

## 고지방/고콜레스테롤 식이를 섭취한 마우스에서 자색고구마 열수추출물 보충이 지방간 저항성에 미치는 영향\*

이유진<sup>1</sup> · 양윤경<sup>2</sup> · 김유진<sup>1</sup> · 권오란<sup>1†</sup>

이화여자대학교 식품영양학과,<sup>1</sup> 숭의여자대학교 식품영양과<sup>2</sup>

## Effects of an aqueous extract of purple sweet potato on nonalcoholic fatty liver in high fat/cholesterol-fed mice\*

Lee, You Jin<sup>1</sup> · Yang, Yoon Kyoung<sup>2</sup> · Kim, You Jin<sup>1</sup> · Kwon, Oran<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutritional Science and Food Management, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

<sup>2</sup>Department of Nutritional Science and Food Management, Soongeui Women's College, Seoul 100-751, Korea

### ABSTRACT

**Purpose:** Anthocyanins from purple sweet potato (PSP) have been investigated in vitro and in animals and found to have a protective effect against oxidative hepatic damage. In this study, we investigated that aqueous extract of PSP can ameliorate the dysfunction of lipid metabolism in mice fed a high fat/cholesterol diet. **Methods:** Forty C57BL/6J mice were randomly divided into 5 groups (n = 8) and fed one of the following diets for 8 weeks; normal fat (NF) diet; high fat/cholesterol (HFC) diet; HFC with 1.25% PSP (HFPL) diet; HFC with 2.5% PSP (HFPM) diet; HFC with 5% PSP (HFPH) diet.

**Results:** Non-alcoholic fatty liver was manifested in the HFC group by showing increased levels in plasma alanine aminotransferase (ALT) activity, total cholesterol (TC) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), increased level of TC and presence of many large lipid droplets in the liver, and increased fat cell size in the HFC group compared with the NF group. However, administration of HFC induced a significant decrease in food intake, resulting in decrease in fat mass. Co-administration of PSP did not lead to reversal of body weight changes, ALT activity, and lipid levels in plasma and the liver, but suppressed excess enlargement of the fat cell size through increasing carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1) gene expression in the liver. Accordingly, the number of fat droplets in the liver was reduced in PSP administered groups.

**Conclusion:** Taken together, these results suggest that PSP may have a protective effect on the dysfunction of lipid metabolism. Conduct of further studies on the coordinated regulation of PSP for lipid metabolic homeostasis at the liver-adipose tissue axis is needed.

**KEY WORDS:** purple sweet potato, aqueous extract, high fat/cholesterol diet, non-alcoholic fatty liver

### 서 론

지방간은 비정상적으로 많은 지방 (> 5%)이 간에 축적된 상태로, 과도한 알코올 섭취, 당뇨병, 고지혈증 및 비만이 주요 위험 요인이나 알코올 섭취 없이도 동물성 지방을 과도하게 섭취하고 운동량이 감소한 경우 비알코올성 지방간이 유도될 수 있다.<sup>1,2</sup> 2012년 식품의약품안전처 조사연구에 따

르면 우리나라 성인의 비알코올성 지방간 유병률은 2004년 11.5%에서 2010년 23.6%로 가파른 증가세를 보이고 있다.<sup>3</sup>

다양한 과일, 곡류, 채소에 널리 함유되어 있는 안토시아닌은 수용성 플라보노이드계 화합물로 강한 항산화능을 바탕으로 항염증, 산화스트레스 감소와 세포사멸에 대한 보호 효과를 가지고 있다고 알려져 있다.<sup>4,7</sup> 최근 기능성식품 소재로 많은 관심이 집중되고 있는 자색고구마는 비타

Received: November 12, 2014 / Revised: December 14, 2014 / Accepted: January 28, 2015

\*This study was performed with the support of the Food Functionality Evaluation Program funded by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs through Korea Food Research Institute and "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project title: Research on New Functional Food Materials with Domestic Agricultural Products, Project No. PJ00845002)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

†To whom correspondence should be addressed.

tel: +82-2-3277-6860, e-mail: orank@ewha.ac.kr

© 2015 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

민, 무기질, 식이섬유, 베타카로틴뿐 아니라 안토시아닌 함량이 높은 것으로 알려져 있다. 또한 자색고구마에 함유된 안토시아닌은 동일한 함량의 딸기, 적양배추, 들깨 유래 안토시아닌에 비해 안전성이 높다는 보고도 있다.<sup>8</sup> Han 등<sup>9</sup> 및 Sakatani 등<sup>10</sup>은 자색고구마를 메탄올로 추출하여 안토시아닌의 함량을 200 mg/kg bw까지 높인 후 항산화능을 밝힌 바 있다. Hwang 등<sup>11,12</sup>은 자색고구마의 간 손상 억제 기능을 보고하였는데, 이들도 역시 C-18 Sep-Pak을 사용하여 분리한 안토시아닌 분획을 시험물질로 사용하였다. 작용기전으로는 nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf-2) 발현 증가와 동시에 cyclooxygenase 2 (COX-2)와 inducible nitric oxide synthase (iNOS) 발현 억제를 제안하였다. 이들은 동일한 시험물질을 HepG2 세포와 비만 동물에 적용하여 자색고구마의 간 지질 축적 억제 기능을 보고하였으며, 이때에는 adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway 활성화를 기전으로 제안하였다.

이러한 사전 연구 결과는 자색고구마에 함유된 안토시아닌의 항산화, 간보호 기능을 뒷받침할 수 있지만, 실제로 이러한 방법으로 제조된 안토시아닌은 생산율이 2.5% 이하로 매우 낮고 용매 잔류 등의 문제가 있으므로 기능성식품으로 사용에 제한을 준다. 따라서 본 연구에서는 생산율을 높일 뿐 아니라 안토시아닌 이외에 자색고구마에 함유된 chlorogenic acid, caffeic acid 등 다양한 phytochemical<sup>15</sup>을 함유한 기능성식품 원료를 개발하기 위한 목적으로 자색고구마의 열수추출물의 간손상 보호 효과를 시험하였다. 이를 위해 고지방/콜레스테롤 식이로 비알콜성 지방간을 유도한 동물모델을 사용하여 간 조직의 지방축적 및 대사 개선 효과를 알아보았다.

## 연구방법

### 시험물질

시험물질인 자색고구마 열수 추출물 (PSP)은 재단법인 전라남도 생물산업진흥재단에서 공급받았다. 자색고구마는 세척하고 조각내어 95~100°C 끓는 물에서 90분간 추출하고, 15~30°C에서 냉각하여 여과하였다. 여과물은 15,000 g에서 원심분리하여, 20 Brix로 농축하여 진공 데시케이터에서 건조하였다. PSP의 영양성분은 100 g당 탄수화물 83.93 g, 조회분 4.50 g, 조단백 3.78 g, 조지방 0.01 g, 수분 6.45 g이며, 총 안토시아닌 함량은 1.32 g로 표준화하였다.

### 실험동물 및 식이

5주령의 수컷 C57BL/6 마우스 (Orient Bio, Daejeon,

Korea)를 공급받아 7일간 물과 표준식이 (5L79 Purina rat & mouse 18% chow, Charles River Laboratories Inc. Wilmington, MA)를 자유롭게 공급하며 적응시켰다. 적응기간 후 난괴법으로 8마리씩 5군으로 분류하였다. 정상대조군 (normal fat; NF)은 AIN 73A diet을 공급하였고, 고지방/콜레스테롤 시험군은 각각 자색고구마 함량에 따라 실험대조군 (high fat/cholesterol control, HFC), 저용량군 (HFC + 1.25% PSP, HFPL), 중용량군 (HFC + 2.5% PSP, HFPM) 및 고용량군 (HFC + 5% PSP, HFPH)으로 나누어서 8주간 공급하였다. 실험 식이 조성은 Table 1과 같다. 실험실의 사육조건은 온도 22~24°C, 습도 45 ± 5%, 조명 12시간 명암 (6:00~18:00/18:00~6:00)로 항상 유지시켰다. 본 연구는 이화여자대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 수행하였다 (IACUC No. 2013-01-082).

### 체중, 식이 섭취량, 혈액 및 장기 채취

체중은 일주일에 2번 일정한 시간에 측정하였고, 식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하여 평균 섭취량을 계산하

**Table 1.** Composition of experimental diets<sup>1)</sup> (Unit: g/kg diet)

Ingredients	Group	High-fat/cholesterol diet			
		NF	HFC	HFPL	HFPM
Cornstarch	150	150	150	150	150
Sucrose	500	337	324.5	312	287
Casein	200	200	200	200	200
Corn oil	50	30	30	30	30
Lard	0	170	170	170	170
Cholesterol	0	10	10	10	10
Sodium cholate	0	3	3	3	3
Cellulose	50	50	50	50	50
Mineral mix#200000 <sup>2)</sup>	35	35	35	35	35
Vitamin mix#300050 <sup>3)</sup>	10	10	10	10	10
DL-Methionine	3	3	3	3	3
Choline Bitrate	2	2	2	2	2
Purple sweet potato	0	0	12.5	25	50
Total	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Total calorie (kcal)	3,920	4,708	4,708	4,708	4,708
Carbohydrates (% as kcal)	67.5	42	42	42	42
Protein (% as kcal)	20.8	17	17	17	17
Lipid (% as kcal)	11.7	41	41	41	41

1) NF, normal fat control (AIN 73A diet); HFC, high fat control; HFPL, HFC + PSP 1.25%; HFPM, HFC + PSP 2.5%; HFPH, HFC + PSP 5%

2) Mineral mixture (g/kg mix): CaHPO<sub>4</sub> 500; NaCl 74; K<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>H<sub>2</sub>O 220; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52; MgO 24; MnCO<sub>3</sub> 3.50; Fe(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O<sub>6</sub>; ZnCO<sub>3</sub> 1.6; CuCO<sub>3</sub> 0.3; KIO<sub>3</sub> 0.01; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.01; CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0.55; sucrose, finely powdered 118 3) Vitamin mixture (g/kg mix): thiamin·HCl 0.6; riboflavin 0.6; pyridoxin·HCl 0.7; niacin 3.0; calcium pantothenate 1.6; folic acid 0.2; biotin 0.02; vitamin B12 (0.1%) 1.0; vitamin A palmitate (500,000 IU/g) 0.8; vitamin D3 (400,000 IU/g) 0.25; vitamin E acetate (500 IU/g) 10.0; menadione sodium bisulfate 0.08; sucrose finely powdered 981.15

였다. 실험동물을 12시간 이상 절식시킨 후, CO<sub>2</sub>가스와 에테르로 보정하여 호흡 마취하였다. 혈액은 복대동맥에서 채혈하여 EDTA가 처리된 튜브에 넣어 4°C, 3,500 rpm, 10분 동안 원심 분리한 후 혈장을 -80°C에 분석 전까지 보관하였다. 간과 지방조직은 적출하여 생리식염수로 세척 후 수분을 제거하고, 액체질소로 급속 동결하여 -80°C에 보관하여 분석에 사용하였다. 적출한 간과 지방 조직 일부는 10% 중성 포르말린 용액에 고정하여 병리학적 분석에 사용하였다.

### 혈장의 생화학적 지표성분 분석

혈장의 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (TC), triglycerides (TG)와 high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) 농도는 측정용 kit (Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)를 이용해 측정하였다. 혈장 low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) 수준은 Freidewald 등<sup>12</sup>의 방법에 따라 LDL cholesterol = total cholesterol - HDL cholesterol - (triglyceride/5) 식으로 계산하였다.

### 간 조직의 지질수준 분석

간 조직의 지방은 Folch 등<sup>13</sup>의 방법에 따라 추출하였다. 추출된 간 조직 내 지방의 TC, TG는 측정용 kit (Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)를 이용한 효소법으로 측정하였다.

### 유전자 발현 분석

TRIzol (Ambion, Austin, TX, USA)을 이용하여 간 조직에서 total RNA를 추출하였다. 추출된 RNA는 cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 cDNA로 합성하였다. 합성된 cDNA는 TaqMan real-time PCR systems (Applied Biosystems)을 사용하여 mRNA 측정에 사용하였다. 타겟 유전자의 primer는 sterol regulatory element binding protein 1c [SREBP-1c; Mm00550338\_m1], fatty acid synthase [FAS; Mm01204974\_m1], carnitine palmitoyltransferase-1 [CPT1; Mm01231183\_m1] 및  $\beta$ -actin [Actb; Mm00607939\_s1]을 사용하였으며, mRNA 발현량은 CT method을 이용하여  $\beta$ -actin값에 대한 상대적인 양으로 계산하였다.

### 병리조직학적 관찰

적출된 간 및 지방조직은 즉시 10% phosphate-buffered formalin에 넣어 고정한 후 흐르는 물에서 과잉의 고정액을 제거하고, ethyl alcohol을 이용하여 조직 속의 수분을 제거하였다. Xylene을 이용하여 조직 내의 alcohol을 제거

한 후 paraffin 처리를 하여 조직공간을 채워 5  $\mu$ m으로 박절하여 슬라이드에 부착하였다. Hematoxylin-eosin (H&E)으로 염색한 후 200 $\times$ 에서 조직 상태를 관찰하였다.

### 통계분석

모든 실험 결과는 Statistical Analysis Systems package version 9.3 (SAS Institute, Cary, NY, USA)을 이용하여 분석하였으며, 평균  $\pm$  표준오차 (S.E.)로 나타내었다. 군간 분석 항목별 차이는 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance)를 수행한 후, Duncan's multiple range test를 이용하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 검증하였다.

## 결 과

### 식이 섭취량 및 체중

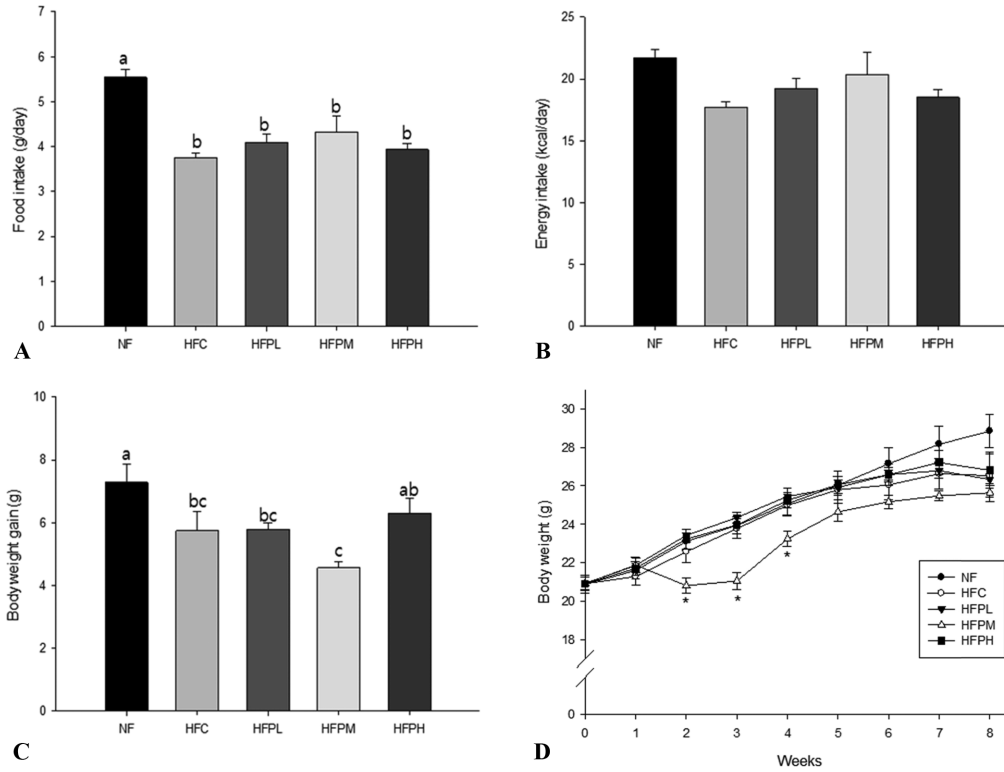
식이 섭취량은 NF군에 비해 HFC군에서 유의적으로 감소하여 총 에너지 섭취량은 모든 군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1A, 1B). 주간 체중 증가를 관찰한 결과 NF군은 지속적으로 체중이 증가한 반면 HFC군은 5주 이후부터 체중 증가가 둔화되었다. 그 결과 8주간 총 체중 증가량은 NF군이 HFC군에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다 (Fig. 1C, 1D). PSP 보충은 식이 섭취량 및 에너지 섭취량에 영향을 미치지 않았다. 그러나 체중 증가에는 영향을 미쳐, 중용량 처리된 HFPM군은 2~4주에 HFC군에 비해 유의하게 체중 증가가 억제된 것으로 나타났으나, 이후 5주부터는 다른 군들과 같은 수준으로 증가되었다. 그 결과 8주간 총 체중 증가량이 가장 낮은 것으로 나타났으나, HFC군에 비해 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 한편 고용량 처리된 HFPH군은 저용량 및 중용량 처리군에 비해 NF군에 가장 유사한 체중 증가 패턴을 나타냈다 (Fig. 1C, 1D).

### 혈장 ALT, AST 활성도 및 간 조직의 변화

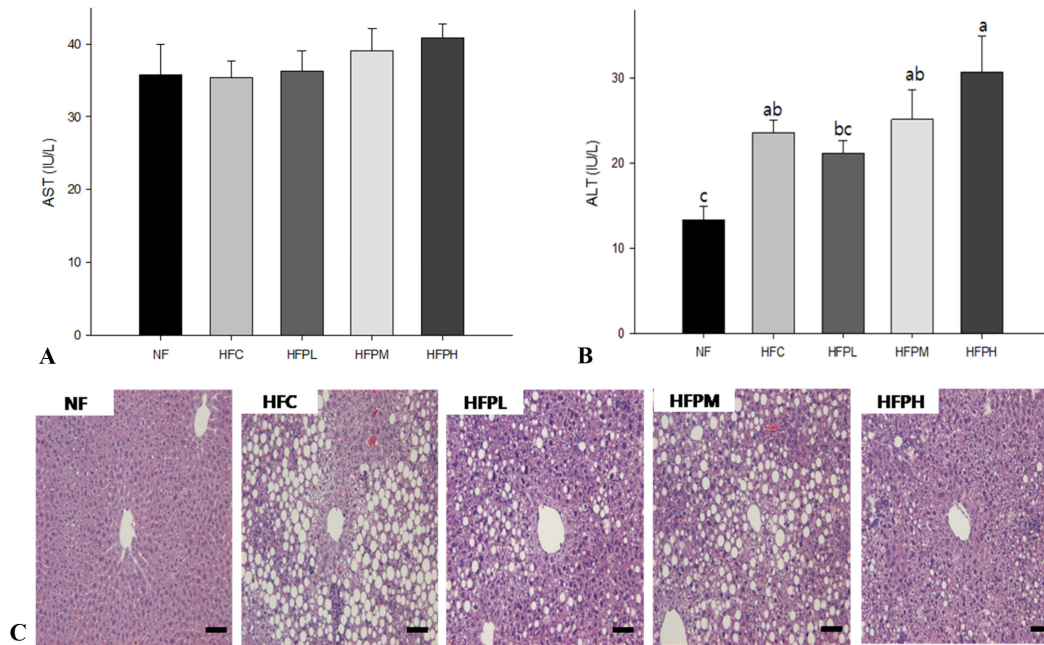
혈장 AST 수준은 모든 군 간 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 2A). 혈장 ALT 수준은 NF군에 비해 HFC군에서 유의적으로 높았으며, 이는 PSP 보충으로 극복되지 못하였다 (Fig. 2B). 고지방/콜레스테롤 식이와 PSP 보충에 의한 간의 병리조직학적 변화를 관찰한 결과는 Fig 2C와 같다. NF군에 비해 HFC군에서 지방구 (lipid droplet)의 수가 유의적으로 증가하였다. PSP 처리군에서 지방구의 수가 줄어드는 경향을 보였으며, 특별히 HFPH군은 지방구의 수가 유의하게 감소하는 것으로 관찰되었다.

### 혈중 지질 및 지단백질 수준

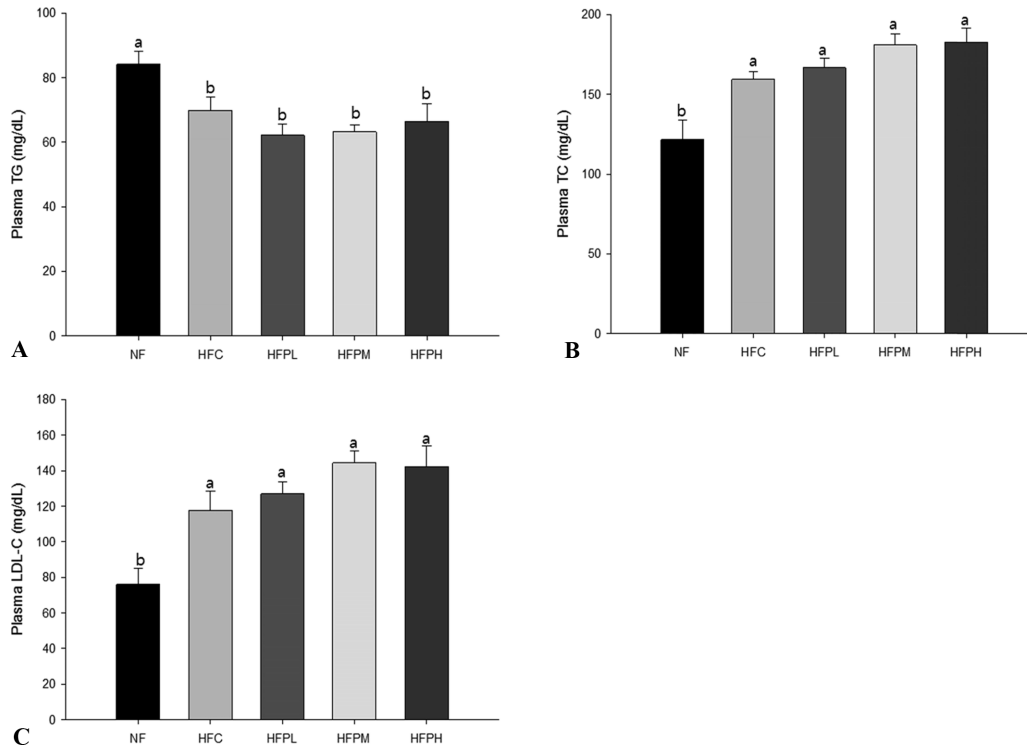
혈장 TG 수준은 NF군에 비해 HFC군에서 유의적으로



**Fig. 1.** Effects of purple sweet potato extract on food intake and body weight in high fat/cholesterol diet-fed C57BL/6 mice: (A) food intake, (B) energy intake, (C) total body weight gain and (D) body weight changes by week. NF, normal fat control; HFC, high fat control; HFPL, HFC + PSP 1.25%; HFPM, HFC + PSP 2.5%; HFPH, HFC + PSP 5%. Values are expressed as Mean  $\pm$  SE (n = 8 for each group). Means with different letters on the bar are significantly different from each other at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.



**Fig. 2.** Effects of purple sweet potato extract on liver enzymes in plasma and liver histology in high fat/cholesterol-fed C57BL/6 mice: (A) AST, (B) ALT and (C) liver histology. NF, normal fat control; HFC, high fat control; HFPL, HFC + PSP 1.25%; HFPM, HFC + PSP 2.5%; HFPH, HFC + PSP 5%. Values are expressed as Mean  $\pm$  SE (n = 8 for each group). Means with different letters on the bar are significantly different from each other at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. Histology bar represents 50  $\mu$ m.



**Fig. 3.** Effects of purple sweet potato extract on plasma lipid levels in high fat/cholesterol-fed C57BL/6 mice: (A) TG, (B) TC, and (C) LDL-C. NF, normal fat control; HFC, high fat control; HFPL, HFC + PSP 1.25%; HFPM; HFC + PSP 2.5%; HFPH, HFC + PSP 5%. Values are expressed as Mean  $\pm$  SE (n = 8 for each group). Means with different letters on the bar are significantly different from each other at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

낮았으나 (Fig. 3A), TC 수준은 NF군에 비해 HFC군에서 유의적으로 높았다 (Fig. 3B). LDL-C 수준도 TC와 같은 패턴을 나타냈다 (Fig. 3C). PSP 보충은 고지방/콜레스테롤 식이의 영향을 변화시키지 못하였다.

### 간 조직의 지질 및 관련 유전자 발현

간 조직에서 TC 수준은 NF군에 비해 HFC군에서 유의적으로 높았으며 (Fig. 4A), TG 수준은 모든 군 간 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4B). 지방합성 전사인자인 SREBP-1c와 지방산 합성에 직접 관여하는 FAS 유전자는 NF군과 HFC군에서 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 지방산 산화에 관여하는 CPT1 유전자는 NF군에 비해 HFC군에서 유의하게 낮게 발현되는 것으로 나타났다 (Fig. 4C). PSP 보충은 간 조직의 TC 및 TG 수준에 영향을 미치지 못하였으나, 유전자발현에 대해서는 저용량군인 HFPL 군에서 SREBP-1c 및 FAS 유전자의 발현이 유의적으로 증가하였으며, CPT1 발현도 증가하는 경향을 나타냈다.

### 지방조직의 무게 및 조직의 변화

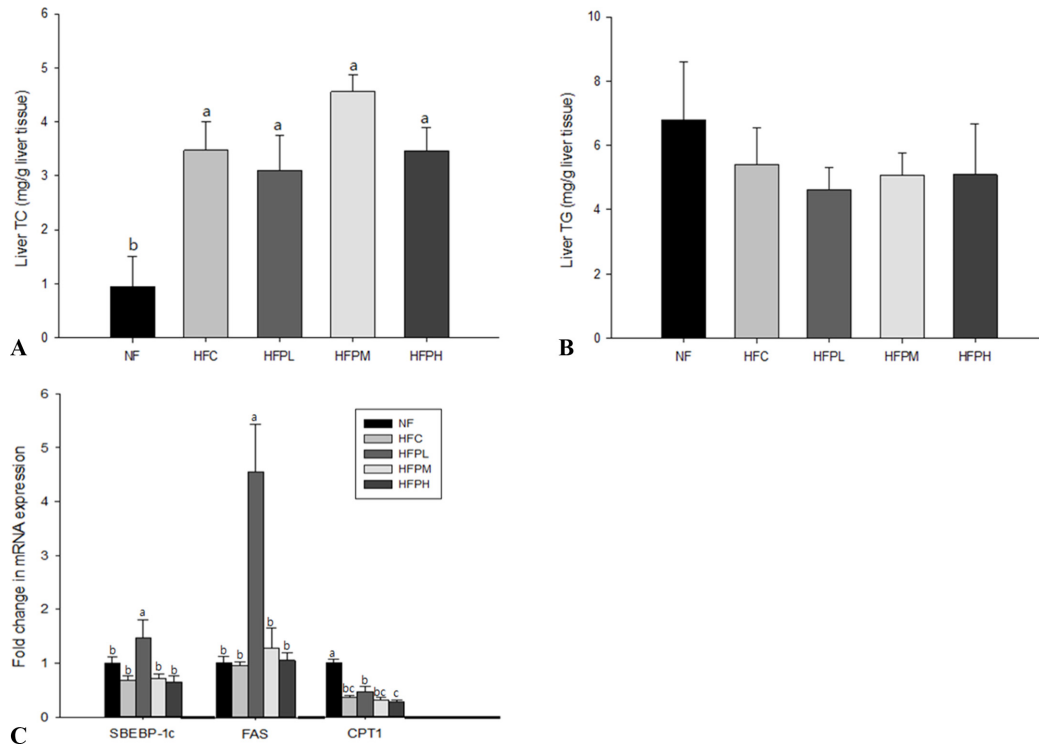
지방조직의 무게 및 조직의 형태를 비교한 결과는 Fig. 5

에 제시되었다. 지방조직의 무게는 NF군에 비해 HFC군에서 유의하게 감소하였으나 (Fig. 5A), 병리조직학적 분석 결과 지방세포의 크기는 NF군에 비해 HFC군에서 비대해진 것으로 나타났다 (Fig. 5B). PSP 보충은 지방조직의 무게에 영향을 미치지 못하였으나, 지방세포의 비대를 억제하는 것으로 나타났다.

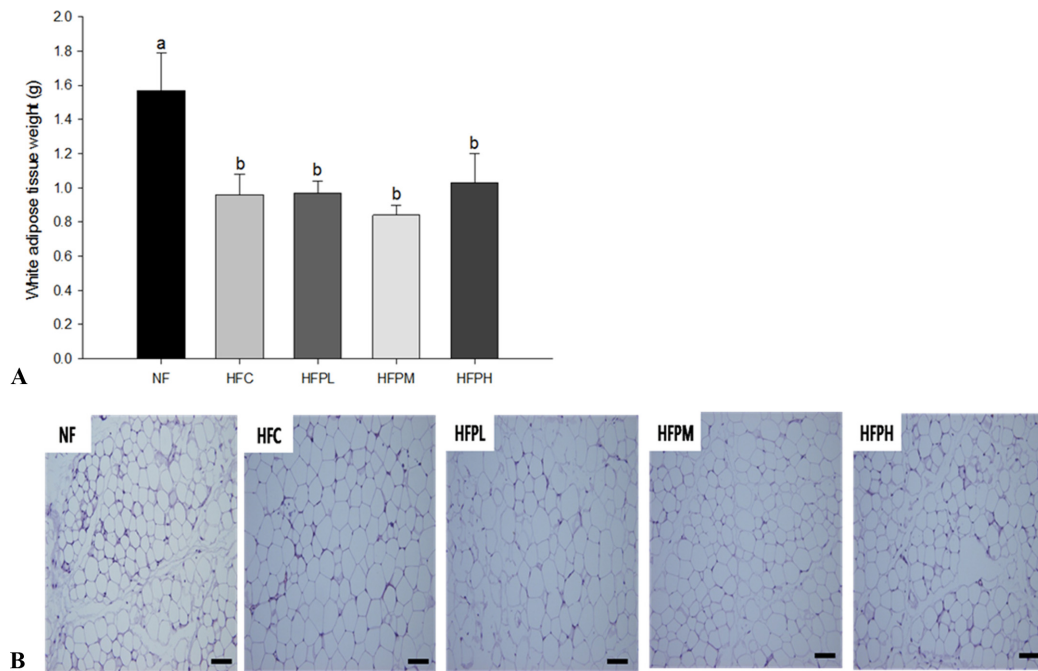
## 고 찰

본 연구는 고지방 (열량의 41%)/콜레스테롤 (식이의 1%) 식이로 지방간을 유도한 실험동물에서 자색고구마 열수 추출물의 간 손상에 보호 효과를 시험하는 것을 목적으로 수행되었다. 5주령 C57BL/6 마우스에 8주간의 고지방/콜레스테롤 식이를 섭취시킨 결과, 간과 지방조직의 변화 그리고 유의하게 증가된 혈장 ALT, TC, LDL-C 및 간의 TC 함량을 근거로 비알코올성 지방간이 유도되었음을 확인할 수 있었다. 그러나 식이섭취량은 NF군에 비해 HFC군에서 유의하게 감소하여 총 에너지 섭취량이 유사하였으며, 체중 증가량 및 지방조직의 무게는 오히려 HFC군에서 더 낮은 것으로 관찰되었다. 그럼에도 불구하고 HFC군의 간





**Fig. 4.** Effects of purple sweet potato extract on lipid and mRNA levels in the liver of high fat/cholesterol-fed C57BL/6 mice: (A) TC, (B) TG, and (C) mRNA levels. NF, normal fat control; HFC, high fat control; HFPL, HFC + PSP 1.25%; HFPM; HFC + PSP 2.5%; HFPH, HFC + PSP 5%; SREBP-1c, sterol regulatory element-binding protein-1c; FAS, fatty acid synthase; CPT-1, carnitine palmitoyltransferase-1. Values are expressed as Mean  $\pm$  SE (n = 8 for each group). Means with different letters on the bar are significantly different from each other at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.



**Fig. 5.** Effects of purple sweet potato extract on fat mass and epididymal fat tissue histology in high fat/cholesterol-fed mice: (A) adipose tissue weight and (B) adipose tissue histology. NF, normal fat control; HFC, high fat control; HFPL, HFC + PSP 1.25%; HFPM; HFC + PSP 2.5%; HFPH, HFC + PSP 5%. Values are expressed as Mean  $\pm$  SE (n = 8 for each group). Means with different letters on the bar are significantly different from each other at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Histology bar represents 50  $\mu$ m.

조직에서 생화학적, 병리학적 차이를 나타낸 것은 총 에너지 섭취량 보다는 급여된 지방의 종류가 간건강에 중요함을 시사한다.<sup>14</sup> NF군은 총 에너지 섭취량의 12%를 불포화지방의 형태로 섭취하였으나, HFC군은 총 에너지 섭취량의 41%를 불포화지방 및 포화지방 3:17의 비율로 섭취하였을 뿐 아니라 별도로 1% 수준의 콜레스테롤도 제공되었다.

총 에너지 섭취량은 동일하나, 에너지원이 다른 NF군과 HFC군은 체중증가 패턴도 서로 다르게 관찰되었다. NF군은 8주간의 실험기간 중 지속적으로 체중이 증가하였으나, 포화지방 급원의 지방에서 제공하는 에너지%가 높은 HFC군은 5주까지 체중 증가를 나타내다가 그 이후부터는 체중 증가가 둔화되는 것으로 관찰되었다. 이는 과도한 포화지방의 섭취로 지방세포 변형이 나타난 것으로 추정된다. 즉, NF군에서는 과잉의 열량이 지방세포로 축적되는 “건강한 비만 (healthy obesity)”을 유지한 반면, HFC군에서는 지방세포가 더 이상 과잉 열량을 축적하는 역할을 담당하지 못하는 “나쁜 비만 (bad obesity)”이 유도되었다고 추정할 수 있다.<sup>15</sup> 포화지방의 과다 섭취는 지방세포를 과다하게 비대화하여 NF- $\kappa$ B경로에 따른 염증 반응이 나타나는 것을 동물 실험 결과로 보고된 바 있다.<sup>16</sup> 그러나 불포화지방산이 함유된 식이를 과량 섭취하였을 때 체중이 서서히 증가하는 반면, 과도한 지방 침착은 억제하는 경로에 대해서는 아직 그 기전이 불확실하다.<sup>17</sup> 이러한 지방조직의 대사 이상은 다시 간 조직과 혈액의 지질대사에 영향을 미친 것으로 판단된다. 지방세포의 크기가 최대로 증가하면, 지방조직은 더 이상 지방을 축적하지 못하므로, 과잉의 지방은 간으로 유입되어 중성지방, 인지질, 콜레스테롤 에스테르로 재합성된 후 very low density lipoprotein (VLDL)의 형태로 혈액으로 방출된다. 그러나 TC 및 LDL-C의 축적으로 간 조직이 손상되어 TG는 간에 축적되고 반면, 혈액으로 유출되는 TG 농도가 감소된 것으로 추정된다.<sup>18</sup> 이 결과는 간조직에서 SREBP-1c 및 FAS 유전자 발현의 변화없이 CPT-1 유전자 발현이 감소된 것과 일치한다. SREBP-1c는 간 조직에서 강하게 발현되며 TG 및 지방산 합성에 관여하는 전사활성 유전자이며,<sup>19</sup> acetyl-CoA carboxylase (ACC)와 FAS 등을 조절한다.<sup>20</sup> CPT-1은 지방산을 미토콘드리아 내로 유입시키는데 관여하는 지방산 산화의 속도제한 효소이다.<sup>21</sup> 또한 이 결과는 간 조직의 TG 수준으로는 확인되지 못하였으나, 간 조직에서 지방구가 증가한 것에도 일치한다.

PSP 보충은 HFC군의 혈액 및 간 손상 지표를 개선시키지 못하였다. 그러나 특별히 고용량의 PSP 보충은 저용량 및 중용량 보충군에 비해 NF군에 가장 가까운 체중 증가 패턴을 나타냈다. 또한 지방조직 및 간 조직에도 영향을 미

쳐 지방조직의 무게가 증가하고 크기는 작아지는 경향을 나타냈으며 간 조직의 지방구의 수도 감소하는 결과를 나타냈다. 한편 PSP 보충은 지방조직의 대사 이상을 완화시켜 간으로 지질 유입을 억제하는 것으로 추정될 수 있으나, 통계적인 유의성을 나타낼 만큼 충분한 효과를 나타내지 못하였다. 따라서 PSP 섭취군에서도 간으로의 지질 유입은 계속 진행되는 것으로 보이며, 간 조직에서 SREBP-1c 및 FAS 유전자 발현이 HFC군과 PSP 보충군에서 차이가 없었다는 것으로 뒷받침 할 수 있다. 또한 PSP 저용량군에서 중용량 및 고용량 군에 비해 SREBP-1c 및 FAS 유전자 발현이 유의하게 높았던 것도 중용량 이상에서 보충의 효과가 나타남을 뒷받침한다.

이상의 결과는 고지방식이 (열량의 45%)를 4주간 섭취시킨 ICR mice에 자색고구마의 anthocyanin 분획을 경구 투여하였을 때, 간의 지질 축적이 억제되는 효과를 관찰한 황 등<sup>6</sup>의 결과와 상이한 것으로 이는 시험물질의 제조방법의 차이 (열수추출 vs. anthocyanin 분획)에 기인하는 것으로 추정할 수 있다. 황 등의 연구에서 사용된 시험물질은 순도와 함량을 높인 분획물로 anthocyanin 함량은 200 mg/kg bw 이었다. 그러나 본 연구에 사용된 시험물질은 anthocyanin 함량이 각각 32.5, 65, 130 mg/kg bw으로 낮았다. 본 연구의 결과를 요약하면, C57BL/6 마우스에게 8주간 고지방/콜레스테롤 식이를 섭취시킨 결과, 지방세포의 비대가 유도되었으며 간 조직에서 지방구의 증가, 혈액 및 간의 TC 증가, 혈액의 ALT 활성 증가를 특징으로 하는 지질대사 이상이 초래되었다. 동일한 기간 동안, 고지방/콜레스테롤 식이와 PSP를 보충시킨 군에서는 지방세포의 크기가 비교적 작게 유지되었으며, 간 조직의 지방구도 적어진 것으로 관찰되었다. 혈액 지표는 유의적으로 개선하지 못하였으나, 이 결과만으로도 PSP는 지방세포를 건강하게 유지하는 방법으로 간 보호 효과가 있는 것으로 사료된다. 따라서 향후에는 PSP가 지방세포와 간 조직의 상호 대사 축에서 어떤 작용기전이 있는지에 대한 실험이 필요할 것으로 생각된다.

## 요 약

자색고구마 열수추출물의 간 보호 기능을 확인하기 위해 C57BL/6 마우스를 사용하여 시험하였다. 지방간 유도를 위해 8주간 고지방/콜레스테롤 식이를 급여하였으며, 자색고구마 열수추출물은 1.25, 2.5, 5%의 수준으로 식이에 함께 넣어 같은 기간 동안 제공하였다. 간 조직의 병리학 분석, 혈장 ALT 활성도, 간 및 혈장의 TC 수준을 바탕으로 비알콜성 지방간 모델이 형성되었음을 확인하였다.

고지방/콜레스테롤 식이의 급여는 식이섭취량을 감소시켜 총 에너지 섭취량은 시험군간 차이가 없었으나, 포화지방을 급원으로 하였을 때 지방세포의 비대와 혈장 TC, 간 TC, 간의 지방구를 증가시키는 것으로 관찰되었다. 한편 자색고구마 열수추출물을 고지방/콜레스테롤 식이와 함께 섭취시킨 결과, 고지방/콜레스테롤 식이로 인한 지질대사 이상을 유의하게 변화시키지 못해 혈액 및 간 손상 지표를 개선시키지 못하였으나, 지방조직의 크기는 작게 유지하고 간의 지방구 형성은 억제하는 것으로 관찰되었다. 이상의 결과로 자색고구마 열수추출물은 지질대사 개선을 통해 간 보호 효과를 갖음을 알 수 있었다. 향후에는 자색고구마 열수추출물이 지방세포-간의 상호 지질대사에 미치는 영향을 추가적으로 연구해야 할 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 연구에 사용된 자색고구마 열수추출물을 제공해주신 전라남도 생물산업진흥원에 감사드립니다.

### References

- Samuel VT, Liu ZX, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, Romanelli AJ, Shulman GI. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem* 2004; 279(31): 32345-32353.
- Lee E, Kim WJ, Lee YJ, Lee MK, Kim PG, Park YJ, Kim SK. Effects of natural complex food on specific enzymes of serum and liver and liver microstructure of rats fed a high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003; 32(2): 256-262.
- Ministry of Food and Drug Safety. Influence of dietary intake on non-alcoholic fatty liver disease in Korean. Cheongwon: Ministry of Food and Drug Safety; 2012.
- Hna KH, Lee JC, Kim JH, Lee JS. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquor by using purple-fleshed sweet potato. *Korean J Food Sci Technol* 2002; 34(4): 673-677.
- Rossi A, Serraino I, Dugo P, Di Paola R, Mondello L, Genovese T, Morabito D, Dugo G, Sautebin L, Caputi AP, Cuzzocrea S. Protective effects of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radic Res* 2003; 37(8): 891-900.
- Hwang YP, Choi JH, Han EH, Kim HG, Wee JH, Jung KO, Jung KH, Kwon KI, Jeong TC, Chung YC, Jeong HG. Purple sweet potato anthocyanins attenuate hepatic lipid accumulation through activating adenosine monophosphate-activated protein kinase in human HepG2 cells and obese mice. *Nutr Res* 2011; 31(12): 896-906.
- Ramirez-Tortosa C, Andersen ØM, Cabrita L, Gardner PT, Morrice PC, Wood SG, Duthie SJ, Collins AR, Duthie GG. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. *Free Radic Biol Med* 2001; 31(9): 1033-1037.
- Hwang YP, Choi JH, Yun HJ, Han EH, Kim HG, Kim JY, Park BH, Khanal T, Choi JM, Chung YC, Jeong HG. Anthocyanins from purple sweet potato attenuate dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats by inducing Nrf2-mediated antioxidant enzymes and reducing COX-2 and iNOS expression. *Food Chem Toxicol* 2011; 49(1): 93-99.
- Han KH, Matsumoto A, Shimada K, Sekikawa M, Fukushima M. Effects of anthocyanin-rich purple potato flakes on antioxidant status in F344 rats fed a cholesterol-rich diet. *Br J Nutr* 2007; 98(5): 914-921.
- Sakatani M, Suda I, Oki T, Kobayashi S, Kobayashi S, Takahashi M. Effects of purple sweet potato anthocyanins on development and intracellular redox status of bovine preimplantation embryos exposed to heat shock. *J Reprod Dev* 2007; 53(3): 605-614.
- Hwang YP, Choi JH, Choi JM, Chung YC, Jeong HG. Protective mechanisms of anthocyanins from purple sweet potato against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity. *Food Chem Toxicol* 2011; 49(9): 2081-2089.
- 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* 1972; 18(6): 499-502.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1): 497-509.
- Lovejoy JC. The influence of dietary fat on insulin resistance. *Curr Diab Rep* 2002; 2(5): 435-440.
- Wildman RP. Healthy obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12(4): 438-443.
- Siriwardhana N, Kalupahana NS, Cekanova M, LeMieux M, Greer B, Moustaid-Moussa N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. *J Nutr Biochem* 2013; 24(4): 613-623.
- Posey KA, Clegg DJ, Printz RL, Byun J, Morton GJ, Vivekanandan-Giri A, Pennathur S, Baskin DG, Heinecke JW, Woods SC, Schwartz MW, Niswender KD. Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296(5): E1003-E1012.
- Nam KS, Kim J, Noh SK, Park JH, Sung EG. Effect of sweet per-simmon wine on alcoholic fatty livers in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2011; 40(11): 1548-1555.
- Yun TS, Min AK, Kim NK, Kim MK, Cho HC, Kim HS, Hwang JS, Ryu SY, Park KG, Lee IK. Effects of alpha-lipoic acid on SREBP-1c expression in HepG2 cells. *J Korean Endocr Soc* 2008; 23(1): 27-34.
- Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, Kral JG. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(5): 1513-1517.
- Bruce CR, Hoy AJ, Turner N, Watt MJ, Allen TL, Carpenter K, Cooney GJ, Febbraio MA, Kraegen EW. Overexpression of carnitine palmitoyltransferase-1 in skeletal muscle is sufficient to enhance fatty acid oxidation and improve high-fat diet-induced insulin resistance. *Diabetes* 2009; 58(3): 550-558.