

## Coenzyme Q10 첨가 급여가 산란계의 지방대사 연관 유전자 발현에 미치는 영향

장인석·문양수<sup>†</sup>

경남과학기술대학교 동물생명과학과

### Effects of Coenzyme Q10 on the Expression of Genes Involved in Lipid Metabolism in Laying Hens

In Surk Jang and Yang Soo Moon<sup>†</sup>

Department of Animal Science and Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea

**ABSTRACT** The aim of this study was to investigate the expression patterns of key genes involved in lipid metabolism in response to dietary Coenzyme Q10 (CoQ10) in hens. A total of 36 forty week-old Lohmann Brown were randomly allocated into 3 groups consisting of 4 replicates of 3 birds. Laying hens were subjected to one of following treatments: Control (BD, basal diet), T1 (BD+ CoQ10 100 mg/kg diet) and T2 (BD+ micellar of CoQ10 100 mg/kg diet). Birds were fed *ad libitum* a basal diet or the basal diet supplemented with CoQ10 for 5 weeks. Total RNA was extracted from the liver for quantitative RT-PCR. The mRNA levels of HMG-CoA reductase(HMGCR) and sterol regulatory element-binding proteins(SREBP)2 were decreased more than 30~50% in the liver of birds fed a basal diet supplemented with CoQ10 ( $p<0.05$ ). These findings suggest that dietary CoQ10 can reduce cholesterol levels by the suppression of the hepatic HMGCR and SREBP2 genes. The gene expressions of liver X receptor (LXR) and SREBP1 were down regulated due to the addition of CoQ10 to the feed ( $p<0.05$ ). The homeostasis of cholesterol can be regulated by LXR and SREBP1 in cholesterol-low-conditions. The supplement of CoQ10 caused a decreased expression of lipid metabolism-related genes including PPAR $\gamma$ , XBP1, FASN, and GLUTs in the liver of birds ( $p<0.05$ ). These data suggest that CoQ10 might be used as a dietary supplement to reduce cholesterol levels and to regulate lipid homeostasis in laying hens.

(Key words : Coenzyme Q10, gene expressions, cholesterol, lipids, chickens)

## 서론

Coenzyme Q(ubiquinone)은 모든 세포막에서 발견되고(Kalen et al., 1987), 그 중 Coenzyme Q10(CoQ10)은 미생물에서부터 고등동물에 이르기까지 자연계에 널리 분포하고 있다(Battino et al., 1992). CoQ10은 10개의 isoprene unit을 포함하는 polyisoprene의 chain을 가지고 있는데, 사람과 조류에는 이것이 매우 풍부하지만, 랫드와 생쥐의 경우 CoQ9을 다량 함유하고 있다(Albano et al., 2002). 지용성 분자로서 CoQ10은 세포의 막과 미토콘드리아에 존재하고, 특히 미토콘드리아에서는 세포호흡과정에서 전자의 수송과 산소로의 전달, 그리고 ATP 합성 등에 중요한 기능(Beyer, 1992)과 더불어 항산화제로서의 역할 등을 한다(Bhagavan and Chopra, 2006). 닭에서 CoQ10의 사료 내 첨가연구를 보면 육계에서

Ascites(복수증)의 감염성을 억제하였는데, 이는 간 내 미토콘드리아의 기능향상, 세포호흡 사슬의 효소활성 증대, CoQ10의 항산화적 기능 등에 기인하는 것으로 보았다(Geng and Guo, 2005; Nakamura et al., 2004). 복수증은 육계에서 가장 일반적으로 발생하는 대사성 질환 중 하나로 가금 산업에 지대한 경제적 손실을 유발하고 있는데, 전 세계적으로 연간 약 10억 달러에 달할 것으로 추정되고 있다(Maxwell and Robertson, 1998). 이와 같이 Coenzyme Q에 대한 연구는 주로 항산화제, 대사성질환 억제 등의 연구에 관심이 집중되어 있었다. 최근 연구에 의하면 식이성 CoQ10의 사료 내 첨가 급여는 산란계의 난황내 콜레스테롤의 수준을 감소시켰다고 한다(Kamisoyama et al., 2010). 포유류에서도 식이성 CoQ10의 급이가 랫드의 혈중 콜레스테롤을 감소시킨 것으로 보고되었다(Krishnaiah and Ramasarma, 1970). 또한 CoQ9이 간내

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed : ysmoon@gntech.ac.kr

콜레스테롤 합성 및 혈중 함량의 감소를 유도하였다(Modi et al., 2006). 산란계의 경우, 콜레스테롤의 주요 합성장소는 간이며, 합성된 콜레스테롤은 VLDL과 통합되어 혈액으로 분비된 다음 난자에 전이되고, 난황의 콜레스테롤의 약 95%를 구성하게 된다(Elkin et al., 2006). 이와 같은 생리적 특성을 고려하여 닭에서 CoQ10의 사료 내 첨가 급여시험을 한 결과, 간의 콜레스테롤 합성의 제한효소인 hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase(HMGCR)의 활성이 억제됨을 확인하였다(Honda et al., 2010). CoQ10과 콜레스테롤 합성과의 연관성에 대한 분자생물학적 기작은 명확하게 밝혀져 있지 않은데, CoQ10도 세포의 신호전달, 대사 및 수송과 연관된 유전자들의 발현 조절자로서 작용할 수 있음을 보여주었다(Groneberg et al., 2005). 또한 최근식이성 CoQ10이 산란계의 HMGCR 활성을 억제시켜 난황속의 콜레스테롤의 함량을 감소시킬 수 있음을 보여 주었다(Honda et al., 2013). 그러나 위와 같은 CoQ10에 의한 콜레스테롤의 체내 조절에 대한 분자생물학적 기전은 알려진 바가 거의 없다. 따라서 본 연구는 산란계에서 사료 내 첨가 급여된 CoQ10이 콜레스테롤과 지방산의 대사 또는 항상성에 관여하는 유전자들의 발현에 어떤 영향을 미치는지 살펴보고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시동물, 시험설계, 사양관리 및 시료채취

본 연구에 이용된 공시동물은 경남과학기술대학교 종합농장에서 사육 중인 40주령 Lohmann Brown을 3처리군에 나누고, 각 처리구당 12수를 케이지(3수/케이지)에 수용하여 전체 36수를 시험에 공시하였다. 시험 설계는 CoQ10(Inner Mongolia Kingdomway Pharmaceutical Limited, China)의 첨가원에 따라 대조군(CON), CoQ10 분말급여군(T1, 100 mg/kg 사료), CoQ10 유화처리군(T2, 100 mg/kg 사료) 등 모두 3구로 설정하였다. CoQ10 분말(순도, 99.3%)의 유화에 사용된 오일은 옥수수유로서 유화제는 콩에서 추출한 lecithin을 옥수수유의 0.3~0.4%(0.03~0.04 g) 수준으로 첨가하여 60분 동안 완전히 혼합하여 유화처리를 실시하였다. 시험사료 급여기간은 산란 초기인 40주령부터 45주령까지 5주 동안 완전 자유급이를 실시하였다. 시험 사료는 산란계사료로서 N(주)사에서 주문한 상업용 사료를 급여하였다. 산란계 사양관리는 경남과학기술대학교 사양관리 기준에 따라 케이지에서 사육하였으며, 점등 관리는 오전 6시부터 오후 9시까지 1일 15시간 실시하였으며, 조명밝기는 10 Lux로 설정하

여 관리하였다. 사양시험 개시(40주령) 및 종료(45주령)에 체중을 측정하고, 사양시험 종료 후 각 처리구당 6수씩 모두 18수를 희생하여 간 조직을 채취하였다. 채취된 간은 액체질소로 냉동 후 -70°C의 저온냉장고에 분석 시까지 보관하였다. 간에서 RNA를 추출하여 qRT-PCR을 실시하여 처리간 유전자 발현을 비교 분석하였다. 시험에 관련된 닭의 관리 및 취급은 본 대학 동물실험윤리 규정을 준수하였다.

### 2. 유전자 발현 분석

유전자 발현 분석을 위하여 간 조직은 Trizol(Invitrogen, Carlsbad, CA)을 이용하여 total RNA를 추출하였다. 분리한 RNA는 1 µg/µL의 농도로 정량하고, Improm-II Reverse transcription system(Promega, Fitchburg, USA)을 이용하여 cDNA를 합성하였다. Real-time PCR은 Jang and Moon(2015)이 제시한 방법과 같이 시행하였다. 유전자 발현의 상대적 발현은  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  방법을 이용하여 분석하였다(Livak and Schmittgen, 2001). 본 시험에 이용된 primer들의 정보는 Table 1에 제시하였다.

### 3. 통계분석

시험구의 유전자 발현에 대한 통계처리는 각 군의 결과를 평균±표준오차로 표시하였으며, 처리별로 SAS 통계패키지(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)의 GLM procedure(SAS, 1996)를 이용하여 Duncan 다중검증법에 따라 95% 수준에서 각 군의 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. Coenzyme Q10의 첨가급여가 닭의 콜레스테롤대사 연관 유전자 발현에 미치는 영향

본 시험은 산란계 Lohmann Brown 종을 공시동물로 40주령부터 5주간 대조구와 CoQ10 첨가급여구로 구분하여 사양시험을 실시하고, 이들 개체들의 간 조직으로부터 콜레스테롤 대사연관 유전자들의 발현을 분석하였다. 콜레스테롤 합성 과정에서 주요 조절 효소인 HMG-CoA reductase(HMGCR)의 유전자 발현은 대조구에 비하여 CoQ10 분말첨가인 T1과 유화처리된 T2 처리구에서 모두 약 50%씩 억제( $P<0.05$ )되었다(Table 2). 체내 낮은 콜레스테롤 함량을 인지하여 내생 콜레스테롤의 합성을 촉진시키는 전사인자인 SREBP2 mRNA 발현 또한 대조구와 비교해서 T1과 T2에서 각각 30%와 40% 감소( $P<0.05$ )하였다(Table 2). 영양학적으로 계란은 우수한

**Table 1.** The primer pairs used to analyze gene expressions by quantitative real time-PCR and size of products

Genes	Primer sequence (5' to 3')	Size of product (bp)	Accession number (GenBank)
FASN	Forward: ttcgtgttaccgcctcag Reverse: ttcccactgcctgcttag	91	NM205155
HMGCR	Forward: tcagagcgtaagacctaac Reverse: tgtagtaatggcgaacctaa	84	NM204485
PPAR $\gamma$	Forward: gattagcacaacttcacacaag Reverse: tcctcgttacagaactctatca	111	AB045597
XBP1	Forward: tctgctggatgctgtag Reverse: aggtatggctcagtgcaaga	89	NM001006192
SREBP1	Forward: gatggtcgcagtggtgt Reverse: ggctccccctagacaaaga	97	AY029224
SREBP2	Forward: atgcgacactgaagatagat Reverse: cctggctctgaatcaatgg	115	AJ310769
GLUT2	Forward: gctgcctcttctcgtctaa Reverse: gtccctccaacccaaac	116	NM207178
GLUT8	Forward: gaggaggaggactaagc Reverse: catcagaatcacaccaataagaag	78	AB083371
LXR	Forward: cccaaatgaataacacgaaaca Reverse: gaaagagactgaagaaagaggtt	85	AF492498
RPL27	Forward: cagcaatgggcaagaaga Reverse: gcatcaggtggtgttagtt	81	NM205337

**Table 2.** Effects of Coenzyme Q10-supplemented diets on the mRNA gene expressions involved in cholesterol biosynthesis in the liver of chickens<sup>#</sup>

Item	Treatment						<i>p</i> -value
	C		T1		T2		
	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	$\Delta$ Ct	$2^{-\Delta\Delta$ Ct}	
HMGCR	1.82±0.10 <sup>b</sup>	1.00	2.63±0.61 <sup>b</sup>	0.57	2.68±0.13 <sup>a</sup>	0.55	0.0136
SREBP2	4.36±0.12 <sup>b</sup>	1.00	4.90±0.12 <sup>ab</sup>	0.69	5.09±0.29 <sup>a</sup>	0.76	0.0012

The values (means±S.D., n=6) are  $\Delta$ Ct, which is represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control gene (RPL27). The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the  $2^{-\Delta\Delta$ Ct}.

<sup>a,b</sup> Values with different superscripts within the same row significantly differ ( $P<0.05$ ).

<sup>#</sup> Dietary treatments are as follows: Control(C): basal diet (BD), T1 (BD+ CoQ10 100 mg/kg diet) and T2 (BD+ micellar of CoQ10 100 mg/kg diet).

단백질과 불포화지방산, 그리고 미네랄과 각종 비타민의 공급원이다(Cook and Briggs, 1977). 그럼에도 불구하고 사람들은 난황의 높은 콜레스테롤 함량 때문에 계란 섭취를 줄이거나 기피하는 경향을 볼 수 있다. 산란계의 경우, 콜레스테롤의 주요 합성장소는 간이며, 합성된 콜레스테롤은 VLDL과 통합되어 혈액으로 분비된 다음 난자에 전이되고, 난황

콜레스테롤의 약 95%를 구성하게 된다(Elkin et al., 2006). Acetyl-CoA에서부터 최종 산물인 콜레스테롤을 합성하기까지 여러 효소가 단계별로 관여하지만, 그 중 가장 큰 영향을 미치는 효소는 HMGCR이다. 본 연구에서 이 유전자의 발현은 CoQ10의 사료 내 첨가 유무에 따라 뚜렷한 차이를 보였으며, CoQ10 첨가 형태에 따른 차이는 없었다. 이는 CoQ10

의 사료 내 첨가 급이만으로 계란내 콜레스테롤의 함량을 감소시킬 수 있음을 의미한다. 이는 Honda(2013) 등이 식이성 CoQ10의 산란계사료에 첨가(급이 사료 내 0.8% CoQ10) 시험에서 간내 HMGCR 효소의 활성이 억제되었지만, mRNA의 발현수준은 변화가 없었다고 하여 본 연구의 결과와 부분적 차이가 있었다. 위의 일본 연구자들은 CoQ10을 3~4주 섭취한 닭에서 생산된 계란의 난황에서 콜레스테롤의 함량이 약 13% 감소된 것을 확인하였다. 포유동물인 쥐에서 식이성 CoQ9의 급이가 간의 콜레스테롤 합성을 억제하였다는 보고도 있다(Modi et al., 2006). 설치류의 경우, CoQ10을 섭취하면 체세포에서는 CoQ9으로 전환된다(Bhagavan and Chopra, 2006). 그러나 가금류에서 CoQ10과 CoQ9사이의 전환에 대한 보고는 아직 없는 실정이다. 다만 산란계에서 식이성 CoQ10의 섭취는 간의 CoQ10의 수준을 유의적으로 높인다는 보고는 있다(Kamisoyama et al., 2010). 이상을 종합해 보면 CoQ10 혹은 이의 대사체는 산란계의 간에서 mRNA 수준 혹은 단백질인 효소 수준에서 HMGCR을 억제하는 것으로 여겨지지만, CoQ10에 의한 명확한 분자생물학적 기작에 대한 연구가 더 필요한 것으로 사료된다. 체내 콜레스테롤의 항상성 유지에 영향을 미치는 주요 인자에는 sterol regulatory element-binding proteins(SREBPs)2가 있다. 이 전사인자는 체내 콜레스테롤 수준이 낮으면 콜레스테롤 합성과 세포내 유입을 촉진하는 관련 유전자들의 발현을 촉진한다. 본 연구에서 CoQ10을 공급받은 닭의 경우 SREBP2의 유전자 발현이 그렇지 않은 대조구에 비하여 30~40% 감소하였다. 이러한 결과는 콜레스테롤 합성을 억제하는 주요 효소인 HMGCR의 발현 억제와 더불어 콜레스테롤 합성 연관 유전자들(ace-toacetyl-CoA thiolase, HMG-CoA synthase, Squalene synthase 등)의 발현 또한 억제될 수 있음을 시사한다. 발현이 억제된

SREBP2는 또한 세포내 콜레스테롤 합성에 필요한 low-density-lipoprotein(LDL) receptor(수용체)를 감소시켜 최종적으로 콜레스테롤 합성을 억제하게 된다. 간의 콜레스테롤의 수준은 순환하는 LDL을 모아서 수용체 매개 형성과정을 통하여 세포내 LDL-콜레스테롤을 형성 혹은 콜레스테롤 분해 억제과정을 통하여 일정하게 유지하게 되는데, Honda(2013) 등에 의하면 산란계의 CoQ10의 첨가 급여가 간의 콜레스테롤과 혈중 LDL-콜레스테롤 수준에는 영향을 미치지 못하고, 간의 HMGCR 효소 활성에만 유의적으로 억제되었다고 하였다. CoQ10을 이용한 닭에서의 콜레스테롤 합성 연관 보고가 극히 부족하여 일관성 있는 결과 도출을 확보하기 어렵지만, 본 연구에서 확보한 결과를 보면 CoQ10에 의한 SREBP2의 감소는 세포내 콜레스테롤의 성숙과정을 억제할 것으로 사료된다. SREBP2는 LDL receptor의 합성을 촉진시키는 기능을 하지만, CoQ10에 의한 SREBP2의 감소는 LDL receptor의 유전자 발현 억제로 연결되어 최종적으로 LDL-cholesterol의 감소로 이어질 것으로 사료된다.

## 2. CoQ10의 첨가급여가 콜레스테롤의 항상성과 중성 지방의 합성에 미치는 영향

동물에서 체내 콜레스테롤의 항상성을 유지하기 위해서는 체내 콜레스테롤의 합성을 조절하는 방법도 있지만, 과도하게 축적된 콜레스테롤을 체외로 배출하는 기능과 함께 체내 콜레스테롤이 부족할 경우, 합성된 콜레스테롤의 세포내 유지 혹은 흡수를 촉진하는 방법을 이용하게 된다. 따라서 본 연구에서는 닭의 세포내 콜레스테롤을 외부로 배출하는데 관여하는 전사인자인 liver X receptor(LXR)와 세포내 콜레스테롤의 도입을 촉진하는 SREBP1의 유전자 발현을 조사하였다. Table 3에서 보는 바와 같이, CoQ10의 첨가 급이

**Table 3.** Effects of Coenzyme Q10-supplemented diets on the mRNA gene expressions involved in cholesterol homeostasis in the liver of chickens<sup>#</sup>

Item	Treatment						p-value
	C		T1		T2		
	ΔCt	2 <sup>-ΔΔCt</sup>	ΔCt	2 <sup>-ΔΔCt</sup>	ΔCt	2 <sup>-ΔΔCt</sup>	
LXR	4.24±0.11 <sup>b</sup>	1.00	4.75±0.28 <sup>ab</sup>	0.70	4.87±0.44 <sup>a</sup>	0.65	0.0390
SREBP1	7.93±0.31 <sup>b</sup>	1.00	8.15±0.75 <sup>b</sup>	0.86	8.67±0.21 <sup>a</sup>	0.60	0.0412

The values (means±S.D., n=6) are ΔCt, which is represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control gene (RPL27). The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the 2<sup>-ΔΔCt</sup>.

<sup>ab</sup> Values with different superscripts within the same row significantly differ (*P*<0.05).

<sup>#</sup> Dietary treatments are as follows: Control(C): basal diet (BD), T1 (BD+ CoQ10 100 mg/kg diet) and T2 (BD+ micellar of CoQ10 100 mg/kg diet).

는 대조구에 비하여 LXR 유전자가 약 30~35% 그 발현이 억제되었으며( $P<0.05$ ), SREBP1 또한 T2에서 약 40% 유전자 발현이 감소( $P<0.05$ )하였다. LXR은 닭의 간세포에서 콜레스테롤의 담즙산으로 전환(7 $\alpha$ -hydroxylase; CYP7A)과 지방산 합성의 주요 효소의 조절자로서 콜레스테롤 유전자 발현과 지방대사(FASN, SREBPs, HMGCR) 모두에 관여하는 것으로 알려져 있다(Sato and Kamada, 2011). 본 연구에서 CoQ10에 의한 LXR 유전자 발현의 감소는 체내 콜레스테롤 생합성 감소에 의한 콜레스테롤 함량 저하에 대비하여 담즙산 생성에 의한 세포 외부로의 콜레스테롤 방출을 억제하여 전체적 콜레스테롤 항상성 유지를 위한 기작으로 사료된다. 또한 CoQ10에 의한 SREBP1의 발현 억제는 세포 내부로 콜레스테롤의 유입에 필요한 LDL receptor의 유전자 발현을 억제 및 실질적 LDL 수용체 감소를 유도하여 콜레스테롤 생성을 방해하는 것으로 사료된다. 따라서 CoQ10에 의한 LXR과 SREBP1의 발현 감소는 콜레스테롤 외부 방출 억제와 콜레스테롤 신합성 억제를 통하여 세포내 콜레스테롤 항상성 유지에 기여하는 것으로 사료된다.

3. CoQ10의 첨가급여가 중성지방의 합성에 미치는 영향  
간에서 지방산 합성은 탄수화물의 과다섭취에 의해 증가하는데, 이들은 중성지방(Triglyceride, TG)으로 전환되고, 지방조직으로 전송되어 저장된다. 포유류와 가금류 모두 간의 지방대사는 전사인자 특히 LXR, SREBPs, peroxisome proliferator activated receptors(PPARs) 등은 지방 합성과정의 주

요 효소 유전자들의 발현을 조절한다(Foufelle and Ferre, 2002; Sato and Kamada 2011; Saneyasu et al., 2013). 따라서 본 연구에서는 닭에서 CoQ10의 첨가 급여가 지방대사 연관 유전자들의 발현에 어떤 영향을 미치는지 조사하여 Table 4에 제시하였다. 전사인자인 PPAR $\gamma$ 와 X-box binding protein(XBP)1은 CoQ10에 의하여 약 15~40% 수준으로 효과적으로 억제됨( $P<0.05$ )을 확인하였다. 세포내부로의 에너지 공급원인 포도당의 흡수를 담당하는 GLUT2는 약 35~60% 그리고 GLUT8은 약 25~30%의 유전자발현이 각각 감소함( $P<0.05$ )을 보였다. CoQ10의 섭취는 중성지방 합성을 위한 지방합성효소(FASN)의 유전자 발현을 분말처리군에서 약 30%, 유화처리군에서 약 65% 억제됨( $P<0.05$ )을 확인하였다. XBP1은 소포체의 스트레스와 unfolded protein response(UPR)의 주요 조절자로 알려졌지만, 최근에는 간에서 주요 지방산 합성의 조절 전사인자로도 보고되었다(Lee et al., 2008). 특히 탄수화물의 섭취 후 이들 대사산물로부터 지방산 합성에 필요한 유전자들의 발현을 촉진한다(Lee et al., 2008). 본 연구에서 CoQ10의 급이에 따른 XBP1의 발현 억제효과는 닭의 간에서 지방산 합성 연관 유전자의 발현을 감소시킬 수 있음을 시사한다. PPAR $\gamma$ 는 지방산 대사에 중요한 역할을 하는데, 특히 지방의 축적과 연관된 유전자인 SREBP1, FASN 등의 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다(Schadinger et al., 2005). 본 연구에서 PPAR $\gamma$ 는 분말급여군(T1)에서보다 유화처리군(T2)에서 더 효과적(대조군 대비 약 60% 억제)으로 유전자 발현을 저해하였다. 분석한 두 전사인자 XBP1과 PPAR $\gamma$ 가

**Table 4.** Effects of Coenzyme Q10-supplemented diets on the mRNA gene expressions involved in lipid metabolism in the liver of chickens<sup>#</sup>

Item	Treatment						p-value
	C		T1		T2		
	$\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	$\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	$\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	
FASN	5.41 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	1.00	5.88 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	0.72	6.97 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.34	<0.0001
PPAR $\gamma$	8.89 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	1.00	9.47 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	0.67	10.15 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	0.42	0.0001
XBP1	2.07 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.00	2.31 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.85	2.36 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.82	0.0039
GLUT2	2.26 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	1.00	3.67 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	0.38	2.86 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	0.66	<0.0001
GLUT8	1.53 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	1.00	1.95 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.75	2.05 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	0.70	0.0004

The values (means $\pm$ S.D., n=6) are  $\Delta Ct$ , which is represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control gene (RPL27). The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

<sup>a~c</sup> Values with different superscripts within the same row significantly differ ( $P<0.05$ ).

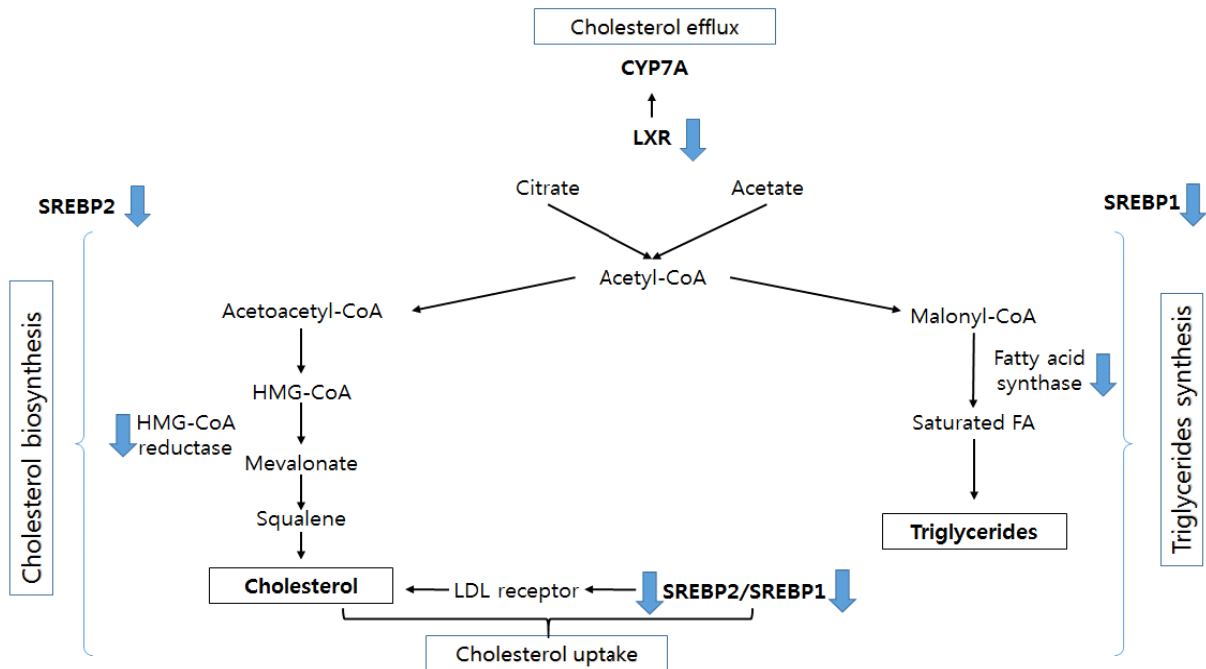
<sup>#</sup> Dietary treatments are as follows: Control(C): basal diet (BD), T1 (BD+ CoQ10 100 mg/kg diet) and T2 (BD+ micellar of CoQ10 100 mg/kg diet).

CoQ10의 첨가 급여에 따라 효과적으로 감소하고, 이들 전사인자에 의해 조절되는 FASN의 유전자 발현은 또한 억제되어 최종적으로 중성지방의 합성이 감소될 것으로 예상된다. 닭은 간에서 대부분의 지방을 합성하여 혈류를 통해 필요한 조직으로 이동하게 된다(O'hea and Leveille, 1968). 간 세포에서 지방을 합성하기 위해서는 세포막에서 효과적으로 포도당을 운반해야 하는데, 이때 필요한 단백질들이 glucose transport proteins(GLUT)이다. 포도당 운송체인 GLUT는 세포의 포도당 흡수 및 포도당 항상성 유지에 중요한 기능을 하며, 닭에서 GLUT2는 간과 신장에서 주로 발현되고, GLUT8은 대부분의 세포조직에서 발현된다(Carver et al., 2001; Kono et al., 2005). 본 연구에서 CoQ10에 의한 GLUT 유전자의 발현 감소는 간세포내 지방산 합성에 필요한 기초물질의 감소를 의미하고, 이는 최종산물인 중성지방의 합성 억제에도 영향을 할 것으로 사료된다.

본 연구에서 CoQ10에 의한 콜레스테롤과 지방합성 및 콜레스테롤 항상성에 미치는 영향을 도식하여 제시하였다(Fig. 1).

Coenzyme Q10(CoQ10)은 자연계에 널리 분포하는 화합물로 세포호흡과 항산화제로서 그 기능이 잘 알려졌지만, 최근 유전자들의 발현 조절자로서의 가능성도 제시되었다. 따라서 본 연구는 산란계에서 CoQ10의 첨가 급여가 콜레스테롤과 지방산 대사관련 유전자들의 발현에 미치는 영향을 관찰하고자 실시하였다. Lohmann Brown(40주령) 36수를 CoQ10의 첨가원에 따라 대조군(CON, basal diet(BD)), CoQ10 건조분말 급여군(T1, BD+CoQ10 100 mg/kg 사료) 및 CoQ10 건조분말 유화처리군(T2, BD+micellar of CoQ10 100 mg/kg 사료) 등 모두 3처리군으로 설정하여 5주간 사양시험을 실시하였다. 시험 종료 후 각 개체의 간으로부터 total RNA를 추출하고, real-time PCR을 이용하여 유전자들의 발현을 분석하였다. 콜레스테롤 합성 과정에서 주요 조절 효소인 HMG-CoA reductase(HMGCR)의 유전자 발현은 대조군에 비하여 CoQ10 분말첨가인 T1과 유화처리된 T2 처리군에서 모두 약 50%씩 억제되었다( $p < 0.05$ ). 내생 콜레스테롤의 합성을 촉진시키는 전사인자인 SREBP2 mRNA 발현 또한 대조군과 비교해서 T1과 T2에서 각각 30%와 40% 감소하였다( $p < 0.05$ ). CoQ10의 첨가 급여는 대조군에 비하여 liver X receptor(LXR)

적 요



**Fig. 1.** Proposed function of dietary coenzyme Q10 in gene regulatory network of lipid metabolism in chickens. Dietary CoQ10 suppresses the SREBP2 which is a master gene of cholesterol biosynthesis and down regulates HMGCoA reductase which is a rate-limiting enzyme of cholesterol biosynthesis. Dietary CoQ10 inhibits SREBP1 which is a stimulator for lipogenic genes including fatty acid synthase and acetyl CoA carboxylase. The suppressed SREBPs might be associated with inactivated expression of LDL receptors. Dietary coenzyme Q10 inactivates LXR leading to a decrease of CYP7A expression and cellular cholesterol efflux. ↓ indicates the down regulation of gene expressions by coenzyme Q10.

유전자가 약 30~35% 그 발현이 억제되었으며, sterol regulatory element-binding proteins(SREBPs)1 또한 T2에서 약 40% 유전자 발현이 감소하였다( $P<0.05$ ). 전사인자인 PPAR $\gamma$ 와 XBP1은 CoQ10에 의하여 약 15~40% 수준으로 효과적으로 억제됨을 확인하였다( $p<0.05$ ). 세포 내부로의 에너지 공급원인 포도당의 흡수를 담당하는 GLUT2는 약 35~60% 그리고 GLUT8은 약 25~30%의 유전자발현 각각 감소함을 보였다( $p<0.05$ ). CoQ10의 섭취는 중성지방 합성을 위한 지방합성효소(FASN)의 유전자 발현을 분말처리군에서 약 30%, 유화처리군에서 약 65% 억제됨을 확인하였다( $P<0.05$ ). 본 연구결과는 CoQ10 첨가급여가 콜레스테롤 및 지방대사 관련 유전자 발현에 영향을 미치며, 세포내 콜레스테롤과 지방의 생성도 억제할 수 있음을 보여주었다.

(색인어 : Coenzyme Q10, 유전자 발현, 콜레스테롤, 지방, 닭)

## 사 사

본 논문은 2015년도 경남과학기술대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

## REFERENCES

- Albano CB, Muralikrishnan D, Ebadi M 2002 Distribution of coenzyme Q homologues in brain. *Neurochem Res* 27(5): 359-368.
- Battino M, Ferri E, Gorini A, Villa RF, Rodriguez Huertas JF, Fiorella P, Genova ML, Lenaz G, Marchetti M 1990 Natural distribution and occurrence of coenzyme Q homologues. *Membr Biochem* 9(3):179-190.
- Beyer RE 1992 An analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an antioxidant. *Biochem Cell Biol* 70(6):390-403.
- Bhagavan HN, Chopra RK 2006 Coenzyme Q10: Absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radic Res* 40(5):445-453.
- Carver FM, Shibley IA Jr, Pennington JS, Pennington SN 2001 Differential expression of glucose transporters during chick embryogenesis. *Cell Mol Life Sci* 58(4):645-652.
- Cook F, Briggs GM 1977 *Egg Science and Technology*, second ed., eds. Stadelman WJ and Cotterill OJ, Avi Publishing Company, Westport, pp. 92-108.
- Elkin RG, Zhong Y, Donkin SS, Hengstschläger-Ottndad E, Schneider WJ 2006 Effects of atorvastatin on lipid metabolism in normolipidemic and hereditary hyperlipidemic, non-laying hens. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 143(3):319-329.
- Foufelle F, Ferré P 2002 New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: A role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem J* 366:377-391.
- Geng AL, Guo YM 2005 Effects of dietary coenzyme Q10 supplementation on hepatic mitochondrial function and the activities of respiratory chain-related enzymes in ascitic broiler chickens. *Br Poult Sci* 46(5):626-634.
- Groneberg DA, Kindermann B, Althammer M, Klapper M, Vormann J, Littarru GP, Döring F 2005 Coenzyme Q10 affects expression of genes involved in cell signalling, metabolism and transport in human CaCo-2 cells. *Int J Biochem Cell Biol* 37(6):1208-1218.
- Honda K, Kamisoyama H, Motoori T, Saneyasu T, Hasegawa S 2010 Effect of dietary coenzyme Q10 on cholesterol metabolism in growing chickens. *J Poult Sci* 47:41-47.
- Honda K, Saneyasu T, Motoki T, Park Y, Kamisoyama H 2013 Dietary coenzyme Q10 suppressed hepatic hydroxymethylglutaryl-CoA reductase activity in laying hens. *Biosci Biotechnol Biochem* 77(7):1572-1574.
- Jang IS, Moon YS 2015 Effects of lycopene on the expression of lipid metabolism, glucose transport and pro-inflammatory related genes in chickens. *Korean J Poult Sci* 42:231-238.
- Kalén A, Norling B, Appelkvist EL, Dallner G 1987 Ubiquinone biosynthesis by the microsomal fraction from rat liver. *Biochim Biophys Acta* 926(1):70-78.
- Kamisoyama H, Honda K, Kitaguchi K, Hasegawa S 2010 Transfer of dietary coenzyme Q10 into the egg yolk of laying hens. *J Poult Sci* 47:28-33.
- Kono T, Nishida M, Nishiki Y, Seki Y, Sato K, Akiba Y 2005 Characterization of glucose transporter (GLUT) gene expression in broiler chickens. *Br Poult Sci* 46(4):510-515.
- Krishnaiah KV, Ramasarma T 1970 Regulation of hepatic cholesterolgenesis by ubiquinone. *Biochim Biophys Acta* 202(2):332-342.
- Lee AH, Scapa EF, Cohen DE, Glimcher LH 2008 Regulation of hepatic lipogenesis by the transcription factor XBP1.

- Science 320(5882):1492-1496.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001 Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(-Delta Delta C(T)) method. *Methods* 25(4):402-408.
- Maxwell MH, Robertson GW 1998 UK survey of broiler ascites and sudden death syndromes in 1993. *Br Poult Sci* 39(2):203-215.
- Modi K, Santani DD, Goyal RK, Bhatt PA 2006 Effect of coenzyme Q10 on catalase activity and other antioxidant parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Trace Elem Res* 109(1):25-34.
- Nakamura Y, Okamura T, Tamaki S, Kadowaki T, Hayakawa T, Kita Y, Okayama A, Ueshima H 2004 Egg consumption, serum cholesterol, and cause-specific and all-cause mortality: The national integrated project for prospective observation of non-communicable disease and its trends in the aged, 1980 (NIPPON DATA80). *Am J Clin Nutr* 80: 58-63.
- O'Hea EK, Leveille GA 1968 Lipogenesis in isolated adipose tissue of the domestic chick (*Gallus domesticus*). *Comp Biochem Physiol* 26(1):111-120.
- SAS 1996 User's Guide: Statistics Version 6.12 Ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Saneyasu T, Shiragaki M, Nakanishi K, Kamisoyama H, Honda K 2013 Effects of short term fasting on the expression of genes involved in lipid metabolism in chicks. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 165(2):114-118.
- Sato K, Kamada T 2011 Regulation of bile acid, cholesterol, and fatty acid synthesis in chicken primary hepatocytes by different concentrations of T0901317, an agonist of liver X receptors. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 158(2):201-206.
- Schadinger SE, Bucher NL, Schreiber BM, Farmer SR 2005 PPARgamma2 regulates lipogenesis and lipid accumulation in steatotic hepatocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288(6):E1195-1205.

---

Received Mar. 2, 2016, Revised Mar. 4, 2016, Accepted Mar. 9, 2016