J Korean Soc Food Sci Nutr
43(10), 1484~1490(2014)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.10.1484

Lactobacillus plantarum CECT 7527, 7528, 7529 혼합물이 고지방식이를 급여한 흰쥐의 비만 및 지질 대사에 미치는 영향

김대환[1] · 최미란[1] · 홍지은[1] · 이재용[1,2] · 이순임[3] · 정수환[3] · 김은지[1]

[1]한림대학교 식의약품의 효능평가 및 기능성소재개발센터
[2]한림대학교 의과대학 생화학교실
[3]한올바이오파마 주식회사 개발팀

Effect of Mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 on Obesity and Lipid Metabolism in Rats Fed a High-fat Diet

Dae Hwan Kim[1], Mi-Ran Choi[1], Ji Eun Hong[1], Jae-Yong Lee[1,2], Soon Im Lee[3], Su Hwan Jung[3], and Eun Ji Kim[1]

[1]*Center for Efficacy Assessment and Development of Functional Foods and Drugs and*
[2]*Department of Biochemistry, College of Medicine, Hallym University*
[3]*Business Development Department, HanAll BioPharma Co. Ltd.*

ABSTRACT In the present study, we examined the effects of a mixture of three strains, *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (*L. plantarum* mixture), on body weight and lipid metabolism in Sprague-Dawley rats fed a high-fat diet. Rats were fed a high-fat diet and subjected to oral gavage with vehicle or the *L. plantarum* mixture (0.6×10^9, 1.2×10^9, 2.4×10^9 colony-forming units (CFU)/day/rat, respectively) for 8 weeks. In rats fed a high-fat diet, oral administration of 2.4×10^9 CFU/day of the *L. plantarum* mixture significantly reduced body weight gain as well as weights of liver and epididymal fat. Leptin levels in sera were significantly reduced by oral administration of 2.4×10^9 CFU/day of the *L. plantarum* mixture. The *L. plantarum* mixture (1.2×10^9 or 2.4×10^9 CFU/day) also reduced the concentrations of total cholesterol and LDL-cholesterol in sera when it administered orally. Further, the *L. plantarum* mixture significantly reduced the atherogenic index and cardiac risk factor. In addition, oral administration of 2.4×10^9 CFU/day of the *L. plantarum* mixture markedly reduced levels of total lipids, triglycerides, and total cholesterol in the liver. The results of this study indicate that the *L. plantarum* mixture may exhibit anti-obesity and cholesterol-lowering effects, which suggest that the *L. plantarum* mixture has the potential to be a probiotic in the management of obesity and hypercholesterolemia.

Key words: *Lactobacillus plantarum* mixture, antiobesity effect, hypocholesterolemic effect, high-fat diet

서 론

식생활의 서구화와 가공식품 소비의 증가에 따라 동물성 식품 및 지방의 섭취가 증가하여 이와 관련된 여러 질병의 발생 빈도가 높아지고 있다. 우리나라 국민의 총 에너지 섭취량 중 지방 에너지 섭취 비율은 1982년에 9.6%에서 2012년에는 19.6%로 증가하였고, 2012년에는 에너지/지방 과잉 섭취자 분율이 7.7%로 나타났다(1). 지방 섭취 증가는 체내 당질 및 지질 대사에 이상을 초래하여 비만 및 고지혈증을 유발하고, 이는 동맥경화와 심근경색 등 심혈관·순환기 질환의 위험인자로 작용한다(2). 현재 세계적으로 비만 및 고지혈증 치료에 대한 많은 연구가 진행되었고 그 결과 많은 치료제가 개발되어 사용되고 있으나 치료제의 장기 복용에 의한 약효 감소 및 부작용이 대두되고 있다(3,4). 따라서 안전하게 사용할 수 있으며 예방 효과가 있는 기능성 물질 개발의 필요성이 요구되고 있다.

발효식품에 사용되는 유산균은 오래전부터 섭취되어 온 GRAS(Generally Recognizied As Safe)로 안전하며, 산업적으로 빈번하게 이용되고 있다(5). 일반적으로 유산균의 섭취는 장내 미생물들이 음식물의 소화, 흡수, 분해와 배설 등을 돕는 유익균의 증가를 유도하여 소화작용을 도와 소화기계 질환에 개선 효과를 나타낸다(6). 최근에는 면역조절(7), 항염(8) 및 항암(9) 등 다양한 유산균의 효능이 알려지고 있다. 또한 많은 연구자들은 유산균이 항비만(10) 및 혈중 지질 개선 효과(11-13)가 있음을 보고하였다.

자연계에서 가장 분포가 넓은 유산균 중의 하나인 *Lac-*

Received 22 May 2014; Accepted 16 July 2014
Corresponding author: Eun Ji Kim, Center for Efficacy Assessment and Development of Functional Foods and Drugs, Hallym University, Chuncheon, Gangwon 200-702, Korea
E-mail: n-myej4@hallym.ac.kr, Phone: +82-33-248-3106

tobacillus plantarum(*L. plantarum*)은 다양한 생리활성을 나타낸다. 최근의 몇몇 연구들은 *L. plantarum* 투여가 식이에 의해 유도된 비만(14-16)과 고지혈증(5,17,18)을 효과적으로 억제함을 보여주고 있다. Bosch 등(19)은 *in vitro* 실험을 통해 *L. plantarum* CECT 7527, 7528과 7529가 콜레스테롤을 감소할 수 있음을 제시하였고, 3 종류를 혼합시 bile salt hydrolase 생성이 더 많아짐을 보고하였다. Fuentes 등(20)은 고콜레스테롤혈증을 나타내는 사람에게 *L. plantarum* CECT 7527, 7528과 7529가 동일한 비율로 혼합된 혼합물을 1.2×10^9 colony-forming units(CFU) 용량으로 12주 투여한 경우 혈중 콜레스테롤 함량이 높은 사람들에게 혈중 총콜레스테롤 함량 감소 효과를 나타냄을 보고하였다. Fuentes 등(20)의 인체적용 연구는 *L. plantarum* CECT 7527, 7528과 7529 혼합물의 고지혈증 개선에 활용 가능성을 제시하나 단일 투여 용량에 대해 연구되었고 혈액 내 지질 함량만이 평가되었으므로 이를 고지혈증 개선에 적용하기 위해서는 그 효과를 뒷받침할 수 있는 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 고지방식이 투여로 비만 및 고지혈증을 유도한 동물에서 *L. plantarum* CECT 7527, 7528과 7529가 동일한 비율로 혼합된 혼합물(*L. plantarum* 혼합물)이 비만 및 고지혈증에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

시료

본 연구에서 사용한 *L. plantarum* 혼합물은 *L. plantarum* CECT 7527, 7528, 7529가 동일한 비율로 혼합되어 있는 혼합물로 SACCO srl.(Cadorago, Italy)에서 제공받아 실험에 사용하였다.

실험동물 사육 및 시료 투여

특정병원체가 없는 5주령, 수컷 Sprague-Dawley(SD) rat을 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험동물은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10~15회/시간, 조명시간 12시간(08:00~20:00), 조도 150~300 Lux로 설정된 사육환경에서 사육하였다. 1주간의 적응기간 동안 실험동물은 실험동물용 고형사료(Cargil Agri Purina, Inc., Seongnam, Korea)와 음수를 자유 섭취하도록 하였다. 1주일간의 적응과정을 거친 뒤 체중 감소 없는 건강한 동물을 선별하여 난괴법에 의거하여 대조군, 저용량(0.6×10^9 CFU/day) 투여군, 중용량(1.2×10^9 CFU/day) 투여군, 고용량(2.4×10^9 CFU/day) 투여군으로 분류하였고, 각 실험군당 10마리의 실험동물을 사용하였다. 비만 및 고지혈 증상을 유도하기 위해 실험기간 동안 실험동물에게는 고지방식이[에너지 비율(kcal%); 단백질 : 탄수화물 : 지방=20:20:60, Research Diets, Inc., New Brunswick, NJ, USA]를 공급하였고, 사료와 음수는 자유로이 섭취할 수 있게 하였다. 고지방식이에 의한 고지혈 증상을 확인하기 위해 5마리의 건강한 실험동물을 실험군과 같은 조건에서 대조식이[에너지 비율(kcal%); 단백질 : 탄수화물 : 지방=20:70:10, Research Diets, Inc.]를 공급하여 사육하였고 실험 종료 전에 혈액을 취해 혈청 지질 함량을 측정하여 고지방식이에 의한 고지혈 유도 여부를 확인하였다. *L. plantarum* 혼합물은 멸균 생리식염수에 녹여 일정한 시간에 8주 동안 1일 1회 경구 투여하였다. 실험기간 동안 실험동물의 체중은 주 1회 일정한 시간에 측정하였고, 식이섭취량은 2일 간격으로 측정하였다. 본 연구에서의 모든 동물실험은 한림대학교 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다(Hallym 2013-89).

채혈 및 장기 무게 측정

실험동물을 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후 Avertin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하여 마취하고 개복하여 심장에서 채혈하였다. 혈액은 serum separate tube(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에 담아 30분간 실온에서 방치하고 3,000 rpm으로 실온에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였으며 수집된 혈청은 test tube에 모아 분석 전까지 -70°C에 보관하였다. 혈액 채취 후 즉시 간과 부고환지방을 적출하고 차가운 생리식염수에 세척한 후 여과지로 여분의 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다. 채취한 간은 액체질소로 급속 냉동시킨 후 -70°C에 보관하였다.

혈중 지질 및 혈당 분석

혈액생화학분석기(Konelab 20XT, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 혈청 내의 총콜레스테롤, LDL(low density lipoprotein)-콜레스테롤, HDL(high density lipoprotein)-콜레스테롤, 중성지방 및 혈당을 측정하였다.

심혈관계질환의 위험도 판정에 사용되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)와 심장질환지수(cardiac risk factor, CRF)는 아래와 같은 식으로 산출하였다(21).

$$AI=\frac{\text{Total cholesterol}-\text{HDL-cholesterol}}{\text{HDL-cholesterol}}$$

$$CRF=\frac{\text{Total cholesterol}}{\text{HDL-cholesterol}}$$

혈청 렙틴 함량 분석

혈청 중 렙틴 함량은 ELISA kit(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)을 사용하여 제조회사에서 제시한 방법에 따라 측정하였다.

간조직 내 지질 분석

간조직 내의 지질은 Folch 등(22)의 방법으로 추출하였다. 즉 1 g의 간조직을 saline 3 mL에 넣고 균질화시킨 후

CM solution(chloroform : methanol=2:1)을 9 mL 넣고 균질화하였다. 균질액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하고 아래층을 취하여 증발시켜 지질을 얻었으며 정밀저울을 사용하여 총지질량을 측정하였다. 간조직 내의 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 추출하여 얻은 총 지질에 iso-propanol을 넣어 녹인 후 효소법을 이용한 측정 kit(Asan Parmaceutical, Seoul, Korea)을 사용하여 제조회사에서 제시한 방법에 따라 측정하였다.

통계처리

본 연구의 모든 분석 수치는 mean±SEM으로 나타내었다. 수집된 결과는 SAS(Statistical Analysis System) Window v. 9.1 프로그램(SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 통계 분석하였으며, 각 실험군의 평균치 간에 α=0.05 수준에서 analysis of variance와 Duncan's multiple range test에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

체중 변화 및 식이효율에 미치는 영향

*L. plantarum*은 종에 따라 다양한 특성을 나타낸다. *L. plantarum* No.14(14), *L. plantarum* PL62(15) 및 *L. plantarum* LG42(16)는 고지방식이에 의한 체중 증가를 감소하여 항비만 효과가 있음이 보고되고 있다. 반면 *L. plantarum* Lp91과 Lp21(17), *L. plantarum* LS/07과 Biocenol LP96(18) 및 *L. plantarum* OLL2712(23)는 체중 감소 효과를 나타내지 않았다. *L. plantarum* 혼합물의 항비만 효과를 조사하기 위해 고지방식이를 급여하여 비만을 유도한 흰쥐의 체중에 미치는 영향을 조사하였다. 흰쥐에 고지방식이를 급여하며 다양한 용량(0 CFU/day, 0.6×10^9 CFU/day, 1.2×10^9 CFU/day, 2.4×10^9 CFU/day)의 *L. plantarum* 혼합물을 8주간 경구 투여하였고, 체중 및 식이섭취량을 조사하여 Table 1에 나타내었다. 흰쥐의 초기 체중은 실험군 간 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 초기 체중이 208.8±2.6 g이었던 흰쥐에게 고지방식이를 급여하여 8주 사육한 경우 최종 체중이 610.0±9.0 g이 되었고, 일일 체중 증가량이 7.2±0.2 g이었다. 고용량으로 *L. plantarum* 혼합물을 투여한 경우 최종 체중 및 일일 체중 증가량이 유의적으로 감소하였으며, *L. plantarum* 혼합물 고용량 투여군의 일일 체중 증가량은 *L. plantarum* 혼합물을 투여하지 않은 대조군에 비해 13.9% 감소하였다(Table 1). 이는 *L. plantarum* 혼합물이 항비만 효과가 있음을 나타낸다.

L. plantarum 혼합물 저용량 투여군과 중용량 투여군의 식이섭취량은 감소하는 경향을 나타냈으나 대조군과 유의적인 차이가 없었고, *L. plantarum* 혼합물 고용량 투여군의 식이섭취량은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 식이효율은 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 변화하지 않았다(Table 1). 몇몇 연구는 활생균(probiotic) 투여가 식욕 및 포만감을 조절하는 장 내 호르몬에 영향을 미쳐 에너지 섭취를 감소하고 체중 증가를 감소한다고 보고하였다(24). 본 연구를 통해 *L. plantarum* 혼합물의 식이섭취량 감소 기전을 알 수 없으나 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의한 식이섭취량 감소로 에너지 섭취가 감소하여 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의한 체중 감소에 영향을 미쳤음을 알 수 있다.

장기 무게에 미치는 영향

고지방식이 급여는 흰쥐의 간과 부고환지방의 무게를 현저히 증가시킨다(25). 장기간의 고지방식이 섭취는 혈액으로 지방의 유입을 증가시켜 간에 지방의 축척을 유도하며(26), 고지방식이는 당대사에 불균형을 초래하고 이로 인해 포도당의 유입이 증가하여 간이 비대하게 된다(27). 부고환지방은 체내 잉여에너지를 지방으로 저장된 백색지방이며(28), 흰쥐에서 내장비만의 주요한 지표로 혈중 지질 함량 등 대사적 변화를 초래한다(29). 고지방식이 급여에 의해 증가한 간과 부고환지방 무게에 *L. plantarum* 혼합물이 미치는 영향을 조사하기 위해 간과 부고환지방을 적출하여 무게를 측정하였다. 간의 무게는 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 유의적으로 감소하였고, 고용량의 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 부고환지방의 무게는 현저히 감소하였다. *L. plantarum* 혼합물 고용량 투여군의 간과 부고환지방의 무게는 대조군에 비해 각각 21.5%, 19.6% 감소하였다(Table 2). *L. plantarum* 혼합물에 의한 간과 부고환지방 무게의 감소는 *L. plantarum* 혼합물이 항비만 효과가 있음을 나타낸다.

Table 1. Effect of a mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (M-*LP*) on body weight gain, food intake, food efficiency ratio (FER) in rats fed a high-fat diet

M-*LP* (CFU/day)	M-*LP*-Vehicle 0	M-*LP*-Low 0.6×10^9	M-*LP*-Medium 1.2×10^9	M-*LP*-High 2.4×10^9
Initial body weight (g)	208.8±2.6	207.5±2.8	210.6±2.9	207.7±2.9
Final body weight (g)	610.0±9.0[a]	580.7±16.4[ab]	586.8±8.9[ab]	555.4±13.7[b]
Body weight gain (g/day)	7.2±0.2[a]	6.7±0.3[ab]	6.7±0.3[ab]	6.2±0.3[b]
Food intake (g/day)	20.0±0.3[a]	19.9±0.4[a]	19.6±0.5[a]	18.2±0.4[b]
FER[1)]	0.36±0.01	0.34±0.02	0.35±0.01	0.35±0.02

Values are expressed as the means±SEM (n=10). Means without a common letter differ significantly at $P<0.05$.
[1)]FER (food efficiency ratio)=body weight gain (g)/ food intake (g).

Table 2. Effect of a mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (M-*LP*) on organs weight in rats fed a high-fat diet

M-*LP* (CFU/day)	M-*LP*-Vehicle 0	M-*LP*-Low 0.6×10^9	M-*LP*-Medium 1.2×10^9	M-*LP*-High 2.4×10^9
Liver weight (g)	16.55±0.69[a]	14.06±0.55[b]	14.10±0.63[b]	13.00±0.46[b]
Epididymal fat weight (g)	16.98±1.15[a]	14.90±0.61[ab]	14.71±0.55[ab]	13.65±0.75[b]

Values are expressed as the means±SEM (n=10). Means without a common letter differ significantly at $P<0.05$.

혈청 지질 함량 및 동맥경화지수와 심혈관위험지수에 미치는 영향

비만에서는 지방대사와 당대사의 이상으로 인하여 이상지혈증이 흔히 동반된다. Lee 등(30)과 Jang과 Choi(31)는 고지방식이에 의해 비만이 유도된 흰쥐에서 혈중 중성지방과 콜레스테롤은 증가하고 HDL-콜레스테롤이 감소하였다고 보고하였다. 고지방식이에 의한 고지혈 유도 여부를 판단하기 위해 대조식이를 섭취한 동물의 혈청 내의 중성지방과 총콜레스테롤 함량을 측정하였고 혈청 내의 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 각각 68.06±13.85 mg/dL와 74.93±5.44 mg/dL였다(data not shown). 고지방식이를 섭취한 동물의 혈청 내의 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 71.64±4.92 mg/dL와 83.99±3.13 mg/dL였다(Table 3). 이는 고지방식이 섭취에 의해 고콜레스테롤혈증이 유도됨을 나타낸다. Table 3에 나타난 바와 같이 *L. plantarum* 혼합물은 혈청 중성지방 함량과 HDL-콜레스테롤 함량에는 영향을 미치지 않았다. 또한 혈당의 함량도 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 변하지 않았다. 반면 중용량과 고용량의 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 혈청 총콜레스테롤 함량은 유의적으로 감소하였고, LDL-콜레스테롤 함량은 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 현저히 감소하였다. 고용량의 *L. plantarum* 혼합물 투여군의 혈청 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 함량은 각각 대조군에 비해 26.0%, 26.7% 감소하였다(Table 3). 항비만 효과를 나타냈던 *L. plantarum* PL62(15)와 *L. plantarum* LG42(16)는 혈중 중성지방 함량을 유의적으로 낮추었으나 혈청 콜레스테롤 함량에는 영향을 미치지 않았다. *L. plantarum* LS/07과 Biocenol LP96(18)은 혈청 총콜레스테롤 함량은 감소하였으나 LDL-콜레스테롤의 함량에는 영향을 미치지 않았다. Kumar 등(17)은 *L. plantarum* Lp91과 Lp21이 혈청 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 함량을 감소하였다고 보고하였고, 고콜레스테롤혈증 개선 효과가 있는 활생균(probiotic)임을 제시하였다. 본 연구 결과는 *L. plantarum* 혼합물이 혈청 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 함량을 감소하여 고콜레스테롤혈증 개선 효과를 나타낼 수 있음을 제시한다.

위에서 얻은 혈중 지질 함량 결과를 계산하여 동맥경화지수와 심혈관위험지수를 구해 Table 4에 나타내었다. 동맥경화지수는 체내 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지질의 농도를 대표하는 값으로 임상에서 3.0 이상의 값을 나타낼 때 동맥경화에 대한 위험 신호로서 사용하고 있다(32). HDL-콜레스테롤에 대한 총콜레스테롤의 농도를 나타내는 값인 심혈관위험지수는 동맥경화지수와 같게 심혈관계 질환에 대한 위험 신호로 사용되고 있으며, 임상에서 7.0 이상인 경우 위험 상태로 판단된다(33). *L. plantarum* 혼합물을 투여한 경우 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 유의적으로 감소하였다. 특히 고용량의 *L. plantarum* 혼합물 투여군의 동맥경

Table 3. Effect of a mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (M-*LP*) on serum lipid profiles and glucose in rats fed a high-fat diet

M-*LP* (CFU/day)	M-*LP*-Vehicle 0	M-*LP*-Low 0.6×10^9	M-*LP*-Medium 1.2×10^9	M-*LP*-High 2.4×10^9
Triglyceride (mg/dL)	71.64±4.92	67.18±6.29	65.73±5.40	71.44±3.30
Total cholesterol (mg/dL)	83.99±3.13[a]	75.22±3.57[ab]	73.91±2.53[b]	62.41±3.00[c]
HDL-cholesterol (mg/dL)	29.61±1.74	30.17±1.37	30.53±1.47	31.23±1.27
LDL-cholesterol (mg/dL)	8.27±0.67[a]	6.48±0.36[b]	6.32±0.25[b]	6.06±0.27[b]
Glucose (mg/dL)	167.50±8.34	164.04±9.19	166.95±5.26	173.67±6.23

Values are expressed as the means±SEM (n=10). Means without a common letter differ significantly at $P<0.05$.

Table 4. Effect of a mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (M-*LP*) on atherogenic index (AI) and cardiac risk factor (CRF) in rats fed a high-fat diet

M-*LP* (CFU/day)	M-*LP*-Vehicle 0	M-*LP*-Low 0.6×10^9	M-*LP*-Medium 1.2×10^9	M-*LP*-High 2.4×0^9
AI[1)]	1.91±0.19[a]	1.50±0.04[b]	1.48±0.15[b]	1.02±0.12[c]
CRF[2)]	2.91±0.19[a]	2.50±0.04[b]	2.48±0.15[b]	2.02±0.12[c]

Values are expressed as the means±SEM (n=10). Means without a common letter differ significantly at $P<0.05$.
[1)]AI (atherogenic index)=(total cholesterol－HDL-cholesterol)/ HDL-cholesterol.
[2)]CRE (cardiac risk factor)=total cholesterol/ HDL-cholesterol.

Table 5. Effect of a mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (M-*LP*) on hepatic lipid profiles in rats fed a high-fat diet

M-*LP* (CFU/day)	M-*LP*-Vehicle 0	M-*LP*-Low 0.6×10^9	M-*LP*-Medium 1.2×0^9	M-*LP*-High 2.4×10^9
Total lipid (mg/g liver)	142.23±13.55[a]	132.64±8.14[ab]	111.33±8.29[b]	109.26±8.20[b]
Triglyceride (mg/g liver)	5.22±0.24[a]	4.73±0.25[ab]	4.40±0.29[b]	4.39±0.26[b]
Total cholesterol (mg/g liver)	0.95±0.01[a]	0.91±0.03[ab]	0.90±0.02[ab]	0.87±0.02[b]

Values are expressed as the means±SEM (n=10). Means without a common letter differ significantly at $P<0.05$.

화지수와 심혈관위험지수는 대조군에 비해 각각 46.6%, 30.6% 감소하였다(Table 4). 이는 *L. plantarum* 혼합물이 고지혈증, 고혈압 및 심혈관 질환의 위험 감소에 도움을 줄 수 있음을 제시한다.

고콜레스테롤혈증을 나타내는 사람들에게 실시한 인체적용 연구에서는 본 연구에서 사용한 동일한 *L. plantarum* 혼합물을 1.2×10^9 CFU 용량으로 12주 동안 섭취 시 혈중 콜레스테롤 함량이 감소하였다(20). 본 연구에서 *L. plantarum* 혼합물을 1.2×10^9 CFU 용량으로 8주 투여 시 인체적용 연구의 결과와 같이 혈중 콜레스테롤 함량이 감소하였다. 또한 투여 용량을 2.4×10^9 CFU로 증가한 경우 혈중 콜레스테롤 함량 감소뿐만 아니라 체중 감소 및 간과 지방의 무게 감소 효과를 나타내었다(Table 1, 2). 본 동물실험 결과는 인체에서 투여 용량을 증가할 시 고콜레스테롤혈증 개선 효과와 더불어 항비만 효과를 나타낼 수 있음을 제시한다.

간조직 지질 함량에 미치는 영향

간은 중성지방과 콜레스테롤의 주요 생합성 장소이고 대사가 이루어지는 장소이다. 간에서 합성된 중성지방 등의 지질성분이 정상적으로 대사되지 않는 경우 축적되어 지방간이 유발된다(34). 특히 고지방식이 섭취 시 혈액 내 유리지방산 수준이 증가하여 간으로의 유리지방산의 유입이 증가하게 되고 간에서의 중성지방 합성이 증가되어 간에 중성지방이 축적되며 이는 비만과 대사증후군을 초래한다(26). 또한 고지방식이 섭취 시 혈중 중성지방의 농도가 상승하게 되어 간에서 중성지방의 운반을 담당하는 very low-density lipoprotein(VLDL)의 생성이 증가하고 VLDL로부터 전환된 LDL이 증가하게 된다. 간에서 증가된 LDL을 제거하는 과정에서 간 조직 내의 총콜레스테롤이 증가한다(35). *L. plantarum* 혼합물 투여가 간조직 지방 함량에 미치는 영향을 조사하여 Table 5에 나타내었다. 간조직 내의 총 지질 함량은 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 현저히 감소하였다. *L. plantarum* 혼합물 투여한 경우 간조직 내의 중성지방 함량과 총콜레스테롤 함량이 감소하였다. 간조직 내의 중성지방 함량은 고용량의 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 15.9% 감소하였고, 고용량의 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 간조직 내의 총콜레스테롤 함량은 8.4% 감소하였다. Salaj 등(18)은 *L. plantarum* LS/07과 Biocenol LP96이 혈청 총콜레스테롤 함량은 감소하였으나 간조직 내의 지질 함량에는 영향을 미치지 않음을 보고하였다. *L. plantarum* LG42(16)는 혈중 중성지방 함량과 간조직 내의 중성지방을 감소하였다. 이 결과들은 *L. plantarum* 혼합물이 다른 *L. plantarum*에 비해 더 효과적으로 지질 대사를 개선할 수 있음을 보여준다.

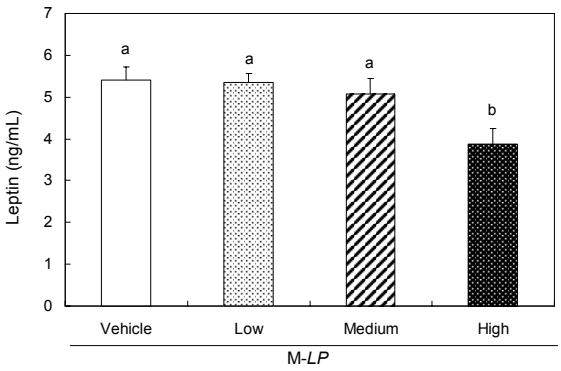

Fig. 1. Effect of a mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (M-*LP*) on serum leptin levels in rats fed a high-fat diet. The mice were treated with a mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528, and 7529 (M-*LP*) as described in Materials and Methods. Blood samples were collected from the mice at the time of sacrifice, and the sera were prepared. Serum levels of leptin were measured with a leptin ELISA kit. Each bar represents as the mean±SEM (n=10). Means without a common letter differ significantly at $P<0.05$.

혈청 렙틴 함량에 미치는 영향

지방조직에서 분비되는 호르몬인 렙틴은 에너지 과잉 섭취할 경우 식욕억제를 위해 생성이 증가한다. 혈청 렙틴의 양은 체중 및 체지방과 양의 상관관계가 있고(36), 비만인 경우 고렙틴혈증이 특징적으로 나타나고 이로 인해 렙틴 저항성(leptin resistance)이 유발된다(37). Fig. 1에 나타난 바와 같이 고지방식이만을 8주 동안 섭취한 흰쥐의 혈청 렙틴 함량은 5.4±0.3 ng/mL로 고렙틴혈증을 나타냈다. 저용량과 중용량의 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 혈청 렙틴 함량은 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 고용량 *L. plantarum* 혼합물 투여군의 혈청 렙틴 함량은 현저히 감소하였고, 이는 *L. plantarum* 혼합물이 고렙틴혈증 개선 효과가 있음을 보여준다.

요 약

본 연구에서는 고지방식이 투여로 비만 및 고지혈증을 유도

한 동물에서 *L. plantarum* CECT 7527, 7528과 7529 혼합물이 비만 및 고지혈증에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 흰쥐에 8주 동안 고지방식이를 급여하면서 *L. plantarum* 혼합물을 0.6~2.4×10^9 CFU/day를 경구 투여하였고 동물을 희생하여 혈청 및 간조직 내의 지질 함량을 조사하였다. *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 체중증가량, 간과 부고환 지방 무게가 현저히 감소하였다. 또한 비만과 관련 있는 호르몬인 혈청 렙틴의 함량이 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 감소하였다. *L. plantarum* 혼합물 투여가 혈청 중성지방과 HDL-콜레스테롤 함량 및 혈당에는 영향을 미치지 않았으나 혈청 총콜레스테롤 함량 및 LDL-콜레스테롤 함량을 현저히 감소하였다. 이와 더불어 *L. plantarum* 혼합물 투여가 동맥경화지수와 심혈관위험지수를 유의적으로 감소하였다. 간조직 내의 총 지질 함량, 중성지방 함량 및 총콜레스테롤 함량은 *L. plantarum* 혼합물 투여에 의해 유의적으로 감소하였다. 이상의 결과는 *L. plantarum* CECT 7527, 7528과 7529가 혼합된 *L. plantarum* 혼합물이 체지방 감소 및 고지혈증 개선 효과를 나타냄을 보여준다. 향후 더 많은 연구가 필요하나 본 연구는 *L. plantarum* 혼합물을 비만 및 고지혈증 개선제로 개발할 수 있는 가능성을 제시한다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 산업통상자원부 지역혁신센터사업(한림대학교 식의약품의 효능평가 및 기능성소재개발센터)과 한올바이오파마 주식회사의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Ministry of Health and Welfare. 2013. *Korea Health Statistics 2012: Korea National Health and Nutrition Examination Survey*. Seoul, Korea. p 44-47.
2. Lee JH. 1992. Treatment of obesity. *Korean J Obes* 1: 21-24.
3. Yum KS. 2001. Orlistat (XenicalR). *Korean J Obes* 10: 25-36.
4. Zhang L, McCabe T, Condra JH, Ni YG, Peterson LB, Wang W, Stack AM, Wang F, Pandit S, Hammond H, Wood D, Lewis D, Rosa R, Mendoza V, Cumiskey AM, Johns DG, Hansen BC, Shen X, Geoghagen N, Jensen K, Zhu L, Wietecha K, Wisniewski D, Huang L, Zhao JZ, Ernst R, Hampton R, Haytko P, Ansbro F, Chilewski S, Chin J, Mitnaul LJ, Pellacani A, Sparrow CP, An Z, Strohl W, Hubbard B, Plump AS, Blom D, Sitlani A. 2012. An anti-PCSK9 antibody reduces LDL-cholesterol on top of a statin and suppresses hepatocyte SREBP-regulated genes. *Int J Biol Sci* 8: 310-327.
5. Cha SD, Yu JW, Kim TW, Cho HS, Lee DH. 2012. Effects of *Lactobacillus plantarum* CIB 001 on lipid metabolism of hypercholesterolemic rats. *Korean J Food Sci Technol* 44: 324-330.
6. Rolfe RD. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 130: 396S-402S.
7. Adolfsson O, Meydani SN, Russell RM. 2004. Yogurt and gut function. *Am J Clin Nutr* 80: 245-256.
8. Kwon HK, Lee CG, So JS, Chae CS, Hwang JS, Sahoo A, Nam JH, Rhee JH, Hwang KC, Im SY. 2010. Generation of regulatory dendritic cells and $CD4^+Foxp3^+$ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 2159-2164.
9. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Perdigon G. 2007. The application of probiotics in cancer. *Br J Nutr* 98: S105-S110.
10. Arora T, Anastasovska J, Gibson G, Tuohy K, Sharma RK, Bell J, Frost G. 2012. Effect of *Lactobacillus acidophilus* NCDC 13 supplementation on the progression of obesity in diet-induced obese mice. *Br J Nutr* 108: 1382-1389.
11. Bhathena J, Martoni C, Kulamarva A, Urbanska AM, Malhotra M, Prakash S. 2009. Orally delivered microencapsulated live probiotic formulation lowers serum lipids in hypercholesterolemic hamsters. *J Med Food* 12: 310-319.
12. Kim DW, Yang DH, Ki SY, Kim KS, Chung MG, Kang SM. 2009. Hypocholesterolemic effect of lyphilized, heat-killed *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus plantarum*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 37: 69-74.
13. Lim MY, Chen TW. 2000. Reduction of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus* in culture broth. *J Food Drug Anal* 8: 113-118.
14. Takemura N, Okubo T, Sonoyama K. 2010. *Lactobacillus plantarum* strain No. 14 reduces adipocyte size in mice fed high-fat diet. *Exp Biol Med* 235: 849-856.
15. Lee K, Paek K, Lee HY, Park JH, Lee Y. 2007. Antiobesity effect of trans-10,cis-12-conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus plantarum* PL62 on diet-induced obese mice. *J Appl Microbiol* 103: 1140-1146.
16. Park JE, Oh SH, Cha YS. 2013. *Lactobacillus plantarum* LG42 isolated from gajami sik-hae decreases body and fat pad weights in diet-induced obese mice. *J Appl Microbiol* 116: 145-156.
17. Kumar R, Grover S, Batish VK. 2011. Hypocholesterolaemic effect of dietary inclusion of two putative probiotic bile salt hydrolase-producing *Lactobacillus plantarum* strains in Sprague-Dawley rats. *Br J Nutr* 105: 561-573.
18. Salaj R, Stofilova J, Soltesova A, Hertelyva Z, Hijova E, Bertkova I, Strojny L, Kruzliak P, Bomba A. 2013. The effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on rat lipid metabolism receiving a high fat diet. *Sci World J* 2013: 135142.
19. Bosch M, Fuentes MC, Audivert S, Bonachera MA, Peiro S, Cune J. 2014. *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529: probiotic acndidates to reduce cholesterol levels. *J Sci Food Agric* 94: 803-809.
20. Fuentes MC, Lajo T, Carrion JM, Cune J. 2013. Cholesterol-lowing efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults. *Br J Nutr* 109: 1866-1872.
21. Park YS. 2010. Antioxidant effects and improvement of lipid metabolism of *Acanthopanacis cortex* water extract in rats fed high fat diet. *J East Asian Soc Dietary Life* 20: 37-45.
22. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
23. Sakai T, Taki T, Nakamoto A, Shuto E, Tshtsumi R, Toshimitsu T, Makino S, Ikegami S. 2013. *Lactobacillus plantarum* OLL2712 regulates glucose metabolism in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 59: 144-147.
24. Ruxton C. 2012. Prebiotic effects on health and weight management. *Agro Food Ind Hi-Tech* 23: 30-32.
25. Handjieva-Daelenska T, Boyajieva N. 2009. The effect of

high-fat diet on plasma ghrelin and leptin levels in rats. *J Physiol Biochem* 65: 157-164.
26. Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Scholmerich J, Bollheimer LC. 2006. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol* 36: 485-501.
27. Gregoire FM, Zhang Q, Smith SJ, Tong C, Ross D, Lopez H, West DB. 2002. Diet-induced obesity and hepatic gene expression alterations in C57BL/6J and ICAM-1-deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282: E703-E713.
28. Avram AS, Avram MM, James WD. 2005. Subcutaneous fat in normal and diseased status: 2. Anatomy and phusiology of white and brown adipose tissue. *J Am Acad Dermatol* 53: 671-683.
29. Handjieva-Daelenska T, Boyajieva N. 2007. Changes in the metabolic parameters in experimental nutritional model of obesity. *Compt Rend Acad Bulg Sci* 60: 701-704.
30. Lee JS, Lee MK, Ha TY, Bok SH, Park HM, Jeong KS, Woo MN, Do GM, Yeo JY, Choi MS. 2006. Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rat fed high-fat diet. *Food Chem Toxicol* 44: 1875-1883.
31. Jang JY, Choi HY. 2003. Effects of *Artemisia iwayomogi* oligosaccharide on the blood lipids, abdominal adipose tissues and leptin levels in the obese rats. *Korean J Nutr* 29: 274-279.
32. Rosenfield L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med* 113: 1101-1110.
33. Yun YP, Kang WS, Lee MY. 1996. The antithrombotic effects of green tea catechins. *J Food Hyg Safety* 11: 77-82.
34. Schaefer EJ. 1995. Lipoproteins, nutrition, aging, and atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 61: 726-740.
35. Lee SI, Lee YK, Kim SD, Lee IA, Choi J, Suh JW. 2013. Dietary effects of fermented soybean curd residue (Biji) on body weight, serum lipid profiles, and antioxidtion-related enzymes activity of mice fed a high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1043-1053.
36. Havel PJ, Kasim KS, Mueller W, Johnson PR, Gingerich RL, Stem JS. 1996. 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.
37. Lin S, Thomas T, Storlien L, Huang X. 2000. Development of high-fat-induced obesity and leptin resistance in C57BL/6J mice. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24: 639-646.