KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 47, No. 3, pp. 364~372 (2015)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.3.364

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

복분자와 홍삼 발효 추출물의 복합투여가 고지방 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 지질대사 및 비만에 미치는 영향

이민정 · 최혜란 · 이정현 · 이수정 · 권지웅 · 최경민[1] · 차정단[1] · 황승미[1] · 박종혁[2] · 이상천[1] · 박필재[3] · 이태범*
고창복분자연구소, [1]진안홍삼연구소, [2]임실치즈과학연구소, [3]고창농업기술센터

Co-treatment with Fermented Black Raspberry and Red Ginseng Extracts Improves Lipid Metabolism and Obesity in Rats Fed with a High-fat and High-cholesterol Diet

Min Jung Lee, Hye Ran Choi, Jung-Hyun Lee, Su Jung Lee, Ji Wung Kwon, Kyung-Min Choi[1], Jeong-Dan Cha[1], Seung-Mi Hwang[1], Jong Hyuk Park[2], Sang Cheon Lee[2], Pill Jae Park[3], and Tae-Bum Lee*
Gochang Black Raspberry Research Institute
[1]*Institute of Jinan Red Ginseng*
[2]*Imsil Research Institute of Cheese Science, Imsil-gun*
[3]*Gochang Agriculture Technology Center, Gochang-gun*

Abstract This study investigated the effects of fermented black raspberry (BR) and red ginseng (RG) extract co-treatment on lipid metabolism and obesity in rats fed with a high fat/high cholesterol diet (HFHCD) for 12 weeks. Compared to the corresponding values in rats fed with a HFHCD, total cholesterol and low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol and triglyceride levels decreased whereas high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol levels increased in rats treated with fermented BR and RG extracts. These extracts significantly increased the expression of HMG-CoA reductase, LDL receptor, and sterol regulatory-element-binding protein-2 (SREBP-2) mRNA, but decreased the mRNA expression of SREBP-1. Additionally the serum levels of leptin and fatty acid synthase were decreased. Moreover, supplementation with fermented BR and RG effectively increased fecal cholesterol excretion. These results suggest that fermented BR and RG extracts might be effective at preventing hypercholesterolemia and obesity.

Keywords: black raspberry, red ginseng, lipid metabolism, obesity, fermented extract

서 론

서구화된 식습관으로 인해 탄수화물, 지방, 단백질의 과다 섭취와 운동 부족으로 비만 환자가 빠른 속도로 증가하여 현대인들의 건강뿐만 아니라 심각한 사회 문제로 인식되어지고 있다(1). 비만은 에너지 소비량에 비해 영양소를 과다 섭취할 경우 에너지대사의 균형에 이상이 발생하면서 내분비계의 혼란 및 면역 이상과 염증을 일으켜 고지혈증, 관상동맥 심장질환 및 제2형 당뇨병 등의 대사증후군을 유발하는 위험인자이다(2). 전 세계 성인의 20-25%가 대사증후군을 지니고 있는 것으로 추정하고 있으며, 우리나라에서도 40대 이상의 주요 사망원인인 암, 뇌혈관질환, 심혈관 질환, 당뇨병, 고혈압 등 만성질환의 유병률은 계속 증가하는 추세이다(3). 이에 대해 많은 연구자들은 대사증후군을 치료보다는 예방이 필요한 질환으로 여겨 약물요법이 아닌 천연물을 이용한 건강 기능성 식품의 개발과 생리활성 물질에 대한 연구를 활발히 하고 있으며 소비자들 또한 건강에 대한 관심이 높아져 수요와 관심이 꾸준히 증가하고 있다.

전국적으로 재배되어지고 있는 복분자(*Rubus occidentalis*)(4)는 안토사이아닌, 플라보노이드, 타닌, 페놀산 등 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있으며 항암활성, 면역개선, 항염증, 항산화 및 항균효과 등 다양한 생리활성에 대한 효능이 알려져 있다(4-7). 시험관시험에서 복분자 완숙과 추출물보다 복분자 미숙과 추출물이 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL)의 저하를 통한 콜레스테롤 생합성 억제에 더 효과적이었으며, CD 36과 scavenger receptor type A (SR-A) 수용체 활성을 억제시킴으로써 세포 내의 ox-LDL의 흡수를 차단시키고, macrophage 유래 PPAR-γ를 억제시킴으로 인해 LDL 산화를 억제하는데 효과적이었다(8). 또한, adipophilin의 활성을 억제시킴에 따라 세포 안에 있는 콜레스테롤 방출을 촉진시켜 동맥경화를 완화시킬 수 있다고 보고 하였며(8,9), 동물실험에서도 LDL을 억제함으로써 고지혈증 및 지질대사에 효능이 있음을 확인하였다(10).

홍삼(red ginseng)은 4-6년 근 수삼을 엄격히 선별하여 껍질을 벗기지 않은 상태에서 증기로 쪄서 건조시킨 담황갈색 또는 담적갈색을 띄는 인삼을 말하는데 이러한 가공 과정을 거치면서 인삼의 생리활성 물질인 사포닌(saponin)의 함량이 증가하고 인삼에

*Corresponding author: Tae-Bum Lee, Gochang Black Raspberry Research Institute, Gochang, Jeollabukdo 525-943, Korea
Tel: 82-63-560-5170
Fax: 82-63-563-6680
E-mail: tblee01@gbri.re.kr
Received December 24, 2014; revised March 6, 2015; accepted March 19, 2015

없는 홍삼 고유의 새로운 생리활성 성분인 ginsenoside-Rg2, Rg3, Rh2, Rs1, Rs2, Rh4과 manitol, glycero-galacto lipid, glycosyldiglyceride 등이 생성된다(11). 이러한 약리활성 성분의 변화를 갖은 홍삼은 혈액 순환 개선, 항암, 항염증 작용 등이 인삼보다 우수하다는 연구가 보고되어지고 있고(12,13), ginsenoside로 인해 지방이나 콜레스테롤의 흡수와 대사를 촉진시키며, 혈청 콜레스테롤 증가를 억제 한다는 연구 결과와(14,15) 고지방 식이 동물 실험에서 LDL 수용체의 합성 억제를 완화시켜 콜레스테롤을 저하시킨다는 보고가 있다(16).

유산균은 GRAS (Generally Recognized As Safe)로서 오랜 역사를 가지며 발효유제품, 각종 발효식품에 광범위하게 활용되고 있으며(17), 발효유를 섭취한 실험동물의 혈중 콜레스테롤 수치가 유의적으로 감소한다는 보고들이 증가하고 있고(18) 현재까지도 콜레스테롤을 저하시키는 새로운 프로바이오틱(probiotic) 유산균 개발과 그 매커니즘을 밝히려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 프로바이오틱에 많이 사용되고 있는 균주로 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*가 있는데(19,20), 그 중 *Lactobacillus* spp. 중 하나인 *L. acidophilus*는 산에 강한 내산성유산균으로 과민성대장증후군에 의한 복통을 감소시키는데 효과적이고, 정장 작용 및 항암효과, 혈중 콜레스테롤 저하, 비타민 B군 합성 등의 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 최근 들어 유산균, 효모, 고초균 등 우리에게 유익한 미생물을 이용한 발효기술의 진보로 천연물의 생리활성효능이 증가된 발효산물을 얻거나 또는 상호간의 상승효과에 의해 생리활성효능이 상승되는 제품들이 개발되고 있고 특히 유산균 발효는 장내 독성제거 기능을 향상시키는 기능성 식품으로 각광을 받고 있다(21-23). Tanida 등(24)은 *Lactobacillus*를 이용하여 자율신경계 조절, 혈당과 심장 기능에 영향을 줄 뿐만 아니라 동물실험에서도 지방분해 촉진과 체중 감소 효과가 있음을 발표하였으며, Miyoshi 등(25)은 중성지방을 낮추고 fatty acid synthase (FAS)와 sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1)의 발현 감소, 지방조직의 염증상태를 개선시켜 항비만 효과를 나타냈다. 그밖에, 우유와 발효유 제품의 혈중 콜레스테롤 저하 효과에 대한 연구 결과가 보고되고 있으며(26), 김치유산균 추출물의 비만억제와 혈장 지질저하 효과 등이 보고되고 있다(21).

이와 같이 복분자, 홍삼, 유산균에 대한 각각의 효능에 관한 연구는 활발히 보고되어 있으나, 유산균을 이용한 발효 복분자나 발효 홍삼 분만 아니라 복합 기능성 검증이나 제품개발에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 전통발효식품인 김치에서 분리한 *L. acidophilus* (27)를 이용하여 최적의 조건으로 발효시킨 복분자와 홍삼을 복합 투여하여 고지방 고콜레스테롤 식이를 급여한 실험동물에 있어 지질의 농도, 혈중 비만조절 관련 지표, 지질대사와 비만 관련 유전자 발현 등에 미치는 영향을 조사하여 기능성 식품을 개발하는 기초 자료로 활용하고자 이 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

추출물 및 발효 추출물 제조

고창에서 재배 되어진 복분자 미숙과를 중량의 10배 용량의 물을 첨가한 후 2시간 동안 농축 추출기(Cosmo 660, Kyungseo machine, Incheon, Korea)를 이용하여 100°C에서 2회 가열 추출하였다. 추출물은 여과하여 농축한 후 냉동건조(PVTFD10R, Ilsinbiobase, Dongducheon, Korea)하여 사용하였다. 홍삼 농축액은 진안에서 재배 되어진 인삼을 이용하여 에탄올로 3회 추출하여 원심분리기를 이용하여 녹말질을 여과 하였다. 여과된 추출액을 40-60°C에서 감압농축하여 농축액을 얻어 후 60-80°C에서 3일간 숙성하여 85°C에서 2시간 살균하여 사용하였다. 발효 추출물의 제조는 *L. acidophilus*를 임실치즈과학연구소로부터 분양받아 사용하였으며, MRS broth (Oxoid, Hampshire, England)를 이용하여 2회 계대 배양하여 활성화시킨 후 실험에 사용하였다. 10% 탈지분유(Seoulmilk, Seoul, Korea)를 121°C에서 15분간 멸균하여 홍삼농축액(Hanhongjung Health Food, Jinan-gun, Korea) 및 복분자 미숙과 분말(Gochang Blackraspberry Research Institute, Gochang, Korea)을 각각 1%의 비율로 혼합하여 첨가한 후 1.0×10^8 CFU/mL로 활성화시킨 *L. acidophilus*를 1% 접종하여 37°C에서 72시간 동안 배양한 후 냉동건조하여 실험에 사용하였다.

실험동물의 사육 환경 및 식이 투여

실험동물은 특정병원체부재(specific pathogen free, SPF) 상태의 수컷 5주령 SD 랫트를 중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 구입하여 1주일간 일반사료로 적응시켰다. 그런 다음 각 실험군마다 평균 체중이 약 190±5 g이 되도록 'Z'자 식으로 각 군당 8마리씩 6개 군으로 나누어 stainless steel bottomed cage에 3마리씩 분리 사육하였다. 실험동물 사육실의 온도는 22±2°C, 상대습도는 50±5%로 유지하였으며 명암은 12시간 주기로 조절하였다. 본 동물실험에서 실험군의 분류는 정상대조군은 AIN-93G 식이(Normal)를 하였고, 고지방 고콜레스테롤군은 high fat/high cholesterol diet 식이(CTL)로 AIN-93G에 10% lard와 1% cholesterol 첨가 하였고, 양성대조군(P)은 high fat/high cholesterol diet 사료에 simvastatin 10 mg/kg/day, 유산균 발효군(F)은 high fat/high cholesterol diet 사료에 유산균 발효물 250 mg/kg/day, 복분자와 홍삼 투여군(UBR+RG)은 high fat/high cholesterol diet 사료에 복분자 미숙과 물 추출물과 홍삼 농축액 250 mg/kg/day을 혼합하여 투여하였고, 복분자와 홍삼 발효 투여군(UBR+RG F)은 high fat/high cholesterol diet 사료에 복분자 미숙과 물 추출물과 홍삼 농축액을 유산균 발효하여 250 mg/kg/day 투여하였다. 경구용 주사기를 이용하여 12주간 매일 일정한 시간대(오전 10시)에 경구 투여를 하였으며, 정상대조군과 고지방 고콜레스테롤대조군에는 같은 양의 증류수를 투여하였다. 사료는 실험동물용 고형사료이며 필터 및 자외선 살균기로 여과 살균된 정제수를 자유로이 섭취하도록 하였고 식이는 매주 공급하였다. 음수, 식이, 체중은 일주일에 한 번 일정한 시간대에 디지털 계량기를 사용하여 측정하였으며, 식이섭취효율은 실험 전 기간 동안의 체중 증가량을 같은 기간 동안에 섭취한 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다. 실험에 사용한 simvastatin은 statin계의 기본약물로 최근에는 비만, 당뇨에도 효과가 있다고 알려져 있다(28).

본 동물실험은 고창복분자연구소 동물실험윤리위원회 승인(GBRI-IACUC-14001) 하에 진행되었다.

실험동물의 혈액 및 조직 적출

경구 투여를 12주간 시행하고 모든 실험동물을 희생 전 12시간 동안 절식시킨 뒤 diethyl ether로 마취시켜 개복한 즉시 복대정맥으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액을 수집 후, 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 획득한 혈청을 분석에 사용하였다. 채취한 간조직의 일부는 병리조직 제작과정을 거쳐 H&E stain 후 간조직의 지질 침착 정도를 확인하였고, 나머지 조직은 −70°C에 냉동 보관한 후 분석에 사용하였다.

혈중 지질 분석 및 효소 측정

혈청 내 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레

스테롤의 농도는 생화학 측정기기(Fuji DRI-CHEM 4000, Fuji film, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다. 렙틴(leptin)의 농도는 Quantikine rat leptin immunoassay (R&D system, Inc., Minneapolic, MN, USA) kit로 측정하였고, FAS는 RAT Fatty acid synthase ELISA kit (CUSABIO, Wuhan, China)를 사용하여 분석하였다.

RNA 분리

간 조직으로부터 RNA를 추출하기 위하여 실험동물의 간 20 mg을 RNA 추출 시약인 tri reagent (RNAiso Plus, Takara, Otsu, Japan) 1 mL에 넣고, 균질기로 균질화한 후 상온에 5분 동안 방치하였다. 이후 클로르폼 200 μL를 넣어 20초간 vortexing 하였고 15,000 rpm으로 10분 동안 원심분리한 후 상층액을 새로운 튜브에 옮겼다. 상층액과 동량으로 isopropanol을 첨가한 후 10분 동안 방치한 후 이를 다시 15,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 RNA 침전물을 획득하였다. RNA 침전물을 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC)와 혼합한 75% 에탄올을 넣어 씻고 15,000 rpm에서 5분 동안 원심분리한 후 에탄올을 제거하여 실온에서 침전물을 건조시켜 0.1% DEPC water에 녹였다. RNA 농도(1 OD=40 μg/mL)는 분광광도계 (DU^{R}730 spectrophotometer, Beckman, Fullerton, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였다.

실시간 역전사 중합효소 연쇄 반응(real-time PCR quantification)

First strand cDNA을 50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 75 mM KCl, 3 mM $MgCl_2$, 10 mM DTT (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), 1 U/μL RNasin (Invitrogen), 1 mM each dNTP, oligo (dT)20 100 ng과 MMLV reverse transcriptase (Invitrogen) 200 U가 함유된 20 μL의 용액에서 총 RNA 2 μg으로부터 합성하였다. cDNA를 합성 한 뒤, HMG-CoA reductase, LDL 생성 관련 인자인 LDL receptor (LDLR)와 전사인자인 SREBP-1, SREBP-2 mRNA 발현 정도를 실시간 역전사 중합효소 연쇄반응의 Fast Start DNA Master SYBR Green kit (Roche, Mannheim, Germany)를 이용하여 Light Cycler 2.0 (Roche)에서 증폭하였다. 실험에 사용된 primer의 염기서열과 PCR 조건은 Table 1과 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cycler Software 4.0 (Roche)을 이용하였다.

간의 병리조직학적 분석

간 조직 내 지방질의 축적을 확인하기 위해서 적출된 간 조직의 일부를 10% 중성 포말린에 고정하였다. 병리조직학적 검사를 위한 통상적인 방법을 사용하여 파라핀 포매를 한 후, 4 μm의 두께로 절편을 만들고 슬라이드 제작한 후 일반적인 hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 실시하고 Nikon Eclipse E200 (Nikon, Tokyo, Japan) 현미경을 이용하여 NASH (nonalcoholic steatohepatitis) score를 측정하였다. NASH score란 비알코올성 지방간염으로 거대수포성 지방증, 간세포손상과 혼합 염증반응이라는 3가지 병변이 주로 3구역, 중심 소엽에 분포하는 것을 특징으로 한다. NASH score 측정은 H&E 염색을 한 슬라이드를 광학현미경으로 조사하여 지방증, 풍선변성, 소엽 염증 정도의 점수를 합산하여 5점 이상이면 NASH로, 2점 이하이면 NASH가 아닌 것으로 판정하였다(29).

대변에서 지질 분석

대변은 희생 전 3일 동안 수집하여 60°C에서 하룻밤 동안으로 건조하여 동일한 양을 균일하게 균질화 한 후 측정하였다. 콜레스테롤의 총 양은 콜레스테롤 정량 키트(Cholesterol/cholesterol ester quantitation kit, BioVision, Mountain View, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 시료와 시약를 섞어 빛을 차단 후 37°C에서 1시간 동안 배양하여 microplate reader (Synergy HT, Bio-Tek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 530/590 nm에서 측정하였다.

통계분석

모든 분석 자료는 평균±표준오차(mean±SE)로 나타내었으며 실험결과는 SPSS 12.0K (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의해 $p<0.05$ 수준에서 통계처리 하였다.

결과 및 고찰

체중증가량, 음수 섭취량 및 식이 섭취량

SD 랫트 5주령에 고지방 고콜레스테롤 식이를 급여하여 발효추출물 투여군, 복분자와 홍삼 추출물 투여군, 복분자와 홍삼 발효추출물 투여군과 양성대조군인 simvastatin을 12주간 경구투여하여 각 군의 체중증가량, 음수섭취량, 식이섭취량을 Table 2에 나타내었다. 고지방 고콜레스테롤 식이군과 비교하여 추출물 투여군에서 체중 증가량, 음수섭취량과 식이 섭취량 모두 군별로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

혈청에서의 지질 농도

고지방 고콜레스테롤 식이로 유도하여 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효물을 12주간 급여한 랫트의 혈청에서 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), 중성지방(triglyceride, TG) 농도를 측정하여 효과를 확인한 결과는 Table 3과 같다. 혈중지질 농도는 동맥경화, 고혈압, 심장병, 고지혈증

Table 1. Primers used in this study

Gene	S & AS	Nucleotide sequences	Length of PCR products (bp)	Annealing (°C)
HMG-CoA reductase	S	CAACCTCTACATCCGTCTCCA	195	60
	AS	ACAGTCTTTCCTCTCCCTTCG		
LDL receptor	S	CAGCTCTGTGTGAACCTGGA	188	55
	AS	TTCTTCAGGTTCGGGATCAG		
SREBP-2	S	AGACTTGGTCATGGGGACAG	239	55
	AS	GGGGAGACATCAGAAGGACA		
SREBP-1	S	AGGAGCCACAATGAAGACCG	151	60
	AS	TAGTCGGTGGATGGGCAG		
β-actin	S	TGTTGTCCCTGTATGCCTCT	222	57
	AS	TAATGTCACGCACGATTTCC		

Table 2. Effects of fermented black raspberry and red ginseng supplementation on body weight gain, water intake and food intake in rats fed with the HFHCD for 12 weeks

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g)	Water intake (g)	Food intake (g)
Normal	197.42±7.13[ab]	414.78±32.45[ab]	306.64±26.51[a]	10.43±2.15[ab]	14.50±3.43[b]
CTL	198.17±6.15[ab]	419.58±44.65[ab]	312.1±43.46[a]	11.17±2.03[a]	15.25±4.25[ab]
P	186.55±8.82[c]	392.68±37.11[b]	290.41±35.29[a]	9.88±1.92[ab]	14.47±4.09[b]
F	189.55±5.14[bc]	428.42±30.94[a]	333.45±31.22[a]	11.18±2.07[a]	15.88±4.04[ab]
BR+RG	191.14±7.04[abc]	418.63±39.13[ab]	318.75±40.84[a]	8.83±1.72[b]	16.92±3.69[ab]
BR+RG F	199.78±9.16[a]	430.93±41.16[a]	324.42±38.00[a]	9.98±2.05[ab]	17.97±3.88[a]

HFHCD: high fat-high cholesterol diet, Normal: Normal group, CTL: high fat-high cholesterol diet, P: high fat-high cholesterol diet+simvastatin 10 mg/kg, F: high fat-high cholesterol diet+fermented 250 mg/kg, BR+RG: high fat-high cholesterol diet+black raspberry 125 mg/kg+red ginseng 125 mg/kg, BR+RG F: high fat-high cholesterol diet+fermented black raspberry+fermented red ginseng 250 mg/kg,
[a-c]Values are expressed as mean±SE (n=8). Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 3. Effects of fermented black raspberry and red ginseng supplementation on serum HDL, LDL, total cholesterol and triglyceride in rats fed with the HFHCD for 12 weeks

Group	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Normal	55.14±7.33[a]	7.42±1.27[c]	54.66±1.15[ab]	71.8±7.04[bc]
CTL	35.5±2.08[b]	23.5±3.69[a]	67.85±8.80[a]	93.33±14.30[ab]
P	40.16±4.07[b]	14.57±4.72[b]	48.66±3.93[c]	82.2±13.34[abc]
F	40.25±4.34[b]	19.5±2.12[ab]	60.33±2.08[ab]	95.5±0.70[a]
BR+RG	49.42±4.39[a]	17.25±0.5[b]	51.66±3.05[ab]	65.5±24.63[c]
BR+RG F	50±7.42[a]	16.25±4.11[b]	50.66±9.50[ab]	61.28±12.03[c]

[a-c]Values are expressed as mean±SE (n=8). Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

과 같은 심혈관계 질환의 진단지표로 사용되어지고 있다. 항동맥경화 지표로 사용되어지고 있는 HDL-콜레스테롤 함량은 정상식이군인 Normal에 비해 고지방고콜레스테롤 식이군인 CTL에서는 35% 감소하였고, 복분자와 홍삼 투여군과 복분자와 홍삼 발효 투여군에서 CTL군과 비교 하였을 때, 각각 25.3, 26.3%로 비슷한 증가율을 나타내었다. 동맥경화를 유도하는 물질인 LDL-콜레스테롤 함량은 CTL에서 Normal에 비해 3.2배 증가하였고, 유산균발효투여군인 F에서는 유의적인 감소를 보이지 않았으나 simvastatin 투여군인 P, 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 투여군에서는 유의적인 감소를 나타냈으며, 그중 복분자와 홍삼 발효 투여군에서는 CTL에 비해 31% 감소하여 가장 낮은 LDL-콜레스테롤 함량을 보여 지질대사 개선의 생체 활성 효과를 갖는 것으로 생각할 수 있다. 고지방 고콜레스테롤 식이로 인해 콜레스테롤 섭취량이 많아지면 LDL이 혈관 내에서 체류 시간이 길어져 혈관 내피세포에서 화학적 산화를 받을 기회가 많아지는데 이는 혈관내피세포를 손상시켜 죽상동맥경화의 원인이 된다(30). 총 콜레스테롤은 혈청에 포함된 콜레스테롤 총량을 말하는 것으로 약 1/3이 유리콜레스테롤이며, 2/3가 콜레스테롤에스터로서 존재하며 고콜레스테롤혈증 외에 당뇨, 비만, 신장질환, 간・담도계 질환 등의 경우에 증가하게 된다. TC 측정결과, CTL에 비해 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 투여군에서 각각 29.6, 31.4% 감소하여 복분자와 홍삼 발효물 투여군에서 가장 낮은 함량을 보였다. 단순지질에 속하는 지방의 하나로 간에서 만들어지며 대분이 초저밀도리포단백질(VLDL)로 존재하는 TG 함량은 CTL에 비해 복분자와 홍삼 투여군 38.7% 감소하였으며, 복분자와 홍삼 발효 투여군에서는 44.6% 감소율로 가장 낮은 함량을 나타내었다. 이와 같은 결과는 일반적으로 포화지방산이 많이 함유된 동물성 지방의 섭취로 혈중 콜레스테롤 농도가 증가되는 연구결과(31)와 일치하며 *L.acidophilus*는 콜레스테롤을 흡수하는 것으로 섭취시 장내에서 콜레스테롤을 유산균이 흡수함으로써 체내로 이동하는 양이 적어져 혈청 콜레스테롤을 저하시킨다는 보고(32)와 같이 이를 이용한 복분자와 홍삼 발효 투여군이 유산균발효 투여군과 복분자와 홍삼 투여군보다 HDL-콜레스테롤의 농도를 높여주고, LDL-콜레스테롤 농도를 감소시켜주며, TC, TG의 함량이 가장 낮은 결과로 보아 혈중지질 개선에 효과가 기대된다.

간 조직내의 콜레스테롤 관련 유전자에 미치는 영향

고지방 고콜레스테롤 식이로 유도한 랫트에서 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효물과 양성대조군 simvastatin을 12주간 경구투여한 후에 간 조직 내에서 콜레스테롤 발현 유전자 발현을 조사하였다(Fig. 1).

콜레스테롤 함량이 높은 식이를 섭취한 경우에는 체내의 콜레스테롤 합성량이 저하되지만 이런한 합성 조절의 최종 단계는 HMG-CoA reductase의 활성에 달려있으며 이는 콜레스테롤을 조절하는 중요한 효소로서, 현재 동맥경화 치료에 사용되어지고 있는 statin 계열의 약물들은 HMG-CoA reductase의 저해제로 작용하고 있다. HMG-CoA reductase는 혈중 콜레스테롤이 높으면 간에서 효소의 합성이 낮아져 간으로의 콜레스테롤 이동을 촉진하고 혈중 콜레스테롤 농도가 낮아 체내 요구량이 높아지면 효소의 발현이 증가되어 콜레스테롤 합성을 촉진하여 혈장 콜레스테롤 수준을 조절하게 된다(33). 정상식이를 한 Normal 군과 고지방 고콜레스테롤 식이를 한 CTL군을 비교 했을 때, CTL 군에서는 38.9%의 유의적인 감소율을 보였으며, CTL군과 투여군을 비교하였을 때 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군에서 각각 50, 64% 유의적으로 증가하였고 이는 복분자와 홍삼 발효 추출물이 HMG-CoA reductase의 가장 높은 발현율을 보여

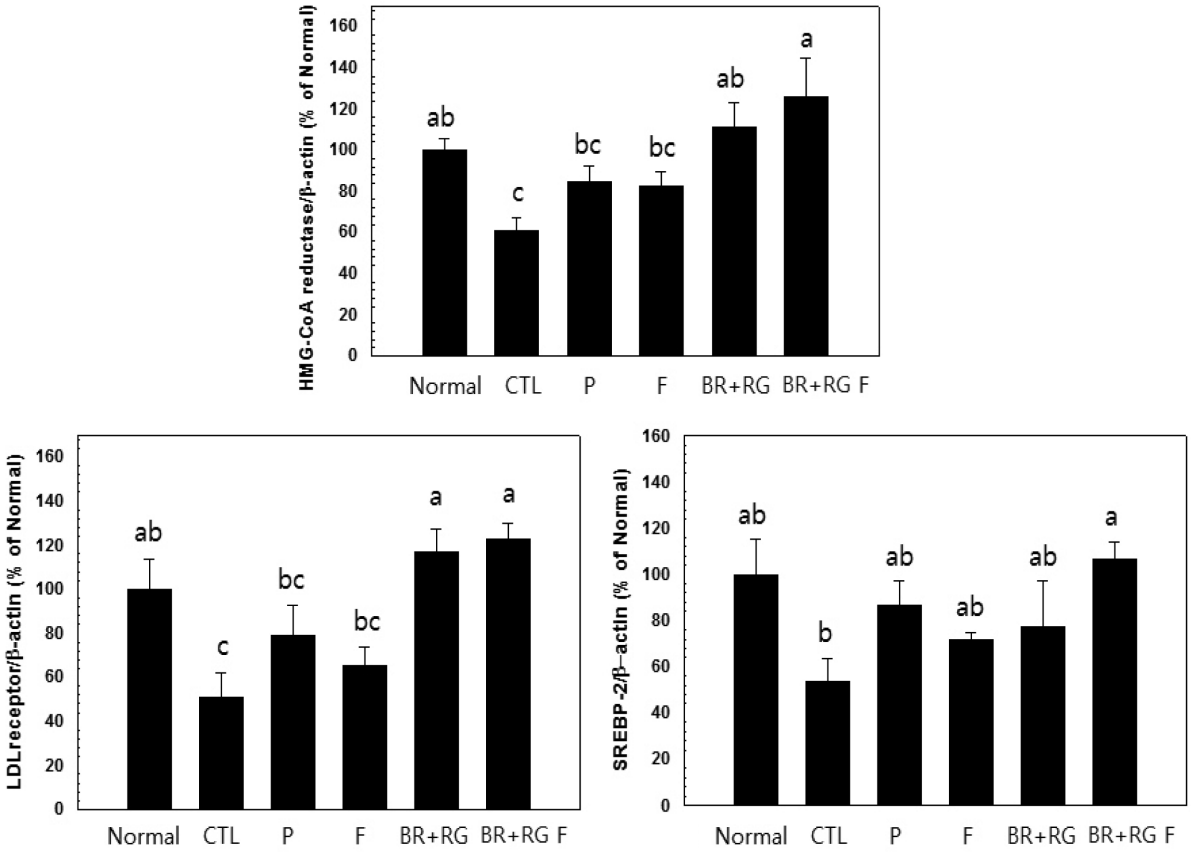

Fig. 1. Effects of fermented black raspberry and red ginseng on hepatic mRNA levels of HMG-CoA reductase, LDL receptor and SREBP-2 in HFHCD-fed rats for 12 weeks. The level of mRNA expression was determined by real-time RT-PCR quantification and normalized by that of mRNA β-actin, which was used as a control for RNA. [a-c]Values are expressed as mean±SE (n=8). Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

간에 공급되는 콜레스테롤 수치를 조절하는 것으로 판단된다.

혈중 지단백질은 LDL과 HDL로 나뉘는데 LDL은 혈관에 쌓이는 지질단백질로서, 혈중 콜레스테롤의 약 3/4를 형성하고(34), 간에서 조직과 세포로 콜레스테롤을 운반한다. 간에서의 LDLR은 혈중의 LDL-콜레스터롤과 IDL-콜레스테롤을 간으로 흡수하여 다시 담즙의 형태로 재흡수 되도록 한다. 또한 혈중 콜레스테롤을 제거하고 세포 내 콜레스테롤 양에 따라 발현이 조절되어 균형을 유지하는데 중요한 역할을 한다. LDLR의 발현은 콜레스테롤 농도를 낮출 뿐만 아니라 세포 내 콜레스테롤 항상성을 유지하기 위해 HMG-CoA reductase의 발현을 증가시킨다고 알려져 있다(33). 지방과 콜레스테롤의 급여는 혈중의 LDLR의 활성을 낮아지게 하는데 이와 같이 본 실험에서도 Normal 비해 CTL에서 LDLR 활성이 46% 감소하였다. 반면에 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군은 CTL 군과 비교하였을 때 각각 65.6, 71.6% 증가하여, 복분자와 홍삼 발효 추출물에서 가장 높은 mRNA 발현을 보였다. 이는 LDLR 발현을 높여 혈중의 콜레스테롤 수치를 낮추는 기작으로 작용했을 것으로 추측되어진다.

SREBPs 유전자는 SREBP-1과 SREBP-2로 나뉘어지는데 SREBP-1은 지질대사 관련 중성지방과 인지질의 생합성에 관련된 유전자의 조절에 관여하고 SREBP-2는 콜레스테롤의 생합성과 대사에 관련되어있으며 30개 이상의 유전자 발현을 직접적으로 활성화하는 중요한 전사활성 유전자이다(35). SREBP-2 발현은 고지방 고콜레스테롤 식이를 한 CTL군에 비해 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군은 53.9%의 유의적인 증가율을 보였다. SREBP-2는 LDLR 조절하는 역할로 LDLR 발현을 증가시켜 LDL-콜레스테롤의 세포 흡수를 차단하며 콜레스테롤을 저하시키는데(36) 복분자와 홍삼 발효 추출물이 콜레스테롤 대사에 관여하는 유전자를 조절하여 콜레스테롤 저하제 역할을 하는 것으로 판단된다.

복분자는 생리활성물질의 일종인 폴리페놀과 플라본(flavone)이 풍부하게 함유되어있는데(9) 폴리페놀 중 ellagic acid, gallic acid, caffeic acid 및 ferulic acid가 혈중 콜레스테롤의 함량을 낮춰준다는 연구결과(8)와 발효 전 보다 발효 후 phenolic compounds 함량 및 DPPH 라디칼 소거 활성능이 증가 하였다(37) 보고되었고 홍삼 또한 고유의 새로운 생리활성 성분인 Rg2, Rg3, Rh2, Rs1, Rs2, Rh4의 물질(11)이 발효 후 Rh1, Rg2s, Rd, Rg3r, Rg3s 성분이 증가하였다는 보고(38)에 따라 이 연구 결과 또한 발효를 통한 ginsenoside의 증가로 혈중지질 및 비만 개선에 긍정적인 효과를 미친 것으로 생각되어진다. 유산균은 우유 중에서의 생육시 체내 콜레스테롤 합성을 억제하는 대사물을 생성하는 것으로 알려져 있으며(39), Gilliland 등(32)은 *L. acidophilus*가 콜레스테롤을 분해 할 수 있다고 하였고, 식이로 급여된 콜레스테롤의 일부를 분해할 수 있기 때문에 혈액으로의 흡수를 불가능하게 할 수 있다고 보고하였다. 이 실험의 결과로 보아 skim milk에서 *L. acidophilus*를 이용한 미생물의 발효 산물이 콜레스테롤 합성효소의 활성을 억제하여 콜레스테롤 생성을 낮춤과 동시에 분변을 통한 콜레스테롤 제거를 촉진함으로써 복분자와 홍삼 발효 추출물이 콜레스테롤을 분해하여 혈중 및 간에서의 중성지방 수치를 저하 시킨 것으로 판단된다.

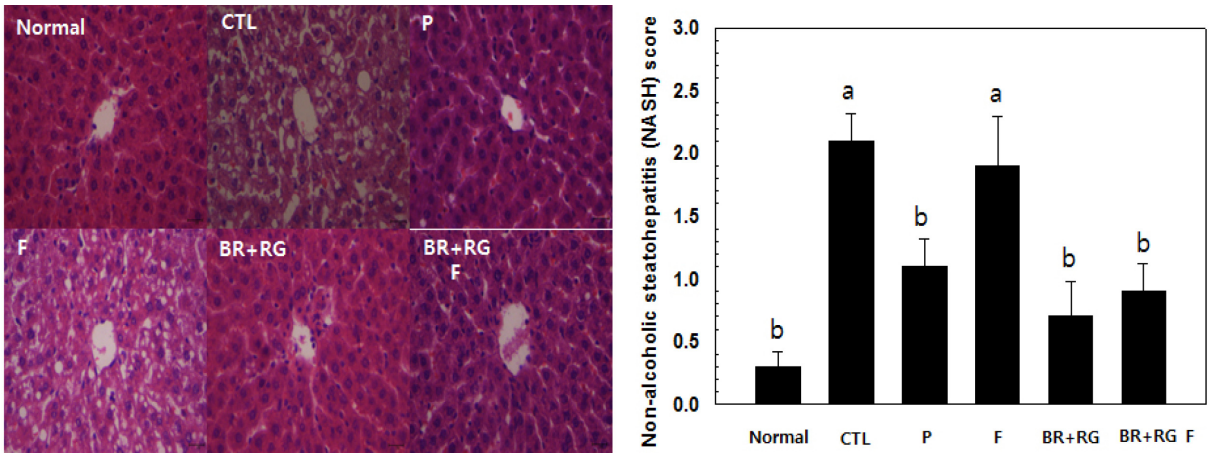

Fig. 2. NASH score and histologic change of liver tissue by fermented black raspberry and red ginseng treatment in rats fed with the HFHCD for 12 weeks. NASH, non-alcholic steatohepatitis. H&E stain, ×400. [ab]Values are expressed as mean±SE (n=8). Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

간의 병리조직학적 관찰

간조직으로 실시한 병리조직학적 검사결과는 Normal군의 모든 개체에서 간에 유의한 병변과 지방간이 관찰되지 않았다. 반면 고지방 고콜레스테롤 식이를 먹은 CTL군에서는 간세포 내 크고 작은 공포모양의 지방구가 침착되어 간 손상과 지방간 소견이 관찰되었다. 고지방 고콜레스테롤 식이를 먹여 비만이 유도 된 개체에 복분자와 홍삼 추출물, 복분자와 홍삼 발효 추출물을 투여한 군에서는 CTL군에 비교하여 간 손상의 정도가 현저히 감소되어 있으며 간세포 내 크고 작은 공포 모양의 지방구가 현저히 줄어들어 있었다. 대조 약물로 simvastatin을 투여한 군에서 발견된 간세포 내 크고 작은 공포 모양의 지방구가 현저히 줄어들어 있었다. 병리조직학적 검사 결과 고지방 고콜레스테롤 식이를 한 CTL군에서 지방간 병변이 유의하게 유발되어 있는 것을 확인하였으며, 복분자와 홍삼 추출물, 복분자와 홍삼 발효 추출물을 투여한 군 모두 지방세포 침윤과 같은 지방간 병변이 억제되는 치료효과가 확인되었고 CTL군 보다 간세포 내 지방구가 현저히 줄어든 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

병리조직학적 검사를 위하여 통상적 병리 제작 후 H&E 염색을 실시한 후 병리조직학 검사로 먼저 NASH score를 실시하였다. NASH score는 비알콜성 지방간염을 말하며 알코올성 간질환에서 보이는 병리학적인 특징을 채점해 그래프로 나타내 본 결과 병리조직학적 점수는 Normal군 0.3±0.49, 고지방 고콜레스테롤 식이군인 CTL군 2.1±0.38, 양성대조군인 P군 1.1±0.38, 유산균 발효 F군이 1.9±0.69으로, 복분자와 홍삼 0.7±0.49, 복분자와 홍삼 발효 추출물 0.9±0.38이 CTL군 2.1±0.83에 비교하여 비알콜성 지방간염의 점수가 유의적으로 낮게 나타났다. 위 결과로 복분자와 홍삼 및 복분자와 홍삼 발효 추출물이 고지방 고콜레스테롤 식이에 의한 간세포의 지방간을 완화 시킬 수 있는 것으로 판단된다(Fig. 2).

혈청에서 지방관련 효소의 농도

Leptin은 지방조직에서 생성되어 혈중으로 분비되는 호르몬으로 에너지가 과잉 축적될 때 혈중 leptin의 농도는 증가하고, leptin의 농도가 적을수록 체중 및 체지방량이 감소하여 지방세포의 저장이 줄어들게 된다(40). Halaas 등(41)과 Pelleymounter 등(42)의 연구 결과에 따르면 leptin의 식욕억제 및 대사율 증가는 정상인에 비해 대부분의 비만인 사람들에게서 농도가 유의적으로 높게 나타났으며, 본 연구 결과에서도 Normal에 비해 고지방 고콜레스테롤 식이군인 CTL에서 leptin의 농도가 36% 유의적으로 증가한 것으로 보아 체내 지방 축적량이 증가됨에 따른 영향이라고 판단된다. 양성대조군인 P와 유산균 발효군 F 에서는 유의적인 감소율을 나타내지 않았지만 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 추출물에서는 각각 34, 55%로 유의적인 감소율을 보여, 이는 복분자와 홍삼 발효추출물이 체내 지방량 감소에 기여한 것으로 판단된다(Fig. 3).

FAS는 지방산 생합성에 관여하는 효소로 간에서 합성된 지방산은 중성지방으로 전환되어 VLDL의 형태로 혈관을 순환하며 지방조직에 중성지방을 전달한다. 따라서 FAS의 농도는 혈중 중성지방 농도(43)와 SREBP-1의 조절(44)을 받는 것으로 알려져 있으며, 혈중 FAS의 농도는 Fig. 3와 같다. Normal군에 비해 CTL군은 28% 유의적인 증가를 보였으며 CTL군에 비해 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군에서 각각 64.5, 58.2%로 감소율을 보였다. 중성지방과 지방산의 합성에 포함된 유전자를 선택적으로 활성화 하는 SREBP-1은 고지방 고콜레스테롤 식이를 한 CTL군에 비해 양성대조군이 P, 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군에서 각각 3.7배, 2.9배 유의적으로 감소하였다. 이는 계피초임계 추출물에서 지방세포 분화에 관여하는 C/EBP, PPAR-γ, SREBP-1 발현을 억제하여 지방세포의 분화를 억제하였으며, 지방세포의 비대와 과형성을 감소시키고, 지방세포의 감소에 의해 FAS를 억제했다는 연구결과(45)와 일치한다. 위 연구는 혈중 중성지방 농도, FAS 및 SREBP-1의 발현이 일관성있는 결과를 나타내었으며 이는 혈중 중성지방 농도의 감소를 초래하는 원인은 다양하겠으나 복분자와 홍삼 발효 추출물의 기능성 성분으로 전사인자인 SREBP-1이 FAS를 조절하여 지방산의 합성을 억제함으로써 혈중 중성지방의 감소를 초래한 것으로 판단된다. C57BL/KsJ db/db 마우스에 홍삼 100 mg/kg을 투여하였을 시 SREBP-1과 FAS의 발현이 감소하여 당뇨 개선에 효과가 있음을 밝혔으며(46), 커피 폴리페놀에서도 SREBP-1을 감소시켜 지방 생성과 체지방 축적를 억제시킨다(47) 보고하였다. 뿐만 아니라 백년초 및 녹차 첨가 연근부각군의 혈중 중성지방 농도가 연근부각군에 비해 약20% 정도 감소하였고 FAS 및 SREBP-1의 발현도 유의적인 감소를 보인 실험결과(48)는 이 연구결과와 일치하였다. 이와 같이 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여여군은 지방산 합성효소를 저해함으로써 고지방 고콜레스테롤 식이를 급

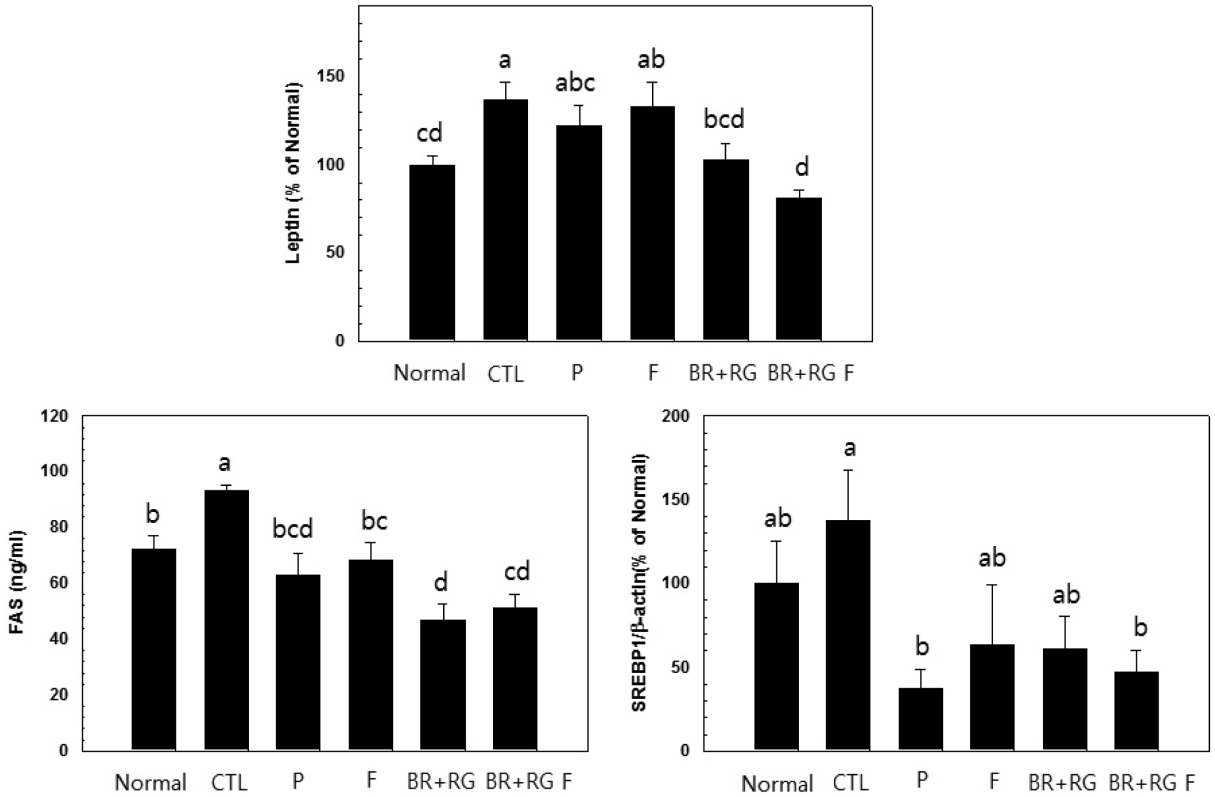

Fig. 3. Effects of fermented black raspberry and red ginseng extracts on leptin and FAS concentrations and SREBP-1 mRNA expression in hyperlimidemic rats fed with the HFHCD for 12 weeks. [a-d]Values are expressed as mean±SE (n=8). Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

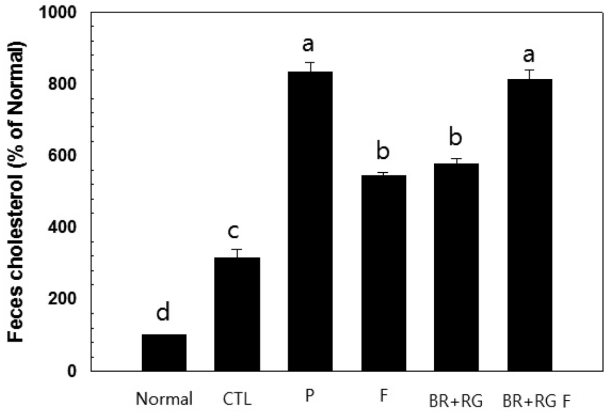

Fig. 4. Effect of fermented black raspberry and red ginseng on fecal cholesterol excretion in rats fed with the HFHCD for 12 weeks. [a-d]Values are expressed as mean±SE (n=8). Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

여한 랫트의 체내 지방생성 억제에 기여한 것으로 판단된다.

대변에서 콜레스테롤 분석

대변에서의 지질함량은 체외로의 콜레스테롤 배출양을 보여주는 지표로 사용지고 있으며 그 결과는 Fig. 4와 같다. 대변 중의 콜레스테롤 함량은 정상식이를 한 Normal 군에 비해 고지방 고콜레스테롤 식이군인 CTL 군에서 3.1배 유의적으로 증가하였고 CTL 군에 비해 양성대조군이 simvastatin 투여군과 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군에서 각각 2.7배, 2.6배 유의적으로 증가하였다. Vahouny 등(49)의 연구 결과에 의하면 여러 종류의 식이섬유소는 랫트의 소장에서 콜레스테롤과 담즙산의 재흡수를 저해하여 배출을 촉진시킨다고 하였고, 유산균은 우유 중에서의 생육시 체내 콜레스테롤 합성을 억제하는 대사물질을 생성하는 것으로 알려져 있으며 Gilliland 등(32)은 *L. acidophilus*가 콜레스테롤을 분해할 수 있다고 하였다. 이는 복분자와 홍삼 발효 추출물이 소화기에서 지질의 흡수를 억제시켜 변으로서의 지질 배설을 촉진하여 체내 콜레스테롤 함량을 감소시키는데 효과적인 것으로 평가되며 이 결과는 간조직과 혈중의 중성지방 함량이 감소된 결과와 일치하였다.

요 약

이 연구는 고지방 고콜레스테롤 식이를 12주 동안 랫트에게 공급하여 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 추출물의 지질대사 및 비만 개선효과를 조사하였다. 정상식이, 고지방 고콜레스테롤 식이, 양성대조군, 유산균발효군, 복분자와 홍삼, 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군의 체중증가, 음수, 식이 섭취량은 그룹간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 하지만 혈중 HDL-콜레스테롤은 고지방 고콜레스테롤 식이와 비교 했을 때 복분자와 홍삼 발효 추출물에서 유의적인 증가를 보였으며, LDL-콜레스테롤, 중성지방은 유의적인 감소율을 보였다. 또한, 간 조직에서 복분자와 홍삼 발효추출물 처치에 의해 HMG-CoA reductase, LDL receptor 및 SREBP-2 mRNA의 발현 증가와 지방생성 억제를 확인하였다.

그리고 복분자와 홍삼 발효 추출물 투여군은 비만인자인 혈중 leptin과 FAS의 농도를 유의적으로 감소시켰을 뿐만 아니라 대변에서 체내 콜레스테롤 배출을 증가시켰다. 이러한 결과로 미루어 보아 복분자와 홍삼 발효 추출물은 혈중 지질 대사 및 비만의 예방에 기여할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 산업통산자원부의 지역특화기술융복합연구지원사업의 2014년도 연구비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

References

1. Han YO. The development of module for measurement and wireless communication of SpO2/PPG signals. J. Korea Inst. Electron. Commun. Sci. 6: 981-986 (2011)
2. Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. Nature 444: 881-887 (2006)
3. Nam SM, Ha EH, Suh YJ, Park SH, Chang MH, Seo JH, Kim BM. Effect of obesity and blood lipid profiles on hyperlipidemia in adults aged over 40 years. Korean J. Obes. 17: 20-28 (2008)
4. Eu GS, Chung BY, Bandopadhyay R, Yoo NH, Choi DG, Yun SJ. Phylogenic relationships of *Rubus* species revealed by randomly amplified polymorphic DNA markers. J. Crop Sci. Biotech. 11: 39-44 (2008)
5. Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells *in vitro*. J. Agr. Food Chem. 54: 9329-9339 (2006)
6. Chen T, Hwang HJ, Rose ME, Nines RG, Stoner GD. Chemopreventive properties of black raspberries in *N*-nitrosomethylbenzylamine-induced rat esophageal tumorigenesis: Down-regulation of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase, and c-jun. Cancer Res. 66: 2853-2859 (2006)
7. Wang SY, Jiao H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. J. Agr. Food Chem. 48: 5677-5684 (2000)
8. Lee SJ, Lee MJ, Ko YJ, Choi HR, Jeong JT, Choi KM, Cha JD, Hwang SM, Jung HK, Park JH, Lee TB. Effects of extracts of unripe black raspberry and red ginseng on cholesterol synthesis. Korean J. Food Sci. Technol. 45: 628-635 (2013)
9. Choi HR, Lee SJ, Lee JH, Kwon JW, Lee HK, Jeong JT, Lee TB. Cholesterol-lowering effects of unripe black raspberry water extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 42: 1899-1907 (2013)
10. Yang HM, Oh SM, Lim SS, Shin HK, Oh YS, Kim JK. Antiinflammatory activities of *Rubus coreanus* depend on the degree of fruit ripening. Phytother. Res. 22: 102-107 (2008)
11. Park CK, Kwak YS, Hwang MS, Kim SC, Do JH. Trends and prospect of ginseng products in market health functional food. Food Sci. Ind. 40: 30-45 (2007)
12. Nam KY. The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs processed ginsengs (panax ginseng C. A. Meyer). J. Ginseng Res. 29: 1-18 (2005)
13. Sung, H, Jung YS, Cho YK. Beneficial effects of a combination of Korean red ginseng and highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected patients. Clin. Vaccine Immunol. 16: 1127-1131 (2009)
14. Joo CN, Koo JH, Baik TH. Biochemical study of some pharmacological effects of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Biochip. J. 13: 63-80 (1980)
15. Yoon SH, Joo CN. Study on the preventive effect of ginsenosides against hypercholesterolemia and its mechanism. J. Ginseng Res. 17: 1-12 (1993)
16. Kang BH, Koo JH, Joo CN. Effect of saponin fraction of *Panax ginseng* C. A. Meyer on blood serum lipoprotein distribution of cholesterol fed rabbits. J. Ginseng Res. 10: 114-121 (1986)
17. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fondén R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T. Demonstration of safety of probiotics-a review. Int. J Food Microbiol. 44: 93-106 (1998)
18. Danielson AD, Peo ER Jr, Shahani KM, Lewis AJ, Whalen PJ, Amer MA. Anticholesteremic property of *Lactobacillus* acidophilus yogurt fed to mature boars. J. Anim. Sci. 67: 966-974 (1989)
19. Goldin BR, Gorbach SL, Saxelin M, Barakat S, Gualtieri L, Salminen S. Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. Digest. Dis. Sci. 37: 121-128 (1992)
20. Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Agüero G, Gobbato N. Immune system stimulation by probiotics. J. Dairy Sci. 78: 1597-1606 (1995)
21. Trinh HT, Han SJ, Kim SW, Lee YC, Kim DH. Bifidus fermentation increases hypolipidemic and hypoglycemic effects of red ginseng. J. Microbiol. Biotechn. 17: 1127-1133 (2007)
22. Jeon BS, Park JW, Kim BK, Kim HK, Jung TS, Hahm JR, Kim DR, Cho YS, Cha JY. Fermented mushroom milk-supplemented dietary fibre prevents the onset of obesity and hypertriglyceridaemia in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Diabetes Obes. Metab. 7: 709-715 (2005)
23. Bae EA, Hyun YJ, Choo MK, Oh JK, Ryu JH, Kim DH. Protective effect of fermented red ginseng on transient focal ischemic rats. Arch. Pharm. Res. 27: 1136-1140 (2004)
24. Tanida M, Shen J, Maeda K, Horii Y, Yamano T, Fukushima Y, Nagai K. High-fat diet-induced obesity is attenuated by probiotic strain *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461) in rats. Obes. Res. Clin. Pract. 2: 159-169 (2008)
25. Miyoshi M, Ogawa A, Higurashi S, Kadooka Y. Anti-obesity effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 accompanied by inhibition of pro-inflammatory gene expression in the visceral adipose tissue in diet-induced obese mice. Eur. J. Nutr. 53: 599-606 (2014)
26. Rossouw JE, Burger EM, Van der Vyver P, Ferreira JJ. The effect of skim milk, yoghurt, and full cream milk on human serum lipids. Am. J. Clin. Nutr. 34: 351-356 (1981)
27. Park JH, Moon HJ, Oh JH, Lee JH, Choi KM, Cha JD, Lee TB, Lee MJ, Jung HK. Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods and development of a starter for fermented milk. Korean J. Food Preserv. 20: 712-719 (2013)
28. Nylén ES, Faselis C, Kheirbek R, Myers J, Panagiotakos D, Kokkinos P. Statins modulate the mortality risk associated with obesity and cardiorespiratory fitness in diabetics. J. Clin. Endocr. Metab. 98: 3394-3401 (2013)
29. Neuschwander-Tetri BA, Clark JM, Bass NM, van Natta ML, Unalp-Arida A, Tonascia J, Zein CO, Brunt EM, Kleiner DE, McCullough AJ, Sanyal AJ, Diehl AM, Lavine JE, Chalasani N, Kowdley KV, NASH Clinical Research Network. Clinical, laboratory and histological associations in adults with nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 52: 913-924 (2010)
30. Son HH, Park MR, Rhee SJ. Effects of dietary xylooligosaccharides on lipoprotein lipase activity in epididymal adipose tissue and lipid composition in serum of rats fed high fat diets. Korean J. Nutr. 35: 1015-1022 (2002)
31. Rim JCK, Kang SA. Effect of high fat and high carbohydrate diet on serum leptin and lipids concentration in rat. J. Nutr. Health 34: 123-131 (2001)
32. Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol. 49: 377-381 (1985)
33. Pal S, Ho N, Santos C, Dubois P, Mamo J, Croft K, Allister E. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. J. Nutr. 133: 700-706 (2003)
34. Mahley RW, Innerarity TL, Rall Jr SC, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: Apoprotein structure and function. J. Lipid Res. 25: 1277-1294 (1984)
35. Rodríguez-Cantú LN, Gutiérrez-Uribe JA, Arriola-Vucovich J, Díaz-De La Garza RI, Fahey JW, Serna-Saldivar SO. Broccoli (*Brassica oleracea* var. italica) sprouts and extracts rich in glucosinolates and isothiocyanates affect cholesterol metabolism and genes involved in lipid homeostasis in hamsters. J. Agr. Food

Chem. 59: 1095–1103 (2011)
36. Lee SM, Han HW, Kim YH. JNK-mediated SREBP-2 processing by genistein up-regulates LDLR expression in HepG2 Cells. J. Nutr. Food Sci. 4: 308-314 (2014)
37. Ju HK, Cho EJ, Jang MH, Lee YY, Hong SS, Park JH, Kwon SW. Characterization of increased phenolic compounds from fermented *Bokbunja* (*Rubus coreanus* Miq.) and related antioxidant activity. J. Pharmaceut. Biomed. 49: 820-827 (2009)
38. Kang BH, Lee KJ, Hur SS, Lee DS, Lee SH, Shin KS, Lee JM. Ginsenoside derivatives and quality characteristics of fermented ginseng using lactic acid bacteria. Korean J. Food Preserv. 20: 573-582 (2013)
39. Rao DR, Chawan CB, Pulusani SR. Influence of milk and themophilus milk on plasma cholesterol levels and hepatic cholesterogenesis in rats. J. Food Sci. 46: 1339-1341 (1981)
40. Behme MT. Leptin: Product of the obese gene. Nutr. Today 31: 138-141 (1996)
41. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. Science 269: 543-546 (1995)
42. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science 269: 540-543 (1995)
43. Agheli N, Kabir M, Berni-Canani S, Petitjean E, Boussairi A, Luo J, Bornet F, Slama G, Rizkalla SW. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. J. Nutr. 128: 1283-1288 (1998)
44. Shimano H. SREBPs: Physiology and pathophysiology of the SREBP family. FEBS J. 276: 616-621 (2009)
45. Park SJ, Lee IS, Lee SP, Yu MH. Inhibition of adipocyte differentiation and adipogenesis by supercritical fluid extracts and marc from cinnamomum verum. J. Life Sci. 23: 510-517 (2013)
46. Yuan HD, Shin EJ, Chung SH. Anti-diabetic effect and mechanism of korean red ginseng in C57BL/KsJ db/db mice. J. Ginseng Res. 32: 187-193 (2008)
47. Murase T, Misawa K, Minegishi Y, Aoki M, Ominami H, Suzuki Y, Shibuya Y, Hase T. Coffee polyphenols suppress diet-induced body fat accumulation by downregulating SREBP-1c and related molecules in C_{57}BL/6J mice. Am J. Physiol.-Endoc. M. 300: E122-E133 (2011)
48. Kim MJ, Hong SH, Chung L, Choe EO, Song YO. Development of lotus root bugak with plasma lipid reduction capacity by addition of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* or green tea as a coloring agent. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 43: 333-340 (2014)
49. Vahouny GV, Roy T, Gallo LL, Story JA, Kritchevsky D, Cassidy M, Grund BM, Treadwell CR. Dietary fiber and lymphatic absorption of cholesterol in the rat. Am. J. Clin Nutr. 31: S208-S212 (1978)