ISSN (Print) 1225-9918
ISSN (Online) 2287-3406
Journal of Life Science **2015** Vol. 25. No. 8. 917~924 DOI : http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2015.25.8.917

Improvement Effect of Fermented *Orostachys malacophyllus* against Orotic Acid-induced Fatty Liver Model Rats

Hee-Young Ahn, Da-Jeong Choe and Young-Su Cho*

Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received June 25, 2015 /Revised August 13, 2015 /Accepted August 13, 2015

This study aimed to evaluate the protective effect of *Orostachys malacophyllus* (OM) and fermented *O. malacophyllus* (FOM) in Sprague-Dawley rats who had been intoxicated with 1% (w/w) orotic acid (OA) for 10 days. The activities of several hepatic enzymes, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), and cholinesterase, were increased when OA was given, but these parameters were significantly decreased by FOM treatment. In addition, OA treatment resulted in an increased lipid peroxidative index (thiobarbituric acid-reactive substances, TBARS). A worsened antioxidant status (reduced glutathione) in the liver and serum was also observed. FOM treatment improved the antioxidant status of OA-induced fatty-liver rats, which was evaluated by decreased levels of the lipid peroxidative index and improved antioxidant status in the liver and serum. The contents of liver non-heme iron were increased with OA treatment and significantly decreased with FOM treatment, which suggested that the lipid peroxidation contents were inversely correlated with liver non-heme iron content. Based on these results, FOM is considered a material with significant potential for development into a functional health food that can improve fatty-liver conditions.

Key words : Fermentation, fatty liver, lactic acid bacteria, *Orostachys malacophyllus*, orotic acid

서 론

비알코올성 지방간은 비음주자에서 조직학적으로 간 조직 내 지방이 정상보다 과다 축적에 의해 나타나는 질환으로, 단순 지방증에서 염증반응이나 섬유화를 동반하는 지방간염, 심한 경우 간경변에 이르기까지 다양한 형태로 나타난다[17]. 비알코올성 지방간의 발생에는 인슐린 저항, 산화스트레스, 염증반응 및 유리지방산이 중요한 역할을 하고, 그 외 유전과 환경적인 요인도 관련되는 것으로 보고되고 있다[24]. 최근에 비알코올성 지방간은 당뇨, 비만 등의 대사 증후군과 유사한 병태생리 기전을 따르며, 이들 질환과의 관련성도 높은 것으로 보고되면서[12] 인체에서 중요한 역할을 하는 장기 중 간장 치료제 개발에 대한 연구는 그 의미가 클 것으로 생각된다.

본 실험에서 사용한 orotic acid는 pyrimidine nucleotide 생합성의 중간 유도체로서, 실험동물과 사람에게 과량 투여시 저지혈증을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 기작으로 중성지질을 운반하는 간장의 VLDL (very low density lipoprotein)의 분비 저해가 시사되어 있는데, 이는 중성지질이 VLDL 입자 내로 운반될 때 MTP (microsomal triglyceride transfer protein)가 중요한 역할을 하지만, orotic acid의 과량 투여에 의해 간장에서 MTP 활성과 유전자 전사를 억제시켜 혈중으로의 지질 분비를 억제시킴으로써 간장에 중성지질이 축적되는 것으로 보고되고 있다.

와송은 돌나무과(*Crassulaceae*)에 속하는 바위솔속(*Orostachys*) 식물로 한국, 일본 및 중국 등 주로 동아시아에 분포하는 것으로 알려져 있다. 우리나라에는 *O. japonicus*, *O. malacophyllus*, *O. minutes*, *O. iwarenge* 등이 자생하고 있는 것으로 보고되었다[9]. 주로 *O. japonicus*를 이용한 항암[11], 항산화[15], 항균[25] 및 항염[14] 등의 연구가 많이 이루어져 있다. 본 실험에 사용한 *O. malacophyllus*는 현재 재배가 가능하여 농가에서 재배되어 시중에서 판매되고 있는 품종이지만 *O. japonicus*에 비해 연구가 부족한 실정이다. *O. japonicas*와 생약재 복합물이 streptozotocin (STZ) 유발 당뇨 흰쥐에서 간장의 중성지질의 농도는 당뇨 대조군에 비해 감소한다고 보고되었고[23], 최근에 유산균으로 발효시킨 *O. malacophyllus* 가 농도 의존적으로 알코올성 지방간 개선에 효과가 있다는 것이 입증되었다[20]. 따라서 실제 농가에서 재배되어 시중에서 판매되고 있는 *O. malacophyllus*와 유산균으로 발효시킨 *O. malacophyllus* 의 식이 첨가가 orotic acid 유발 비알코올성 지방간 개선에 미치는 영향에 대하여 비교 검토하였다.

***Corresponding author**
Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505
E-mail : choys@dau.ac.kr

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.

재료 및 방법

실험재료 및 발효조건

본 실험에 사용한 와송(둥근바위솔, *Orostachys malacophullus*) 분말은 ㈜풀그린에서 구입 하였다. 자연 건조 시킨 와송 분말과 이 건조 분말에 시판되고 있는 유산균 starter (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*) (Yougoumet, Quebec city, Canada)를 5% 접종하여 3일간 37℃에서 고체 발효한 후, 60℃에서 열풍 건조한 발효와송을 실험 재료로 사용하였으며, 식이에 각각 2.5%와 5.0%로 첨가하였다. Orotic acid을 1% 수준으로 타 영양성분을 혼합하여 대조구로 사용하였고, 식이에 orotic acid, 와송과 발효와송은 sucrose를 대체하여 첨가하였다

실험동물, 식이조성 및 사육조건

실험 동물은 4주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 ㈜대한바이오링크(충북, 음성)로부터 구입하여 온도 22±2℃, 습도 50±5%, 명암주기 12시간(9:00~21:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 사육하였다. 일주일간 시판 고형 사료를 급여하면서 사육실 환경에 적응시켰다. 적응기간 후, 각 군에서 체중이 동일하게 난괴법(randomized complete block design)으로 분류하여 Table 1과 같이 정상군(N), 대조군(OA), 투여군(2.5OM, 5OM, 2.5FOM, 5FOM)으로 총 6군으로 나누어 실험을 진행 하였다. 실험동물은 각 군마다 6마리씩 나누고, 식이와 물은 10일간 자유급여 시켰다. 사육 기간 중 식이 섭취량은 매일 측정하였고, 체중은 4일을 주기로 일정한 시간에 측정하였다. 이 실험은 동아대학교 동물윤리위원회의 승인(IRB-DIACUC-승인-12-20)을 받았으며 위원회의 동물실험 취급 규정에 따라 사육하고 실험하였다.

동물실험, 시료 채취 및 분석시료 조제

동물 실험은 10일간 각 군별로 조제 시료를 급여하면서 사육한 후, 실험 최종일 12시간 이상 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 해부하였다. 개복 후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 혈액을 채취하고, 약 30분간 실온에 방치시킨 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 얻은 혈청을 생화학적 분석에 제공하였다. 채혈 후 각 조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 세척하고 여과지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 분석시료로 제공하였다.

혈청 효소 분석

혈청 중의 간장의 손상 상태를 파악하는 몇몇 효소로 알려진 ALT, AST, Alkaline phosphatase (ALP), Cholinesterase, LDH활성은 임상검사 수탁전문기관인 삼광의료재단(Seoul, Korea)에 의뢰하여 분석하였다.

각 조직의 분획 조제 및 과산화지질 측정

각 조직으로부터 homogenate 분획 조제는 조직을 일정량 취해 250 mM sucrose를 함유한 homogenate 용액을 4배량 첨가하여 마쇄 균질액을 제조하였다. 분획한 homogenate 생체막의 과산화지질 함량은 전보의 방법[19]에 준하여 정량 하였다. 즉, 각 조직 homogenate 분획 용액 1 ml에 각각 thiobarbituric acid (TBA) 시약 2 ml을 가하여 잘 혼합하고, 수조상에서 30분간 가열한 후 실온에서 방냉하여 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 한 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 과산화지질 함량은 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

미네랄 함량 측정

각 조직의 미네랄 함량은 A.O.A.C. 분석 방법에 준하여 측

Table 1. Compositions of experimental diets (%)

	N	Orotic acid				
		OA[1)]	2.5OM[2)]	5OM	2.5FOM[3)]	5FOM
Casein	20	20	20	20	20	20
α-Corn starch	15	15	15	15	15	15
Corn oil	10	10	10	10	10	10
Cellulose	5	5	5	5	5	5
AIN-93 mineral mixture[4)]	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
AIN-93 vitamin mixture[5)]	1	1	1	1	1	1
L-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
OM	-	-	2.5	5	-	-
FOM	-	-	-	-	2.5	5
Orotic acid	-	1	1	1	1	1
Sucrose	45	44	41.5	39	41.5	39
Total (%)	100	100	100	100	100	100

[1)]OA: Orotic acid, [2)]OM: *Orostachys malacophyllus*, [3)]FOM: *Lactobacillus* Fermented *Orostachys malacophyllus*, [4)]AIN 93 M-MX mineral mix, MP Biomedicals, Illkirch, France, [5)]AIN 93 VX vitamin mix, MP Biomedicals, Illkirch, France.

정하였다[1]. 즉, 간 조직 1 g을 각 550℃ 회화로에서 3시간 회화 시킨 후 6 N HCl에 용해시켜 완전히 산분해시켜 수욕상에서 산을 완전히 제거하고, 이 건고물에 3 N HCl를 가하여 Whatman No. 4 여과지로 여과하여 원소 종류에 따라 각각 일정비율로 희석하여 원자흡광 분광광도계(AAnalyst 300, Perkin Elmer, Norwalk. CT, USA)를 이용하여 측정하였다.

Glutathione 함량 측정

Glutathione 함량은 각 조직의 homogenate 분획 0.2 ml에 3차 증류수 0.3 ml과 0.4% sulfosalicylic acid 0.5 ml를 가하여 혼합하고 원심분리 시킨 뒤 상등액 0.3 ml에 5,5′-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)(DTNB) 발색시약을 첨가하여 412 nm 흡광도에서 측정하여 glutathione의 표준 검량 곡선에 의해 함량을 산출하였으며 간 조직 g당 mg으로 표시하였다[4].

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차(mean± SE)로 표시하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 하였다[8].

결과 및 고찰

체중, 식이 및 음료 섭취량 변화

Orotic acid 1% 수준으로 첨가하여 지방간을 유발한 흰쥐의 와송 (둥근 바위솔, *Orostachys malacophyllus*)과 유산균으로 발효된 와송 분말이 미치는 영향을 확인하기 위해 와송(OM)과 발효 와송(FOM) 분말을 각각 2.5%와 5% 농도로 기본 식이에 첨가하여 10일간 투여하였다(Table 2). N군의 체중 증가에 비해 OA 투여군들의 체중 증가는 적은 경향을 보였다. 이는 Orotic acid 를 식이에 첨가하면 단기간에 지방간이 유발되는데, 이로 인해 성장에 영향을 미친 것으로 사료된다.

각 장기의 무게

각 장기의 무게는 체중에 대한 상대 중량(%)으로 Table 3에 나타내었다. 간장의 무게는 정상군과 비교하여 OA 대조군 및 투여군 모두에서 증가하여, Cha 등[6] 연구에서 orotic acid투여 지방간 유발 흰쥐의 간장 무게가 orotic acid 투여군에서 증가한다는 결과와 일치하였다. OM군과 FOM군의 간장 무게는 OA군에 비해 유의적으로 감소한 결과를 보여OM와 FOM의 식이 첨가가 지질 축적으로 인한 지방간 비대 현상을 억제시키는 영향을 준 것으로 사료된다. 한편, 신장과 심장의 무게는 모든 군에서 유의적인 차이가 없었고, 고환과 비장의 무게는 orotic acid 투여 여부에 따라 약간의 차이를 보였다.

혈청 중의 ALT, AST, ALP, LDH 및 Cholineesterase 활성 변화

혈청 중의 AST, ALT, ALP, Cholinesterase 및 LDH의 활성은 Fig. 1에 나타내었다. AST와 ALT는 간 손상 지표로서 널리 사용되는 효소이며, 간 세포질에 존재하여 손상을 받게 되면 혈중으로 유출된다. AST와 ALT의 증가는 간세포의 괴사와 간 조직의 파괴가 진행됨을 의미하므로 이들 효소의 혈중 유리 정도를 측정하여 연구에 이용하고 있다[21]. AST와 ALT의 활성을 확인해본 결과, N군에서 낮고, OA군에서 활성이 높았으며, OM군과 FOM군에서 OA군에 비해 유의적으로 감소한 경향을 보였다. 간장 기능적 임상지표로 사용되고 있는 혈청 ALP, Cholinesterase 및 LDH의 활성 또한 지방간 조직 모델에서 증가함으로써 간장 독성 유발과 관련성을 가진 것으로 보고되고 있다[6]. ALP와 Cholinesterase 활성은 OA군 모두에서 증가 경향을 보였으나, 이러한 증가는 OM군과 FOM군에서 농도의존적으로 점차 감소하는 양상을 나타내었다. LDH는 체내 혐기적 해당계의 최종 단계에서 산화, 환원 반응에 관여하는 효소로 급성간염, 초기간암, 심근경색, 악성빈혈, 백혈병 등에서 상승하는 효소로 알려져 있다[10]. LDH 활성에서는 N군과 OA 투여군들 대부분에서 차이를 나타내지 않았지만, 5FOM군에서는 유의적으로 감소하였다. 이로써 OM과 FOM은 간 기능 개선에 영향을 미치는 것으로 사료되며, 특히 5FOM에서 뚜렷한 경향이 나타났다.

각 조직의 과산화지질 농도 변화

지질과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 등에

Table 2. Effects of OM and FOM on the body weight, food intake and water consumption in orotic acid-induced fatty liver model rats

	N	OA	2.5OM	5OM	2.5FOM	5FOM
Initial weight (g)	132.25±2.00^{a}	134.80±3.81^{a}	133.33±3.31^{a}	133.92±3.72^{a}	133.50±3.32^{a}	133.75±3.03^{a}
Final weight (g)	234.00±3.57^{a}	210.30±5.79^{b}	209.75±5.41^{b}	211.25±6.30^{b}	199.92±2.61^{b}	199.75±4.42^{b}
Weight gain (g)	101.75±4.34^{a}	75.50±6.67^{b}	76.42±4.89^{b}	77.33±6.45^{b}	66.42±2.42^{b}	66.00±3.40^{b}
Food intake (g/day)	15.61±0.40^{a}	13.82±0.22^{b}	15.75±0.03^{a}	16.24±0.16^{a}	15.76±0.58^{a}	14.26±0.43^{b}
Water consumption (ml/day)	18.33±0.16^{a}	17.78±0.48^{a}	18.70±0.55^{a}	18.03±0.47^{a}	16.22±0.14^{b}	17.37±0.68^{ab}

Abbreviations are the same as in *Table 1*.
Values with different letters are significantly different at $p<0.05$
(mean±S.E., n=6)

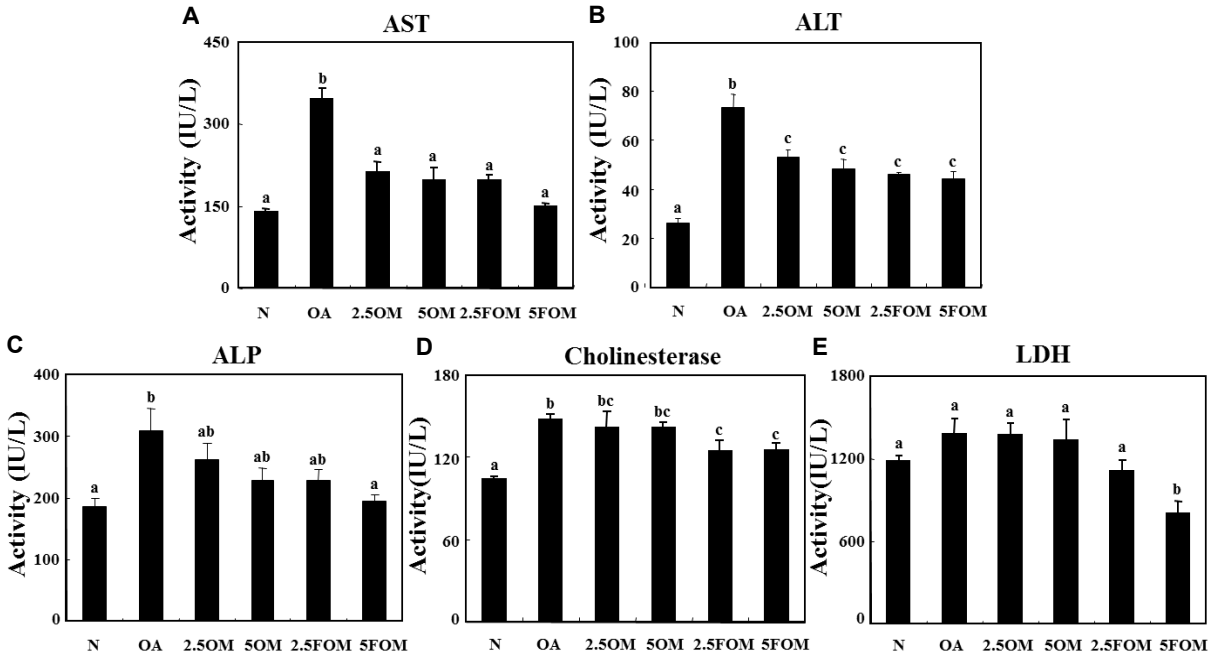

Fig. 1. Effect of OM and FOM on the activities of AST (A), ALT(B), ALP(C), Cholinesterase(D), and LDH(E) in orotic acid-induced fatty liver model rats. Abbreviations are the same as in Table 1. Values are mean± S.E, n=6. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

의한 간 손상 발생의 가장 중요한 기전[22]으로, TBARS는 지질 과산화 생성물질 중의 하나로, 과산화지질 정도의 지표로서 이용되고 있으며, 세포의 산화적 손상을 유발하고 각종 기능장애를 야기함으로써 노화 또는 각종 성인병의 원인이 되고 있다[5]. 본 실험에서 TBARS를 각 장기 별로 측정한 결과, 간장에서는 OA 군에서 N군보다 높은 수치를 나타냈으나, OM군과 FOM군에서는 유의적으로 감소하여 N군과 가까운 수치를 나타내었다(Fig. 2). 또한, 간 분획에서 얻은 mitochondria의 측정 결과 역시 OA군에 비해 OM군과 FOM군 모두 감소하였고, microsome에서는 OA군에서 N군보다 높게 나타났으며 OM군과 FOM군에서는 농도 의존적으로 약간의 감소 형태를 보이나 OA군과 유의적인 차이는 없었다. STZ로 당뇨를 유발한 흰쥐에 와송과 생약재 복합물을 급여시킨 결과, 간장 TBARS 함량은 와송 투여 농도가 증가함에 따라 TBARS 함량을 감소하는 것으로 나타나 와송의 과산화 지질 개선능이 보고된 바 있다[23]. 신장에서 OA군과OM군 사이에는 큰 차이가 없었지만 FOM군에서는 농도의존적으로 감소하였고, 비장에서는 앞선 간장 결과와 마찬가지로 OA군에 비해 OM군과 FOM 군 모두 감소한 것을 확인할 수 있었다. 혈청, 고환, 심장에서는 각 군마다 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 위의 결과로 볼 때, OM와 FOM은 지질 개선에 효과를 보이며, FOM에서 더 긍정적인 효과가 있을 것으로 사료된다.

비헴철 및 아연 함량 측정

생체 내 항산화 물질로 알려져 있는 간 조직의 아연[7] 농도는 OA 군에서 N군에 비해 감소하였으나 OA 투여군 간에는 유의적인 차이는 보이지 않았다(Table 4). 철은 체내 과산화수소를 제거하는 catalase의 구성 성분으로 체내의 비타민 C의 함량과 과산화수소의 농도 차에 의해서 과산화지질 반응에 영향을 미치므로 생체 내 과산화지질 측정에 비헴철 농도는

Table 3. Tissue relative weight in orotic acid-induced fatty liver model rats (% of terminal BW)

	N	OA	2.5OM	5OM	2.5FOM	5FOM
Liver	3.61±0.06^{a}	5.49±0.35^{b}	4.82±0.10^{c}	4.89±0.21^{c}	4.79±0.09^{c}	4.96±0.15^{bc}
Testis	1.08±0.03^{a}	1.24±0.04^{b}	1.23±0.03^{b}	1.13±0.03^{ab}	1.16±0.04^{ab}	1.19±0.05^{ab}
Kidney	0.88±0.06^{a}	0.83±0.04^{a}	0.78±0.01^{a}	0.78±0.02^{a}	0.78±0.03^{a}	0.78±0.03^{a}
Spleen	0.35±0.01^{a}	0.29±0.02^{b}	0.28±0.01^{b}	0.27±0.01^{b}	0.27±0.01^{b}	0.29±0.02^{b}
Heart	0.41±0.02^{a}	0.42±0.02^{a}	0.41±0.01^{a}	0.41±0.01^{a}	0.42±0.01^{a}	0.42±0.01^{a}

Abbreviations are the same as in *Table 1*.
Values with different letters are significantly different at $p<0.05$
(mean±S.E., n=6)

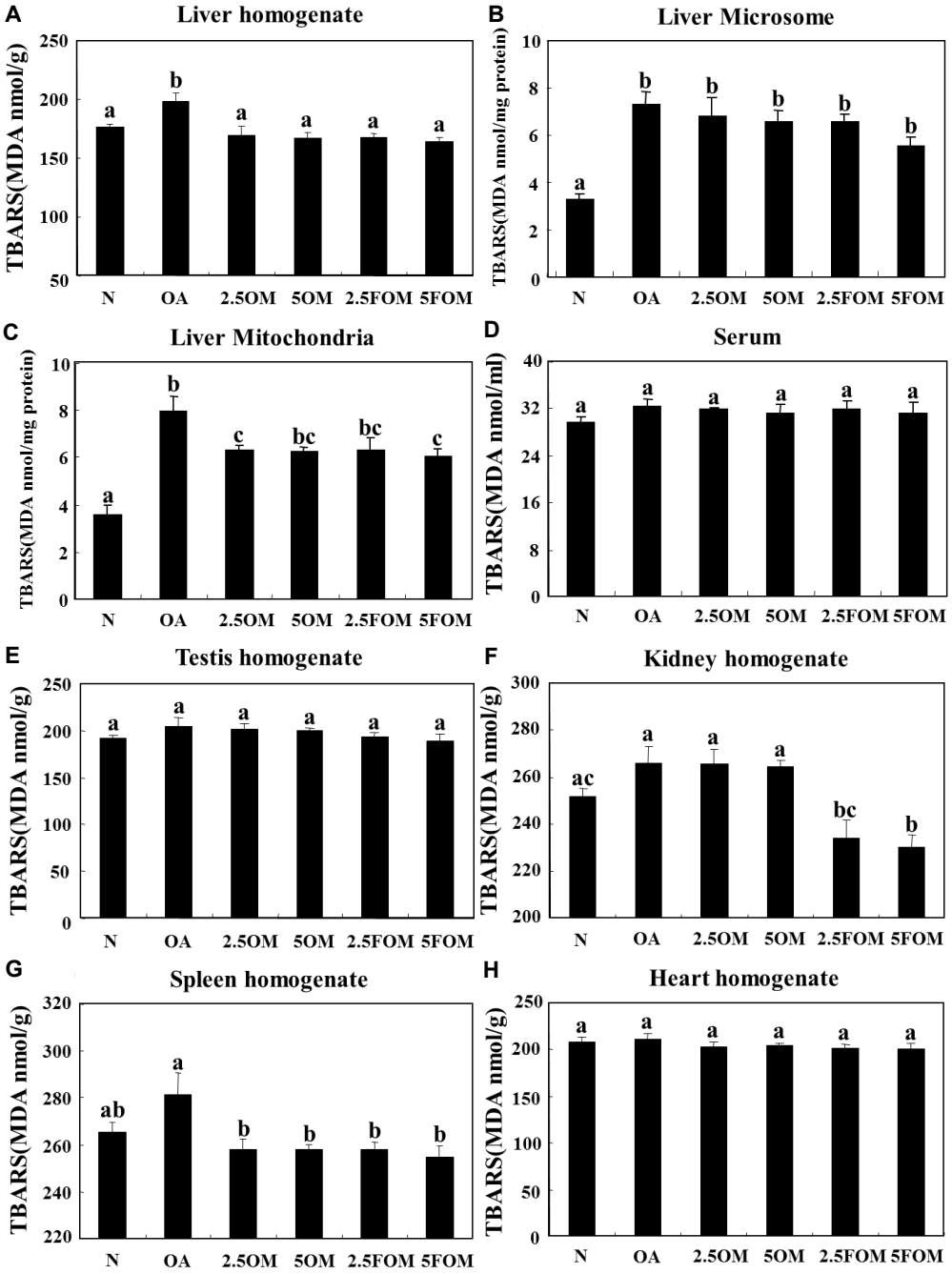

Fig. 2. Effects of OM and FOM on TBARS in the hepatic fractions(A, B, C), tissue(E, F, G, H) and serum(D) in orotic acid-induced fatty liver model rats. Abbreviations are the same as in Table 1. Values are mean± S.E, n=6. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

중요한 요인으로 알려져 있다[4, 16]. 간 조직의 비헴철 농도는 OA군에서 가장 높았는데, 이는 과산화지질에 영향을 받아 산화되어 간 조직의 비헴철의 농도가 N군보다 높아진 것으로 사료된다. OM군은 농도 의존적으로 감소하여 N군과 유사한 수치를 보였으며, FOM군에서는 농도 차이에 따른 유의적인 차이는 없었지만 N군보다 낮은 수치를 나타내었다. 따라서, FOM군은 산화를 촉매 시키는 철의 함량을 억제하여 과산화지질에 영향을 OA군보다 적게 받아 낮은 수치를 보인 것으로 사료된다.

조직 및 혈중 Glutathione 농도 변화

Glutathione은 주로 간과 신장에서 glutamic acid, cystein과 glycine을 기질로 하여 γ-glutamylcysteine synthetase와 glutathione synthetase에 의해 합성되어[2], 혈액을 통해서 폐

Table 4. Effect of OM and FOM on the nonheme iron and zinc contents of liver in orotic acid-induced fatty liver model rats (ppm)

	N	OA	2.5OM	5OM	2.5FOM	5FOM
Zn	0.35±0.01[a]	0.22±0.03[b]	0.24±0.03[b]	0.24±0.01[b]	0.21±0.01[b]	0.22±0.00[b]
Fe	0.48±0.01[ac]	0.57±0.00[b]	0.51±0.00[a]	0.49±0.02[a]	0.45±0.00[c]	0.45±0.00[c]

Abbreviations are the same as in *Table 1*.
Values with different letters are significantly different at $p<0.05$
(mean±S.E., n=6)

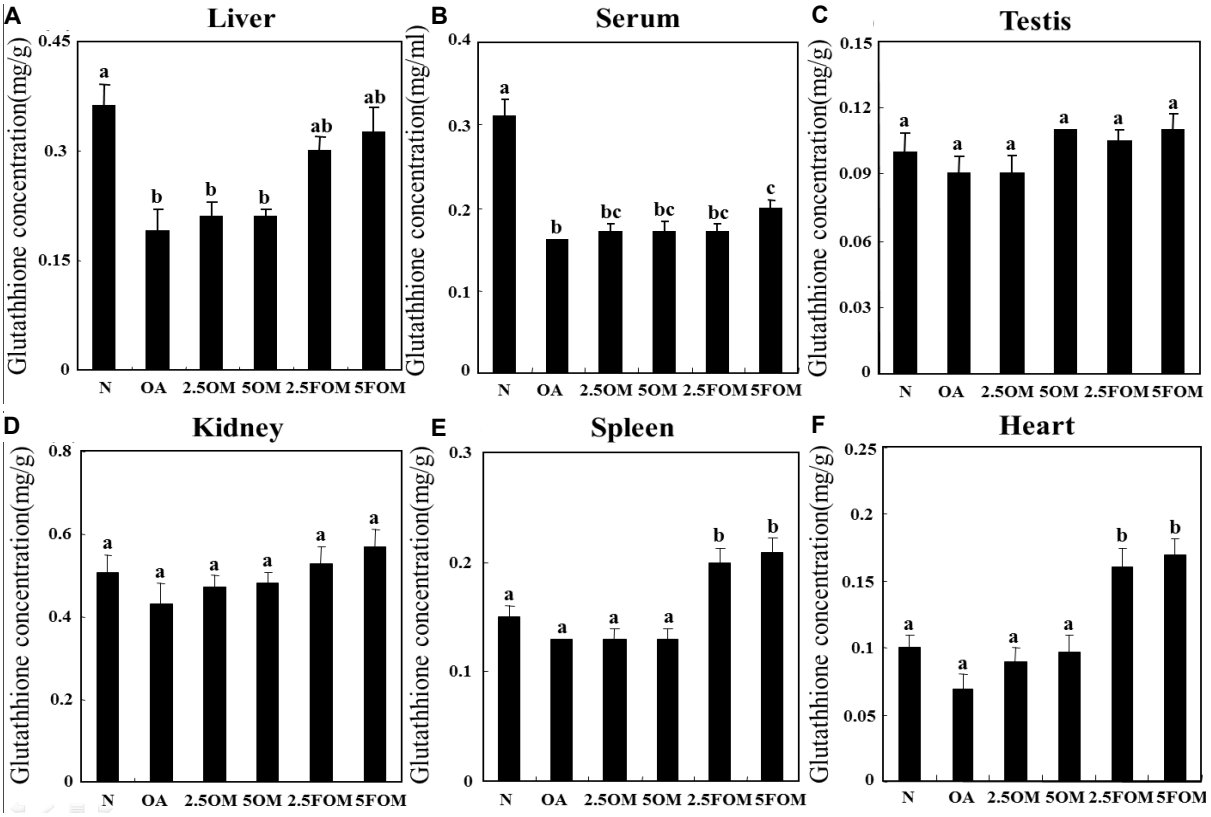

Fig. 3. Effects of OM and FOM on glutathione concentrations in orotic acid-induced fatty liver model rats. Abbreviations are the same as in *Table 1*. Values are mean±S.E, n=6. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

등 다른 장기로 이동한다[13]. Glutathione은 단백질이나 DNA 합성, 물질의 이동, thiol기의 저장 및 효소 활성 조절 등 생물학적으로 중요한 여러 반응에 관여하며, 활성산소에 대한 해독반응에도 관여한다[3, 18]. 간장에서 glutathione 함량은 N군에서 가장 높게 나타났고 OA군에서 가장 낮은 수치를 보였으나(Fig. 3), FOM군에서는 농도 의존적으로 glutathione 함량이 높아져, FOM이 간장의 glutathione 함량을 높이는데 영향을 준 것으로 사료된다. 한편 OM군은 OA군과 유사한 함량을 보여 glutathione 생성에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 혈청의 glutathione 함량 또한 N군에서 가장 높은 수치를 보였고 OA군에서 낮은 수치를 나타냈으나, 5FOM군에서 약간 증가하는 경향을 보이고 다른 시료 투여군과는 큰 차이를 보이지 않았다. 비장과 심장의 glutathione 함량은 N군, OA군, OM군에서는 비슷한 수준을 나타내었지만, FOM군에서 glutathione 함량이 높아졌음을 확인 할 수 있어 발효 와송이 간 조직뿐만 아니라 비장과 신장에서도 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 한편, 고환과 심장의 glutathione 함량은 모든 군에서 뚜렷하게 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과로 OM이 조직 중에 glutathione생성에 큰 영향을 주지 못하지만, 유산균으로 발효시킴으로써 glutathione 함량을 증가시키는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

1. A.O.A.C. 1975. *Official methods of analysis*. 12th eds., Association of official analytical chemists. Washington DC, USA.
2. Anderson, M. E. 1998. Glutathione biosynthesis. *Chem. Biol. Interact* **24**, 1-14.
3. Bendich, A., Machlin, L. J. and Scandurra, O. 1986. The antioxidant role of vitamin C. *Free Radic. Bio. Med.* **2**, 419-444.
4. Beutler, E., Duron, O. and Kelly, B. M. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* **61,** 882-888.
5. Bruce, A. F. and Carpo, J. D. 1982. Biology of disease : free radicals and tissue injury. *Lab. Inves*. **47**, 412-438.
6. Cha, J. Y., Meada, Y., Oogami, K., Yamamoto, K. and Yanagita, T. 1998. Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and enhenced phospatidate phosphohydrase activity in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 508-513.
7. Chiba, H., Takasaki, M., Masuyama, R., Uehara, Kanke, Y., Suzuki, K. and Goto, K. 1998. Time course of change in hepatic lipid peroxide level in iron-deficient rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **51**, 201-206.
8. Duncan, D. B. 1959. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **1**, 1-42.
9. Jeong, K. J., Chon, Y. S., Ha, S. H. and Yun, J. G. 2013. Optimum light intensity, media and fertilization for potted *Orostachys malacophyullus* from Taebaek. *Flower Res. J.* **21**, 46-51.
10. Ki, H. Y., Song, S. W., Ha, C. S. and Han, S. S. 1993. Effects of the population density on growth and various physiological values of sprague-dawley rats. *Kor. J. Lab. Ani. Sci.* **9**, 71-82.
11. Kim, C. H., Park, J. H., Lim, J. K., Lee, K. J., Chung, G. Y. and Jeong, H. J. 2003. The activity of antioxidants of *Orostachys jaonicus* A. Berger. *Kor. J. Med. Corp. Sci.* **11**, 31-39.
12. Kim, N. H. 2013. The analysis of non-pharmacological intervention study for nonalcoholic fatty liver disease: intervention types and measurement parameters. *J. Kor. Biol. Nur. Sci.* **15**, 43-53.
13. Klaus, J. and Henke, W. 1996. Developmental changes of antioxdiant enzyme in kidney and liver from rats. *Free Radic. Biol. Med.* **20**, 613-620.
14. Lee, H. S., Ryu, D. S., Lee, G. S. and Lee, D. S. 2012. Anti-inflammatory effects of dichloromethane fraction from *Orstachys japonicus* in RAW 264.7 cells: suppression of NF-kB activation and MAPK signaling. *J. Ethnopharmacol.* **140**, 271-276.
15. Lee, S. J., Seo, J. K., Shin, J. H., Lee, H. J. and Sung, N. J. 2008. Antioxidant activity of Wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) according to drying methods. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37,** 605-611.
16. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. S. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
17. McCullough, A. J. 2002. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Gastroenterol.* **34**, 255-262.
18. Meister, A. and Anderson, M. E. 1983. Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* **52**, 711-771.
19. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
20. Park, K. R., Ahn, H. Y. and Cho, Y. S. 2014. Effect of *Orostachys malacophyllus* by fermented lactic acid bacteria on plasma levels of lipid and lipid peroxidation in alcohol feeding rats. *J. Life Sci.* **24**, 677-685.
21. Plaa, G. L. and Charbonneau, M. 1994. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. *Principles and Methods of Toxicology* 5th ed. 1465-1507.
22. Plaa, G. L. and Witschi, H. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-141.
23. Shin, J. H., Lee, S. J., Seo, J. K., Lee, H. J., Ju, J. C. and Sung, N. J. 2012. Effect of a combined extract of *Orostachys japonicus* with medicinal plants on the lipid composition of the liver and kidney from streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 510-518.
24. Sohn, J. H. and Kim, T. Y. 2010. Recent update on pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Kor. J. Intern. Med.* **79**, 461-474.
25. Yoon, S. Y., Lee, S. Y., Kim, K. B. W. R., Song, E. J., Kim, S. J., Lee, S. J., Lee, C. H. and Ahn, D. H. 2009. Antimicrobial activity of the solvent extract from different parts of *Orostachys japonicus*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 14-18.

초록 : 발효 와송 급여 흰쥐의 orotic acid 유발 지방간 개선 효과

안희영 · 최다정 · 조영수*
(동아대학교 생명공학과)

와송과 유산균 발효 와송을 식이 중에 2.5% 및 5.0% 수준으로 첨가하여 10일간 흰쥐에 급여하고, orotic acid 유발 비알코올성 지방간을 일으켜 임상생화학적 특성 및 조직 내 항산화 활성 및 간 조직에 미치는 영향을 검토하였다. OA군은 간 기능 지표 효소인 혈중 AST, ALT, ALP, cholinesterase, LDH 활성에서 모두 높은 활성을 나타내었지만, OM군과 FOM군은 활성이 감소하여 N군과 유사한 수치를 나타내었다. 또한 유의적으로 큰 차이는 보이지 않았지만 OM군보다 FOM군이 더 낮은 수치를 보였으며, 농도의존적으로 감소하는 경향을 보였다. 특히 LDH에서 5FOM군은 N군보다 더 낮은 활성을 나타내었다. OA군은 간 조직의 분획물, 고환, 신장, 비장의 TBARS의 함량이 증가하였지만, OM군과 FOM군에서 감소하는 경향을 보였으며 특히 5FOM군에서 유의적으로 낮은 결과를 나타내었다. 장기 내 존재하는 glutathione의 함량 또한 OA군이 N에 비해 낮은 수치를 보였으나, OM군과 FOM군에서 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 특히, 5FOM군에서 N군에 상응하는 높은 수치를 보였으며, 비장과 심장에서는 N군보다 높은 수치를 나타내었다. 이상의 실험결과로 유산균 발효 와송은 orotic acid 유발 비알코올성 흰쥐 지방간에 대한 개선 효과를 보여 간 기능 개선에 효과적인 건강식품 소재로서 가능성을 보였다.