

패 추출물이 고지방식으로 비만이 유도된 C57BL/6J 마우스의 항비만 효과에 미치는 영향

박세진 · 전유진¹ · 김학주² · 한지숙*

부산대학교 식품영양학과, ¹제주대학교 해양생명과학과, ²(주)서진바이오텍

Anti-obesity Effects of *Ishige okamurae* Extract in C57BL/6J mice Fed High-fat Diet

Se-Jin Park, You-Jin Jeon¹, Hak-Ju Kim², and Ji-Sook Han*

Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

¹Department of Marine life Science, Jeju National University

²Soejin Biotech Co., Ltd.

Abstract We investigated the anti-obesity effects of *Ishige okamurae* extract (IOE) on body weight, epididymal adipose tissue weight, plasma lipid levels, and leptin levels in high-fat diet (HFD)-induced obese mice. After inducing obesity by feeding 45% HFD for 4 weeks, C57BL/6J mice were randomly assigned to HFD or HFD containing 5% IOE, and then fed for 6 weeks. The body weight and epididymal adipose tissue weight were increased by HFD, but they were significantly less in animals fed HFD containing 5% IOE than in those fed HFD. Levels of plasma triglyceride, total cholesterol, and LDL-cholesterol were significantly lower, but the HDL-cholesterol level was significantly higher in animals fed HFD containing 5% IOE compared with the HFD group. The plasma leptin level was significantly lower in animals fed HFD containing 5% IOE. The diet containing 5% IOE did not show any adverse effects on liver and kidney functions. These results suggest that IOE has a potential as anti-obesity agent by reducing body weight and lowering the levels of obesity-related factors in plasma.

Keywords: *Ishige okamurae*, anti-obesity, high-fat diet, C57BL/6J mice

서 론

최근 우리나라에서도 경제 성장과 더불어 식생활이 서구화 되면서 섭취하는 열량이 늘어나고, 그에 따라 비만 인구도 증가하는 추세이다. 2007년 국민영양건강조사에 따르면, 만 19세 이상의 비만 인구는 31.7%로 조사되었다. 이는 1998년에 조사된 26%에 비해 5.7%나 증가한 것이다. 비만은 그 자체로도 체중이 증가하고 몸집이 비대해져 생활에 불편을 주지만 더 큰 문제는 혈중 지질 농도를 높여 동맥경화와 심장병을 발생시키고, 인슐린 저항성을 높여 당뇨, 생리불순, 암 등의 합병증을 유발하고 고지혈증, 고혈압, 관상동맥 및 뇌졸중 등의 만성성인병 질환의 원인이 되기 때문에 비만의 치료와 예방은 필수적이다(1-3).

비만 문제를 해결하기 위해 식사 요법과 운동 요법이 권장되고 있지만 효과가 나타나기까지 시간과 노력이 많이 들기 때문에 보조식품이나 약물을 통한 치료에 대한 요구가 증가하고 있다. 이에 따라 비만 치료를 위한 약물의 연구가 계속되고 있으며, 개발된 약물이 시중에 유통되고 있다. 유통되고 있는 비만 치

료제인 orlistat (Xenical)은 위와 소장 내에서 지방분해효소의 활성부위인 serine과 공유결합을 형성하여 lipase의 활성을 저해하여 지방의 흡수를 떨어뜨리는 역할을 하지만 지방 변, 배변 실금 등을 유발한다는 보고가 있어 사용에 제한이 크다(4,5). 따라서 인공적으로 합성된 물질의 부작용을 최소화하기 위해 안전한 천연 물질로부터 체중조절에 효과적인 기능성 물질 개발의 필요성이 요구되고 있다. 특히 에너지 함유량은 적으면서도 비타민과 식이 섬유소가 많이 포함되어 있는 해조류를 이용한 항비만 물질 개발을 위한 연구가 시도되고 있다(6). 또 해조류는 풍부한 식이 섬유소를 포함하고 있어 혈관 내의 콜레스테롤 축적을 방지하고, 장을 자극하여 배변활동을 돕고, 중금속 배출과 고지혈증 개선에 도움을 준다는 연구 결과들이 보고되면서 해조류를 이용한 기능성 식품의 개발이 증가하고 있다(7). 해조류 중에서도 특히 갈조류에 xanthophyll, fucoxanthin, 알긴산, 타우린, 요오드, 아르기닌, 글리신 등이 많이 함유되어 있다고 보고되어 있고(8,9), 그 중의 fucoxanthin은 항암, 항염증 효과뿐만 아니라 3T3-L1의 지방 분화 중에 유도되는 세포 내 지방 축적과 glycerol-3-phosphate dehydrogenase 활성을 억제하여 3T3-L1의 분화를 막아 지방세포 성장 억제 효과도 있음이 보고 되었다(10). 또 갈조류인 미역이나 다시마에 함유된 알긴산과 푸코이단 같은 다당류가 혈중 콜레스테롤과 중성지질의 함량을 감소시키는 효과가 있다고 보고되고 있다(11-14). 이처럼 해조류가 가지는 다양한 생리 활성 물질 중에서 비만 관련 인자에 영향을 주는 물질들이 발견되면서 해조류를 이용하여 장기간 복용해도 부작용 없이 안전한 항비만 기능성 식

*Corresponding author: Ji-Sook Han, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea
Tel: 82-51-510-2836
Fax: 82-51-583-3648
E-mail: hanjs@pusan.ac.kr
Received August 17, 2012; revised January 28, 2013;
accepted January 29, 2013

품 개발에 대한 기대감이 높아지고 있다.

패(*Ishige okamurae*)는 갈조류로서 패과에 속한다. 중국, 일본, 태국 연안에 분포하며, 우리나라에서는 서해안, 남해안, 제주도 해안가의 바위에 붙어 자생한다. 패의 생리활성 물질 중 폴리페놀 성분으로 알려져 있는 phlorotannin은 항플라즈민 억제 효과 및 항알레르기, 항산화 활성이 있다고 알려져 있다(15,16). 패의 또 다른 생리 활성 물질로 catechin, epigallocatechin, tocopherol과 난소화성 다당류인 라미나란, fucoxanthin, fucose-containing polysaccharides, 알긴산이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(17-19). 이처럼 패는 다양한 생리활성 물질을 함유하지만 패의 항비만 효과에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 이에 본 연구에서는 C57BL/6J mice에게 4주 동안 고지방 식이를 섭취시켜 비만을 유도한 후에 6주간 패 추출물을 첨가한 고지방 사료를 섭취시켜 체중, 간, 신장 및 부고환 지방조직 무게, 혈중 지질 및 렙틴 함량을 분석하여 패추출물의 항비만 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

패 추출물 제조

본 실험에 사용한 패는 제주도 해안에서 채취하였고, 표면에 붙은 소금, 착생 식물, 모래를 제거하기 위해 수 차례 세척하고, 정화된 물로 다시 행군 후 음건하여 분말화 하였다. 분말 상태의 패를 80% 메탄올로 8시간씩 3회 추출하여 여과지(3 µm, Qualitative Filter Paper, Toyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan)로 여과하였다. 여과액은 감압회전농축기(Ch-9230, BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)를 사용하여 농축하였고 그 후 동결건조기로 건조하여 분말화하였다. 분말 후 -80°C deep freezer에 보관하면서 실험에 사용하였다.

동물실험 및 비만 유도

4령령의 C57BL/6J 계열 수컷 21마리를 (주)중앙실험동물(Central Lab-Animal Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 1주간 총 칼로리의 10%가 지방인 일반식으로 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 정상 식이군을 제외한 모든 군은 비만 유도를 위하여 총 칼로리의 45%가 지방인 고지방식이를 공급하여 4주간 비만을 유도하였다. 정상 식이군은 총 칼로리의 10%가 지방인 일반식이를 공급하였다. 4주간의 비만 유도 후 5주에서 10주까지 패 추출물의 항비만 효과를 확인하기 위하여 총 칼로리의 45%가 지방인 고지방식이에 5%의 패 추출물 분말을 첨가한 식이를 조제하여 자유 급식 하였다. 실험군은 정상 식이군(normal diet, ND), 고지방 식이군(high fat diet, HFD), 패추출물 첨가식이(high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract, HFDIO)으로 분류하였고 각 군마다 7마리씩 난괴법으로 나누었다.

실험 환경은 온도 22±1°C, 습도 50±5%로 유지하였고, 밤낮을 12시간으로 조절하였다. 또한 모든 실험동물 사육관리는 식품의약품안전청에서 정한 “실험동물사용 및 사육관리 규정”에 따랐고, 실험의 전 과정은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 실시되었다.

식이조제

식이조제는 정상식으로 DIO Formulas (Research Diets Inc., New Brunswick, NJ, USA)에 따라 총 칼로리의 10%가 지방인 식이를 조제(385 kcal/100 g)하였고, 실험군은 비만을 유도하기 위해 총 칼로리의 45%가 지방인 고지방 식이를 조제(473 kcal/100 g)하였다(Table 1). 또 패 추출물 첨가군의 식이 조제를 위하여 총 칼

Table 1. Composition of experimental diets¹⁾ (g/kg diet)

Ingredient	Experimental group		
	ND ²⁾	HFD	HFDIO
Casein	200	200	200
L-Cystine	3	3	3
Corn starch	402.2	232.7	232.7
Maltodextrin 10	70	100	100
Sucrose	172.8	172.8	172.8
Cellulose	50	50	50
Soybean oil	25	25	25
Lard	20	177.5	177.5
Mineral Mix S10026	10	10	10
DiCalcium Phosphate	13	13	13
Calcium Carbonate	5.5	5.5	5.5
Potassium Citrate	16.5	16.5	16.5
Vitamin Mix V10001	10	10	10
Choline Bitartrate	2	2	2
<i>Ishige okamurae</i>			50

¹⁾The diet was prepared to be isocaloric, 473 kcal/100 g, in experimental groups except normal diet (385 kcal/100 g) according to DIO formulas (Formulated by E. A. Ulman, Ph.D., Research Diets, Inc.).

²⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; HFDIO, high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract.

로리의 45%가 지방인 고지방 식이에 5%의 패 추출물 분말을 첨가하여 고형화하여 건조하였다. 고지방 식이를 섭취하는 각 실험군의 식이는 동일한 에너지 수준이 되도록 제조하였으며 식이의 보관은 -20°C에서 냉동보관 하였다.

체중 및 사료 효율 측정

실험기간 중 동물의 상태 관찰을 위하여 주 1회 전자저울(MVP-300, CASKOREA, Osaka, Japan)로 체중을 측정하였다. 식이는 매일 동일한 시간에 공급하였고 전날 남은 사료의 양과 그날 공급한 사료의 양을 매일 측정하여 그 차이로 섭취한 식이량을 계산하였다.

사료 효율(FER: The feed efficiency ratio)은 실험 기간에 증가한 체중 증가량을 같은 기간 동안에 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

$$FER = (\text{body weight change (g)} / \text{food intake (g)}) \times 100$$

실험동물의 처리

실험동물은 식이 실험 종료 후 12시간 절식시킨 후 Zoletil50 (VirbacKorea, Seoul, Korea) 0.2 cc를 복강 주사하여 마취 후 개복하였다. 복부를 개복한 후 멸균 주사기를 사용하여 하대정맥에서 혈액을 채취한 후 헤파린으로 처리한 멸균튜브에 모아 실험에 이용하였다. 채취된 혈액은 2,600 rpm (4°C)에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 실험에 사용하였다. 채혈 후 PBS 용액을 조식으로 들어가는 혈관에 주입하여 혈액을 제거한 후 간과 신장을 적출하여 생리식염수로 행구고 수분을 완전히 제거하여 무게를 측정하였다. 무게 측정 후 간은 실험에 사용하기 위해 homogenizer (Polyton PT-MR 3100, Kinematica AG, Luzern, Switzerland)로 균질화 하여 시료로 사용하였다. 부고환 지방조직은 적출하여 수분 제거 후 무게를 측정하였다. 모든 시료는 -80°C의 deep freezer에 보관하여 사용하였다.

간 및 혈중 지질농도 측정

혈중 중성지질의 함량은 중성지질 측정용 kit 시약(AM 157S-K, Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea), 총 콜레스테롤의 함량은 총 콜레스테롤 측정용 kit 시약(AM 202-K, Asan Pharmaceutical), HDL 콜레스테롤 함량은 HDL 콜레스테롤 측정용 kit 시약(AM 203-K, Asan Pharmaceutical)으로 측정하였다. 혈중 LDL 콜레스테롤 농도는 Friedewald(20)의 계산식으로 구하였다. 계산식은 LDL 콜레스테롤=((총 콜레스테롤-HDL 콜레스테롤)-(중성지질/5))이다.

동맥경화 지수(Atherogenic Index, AI)는 Hablund의 계산법(21)인 AI=((총콜레스테롤 량- HDL콜레스테롤 량)/HDL 콜레스테롤 량) 식을 사용하여 구하였다. 심혈관위험지수(Cardiac Risk Factor, CRF)는 Rosenfeld의 계산법(22) 따라 총콜레스테롤의 양을 HDL 콜레스테롤의 양으로 나누어 구하였다.

간의 처리는 Folch 등(23)의 방법을 수정 보완하여 처리하였다. 적출한 간 중 가장 큰 엽을 선택하여 분리하고 그 무게의 10배에 해당하는 용매(chloroform : methanol=2:1)를 가하여 homogenizer (Polytron PT-MR 3100)로 균질화하였다. 이 중 지질을 반복 추출하여 chloroform층을 분리한 뒤 용매를 휘발시켜 지질을 얻었다. 이렇게 얻은 지질을 혈중 지질농도 측정과 동일한 방법으로 실험하여 그 결과를 도출하였다.

혈중 렙틴 농도

혈액 내의 렙틴 농도는 Mouse leptin quantikine ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용한 효소면역측정법(24)으로 정량하였다.

간기능 효소 측정

혈중 Aspartic acid transaminase (AST), Alanine transaminase (ALT)의 측정은 Reitman-Frankel의 효소법(25)을 응용한 AST, ALT 측정용 시약(Asan pharmaceutical)을 사용하여 측정하였다. 혈중 Gamma glutamyl transpeptidase (γ -GTP)의 측정은 5-Amino salicylic acid법(26)을 응용한 측정용 시약(Asan pharmaceutical)을 사용하여 635 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈중 BUN 및 Creatinine 농도 측정

혈중 blood urea nitrogen (BUN)은 urease-indophenol법(27)을 응용한 측정용 시약(Asan Pharmaceutical)을 사용하여 측정하였다. 샘플 중에 존재하는 urease에 의해 생성되는 암모니아를 sodium hypochlorite로 chloramine화하여 nitroprusside natrium의 촉매작용으로 살리실산나트륨으로 전환시켜 청색 발색을 유도하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장 creatinine 함량의 측정은 Folin-Wu 법(28)을 이용하여 측정하였다. 제단백여액 중에 있는 creatinine은 alkaline picric acid와 작용하여 황적색의 creatinine picrate를 형성하는데 이것을 520 nm에서 표준용액과 비색정량 하였다.

통계학적 분석

실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었고, 유의성 검정을 위해서 SPSS(version 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA (analysis of variance)분석을 실시하고 Duncan's multiple range test에 의해 $p<0.05$ 의 수준에서 사후 검정하였다. 또 비만유도기간의 체중, 체중 증가량, 식이효율의 유의차 검증은 Students t-test를 실시하여 분석하였다.

결과 및 고찰

체중증가 및 식이효율

실험동물의 비만을 유도하기 위하여 4주간 고지방식이를 공급하여 비만을 유도하였으며, 각 군의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율은 Table 2와 같다. 비만유도기간 4주 동안의 체중증가는 실험군 간 유의한 차이를 나타내었으며, 고지방식이군(HFD)이 정상식이군(ND)에 비하여 체중이 유의하게 증가되어 고지방 식이로 인하여 비만이 유도되었음을 알 수 있었다. 식이섭취량은 HFD군과 ND군에서 유의한 차이가 없었으나, 식이 효율에서는 HFD군이 유의하게 높아 고지방식이로 인하여 체중이 더 많이 증가함을 확인할 수 있었다.

비만이 유도된 mice에 6주 동안 패 추출물을 첨가한 고지방식이 사료를 섭취시켜 패 추출물이 비만 mice에게 어떠한 영향을 주는지 살펴보았으며 그 결과는 Table 3에 나타내었다. 비만 유도 후 6주간 실험한 결과 체중 증가량에서 실험군 간 유의한 차이를 나타내었다. 즉, 패 추출물 첨가 고지방 식이군(HFDIO)은 2.73±0.49 g의 체중이 증가해 7.10±0.24 g의 체중 증가를 보인 HFD군보다 유의하게 적은 체중 증가를 나타내었다. 체중 증가에서 HFDIO군은 HFD군 보다는 체중 증가가 유의하게 낮게 나타났기 때문에 고지방식이를 하더라도 패 추출물을 병행 섭취하면 체중의 증가를 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

식이섭취량은 ND군>HFDIO군>HFD군의 순서로 나타났으나 서로간 유의한 차이는 없었다. 식이효율은 ND군과 HFDIO군에 비하여 HFD군에서 유의하게 높았다. 이는 고지방식이가 칼로리 밀도가 높아 체중을 증가시켜 식이효율을 높이는 것으로 사료되는 결과이며, HFD군에 비하여 HFDIO군에서 식이효율이 감소되었는데 이것은 패 추출물에 의하여 일부 영양소의 소화흡수율과 이용률이 저하되었기 때문인 것으로 사료된다. Jang 등(19)은 알송이 모자반 추출물을 첨가한 고지방 식이를 5주간 급여한 결과 체중 증가량과 식이효율이 고지방 식이군에 비하여 유의하게 낮아졌다고 하여 본 실험 결과와 유사하였다. 또한 그는 같은 고지방식이를 섭취하더라도 알송이 모자반 추출물에 의해 일부 영양소가 흡수되지 않고 배설된다고 하였다.

간, 신장 및 지방조직 무게

각 군의 간과 신장 그리고 부고환 지방조직의 무게를 비교한

Table 2. Changes in body weight gain and food intake in mice fed high fat diet for 4 weeks of obesity induction

Groups	Body weight (g)		Gained body weight (g)	Food intake (g/day)	FER ¹⁾ (%)
	Initial	Final			
ND ²⁾	17.56±1.68 ^{NS}	23.19±1.65*	5.63±0.03*	2.74±0.77 ^{NS}	7.84±2.21*
HFD	17.33±1.88	26.09±0.69	8.76±0.77	2.41±0.26	12.83±0.41

Values are mean±SD.

¹⁾FER, Food efficiency ratio=(body weight change (g)/food intake (g))×100.

²⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet.

*Significant difference between group at $p<0.05$ by t-test.

Table 3. Changes in body weight gain and food intake of mice fed high fat diet containing *Ishige okamurae* extract for 6 weeks

Groups	Bodyweight (g)		Gained body weight (g)	Food intake (g/day)	FER(%) ¹⁾
	Initial	Final			
ND ²⁾	23.19±1.65 ^{NS}	24.99±1.18 ^b	1.80±0.47 ^b	3.08±0.34 ^{NS}	1.15±0.44 ^c
HFD	26.51±1.96	33.61±2.20 ^a	7.10±0.24 ^a	2.44±0.58	10.86±3.39 ^a
HFDIO	25.86±1.93	28.59±1.44 ^{ab}	2.73±0.49 ^{ab}	2.81±0.26	3.59±0.40 ^b

Values are mean±SD of 7 mice per group.

¹⁾FER, Food efficiency ratio=(body weight change(g)/food intake(g))×100

²⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; HFDIO, high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract.

^{a-c}Values not sharing a same letter within a column are significantly different among groups ($p<0.05$).

Table 4. Weights of liver, kidney and epididymal adipose tissue of mice fed high fat diet containing *Ishige okamurae* extract for 6 weeks

Groups	Liver weight (g)	Kidney weight (g)	Epididymal AT (g)
ND ¹⁾	1.06±0.12 ^b	0.20±0.02 ^{NS}	0.58±0.09 ^b
HFD	1.36±0.12 ^a	0.23±0.01	2.14±0.95 ^a
HFDIO	1.22±0.17 ^{ab}	0.19±0.04	0.92±0.19 ^b

Values are mean±SD of 7 mice per group.

¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; HFDIO, high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract; AT : adipose tissue.

^{a-b}Values not sharing a same letter with in a column are significantly different among groups ($p<0.05$).

결과는 Table 4와 같다. 간 조직의 무게는 HFD군(1.36±0.12 g)>HFDIO (1.22±0.17 g)>ND (1.06±0.12 g)의 순으로 HFD군이 ND군에 비하여 유의하게 증가하였는데, 이 결과는 고지방식이로 인하여 간 조직에 콜레스테롤 및 중성지질이 축적되어 간 중량이 증가한다는 보고(29)와 일치하였다. 폐 추출물을 섭취한 HFDIO군은 HFD군에 비하여 간 조직의 무게가 유의하게 적었다. 신장의 무게는 HFD군(0.23±0.01 g)>ND군(0.20±0.02 g)>HFDIO군(0.19±0.04 g)의 순으로 나타났으나 유의한 차이는 나타나지 않았다.

부고환 지방조직의 무게는 HFD군(2.14±0.95 g)>HFDIO군(0.92±0.19 g)>ND군(0.58±0.09 g)의 순으로 나타났으며 HFDIO군과 ND군의 부고환 지방조직의 무게는 유의한 차이가 없었으나 HFD군의 부고환 지방조직의 무게는 유의하게 증가하였다. 일반적으로 고지방식이의 섭취는 각 장기와 피하에 지방을 축적하고 지질 대사에도 이상을 초래하여 각종 대사 장애와 고혈압, 고지혈증 등을 일으킬 수 있다(30,31). 본 실험에서도 10주간 고지방식을 섭취한 HFD군에서 간과 부고환 지방의 무게가 ND군에 비해 유의하게 증가하였다. 그러나 폐 추출물 첨가 고지방식을 섭취한 HFDIO군에서는 간의 무게가 HFD군 보다는 유의하게 적고, 부고환에서의 지방 축적량도 HFD군보다 유의하게 적은 것으로 나타나 폐 추출물이 내부 장기에 지방이 축적되는 것을 억제하는 효과가 있을 것이라 사료된다.

혈중 지질 농도

혈액 내의 지질 농도 분석 결과는 Table 5에 나타내었다. 혈장 내 중성지방은 고지방식에 의해 가장 큰 영향을 받는데 고지방식이만을 섭취한 HFD군(207.14±31.39 mg/dL)에 비해 HFDIO군(122.46±43.57 mg/dL)에서 혈장 중성지방 농도가 유의하게 낮음을 확인할 수 있었으며 ND군과 HFDIO군의 중성지방 농도는 유의한 차이가 없었다. 피하지방에 대한 내장지방의 비가 혈중 중성지방 농도에 영향을 미쳐 복부에 지방이 축적된 사람에게서 중성지방 함량이 높다고 알려져 있으며(32) 본 연구 결과에서도 복

Table 5. Lipid levels of plasma in mice fed high fat diet containing *Ishige okamurae* extract for 6 weeks (mg/dL)

Group	ND ¹⁾	HFD	HFDIO
Triglyceride	116.90±37.16 ^b	207.14±31.39 ^a	122.46±43.57 ^b
Total cholesterol	143.28±36.42 ^b	229.94±59.64 ^a	146.40±33.57 ^b
HDL cholesterol	56.97±9.97 ^a	38.60±8.71 ^b	58.68±13.27 ^a
LDL cholesterol	62.93±19.02 ^b	149.92±19.54 ^a	63.23±23.27 ^b
AI	1.48±0.20 ^b	5.41±0.29 ^a	1.49±0.01 ^b
CRF	2.48±0.21 ^b	6.41±0.29 ^a	2.49±0.01 ^b

Values are mean±SD of 7 mice per group.

¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; HFDIO, high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract; AI, atherogenic index; CRF, cardiac risk factor.

^{a-b}Values not sharing a same letter in a row are significantly different among groups ($p<0.05$).

부지방 부위를 차지하는 부고환 지방조직의 무게가 HFD군보다 유의하게 적었던 HFDIO군에서 중성지방 함량이 유의하게 적음을 알 수 있었다.

혈중 총 콜레스테롤의 함량은 그 값이 높아지면 관상 동맥질환이나 지방대사에 이상이 생겼다는 신호가 된다. HFDIO군(146.40±33.57 mg/dL)의 혈장 총 콜레스테롤의 함량이 HFD군(229.94±59.64 mg/dL)에서의 총 콜레스테롤의 함량보다 유의하게 낮은 값을 나타내었으며, HFDIO군과 ND군에서는 유의한 차이가 없었다. LDL 콜레스테롤은 주로 동맥 혈관 벽에 붙어 동맥경화를 일으키거나 심장질환의 원인이 되는 인자로 혈중 농도가 높아질수록 그 위험성이 커진다. 혈장 LDL 콜레스테롤의 농도는 HFDIO군(63.23±23.27 mg/dL)이 HFD군(149.92±19.54 mg/dL)에 비하여 유의하게 낮았으며, ND군(62.93±19.02 mg/dL)과는 유의한 차이가 없었다. 이는 폐 추출물에 함유된 성분이 혈중 콜레스테롤의 상승을 억제시킨 결과라고 추정할 수 있다. Seal과 Mathers (33)는 다시마의 생리활성 성분 중 알긴산을 동물에 섭취시켰을 때 혈중 중성지질 및 총 콜레스테롤 함량이 유의적으로 감소하였다고 보고하였는데, 본 연구에서 폐 추출물의 혈중 지질저하 효과도 폐 추출물에 함유된 라미난, 알긴산, fucosanthin, fucose-containing polysaccharides (17)에 부분적으로 기인할 수 있을 것으로 사료된다.

HDL 콜레스테롤의 경우 HFDIO군(58.68±13.27 mg/dL)과 ND군(56.97±9.97 mg/dL) 두 값 사이에는 유의한 차이가 없는 반면에 HFD군(38.60±8.71 mg/dL)의 HDL 콜레스테롤 양은 유의하게 낮았다. HDL 콜레스테롤은 혈액 중의 동맥경화를 일으키는 저분자 콜레스테롤을 제거하여 간으로 이동시키는 역할을 하는 좋은 콜레스테롤로 알려져 있어 폐 추출물 섭취가 혈중 콜레스테롤 농도 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 비만이나 유전적 요인으로 체내 지질의 균형이 깨지면 혈장 내 lipoprotein인 LDL

Table 6. Lipid levels of liver in mice fed high fat diet containing *Ishige okamurae* extract for 6 weeks (mg/g)

Group	ND ¹⁾	HFD	HFDIO
Triglyceride	107.93±21.53 ^b	265.25±87.81 ^a	145.86±58.20 ^{ab}
Total cholesterol	128.92±65.06 ^b	256.93±39.05 ^a	133.91±21.50 ^b
HDL cholesterol	54.87±1.90 ^a	27.29±5.68 ^c	42.75±5.04 ^b
LDL cholesterol	26.80±11.59 ^b	183.19±25.79 ^a	42.00±17.26 ^b

Values are mean±SD of 7 mice per group.
¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; HFDIO, high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract; AI, atherogenic index; CRF, cardiac risk factor.
^{a-c} Values not sharing a same letter in a row are significantly different among groups ($p < 0.05$).

콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤의 비가 깨어지고, 그로 인한 동맥경화나 심혈관 질환 발병률이 높아진다고 보고되고 있다(34). 또한 혈중에 높은 농도의 콜레스테롤이 유지되면 동맥경화의 발생률이 증가하는데, 그 지표가 되는 것이 동맥경화지수(atherogenic index, AI)이다. 혈장 AI는 HFD군(5.41±0.29)에서 가장 높은 값을 나타내었고 반면에 HFDIO군은 1.49±0.01로 유의하게 낮은 값을 나타내어 패 추출물의 섭취가 동맥경화 지수를 유의하게 낮추어 줄 수 있었다. 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)도 HFDIO군(2.49±0.01)이 HFD군(6.41±0.29)보다 유의하게 낮음을 확인할 수 있었다.

간 조직 중의 지질 농도

간 조직 내의 지질 농도 분석 결과는 Table 6에 나타내었다. 간에서의 중성지방 함량은 HFDIO군이 ND군보다는 높았으나 HFD군에 비하여 유의하게 낮은 함량을 나타내었다. 총 콜레스테롤 함량은 HFDIO군이 133.91±21.50 mg/g로서 HFD군의 256.93±39.05 mg/g 보다 유의하게 낮은 값을 나타내었으며 ND군의 128.92±65.06 mg/g과는 유의한 차이가 없었다. LDL 콜레스테롤의 함량에서도 HFDIO군이 HFD군보다 유의하게 낮았으며, ND군과는 유의한 차이를 나타내지 않았다. Thomas 등(35)은 검은녹두에서 추출한 식이섬유소를 급여한 흰쥐의 간조직에서 콜레스테롤 함량이 감소된 것은 간장에서 콜레스테롤이 담즙산으로 전환되는 속도가 더욱 높아졌기 때문이라고 하였고, Vahouny 등(36)의 연구에서도 15% 식이섬유소 식이를 흰쥐에게 6주간 급여한 결과 간 조직의 중성지방의 농도가 현저하게 감소하였다고 보고하였다. 이상의 결과로 고지방식으로 인하여 간조직 중 중성지방과 총콜레스테롤 함량이 유의하게 증가하였고 패추출물 첨가 급여로 유의하게 감소하는 것을 알 수 있었다. 이는 패추출물에 함유된 난소화성 다당류가 간에 중성지방이 축적되는 것을 방지하며 담즙산의 재흡수를 억제하여 콜레스테롤 함량의 저하를 유도하는 것으로 사료된다. 그러나 이러한 작용에 또 어떠한 생리활성 성분이 작용하는지에 대해서는 추후 더 체계적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

혈액 중의 렙틴 농도

혈장 렙틴 농도는 Fig. 1에 나타내었다. 혈장 렙틴은 HFD군(8.14±1.56 ng/mL)>HFDIO 군(5.67±1.48 ng/mL)>ND 군(3.93±0.25 ng/mL)의 순으로 각 군 간에 유의한 차이를 보였다. 이는 고지방식으로 높아진 혈중 렙틴의 양이 패 추출물을 섭취하면서 유의하게 감소됨을 알 수 있었다. 혈중 렙틴의 양은 에너지를 과잉 섭취할 경우 식욕억제를 위해 생성이 증가하는 물질이므로 비만

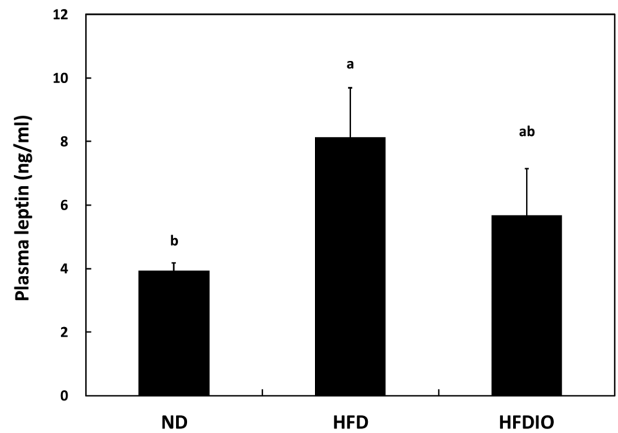


Fig. 1. Effects of *Ishige okamurae* extract on plasma leptin levels in mice fed high fat diet. Values are mean±SD of 7 mice per group. ND, normal diet; HFD, high fat diet; HFDIO, high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract. ^{a-b}Means not sharing a same letter are significantly different among groups ($p < 0.05$).

의 지표로 사용할 수 있다(37). 또한 혈중 렙틴의 양은 체중 및 체지방과 상관관계가 높다고 보고되고 있다(38). 이러한 보고들을 참고할 때 패 추출물의 섭취는 체중 및 체지방을 감소시키고 혈중 렙틴의 농도도 감소시키는 것으로 생각할 수 있었다.

간 기능 효소의 활성

간 기능을 측정하기 위해 혈액에서 AST, ALT, γ -GTP를 측정하였고, 그 결과는 Table 7에 나타내었다. AST, ALT 효소는 간 세포 내에 존재하는 효소로 세포가 파괴되거나 사멸하면 혈액 속으로 분비되어 혈액 내에서도 일정량이 검출 될 수 있다. 지방간이나 알코올의 섭취, 과체중 등의 이유로 간에 염증이나 세포의 파괴가 일어나면 정상적인 양 보다 더 많은 AST, ALT가 혈액 속으로 분비된다. 혈액 내에 존재하는 AST의 양을 관찰한 결과, ND군은 4.10±0.96 IU/L, HFDIO군은 5.34±0.49 IU/L, HFD군은 6.99±0.95 IU/L으로 모두 정상 범위(0-20 IU/L)의 결과를 나타내었다. 그러나 HFD군의 AST 값이 ND군 및 HFDIO군의 값보다 유의하게 높게 나와 고지방 섭취로 인한 지방 대사 이상으로 간 세포로부터 혈액 속으로 AST 효소가 많이 유출되고 있음을 확인할 수 있었다. 혈액 내에 존재하는 ALT의 양은 HFDIO군은 3.02±0.97 IU/L, ND군은 3.24±0.53 IU/L, HFD군은 3.49±0.35 IU/L으로 세 군 모두 정상범위(0-15 IU/L) 안에서 유의한 차이가 없었다.

γ -GTP는 세포 밖의 아미노산에 글루타미닐기를 결합시키는 효소로서 아미노산을 세포 내로 운송하는 역할을 한다. γ -GTP는 지방간에 민감하게 반응하고 간이나 담도에 이상이 생기면 다른 효소보다 더 민감하게 반응하는 것으로 보고되고 있다(39). 혈액 내의 γ -GTP 양은 HFDIO군(29.17±6.72 mU/mL)이 HFD군(55.04±15.58 mU/mL)보다 유의하게 낮고 ND군(29.67±11.45 mU/mL)과는 유의한 차이가 없었다. γ -GTP 값이 모두 정상 범위(0-61.7 mU/mL)에 속하였지만 HFD군에서 그 수치가 유의하게 증가하고 있어서 간의 지방 축적과 지질 대사 이상으로 인한 위험이 시작되었음을 예상할 수 있었다. 반면 HFDIO군은 HFD군과 같이 고지방 방식을 섭취하였음에도 불구하고 ND군과 유사한 결과를 얻어 패 추출물 보충 식이가 간의 지방 축적과 간세포 손상을 억제하는 효과를 가질 수 있을 것으로 사료된다.

Table 7. Activities of AST, ALT, γ -GTP and BUN in mice fed high fat diet containing *Ishige okamurae* extract for 6 weeks

Group	ND ¹⁾	HFD	HFDIO
AST (IU/L)	4.10±0.96 ^b	6.99±0.95 ^a	5.34±0.49 ^{ab}
ALT (IU/L)	3.24±0.53 ^{NS}	3.49±0.35	3.02±0.97
γ -GTP (mU/mL)	29.67±11.45 ^b	55.04±15.58 ^a	29.17±6.72 ^b
BUN (mg/dL)	16.01±3.52 ^b	19.78±2.02 ^a	15.63±2.97 ^b
Creatinine (mg/dL)	0.75±0.32 ^{NS}	1.08±0.31	0.91±0.30

Values are mean±SD of 7 mice per group.

¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; HFDIO, high fat diet containing 5% *Ishige okamurae* extract; AST, Aspartic acid transaminase; ALT, Alanine transaminase; γ -GTP, Gamma Glutamyl transpeptidase; BUN, Blood urea nitrogen.

^{a-b}Values not sharing a same letter in a row are significantly different among groups ($p < 0.05$).

혈중 BUN 및 Creatinine 농도

혈중 요소의 농도를 측정하는 BUN 측정의 결과는 HFD군(19.78 ± 2.02 mg/dL), HFDIO군(15.63 ± 2.97 mg/dL), ND군(16.01 ± 3.52 mg/dL)으로 HFDIO군과 ND군의 값은 유의한 차이가 없었으나 HFD군은 유의하게 높은 값을 나타내었다. BUN의 정상범위는 7.5-20.0 mg/dL의 범위로 세군 모두 정상 범위로 나타났다. 요소는 단백질 중의 질소 최종 대사산물로서 주로 간에서 합성되는 물질로 알려져 있다. 단백질의 대사과정 중에 발생하는 암모니아는 몸에 유독하지 않게 요소로 변경되어 혈액을 통하여 신장으로 이동한 후 뇨로 배설된다. 임상에서는 이렇게 생성된 요소를 일반적인 질소성분과 비교하기 위해 요소질소량(UN)으로 나타내는데 신장의 기능이 저하되면 뇨로 배설되는 요소질소량이 줄어들어 혈액 중의 요소질소량이 증가하게 된다. 또한 혈액은 요소질소에 대한 버퍼기능이 있어 버퍼의 기능이 50%이하로 떨어지기 전에는 요소질소량이 정상치로 유지되는 것처럼 보이기 때문에 혈중 요소질소의 양이 정상치 이상으로 측정되면 이미 신장의 기능저하가 진행된 상황으로 판단할 수 있다. 이전 연구에서도 비만은 혈액학적 영향과 호르몬의 영향으로 신장 조직의 손상을 유발하고 사구체 여과율을 증가시켜 사구체 비대, 사구체 기저막의 두께 증가 등 구조적 변화를 유발한다는 보고(40)가 있다. BUN과 함께 신장 기능의 지표가 되는 Creatinine의 농도는 HFD군, HFDIO군, ND군간에 유의한 차이가 없었고, 모두 정상(0.7-1.4 mg/dL)으로 나타났다.

요 약

본 연구는 패 추출물의 항비만 효과를 조사하기 위해 C57BL/6J mice에 4주 동안 고지방 식이를 공급하여 비만을 유도한 후, 6주간 패 추출물을 첨가한 고지방 사료를 섭취시키고 체중, 간, 신장 및 부고환 지방조직 무게, 혈액과 간의 지질 농도 및 혈중 렙틴 함량을 분석하였다. 실험 결과 HFD군에서는 고지방 식이로 인하여 체중이 유의하게 증가하였으나, HFDIO군에서는 HFD군보다 체중의 증가가 유의하게 적었으며, 부고환 지방조직의 무게도 HFDIO군이 HFD군보다 유의하게 감소하였다. 고지방 식이로 혈중 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤의 함량은 HFD군에서 가장 높게 나타났으나 HFDIO군에서는 유의하게 낮아졌으며 반면에 HDL 콜레스테롤의 함량은 HFDIO군이 HFD군보다 유의하게 높았다. 이에 동맥경화지수와 심혈관질환위험도가 HFD군에 비해 HFDIO군에서 유의하게 낮아졌으며, 혈중 렙틴의 양도 HFDIO군이 유의하게 낮아지는 결과를 얻었다. 간 기능의

지표가 되는 ALT, AST, γ -GTP는 HFD군에서 유의하게 높은 값을 나타냈지만 모두 정상범위 내의 값을 나타내었고, 혈중 BUN과 혈중 Creatinine의 농도도 정상 범위 내의 값을 나타내었다. 이상의 실험 결과 고지방식이와 함께 급여한 패 추출물은 체중, 간 및 지방조직의 무게 감소와 더불어 혈장 및 간의 지질농도 개선과 혈장 렙틴 농도를 감소시키는 유용한 항비만 소재가 될 수 있을 것으로 사료된다. 앞으로 패의 어떠한 성분이 이러한 작용을 하는 지에 대한 더욱 체계적인 연구가 필요한 것으로 판단된다.

문 헌

- Lee JH. Treatment of obesity. J. Kor. Soc. Obes. 1: 21-24 (1992)
- Lew EA. Mortality and weight: Insured lives and the American Cancer Society studies. Ann. Intern. Med. 103: 1024-1029 (1985)
- Kim KI, Han CK, Seong KS, Lee OH, Park JM, Lee BY. Effect of whole powder and extracts of *Gastrodiae Rhizoma* on serum lipids and body fat in rats fed high-fat diet. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 720-725 (2003)
- Apfelbaum M, Vague P, Ziegler O, Ilanotin C, Thomas F, Leutenegger E. Long-term maintenance of weight loss after a very low calorie diet: Efficacy and tolerability of sibutramine. Am. J. Med. 106: 179-184 (1999)
- Yum KS. Orlistat (XenicalR). Korean J. Obesity 10: 25-36 (2001)
- Schwartzmann G, Brondani da Rocha A, Berlinck RG, Jimeno J. Marine organisms as a source of new anticancer agents. Lancet Oncol. 2: 221-225 (2001)
- Lee YA, Kim MH. The effect of sea tangle extract on serum lipid level in ovariectomized rats. J. Life Sci. 18: 249-254 (2008)
- Nam CS, Kang KS, Ha JM, Lee SH, Lee JH, Lee DG, Jang JS, Kang HY, Ha BJ. The correlativity of ulva lactuca fractions, LPS, enzymatic activity and the evaluation of water fraction. J. Life Sci. 16: 984-988 (2006)
- Hayato MD, Masashi HS, Tokutake SS, Nobuyuki TK, Teruo KW, Kazuo MY. Fucoxanthin and its metabolite, fucoxanthinol, suppress adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. Int. J. Mol. Med. 18: 147-152 (2006)
- Tsukui T, Konno K, Hasokawa M, Maeda H, Sashima Y, Miyashita K. Fucoxanthin and fucoxanthinol enhance the amount of docosahexaenoic acid in the liver of KKAY obese/diabetic mice. J. Agric. Food Chem. 55: 5025-5029 (2007)
- Paxman JR, Richardson JC, Dettmar PW, Corfe BM. Daily ingestion of alginate reduces energy intake in free-living subjects. Appetite. 51: 713-719 (2008)
- Ito K, Tsuchiya Y. The effect of algal poly-saccharides on the depressing of plasma cholesterol levels in rat. pp. 558-561. In: Proceeding of 7th Int. Seaweed Symp. Nishizawa K (ed), Univ. Tokyo Press, Tokyo, Japan (1972)
- Tsuji E, Tsuji K, Suzuki S. Effect of polysaccharides on cholesterol metabolism effect of various polysaccharides on serum and liver cholesterol levels in cholesterol fed rats. J. Nutr. 33: 273-281 (1975)
- Kimura T, Tsuji K. Effects of the primary structure of alginate on fecal excretion of sodium in rats. Nippon Nogeik. Kaishi. 67: 1177-1183 (1993)
- Lim SN, Cheung PCK, Ooi VEC, Ang PO. Evaluation of antioxidative activity of extracts of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. J. Agric. Food Chem. 50: 3862-3866 (2002)
- Nakayama T, Takahashi M, Fukuyama Y, Kinzyo Z. An anti-plasmin inhibitor, eckol, isolated from the brown alga *Ecklonia kurume Okamura*. Agric. Biol. Chem. 63: 3025-3030 (1989)
- Kim ES. Studies on the isolations and structures of secondary metabolites from the *Sargassum fulvellum* and *Ishige okamurae*. MS thesis. Hanbat National University, Daejeon, Korea (2004)
- Kim KW. Effect on metabolic disease factor of fucoindan purified by enzymatic hydrolysis from blown seaweed. PhD thesis. Chonnam National University, Gwangju, Korea (2009)
- Jang YJ, Kwon SO, Yeo KM, Hong MJ, Kim BN, Han DS. Anti-obesity effect of *Sargassum confusum* ethanol extract in

- obese rats. Korea J. Food Sci. Technol. 43: 189-194 (2011)
20. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem. 18: 499-502 (1972)
 21. Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T. The effects of fish oil on triglyceride, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. J. Nutr. 121: 165-169 (1991)
 22. Rosenfeld L. Lipoprotein analysis. Arch. Pathol. Lab. Med. 113: 1101-1110 (1989)
 23. Folch J, Less M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-569 (1957)
 24. Kim MS, Yang HW, Kwon HC, Kim SK, Cho DJ, Yoon YD. 2002. Study on the cyclic change of leptin and its receptor expression during the estrous cycle of rat. Dev. Reprod. 6: 123-129 (2002)
 25. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Pathol. 2: 56-63 (1957)
 26. Orłowski M, Szczeklik A. Heterogeneity of serum gamma-glutamyl transpeptidase in hepatobiliary diseases. Clin. Chim. Acta. 15: 387-391 (1967)
 27. Tiffany TO, Jansen JM, Burtis CA, Overton JB, Scott CD. Enzymatic kinetic rate and end-point analyses of substrate by use of a GeMSAEC fast analyzer. Clin. Chem. 18: 829-840 (1972)
 28. Bonsnes RW, Taussky HH. On the colorimetric determination of creatinine by the Jaffe reaction. J. Biol. Chem. 158: 581-591 (1945)
 29. Jayasooriya AP, Sakono M, Yukizaki C, Kawano M, Yamamoto K, Fukuda N. Effects of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol free and cholesterol enriched diets. J. Ethnopharmacol. 72: 331-336 (2000)
 30. Lee HJ. Hyperlipidemic effect of supplemented onion extract in participants with borderline high cholesterol level. MS thesis. Changwon University, Gyeongnam, Korea (2009)
 31. Despres JP. Abdominal obesity as important component of insulin-resistant syndrome. Nutrition 19: 452-459 (1993)
 32. Kim HK. Obesity and fat metabolism. J. Korean Soc. Stu. Obes. 9: 63-65 (2000)
 33. Seal CJ, Mathers JC. Comparative gastrointestinal and plasma cholesterol responses of rats fed on cholesterol-free diets supplemented with guar gum and sodium alginate. Brit. J. Nutr. 85: 317-324 (2001)
 34. Park SH, Jang MJ, Hong JH, Rhee SJ, Choi KH, Park MR. Effects of mulberry leaf extract feeding on lipid status of rats fed high cholesterol diets. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 43-50 (2007)
 35. Thomas M, Leelamma S, Kurup Pa. Effect of blackgram fiber(*phaseolus mungo*) on hepatic hydroxymethylglutaryl CoA reductase activity, cholesterologenesis and cholesterol degradation in rats. J. Nutr. 113: 1104-1108 (1983)
 36. Vahouny GV, Roy T, Gallo LL, Story JA, Kritchevsky D, Cassidy M. Dietary fibers. III. Effects of chronic intake on cholesterol absorption and metabolism in the rat. Am. J. Clin. Nutr. 33: 2182-2191 (1980)
 37. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, Kern PA, Friedman JM. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and RNA in obese and weight-reduced subjects. Nat. Med. 1: 1155-1161 (1995)
 38. Havel PJ, Kasim KS, Mueller W, Johnson PR, Gingerich RL, Stern JS. Relationship of plasma leptin to plasma insulin and adiposity in normal weight and overweight women: Effects of dietary fat content and sustained weight loss. J. Clin. Endocrinol. Metab. 81: 4406-4413 (1996)
 39. Friedma SL. 1990. Acetaldehyde and alcoholic fibrogenesis: Fuel to the fire, but not the spark. Hepatology 12: 609-612 (1990)
 40. Kato S, Nazneen A, Nakashima Y, Rassaque MS, Nishino T, Furusu A. Pathological influence of obesity on renal structural changes in chronic kidney disease. Clin. Exp. Nephrol. 13: 332-340 (2009)