

예쁜꼬마선충을 이용한 돼지감자의 수명 연장 효능

이병주¹ · 윤영진¹ · 오종우¹ · 박지원¹ · 이현주¹ · 김용성¹ · 차동석¹ · 권진² · 오찬호³ · 전훈^{1*}
¹우석대학교 약학대학, ²한국복지대학 의료보장학과, ³우석대학교 식품생명공학과

Lifespan Extending Effects of *Helianthus tuberosus* Linne in *C. elegans*

Byung Ju Lee¹, Young Jin Yoon¹, Jong Woo Oh¹, Zi Won Park¹, Hyun Joo Lee¹, Yong Sung Kim¹,
Dong Seok Cha¹, Jin Kwon², Chan Ho Oh³ and Hoon Jeon^{1*}

¹College of Pharmacy, Woosuk University, Samrye 565-701, Korea

²Department of Prosthetics and Orthotics, Korea National College of Welfare, Pyongtaek 459-070, Korea

³Department of Food & Biotechnology, Woosuk University, Samrye 565-701, Korea

Abstract – *Helianthus tuberosus* Linne (Compositae) has been widely used as a folk remedy to treat various ailments including fever, bleeding, fracture and contusion. This study was designed to elucidate the lifespan extending activities MeOH extract of the tubers of *Helianthus tuberosus* Linne (MHT) using *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) model system. In the current study, we found that the lifespan of worms was significantly extended by MHT supplement, dose-dependently. MHT also provided robust protection against various stress environments such as osmotic, thermal and oxidative condition. In addition, elevated antioxidant enzyme activities by MHT resulted in attenuation of intracellular reactive oxygen species (ROS) levels, suggesting antioxidant capacity of MHT might be associated with longevity properties. Herein, we showed that altered food intake and growth of worms were also involved in the MHT activity. Furthermore, MHT increased body movement in aged worms, indicating possible role for MHT in healthspan.

Key words – *Helianthus tuberosus* Linne, Lifespan, Stress tolerance, *Caenorhabditis elegans*, Healthspan

인간에게 있어 노화란 시간의 흐름에 따라 육체적, 정신적 및 사회적 변화가 가속화되는 것을 의미한다.¹⁾ 노화는 암, 치매, 혈관계질환, 관절염 및 골다공증 등의 퇴행성 질병에 있어서 가장 큰 원인으로 손꼽히며 실제 하루 사망 인류의 2/3에 해당하는 약 100,000명이 노화가 원인으로 작용하여 사망한다고 보고되고 있다.^{2,3)} 따라서 노화의 근본적인 원인과 그 기전을 밝히는 연구가 노화와 관련된 질병의 치료에 있어서 중요한 의미를 가진다고 할 수 있다.

현재까지 노화의 발생에 대한 정확한 기전은 밝혀지지 않았으나 텔로미어설(telomere theory), 유전자설(genome-based theory), 산화적 손상 이론(free radical theory), 소모설(wear and tear theory), 체세포 수명설 (programmed aging theory) 및 면역설(immunologic theory) 등의 여러 가지 가설들이 존재한다.^{4,9)} 이들 가설 중 최근 주목을 받고 있는 것은 free radical에 의해 발생한 산화적 손상이 원인이 되어 노화가

진행된다는 산화적 손상이론이다.¹⁰⁾ Free radical은 하나 이상의 짝지어지지 않은 전자단을 가지고 있는 입자로 singlet oxygen(¹O₂), superoxide anion([•]O₂⁻), hydroxy peroxide (H₂O₂), hydroxyl radical([•]OH) 등의 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)과 peroxynitrite(OONO[•]), nitric oxide (NO) 등의 활성질소종(reactive nitrogen species, RNS)이 있다. 이들은 반응성이 높기에 생체에 과도하게 존재할 경우 세포 및 조직의 단백질, 지질 및 DNA 등을 비선택적, 비가역적으로 파괴하는 등의 산화적인 스트레스를 유발하며, 이러한 산화적 손상들의 축적이 노화의 주요 원인으로 여겨지고 있다.¹¹⁾ 실제로 생체 내의 free radical의 효과적인 제거 및 생성 억제는 노화를 늦추고 수명을 연장하는 것으로 보고되고 있다.^{12,13)}

돼지감자(*Helianthus tuberosus* Linne)는 국화과(Compositae)에 속하는 여러 해살이 풀로 땅단지라고도 불리우며 캐나다 및 미국 원산의 귀화식물이다. 한방에서는 돼지감자의 껍질은 해열 및 지혈의 효과가 있으며 잎과 줄기는 어혈과 타박상의 치료에 사용되었다고 기록되어 있다.¹⁴⁾ 돼지감자

*교신저자(E-mail): jeonh@woosuk.ac.kr
(Tel): +82-63-290-1577

는 inulin, sugars, cellulose와 같은 탄수화물과 단백질 등의 성분을 함유하고 있음이 밝혀졌으며 이들 성분 중 inulin은 glucose와 fructose가 β -2,1 결합을 하고 있는 것으로 돼지감자의 주성분이다.¹⁵⁾ Inulin은 체내 소화효소에 의해서 분해되지 않는식이섬유로 체내 흡수 및 이용되지 않으며 장내 미생물에 의해 발효되기에 변비 개선에 효과 및 항당뇨병 효능 및 혈청콜레스테롤 강하, 혈중 지질 강하 등의 항비만 효과가 보고된 바 있다.¹⁶⁻²⁰⁾ 당뇨 및 비만 등의 대사성증후군과 노화는 병리적으로 깊은 상관관계가 있는 것으로 알려져 있으며,^{21,22)} 돼지감자의 항당뇨, 항비만 등의 효능에 근거하여 돼지감자가 노화 과정에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추정되나 현재까지 관련 연구가 이루어지지 않은 실정이다.

이에 본 연구에서는 돼지감자가 노화에 미치는 영향을 예쁜꼬마선충(*C. elegans*) 모델을 이용하여 검증하였다. 먼저 돼지감자를 처리한 선충의 수명을 측정하였고 이와 더불어 삼투압, 열자극, 산화적 환경 등 다양한 스트레스 조건에서 선충의 생존력을 확인하였다. 또한 돼지감자가 선충의 항산화효소의 활성 및 세포 내 ROS levels에 미치는 영향을 알아보았으며, 식이섭취, 성장, 움직임 등의 노화와 관련 인자들이 돼지감자의 수명연장 효과와 관련이 있는지 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출 - 본 실험에 사용된 돼지감자의 과정은 2014년 8월 강원약초(Kangwon-do, Korea)에서 구입하여 우석대학교 약학대학 김대근 교수의 감정을 거친 후 실험을 진행하였다. 건조과정을 거친 확증표본(WH089)은 우석대학교 약학대학 한약학과에 보관되었다. 건조된 샘플 600 g은 9000 mL의 100% methanol을 사용해 50°C를 유지한 상태에서 초음파추출기를 통해 추출되었고 이 과정을 세 번 반복하였다. 추출물은 회전식 농축기를 이용하여 52.6 g(수율:8.76%)으로 농축한 다음 동결 건조하여 실험에 사용될 때까지 -20°C에서 보관하였다.

예쁜꼬마선충 배양 - 본 연구에 사용된 *C. elegans*(N2: wild type)는 Caenorhabditis Gentic Center(CGC: University of Minnesota, Minneapolis, MN)로부터 제공받았다. *C. elegans*는 *Escherichia coli* OP50를 도말한 Nematode Growth Medium(NGM)에 20°C에서 배양되었다.²³⁾ 돼지감자는 DMSO를 용매로 한 stock solution 상태로 멸균된 NGM plates(at 50°C)에 첨가되었다. 최종 DMSO의 농도는 모든 상태에서 0.1% (v/v)를 유지하였다.

수명 측정 - *C. elegans*의 수명 측정은 20°C에서 독립적으로 3회 시행되었다. 선충의 성장 단계를 일치시키기 위해 NGM plate로부터 egg만을 분리하여 각 농도별 plate(돼지감자 0, 125, 250 μ g/mL)에 옮겨 배양하였고 매일 생존을

확인하였다. *C. elegans*는 platinum wire의 끝으로 자극했을 때 반응이 없는 경우를 사망 상태로 간주하였다.²⁴⁾ 또한 선충은 2-3일 마다 새로운 NGM plate로 옮겨 배양되었다.

스트레스 저항성 평가 - 성장 단계가 동일한 선충은 각 농도별 plate에서 배양되었다. 열자극에 대한 내성을 분석하기 위해 성체 4일째에 신선한 배지로 옮기고 36°C에서 배양하여 시간별로 생존율을 측정하였다.²⁵⁾ 산화적 스트레스에 대한 저항성은 Mekheimer 등의 방법을 약간 수정하여 시행하였다.²⁶⁾ 성체 7일째에 선충을 80 mM paraquat plate로 옮기고 시간별로 생존율을 확인하였다. 삼투압 스트레스 저항성은 성체 3일째에 500 mM NaCl이 함유된 NGM plate로 선충을 옮겨 측정하였으며, 선충의 생존율은 12시간 배양 후에 확인하였다.²⁷⁾ 각 실험은 독립적으로 3회 이상 수행하였다.

항산화 효소 활성 측정 - 항산화 효소의 활성을 측정하기 위해 성장 단계가 동일한 선충은 각 농도별 plate에서 배양되었다. 성체 5일째에 M9 buffer로 3회 세척 후 ice상에서 homogenizer(homogenization buffer: 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.5)를 이용하여 샘플링되었다. 돼지감자의 SOD 활성은 Ibrahim 등의 방법²⁸⁾을 응용하여 측정하였다. 먼저 10 mM phosphate buffer(pH 8.0)를 용매로 반응 혼합물(1.6 mM xanthine & 0.48 mM NBT) 0.49 mL를 만든 뒤 샘플 10 μ L를 첨가하여 37°C에서 5분 동안 선반을 시켰다. 그 후 xanthine oxidase(0.05 U/mL) 1 mL를 첨가하고 37°C에서 다시 20분 동안 반응시켰다. 그 뒤 69 mM SDS로 반응을 멈추고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase 활성도 측정은 Aebi의 방법²⁹⁾을 응용하여 25 mM H₂O₂에 샘플 50 μ L를 반응시키고 3분 동안 240 nm로 흡광도를 측정하였다.

세포내 활성산소종 분석 - 세포내 활성산소종은 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate(H₂DCF-DA)를 사용하여 측정되었다. 성장 단계가 동일한 선충은 각 농도별 plate에서 배양되었다. Adult day 4에 60 mM paraquat을 함유한 NGM plate에 3시간 노출시킨 뒤 50 μ L의 M9 buffer가 담긴 96-well plate에 5마리씩 옮겨졌다. 그 후 25 μ M H₂DCF-DA 50 μ L를 첨가한 뒤 excitation 485 nm, emission 535 nm에서 30분 간격으로 2시간 동안 흡광도를 측정하였다.

노화 관련 인자 측정 - 성장 단계가 동일한 선충은 각 농도별 plate에서 배양되었다. 그 후 adult day 4, 8에 깨끗한 NGM plate로 옮겨 1분 동안 인두의 움직임을 측정하였으며, adult day 1, 4에는 선충의 몸 길이를 측정하였다. 또한 성체 8일째에는 깨끗한 NGM plate로 옮겨져 20초 동안 선충이 움직인 거리를 실체현미경과 이미지 분석 프로그램을 사용하여 측정하였다.

통계 분석 - 모든 자료는 평균값 \pm 표준오차(mean \pm S.E.M.)로 표시하였다. 유의성 검증은 Student's *t*-test와 Log-rank

test 분석법을 이용하였고 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 및 *** $p < 0.001$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

예쁜꼬마선충(*C. elegans*)은 토양에서 자생하는 약 1 mm 정도의 선충으로 $20 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 생존할 수 있으며 생애주기는 대략 20일 정도이다. 또한 고체 배지 및 액체 배지 모두에서 배양이 가능하며 몸이 투명하고 1000개의 체세포를 가진 매우 단순한 동물모델이다. 더불어, 선충의 모든 유전자 염기서열이 밝혀져 있으며 이들 중 인간의 유전자와 일치하거나 비슷한 것은 75% 이상이다.^{23,30,31} 이러한 장점 때문에 예쁜꼬마선충은 노화 연구에 있어서 각광받고 있는 모델이며 본 연구에서는 동물 모델을 사용하여 돼지감자의 항노화 효능을 검증하였다.

먼저 돼지감자가 선충의 수명에 미치는 영향을 알아보기 위하여 돼지감자를 농도별로 처리한 NGM agar plate에서

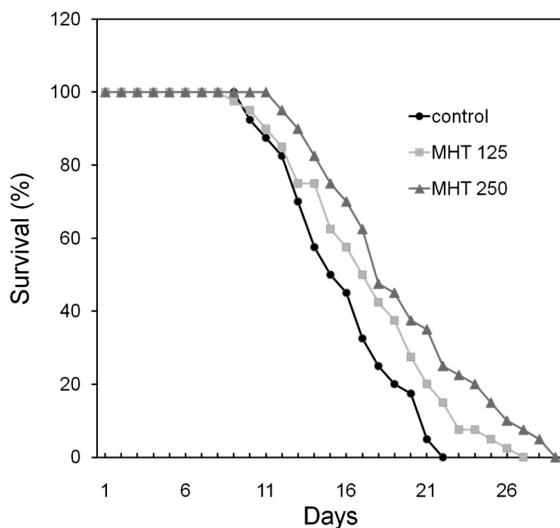


Fig. 1. Effects of MHT on the lifespan of wild-type N2 nematodes. The number of worms used per each lifespan assay experiment was 40-50 and three independent experiments were repeated (N=3).

Table I. Effects of MHT on the lifespan of *C. elegans*

Treatment ($\mu\text{g/mL}$)	Mean lifespan	Maximum lifespan	Change in mean lifespan (%)	Log-rank test
Control	15.9 \pm 0.2	21	-	-
MHT 125	17.3 \pm 0.4	26	9.2*	* $p=0.036$
MHT 250	19.5 \pm 0.3	28	22.7	*** $p < 0.001$
MHT 500	19.4 \pm 0.3	27	22.7	*** $p < 0.001$

Mean lifespan presented as mean \pm S.E.M. data. Change in mean lifespan (%) compared with control group. Statistical significance of the difference between survival curves was determined by log-rank test using the Kaplan-Meier survival analysis. Differences compared to the control were considered significant at *** $p < 0.001$.

lifespan assay를 수행하였다. Fig. 1에서 확인할 수 있듯이 돼지감자는 농도의존적으로 선충의 수명을 연장시켰다. 돼지감자 투여에 따라 125 $\mu\text{g/mL}$ 및 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 평균 수명이 9.2%, 22.7% 증가하였으며, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 수명 연장 효과는 250 $\mu\text{g/mL}$ 일 때와 유사하게 나타났다(Table I). 이에 돼지감자 250 $\mu\text{g/mL}$ 농도를 최고 농도로 설정하여 추가 연구를 수행하였다.

수명 연장 효과는 다양한 스트레스 환경에서의 저항성의 증가와 밀접한 관련이 있다고 Kenyon의 연구에서 보고된 바 있다.³² 본 연구에서는 돼지감자가 열, 삼투 및 산화적 다양한 스트레스가 주어진 환경에서 선충의 저항성 평가를 시행하였다. 먼저, NGM agar에 고농도의 NaCl을 첨가하여 삼투압에 대한 저항성을 검증한 결과, 돼지감자는 농도에 관계없이 선충의 생존율에 유의적인 영향을 미치지 못하였다(Fig. 2A). 다음으로 돼지감자가 열자극에 의해 발생한 스트레스에 대한 저항성을 알아보기 위하여 20°C 에서 배양되는 선충을 36°C 에서 배양하여 열자극에 의한 조직의 손상을 유발하고 1시간마다 그 생존율을 측정하였다. Fig. 2B에서 볼 수 있듯이 열자극이 가해진 환경에서 대조군은 최대 14시간 생존한 반면에 돼지감자 처리군은 선충의 최대 생존 시간을 농도의존적으로 증가시키는 것을 관찰할 수 있었으며 특히 고농도군에서는 그 상승폭이 크게 증가하는 것(250 $\mu\text{g/mL}$, 21시간)을 확인할 수 있었다. 마지막으로 NGM agar에 paraquat을 첨가하여 돼지감자가 산화적 스트레스에 대한 저항성에 미치는 영향을 알아보았다. 실험 결과, 대조군은 최대 20시간까지 생존하였지만 돼지감자 처리군은 저농도군(125 $\mu\text{g/mL}$)과 고농도군(250 $\mu\text{g/mL}$)에서 각각 24시간, 25시간까지 생존하였다. 이러한 결과로 미루어보아 돼지감자의 수명 연장 효과는 스트레스 저항성과도 밀접한 관련이 있음을 확인할 수 있었다.

돼지감자는 매우 뛰어난 항산화 활성이 있다고 보고된 바 있으며,³³ 이를 바탕으로 본 연구에서는 돼지감자가 선충의 항산화능에 미치는 영향을 알아보았다. 먼저, 선충의 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD)에 대한 돼지감자의 활성은 xanthine과 xanthine oxidase의 반응에 의해 생성되는 superoxide anion($\cdot\text{O}_2^-$)에 의한 nitro blue tetrazolium

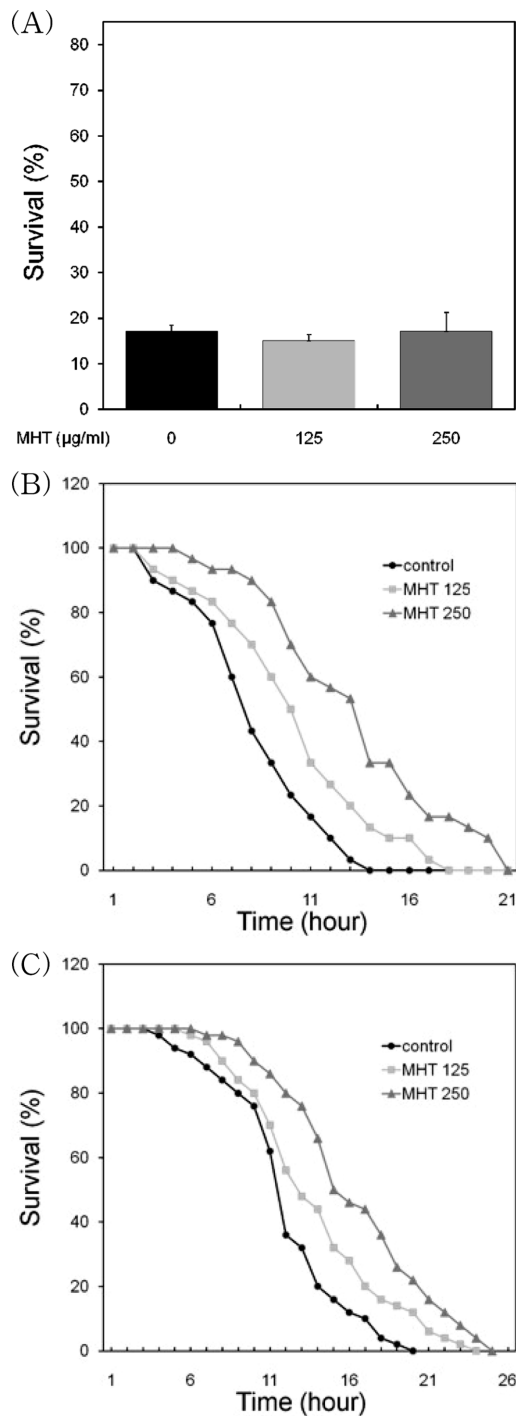


Fig. 2. Effects of MHT on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. (A) Resistance to osmotic stress was measured by placing worms to NGM agar plate containing 500 mM NaCl and survival rate was calculated after 12 h. (B) To assess thermotolerance, worms were incubated at 36°C and then their viability was scored. (C) For the oxidative stress assay, worms were transferred to NGM agar plate containing 80 mM of paraquat, and then their viability was scored. All data were expressed as the mean±S.E.M. of three independent experiments (N=3).

(NBT) 환원능을 통해 간접적으로 검정하였다. 실험 결과, 돼지감자는 대조군에 비해서 농도의존적으로 SOD의 활성을 저농도군은 189.22%(**p*<0.05), 고농도군은 202.33%(***p*<0.01) 증가시켰다(Fig. 3A). 이와 더불어 H₂O₂의 분해를 촉매하는 효소인 catalase(CAT)의 항산화 활성에 돼지감자가 미치는 영향을 조사한 결과 대조군의 CAT activity가 3.56 U/mg protein인데 반해 돼지감자 저농도군은 7.71 U/mg protein(**p*<0.05), 고농도군에서는 10.89 U/mg protein(***p*<0.01)으로 효소 활성이 돼지감자 처리에 의해 농도의존적으로 증가함을 관찰할 수 있었다. 돼지감자에 의한 항산화 효소 활성의 증가가 실제 선충 내부의 활성산소종(ROS)이 감소되는 결과를 가져오는지 확인하기 위해서 H₂DCF-DA와 선충 내부 ROS를 반응시켜 나오는 형광을 정량하여 분석하였다. Fig. 3C에서 나타난 것과 같이 돼지감자 처리군은 대조군에 비해 활성산소종이 농도의존적으로 낮게 측정되었으며 그 차이는 시간이 지날수록 더욱 커지는 것으로 확인되었다. 따라서 돼지감자는 자체의 radical 소거능과 더불어 선충의 항산화활성을 증가시켜 결과적으로 세포 내 ROS를 감소시킨 것으로 생각되며, 이와 같은 결과는 돼지감자에 함유된 caffeic acid, chlorogenic acid, kaempferol-3-O-glucoside 등의 phenolic compound와 관련이 있을 것으로 사료된다.³⁴⁾ 더불어, 돼지감자의 항산화활성은 수명연장 효과와 밀접한 관련이 있을 것으로 추정된다.

노화 과정에 영향을 미치는 다양한 노화 관련 인자들이 알려져 있으며, 본 연구에서는 돼지감자의 수명연장 효과가 노화 관련 인자의 조절에 의한 것인지 알아보기 위해 돼지감자 투여에 따른 선충의 식이 섭취량 및 성장의 변화를 측정하였다. 식이제한은 노화의 억제와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 특히 Bordone 등은 식이량을 제한적으로 공급한 경우 선충의 수명이 유의적으로 증가한다고 보고하였다.³⁵⁾ 본 연구에서는 성체 4일과 8일째에 선충의 인두근(pharynx)의 움직임을 측정하여 선충이 섭취하는 식이의 양을 추적하였다. 실험 결과, 돼지감자 처리에 의해 선충의 식이 섭취량이 농도의존적으로 감소함을 확인할 수 있었고 4일과 8일째 모두 고농도군에서는 대조군 대비 유의적(**p*<0.05)인 감소를 보였다(Fig. 4A). 이러한 돼지감자 투여에 의한 선충의 식이제한 효과는 돼지감자에 함유된 inulin과 관련이 있을 것으로 추정된다. 한편, 노화 관련 인자 중 하나인 성장에 돼지감자가 미치는 영향을 조사하기 위해서 선충의 몸 길이를 측정하였다. 성장 역시 식이량과 마찬가지로 노화를 가속화시키는 인자로 알려져 있으며, 선충을 이용한 연구에서도 크기가 작은 선충일수록 수명이 증가한다고 보고되고 있다.³⁶⁾ 실험 결과, 선충의 크기를 비교한 결과 대조군에 비해 돼지감자 투여에 의해 선충의 성장이 농도의존적으로 감소되는 것을 알 수 있었으며, 그 차이는 성체 1일째와 비교해 4일째에서 두드러지게 나타남을 확인하

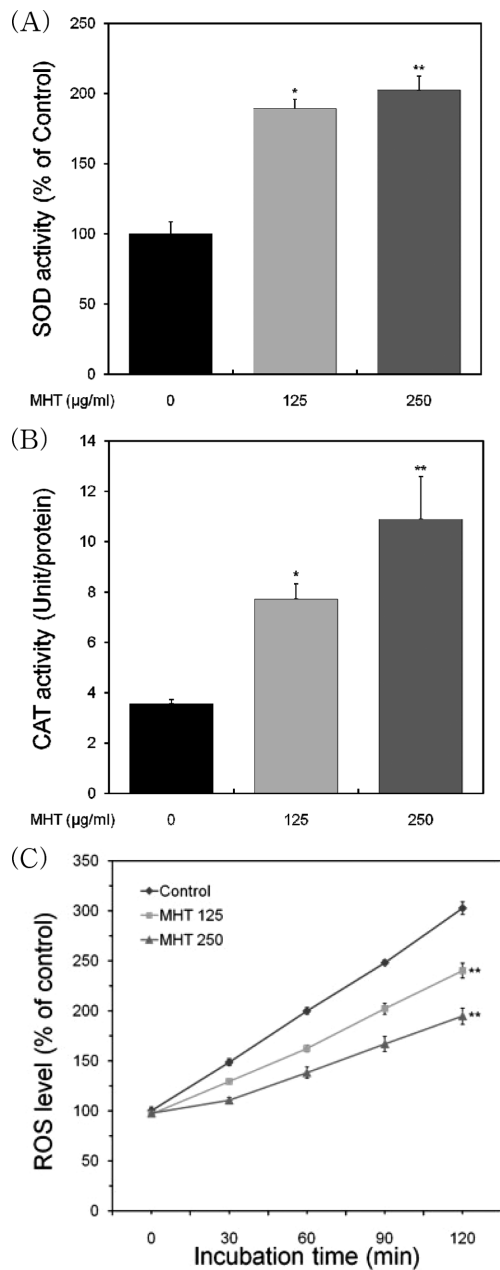


Fig. 3. Effects of MHT on the antioxidant enzyme activity and intracellular ROS accumulation in wild-type N2 nematodes. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was estimated spectrophotometrically through formazan formation by NBT reduction. SOD activity was expressed as a percentage of the scavenged amount per control. (B) Catalase activity was calculated from the concentration of residual H₂O₂, as determined by a spectrophotometric method. CAT activity was expressed in U/mg protein. (C) Intracellular ROS accumulation was quantified spectrophotometrically at excitation 485 nm and emission 535 nm. Plates were read every 30 min for 2 h. All data was expressed as the mean±S.E.M. of three independent experiments (N=3). Differences compared to the control were considered significant at * p <0.05 and ** p <0.01 by one-way ANOVA.

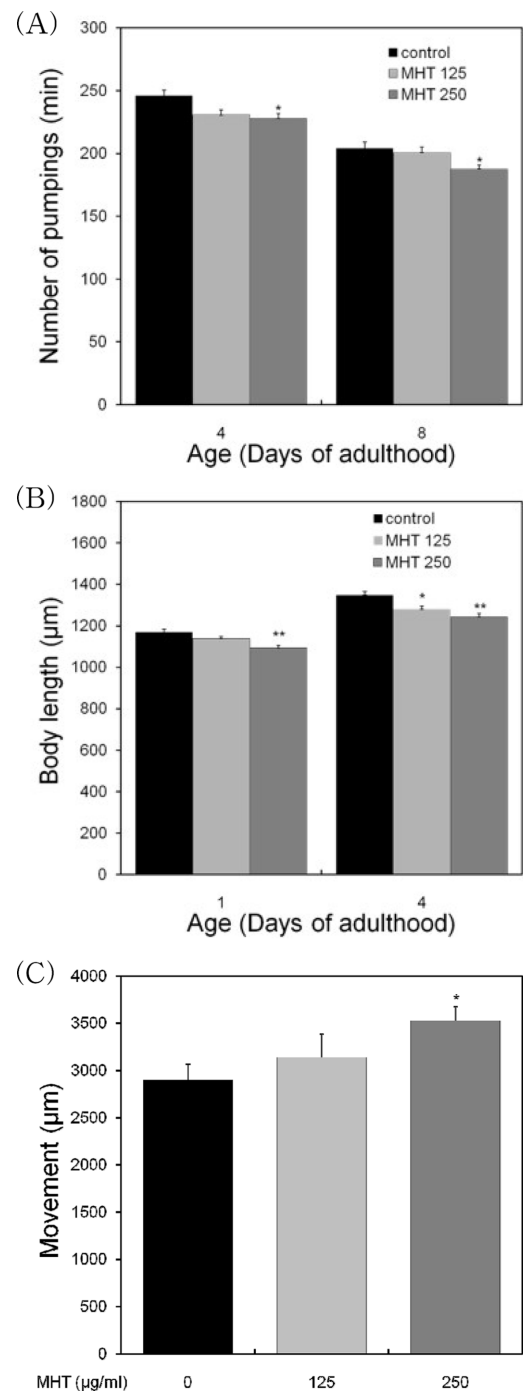


Fig. 4. Effects of MHT on the various aging-related factors of wild-type N2 nematodes. (A) On the 4th and 8th days of adulthood, the pharyngeal pumping rates were counted under a dissecting microscope for 1 min. (B) For the grown alteration assay, photographs were taken in 1st and 4th days of adulthood worms. (C) To check the motility, the migration length of worms was measured for 20 s on 8th days of adulthood worms. All data was expressed as the mean±S.E.M. of three independent experiments (N=3). Differences compared to the control were considered significant at * p <0.05 and ** p <0.01 by one-way ANOVA.

였다(Fig. 4B). 이러한 결과를 통해 돼지감자의 수명 연장 효과는 노화 관련 인자인 식이 및 성장의 억제와도 관련이 있는 것을 알 수 있었다. 항노화 약물 개발에 있어서 수명을 연장시키는 것과 더불어 건강하게 오래 사는 건강수명(healthspan)의 연장은 중요한 부분을 차지하고 있다. 본 연구에서는 돼지감자의 투여가 선충의 건강수명에 미치는 영향을 알아보기 위해서 노화한 선충의 움직임을 관찰하였다. 선충의 움직임이 확연하게 줄어드는 성체 8일째에 1분간의 운동량을 측정한 결과, 대조군은 1분 동안 2900 μm 를 움직인 반면에 돼지감자 고농도군은 3500 μm 를 움직여 유의적인(* $p < 0.05$) 건강수명 연장효과가 관찰되었다. 이러한 결과를 통해 돼지감자는 항노화 효과가 있는 것을 알 수 있었으며, 향후 추가 연구를 통해 건강식품으로서의 가치가 높아질 수 있을 것으로 기대된다.

결론

본 연구에서 확인한 돼지감자 괴경 메탄올 추출물의 수명 연장 효능은 다음과 같다. 돼지감자는 대조군에 비하여 선충의 수명을 농도의존적으로 증가시켰다. 또한 다양한 스트레스 환경에서의 생존율을 확인한 결과, 돼지감자는 삼투압 저항성에는 영향을 미치지 않았으나 열자극 및 산화적 스트레스 환경에서 선충의 생존율을 효과적으로 향상시켰다. 돼지감자는 항산화 효소인 SOD 및 CAT의 활성을 증가시키고 그 결과 세포 내 ROS를 감소시켰다. 더불어 돼지감자는 노화 관련 인자 가운데 식이섭취량 및 성장을 억제시켜 수명을 연장시키는 것을 알 수 있었다. 한편, 노화한 선충에서 활동량은 돼지감자 투여에 의해 유의적으로 증가하여 건강수명이 증가하는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 돼지감자 괴경이 노화 및 노화관련 질환의 치료 및 예방에 활용될 수 있음을 시사한다.

인용문헌

- Bowen, R. L. and Atwood, C. S. (2004) Living and dying for sex. A theory of aging based on the modulation of cell cycle signaling by reproductive hormones. *Gerontology* **50**: 265-290.
- Dillin, A., Gottschling, D. E. and Nystrom, T. (2014) The good and the bad of being connected: the integrons of aging. *Curr. Opin. Cell Biol.* **26**: 107-112.
- Fulop, T., Larbi, A., Witkowski, J. M., McElhaney, J., Loeb, M., Mitnitski, A. and Pawelec, G. (2010) Aging, frailty and age-related diseases. *Biogerontology* **11**: 547-563.
- Olovnikov, A. M. (1996) Telomeres, telomerase, and aging: origin of the theory. *Exp. Gerontol.* **31**: 443-448.
- Harman, D. (1992) Free radical theory of aging. *Mutation Research/DNAging* **275**: 257-266.
- Knight, J. A. (1995) The process and theories of aging. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **25**: 1-12.
- Curtis, H. J. (1963) Biological mechanisms underlying the aging process. *Science* **141**: 686-694.
- Weinert, B. T. and Timiras, P. S. (2003) Invited review: theories of aging. *J. Appl. Physiol.* **95**: 1706-1716.
- Walford, R. L. (1969) The immunologic theory of aging. *Immunol. Rev.* **2**: 171-171.
- Beckman, K. B. and Ames, B. N. (1998) The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* **78**: 547-581.
- Oliveira, B. F., Nogueira-Machado, J. A. and Chaves, M. M. (2010) The role of oxidative stress in the aging process. *The Scientific World Journal.* **10**: 1121-1128.
- Wu, Z., Smith, J. V., Paramasivam, V., Butko, P., Khan, I., Cypser, J. R. and Luo, Y. (2002) Ginkgo biloba extract EGB 761 increases stress resistance and extends life span of *Caenorhabditis elegans*. *Cell. Mol. Biol.* **48**: 725-731.
- Ishii, N., Senoo-Matsuda, N., Miyake, K., Yasuda, K., Ishii, T., Hartman, P. S. and Furukawa, S. (2004) Coenzyme Q 10 can prolong *C. elegans* lifespan by lowering oxidative stress. *Mech. Ageing Dev.* **125**: 41-46.
- 안덕균 (1998) 원색한국본초도감. **112**. 교학사. 서울.
- Johansson, E., Prade, T., Angelidaki, I., Svensson, S., Newson, W. R., Gunnarsson, I. B. and Hovmalm, H. P. (2015) Economically viable components from *Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.)* in a biorefinery concept. *Int. J. Mol. Sci.* **16**: 8997-9016.
- Kleessen, B., Schwarz, S., Boehm, A., Fuhrmann, H., Richter, A., Henle, T. and Krueger, M. (2007) *Jerusalem artichoke* and chicory inulin in bakery products affect faecal microbiota of healthy volunteers. *Br. J. Nutr.* **98**: 540-549.
- Kim, J., Bae, C. and Cha, Y. (2010) *Helianthus tuberosus* extract has anti-diabetes effects in HIT-T15 cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**: 31-35.
- Bach, V., Kidmose, U., Bjørn, G. K. and Edelenbos, M. (2012) Effects of harvest time and variety on sensory quality and chemical composition of *Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus)* tubers. *Food Chem.* **133**: 82-89.
- Baltacioglu, C. and Esin, A. (2012) Chips production from *Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.)*. *Food and Nutrition Sciences* **3**: 1321.
- Fiordaliso, M., Kok, N., Desager, J., Goethals, F., Deboyser, D., Roberfroid, M. and Delzenne, N. (1995) Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* **30**: 163-167.
- Ahima, R. S. (2009) Connecting obesity, aging and diabetes. *Nat. Med.* **15**: 996-997.
- Minamino, T., Orimo, M., Shimizu, I., Kunieda, T., Yokoyama, M., Ito, T., Nojima, A., Nabetani, A., Oike, Y. and Matsubara, H. (2009) A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat. Med.* **15**: 1082-1087.

23. Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**: 71-94.
24. Lithgow, G. J., White, T. M., Melov, S. and Johnson, T. E. (1995) Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gene mutations and induced by thermal stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **92**: 7540-7544.
25. Lee, E. Y., Shim, Y. H., Chitwood, D. J., Hwang, S. B., Lee, J. and Paik, Y. K. (2005) Cholesterol-producing transgenic *Caenorhabditis elegans* lives longer due to newly acquired enhanced stress resistance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **328**: 929-936.
26. Mekheimer, R. A., Sayed, A. A. and Ahmed, E. A. (2012) Novel 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyridines and their fused ring systems attenuate oxidative stress and prolong lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *J. Med. Chem.* **55**: 4169-4177.
27. Horikawa, M. and Sakamoto, K. (2009) Fatty-acid metabolism is involved in stress-resistance mechanisms of *Caenorhabditis elegans*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **390**: 1402-1407.
28. Ibrahim, H. R., Hoq, M. I. and Aoki, T. (2007) Ovotransferrin possesses SOD-like superoxide anion scavenging activity that is promoted by copper and manganese binding. *Int. J. Biol. Macromol.* **41**: 631-640.
29. Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol.* **105**: 121-126.
30. Leung, M. C., Williams, P. L., Benedetto, A., Au, C., Helmcke, K. J., Aschner, M. and Meyer, J. N. (2008) *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology. *Toxicol. Sci.* **106**: 5-28.
31. Felix, M. and Braendle, C. (2010) The natural history of *Caenorhabditis elegans*. *Current Biology* **20**: R965-R969.
32. Kenyon, C. J. (2010) The genetics of ageing. *Nature*. **464**: 504-512.
33. Kim, Y., Lee, S., Hwang, J., Kim, E., Park, P. and Jeon, B. (2011) Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Helianthus tuberosus* L. leaves on t-BHP induced oxidative stress in Chang cells. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* **40**: 1525-1531.
34. Chen, F., Long, X., Liu, Z., Shao, H. and Liu, L. (2014) Analysis of phenolic acids of *Jerusalem artichoke* (*Helianthus tuberosus* L.) responding to salt-stress by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *The Scientific World Journal* doi. 10.1155/2014/ 568043.
35. Bordone, L. and Guarente, L. (2005) Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**: 298-305.
36. Morck, C. and Pilon, M. (2006) *C. elegans* feeding defective mutants have shorter body lengths and increased autophagy. *BMC Dev. Biol.* **6**: 39.

(2016. 7. 28 접수; 2016. 9. 9 심사; 2016. 9. 21 게재확정)