

고지방식이 유도 비만 마우스에서 차가버섯(*Inonotus obliquus*) 추출물의 체중 증가 억제 및 지방대사 개선 작용

김보배 · 김민석 · 현창기*
한동대학교 생명과학부

Suppression of Adiposity and Improvement of Fat Metabolism in High-fat Diet-induced Obese Mice Treated with an *Inonotus obliquus* Extract

Bobae Kim, Min-Seok Kim and Chang-Kee Hyun*

School of Life Science, Handong Global University, Pohang, Gyeongbuk 37554, Korea

Abstract – Using high-fat diet-induced obese (DIO) mice, the mechanism of anti-adiposity and anti-obesity actions produced by *Inonotus obliquus* water extract (IOE) was investigated. Significant reduction in body weight in DIO mice orally administered with IOE for 8 weeks compared to IOE-non-treated control mice was observed, which was attributed to the reduction of epididymal and mesenteric adipose tissue, but not the liver and skeletal muscle. Adiponectin synthesis in epididymal adipose tissue (EAT) and AMPK phosphorylation in the liver were significantly increased in IOE-treated DIO mice. Gene expression analysis showed that IOE-treated DIO mice had higher expression levels of lipogenic genes in EAT and fatty-acid oxidative genes in the liver, but lower expression levels of hepatic pro-inflammatory cytokines compared to IOE-non-treated controls. Our findings confirm a therapeutic potential of *Inonotus obliquus* for reducing adiposity and ameliorating hyperlipidemia to treat metabolic disorders.

Key words – *Inonotus obliquus*, Diet-induced obesity, Anti-obesity, Adiponectin, AMPK, Fat metabolism

대사증후군은 각종 비만, 인슐린 저항성, 고혈압, 고지혈증 등의 대사이상 증세가 복합적으로 나타나는 질환으로서 체중 증가와 지질대사 이상이 그 주요 원인이 된다.¹⁾ 국내에서도 대사증후군 유병률은 꾸준히 증가하는 추세이며 과다한 에너지 섭취에 의한 비만 유병률의 증가가 가장 큰 원인으로 꼽히고 있다. 질병관리본부 국민건강영양조사 통계에 의하면,²⁾ 2013년 한국인 성인의 비만 유병률은 남자 기준으로 37.6%로서 1998년의 25.1%에서 시작되어 지속적으로 증가하고 있는 것으로 나타났으며, 9.5%에서 12.8%로 증가한 당뇨병은 물론 7.2%에서 13.6%로 증가한 고콜레스테롤혈증의 유병률과도 유사한 추이로 증가하고 있는 심각한 상황임을 보여주었다. 비만은 만성적인 고에너지 섭취와 운동 부족으로 인해 발생하는 체지방의 축적으로 야기되는 증상으로 그 해결을 위해서는 단지 지방조직만이 아닌 여타 대사 관련 조직들과의 상호작용을 고려한 에너지 항상성의 조절이라는 차원의 접근이 필요하다.³⁾ 특히 비만은 고

지혈증 또는 고콜레스테롤혈증과 같은 이상지질대사와 밀접한 관련성을 가지기 때문에, 단순한 간지방증은 물론 비알코올성 지방간과 지방간염 등 간 질환에까지 이어질 수 있다.⁴⁾ 따라서 대사증후군의 예방과 치료를 위해서는 특정 증상에 대한 개별적인 접근이 아니라 대사이상 관련 증상의 종합적인 개선을 목표로 하여야 하며, 이를 위해서는 지질대사의 개선이 가장 우선되는 과제가 된다. 결국 대사증후군의 예방 및 치료를 위한 의약 또는 기능성 소재를 개발하기 위해서는 지방 축적과 지질대사 이상을 억제하는 효능을 가지는 소재를 발굴하는 전략이 필요하다.

차가버섯(*Inonotus obliquus*)은 Hymenochaetaceae 과에 속하는 진균류로서 시베리아, 북아메리카, 북유럽 등 북위 45도 이상의 추운 지방에서 살아있는 자작나무에 기생하며, 러시아, 몽골, 동유럽 등지에서는 전통적으로 소화제 및 심혈관계 질환과 당뇨의 치료를 위해 사용해 온 약용버섯이기도 하다. 차가버섯 추출물을 이용한 생리활성으로는, 혈당강하,⁵⁻⁸⁾ 항산화,⁹⁾ 항암 작용^{10,11)} 등이 보고된 바 있다. 특히 항대사질환 작용과 관련하여, Sun 등은⁶⁾ 차가버섯 배양

*교신저자(E-mail): ckhyun@handong.edu
(Tel): +82-54-260-1361

액의 고형분이 alloxan 당뇨 유발 마우스에서 혈중 중성지방과 총콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤 수준을 낮추고 인슐린과 HDL 콜레스테롤의 수준을 높여주는 작용을 나타내었다고 보고하였다. 또한 국내에서도 차가버섯 열수추출물을 고지방식이 급여 마우스에 투여하여 혈당조절 및 지질개선 효과를 관찰한 연구결과가 발표된 바 있다.⁷⁾ 그러나 이러한 기존의 연구들은 지질대사 개선 또는 혈당강화 작용에 대해서 실험동물에서의 생리학적 지표들을 관찰한 결과들이 발표되었을 뿐 분자 수준의 작용기전에 대한 내용은 전혀 규명되지 않은 상태이다. 최근 본 연구팀에서는 차가버섯 추출물로부터 분리된 수용성 멜라닌 복합체(melanin complex) 성분을 고지방식이 유도 비만 마우스에 처리한 결과 내당능이 유의적으로 향상되는 것을 확인하고 세포 시스템을 이용하여 인슐린 신호전달과 AMPK(AMP-activated protein kinase) 활성화를 촉진하는 작용 메커니즘을 규명하여 발표한 바 있다.⁸⁾

기존의 많은 항당뇨 소재들이 체중 증가 또는 지질대사 이상 등의 부작용을 유발할 수 있음이 밝혀져 있다.¹²⁾ 이러한 부작용 문제를 감안할 때, 항대사질환 소재의 실질적인 치료효과를 위해서는 인슐린 감수성 촉진작용과 함께 지질대사를 개선시키는 작용이 동반되어야 할 필요가 있다. 또한 그러한 유효 생리활성 작용에도 불구하고 수반될 수 있는 부작용을 예측하기 위해서는 그 작용에 대한 분자 수준의 기전 규명이 반드시 필요하다. 따라서 본 연구에서는 고지방식에 의해 비만을 유도한 마우스에 차가버섯 열수 추출물을 투여하여 체중 증가에 대한 억제작용을 확인하고 그와 동반되는 지질대사 개선작용의 분자적 메커니즘을 규명하고자 하였다. 이를 통하여 앞서 발표한 차가버섯 유래 추출 성분의 항당뇨 작용의 분자 메커니즘⁸⁾과 더불어 차가버섯을 항대사질환 소재로 활용하기 위한 기초 자료가 마련될 것으로 기대한다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용한 차가버섯 시료는 몽골 울란바타르 약제시장에서 몽골산 차가버섯을 구입하여 사용하였으며 증거표본은 경북 포항시 소재 한동대학교 생명과학부 실험실에 보관 중이다. 차가버섯 열수추출물(*Inonotus obliquus* extract, IOE) 제조를 위하여 차가버섯 시료를 두께 1 mm 이하의 입자로 잘게 분쇄하였다. 분쇄 시료 10 g과 증류수 100 ml의 비율로 혼합한 후 80°C에서 6시간 동안 교반하며 추출하고, 여과지로 여과 분리한 추출액을 동결건조하여 분말시료를 제조하였다. 액상추출물로부터 얻어진 분말시료의 건조중량은 19.6 mg/ml이었다. 마우스에 투여하기 위해 분말시료를 PBS 용액에 농도에 맞도록 용해시켜 사용하였다.

마우스 사육 및 조직 채취 - 6주령의 C57BL/6J 마우스를

효창 바이오사이언스로부터 구입하여 1주일 동안 사육실 환경(온도: 22±1°C, 상대습도: 45±10%, 명암주기: 12시간 light/dark cycle)에 적응시킨 후, 다시 1주일간 생리식염수(0.9% NaCl)를 사용하여 경구투여에 적응시키고 본 실험에 사용하였다. 마우스는 각기 정상식이 대조군(normal chow diet, ND), 고지방식이 대조군(high-fat diet, HFD), 그리고 추출물 투여군(HFD+IOE)으로 나누어 8주간 사육하였다. 차가버섯 열수추출물은 1일 1회 동일한 시간에 100 mg/kg의 용량으로 경구투여 하였고, 음성 대조군에는 동일한 부피의 생리식염수를 경구투여 하였다. 마우스의 적응 및 정상식이 대조군에 급여한 식이는 Harlan(Indianapolis, IN)의 2018S를 사용하였고, 고지방식은 Research Diets 사(New Brunswick, NJ)의 60%kcal high-fat diet(D12492)을 사용하였다. 마우스의 체중과 식이섭취량은 7일 간격으로 일정 시간에 전 실험 기간에 걸쳐 측정하였다. 8주의 사육기간이 끝난 마우스는 4시간 절식 후 희생시켜 간, 부고환 지방(epididymal adipose), 장간막 지방(mesenteric adipose), 골격근(quadriceps muscle) 조직을 적출하고, 각각의 무게를 측정하였다.

Real-time RT PCR - 각 조직으로부터의 RNA 분리는 Tri-reagent(Molecular Research Center, Cincinnati, OH)를 이용하였고, 얻어진 RNA 2 µg에 대하여 GoScriptTM reverse transcriptase(Promega, Madison, WI)와 Oligo(dT) 20 mer를 이용하여 역전사하였다. Real-time PCR은 Premix Ex TaqTM(Tli RNaseH Plus) kit(Takara Bio Inc., Shiga, Japan)와 ABI 7500 Real-Time PCR system(Applied Biosystems, Foster City, CA)을 사용하여 실시하였다. Acetyl-CoA carboxylase(ACC), acyl-CoA oxidase(AOX), adiponectin, acidic ribosomal phosphoprotein P0(Arbp), carnitine palmitoyltransferase1(CPT1), CD36, fatty acid synthase(FAS), glycerol-3-phosphate acyltransferase 1(GPAT1), interferon γ(IFNγ), interleukin-4(IL-4), IL-10, leptin, long-chain acyl-CoA dehydrogenase (LCAD), peroxisome proliferator-activated receptor γ(PPARγ), peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1-α(PGC1α), sterol regulatory element-binding protein 1-c(SREBP1c), tumor necrosis factor α(TNFα) 유전자의 primer 서열은 Table I에 표기한 바와 같으며, Arbp는 증폭된 유전자들의 대조군으로 사용되었다.

Western Blotting - 각 조직에서의 AMPK 인산화 정도를 Western blotting법으로 측정하였다. 조직으로부터 단백질을 추출하기 위하여 탈인산화효소 억제제를 첨가한 PRO-PREPTM Protein Extraction Solution(iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)을 조직과 혼합, 균질화한 후, 균질액을 원심분리하고 단백질을 정량하였다. 단백질 15 µg을 10% SDS-PAGE로 분리한 후 PVDF membrane로 electroblotting하고, 5% skim milk로 blocking 후, 1차 항체인 adiponectin, anti-phospho-AMPK(Thr172) 또는 anti-AMPK 항체 처리,

Table I. Characteristics of specific primers used for Real-time RT PCR analysis

Gene	Forward primer	Reverse primer
ACC	TGACAGACTGATCGCAGAGAAAG	TGGAGAGCCCCACACACA
Adiponectin	GCAGAGATGGCACTCCTGGA	CCTTCAGTCTCCTGTCATTCC
AOX	GTGCAGCTCAGAGTCTGTCCAA	TACTGCTGCGTCTGAAAATCCA
Arbp	TCACTGTGCCAGCTCAGAAC	AATTTCAATGGTGCCTCTGG
CD36	TCCTCTGACATTTGCAGGTCTATC	AAAGGCATTGGCTGGAAGAA
CPT1	TGAGTGGCGTCCTCTTTGG	TCAGCGAGTAGCGCATAGTCA
FAS	GCTGCGGAACTTCAGGAAAT	AGAGACGTGTCACCTCCTGGACTT
GPAT1	CAGACACAGGCAGGGAATCC	GCCTAGGTGCGAAATCGCGAG
IFN γ	TCAAGTGGCATAGATGTGGAAGAA	TGGCTCTGCAGGATTTTCATG
IL-4	GGCATTTTGAACGAGGTCACA	GACGTTTGGCACATCCATCTC
IL-10	TGCCTGCTCTTACTGACTGG	CTGGGAAGTGGGTGCAGTTA
LCAD	TCCATGGCAAAAATACTGGGC	TTGCAATCGGGTACTCCAC
Leptin	TGACACAAAACCCTCATCA	TCATTGGCTATCTGCAGCAC
PGC1 α	TCGATGTGTGCCTTCTTGC	ACGAGAGCGCATCCTTTGG
PPAR γ	AGTGGAGACCGCCAGG	GCAGCAGGTTGTCTTGATGT
SREBP1c	GGAGCCATGGATTGCACATT	GGCCCCGGAAGTCACTGT
TNF α	CACAAGATGCTGGGACAGTGA	GAGGCTCCAGTGAATTCGGA

horseradish peroxidase 결합 2차 항체 처리를 거쳐(항체들은 모두 Cell Signaling Technology, Beverly, MA), enhanced chemiluminescence 방법으로 단백질을 검출하였다. 단백질 blot의 강도는 AlphaImager 2200(Protein Simple, Santa Clara, CA)를 이용하여 분석하였다.

통계 처리 - 모든 실험결과는 평균 \pm 표준편차로 표현하였다. 두 실험군 간의 유의성 검정은 Student's *t*-test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준 이상의 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

체중 및 지방조직 무게 증가 억제 효과 - 8주 동안의 고지방식이 급여를 통해 비만을 유도한 마우스에서 차가버섯 추출물(IOE) 투여가 체중 증가에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1주 간격으로 체중 변화를 관찰하였다. 그 결과, 고지방식이 급여군(HFD) 마우스의 체중이 정상식이 급여군(ND)에 비하여 29.6% 증가하여 비만이 유도된 상황에서, 고지방식이 급여 IOE 투여(HFD+IOE)군은 비투여군(HFD)군과 비교하여 체중이 유의적으로 감소하여 8주 시점에서 약 13% 정도 낮은 평균체중을 나타내었다(Fig. 1A). IOE 투여군과 비투여군 간의 식이섭취량에는 유의적인 차이가 없었다. IOE 투여에 의한 각 조직 무게의 변화를 조사한 결과, 고지방식이 급여 IOE 비투여군에 비해 IOE 투여군의 부고환 지방(epididymal adipose tissue, EAT)과 장간막 지방

(mesenteric adipose tissue, MAT) 등 백색지방 조직의 무게는 유의적으로 감소한 반면, 간 및 근육 조직의 무게에는 유의적인 변화가 없었다(Fig. 1B). 평균 조직무게를 기준으로 부고환 지방은 32.8%, 장간막 지방은 34.3% 낮게 나타났다. 이러한 결과로부터 IOE 투여가 고지방식이 조건 하에서 체중 증가 억제 효과를 나타낼 뿐 아니라, 특히 고지방식으로 인해 유발되는 백색지방 조직에서의 지방 축적을 억제하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

지방조직에서의 Adiponectin 분비 촉진 효과 - IOE 투여에 의한 지방 축적 억제 효과의 원인을 규명하기 위하여 부고환 지방 조직에서의 adipokine 발현 변화를 조사하였다. 고지방식이 급여군에서 IOE 비투여군 및 비투여군 간의 leptin과 adiponectin 유전자의 mRNA 발현을 비교한 결과, 8주 간의 IOE 투여에 의해 adiponectin 유전자의 mRNA 발현이 비투여군에 비해 유의적으로 높아짐을 관찰할 수 있었다(Fig. 2A). 이러한 adiponectin 발현의 변화는 혈중 adiponectin 단백질의 농도를 조사한 결과로부터 재차 확인되었다. 즉, 정상식이 급여 마우스군에 비해 고지방식이 급여 마우스군의 혈중 adiponectin 농도가 현저하게 감소하였지만, IOE 투여에 의해 고지방식이 급여 마우스의 adiponectin 분비가 유의적으로 높아짐을 보여주었다(Fig. 2B). 이와 같은 부고환 백색 지방 조직의 adipokine 생합성에 대한 측정 결과로 미루어 볼 때, 고지방식이 유도 비만 마우스에서 IOE 투여에 의해 지방 축적이 억제되는 현상은 백색 지방 조직의 adiponectin 발현과 분비가 촉진되는 작용에 기인한 것

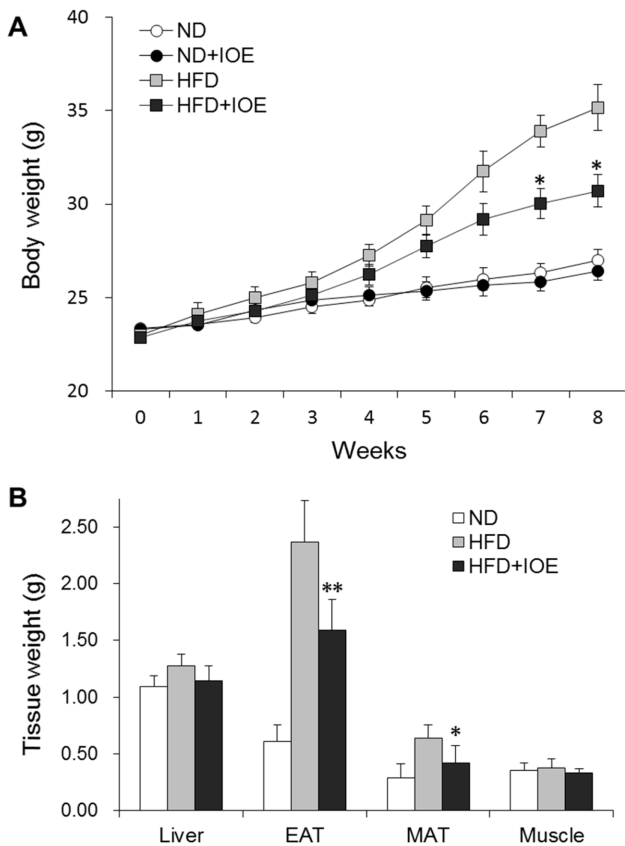


Fig. 1. Effect of IOE treatment on body and tissue weight. C57BL/6J mice were fed a normal or high-fat diet with IOE or PBS (control) treatment during 8 weeks. (A) Changes of body weight and (B) tissue weights. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to high-fat diet(HFD)-fed control mice. Data represent means \pm SD for 5~6 mice per group. ND: normal diet-fed PBS-treated mice, HFD: high-fat diet-fed PBS-treated mice, HFD+IOE: high-fat diet-fed IOE-treated mice, EAT: epididymal adipose tissue, MAT: mesenteric adipose tissue, Muscle: quadriceps muscle.

으로 추정되었다. Adiponectin의 발현을 촉진시켜 비만 또는 그와 관련된 대사질환에 대한 개선효과를 나타내는 천연물 유래 성분들로는 curcumin, capsaicin, gingerol, catechin류 등 여러 가지가 알려져 있다.¹³⁾ 본 연구의 결과를 통해 차가버섯 추출물로부터 adiponectin 발현 촉진 활성을 갖는 유효성분을 탐색하는 추가 연구의 필요성을 확인할 수 있었다.

지방조직에서의 AMPK 인산화 촉진 효과 - Adiponectin은 주로 백색 지방 조직으로부터 분비되어 간, 지방, 근육 조직 등 대사 관련 말초조직에서 AMPK를 활성화시키는 작용을 통해 혈당을 낮추고 지방대사를 개선시킨다.¹⁴⁾ 앞서 IOE 투여 마우스에서 부고환 지방 조직의 adiponectin 발현이 촉진되고 혈중 adiponectin 농도가 높아지는 현상을 확인한 바, 간, 지방, 골격근 조직에서의 AMPK 인산화가 촉

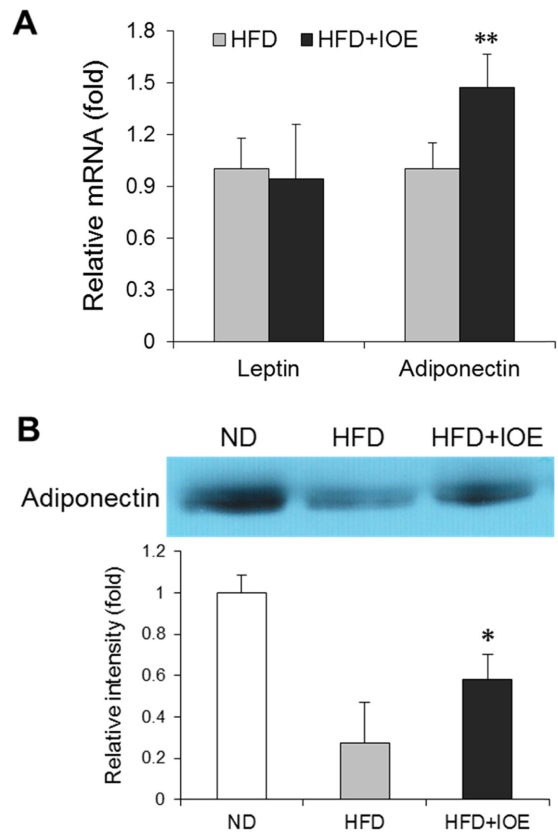


Fig. 2. Effect of IOE treatment on (A) adipokine expression in epididymal adipose tissue and (B) serum adiponectin level. In (A), total RNA were extracted from epididymal adipose tissue, reverse transcribed, and mRNA expression levels were detected using real-time PCR. All genes were normalized with expression level of Arbp. In (B), serum was adequately diluted in PBS and analyzed by SDS-PAGE and immunoblotting. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to HFD-fed control mice. Data represent means \pm SD for (A) 5 mice and (B) 3 mice per group. ND: normal diet-fed PBS-treated mice, HFD: high-fat diet-fed PBS-treated mice, HFD+IOE: high-fat diet-fed IOE-treated mice.

진되는지를 조사하였다. 그 결과 골격근과 지방 조직에서는 유의적인 변화가 나타나지 않았으나(data not shown), 간 조직에서 인산화된 AMPK의 수준이 유의적으로 높아지는 것이 관찰되었다(Fig. 3). 이는 adiponectin이 간 조직을 자극하여 AMPK 활성화를 촉진시킴으로써 간 세포 내 지질대사를 개선할 수 있음을 보여주는 결과였다. 그러나 혈중 adiponectin 농도가 높아졌음에도 불구하고 골격근과 지방 조직에서는 AMPK 인산화가 촉진되지 않은 것에 대해 추가적인 연구가 필요한 것으로 판단되었다.

지방조직에서의 지방합성 억제 효과 - Adiponectin의 생리학적 효과 중 지방대사를 개선하는 작용은 특히 지방과 간 조직에서 지방 합성을 억제하고 간과 근육조직에서 지

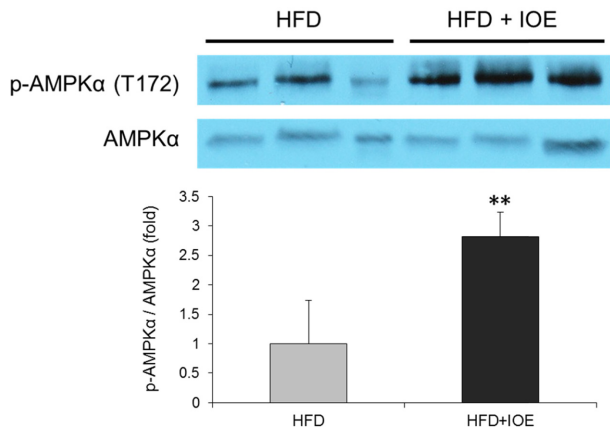


Fig. 3. Effect of IOE treatment on AMPK phosphorylation in the liver of HFD-fed mice. Total protein was extracted from the tissue and analyzed by SDS-PAGE and immunoblotting. ** $p < 0.01$ compared to HFD-fed control mice. Data represent means \pm SD for 3 mice per group. HFD: high-fat diet-fed PBS-treated mice, HFD+IOE: high-fat diet-fed IOE-treated mice.

지방산 산화를 촉진시키는 작용을 통해 일어난다.¹⁵⁾ 이러한 사실을 근거로, IOE 투여가 고지방식이 유도 비만 마우스에서 adiponectin의 발현을 향상시킨 만큼, 지방 합성과 지방산 산화에 어떤 영향을 미치는지 조사하였다. 이를 위하여 각 조직에서 mRNA를 분리하고 real-time RT-PCR을 통해 지방 합성 및 지방산 산화와 관련된 유전자들의 mRNA 발현량을 측정하였다. 그 결과, 부고환 지방 조직에서는 지방 합성 관련 유전자들의 발현이 고지방식이 급여 IOE 비투여군보다 IOE 투여군에서 유의적으로 감소하는 현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 유전자별 발현 변화를 살펴볼 때, 지방산 흡수에 관여하는 CD36과 중성지방 합성과정의 속도 제한 효소로 알려진 GPAT1¹⁶⁾이 유의적으로 낮은 발현량을 보여주었다. 그러나 지방산 합성에 필요한 FAS 및 ACC의 발현과 지방합성 관련 전사인자들인 SREBP1c와 PPAR γ 의 발현은 유의적인 변화를 보이지 않았다. 이러한 mRNA 발현 관찰 결과로부터, IOE 투여군에서의 체중 증가 억제 및 백색지방 조직 무게 감소 효과가 주로 백색지방 조직에서의 지방산 흡수 및 지방합성이 억제된 작용이 기여한 것임을 알 수 있었다.

한편, 간 조직에서의 지방산 산화 관련 유전자들의 발현을 조사한 결과, AMPK 인산화 촉진현상이 확인된 간 조직에서의 발현도가 높아지는 경향을 보였으나 유의성은 관찰되지 않았다(Fig. 5A). 유전자별로는, 지방산 산화에 관련된 PGC1 α 와 AOX의 발현은 IOE 투여군 마우스의 간 조직에서 유의성 없이 높아지는 경향이 나타났으나, CPT1 및 LCAD의 발현은 IOE 투여군과 비투여군 간의 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 adiponectin의 작용으로 간 조직에서 AMPK, PPAR α , PGC1 α 등을 통한 신호전달이 촉진

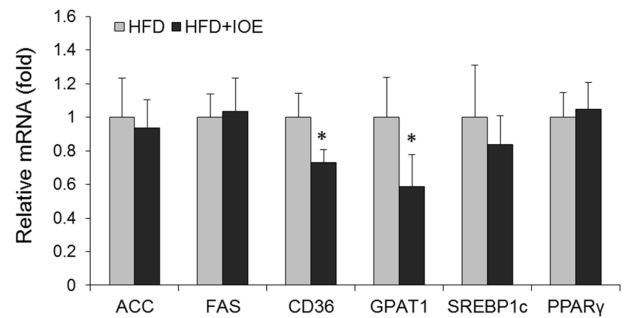


Fig. 4. Effect of IOE treatment on expression of lipogenic genes in epididymal adipose tissue of HFD-fed mice. Total RNA were extracted from epididymal adipose tissue, reverse transcribed, and mRNA expression levels were detected using real-time PCR. All genes were normalized with expression level of Arbp. * $p < 0.05$ compared to HFD-fed control mice. Data represent means \pm SD for 5 or 6 mice per group. HFD: high-fat diet-fed PBS-treated mice, HFD+IOE: high-fat diet-fed IOE-treated mice.

되어 지방산 산화 관련 효소들의 발현이 늘어남으로써 지방간염이 억제될 수 있다는 보고에 근거할 때,¹⁷⁾ IOE 투여를 통한 간 대사질환의 억제작용의 가능성을 보여주는 것이었다.

이상과 같이 IOE 투여는 고지방식이 유도 비만 마우스의 지방 조직에서 지방합성을 억제하고 간 조직에서 지방산 산화를 촉진시키는 작용을 통해 지방대사를 개선하고 있는 것으로 확인되었다. 기존 항당뇨 약물 또는 소재들 중 많은 경우가 체중 증가 또는 이상지질대사 등의 부작용을 유발할 수 있다는 사실이 알려져 있다.¹²⁾ 따라서 실질적인 항당뇨 효과를 위해서는 대사 상의 부작용을 유발하지 않으면서 동시에 인슐린 감수성을 촉진시킬 수 있는 효능이 절대적으로 요구된다. 본 연구팀에서는 차가버섯 추출물로부터 분리한 수용성 멜라닌 복합체(melanin complex)를 고지방식이 유도 비만 마우스에 투여한 결과 인슐린 저항성이 유의적으로 해소되며 그 이유는 지방세포에서의 인슐린 신호전달이 촉진되는 작용이 기인하기 때문임을 확인하여 보고한 바 있다.⁸⁾ 이러한 차가버섯 추출물의 효능을 본 논문에서 보고하는 지방대사 개선 작용과 함께 고려할 때, 인슐린 감수성을 촉진하면서도 체중 증가와 이상지질대사의 부작용 우려가 없는 실질적인 항당뇨 소재로 차가버섯 추출물을 활용할 가능성을 확인할 수 있었다.

간 및 지방조직에서의 염증성 사이토카인 발현 억제 효과 - 비만으로 인해 발생하는 생리학적인 병변 중에는 각 조직에 염증세포의 축적이 늘어나 일어나는 만성 염증반응이 중요한 원인 중 하나로 밝혀져 있다.¹⁸⁾ 따라서 IOE 투여군 및 비투여군 마우스에서 간, 백색지방, 골격근 조직의 대표적인 염증성(pro-inflammatory) 및 항염증성 사이토카인(anti-

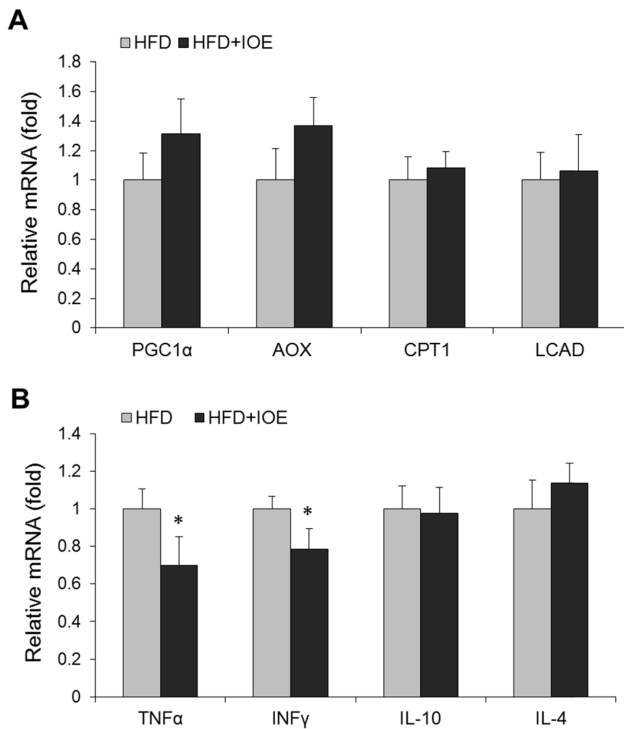


Fig. 5. Effect of IOE expression on gene expressions related to (A) fatty acid oxidation and (B) chronic inflammation in the liver of HFD-fed mice. Total RNA were extracted from the liver, reverse transcribed, and mRNA expression levels were detected using real-time PCR. All genes were normalized with expression level of Arbp. * $p < 0.05$ compared to HFD-fed control mice. Data represent means \pm SD for 5 or 6 mice per group. HFD: high-fat diet-fed PBS-treated mice, HFD+IOE: high-fat diet-fed IOE-treated mice.

inflammatory cytokine)들의 발현 정도를 비교 조사하였다. 그 결과, 부고환 지방과 골격근 조직에서는 유의적인 차이가 발견되지 않았으나(data not shown), IOE 투여군의 간 조직에서 TNF α 와 INF γ 등 염증성 사이토카인의 mRNA 발현은 비투여군에 비하여 유의적으로 감소되었음을 관찰할 수 있었다(Fig 5B). 그러나 항염증성 사이토카인인 IL-10과 IL-4의 발현은 IOE 투여에 의한 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 이 결과로부터, IOE 투여는 염증성 사이토카인의 생성을 억제함으로써 간 조직에서의 만성 염증반응을 낮출 수 있음을 알 수 있었다. 이 결과와 함께 앞서 제시된 간 조직에서의 지방산 산화 촉진작용과 종합해 볼 때, 차가버섯 추출물이 간 조직에서의 지방 축적을 억제함과 동시에 만성 염증을 완화시켜 비알코올성 간 질환의 발병을 예방할 수 있는 가능성을 보여주는 것으로 평가되었다.

결론

차가버섯 열수추출물의 체중 증가 억제 및 지방대사 개선

효과에 대한 메커니즘을 규명하고자 고지방식이 유도 비만 마우스를 이용하여 체중, 조직 무게, 지방대사 관련 유전자들의 발현 및 대사 관련 지표 단백질들의 변화를 조사하였다. 차가버섯 열수추출물을 투여한 마우스에서는 고지방식에 의한 체중 증가와 부고환 지방 조직의 무게 증가가 억제되었으며, 특히 adiponectin 합성이 촉진됨으로써 간 조직에서의 AMPK 활성화가 향상되는 작용이 확인되었다. 차가버섯 추출물 투여에 의한 부고환 지방 조직에서의 지방축적 억제효과는 지방산 흡수 및 중성지방 합성에 관여하는 유전자의 발현이 유의적으로 억제되는 작용에 기인하는 것으로 확인되었다. 또한 간 조직에서의 지방산 산화가 촉진되는 지방대사 개선 효과와 함께 만성 염증에 대한 개선 효과가 나타남으로써 지방간 질환을 억제할 수 있는 가능성도 보여주었다. 본 연구에서 확인된 지방 축적 및 체중 증가 억제 작용은 물론 간에서의 지방대사 및 만성 염증 개선 작용을 통하여 차가버섯 추출물은 효과적인 항대사질환 가능성 소재로서의 특징을 잘 갖추고 있음을 알 수 있었다. 또한 이미 밝혀진 차가버섯 추출물 유래 성분의 혈당강화작용과 동반된다면 체중 증가의 부작용 우려가 없는 항당뇨 활성을 특징으로 하는 소재로 활용될 가능성도 충분함을 확인할 수 있었다.

사사

이 연구는 한동대학교 교내연구지원사업 제20150136호에 의한 것임.

인용문헌

1. Grundy, S. M., Cleeman, J. I., Daniels, S. R., Donato, K. A., Eckel, R. H., Franklin, B. A., Gordon, D. J., Krauss, R. M., Savage, P. J., Smith, S. C. Jr., Spertus, J. A. and Costa, F. (2005) Diagnosis and management of the metabolic syndrome an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation* **112**: 2735-2752.
2. Korea Centers for Disease Control and Prevention (2014) Korea National Health and Nutrition Examination Survey, www.cdc.go.kr.
3. Kim, J. B. (2016) Dynamic cross talk between metabolic organs in obesity and metabolic diseases. *Exp. Mol. Med.* **48**: 1-2.
4. Browning, J. D. and Horton, J. D. (2013) Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J. Clin. Invest.* **114**: 147-152.
5. Mizuno, T., Zhuang, C., Abe, K., Okamoto, H., Kiho, T., Ukai, S., LeClerc, S. and Meijer, L. (1999) Antitumor and hypoglycemic activities of polysaccharides from the sclerotia

- and mycelia of *Inonotus obliquus*. *Int. J. Med. Mushrooms*. **1**: 301-316.
6. Sun, J. E., Ao, Z. H., Lu, Z. M., Xu, H. Y., Zhang, X. M., Dou, W. F. and Xu, Z. H. (2008) Antihyperglycemic and antilipidperoxidative effects of dry matter of culture broth of *Inonotus obliquus* in submerged culture on normal and alloxan-diabetes mice. *J. Ethnopharmacol.* **118**: 7-13.
 7. Kim, M. A., Jeong, Y. S., Chun, G. T. and Cha, Y. S. (2009) Antihyperlipidemic and glycemic control effects of mycelia of *Inonotus obliquus* including protein-bound polysaccharides extract in C57BL/6J mice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**: 667-673.
 8. Lee, J. H. and Hyun, C. K. (2014) Insulin-sensitizing and beneficial lipid-metabolic effects of the water-soluble melanin complex extracted from *Inonotus obliquus*. *Phytother Res.* **28**: 1320-1328.
 9. Cui, Y., Kim, D. S. and Park, K. C. (2005) Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. *J. Ethnopharmacol.* **96**: 79-85.
 10. Kim, Y. O., Han, S. B., Lee, H. W., Ahn, H. J., Yoon, Y. D., Jung, J. K., Kim, H. M. and Shin, C. S. (2005) Immuno-stimulating effect of the crude-polysaccharide produced by submerged culture of *Inonotus obliquus*. *Life Sci.* **77**: 2438-2456.
 11. Song, Y., Hui, J., Kou, W., Xin, R., Jia, F., Wang, N., Hu, F., Zhang, H. and Liu, H. (2008) Identification of *Inonotus obliquus* and analysis of antioxidation and antitumor activities of polysaccharides. *Curr. Microbiol.* **57**: 454-462.
 12. Cariou, B., Charbonnel, B. and Staels, B. (2012) Thiazolinediones and PPAR γ agonists - time for a reassessment. *Trends Endocrinol. Metab.* **23**: 205-215.
 13. Nigro, E., Scudiero, O., Monaco, M. L., Palmieri, A., Mazarrella, G., Costagliola, C., Bianco, A. and Daniele, A. (2014) New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. *Biomed. Res. Int.* **2014**: 1-14.
 14. Rasouli, N. and Kern, P. A. (2008) Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **93**: S64-S73.
 15. Jung, U. J. and Choi, M. S. (2014) Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int. J. Mol. Sci.* **15**: 6184-6223.
 16. Wendel, A. A., Lewin, T. M. and Coleman, R. A. (2009) Glycerol-3-phosphate acyltransferases: rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta.* **1791**: 501-506.
 17. You, M., Considine, R. V., Leone, T. C., Kelly, D. P. and Crabb D. W. (2005) The role of adiponectin in the protective action of dietary saturated fat against alcoholic fatty liver in mice. *Hepatology* **42**: 568-577.
 18. Patel, P. S., Buras, E. D. and Balasubramanyam, A. (2013) The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *J. Obes.* **2013**: 616193.
- (2016. 5. 26 접수; 2016. 6. 24 심사; 2016. 6. 27 게재확정)