

고당식으로 유도된 비알코올성 지방간 마우스에서 기능성 잡곡의 지질 대사 개선 효과

이고은^{1,2} · 송가락¹ · 정병진³ · 정종성³ · 허태곤³ · 박건영¹

¹부산대학교 식품영양학과

²부산대학교병원 영양팀

³두보식품(주)

Anti-Lipogenic Effect of Functional Cereal Samples on High Sucrose Diet-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Mice

Ko-Eun Lee^{1,2}, Jia-Le Song¹, Byung-Jin Jeong³, Jong-Sung Jeong³,
Tae-Gon Huh³, and Kun-Young Park¹

¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

²Department of Nutrition, Pusan National University Hospital

³Doobo Food Co., Ltd.

ABSTRACT The anti-lipogenic effect of cereal samples on high sucrose diet (HSD)-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in mice was studied. We divided C57BL/6 mice into various groups based on 8 weeks of treatment with three types of cereal samples (HSD+WR, HSD diet containing 40% white rice; HSD+MCG, HSD diet containing 40% mixed cereal grain; HSD+AO-MCG, HSD diet containing 40% mixed antiobesity-cereal grain). After the experimental period, body weight changes, liver weights, serum lipid profiles, and hepatic fatty acid metabolism-related gene expression levels were determined. We found that HSD+WR, HSD+MCG, and HSD+AO-MCG treatments reduced body weight and liver weight, especially HSD+MCG and HSD+AO-MCG effectively reduced levels of serum triglycerides, total cholesterol, and low-density lipoprotein cholesterol. However, high density lipoprotein cholesterol levels increased compared to the control group. Furthermore, expression of hepatic lipogenic genes such as sterol regulatory element-binding protein-1c, acetyl-coenzyme A carboxylase, fatty acid synthase, stearoyl-coenzyme A desaturase-1, cluster of differentiation, and PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptor γ) decreased, whereas expression of β -oxidation genes such as PPAR- α and carnitine palmitoyl transferase-1 increased following HSD+MCG and HSD+AO-MCG treatment compared with levels in HSD+WR and control groups. These results suggest that the functional cereal samples, especially HSD+AO-MCG treatment, improved hepatic steatosis triggered by an HSD-induced imbalance in hepatic lipid metabolism.

Key words: mixed cereal grains, non-alcoholic fatty liver disease, steatosis, high sucrose diet

서 론

비알코올성 지방간질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 간의 대사증후군으로 그 유병률이 증가하여 우리나라에서도 16~33% 정도로 추정된다(1,2). 비알코올성 지방간질환은 단순 지방 침착에서부터 지방간염까지 다양한 범위를 포함하는데 일부 환자는 지방간염을 거쳐 간경변증이나 간암으로 진행될 수 있는 것으로 알려졌다. 알코올 섭취 없이 간에 과잉의 중성지방이 축적되는 것이 특징으

로(3) 간세포 내에 지방이 축적되면서 간세포 내에서 일어나는 지방대사 및 합성의 불균형을 초래한다(4). 그리고 만성 간질환 중 가장 흔한 질환으로 제2형 당뇨병, 비만 및 대사증후군과 관련성이 높은 것으로 알려졌다(5). 중성지방 합성의 원료가 되는 유리 지방산은 식이, 체내 생합성, 지방 조직으로부터 유리되어 간으로 유입된다(6).

한국인의 식단은 쌀을 원료로 한 밥을 주식으로 여기에 국이나 찌개, 반찬류가 추가되는 식사 형태이다. 또한, 밥은 탄수화물 섭취량의 50% 이상을 차지하는 주요 에너지원이다(7). 이전에는 쌀밥의 선호도가 가장 높았으나 당뇨병, 고혈압, 대사증후군 등의 질환 발병률이 증가하고 현대인들의 건강식에 대한 관심이 증가함에 따라 여러 잡곡을 혼합한 잡곡밥을 선호하는 추세로 변화되었다(7,8). 탄수화물의 종류와 원료에 따라 다르게 대사증후군에 연관되는데(9) gly-

Received 3 December 2015; Accepted 27 April 2016

Corresponding author: Kun-Young Park, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 46241, Korea

E-mail: kunypark@pusan.ac.kr, Phone: +82-51-510-2839

cemic index(GI) 지수가 높은 식품이나 높은 glycemic load(GL) 식품 또는 전곡류의 적은 섭취가 비만, 대사증후군, 당뇨병, 심장병을 증가시키는 것과 관련성이 있어 이에 대해 많은 연구가 이루어지고 있다(10). 건강에 대한 관심의 증가와 잡곡이 웰빙 식품으로 인지되면서 잡곡의 선호도가 증가하고 섭취 패턴도 다양해지고 있다. 따라서 잡곡의 부가가치를 높이고 경쟁력을 강화하기 위한 다양한 레시피 개발이 요구된다(11).

실험에서 시료로 사용한 항비만혼합잡곡은 비만 예방을 위한 기능성과 밥맛, 경제성을 고려하여 레시피를 개발한 것으로 발아현미, 찰보리, 귀리쌀, 서리태 등의 기능성 잡곡들이 혼합되어 있다. 발아현미는 현미보다 식이섬유, 칼슘, 철분, 비타민 등의 유익한 영양소의 함량이 높고 γ -oryzanol이나 arabinoxylan, γ -aminobutyric acid(GABA) 등 생리활성 성분들의 증가로 콜레스테롤 저하 작용을 하면서 체내 흡수율도 높인다(12). 보리는 β -glucan의 함량이 매우 높아 혈중 총콜레스테롤 저하와 지방의 축적을 억제하고 저밀도 콜레스테롤을 낮추어 관상동맥질환의 발병을 예방하는 효과가 있다(13). 서리태는 껍질이 검고 속은 노란빛을 띠는 콩으로 밥에 넣어 많이 섭취하는데 황색콩보다 안토시아닌이 풍부하여 혈중 지질 개선 효과가 보고되고 있다(14). 수수는 폐놀과 콜레스테롤 저하 waxes와 같은 nutraceuticals가 풍부하다. 이에 많은 연구에서 잡곡의 우수한 영양성분과 다양한 생리활성 물질은 대사증후군의 예방에 효과적이라고 보고하고 있다(15).

간의 지방 합성과 대사 관련 핵심인자인 sterol regulatory element-binding protein-1c(SREBP-1c), acetyl-coenzyme A carboxylase(ACC), fatty acid synthase(FAS), stearoyl-coenzyme A desaturase-1(SCD-1), peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR- γ), cluster of differentiation(CD36)은 발현이 증가함에 따라 간세포 내에 지방을 축적시키고(16), 간 내에서는 에너지 생산계의 하나로 β 산화가 일어나는데 peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR- α)는 간 조직 내 많이 분포하여 지방산 산화와 관련된 유전자 전사의 주된 조절인자로(17) carnitine palmitoyl transferase-1(CPT-1)의 발현을 촉진함으로써 세포 내 지방축적을 억제한다(18).

본 연구에서는 기능성 혼합잡곡을 고당식으로 유도한 비알코올 지방간 마우스에 섭취시켰을 때 혈청 지질 및 지질 관련 대사의 유전자 발현 측정 등을 통해 비알코올성 지방간의 예방 효과와 관련 기전을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료 및 시료 제조

본 실험에 사용된 곡류는 (주)두보식품(Seoul, Korea)에서 공급받았으며 2014년에 생산된 백미(white rice, WR), 일반혼합잡곡(mixed cereal grains, MCG), 항비만식혼합

잡곡(mixed cereal grains antiobesity, AO-MCG)을 구입하여 사용하였다. 각 시료의 곡류 구성비를 살펴보면 백미는 백미 100%, 일반혼합잡곡은 발효 15곡 혼합으로 현미 30%, 찰보리 15%, 찰현미 8%, 가바현미 7%, 가바찰현미 6%, 찰흑미 6%, 검정쌀, 기장, 서리태, 적두, 약콩, 차조, 수수 백태가 각각 2%, 쌀 발효액이 혼합되었고, 항비만식혼합잡곡(AO-MCG)은 발아현미 40%, 찰보리 20%, 귀리쌀 10%, 찰수수 10%, 옥수수쌀 10%, 서리태 5%, 적두 5%가 혼합되어 있다. 각 시료를 깨끗이 씻어 물이 맑아질 때까지 수세 후 전기압력밥솥(WPA-C1045F, Lihom-Cuchen Co., Ltd., Seoul, Korea)을 이용하여 밥 종류별 취사방법에 맞춰 밥을 지었다.

실험식이 및 실험동물 사육

각 실험군별 식이 성분은 Table 1과 같다. 대조군(Control)은 100% high sucrose diet(HSD; TD.98090)로 (주)두열바이오텍(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 정상군(Normal)은 AIN-93G diet 제조법에 준하였고, 실험군은 백미(WR), 일반혼합잡곡(MCG) 및 항비만식혼합잡곡(AO-MCG)을 각각 전기밥솥을 이용하여 밥으로 만들어 동결건조한 후 파우더화하여 high sucrose diet(HSD)에 40%씩 첨가하여 Table 1과 같이 조제하였다. 마우스 모델에서 high sucrose/high fructose diet로 비알코올성 지방간을 유도하면 간 효소 유도를 일으키고 지방산 합성 및 지방간증이 증가한다고 보고되고 있고(19), 30% fructose를 첨가한 물을 8주간 섭취한 마우스에서 간의 중성지방, 지방간, 체중이 3~4배 증가한 것이 관찰되었다(20). 이를 토대로 본 실험에서는 실험 시작 시부터 8주간 high sucrose가 포함된 실험식을 공급함으로써 비알코올성 지방간을 유도하였다. 조성물 속에 포함된 당질, 조지방, 조단백 등을 측정해 에너지 수준을 같게 하였다. 조제한 식이는 고형으로 만들어 건조한 후 4°C 냉장 보관하면서 공급하였다. 본 실험에 사용한 동물은 7주령 C57BL/6J 마우스로 (주)샘타코(Gyeonggi, Korea)에서 50마리를 구입하였다. 사육기간 중 온도는 20±2°C, 습도 40~60%를 유지하고, 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였으며 충분한 물과 사료를 제공하였다. 본 동물실험을 수행하기 전 부산대학교 동물실험윤리위원회(IACUC)의 심의 및 승인(승인번호: PNU-2015-0990)을 받았다.

해부, 혈장 및 장기 채취

실험동물은 희생 12시간 전에 절식시켰으며, CO₂로 마취한 후 복부 대동맥으로부터 채혈하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분 정도 방치한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 -80°C에서 냉동 보관하였다. 채혈 후 간을 적출하여 0.9% NaCl에 세척, 흡습지로 수분을 완전히 제거하고 무게를 측정하였다. 그 후 병리학적 결과를 검사할 조직은 10% paraformaldehyde 용액에 고정하고 나

Table 1. Composition of experimental diet samples

Ingredient (g/1,000 g diet)	Groups ¹⁾				
	Normal	Control (HSD)	HSD+WR	HSD+MCG	HSD+AO-MCG
Corn starch	397.5	20.0	12.0	12.0	12.0
Casein	200.0	200	120.0	120.0	120.0
L-Cystine	3.0	—	—	—	—
DL-Methionine	—	3.0	1.8	1.8	1.8
Maltodextrin	132.0	20.0	12.0	12.0	12.0
Sucrose	100.0	645.6	381.4	381.4	381.4
α -Cellulose	50.0	9.9	5.93	5.93	5.93
Soybean oil	70.0	50.0	60.0	60.0	60.0
Mineral mix	35.0	35.0	21.0	21.0	21.0
Vitamin mix	10.0	10.0	6.0	6.0	6.0
Calcium phosphate, dibasic	—	4.0	2.4	2.4	2.4
Choline bitartrate	2.5	2.5	1.5	1.5	1.5
tert-Butylhydroquinone (TBHQ)	0.014	0.014	0.006	0.006	0.006
1% orotic acid	—	6	6	6	6
White rice	—	—	400	—	—
MCG	—	—	—	400	—
AO-MCG	—	—	—	—	400

Each diet was tested on C57BL/6J mice with treatment-induced non-alcoholic fatty liver disease.

¹⁾Normal: AIN-93G diet, Control: high sucrose diet (HSD), HSD+WR: HSD diet containing 40% WR (white rice), HSD+MCG: HSD diet containing 40% MCG (mixed cereal grain), HSD+AO-MCG: HSD diet containing 40% antiobesity MCG.

머지 장기는 액체 질소로 급속 냉동하여 -70°C 에서 보관하면서 생화학적 분석에 사용하였다.

간의 조직학적 변화 관찰

적출된 간의 동일한 엽에서 일정 부분을 잘라 10% 중성 포르말린 용액(natural buffered formalin, NBF; pH 7.4)에 1주 동안 침적, 고정한 후 수세하고, 농도가 높은 에탄올로 탈수하고 xylene으로 투명화시킨 후 파라핀으로 포매하였다. 이를 $5\ \mu\text{m}$ 의 두께로 절단하여 조직표본을 만들어 hematoxylin-eosin(H&E) 염색을 한 후 Canada balsam으로 봉입한 다음 광학 현미경(Carl Zeiss Microimaging, Thornwood, NY, USA)으로 200배에서 관찰하여 평가하였다(21).

혈청 지질 농도 측정

마우스에서 혈액을 채취하여 4°C , 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 혈청을 분리한 후, triglyceride(TG), total cholesterol(TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol(HDL-C) 수준을 측정하기 위해 혈청 분석 kit(Asan Pharm, Seoul, Korea)을 사용하였다.

Reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) 분석

간 조직의 지방산 합성 및 산화와 관련된 유전자 발현의 변화를 살펴보았다. 실험동물의 간 조직을 균별로 임의로 선정하고, 이를 PBS로 세척하여 Trizol reagent(Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. Oligo dT primer를 사용하여 분리한 RNA 중

mRNA가 모두 cDNA로 만들어지므로 분리된 RNA를 정량한 후, oligo dT primer와 AMV reverse transcriptase를 이용하여 $2\ \mu\text{g}$ 의 RNA에서 mRNA에 상보적인 ss cDNA로 역전사시켰다(22). 이 cDNA를 template로 사용하여 유전자를 증폭하고 PCR을 이용하여 특정 유전자 부위를 증폭하였다. 이때 internal control로 housekeeping 유전자인 GAPDH를 사용하였다. 각 PCR 산물들을 1% agarose gel을 이용하여 전기영동하고 ethidium bromide(EtBr, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 염색한 후 UV light에서 확인하였다. 본 실험에 사용한 PCR primer는 Table 2와 같다.

통계처리

모든 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 대조군과 실험군으로부터 얻은 실험 결과들의 유의성을 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA)을 한 후 $P<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였으며, 그 결과는 평균±표준편차로 표시하였다. 모든 통계 분석은 Statistic Analysis System(V9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계프로그램을 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

마우스의 체중 변화, 간의 무게 및 조직학적 변화

8주간의 실험 후 체중 변화를 관찰한 결과 Fig. 1과 같다. 마우스의 평균 체중과 체중 증가율을 보면 대조군(HSD)보다 곡류 처리군이 감소하는 경향을 보였다. 초기 체중 $21\sim 23\ \text{g}$ 에서 8주 후 최종 체중이 대조군(HSD)은 $29.0\pm 1.8\ \text{g}$

Table 2. Primer sequences genes used for RT-PCR

Gene	Direction	Sequence
SREBP-1c	Forward	5'-AGD AGC CCC TAG AAC AAA CAC-3'
	Reverse	5'-CAG CAG TGA GTC TGC CTT GAT-3'
ACC	Forward	5'-TCC GAG ACA GGA CGA TGT G-3'
	Reverse	5'-AGA CTG GAT CAC TCT CTC AAA CA-3'
FAS	Forward	5'-GGA GGT GGT GAT AGC CGG TAT-3'
	Reverse	5'-TGG GTA ATC CAT AGA GCC CAG-3'
SCD-1	Forward	5'-CGA GCT TTG TAA GAG CGG TG-3'
	Reverse	5'-GCC CCT CTA CTT GGA AGA CG-3'
CD36	Forward	5'-TCC CCC TAC TAG AAG AAG TGG G-3'
	Reverse	5'-TCC AAC AGA TTG GTT TCG TTC A-3'
PPAR- γ	Forward	5'-TCG CTG ATG CAC TGC CAT TG-3'
	Reverse	5'-GAG AGG TCC ACA GAG CTG ATT-3'
PPAR- α	Forward	5'-TGA GCA ACT ATT CCA AAC CAG C-3'
	Reverse	5'-GCA CGT AGT CTT CGA TCA CTA TC-3'
CPT-1	Forward	5'-GGA GGT GGT GAT AGC CGG TAT-3'
	Reverse	5'-TGG GTA ATC CAT AGA GCC CAG-3'
GAPDH	Forward	5'-CGG AGT CAA CGG ATT TGG TC-3'
	Reverse	5'-AGC CTT CTC CAT GGT GGT GA-3'

The list includes genes of lipogenesis, fatty acid infiltration, and β -oxidation.

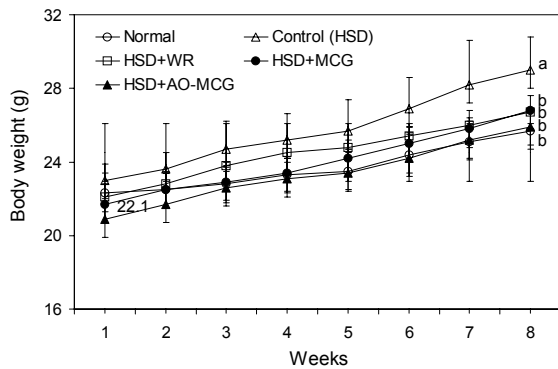


Fig. 1. Body weight changes of cereal samples treated high sucrose diet induced non-alcoholic fatty liver disease mice. The present data were expressed mean \pm SD. Group abbreviations are as described in the legend of Table 1. Means with the different letters (a,b) above the bars are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

으로 증가하였으나, 정상군(Normal)은 25.7 ± 1.1 g, 백미군(HSD+WR)은 26.7 ± 0.8 g, 혼합잡곡군(HSD+MCG)은 26.8 ± 1.6 g, 향비만혼합잡곡군(HSD+AO-MCG)은 25.9 ± 1.0 g을 나타내었다. 8주 후 대조군보다 다른 군들은 유의적으로 체중증가가 감소하였다($P < 0.05$). 비록 통계적인 차이는 없었으나 향비만혼합잡곡군은 체중 증가가 가장 적었으며, 정상군과 비슷한 값을 나타내었다.

간의 무게 측정 및 간 조직 내 지방구 formation을 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 간의 무게는 정상군 1.09 ± 0.1 mg보다 대조군에서 1.38 ± 0.1 mg으로 유의적으로 높았고, 백미군, 혼합잡곡군, 향비만혼합잡곡군 각각 1.26 ± 0.1 mg, 1.22

± 0.1 mg, 1.21 ± 0.1 mg으로 대조군보다 8.7%, 11.6%, 12.3%가 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$).

간 조직 내 지방구의 formation은 정상군보다 대조군에서 지방입자의 수와 크기가 증가하였고, 대조군보다 모든 실험군에서 지방축적이 감소함을 관찰하였다. Park 등(23)의 연구에서 고지방식 섭취 마우스에 2% 기장 열수 추출물 분말을 첨가한 군이 간 조직의 무게 감소 및 간 조직 내 지방입자 수와 크기가 유의적으로 감소하였고, Kim 등(24)의 연구에서는 찹쌀보리의 β -glucan 농축분획분을 10% 첨가한 군이 상대적 체중이 유의적으로 감소하였으나 간 무게는 유의적인 차이가 없다고 보고하였다. 본 실험군은 체중의 차이는 없었으나 간 무게에서 대조군보다 유의적인 감소 효과를 나타냈다. 대조군보다 백미도 효과가 있었으나 잡곡이 더욱 효과적인 것은 잡곡 내의 식이섬유소, 식물 화합물들에 의한 간의 지방축적이 억제된 것으로 생각된다.

잡곡의 혈청 지질 농도 개선 효과

잡곡밥 처리군의 혈청 지질 저하 효과를 측정된 결과는 Table 3과 같다. TG 농도는 대조군이 104.0 ± 10.1 mg/dL로 정상군 52.6 ± 5.8 mg/dL보다 49.5% 증가하여 유의적인 차이를 보였다. 백미군, 혼합잡곡군, 향비만혼합잡곡군은 각각 99.8 ± 15.5 mg/dL, 83.1 ± 3.5 mg/dL, 76.0 ± 3.9 mg/dL로 대조군보다 각각 4.0%, 20.1%, 27.0%로 감소하였고 혼합잡곡군과 향비만혼합잡곡군만이 유의적인 차이를 보였다($P < 0.05$). TC 농도는 대조군이 229.0 ± 22.8 mg/dL로 정상군 135.2 ± 24.2 mg/dL보다 41.0% 유의적으로 높았고($P < 0.05$), 백미군, 혼합잡곡군, 향비만혼합잡곡군이 각각 208.2

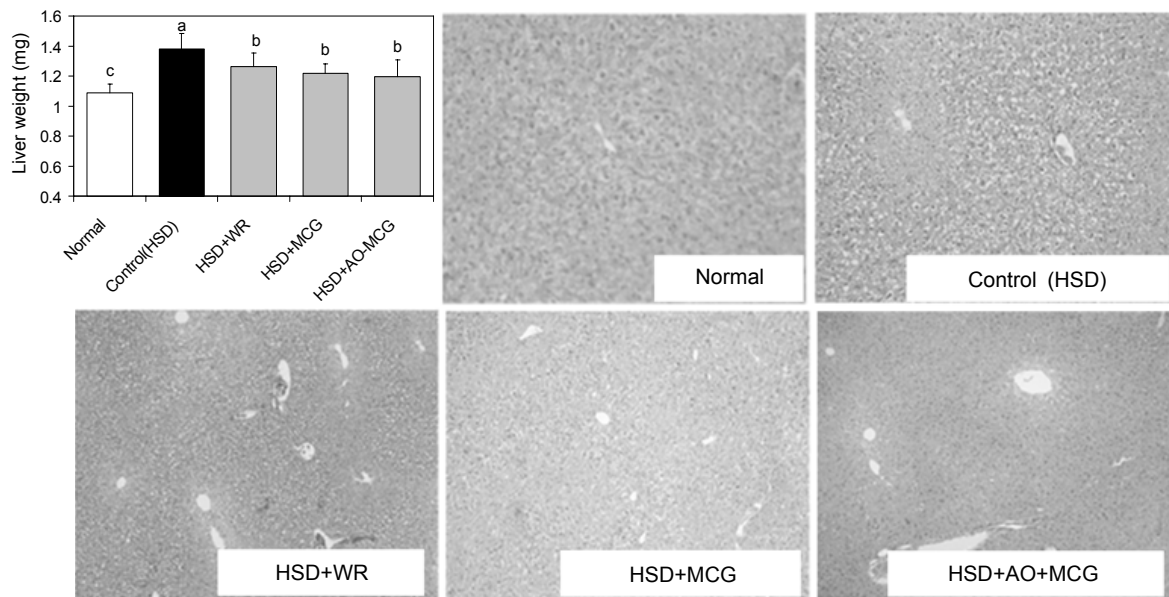


Fig. 2. Liver weight and histological observations of liver tissue in experimental and control C57BL/6J mice with high sucrose diet induced non-alcoholic fatty liver disease. The present data were expressed mean \pm SD. Means with the different letters (a-c) above the bars are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range tests. Group abbreviations are as described in the legend of Table 1.

Table 3. Serum levels of triglyceride, total cholesterol, high density lipoprotein-cholesterol, and low density lipoprotein-cholesterol in experimental and control C57BL/6J mice with high sucrose diet-induced non-alcoholic fatty liver disease

Groups ¹⁾	Levels (mg/dL)			
	TG ²⁾	TC	HDL-C	LDL-C
Normal	52.6 \pm 5.8 ^c	135.2 \pm 24.2 ^c	117.2 \pm 12.5 ^a	23.7 \pm 3.4 ^c
Control (HSD)	104.0 \pm 10.1 ^a	229.0 \pm 22.8 ^a	77.9 \pm 13.8 ^b	58.7 \pm 5.8 ^a
HSD+WR	99.8 \pm 15.5 ^a	208.2 \pm 21.0 ^a	87.5 \pm 14.1 ^b	54.6 \pm 2.7 ^a
HSD+MCG	83.1 \pm 3.5 ^b	181.7 \pm 13.0 ^b	91.5 \pm 21.5 ^b	45.6 \pm 4.6 ^b
HSD+AO-MCG	76.0 \pm 3.9 ^b	176.0 \pm 14.6 ^b	94.7 \pm 11.2 ^b	43.8 \pm 6.0 ^b

¹⁾Group abbreviations are as described in the legend of Table 1.

²⁾TG: triglyceride, TC: total cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol, LDL-C: low density lipoprotein cholesterol. All data were expressed mean \pm SD.

Means with different letters (a-c) in the same column are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

\pm 21.0 mg/dL, 181.7 \pm 13.0 mg/dL, 176.0 \pm 14.6 mg/dL로 각각 9.1%, 20.7%, 23.1%로 모두 감소하였으나 혼합잡곡군과 항비만혼합잡곡군만이 유의적인 차이가 있었다($P<0.05$). LDL-C 농도는 대조군이 58.7 \pm 5.8 mg/dL로 정상군 23.7 \pm 3.4 mg/dL보다 59.7% 유의적으로 높았다($P<0.05$). 백미군, 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군은 각각 54.6 \pm 2.7 mg/dL, 45.6 \pm 4.6 mg/dL, 43.8 \pm 6.0 mg/dL로 대조군보다 7.0%, 22.4%, 25.3%로 감소하였으나 혼합잡곡군과 항비만혼합잡곡군만이 유의적인 차이가 있었다($P<0.05$). 중성지방, 콜레스테롤 및 저밀도 콜레스테롤은 모든 실험군이 대조군보다 혈청 농도가 감소하였고 혼합군과 항비만혼합군에서 유의적인 차이를 보였다($P<0.05$). 또한, HDL-C 농도는 대조군이 77.9 \pm 13.8 mg/dL로 정상군 117.2 \pm 12.5 mg/dL에 비해 33.5% 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 백미군, 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군은 각각 87.5 \pm 14.1 mg/dL, 91.5

\pm 21.5 mg/dL, 94.7 \pm 11.2 mg/dL로 대조군보다 10.9%, 14.8%, 17.7% 증가하였다.

Park 등(23)의 연구에서 고지방식 마우스에 1%, 2% 가장 열수 추출물 분말을 첨가한 군에서 혈청 TG, TC는 유의적으로 감소하고 HDL-C는 유의적으로 증가하였다. Ho 등(25)의 연구에서 고지방식을 섭취하는 마우스에 0.15% 발아현미 메탄올 추출물을 섭취한 군에서 혈청 TG, TC가 유의적으로 감소하였고, LDL-C 및 HDL-C는 개선되었으나 대조군과 유의적인 차이는 없었다. Rabey 등(26)의 연구에서 고지방식으로 2주간 사육한 동물모델에 고콜레스테롤식에 보리겨를 혼합한 사료를 8주간 먹인 군이 혈청 TG, TC, LDL-C가 대조군보다 유의적으로 감소한다고 보고하였다. 본 실험에서도 백미, 혼합잡곡, 항비만혼합잡곡 모두 혈청 지질 개선 효과가 나타났다. 그중 항비만혼합잡곡이 가장 높은 혈청 지질 농도 개선 효과를 보였는데 이는 비만을 예

방하는 레시피로 조제된 잡곡의 효과로 인한 것으로 생각한다.

간 조직 내 지질 대사 관련 유전자들의 mRNA 발현에 미치는 효과

간 조직으로부터 지방산 합성 및 산화와 관련된 유전자 발현 수준은 Fig. 3과 같다. 지방산 합성과 관련된 전사인자인 SREBP-1c는 식사로 얻어지는 탄수화물로부터 지방 조절에 관여하는 FAS, ACC, SCD-1 등의 지방산 합성에 관련된 효소들의 발현에 관여한다(27). SREBP-1c mRNA 발현

은 대조군보다 백미군, 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군에서 각각 58.6%, 51.1%, 53.8% 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 혼합잡곡군과 항비만혼합잡곡군에서 대조군보다 ACC는 각각 19.8%, 22.5%, FAS는 27.7%, 46.1%로 mRNA 발현이 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). SCD-1은 항비만잡곡군만이 대조군보다 mRNA 발현이 42.5% 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 또한, 간 조직 내 지방산 침투와 관련된 PPAR- γ 는 지방세포 분화과정 중 초기 단계에서 발현이 증가하여 중성지방을 축적하는 인자의 발현을 촉진한다(28). CD36은 혈액으로부터 간세포 안으로 지방산을 이동시키는

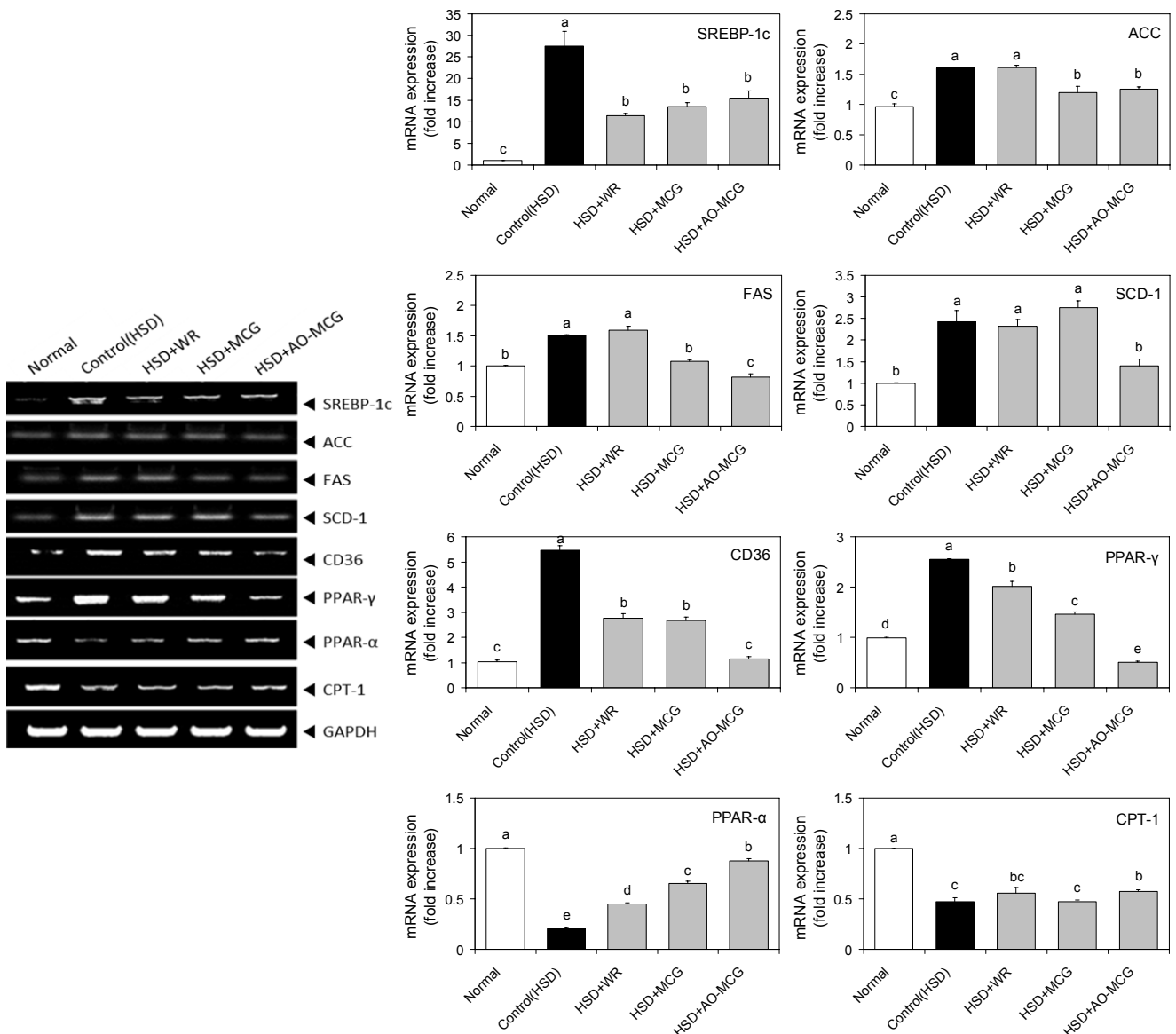


Fig. 3. Effects of cereal samples on relative expression of mRNA of SREBP-1c, ACC, FAS, SCD-1, CD36, PPAR- γ , PPAR- α , and CPT-1 in C57BL/6J mice with high sucrose diet induced non-alcoholic fatty liver disease. The relative mRNA expression in livers measured by real-time PCR. Values were expressed mean \pm SD. Group abbreviations are as described in the legend of Table 1. Means with the different letters (a-e) above the bars are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range tests. SREBP-1c, sterol regulatory element-binding protein-1c; ACC, acetyl-coenzyme A carboxylase; FAS, fatty acid synthase; SCD-1, stearoyl-coenzyme A desaturase-1; CD36, a cluster of differentiation; PPAR- γ , peroxisome proliferator activated receptor γ ; PPAR- α , peroxisome proliferator activated receptor α ; CPT-1, carnitine palmitoyl transferase-1.

역할을 담당하는데 백미군, 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군은 대조군보다 PPAR- γ 가 각각 21.1%, 42.6%, 80.1%, CD36은 49.3%, 51.2%, 79.0%로 mRNA 발현 수준이 유의적으로 감소하였고($P < 0.05$), 특히 항비만혼합잡곡군은 대조군보다도 PPAR- γ 가 79.0%, CD36은 80.1% mRNA 발현 수준이 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 그리고 간 내에서는 에너지 생산계의 하나로 β 산화와 관련 인자인 PPAR- α , CPT-1의 mRNA 발현 수준을 살펴보면 PPAR- α 는 대조군보다 백미군, 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군에서 mRNA 발현 수준이 각각 2.2배, 3.2배, 4.3배 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). CPT-1은 대조군보다 백미군과 항비만혼합잡곡군의 mRNA 발현 수준이 증가하였다. Ho 등(25)의 연구에서 고지방식을 섭취하는 마우스에 0.15% 발아현미 메탄올 추출물을 섭취할 경우 SREBP-1c, FAS, PPAR- γ 의 발현이 감소하였다.

Park 등(23)의 연구에서는 고지방식 마우스에 2% 기장 열수 추출물 분말을 첨가한 군에서 SCD-1의 mRNA 발현이 유의적으로 감소하였고, PPAR- α 및 CPT-1의 mRNA 발현이 증가하였으나 PPAR- α 만이 유의적인 차이가 있었다. 이는 본 연구와 같은 결과로, 특히 항비만잡곡이 간 조직 내 지방축적을 억제하는 효과가 큰 것으로 나타났다. 혼합잡곡과 항비만잡곡 처리는 혈청에서 지질 대사를 개선할 뿐 아니라 간에서 지방 합성에 관여하는 유전자들을 크게 억제하고 β 산화에 관여하는 유전자를 활성화해 지방간 생성을 억제하는 것으로 확인되었다. 그러므로 백미보다는 혼합잡곡밥, 혼합잡곡밥보다는 비알코올성 지방간의 관련 요인인 비만과 인슐린 저항성을 개선하도록 개발된 항비만잡곡밥 또는 항당뇨잡곡밥(data not shown)이 비알코올성 지방간 예방에 중요한 역할을 할 것으로 판단된다. 이처럼 잡곡밥의 기능성, 맛 및 가격을 고려한 질환 맞춤형 레시피 개발을 통해 주식인 밥으로도 안전하게 다양한 질환의 예방 효과를 기대할 수 있을 것이다.

요 약

본 연구에서 고당식으로 비알코올성 지방간을 유도한 마우스의 체중 변화는 대조군보다 백미군, 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군에서 체중증가율이 낮았고 간 무게 또한 유의적으로 감소했으며, 간 내 조직학적 지방구 수와 크기가 감소한 것을 관찰할 수 있었다. 혈청 지질 수치 역시 개선 효과를 보였는데 모든 실험군이 대조군보다 중성지방, 총콜레스테롤 및 저밀도 콜레스테롤의 농도가 감소하였고, 혈청 고밀도 콜레스테롤은 모두 증가하였다. 간 조직 내 지질합성 및 지방산 침투와 관련 유전자 인자에서 대조군보다 SREBP-1c mRNA 유전자 발현 수준은 백미군, 혼합잡곡군 및 항비만혼합잡곡군에서, ACC 및 FAS mRNA 유전자 발현 수준은 혼합잡곡군과 항비만혼합잡곡군에서, SCD-1 mRNA 유전자 발현 수준은 항비만혼합잡곡군에서 감소하였다. CD36 및

PPAR- γ mRNA 유전자 발현 수준 또한 대조군보다 백미군, 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군에서 감소하였다. 간 내 β 산화로 지방축적 억제와 관련된 유전자 인자인 PPAR- α 및 CPT-1 mRNA 유전자 발현 수준은 대조군보다 혼합잡곡군, 항비만혼합잡곡군에서 증가하였다. 본 실험 결과를 종합해 볼 때 고당식으로 비알코올성 지방간질환을 유도한 마우스에서 백미군, 혼합잡곡군 및 항비만혼합잡곡군 모두 지질 대사 개선 효과가 나타났으며 항비만혼합잡곡군이 가장 효과적이었다.

감사의 글

본 연구는 국가지정 소화기질환 의료제품 유효성평가 서비스센터(NCEED)에 의하여 이루어졌습니다.

REFERENCES

- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. 2011. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 34: 274-285.
- Bae JC, Cho YK, Lee WY, Seo HI, Rhee EJ, Park SE, Park CY, Oh KW, Sung KC, Kim BI. 2010. Impact of non-alcoholic fatty liver disease on insulin resistance in relation to HbA1c levels in nondiabetic subjects. *Am J Gastroenterol* 105: 2389-2395.
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. 2012. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 55: 2005-2023.
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. 2001. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 50: 1844-1850.
- Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. 2011. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science* 332: 1519-1523.
- Musso G, Gambino R, Cassader M. 2009. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Prog Lipid Res* 48: 1-26.
- Kang M, Joung H, Lim JH, Lee YS, Song YJ. 2011. Secular trend in dietary patterns in a Korean adult population, using the 1998, 2001, and 2005 Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *Korean J Nutr* 44: 152-161.
- Ministry of Health and Welfare, Korean Centers for Disease Control and Prevention. 2012. *Korea health statistics 2011: Korean national health and nutrition examination survey (KNHANES V-2)*. Ministry of Health and Welfare, Sejong, Korea. p 37-46.
- Song S, Lee JE, Song WO, Paik HY, Song Y. 2014. Carbohydrate intake and refined-grain consumption are associated with metabolic syndrome in the Korean adult population. *J Acad Nutr Diet* 114: 54-62.
- Barclay AW, Petocz P, McMillan-Price J, Flood VM, Prvan T, Mitchell P, Brand-Miller JC. 2008. Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk—a meta-analysis of

- observational studies. *Am J Clin Nutr* 87: 627-637.
11. Jung YJ, Cho YJ, Kim KW, Yoon KY. 2013. Current status and development plan of domestic cereal industry. *Food Preservation and Processing Industry* 12(1): 31-39.
 12. Madar Z. 1983. Effect of brown rice and soybean dietary fiber on the control of glucose and lipid metabolism in diabetic rats. *Am J Clin Nutr* 38: 388-393.
 13. Newman RK, Lewis SE, Newman CW, Boik RJ, Ramage RT. 1989. Hypocholesterolemic effect of barley foods on healthy men. *Nutr Rep Int* 39: 749-760.
 14. Sin MK, Han SH. 2001. Effects of methanol extracts from *Phaseolus vulgaris* on serum lipid concentrations in rats fed high fat and cholesterol diet. *Korean J Food Sci Technol* 33: 113-116.
 15. Kim JM, Park JY, Kim KW, Yoon KY. 2014. Nutritional composition and functionality of mixed cereals powder. *Korean J Food Preserv* 21: 388-395.
 16. Rawson RB. 2003. Control of lipid metabolism by regulated intramembrane proteolysis of sterol regulatory element binding proteins (SREBPs). *Biochem Soc Symp* 70: 221-231.
 17. Hashimoto T, Cook WS, Qi C, Yeldandi AV, Reddy JK, Rao MS. 2000. Defect in peroxisome proliferator-activated receptor α -inducible fatty acid oxidation determines the severity of hepatic steatosis in response to fasting. *J Biol Chem* 275: 28918-28928.
 18. Lapsys NM, Kriketos AD, Lim-Fraser M, Poynten AM, Lowy A, Furler SM, Chisholm DJ, Cooney GJ. 2000. Expression of genes involved in lipid metabolism correlate with peroxisome proliferator-activated receptor γ expression in human skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 4293-4297.
 19. Koteish A, Mae Diehl A. 2002. Animal models of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 16: 679-690.
 20. Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Bergheim I. 2009. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 50: 1094-1104.
 21. Ha J. 2002. Analysis of volatile organic compounds in kimchi absorbed in SPME by GC-AED and GC-MSD. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 543-545.
 22. Jansson EA, Are A, Greicius G, Kuo IC, Kelly D, Arulampalam V, Pettersson S. 2005. The Wnt/ β -catenin signaling pathway targets PPAR γ activity in colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 1460-1465.
 23. Park MY, Jang HH, Lee JY, Lee YM, Kim JH, Park JH, Park DS. 2012. Effect of hog millet supplementation on hepatic steatosis and insulin resistance in mice fed a high-fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 501-509.
 24. Kim SR, Seog HM, Choi HD, Park YK. 2002. Cholesterol-lowering effects in rat liver fed barley and β -glucan-enriched barley fraction with cholesterol. *Korean J Food Sci Technol* 34: 319-324.
 25. Ho JN, Son ME, Lim WC, Lim ST, Cho HY. 2012. Anti-obesity effects of germinated brown rice extract through down-regulation of lipogenic genes in high fat diet-induced obese mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 76: 1068-1074.
 26. Rabey HAE, Al-Seeni MN, Amer HM. 2013. Efficiency of barley bran and oat bran in ameliorating blood lipid profile and the adverse histological changes in hypercholesterolemic male rats. *BioMed Res Int* 2013: 263594.
 27. Postic C, Girard J. 2008. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 118: 829-838.
 28. Gervois P, Torra IP, Fruchart JC, Staels B. 2000. Regulation of lipid and lipoprotein metabolism by PPAR activators. *Clin Chem Lab Med* 38: 3-11.