

가르시니아 캄보지아 추출물의 지방세포 분화 및 지방 독성에 미치는 영향

강은실 · 함선아 · 황정석 · 이창권¹ · 서한극*
건국대학교 동물생명공학과, ¹몽고식품주식회사

Effects of *Garcinia cambogia* Extract on the Adipogenic Differentiation and Lipotoxicity

Eun Sil Kang, Sun Ah Ham, Jung Seok Hwang, Chang-Kwon Lee¹, and Han Geuk Seo*

Department of Animal Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

¹Mong-Go Foods Co., Ltd., Changwon 641-847, Korea

Abstract

This study aimed to examine the mechanisms underlying the effects of *Garcinia cambogia* extract on the adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells and long-chain saturated fatty acid-induced lipotoxicity of HepG2 cells. 3T3-L1 preadipocytes, mouse embryonic fibroblast-adipose like cell line, were treated with MDI solution (0.5 mM IBMX, 1 μ M dexamethasone, 10 μ g/mL insulin) to generate a cellular model of adipocyte differentiation. Using this cellular model, the anti-obesity effect of *Garcinia cambogia* extract was evaluated. MDI-induced lipid accumulation and expression of adipogenesis-related genes were detected by Oil red O staining, Nile Red staining, and Western blot analysis. Effects *Garcinia cambogia* extract on palmitate-induced lipotoxicity was also analyzed by MTT assay, LDH release, and DAPI staining in HepG2 cells. *Garcinia cambogia* extract significantly suppressed the adipogenic differentiation of preadipocytes and intracellular lipid accumulation in the differentiating adipocytes. *Garcinia cambogia* extract also markedly inhibited the expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2), CCAT/enhancer-binding protein α (C/EBP α), and adipocyte protein aP2 (aP2). In addition, *Garcinia cambogia* extract significantly attenuated palmitate-induced lipotoxicity in HepG2 cells. Palmitate-induced cellular damage and reactive aldehydes were also significantly reduced in the presence of *Garcinia cambogia* extract. These findings suggest that the *Garcinia cambogia* extract inhibits the adipogenic differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, probably by regulating the expression of multiple genes associated with adipogenesis such as PPAR γ 2, C/EBP α , aP2, and thereby modulating fatty acid-induced lipotoxicity to reduce cellular injury in hepatocytes.

Key words: anti-adipogenesis, *Garcinia cambogia*, gene expression, lipotoxicity

서 론

가르시니아 캄보지아(*Garcinia cambogia*)는 동남아시아가 원산지인 과일로 수세기 전부터 식용 및 토속약용물질로 사용되어져 오고 있다(Mrquez *et al.*, 2012). 이러한 가르시니아 캄보지아 추출물은 육류, 생선, 음료의 향신료 및 보존제로도 사용되고 있는데, 낮은 산도에 기인한 정균 작용은 염증성 장질환 및 가축질환의 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Mrquez *et al.*, 2012). 지난 수십 년간의 연구에서 가르시니아 캄보지아 추출물은 체중과 지방의 무게를 줄이는 탁월한 효과가 다양한 동물실험을 통해 입증되

었는데(Heymsfield *et al.*, 1998), 세포 수준에서의 기전연구가 시작된 것은 가르시니아 캄보지아 추출물의 주요 작용 물질로(-)-Hydroxycitric acid (HCA)가 분리 동정되면서부터였다(Hasegawa, 2001). 3T3-L1세포에서 지방과립(lipid droplet)을 억제시킨다는 보고 이후(Hasegawa, 2001), 가르시니아 캄보지아가 지방 분화 시에 증가되는 전사 인자인 C/EBP α 의 발현을 억제함으로써 지방축적을 억제한다는 연구 결과가 보고되었는데(Kim *et al.*, 2004), 지금까지 알려진 가르시니아 캄보지아의 항비만 기전은 이것의 주요 구성성분인 HCA가 지방의 생합성 단계에서 citrate와 경쟁적으로 작용하여 지질 및 콜레스테롤의 생합성에 관여하는 효소인 ATP-citrate lyase을 저해하는 것으로 밝혀졌다(Sullivan *et al.*, 1974). 비만 모델 동물을 이용한 연구에서 HCA가 산화 스트레스, 염증반응, 및 인슐린 저항성을 개선한다는 보고와(Asghar *et al.*, 2007), 말론디알데히드(malon-

*Corresponding author: Han Geuk Seo, Department of Animal Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-450-0428, Fax: 82-2-455-1044, E-mail: hgseo@konkuk.ac.kr

dialdehyde)의 생성을 억제함으로써 신장의 산화 스트레스를 보호한다는 연구결과가 보고되었으며(Amin *et al.*, 2011), 최근의 연구에서는 가르시니아 캄보지아 추출물이 알코올에 의해 증가된 간 독성도 억제한다고 보고되었다(Shivashankara *et al.*, 2012).

본 연구는 가르시니아 캄보지아의 항비만 효능의 분자기전을 알아보기 위하여 지방전구세포인 3T3-L1세포의 지방세포로의 분화에 관련하는 인자들인 peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2), CCAT/enhancer-binding protein α (C/EBP α), 및 adipocyte protein aP2 (aP2)의 발현에 대한 가르시니아 캄보지아 추출물의 영향을 살펴보고자 하였다. 또한 이러한 가르시니아 캄보지아의 항 비만효과가 지방산에 의한 세포독성과 연관성이 있는지도 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

60%의 HCA를 포함하는 가르시니아 캄보지아 추출물은 향림산업(주)에서 구입하여 DMEM으로 10% stock solution을 만들어 지방세포 분화에 사용하였다(Korea). Dexamethasone, Insulin, 1-methyl 3-isobutylxanthin (IBMX), Oil Red O, Nile Red, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), Palmitate, 4',6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI)시약은 Sigma (USA)에서 구입하였고, c/EBP α , aP2, PPAR γ 에 대한 항체는 SANTA CRUZ (USA)에서 구입하였다. CytoTox 96 nonradioactive cytotoxicity assay kit는 Promega (USA)에서 구입하였다.

세포배양

3T3-L1세포 및 HepG2세포는 각각 10% calf serum 또는 10% heat-inactivated fetal bovine serum(FBS)을 포함하는 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 배지에 100 U/mL penicillin과 100 μ g/mL streptomycin을 첨가하여 5% CO₂, 37°C에서 배양, 유지하였다.

3T3-L1 지방전구세포의 분화

3T3-L1 지방전구세포의 지방 세포로의 분화는 60 mm dish에 5 \times 10⁶ 세포를 분주하여 세포가 충분히 밀집되게 배양하였다(Magun *et al.*, 1998). 2일 후 0.5 mM IBMX, 1 μ M dexamethasone, 10 μ g/mL insulin (MDI solution), 및 10% FBS을 포함하는 DMEM 배지에서 2일 동안 배양함으로써 분화를 개시한 다음, 10 μ g/mL insulin 및 10% FBS만을 포함하는 DMEM 배지로 교환하여 2일 동안 분화를 진행시켰다. 그 이후로는 10% FBS만을 포함하는 DMEM배지에서 배양함으로써 세포 내 지방적(lipid droplet)을 형성하는 지방세포로 분화시켰으며(Yeh *et al.*, 1995), 지방 세포의 분화 정도는 Oil Red O를 사용하여 확인하였다(Dragunow *et al.*, 2007).

Oil Red O 염색에 의한 세포 내에 축적된 지방의 측정

60-mm dish에서 표시된 농도의 가르시니아 캄보지아 추출물과 동시에 MDI solution을 처리하여 3T3-L1을 분화시킨 후, PBS로 세척하고, 4% paraformaldehyde로 고정하였다. Oil red O는 0.5 g을 100 mL의 isopropanol에 녹여 stock solution을 만들어 사용하였다. 0.5% Oil red O 용액과 isopropanol을 6:4의 비율로 희석한 염색액을 고정된 지방세포에 처리하여 1시간 반응시킨 후, 60% isopropanol로 세척한 다음, D.W.로 다시 세척하여 광학 현미경으로 관찰하였다. 또한, 세포 내에 축적된 지방을 정량하기 위하여 oil red O로 염색한 세포에 isopropanol을 첨가하여 색소를 용해시켜 회수한 다음, 490 nm에서의 흡광도를 XMark™ Microplate Spectrophotometer (Bio-Rad, USA)에서 측정함으로써 세포 내에 축적된 지방을 정량하였다(Hansen *et al.*, 1999).

Nile Red 염색에 의한 중성지방 축적의 확인

세포 내 triglyceride 함량은 triglyceride에 특이성이 높은 Nile Red 염색법을 이용하여 분석하였다(Cha *et al.*, 2010). 세포를 1%의 가르시니아 캄보지아 추출물과 동시에 MDI solution을 처리하여 3T3-L1을 분화시킨 후, PBS로 세척하여 4% paraformaldehyde로 고정한 후, 100 ng/mL Nile Red 용액으로 상온에서 5분간 염색 후 dH₂O로 세척한 다음, 공초점 현미경(confocal laser scanning microscopy, Model IX 71, Olympus Corporation, Japan) 하에서 관찰하였다. 염색된 세포의 형광세기(fluorescence intensity)를 Olympus FV 10-ASW 2.0 software(Olympus Corporation, Japan)를 이용하여 분석함으로써 각 세포에 축적된 triglyceride를 정량하였다.

Western blot에 의한 지방세포 특이 단백질의 발현 조사

MDI solution을 처리하여 경시적으로 지방세포로 분화를 유도한 3T3-L1세포와, 1% 가르시니아 캄보지아 추출물의 존재 혹은 부재상태에서 MDI solution을 6일간 처리한 3T3-L1세포로부터 total protein을 Proprep solution (Intron, Korea)을 사용하여 4°C에서 16,000 g로 20분간 원심 분리하여 추출한 다음, 동일한 일정량의 cell lysates를 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis로 크기별로 분획하여, 지방세포에서 특이하게 발현되는 지표단백질들인 PPAR γ 2, aP2, C/EBP α 등의 발현을 각각의 단백질에 특이적으로 반응하는 항체를 이용하여 western blotting에 의해 분석하였다(Kang *et al.*, 2011; Vankoningsloo *et al.*, 2005).

MTT assay에 의한 세포 생존율 측정

HepG2 세포를 24-well plate에 well 당 5 \times 10⁴개씩 분주하여 24시간 배양한 후, 가르시니아 캄보지아 추출물을 농도별로 전처리하였다. 24시간 후에 0.5 mM palmitate를 처리하여 21시간 배양한 후, MTT 용액을 최종농도 0.1 mg/mL로 세포배양액에 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. 세포배

양액을 제거한 후, 살아있는 세포의 mitochondrial dehydrogenases에 의해 환원된 MTT 유래의 결정체인 formazan을 acidic isopropanol을 첨가하여 용해시켜 회수한 다음, 570 nm에서의 흡광도를 XMark™ Microplate Spectrophotometer (Bio-Rad, USA)에서 측정함으로써 세포의 생존율을 측정하였다(Kang *et al.*, 2007).

Lactate dehydrogenase(LDH) release assay에 의한 세포 독성 조사

HepG2 세포를 24-well plate에 well 당 5×10^4 개씩 분주하여 24시간 배양한 후, 가르시니아 캄보지아 추출물을 농도별로 전처리하였다. 24시간 후에 0.5 mM palmitate를 처리하여 21시간 배양하여 배양액만을 따로 회수한 후, 배양액 내로 방출된 LDH를 CytoTox 96 non-radioactive cytotoxicity assay kit를 사용하여 490 nm에서의 흡광도를 XMark™ Microplate Spectrophotometer (Bio-Rad, USA)를 사용하여 측정함으로써 정량하였다.

DAPI 염색을 통한 아포토시스(apoptosis) 분석

HepG2 세포를 cover glass가 깔린 6-well plate에서 80%가 되도록 배양한 다음, 가르시니아 캄보지아 추출물을 농도별로 처리하여 24시간 배양하였다. 이후 0.5 mM palmitate를 처리하여 21시간 배양한 후, 세포를 PBS로 세척하여 4% paraformaldehyde로 고정하고 0.1% Triton X-100을 함유하는 PBS로 세척하였다. 고정된 세포를 2 µg/mL DAPI용액으로 30분간 염색한 후, 세정하여 올림푸스 JP/1X71 형광현미경 하에서 응축되고 조각난 핵을 관찰함으로써 apoptotic cell을 분석하였다.

통계처리

실험결과는 평균값과 표준오차로 나타내었으며, 통계처리는 SAS (Statistical Analysis System, Ver. 4.3, SAS Institute Inc., USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

지방전구세포인 3T3-L1의 배양 및 지방세포로의 분화 유도

10% calf serum을 포함하는 DMEM배지에서 계대 배양한 3T3-L1세포의 세포주기가 G_1 에서 정지되도록 100% confluent한 상태까지 배양한 후, 10% FBS 및 MDI가 함유된 DMEM배지로 교환하여 배양함으로써 지방세포로 분화를 유도하였다. 지방세포로의 분화 정도는 Oil Red O 염색에 의해 지질 적(lipid droplets)을 관찰한 결과, 이전 보고들과 유사하게(Guo *et al.*, 2009), 2일째부터 지질 적이 나타나기 시작하여 8일째까지 증가하는 것을 확인할 수 있었다(data

not shown). 관찰된 지질 적을 염색한 oil red O을 isopropanol로 용출하여 정량한 결과에서도 분화 2일째부터 유의하게 지방축적이 관찰되기 시작하여 8일째까지 지속적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다(data not shown). 이러한 결과로부터 본 연구에서 사용한 3T3-L1세포의 지방세포로의 분화유도가 잘 이루어지고 있음을 확인할 수 있었다.

가르시니아 캄보지아 추출물의 지방세포 분화 억제 효과

가르시니아 캄보지아 추출물의 지방세포 분화에 대한 효과를 확인하기 위하여 3T3-L1세포에 가르시니아 캄보지아 추출물을 농도별로 MDI와 동시에 처리하여 지방세포의 분화에 미치는 영향을 확인한 결과, MDI에 의한 지방세포로의 분화가 0.1%의 가르시니아 캄보지아 추출물에서 유의하게 억제되기 시작하여 1%의 농도에서 control 수준으로 지질 적의 축적이 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1A and 1B). 가르시니아 캄보지아의 지방분화 억제 효과를 보여주는 선행연구결과들과 유사하게(Hasegawa, 2001; Kim *et al.*, 2004; Mrquez *et al.*, 2012), 가르시니아 캄보지아 추출물을 동시에 처리한 3T3-L1세포에서 지방분화가 효과적으로 억제되는 연구결과는 가르시니아 캄보지아를 지방과 동시에 섭취하여도 체내 지방축적을 억제할 수 있다는 가능성을 시사하였다.

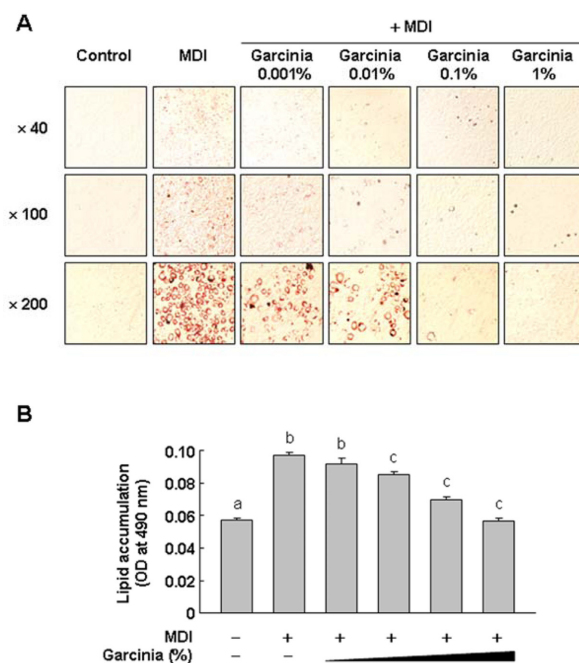


Fig. 1. Effects of *Garcinia cambogia* extracts on lipid deposition in differentiated 3T3-L1 cells. Oil Red O staining (A). Quantification of Oil Red O by optical density (B). The cells were incubated with MDI solution for 8 days in the presence or absence of *Garcinia cambogia* extracts (0.001, 0.01, 0.1 and 1%). Each value is the mean \pm SEM (n=4). ^{a,b,c}Means not sharing a common superscript are significantly different ($p < 0.05$).

가르시니아 캄보지아 추출물의 중성지방(triglyceride) 축적에 대한 효과

세포 내 중성지방 축적에 대한 가르시니아 캄보지아 추출물의 효과를 검토하기 위하여, 3T3-L1세포에 MDI를 처리하여 중성지방의 축적을 Nile red 염색을 통하여 확인한 결과, 1% 가르시니아 캄보지아 추출물을 첨가한 군에서 MDI처리 2일째부터 유의하게 중성지방의 축적이 억제되기 시작하여 6일째까지 유의하게 중성지방의 축적이 억제되고 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2A and 2B). 이는 가르시니아 캄보지아 추출물을 전처리한 선행연구결과와 유사하게(Hasegawa, 2001), 본 연구결과는 가르시니아 캄보지아를 지방과 동시에 섭취하여도 중성지방의 체내 축적을 효과적으로 억제할 수 있음을 시사하였다.

가르시니아 캄보지아 추출물의 지방세포 분화 특이 지표 단백질의 발현에 대한 효과

지방세포로의 분화 특이 지표 단백질로 전사인자의 하나인 PPAR γ 2, aP2, C/EBP α 등이 알려져 있다(Kang *et al.*, 2011; Otto and Lane, 2005; Sung *et al.*, 2010; Timchenko *et al.*, 1999). 3T3-L1세포에 MDI을 처리하여 지방세포로의 분화를 유도한 후, Western blot으로 지방세포분화와 관련된 특이단백질의 발현을 조사한 결과, 지방세포로의 분화에 있어서 중요한 전사인자인 PPAR γ 2는 MDI처리 2일째부터 발현이 크게 증가하여 6일째까지 발현이 유지되다가 8일째에 감소하는 경향을 보였고, aP2의 발현은 4일째부터 강하게 발현되기 시작하여 8일째까지 지속되는 것을 확인할 수 있었다. 한편 CDK2와 CDK4을 억제하여 세포주기

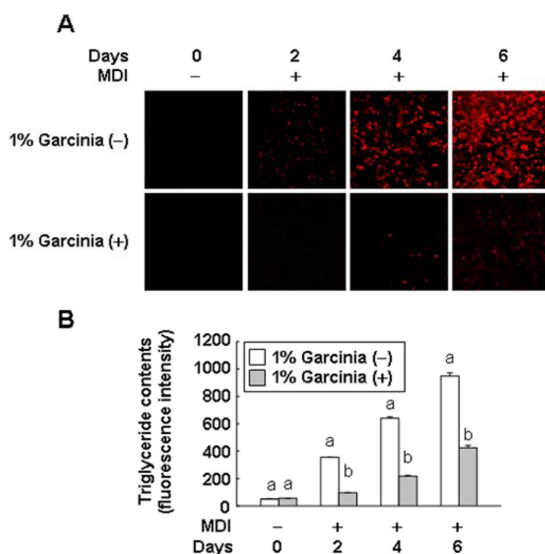


Fig. 2. Effects of *Garcinia cambogia* extracts on triglyceride accumulation in differentiated 3T3-L1 cells. Triglyceride accumulation was visualized by Nile Red staining (A) and quantified (B) using fluorescence microscopy. Each value is the mean \pm SEM (n=4). ^{a,b}Means not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$).

정지에 관여하는 인자인 C/EBP α 의 경우, 6일째에 일과성으로 발현증가가 관찰되었으나, 8일째에 감소하는 발현패턴을 보여 주었다(Fig 3A). 이러한 각각의 지표 단백질의 발현 패턴을 중심으로 3T3-L1세포를 1% 가르시니아 캄보지아 추출물의 존재 하에서 MDI을 6일간 처리하여, Western blot으로 각각의 단백질 발현에 대한 가르시니아 캄보지아 추출물의 효과를 확인한 결과, 본 연구에서 살펴본 3가지 지방세포분화관련 지표단백질들인 PPAR γ 2, aP2, c/EBP α 의 발현을 가르시니아 캄보지아 추출물이 유의하게 억제하는 연구결과가 관찰되었다(Fig 3B). 이전의 연구에서 가르시니아 캄보지아 추출물이 농도 의존적으로 C/EBP α 를 억제한다고 보고되었지만(Kim *et al.*, 2004), 본 연구에서는 C/EBP α 이외에도 PPAR γ 와 aP2의 발현증가도 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 연구결과들로부터 가르시니아 캄보지아 추출물은 세포수준의 *in vitro* 실험에서 지방전구세포(preadipocytes)인 3T3-L1이 지방세포(adipocytes)로의 분화를 관련 유전자들의 발현을 억제함으로써 작용하고 있음을 확인할 수 있었다.

가르시니아 캄보지아의 지방독성(lipototoxicity)에 대한 효과

앞선 연구에서 가르시니아 캄보지아 추출물이 MDI에 의한 지방세포로의 분화 시에 중성지방의 축적을 억제하는 연구결과로부터, 유리지방산에 의해 유발되는 세포 지방증에 대한 가르시니아 캄보지아 추출물의 효과를 인체 hepatocytes 유래의 HepG2세포에서 조사하였다. 유리 지방산에의 지속적인 노출은 염증 반응을 유발하여 간세포의 손상에 기인한 비 알코올성 지방증을 일으키게 되는데(Joshi-Barve *et al.*, 2007; Nehra *et al.*, 2001), HepG2세포를 긴 사슬 지방산인 pamate로 처리하여 유도한 세포 지방증에 대한 가르시니아 캄보지아 추출물의 효과를 조사한 결과, 농도 의존적으로 세포 내 지방축적이 억제되고 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 4A and 4B). 이러한 결과는 가르시니아 캄보지아 추출물이 지방세포의 분화 시 뿐만이 아니라, 유리지방산에 의한 세포에의 지방 축적 또한 억제할 수 있음이 시사되었다. 선행연구에서 가르시니아 캄보지아 추출물의 전처리 후

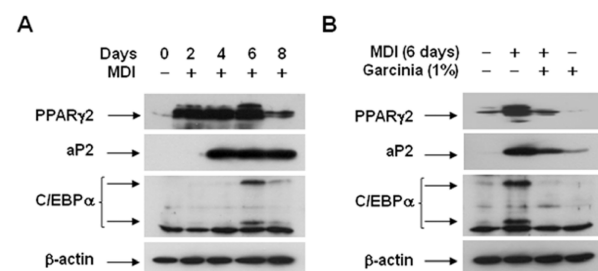


Fig. 3. Effects of *Garcinia cambogia* extracts on the expression of adipocyte-specific protein in differentiated 3T3-L1 cells. Western blot analysis. Cells were treated with MDI solution for indicated period of time in the absence (A) or presence of 1% *Garcinia cambogia* extracts (B).

은 동시처리에 의해 유사한 결과가 도출되었으므로(Hasegawa, 2001; Kim *et al.*, 2004), 본 연구에서는 가르시니아 캄보지아 추출물을 24시간 전처리하여 연구를 수행하였다.

또한, palmitate에 의해 유도된 지방독성에 대해서도 가르시니아 캄보지아 추출물이 농도 의존적으로 세포 생존율을 유의하게 증가시키는 것이 MTT assay 및 LDH release assay에서 도출되었다(Fig. 5A and 5B). 이러한 palmitate에 의해 유도된 세포사멸을 가르시니아 캄보지아 추출물이 농도 의존적으로 억제하고 있음도 DAPI 염색에 의한 분석에서 확

인되었다(Fig. 5C and 5D). 한편, 알코올에 의한 간독성(hepatotoxicity)을 가르시니아 캄보지아 추출물이 억제할 가능성이 시사되었으나(Shivashankara *et al.*, 2012), HepG2세포와 같은 간세포에서의 가르시니아 캄보지아 추출물의 간독성 억제기전에 대한 연구는 지금까지 이뤄지지 않았다. 따라서, 이상의 결과들은 가르시니아 캄보지아 추출물이 지방세포로의 분화를 억제할 뿐만이 아니라, 유리지방산에 의해 유발된 세포독성을 억제함으로써 palmitate와 같은 지방산에 의해 유발되는 세포 지방증(cellular steatosis)과 같은 질환의 치료에 적용될 수 있는 가능성이 시사되었다.

요 약

본 연구는 가르시니아 캄보지아의 항비만 효과의 분자기전을 알아보기 위하여 지방전구세포인 3T3-L1세포의 지방세포로의 분화 시, 가르시니아 캄보지아 추출물을 처리하여 세포 내 지질 적의 형성 및 중성지방의 축적, 지방분화 특이 지표 단백질의 발현에 미치는 영향에 대하여 살펴 보았다. 3T3-L1세포의 지방세포로의 분화는 MDI로 유도 후, 2일째부터 지방 적 및 중성 지방이 유의하게 축적되기 시작하였는데, 1% 가르시니아 캄보지아 추출물을 동시에 처리한 세포에서 이러한 지방 적 및 중성 지방의 축적이 유의하게 억제되는 것을 실험을 통해 확인할 수 있었다. 또한 지방세포 분화 특이 지표 단백질로 알려진 PPAR γ 2, C/EBP α , aP2와 같은 단백질의 발현 또한 가르시니아 캄보지아 추출물이 효과적으로 억제하고 있음도 확인할 수 있었다. 한편, 가르시니아 캄보지아 추출물은 palmitate를 처리한 HepG2 세포에서 중성지방의 축적 및 세포사멸을 유의

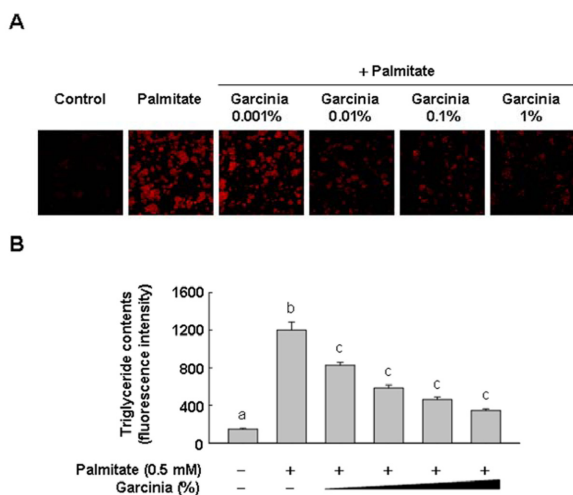


Fig. 4. Effects of *Garcinia cambogia* extracts on the intracellular steatosis induced by palmitate. Triglyceride accumulation was visualized by Nile Red staining (A) and quantified (B) using fluorescence microscopy. Each value is the mean \pm SEM (n=5). ^{a,b,c}Means not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$).

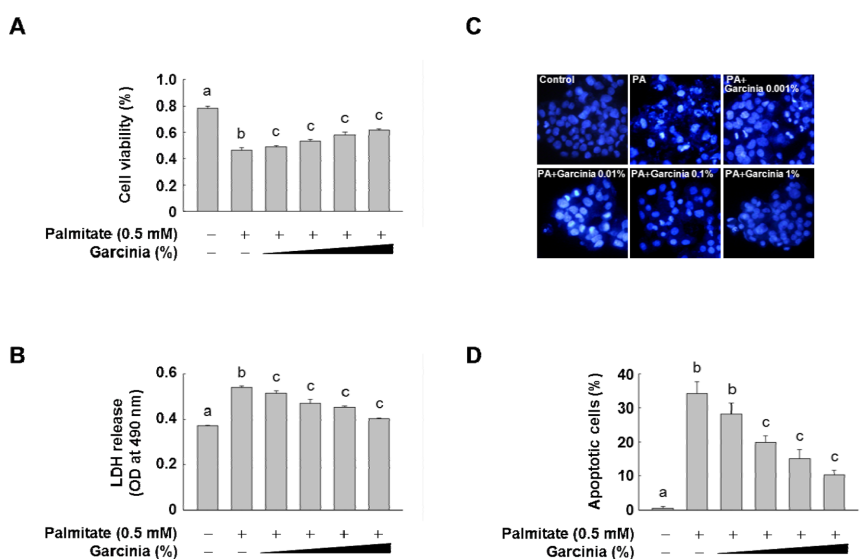


Fig. 5. Effects of *Garcinia cambogia* extracts on the lipotoxicity induced by palmitate. MTT assay (A) and LDH release assay (B). Apoptotic cells were visualized by DAPI staining (C and D). Condensed and deformed apoptotic nuclei appear as bright blue spots (C). Cells chosen from at least five random fields were scored (n \geq 100 each) and quantitative analyses were performed (D). Each value is the mean \pm SEM (n=4 and 5, respectively). ^{a,b,c}Means not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$).

하게 억제함으로써 유리 지방산의 축적에 의한 지속적인 염증 반응으로 유발되는 지방독성(lipotoxicity)을 억제하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들은 가르시니아 캄보지아 추출물이 세포 수준에서 비교적 낮은 농도로도 효과적으로 지방을 억제할 수 있으며, 기존에 알려지지 않았던 유리지방산에 의한 지방독성을 억제하는 효과가 있음을 본 연구에서 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단 중견연구자 지원사업(2012-0005311), 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(PJ007980) 및 중소기업청 2012년도 산학연공동기술개발사업(No. C0009664)에 의하여 수행되었으며, 이에 감사의 말씀을 드립니다.

참고문헌

- Amin, K. A., Kamel, H. H., and Abd Eltawab, M. A. (2011) Protective effect of Garcinia against renal oxidative stress and biomarkers induced by high fat and sucrose diet. *Lipids Health Dis.* **10**, 6.
- Asghar, M., Monjok, E., Kouamou, G., Ohia, S. E., Bagchi, D., and Lokhandwala, M. F. (2007) Super CitriMax (HCA-SX) attenuates increases in oxidative stress, inflammation, insulin resistance, and body weight in developing obese Zucker rats. *Mol. Cell Biochem.* **304**, 3-99.
- Cha, S.-Y., Jang, J. Y., Lee, Y.-H., Lee, G., Lee, H. J., Hwang, K.-T., Kim, Y., Jun, W., and Lee, J. (2010) Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrica* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 813-819.
- Dragunow, M., Cameron, R., Narayan, P., and O'Carroll, S. (2007) Image-based high-throughput quantification of cellular fat accumulation. *J. Biomol. Screen.* **12**, 999-1005.
- Guo, W., Zhang, K.-M., Tu, K., Li, Y.-X., Zhi, L., Xiao, H.-S., Yang, Y., and Wu, J.-R. (2009) Adipogenesis licensing and execution are disparately linked to cell proliferation. *Cell Res.* **19**, 216-223.
- Hansen, J. B., Petersen, R. K., Larsen, B. M., Bartkova, J., Alsnér, J., and Kristiansen, K. (1999) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma bypasses the function of the retinoblastoma protein in adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* **274**, 2386-2393.
- Hasegawa, N. (2001) Garcinia extract inhibits lipid droplet accumulation without affecting adipose conversion in 3T3-L1 cells. *Phytother Res.* **15**, 172-173.
- Heymsfield, S. B., Allison, D. B., Vasselli, J. R., Pietrobelli, A., Greenfield, D., and Nunez, C. (1998) Garcinia cambogia (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: A randomized controlled trial. *JAMA.* **280**, 1596-1600.
- Joshi-Barve, S., Barve, S. S., Amancherla, K., Gobejishvili, L., Hill, D., Cave, M., Hote, P., and McClain, C. J. (2007) Palmitic acid induces production of proinflammatory cytokine interleukin-8 from hepatocytes. *Hepatology* **46**, 823-830.
- Kang, E. S., Woo, I. S., Kim, H. J., Eun, S. Y., Paek, K. S., Kim, H. J., Chang, K. C., Lee, J. H., Lee, H. T., Kim, J.-H., Nishinaka, T., Yabe-Nishimura, C., and Seo, H. G. (2007) Up-regulation of aldose reductase expression mediated by phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and Nrf2 is involved in the protective effect of curcumin against oxidative damage. *Free Radic. Biol. Med.* **43**, 535-545.
- Kang, S.-I., Ko, H.-C., Shin, H.-S., Kim, H.-M., Hong, Y.-S., Lee, N.-H., and Kim, S.-J. (2011) Fucoxanthin exerts differing effects on 3T3-L1 cells according to differentiation stage and inhibits glucose uptake in mature adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **409**, 769-774.
- Kim, M. S., Kim, J. K., Kwon, D. Y., and Park, R. (2004) Anti-adipogenic effects of Garcinia extract on the lipid droplet accumulation and the expression of transcription factor. *Bio-factors.* **22**(1-4), 193-196.
- Magun, R., Gagnon, A., Yaraghi, Z., and Sorisky, A. (1998) Expression and regulation of neuronal apoptosis inhibitory protein during adipocyte differentiation. *Diabetes* **47**, 1948-1952.
- Mrquez, F., Babio, N., Bull, M., and Salas-Salvad, J. (2012) Evaluation of the safety and efficacy of hydroxycitric acid or Garcinia cambogia extracts in humans. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **52**, 585-594.
- Nehra, V., Angulo, P., Buchman, A. L., and Lindor, K. D. (2001) Nutritional and metabolic considerations in the etiology of non-alcoholic steatohepatitis. *Dig. Dis. Sci.* **46**, 2347-2352.
- Otto, T. C. and Lane, M. D. (2005) Adipose development: From stem cell to adipocyte. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **40**, 229-242.
- Shivashankara, A. R., Azmidah, A., Haniadka, R., Rai, M. P., Arora, R., and Baliga, M. S. (2012) Dietary agents in the prevention of alcohol-induced hepatotoxicity: preclinical observations. *Food Funct.* **3**, 101-109.
- Sullivan, A. C., Triscari, J., Hamilton, J. G., Miller, O. N., and Wheatley, V. R. (1974) Effect of (-)-hydroxycitrate upon the accumulation of lipid in the rat. I. Lipogenesis. *Lipids.* **9**, 121-128.
- Sung, H.-Y., Jun, J.-G., Kang, S.-W., Kim, H.-S., Shin, D., Kang, I.-J., and Kang, Y.-H. (2010) Novel Danshen methoxybenzo[b]furan derivative antagonizing adipogenic differentiation and production of inflammatory adipokines. *Chem. Biol. Interact.* **188**, 457-466.
- Timcheko, N. A., Wilde, M., Iakova, P., Albrecht, J. H., and Darlington G. J. (1999) E2F/p107 and E2F/p130 complexes are regulated by C/EBP in 3T3-L1 adipocytes. *Nucleic Acids Res.* **27**, 3621-3630.
- Vankoningsloo, S., Piens, M., Lecocq, C., Gilson, A., De Pauw, A., Renard, P., Demazy, C., Houbion, A., Raes, M., and Arnould, T. (2005) Mitochondrial dysfunction induces triglyceride accumulation in 3T3-L1 cells: Role of fatty acid beta-oxidation and glucose. *J. Lipid Res.* **46**, 1133-1149.
- Yeh, W.-C., Bierer, B. E., and McKnight, S. L. (1995) Rapamycin inhibits clonal expansion and adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 11086-11090.