J Appl Biol Chem (2017) 60(1), 23–28
https://doi.org/10.3839/jabc.2017.005

Online ISSN 2234-7941
Print ISSN 1976-0442

Article: Biochemistry/Molecular Biology

Anti-obesity effect of *Amomum taso-ko* ethanol extract in 3T3-L1 adipocytes

Jung A Lee[1] · Young Jin Park[1] · Wonsik Jeong[1] · Seong Su Hong[1] · Eun-Kyung Ahn[1]

3T3-L1 지방세포에서 초과 에탄올 추출물의 항비만 효과

이정아[1] · 박영진[1] · 정원식[1] · 홍성수[1] · 안은경[1]

Received: 10 October 2016 / Accepted: 31 October 2016 / Published Online: 31 March 2017
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2017

Abstract *Amomum tsao-ko* used as a traditional oriental herbal medicine, is indigenous to several Asia countries. In this study, we investigated anti-obesity activity of the ethanol extract of *Amomum Taso-ko* (*A. tsao-ko*). The ethanol extract of *A. tsao-ko* inhibited adipocyte differentiation using Oil Red O assay in 3T3-L1 cells. Inhibitory effect of the ethanol extract of *A. tsao-ko* on adipogenesis was modulated by down-regulation adipogenic transcriptional factor such as peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ), CCAAT-enhancer-binding protein α (C/EBPα) and suppressed expression of fatty acid synthase, aP2, and resistin. We demonstrated that *A. tsao-ko* significantly inhibited adipogenesis and reduced PPARγ and C/EBPα expression in a dose-dependent manner. These results suggest that *A. tsao-ko* has an anti-obesity effect by inhibition of adipogenic transcription factor and adipocyte-specific genes in 3T3-L1 cells.

Keywords Adipogenesis · *Amomum tsao-ko* · CCAAT-enhancer-binding protein α · Peroxisome proliferator-activated receptor γ · 3T3-L1

Eun-Kyung Ahn (✉)
E-mail: aek@gbsa.or.kr

[1]Bio-center, Gyeonggido Business and Science Accelerator, 147 Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon, Gyeonggi-do 16229, Republic of Korea

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.

서 론

비만은 체내에 체지방이 과잉 축적되어 있는 상태를 말하며 전 세계적으로 비만 환자의 급증과 더불어 유병률도 꾸준히 증가하고 있다. 비만의 원인으로는 생활환경의 변화와 서구화된 식습관, 내분비 장애, 유전적 요인 등을 들 수 있다. 또한 비만은 비만 자체로도 심각한 문제가 되지만 고혈압, 제 2형 당뇨, 고지혈증, 관절염 등과 같은 만성 퇴행성 질환을 유발하는 주요 원인으로 알려지면서 심각한 질환으로 인식되고 있다(Albu 등, 1997; Grundy 등, 1998; Visscher과 Seidell 2001; Leung 등, 2003; Haslam 2005).

지방전구세포인 3T3-L1은 지방세포를 형성하는 다양한 전사인자와 호르몬에 의해 세포 내 중성지방을 축적한다. Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ)와 CCAAT-enhancer-binding protein α (C/EBPα)는 지방세포형성(adipogenesis) 과정에서 중추적인 역할을 담당하는 전사인자로 알려져 있다 (Darlington 등, 1998; Rosen 등, 2001; Ahn 등, 2012). PPARγ는 nuclear hormone receptor 중 하나로 지방세포에서 고농도로 발현되어 지방조직의 형성과 축적에 중요한 역할을 하고 C/EBPα는 PPARγ와 같이 분화 초기에 발현이 유도되며 지방세포가 분화되는 동안 발현이 크게 증가한다(Tontonoz 등, 1994). 또한 이들 유전자는 fatty acid synthase (Fas), aP2, resistin과 같은 지방세포 특이적 유전자의 발현을 조절한다(Jin 등, 2012; Jeong 등, 2013; Tzeng과 Liu 2013).

초과(*Amomum tsao-ko*)는 생강과에 속하는 식물로 예로부터 중국 전통 의학(Traditional chinese medicine), 조미료, 그리고 향신료 등으로 사용되어 왔으며(Moon 등, 2004; Yang 등, 2008) 동양전통의학에서는 건조된 초과를 말라리아, 거담, 복통, 소화불량, 그리고 구토 등에 사용해 왔다(Zhao와 Xiao 2010; Lim 2013). 초과 에탄올 추출물에 관한 연구로는 LPS 유도에

의한 염증반응 감소 효과가(Li 등, 2014) 보고되어 있고, 초과에서 추출된 다양한 생리활성 물질들은 항산화(Yang 등, 2010), 항진균(Moon 등, 2004) 및 항염증에(Kim 등, 2016) 효과가 있다고 알려져 있다. 또한 Yu 등(2010)은 초과 메탄올 추출물과 분획물에서 체지방 감소 효과와 항산화 등에 효과가 있다고 보고하였다. 그러나 아직까지 초과 에탄올 추출물의 지방세포 분화 억제 활성이나 지방세포 분화 조절에 관여하는 유전자 발현 및 작용 메커니즘에 관한 연구는 보고되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 초과 에탄올 추출물을 이용하여 3T3-L1 지방세포 분화 억제 활성 및 지방분화와 관련 있는 유전자들의 조절에 어떤 영향을 미치는지를 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

초과 에탄올 추출물 제조

본 실험에 사용된 초과(*Amomum tsao-ko*)는 2012년 2월 서울 경동시장에서 구입하여 형태학적 평가를 통하여 동정하였다. 초과 표본(G47)은 경기과학기술진흥원 천연물연구팀 표본실에 보관하였다. 초과(*Amomum tsao-ko*) 50 g에 80 % 에탄올 500 mL을 가하여 24시간 동안 냉침 추출을 하였고 얻어진 추출물은 여과 및 감압농축, 동결 건조를 통해 초과 에탄올 추출물 2.69 g을 수득하였다.

3T3-L1 세포 배양 및 분화

3T3-L1 (CL-173) 세포는 미국 세포 은행인 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)로부터 구입하였고 마우스 지방전구세포인 3T3-L1 세포는 10 % bovine calf serum과 trypsin-EDTA 및 penicillin-streptomycin (Invitrogen, Gaithersburg, MD, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), (ATCC, Manassas, VA, USA) 배지를 넣고 5 % CO_2, 37 ºC의 조건하에서 배양하였다. 3T3-L1 지방전구세포 분화 유도를 위해 24 well plate에 5×10^4/well의 세포수로 분주하고 100 % confluency 상태에서 48시간 더 유지시켰다. 지방전구세포는 10 % fetal bovine serum (FBS) DMEM 배지에 MDI (0.5 mM 3-Isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), 1 μM dexamethasone (Calbiochem, Darmstadt, Germany), 1 μg/mL insulin (Sigma, St. Louis, MO, USA))를 2일 동안 처리하여 분화를 유도하였고, 2일 후 1 μg/mL insulin이 함유된 10 % FBS DMEM으로 배지를 교체하여 2일 동안 배양하였다. 그 후 2일마다 10 % FBS DMEM 배양액으로 교체하여 8일 동안 분화를 유도하였다. 지방세포 분화를 유도하는 동안 각 배양액에 초과 에탄올 추출물을 25, 50, 100 μg/mL의 농도로 처리하였다.

초과 에탄올 추출물의 세포 독성 분석

초과 에탄올 추출물의 세포독성은 탈수소 효소작용에 의해 노란색의 수용성 기질인 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) tetrazolium을 청자색의 비수용성 MTT formazan 으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하여 간접적으로 세포생존율을 측정하는 MTT assay 방법을 통해 측정하였다. 3T3-L1 세포를 96 well plate에 5×10^3/well의 개수로 분주하고 24시간 후 초과 에탄올 추출물을 농도별(12.5-100 μg/mL)로 처리하여 5 % CO_2, 37 ºC 조건하에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후 MTT 시약을 첨가하여 37 ºC에서 2시간 동안 반응시킨 후 상층액을 제거하고 dimethyl sulfoxide 100 μL를 처리하여 ELISA reader를 통해 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Oil Red O 염색

8일 후 분화가 완료된 시점에 배지를 제거한 뒤 10 % formaldehyde 용액을 30분간 처리하여 세포를 고정시켰다. 상온에서 고정한 뒤 용액을 제거하고 phosphate-buffered saline (PBS)으로 2번 세척하고 70 % 알코올로 2번 세척한 후 Oil Red O 용액을 이용하여 염색을 실시하였다. 염색된 세포는 광학현미경을 통해 200배 배율로 이미지를 관찰 한 후 지방구(lipid droplet)는 4 % NP-40가 첨가된 isopropyl alcohol 용액으로 용해하여 510 nm에서 흡광도를 측정하고 지방세포 분화 억제 정도를 분석하였다.

Real-time PCR을 이용한 유전자 발현 측정

지방세포 분화 억제 활성 측정방법과 동일한 방법으로 8일 동안 분화된 3T3-L1 세포는 TRIzol reagent (Invitrogen, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. 추출 된 RNA는 SuperScript® III First-Strand Synthesis System을 이용하여 cDNA를 합성한 후 SYBR green과 Table 1에 나타낸 PPARγ, C/EBPα, Fas, aP2, resistin primer를 이용하여 real-time PCR을 수행하였고 대조군 유전자로는 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 사용하였다. Bio-Rad MyiQ program (Bio-Rad, Califonia, CA, USA)을 이용하여 형광신호를 정량하였으며 real-time PCR에 사용한 primer sequence는 Table 1에 나타내었다.

Western blot을 통한 단백질 발현측정

지방세포 분화가 완료된 3T3-L1 세포는 PBS로 2번 세척한 후 protease inhibitor (1 mM PMSF, 2 mM Na_3VO_4, 50 mM NaF)가 포함된 RIPA buffer (Sigma)로 30분간 ice에서 용해시킨 뒤 4 ºC에서 13,000 rpm으로 30분간 원심분리하였다. 원심분리하여 얻어진 상층액은 8 % SDS polyacrylamide gel로 전기영동을 통해 단백질을 분리한 뒤 nitro cellulose membranes (Whatman, Dassel, Germany)으로 transfer하였다. 1차 항체는 anti-PPARγ, anti-C/EBPα (1:1000, Cell signaling, Danvers, Massachusetts, USA)와 anti-beta actin (1:2000, Cell signaling) 항체를 사용하였고 2차 항체로는 HRP-conjugated anti-rabbit (1:5000)을 사용하였다. 각각의 단백질 발현양은 SuperSignal® west pico chemiluminescent substrate (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA)와 Amersharm image 600 (GE Healthcare Life Sciences, Chicago, IL, USA)을 통해 분석하였다.

통계 처리

본 실험에서 얻은 결과는 평균(mean)과 표준편차(SD, standard deviation)로 표시하였고, 각 실험군과의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA) 통계 프로그램을 이용하여 분석한 후, $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다(*$p<0.05$; **$p<0.01$).

Table 1 The primer sequence used for real-time PCR

Target	Primer sequences	Accession No.
GAPDH	5'-GTATGACTCCACTCACGGCAAA -3' (sense) 5'- GGTGTGGCTCCTGGAAGATG -3' (antisense)	BC083080
PPARγ	5'-CGCTGATGCACTGCCTATGA-3' (sense) 5'-AGAGGTCCACAGAGCTGATTCC-3' (antisense)	NM_011146
C/EBPα	5'-AGGTGCTGGAGTTGACCAGT-3' (sense) 5'-CAGCCTAGAGATCCAGCGAC-3' (antisense)	BC058161
Fas	5'-CTGAGATCCCAGCACTTCTTGA-3' (sense) 5'-GCCTCCGAAGCCAAATGAG-3' (antisense)	NM_007988
aP2	5'-CATGGCCAAGCCCAACAT-3' (sense) 5'-CGCCCAGTTTGAAGGAAATC-3' (antisense)	NM_024406
Resistin	5'-TCAACTCCCTGTTTCCAAATGC-3' (sense) 5'-TCTTCACGAATGTCCCACGA-3' (antisense)	NM_022984

결과 및 고찰

세포독성평가

초과 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포에서의 세포독성을 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 96 well plate에 5×10^3/well 세포수로 분주하여 배양한 후 초과 에탄올 추출물을 각각 농도별(0, 12.5, 25, 50, 100 μg/mL)로 24시간 동안 처리하여 실험을 진행하였다. 그 결과, Fig 1에서 보여주는 바와 같이 초과 에탄올 추출물은 100 μg/mL 처리농도까지 세포독성이 나타나지 않았다.

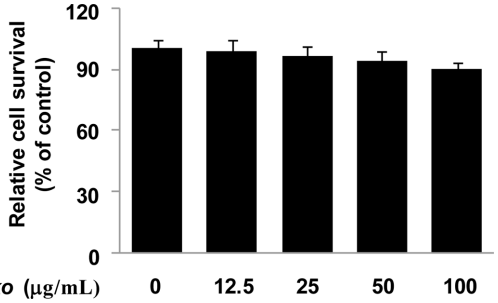

Fig. 1 Effects of *A. taso-ko* extract on cell viability in 3T3-L1 cells. 3T3-L1 cells were treated with various concentrations (12.5-100 μg/mL) of *A. taso-ko* extract for 24 h. Cell viability was measured by MTT assay

3T3-L1 지방세포의 분화 억제 효과

초과 에탄올 추출물의 지방세포 분화 억제 활성을 확인하기 위해 3T3-L1 지방전구세포에 MDI (0.5 mM IBMX, 1 μM dexametasone, 1 μg/mL insulin)를 처리하여 지방세포로의 분화를 유도시킨 후 분화를 유도하는 8일 동안 세포에 초과 에탄올 추출물을 25, 50, 100 μg/mL 농도로 처리하고 Oil Red O assay를 수행하였다. Oil Red O를 통해 염색된 지방구는 1차적으로 현미경 관찰을 통해 확인하였고 지방구의 염색액은 4 % NP-40가 첨가된 isopropyl alcohol 용액으로 추출하여 510 nm에서 흡광도를 측정하여 fold 값으로 나타내었다. 초과 에탄올 추출물의 지방세포 분화 억제 활성을 측정한 결과, 농도 의존적으로 지방세포 분화가 억제되는 것을 확인할 수 있었고, 50 μg/mL 농도에서는 34.3 %, 100 μg/mL 농도에서는 80.7 %의 지방세포로의 분화 억제효과를 나타냈다(Fig 2A). Fig 2B는 염색된 지방구를 현미경으로 관찰한 것으로, 분화가 유도된 대조군에 비해 염색된 지방구의 수가 초과 에탄올 추출물의 농도에 따라 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 본 결과를 통해 초과 에탄올 추출물이 농도 의존적으로 3T3-L1 지방전구세포에서 지방세포로의 분화를 억제한다는 것을 확인할 수 있었다.

초과 에탄올 추출물의 PPARγ, C/EBPα의 유전자 및 단백질 발현 억제 효과

초과 에탄올 추출물에 의한 지방세포형성(adipogenesis) 억제 효과가 어떠한 작용기전에 의해 유도되는지 확인하기 위해 지방세포 분화 억제 실험방법과 마찬가지로 초과 에탄올 추출물을 농도별로 8일 동안 처리한 후, PPARγ와 C/EBPα의 유전자와 단백질 발현량을 확인해 보았다. 지방전구세포에서 지방세포로 분화되는 과정에는 여러 종류의 adipogenic factor들이 관여하고 지방세포 특이적 유전자들의 발현이 유도된다고 알려져 있다 (Cowherd 등, 1999; Rosen 등, 2000). 그 중에서도 중추적인 역할을 담당하고 있는 전사인자로는 PPARγ와 C/EBPα가 있으며 분화 과정에서 이들의 발현량도 크게 증가하게 된다고 보고되고 있다(Cornelius 등, 1994; Tontonoz 등, 1995). 먼저 real-time PCR를 실시하여 PPARγ와 C/EBPα 유전자 발현량을 측정해 보았다. 그 결과 Figs. 4A, B에서 보여주듯이 초과 에탄올 추출물 처리 농도에 따라 PPARγ와 C/EBPα의 유전자 발현이 유의적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Western blot을 이용하여 초과 에탄올 추출물에 의한 PPARγ와 C/EBPα의 단백질 발현량을 측정해 본 결과, 지방세포 분화를 유도한 MDI 처리군에서 증가되었던 PPARγ와 C/EBPα의 단백질 발현량이 초과 에탄올 추출물 처리에 의해 감소하는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 3). 특히 100 μg/mL 처리 농도에서는 분화를 유도하지 않은 수준까지 단백질 발현량이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과는 초과 에탄올 추출물에 의한 지방세포 분화 억제 활성이 지방세포 분화 과정에서 중요한 역할을 담당하고 있는 PPARγ와 C/EBPα의 발현 저해를 통한 것임을 보여주었다.

초과 에탄올 추출물의 Fas, aP2, resistin 발현 억제

앞선 실험에서 보여주듯이 초과 에탄올 추출물은 PPARγ와 C/

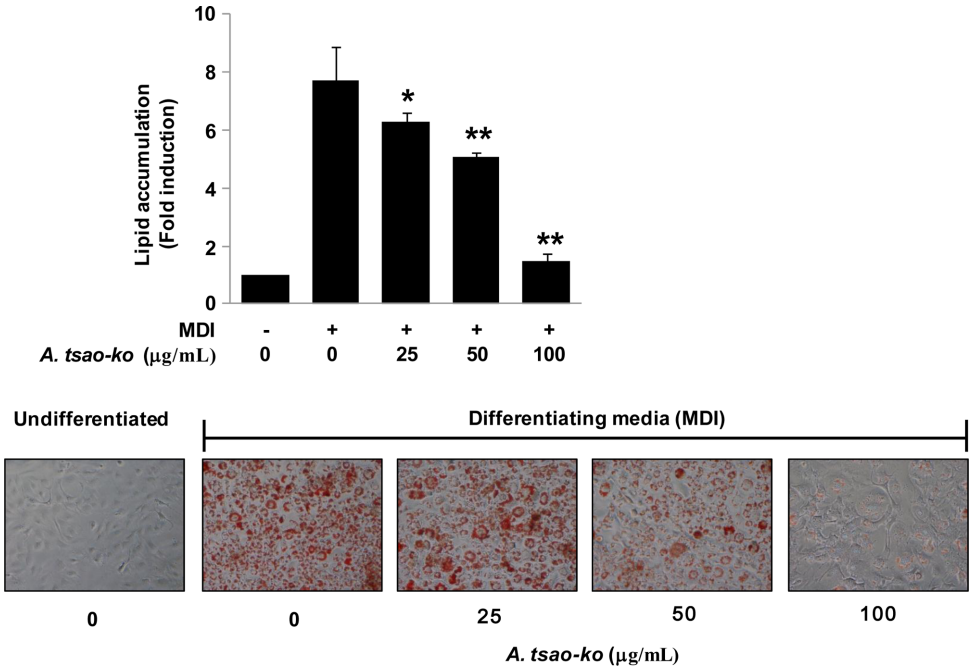

Fig. 2 Effect of *A. taso-ko* extract on adipocytes differentiation in 3T3-L1 cells. (A) Post-confluent 3T3-L1 cells treated with 25, 50, and 100 μg/mL of *A. taso-ko* during adipocyte differentiated for 8 day and then the stained lipid accumulation content was quantified by measuring absorbance. Data are expressed as the mean ± SD of 4 replicates. Statistical significance is indicated **p* <0.05, ***p* <0.01. (B) Lipid accumulation was measured by Oil Red O staining

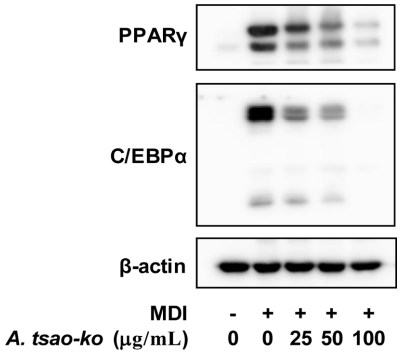

Fig. 3 Effects of *A. taso-ko* extract on expression of PPARγ and CEBPα in 3T3-L1 cells. Post-confluent 3T3-L1 cells treated with 25, 50, and 100 μg/mL of *A. taso-ko* during adipocyte differentiated for 8 day. PPARγ and CEBPα protein expressions were analyzed by Western blotting. Data are expressed as the mean ± SD of 3 replicates. Statistical significance is indicated **p* <0.05, ***p* <0.01

EBPα 억제를 통해 지방세포 분화 억제 활성을 보였다. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)는 지방산 합성, 이동, 저장과 에너지 소비와 관련된 유전자의 전사를 매개하는데 이와 관련된 adipogenic marker로 Fas, aP2 등이 있다. Fas는 지방을 생성하는 효소로써 중성지방을 합성하고 세포질에 저장하는 역할을 한다고 알려져 있으며(Claycombe 등, 1998; Sul과 Wang 1998). 지방세포 분화 마지막 단계에 발현되는 유전자로 알려진 aP2는 지방산 합성, 이동, 저장 및 에너지 소비에 관여하는 것으로 보고되고 있다(Haunerland과 Spener 2004). 그러므로 이들 유전자들은 adipogenesis 과정 동안 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 유도하고 지질 축적에 관여하는 것을 알 수 있다(Schmid 등, 2005). 또한 resistin은 지방세포에서 분비되는 adipokine으로 비만과 인슐린 저항성에 관여하며 포도당과 지질대사 유지에 중요한 역할을 하는 호르몬이다(Steppan 등, 2001; Rajala 등, 2003; Banerjee 등, 2004). 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 유도하면서 초과 에탄올 추출물을 25, 50, 100 μg/mL 농도로 처리하여 8일 동안 분화시킨 후 real-time PCR을 통해 Fas, aP2와 resistin의 mRNA 발현량을 확인하였다. 그 결과, 초과 에탄올 추출물 처리에 의한 Fas, aP2와 resistin의 mRNA 발현량이 대조군에 비해 농도의존적으로 감소하였으며 50 μg/mL에서는 60 % 이상, 100 μg/mL에서는 90 % 이상의 감소 효과를 확인 할 수 있었다(Figs. 4C, D, E).

비만은 adipogenesis 과정에서 지방세포 형성을 통한 지방질의 축적에 의해 발생한다. 이러한 지방축적은 지방전구세포에서 지방세포로의 분화 과정을 통해 일어나므로 지방세포 분화 억제 활성에 관한 연구는 비만 치료제 개발에 있어 중요한 부분을 차지한다. 현재까지 알려진 초과에서 분리된 생리활성 물질로는 (+)-hannokinol, *meso*-hannokinol, (+)-epicatechin, (−)-catechin, β-sitosterol, β-sitosterol 3-*O*-glucoside, 2,6-dimethoxy-phenol, protocatechualdehyde, protocatechuic acid, vanillic acid, *p*-hydroxybenzoic acid 등이 있으며 특히 catechin과 catechol 계열이 항산화 효능이 우수한 것으로 보고되었다(Martin 등, 2000). 또한 essential oil은 HepG2 세포에서 cytotoxic activity와 항산화 효능이 있다고 알려져 있고(Yang 등, 2010), isotsaokin은 항진균 활성을 가진다고 보고되었다(Moon 등, 2004). 최근 연구에 따르면 초과 추출물에서 분리된 2,8-Decadiene-1,10-Diol

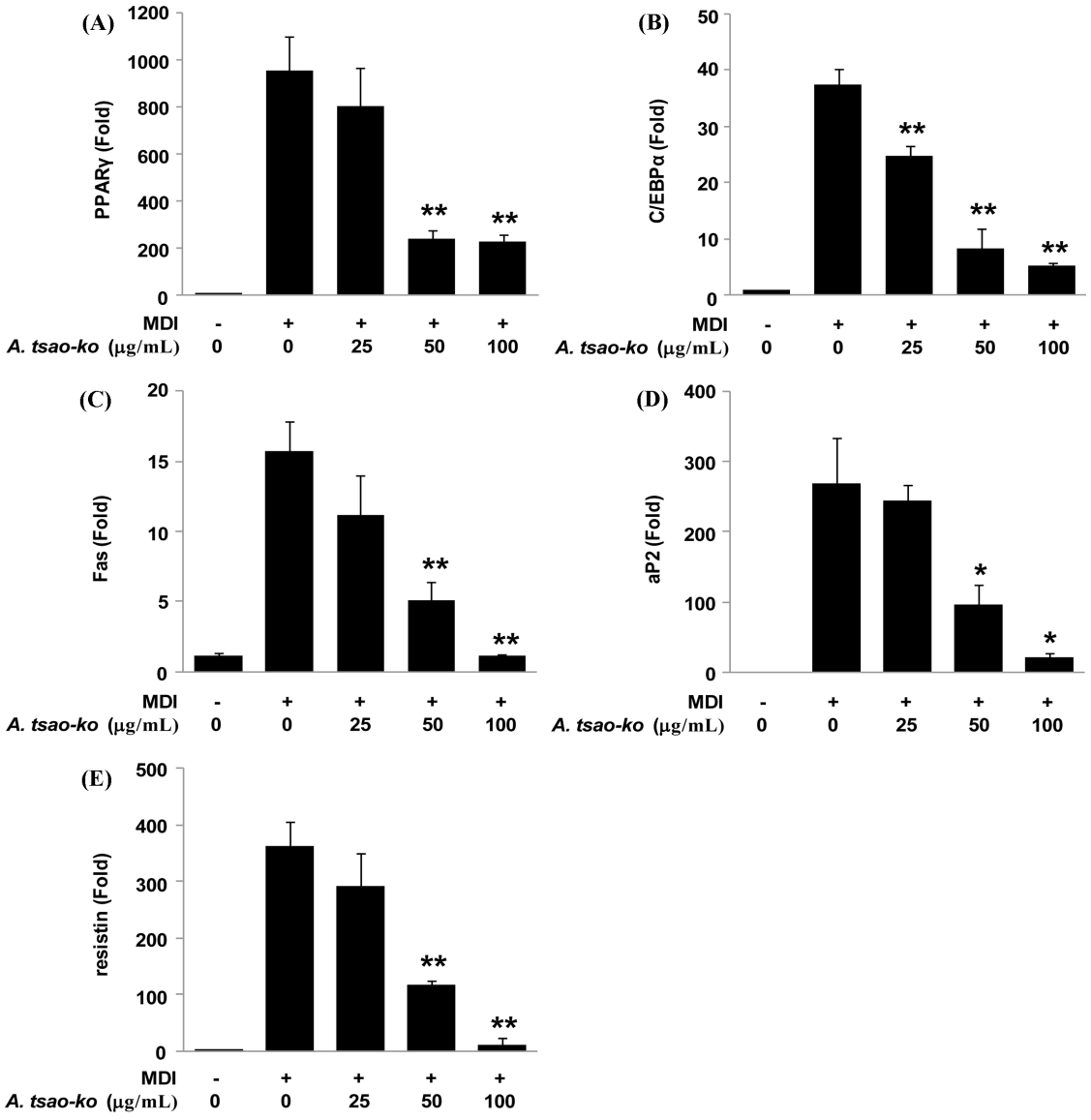

Fig. 4 Effects of *A. taso-ko* extract on expression of adipogenic factors in 3T3-L1 cells. Post-confluent 3T3-L1 cells treated with 25, 50, and 100 μg/mL of *A. taso-ko* during adipocyte differentiated for 8 day. PPARγ, CEBPα, Fas, aP2, and resistin mRNA expression were evaluated by the quantitative real-time PCR. Data are expressed as the mean ± SD of 3 replicates. Statistical significance is indicated **p* <0.05, ***p* <0.01

은 MAP kinase와 NF-κB 신호전달체계를 통해 LPS에 의해 유도된 염증 억제 활성을 가진다고 발표되었다(Kim 등, 2016). 초과를 이용한 항비만 관련 선행연구로는 lipase activity 억제 활성 연구와 동물실험을 통해 초과 메탄올 추출물과 분획물의 체지방 감소 효과를 확인한 연구 결과가 있다(Yu 등, 2010; Changhyun과 Uhee 2012). 그러나 아직까지 초과 에탄올 추출물을 이용한 adipogenesis 억제 활성이나 그에 관한 정확한 작용기전 연구가 없어 본 연구자들은 3T3-L1 지방전구세포의 adipogenesis 억제 활성을 통해 초과 에탄올 추출물의 항비만 효과를 밝히고자 하였다. 본 연구를 통해 초과 에탄올 추출물은 PPARγ와 C/EBPα의 발현을 감소시키고 지방세포 분화에 관여하는 adipogenesis marker로 알려진 Fas, aP2, 그리고 resistin의 발현 억제를 통해 지방세포로의 분화를 억제한다는 것을 증명하였다. 따라서 본 연구결과는 초과 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포가 분화하는 동안 PPARγ와 그의 조절인자들의 조절을 통해 지방분화 억제 활성을 갖는다는 것을 보여주고 있다. 그러나 항비만 활성을 나타내는 여러 가지 반응경로가 있으므로 다른 작용기전 관련 신호전달체계 및 단백질 활성 관한 연구는 좀 더 진행되어야 할 것으로 사료되며, 본 연구결과는 초과 에탄올 추출물의 항비만 소재로서의 활용에 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 기대한다.

초 록

본 연구에서는 초과 에탄올 추출물을 이용하여 3T3-L1 지방전

구세포에서 지방세포로의 분화 연구를 통해 항비만 활성을 확인하고자 하였다. 초과 에탄올 추출물에 의한 지방세포 분화 억제 활성 및 지방형성에 미치는 영향을 확인하기 위해 3T3-L1 지방전구세포에 분화를 유도하면서 추출물을 농도별로 처리하였고, 그 결과 초과 에탄올 추출물은 3T3-L1 지방전구세포에서 지방세포로의 분화를 농도에 의존적으로 감소시켰다. 이 같은 활성에 대한 작용기전을 알아보기 위해 지방세포 분화에 중요한 역할을 담당하고 있는 peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ)와 CCAAT-enhancer-binding protein α (C/EBPα), 그리고 지방세포 분화에 관여하는 유전자들의 활성을 확인해 보았다. 실험 결과 초과 에탄올 추출물은 PPARγ와 C/EBPα의 유전자 및 단백질 발현을 유의적으로 감소시켰고 지방세포 분화에 관여하는 adipogenesis marker 유전자들의 발현을 억제 시켰다. 따라서 초과 에탄올 추출물은 지방분화 및 adipogenesis 억제 활성을 통해 항비만 소재로의 가능성이 있을 것으로 기대한다.

Keywords 지방세포형성 · 초과 · CCAAT-enhancer-binding protein α · peroxisome proliferator-activated receptor γ · 3T3-L1

감사의 글 본 연구는 농촌진흥청에서 시행한 “차세대바이오그린21사업 (PJ01119302)”의 지원으로 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

References

Ahn EK, Lee JA, Seo DW, Hong SS, Oh JS (2012) 1β-hydroxy-2-oxopomolic acid isolated from *Agrimoniae pilosa* extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells. Biol Pharm Bull 35(5): 643–649

Albu J, Allison D, Boozer CN, Heymsfield S, Kissileff H, Kretser A, Krumhar K, Leibei R, Nonas C, Pi-Sunyer X, Vanltallie T, Wedral E (1997) Obesity solutions: report of a meeting. Nutr Rev 55: 150–156

Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, Wang J, Rajala M W, Pocai A, Scherer PE, Steppan CM, Ahima RS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA (2004) Regulation of fasted blood glucose by resistin. Science 303: 1195–1198

Changhyun R, Uhee J (2012) Screening of crude plant extracts with anti-obesity activity. Int J Mol Sci 13: 1710–1719

Claycombe KJ, Jones BH, Standridge MK, Guo Y, Chun JT, Taylor JW, Moustaid-Moussa N (1998) Insulin increases fatty acid synthase gene transcription in human adipocytes. Am J Physiol 274: 1253–1259

Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD (1994) Regulation of adipocyte development. Annu Rev Nutr 14: 99–129

Cowherd RM, Lyle RE, McGehee Jr RE (1999) Molecular regulation of adipocyte differentiation. Semin Cell Dev Biol 10: 3–10

Darlington GJ, Ross SE, MacDougald OA (1998) The role of C/EBP genes in adipocyte differentiation. J Biol Chem 273: 30057–30060

Grundy SM (1998) Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. Am J Clin Nutr 67: 563S–572S

Haunerland NH, Spener F (2004) Fatty acid-binding proteins--insights from genetic manipulations. Prog Lipid Res 43: 328–349

Haslam DW, James WP (2005) Obesity. Lancet 366: 1197–1209

Jeong MY, Kim HL, Park J, An HJ, Kim SH, Kim SJ, So HS, Park R, Um JY, Hong SH (2013) Rubi Fructus (*Rubus coreanus*) inhibits differentiation to adipocytes in 3T3-L1 cells. Evid Based Complement Alternat Med 475386: 1–10

Jin L, Fang W, Li B, Shi G, Li X, Yang Y, Yang J, Zhang Z, Ning G (2012) Inhibitory effect of andrographolide in 3T3-L1 adipocytes differentiation through the PPARγ pathway. Mol Cell Endocrinol 358(1): 81–87

Kim MS, Ahn EK, Hong SS, Oh JS (2016) 2,8-Decadiene-1,10-Diol inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through inactivation of Mitogen-activated protein kinase and Nuclear Factor-κB signaling pathway. Inflammation 39(2): 583–591

Leung WY, Thomas GN, Chan JC, Tomlinson B (2003) Weight management and current options in pharmacotherapy: orlistat and sibutramine. Clin Ther 25: 58–80

Li B, Choi HJ, Lee DS, Oh H, Kim YC, Moon JY, Park WH, Park SD, Kim JE (2014) *Amomum tsao-ko* suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 macrophages via Nrf2-dependent heme oxygenase-1 expression. Am J Chin Med 42(5): 1229–1244

Lim TK (2013) Edible medicinal and non-medicinal plants. Springer 5: 813–816

Martin T S, Kikuzaki H, Hisamoto M, Nakatani N (2000) Constituents of *Amomum tsao-ko* and their radical scavenging and antioxidant activities. J Am Oil Chem Soc 77: 667

Moon SS, Lee JY, Cho SC (2004) Isotsaokoin, an antifungal agent from *Amomum tsao-ko*. J Nat Prod 67: 889–891

Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L (2003) Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. J Clin Invest 111: 225–230

Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai X, Freeman MW, Gonzalez FJ, Spiegelman BM (2001) C/EBPα induces adipogenesis through PPAR: a unified pathway. Genes & Dev 16: 22–26

Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM (2000) Transcriptional regulation of adipogenesis. Genes & Dev 14: 1293–1307

Schmid B, Rippmann JF, Tadayyon M, Hamilton BS (2005) Inhibition of fatty acid synthase prevents preadipocyte differentiation. Biochem Biophys Res Commun 328: 1073–1082

Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA (2001) The hormone resistin links obesity to diabetes. Nature 409: 307–312

Sul HS, Wang D (1998) Nutritional and hormonal regulation of enzymes in fat synthesis: studies of fatty acid synthase and mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase gene transcription. Annu Rev Nutr 18: 331–351

Tontonoz P, Hu E, Devine J, Beale EG, Spiegelman BM (1995) PPARγ2 regulates adipose expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. Mol Cell Biol 15: 351–357

Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM (1994) mPPARgamma 2 tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. Genes & Dev 8: 1224–1234

Tzeng TF, Liu IM (2013) 6-gingerol prevents adipogenesis and the accumulation of cytoplasmic lipid droplets in 3T3-L1 cells. phytomedicine 20(6): 481–487

Visscher TL, Seidell JC (2001) The public health impact of obesity. Annu Rev Public Health 22: 355–375

Yang Y, Yan RW, Cai XQ, Zheng ZL, Zou, G Lin (2008) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Amomum tsao-ko.* J Sci. Food Agric. 88(12): 2111–2116

Yang Y, Yue Y, Runwei Y, Guolin Z (2010) Cytotoxic, apoptotic and antioxidant activity of the essential oil of *Amomum tsao-ko*. Bioresource Technology 101: 4205–4211

Yu L, Shirai N, Suzuki H, Sugane N, Hosono T, Nakajima Y, Kajiwara M, Takatori K (2010) The effect of methanol extracts of tsao-ko (*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire) on digestive enzyme and antioxidant activity *in vitro*, and plasma lipids and glucose and liver lipids in mice. J Nutr Sci Vitaminol 56: 171–176

Zhao ZZ, Xiao PG (2010) Encyclopedia of Medicinal Plants. World Publishing Corporation Hong kong 4: 36–38