를 통해 체중을 감소시킨다고 보고된 기능성 지표성분인 panduratin A를 함유하고 있는지 확인하기 위해 기존의 방법에 따라 panduratin A를 추출하고 그 함량을 분석하였다(9). 최종적으로 BPE에는 panduratin A가 8% 함유되어 있음을 확인하였다.

세포 배양과 adipocyte의 분화 억제

3T3-L1 세포는 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA, USA)으로부터 구입하여 사용하였다. 먼저 3T3-L1을 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco®, Carlsbad, CA, USA)을 포함한 DMEM 배지를 이용하여 24 well plate에 10^6 cells/well이 되도록 fibroblast 상태(preadipocyte)의 세포를 배양하였다. 분화를 유도하기 위해서 배지를 10%의 FBS, 0.5 μ M의 isobutylmethylxanthine(IBMx, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)과 1 μ M의 dexamethasone(Sigma Chemical Co.), 10 μ g/mL의 bovine insulin(Sigma Chemical Co.)이 함유된 분화유도 배지로 치환하였다. 이때 BPE를 각 well에 10, 50, 100 μ g/mL 농도로 함께 처리하였다. 이틀간 분화를 유도한 후 분화유도 배지를 10% FBS와 10 μ g/mL의 insulin을 함유한 DMEM 배지로 치환하여 배양하였다. 이 경우에는 BPE를 첨가하지 않았으며, 배지는 이틀에 한번 교환해주었다. 지방세포에서의 지방 축적은 AdipoRed reagent(Lonza GmbH, Cologne, Germany)를 통해서 염색하여 확인하였다. 분화된 세포의 배지를 버리고 well 당 1 mL의 PBS(phosphate buffered saline)로 조심스럽게 배지를 헹구어 냈다. 이후 well을 1 mL의 PBS로 채우고 30 μ L의 AdipoRed reagent를 첨가하여 상온에서 10분간 반응시켰다. 지방축적 정도는 세포 내의 지방과 반응하는 AdipoRed reagent의 형광 정도로 분석하는데 excitation은 485 nm에서, emission은 572 nm에서 측정하였다. BPE를 무처리하고 분화시킨 well을 대조구(100%)로 하고, 분화시키지 않은 fibroblast well의 형광값을 blank로 하여 분화정도를 백분위로 표시하였다.

세포 생존률 및 지방 분해 효능

BPE가 세포의 생존률에 미치는 영향을 확인하였다. 세포 생존률은 Roche Applied Science(Indianapolis, IN, USA)의 cell proliferation kit I을 이용하여 측정하였다. 3T3-L1 세포를 지방전구세포(preadipocyte) 혹은 분화된 지방세포(ma-

tured adipocytes) 상태로 96 well plate에 배양하였다. 다양한 농도의 BPE를 처리하고 24시간 동안 반응시킨 후 세포 생존률을 측정하였다. 지방 분해 효능은 지방세포에 BPE를 처리하고 분해되어 세포 밖으로 분비된 glycerol의 양을 측정하여 평가하였다. 24 well plate에 배양하여 분화를 유도한 3T3-L1 세포에 다양한 농도의 BPE를 처리하고 24시간 동안 반응시킨 후 Zenbio Co.(Research Triangle Park, NC, USA)의 glycerol kit를 이용하여 세포 밖으로 분비된 glycerol의 농도를 측정하였다.

실험동물 및 식이

실험에 사용한 C57BL/6J 마우스(male)는 15~20 g 사이인 개체를 일본 SLC(Shizuoka)로부터 구입하여 사용하였다. 실험동물은 개별적으로 스테인리스 스틸 케이지에서 사육되었으며, 사육실 온도는 22°C로 항온항습이 유지되었고 명암은 12시간 주기로 자동 조절되었다. 본 동물실험은 한국야쿠르트 동물실험윤리위원회(IACUC)의 승인을 받아 수행하였다. 1주간의 적응기간을 거쳐 실험동물은 정상식이군(ND, AIN-76, Dyets, Bethlehem, PA, USA)과 고지방식이군으로 구분하였다. 고지방식이군은 무작위적으로 고지방식이 음성대조군(HFD)과 고지방식이에 BPE를 첨가한 BPE 보충군(0.5%, HFD-BPE)으로 구분하였다. 자세한 실험동물의 식이조성은 Table 1과 같다. 실험동물은 시험기간 동안 물과 사료를 자유롭게 섭취하였으며, 식이섭취량과 체중변화량은 일주일에 두 번씩 측정하였다. 8주 후, 마우스는 12시간 동안 금식시키고 zoletil을 이용하여 마취하였다. 혈액 시료는 하대정맥을 통해 채혈되어 EDTA가 코팅된 튜브에 보관하였다. 4°C, 1,000 \times g에서 15분간 원심분리 하여 혈장 및 혈청을 분리하였다. 모든 시료는 분석 전까지 -80°C에 보관하였다.

지방조직의 무게 측정 및 조직 구조

간과 내장지방조직을 조심스럽게 적출하여 PBS로 세척

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Diet (g/kg diet)		
	ND	HFD	HFD-BPE
Casein	200	200	200
D, L-methionine	3	3	3
Corn starch	150	111	106
Sucrose	500	370	370
Cellulose powder	50	50	50
Corn oil	50	30	30
Lard	—	170	170
Mineral mixture ¹⁾	35	42	42
Vitamin mixture ²⁾	10	12	12
Choline bitartrate	2	2	2
Cholesterol	—	10	10
<i>Tert</i> -Butylhydroquinone	0.01	0.04	0.04
BPE ³⁾	—	—	5
Total kcal/g	16,439	19,315	19,315

¹⁾AIN-76 vitamin mixture.

²⁾AIN-76 mineral mixture.

³⁾*Boesenbergia pandurata* extract.

하였다. 각 조직의 무게를 칭량하고 사용 전까지 -80°C 에 보관하였다. 조직학적 분석을 위해 부고환지방 및 간조직은 4%의 완충포르말린 용액에 고정하였고, 파라핀에 포매하였다. 4 μm 두께로 절편을 잘라 hematoxylin과 eosin(H&E)으로 염색하여 광학현미경(Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)으로 관찰하였다. 400배의 배율에서 촬영한 후 Axio-Vision Rel. 4.6(Carl Zeiss)을 이용하여 조직의 세포 크기를 비교하였다.

생화학적 분석

혈장 포도당 함량은 Amplex Red glucose kit(Invitrogen, Grand Island, NY, USA)를 이용하여 측정하였다. 혈장 insulin은 mouse insulin kit(SIBAYAGI, Shibukawa, Japan)를 이용하여 측정하였다. 혈장의 총콜레스테롤 함량은 V-cholesterol kit(Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. 고밀도 지단백(HDL)-콜레스테롤은 HDL-cholesterol kit(Asan Pharmaceutical)로 측정하였다. 저밀도 지단백(LDL)-콜레스테롤은 총콜레스테롤에서 HDL-콜레스테롤과 중성지질(triglyceride)을 5로 나눈 값을 빼준 것으로 결정하였다(10). 혈장 중성지질 함량은 Asan pharmaceutical에서 구입한 시약을 활용하여 효소적인 방법으로 측정하였다. Leptin 농도는 mouse leptin ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) kit(Biovendor, Brno, Czech)을 이용하여 측정하였다. 간지질 분석을 위해, 간조직을 20 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 넣고 분쇄한 후 클로로포름과 메탄올을 혼합한 용액(1:1, v/v)을 넣어 지질을 추출하였다. 간 조직 내의 총콜레스테롤과 중성지질 함량은 혈청 분석과 동일한 방법으로 측정하였다.

Real-time RT-PCR 분석

부고환지방 조직 내 adipogenesis와 관련된 C/EBP α 와 PPAR γ 2 유전자의 발현을 분석하였다. 부고환지방에서는 RNAqueous(Ambion[®], Grand Island, NY, USA)를 이용하여 RNA를 분리하였고, Superscript II kit(Invitrogen)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 관련된 template의 GenBank accession number 및 forward(F)와 reverse(R) primer의 염기서열은 Table 2와 같다. Real-time PCR을 통해 얻어진 결과는 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)의 발현수준과 비교하여 보정하였고, comparative cycle threshold method를 이용하여 분석하였다. 또한 각각의 PCR

reaction의 melting curve를 통해 증폭된 유전자의 순도를 확인하였다.

통계분석

모든 결과는 평균과 표준오차를 계산하였다. 실험군 사이의 차이는 one-way ANOVA를 실시한 후, $p < 0.05$ 의 유의수준에서 Duncan's test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

BPE의 지방세포 분화억제 효과 및 지방전구세포의 생존률에 미치는 영향

BPE의 지방세포 분화 억제효능을 평가하기 위해 분화유도배지에 다양한 농도(10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)의 BPE를 처리하였다. AdipoRed reagent로 세포 내의 지방축적 정도를 관찰하였으며, 지방전구세포 상태에서의 지방축적 정도를 blank로, BPE를 처리하지 않고 분화유도를 하여 성숙한 상태의 지방세포를 대조군(100%)로 하여 백분위로 표시하였다. 그 결과, BPE의 처리를 통해 지방축적이 농도 의존적으로 감소하였음을 확인하였다(Fig. 1A). 또한 BPE는 3T3-L1 지방전구세포의 증식을 억제하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1B). 지방전구세포에 BPE를 24시간 동안 처리하였을 때, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 경우 91.7%, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 경우 39.9%로 농도 의존적으로 정상세포의 수가 감소함을 확인할 수 있었다. BPE와 마찬가지로 지방전구세포의 생존력을 감소시키는 천연물은 이미 여러 종류가 보고된 바 있다. 특히 항산화 활성을 갖고 있는 천연물들이 지방전구세포의 증식을 억제하고 세포사멸을 유도한다는 연구 결과들이 보고된 바 있는데 다양한 flavonoid, resveratrol, naringin, 그리고 quercetin은 항산화 물질인 동시에 preadipocyte의 증식을 억제하며 비만 억제에도 도움이 된다는 보고가 있다(11,12). 그리고 BPE의 유용성 지표물질인 panduratin A도 항산화 효능을 가지고 있다는 것이 확인되었다(13,14).

BPE의 지방 분해 효과 및 지방세포의 생존률에 미치는 영향

분화된 지방세포에 BPE를 처리한 경우 지방 분해가 촉진되는 것을 확인할 수 있었다. 지방세포에 BPE를 처리하고 지방이 분해되어 세포 밖으로 분비된 glycerol의 발생량을 측정하였다. 이때 BPE의 농도 의존적으로 glycerol 발생량

Table 2. Primer sequences

Accession No.	Gene description	Primer	Sequence (5'-3')
NM007678	C/EBP α	F	GAGGGACTGGAGTTATGACA
		R	GTGAAGAGTCTCAGTTTGGC
NM011146	PPAR γ 2	F	ACCACAGTTGATTCTCCAG
		R	TGTTGTAGAGCTGGGTCTTT
NM008084	GAPDH	F	GTCGTGGAGTCTACTGGTGT
		R	TGCTGACAATCTTGAGTGAG

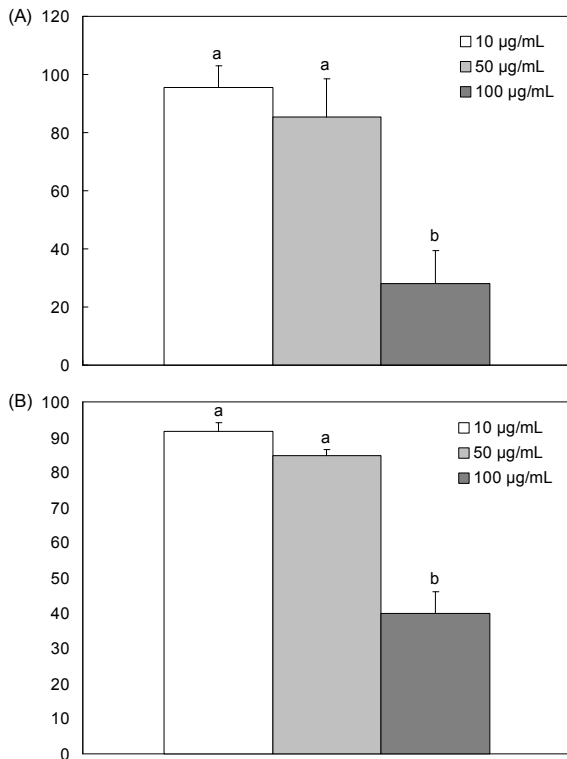


Fig. 1. Effects of BPE on preadipocyte. (A) Differentiation and (B) cell proliferation of preadipocytes with BPE treatments. Results are expressed as mean±SD from three independent experiments. ^{a,b}Means not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$).

이 증가하였다(Fig. 2A). 또한 BPE는 성숙한 지방세포의 생존력에도 영향을 주어 BPE 처리 농도에 의존적으로 세포사멸이 유도되는 것을 확인하였는데(Fig. 2B), 이와 같이 천연물이 adipocyte의 사멸을 유도하는 경우, lipid mobilization에 의해서 일어날 수 있는 체지방 감소보다도 더 지속적인 효과를 가질 수 있는 것으로 보고된 바 있다(15).

BPE의 항비만 효과

지방세포에 대한 BPE의 효능을 확인하기 위해 고지방식이로 유도된 비만 동물 모델에서 BPE의 항비만 효과를 시험하였다. BPE 보충군의 각 마우스들은 8주 동안 하루에 약 18.6 mg의 BPE(620 mg/kg/day)를 섭취하였으며, 이전에 연구되었던 panduratin A의 함량으로는 24.8 mg/kg/day와 동일한 함량이었다(8). 음성대조군인 고지방식이군과 비교하여 BPE 보충군에서 체중증가량이 유의적으로 감소하였다(Table 3). 실험이 완료되었을 때 고지방식이군 대비 BPE를 투여한 쥐의 체중은 9.3%, 체중증가량은 23.8% 감소하였다($p<0.05$). 식이섭취량에 있어서 군간의 차이는 없었으며, BPE 보충군의 사료효율(food efficiency ratio, FER)은 고지방식이군 대비 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). BPE에 의한 체중증가량 감소가 각 조직의 지방 축적 감소에 의한 것인지 알아보기 위해 동물 희생 후 지방조직의 무게를 확인하였다. 총 내장지방의 무게는 정상食이를 급여한 쥐와 비교하

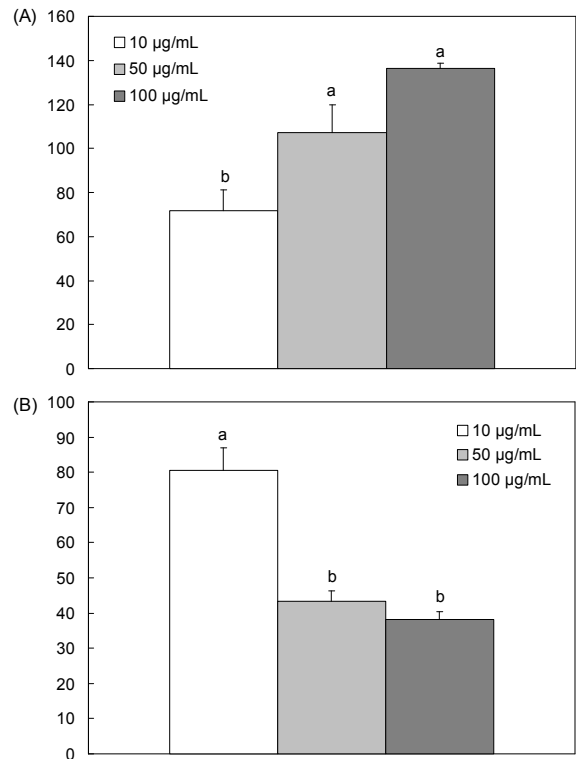


Fig. 2. Effects of BPE on matured adipocyte. (A) Glycerol release and (B) cell proliferation of adipocytes with BPE treatments. Results are expressed as mean±SD from three independent experiments. ^{a,b}Means not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$).

여 고지방식이군에서 98.8%가 증가하였다($p<0.05$). 반면에 BPE 보충군에서는 고지방식이군 대비 총 내장지방의 무게가 28.1% 감소하였다. BPE 보충군에서는 고지방식이군 대비 부고환지방(26.8%), 후복강지방(37.0%), 신주위지방(39.2%), 장간막지방(19.0%), 피하지방(28.8%) 각각에서 지방조직의 무게가 감소하였다. 부고환지방의 조직학적 검사를 통해서 지방 세포의 크기가 감소하고 이에 따라 지방조직의 무게가 감소하였음을 확인할 수 있었다(Fig. 3A, 3C).

혈장 및 간지질 대사에 대한 BPE 효과

비만과 내장지방의 축적은 혈중 지질 함량을 변화시키고 지방조직에서의 adipocytokine의 분비에 영향을 준다. 그리고 adipocytokine의 분비 변화는 인슐린 저항성 및 비알콜성 지방간 등에 영향을 줄 수 있다(16). 따라서 BPE 보충에 따른 혈장 지질 및 adipocytokine의 함량을 측정된 결과(Table 4), 혈장 중의 중성지질 농도는 고지방식이군 대비 BPE 보충군에서 24.4%나 낮아졌지만 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 또한 혈장 중 총콜레스테롤 함량 및 LDL-콜레스테롤 함량에는 크게 영향을 주지 않았으며, 혈장 중 포도당 및 인슐린 함량도 고지방식이나 BPE 섭취를 통해 크게 변화하지 않았다. 그러나 고지방식이를 통해 상승한 렘틴의 농도는 BPE의 급여를 통해 46.0% 정도 급격히 감소하였다($p<0.05$). BPE의 급여는 고지방식이 대비 간무게에는 크게 영향을 주

Table 3. Weight gain and visceral fat-pad weight of mice fed experimental diets

	ND	HFD	HFD-BPE
Weight (g)	28.21±1.55 ^c	34.04±2.67 ^a	30.87±2.44 ^b
Weight gain (g/day)	0.10±0.02 ^c	0.21±0.04 ^a	0.16±0.04 ^b
Food intake (g/day)	3.64±0.22	3.59±0.19	3.72±0.37
FER ¹⁾	1.51 ^c	3.08 ^a	2.22 ^b
Visceral fat pad weights (g/100 g BW)			
Epididymal	2.33±0.43 ^c	4.89±0.78 ^a	3.58±0.71 ^b
Perirenal	0.26±0.09 ^b	0.54±0.11 ^a	0.34±0.08 ^b
Mesenteric	0.88±0.18 ^b	1.35±0.27 ^a	0.82±0.21 ^b
Retroperitoneal	0.68±0.19 ^c	1.47±0.16 ^a	1.19±0.22 ^b
Subcutaneous	1.28±0.31 ^b	2.36±0.53 ^a	1.68±0.35 ^b
Scapular brown fat	0.36±0.07 ^b	0.46±0.06 ^a	0.41±0.05 ^{ab}
Scapular white fat	0.70±0.32 ^c	1.84±0.67 ^a	1.27±0.44 ^b
Total	6.51±1.36 ^c	12.94±1.85 ^a	9.30±1.67 ^b
Liver (g)	0.94±0.09 ^b	1.29±0.10 ^a	1.35±0.13 ^a
Kidney (g)	0.31±0.02	0.31±0.01	0.31±0.02

¹⁾Food efficiency ratio.

Values are expressed as means±SD (n=8). ^{a-c}Means in a row with superscripts without a common letter differ, p<0.05.

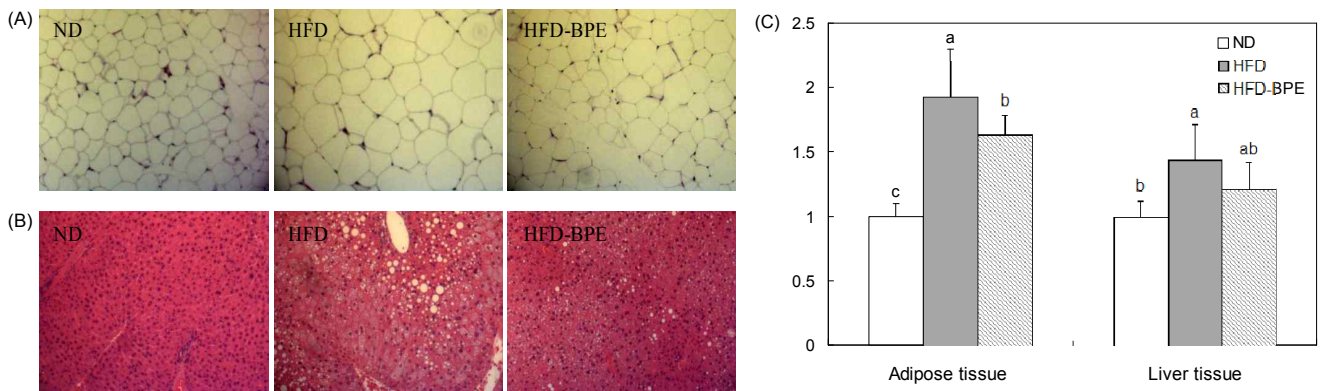


Fig. 3. Histology of epididymal adipose tissue and liver tissue of mice fed on the experimental diet for 8 weeks. Representative photomicrographs of the epididymal adipose tissue (A) and liver tissue (B). All sections were stained with H&E; magnification, ×400. Histological analyses of adipose tissue and liver tissue showed that BPE reduced the cell size (C). Results are expressed as mean±SD (n=8, p<0.05). ^{a-c}Means not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05).

Table 4. Plasma and hepatic biochemistry of mice fed experimental diets

	ND	HFD	HFD-BPE
Plasma			
Triglyceride (mg/dL)	68.0±16.0	62.2±25.4	47.02±16.0
Total cholesterol (mg/dL)	117.5±16.5 ^b	167.7±28.7 ^a	174.7±35.5 ^a
HDL cholesterol (mg/dL)	9.99±2.64 ^b	16.49±6.30 ^a	21.32±4.98 ^a
LDL cholesterol (mg/dL)	93.9±17.3 ^b	133.9±22.7 ^a	148.7±18.4 ^a
Free fatty acid (mM)	0.21±0.06	0.19±0.05	0.18±0.07
Glucose (mg/dL)	131.6±31.4	126.1±21.8	119.2±13.0
Insulin (ng/mL)	0.29±0.14	0.38±0.23	0.30±0.10
Leptin (ng/mL)	3.65±3.35 ^c	17.13±7.38 ^a	9.24±3.86 ^b
Adiponectin (μg/mL)	15.28±1.43 ^a	13.99±1.90 ^a	11.61±1.65 ^b
Liver			
Triglyceride (mg/g liver)	11.09±2.65 ^c	16.45±1.54 ^a	14.25±1.17 ^b
Total cholesterol (mg/g liver)	1.82±0.55 ^b	2.60±0.42 ^a	2.67±0.20 ^a

Values are expressed as means±SD (n=8). ^{a-c}Means in a row with superscripts without a common letter differ, p<0.05.

지 않았다(Table 3). 그러나 조직학적 관찰을 통해 BPE가 고지방식으로 유도된 간조직 내의 지방 축적을 개선하고

(Fig. 3B), 중성지방 함량을 낮춰주는 것을 확인할 수 있었다 (Table 4).

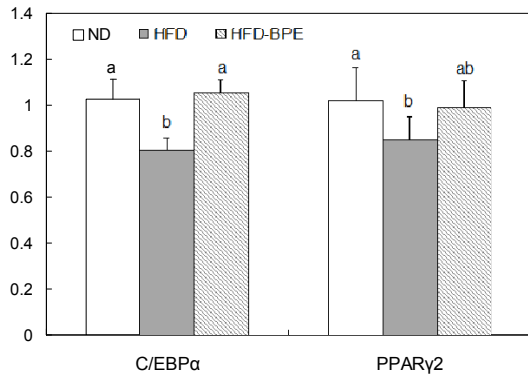


Fig. 4. Fold changes in gene expression as determined by the real-time PCR analyses in the epididymal fat tissues of mice fed on the experimental diets for 8 weeks. Each value is shown as the mean±SD of triplicate analyses of RNA samples pooled from 8 mice. Results were normalized to GAPDH mRNA expression. ^{a,b}Means not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05).

Adipogenesis 관련 유전자의 발현 수준에 대한 영향

부고환지방에서 얻어진 RNA를 real-time RT-PCR을 통해 분석한 결과, 고지방식이군에서는 C/EBPα와 PPARγ2 유전자가 유의적으로 저발현(down-regulation) 되었음을 확인할 수 있었다. 고지방식이에 의한 지방 분해 관련 유전자의 발현 수준 변화는 BPE 급여를 통해 모두 회복되었다(Fig. 4). BPE 보충군에서 C/EBPα와 PPARγ2 발현양은 고지방식이군 대비 각각 1.30배와 1.16배로 유의적으로 증가하였다(p<0.05). 앞선 두 종류의 유전자는 지방 조직에서 높은 수준으로 발현되며, 지방세포 분화에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(17). PPARγ2는 PPARγ의 splicing isoform으로써 지방조직에서 선택적으로 발현되며 섬유아세포(fibroblast)로부터 지방세포로의 분화 및 증식을 촉진시키는데 영향을 주어 지방 축적을 증가시킨다(18). C/EBPα는 preadipocyte의 최종 분화를 촉진해준다. 이번 연구에서 고지방식이를 급여한 마우스의 내장지방에서 PPARγ2와 C/EBPα의 발현은 줄어들었다. 이것은 지방조직 내에 지방이 과도하게 축적되는 것을 방지하기 위한 적응반응의 일환이라는 보고가 있으며(2), panduratin A는 PPARα/δ의 활성인자이다(8). 특정 조건에서는 C/EBPα와 PPARγ의 활성인자들이 대사 장애 치료제로서 활용 가능성이 있다고 보고되고 있다(19). 결론적으로 BPE는 고지방식이에 의해 비만이 유도된 마우스에서 체중 증가를 억제하고, 지방간, 이상지질혈증, 고렙틴혈증을 개선하는데 있어 효과적인 소재임을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구는 마우스에 고지방식으로 비만을 유도하면서 핑거루트 추출물(BPE)의 비만 억제 효과를 평가하는 것이었다. C57BL/6J 마우스를 두개의 실험군으로 나누어 8주 동안

각각 고지방식이와 고지방식이에 0.5%의 BPE를 보충한 식이를 급여하였다. BPE는 식이섭취량에는 영향을 주지 않으면서도 고지방식이군과 비교하여 유의적으로 체중증가를 줄이고, 내장지방의 축적을 억제하였다. 또한 BPE를 급여한 군은 고지방식이군과 비교하여 혈중 지질, 간지질의 축적, 혈중 렙틴 농도를 감소시켰다. RT-PCR 분석 결과, 부고환 지방내에서의 C/EBPα와 PPARγ2의 발현수준이 고지방식이 대비 각각 1.30배와 1.16배 증가하였다. 결론적으로 BPE는 고지방식이로 유도된 비만 마우스 모델에서 내장지방의 축적을 감소시키고, 이상지질혈증 개선을 통해 항비만 효과를 나타내는 것으로 판단된다.

문 헌

- Lemieux S. 2001. Contribution of visceral obesity to the insulin resistance syndrome. *Can J Appl Physiol* 26: 273-290.
- Kim YJ, Kim KY, Kim MS, Lee JH, Lee KP, Park T. 2008. A mixture of the aqueous extract of *Garcinia cambogia*, soy peptide and L-carnitine reduces the accumulation of visceral fat mass in rats rendered obese by a high fat diet. *Genes Nutr* 2: 353-358.
- Pang J, Choi Y, Park T. 2008. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Arch Biochem Biophys* 476: 178-185.
- Fujikawa T, Hirata T, Wada A, Kawamura N, Yamauchi Y, Fugimura K, Ueda T, Yrugi Y, Soya H, Nishibe S. 2010. Chronic administration of *Eucommia* leaf stimulates metabolic function of rats across several organs. *Br J Nutr* 104: 1868-1877.
- Taweekhaisupapong S, Singhara S, Lertsatitthanakorn P, Khunkitti W. 2010. Antimicrobial effects of *Boesenbergia pandurata* and *Piper sarmentosum* leaf extracts on planktonic cells and biofilm of oral pathogens. *Pak J Pharm Sci* 23: 224-231.
- Yanti, Anggakusuma, Gwon SH, Hwang JK. 2009. *Kaempferia pandurata* Roxb. inhibits *Porphyromonas gingivalis* supernatant-induced matrix metalloproteinase-9 expression via signal transduction in human oral epidermoid cells. *J Ethnopharmacol* 123: 315-324.
- Yanti, Rukayadi Y, Lee KH, Hwang JK. 2009. Activity of panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* Roxb. against multi-species oral biofilms *in vitro*. *J Oral Sci* 51: 87-95.
- Kim D, Kim MS, Sa BK, Kim MB, Hwang JK. 2012. *Boesenbergia pandurata* attenuates diet-induced obesity by activating AMP-activated protein kinase and regulating lipid metabolism. *Int J Mol Sci* 13: 994-1005.
- Yun JM, Kwon H, Hwang JK. 2003. *In vitro* anti-inflammatory activity of panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* in RAW264.7 cells. *Planta Med* 69: 1102-1108.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
- Hsu CL, Yen GC. 2006. Induction of cell apoptosis in 3T3-L1 pre-adipocytes by flavonoids is associated with their antioxidant activity. *Mol Nutr Food Res* 50: 1072-1079.
- Harmon AW, Harp JB. 2001. Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am J*

- Physiol Cell Physiol* 280: C807-C813.
13. Shindo K, Kato M, Kinoshita A, Kobayashi A, Koike Y. 2006. Analysis of antioxidant activities contained in the *Boesenbergia pandurata* Schult. Rhizome. *Biosci Biotechnol Biochem* 70: 2281-2284.
 14. Sohn JH, Han KL, Lee SH, Hwang JK. 2006. Protective effects of panduratin A against oxidative damage of tert-butylhydroperoxide in human HepG2 cells. *Biol Pharm Bull* 28: 1083-1086.
 15. Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA. 2008. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J Nutr Biochem* 19: 717-726.
 16. Schäffler A, Schölmerich J, Büchler C. 2005. Mechanisms of disease: adipocytokines and visceral adipose tissue-emerging role in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2: 273-280.
 17. Tamori Y, Masugi J, Nishino N, Kasuga M. 2002. Role of peroxisome proliferator-activated receptor- γ in maintenance of the characteristics of mature 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 51: 2045-2055.
 18. Fajas L, Fruchart JC, Auwerx J. 1998. Transcriptional control of adipogenesis. *Curr Opin Cell Biol* 10: 165-173.
 19. Sidell RJ, Cole MA, Draper NJ, Desrois M, Buckingham RE, Clarke K. 2002. Thiazolidinedione treatment normalizes insulin resistance and ischemic injury in the Zucker fatty rat heart. *Diabetes* 51: 1110-1117.

(2012년 10월 17일 접수; 2012년 12월 5일 채택)