

## Lactobacillus plantarum-fermented Opuntia humifusa Extracts (fOH) Increases the Anti-obesity Activity in Mice Fed a 45% Kcal High Fat Diet

Young-Mi Jung<sup>1†</sup>, Sae-Kwang Ku<sup>2†</sup>, Dong Sub Lee<sup>3</sup> and Kisang Kwon<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Soonja Food Co. Ltd, Yeongju 36044, Korea

<sup>2</sup>College of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea

<sup>3</sup>Department of Health Care & Biotechnology, Kyungwoon University, Gumi 39160, Korea

<sup>4</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, Kyungwoon University, Gumi 39160, Korea

Received April 19, 2017 / Revised May 4, 2017 / Accepted May 10, 2017

Recently, there has been a marked increase in the use of bioactive products resulting from the fermentation of natural substances by microorganisms. In this study, *Opuntia humifusa* (OH) was fermented using *Lactobacillus plantarum* (fermented *Opuntia humifusa*; fOH). We then examined the anti-obesity effect of fOH in mice fed a 45% Kcal high fat diet (HFD). In this study, mice were treated with fOH concentrations of 100, 200, and 400 mg/kg. The mice in the control group were treated with OH at a concentration of 400 mg/kg based on previous animal experiments. All of the mice given a continuous HFD showed an increase in their weight, the density of abdominal fat, and the accumulated periovaric and abdominal fat. All of these obesity-linked factors, however, were significantly decreased in the groups treated with fOH at concentrations of 200 and 400 mg/kg. Mice treated with fOH at 100 mg/kg did not show a significant decrease in these obesity-linked factors compared to the control group. It appears that fOH fermented by *L. plantarum* has a greater anti-obesity effect in HFD-supplied mice compared to unfermented OH. While further studies of fOH are needed to examine its effect on obesity, hyperlipidemia, hepatic steatosis, renal function, and type II diabetes with its relevant complications, fOH may have significant therapeutic potential in the treatment of metabolic syndrome.

**Key words** : Anti-obesity, HFD mice, *Lactobacillus plantarum*-fermented *Opuntia humifusa* fruit extracts (fOH)

### 서 론

최근 대사 증후군과 관련된 비만 발생률이 증가하고 있는데 이는 고칼로리식 섭취와 부족한 신체활동의 결과로 여겨지며 [10], 이 대사 증후군은 2025년까지 3억 명이 넘을 것으로 예상되고 있다[29]. 이러한 비만 발생의 중요한 요인 중의 하나는 지방이 특정 부위 특히 복부에 쌓이는 복부 비만의 증가이며, 고혈압이나 이상 지질 혈증, 염증성 사이토카인류의 변화, 고인슐린성 인슐린저항성 변화 등의 아테롬성 위험 요소로 작용하여 결과적으로 심혈관 질환의 이환율과 사망률이 증가할 것으로 예상된다[8, 20]. 지방은 에너지 저장뿐만 아니라 지방과 비지방 조직에서 대사와 염증에 영향을 미치는 다양한 adi-

pokines을 분비하며, 지방조직의 내분비 기능의 변형은 특히 인슐린 저항성 관련 질병을 유발하는 만성적인 염증에 기인할 수 있다[26]. 한편, 현재 유효한 대사증후군의 약제는 다양한 부작용 및 높은 이차실패율 등의 제한이 따른다[9]. 이러한 요인들로 인해 대사증후군 환자 및 의료진들은 대안적으로 자연 식품에 관한 관심이 높아지고 있으며, 당 조절 및 산화스트레스의 억제가 중요하다는 인식이 확대되면서 천연물이나 효소 등에서 효과적이고 안전한 물질을 찾고자 하는 추세에 있다.

천년초(*Opuntia humifusa*)는 선인장과에 속하는 다육 식물이며, 4,000여종의 선인장이 주로 중남미 반건조한 기후에서 자라지만 천년초는 -20°C 이하의 기온에도 재배된다[5]. 우리나라에서는 충남 아산 지역에서 대량으로 재배되고 있다[2, 14, 15]. 천년초의 효능 연구로는 라디칼 소거 및 항염 효과[2] 뿐만 아니라 혈당 강하 및 저지방 효과[6], 인슐린 저항성에 대한 개선 효과[14], 골다공증 예방 또는 치료 효과[15] 등이 알려져 있다. 근래에 들어 발효에 의해 천연물의 생리활성이 biotransformation 또는 probiotic 효과에 의해 증가되는 것이 알려짐에 따라, 새로운 약제학적 소재 또는 건강기능식품 소재로서 발효 천연물이 각광 받고 있는 실정이며, 특히 다양한 무해한 식용 미생물을 이용한 발효에 의해 천연물의 약효가 현저히 증가 되는 것으로 알려져 있다[13, 16, 18, 27]. 우리는

†Authors contributed equally.

\*Corresponding author

Tel : +82-54-479-1284, Fax : +82-54-479-1282

E-mail : ppkisang@empas.com

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.

선행연구를 통해 천년초의 *Lactobacillus plantarum*에 의한 발효 시 항산화 활성 및 아미노산과 무기질이 증가하며, 항균 활성 및 *in vitro*에서 염증억제 효과가 증가하는 결과를 보고한 바 있다[12].

OH의 항비만에 대한 약리효과 역시 *L. plantarum* 발효에 의해 현저히 증가될 것으로 판단되어, 본 연구에서는 투여용량 의존적인 유산균 발효 천년초 열매 추출물(fOH)의 다양한 약리효과를 현재 비만 실험동물 모델로 가장 흔히 이용되고 있는 45%Kcal 고지방식이(high fat diet; HFD) 공급 마우스 [13, 19, 22, 28]를 이용하여, 원재료인 OH와 비만 억제 효과에 대해 비교 평가하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

실험동물은 6주령 암컷 SPF/VAF CrIjOri:CD1 [ICR] 마우스(OrientBio, Seungnam, Korea)를 7일간 실험실 환경에 순응시킨 후, 1 주일간 HFD에 적응시킨 다음 일정한 체중 증가를 나타내는 실험동물만 군당 8마리씩, 총 6군(40마리의 HFD 공급 마우스 - 평균 체중 31.20±1.80 g, 28.90~35.70 g와 8수의 정상 사료 공급 마우스 평균 체중 28.35±1.60 g, 26.00~30.80 g)으로 구분하여 실험에 사용하였으며, 84일간의 연속 경구투여 후, 최종적으로 체중을 기준으로 군 당 6 마리의 실험동물을 선별하였다. 모든 실험동물은 대구한의대학교 실험동물윤리위원회의 사전승인 하에 동물실험윤리 기준에 따라 취급하였다(DHU2014-065).

#### 천년초 발효용 유산균 균주 선별 및 공정도

천년초는 경상북도 의성군에 소재한 천년초 전문업체에서 구입한 천년초 분말을 주요 원료로 사용하였으며, 발효에 이용한 균주는 경북대학교 농과대학에서 분양 받은 *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*과 시판되는 유제품에서 분리한 *Lactobacillus rhamnosus* GG 총3종으로 MRS-agar 배지를 이용하여 배양하였다. 점성도가 높은 천년초 2%(w/v)를 단일 탄

소원으로 하여 균체 생육 속도가 가장 빠르게 일어나는 유산균을 선별하기 위해 3 종의 유산균을 대상으로 단일균 또는 유산균 복합균 형태로 접종하여 35℃에서 7일간 배양하였다. 최종적으로 선행연구에 의한 보고와 같이 pH, 점성도, 미생물 오염도 등의 생육 특성을 통한 발효 균주 선별 및 발효, 살균, 숙성, 여과, 동결건조의 공정과정을 이용하였다[12].

#### HFD 공급

실험물질 투여 시작 1주일 전부터 실험 물질 투여 전 기간 동안 45%Kcal 고지방식이(high fat diet; HFD, Research Diet, New Brunswick, NJ, USA)를 공급하였으며, 정상 대조군에서는 일반 설치류 pellet사료(Superfeed Co., Seoul, Korea)를 동일한 방법으로 공급하였다.

#### 실험물질의 투여

1 주일간의 HFD 적응기간 후, OH 400 mg, fOH 400, 200 및 100 mg을 10 ml의 멸균 증류수에 용해 시켜, 10 ml/kg의 용량으로 1일 1회씩, 84일간 경구 투여하였으며, 정상 및 HFD 대조군에서는 실험물질 대신 멸균 증류수만 동일한 용량으로 동일한 기간 동안 경구 투여하였다.

#### 체중변화

체중의 변화는 HFD 공급직전과 투여시작 1일 전 및 투여 개시일에 자동전자저울을 이용하여 측정하였으며, 급식과의 오차를 줄이기 위해 12시간 절식시켰다. 적응기간 7일은 투여 개시 시 체중에서 HFD공급 개시 시 체중을 빼주고, 투여기간 동안의 변화는 종결 시 체중에서 투여 시작일 체중을 빼서 계산하였다.

#### DEXA를 이용한 체지방 및 복부지방량

DEXA (InAlyzer, Medikors, Seungnam, Korea) 를 이용하여 마우스의 전체 체형 및 복부의 평균 지방 밀도를 측정하였다(Fig. 1).

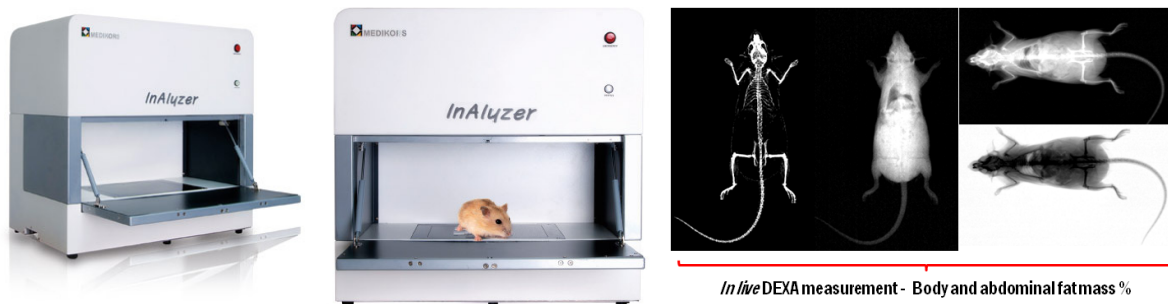


Fig. 1. Body fat density measurements in this experiment. The total body and abdominal fat densities were detected by in live dual-energy x-ray absorptionmetry (InAlyzer, Medikors, Seungnam, Korea), individually in all NFD or HFD supplied mice, respectively.

**지방세포의 조직학적 이미지**

좌측 난소 주위 축적 지방 및 복벽 축적 지방 일부를 10% formalin에 고정하여 파라핀 삽입 후 3-4 μm 연속 절편을 광학 현미경 검사를 위해 hematoxylin과 eosin (H & E)로 염색 하였다. 각 축적 지방에서 백색지방의 평균 직경을 컴퓨터 모니터상의 시야에서 μm로 자동화 된 이미지 분석 프로세스를 사용하여 계산 하였다(각 지방 pad 당 최소 10 개의 백색 지방 세포 확인).

**통계분석**

모든 값은 마우스 6마리의 평균±표준 편차(SD)로 나타내었으며 서로 다른 그룹에 대한 다중 비교하였다. Variance homogeneity는 Levene test [23]를 이용했으며, 유의성을 나타내지 못한 경우는 ANOVA test와 LSD (least-significant difference multi-comparison) 테스트에 의해 분석하였다. 통계 분석은 Windows 용 SPSS (릴리스 14.0K, IBM-SPSS Inc., 미국 일리노이 주 시카고)[24]를 사용하였으며, HFD 대조군과 비교하여 퍼센트 포인트 변화는 실험 물질의 효능에 대한 이해를 돕기 위해 계산되었다.

Percent-point changes compared with intact control (%)  
 = ((Data of HFD control - Data of intact control)/Data of intact control) ×100

Percent-point changes compared with HFD control (%)  
 = ((Data of test substance administered mice - Data of HFD control)/Data of HFD control) ×100

**결 과**

**체중 변화**

HFD 사료 공급 1주 후 일정한 체중 증가를 나타내는 실험 동물(HFD 공급 마우스 - 평균 체중 31.20±1.80 g, 28.90~35.70 g; 정상 사료 공급 마우스 평균 체중 28.35±1.60 g, 26.00~30.80 g)만을 선별하였으므로, HFD대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 체중의 증가가 HFD 공급 7일 후부터 인정되었으며, 1주일간의 HFD 적응기간 및 84일간의 실험물질 투여기간 동안의 증체량 역시 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 증가가 나타났다. 한편 실험물질인 OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 투여시작 28 또는 35일 후부터 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 체중 감소를 보였고, 실험 종료 시점인 84일간의 증체량 역시 HFD 대조군에 비해 OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서 유의성 있는(p<0.01) 감소가 나타났다.

특히 유의성은 인정되지 않았으나, fOH 400 및 200 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군에 비해 현저한 증체량의 감소가 보여지고, fOH 100 mg/kg 투여군에서는 OH 400

Table 1. Changes on body weight gains and mean daily food consumption in NFD or HFD supplied mice

Groups	Times	Body weight gains during	
		Adapt period	Administration period
Controls			
Intact		0.38±0.54	3.73±1.04
HFD		2.42±1.73 <sup>b</sup>	15.23±7.33 <sup>a</sup>
Reference			
OH 400 mg/kg		2.25±1.26 <sup>b</sup>	6.80±3.53 <sup>c</sup>
fOH treated			
400 mg/kg		2.13±1.66 <sup>b</sup>	4.67±2.86 <sup>c</sup>
200 mg/kg		2.70±1.90 <sup>b</sup>	5.85±5.07 <sup>c</sup>
100 mg/kg		2.17±0.63 <sup>b</sup>	6.48±2.37 <sup>c</sup>

Values are expressed as Mean±SD of six mice.  
 NFD = Normal fat pellet diet; HFD = 45%Kcal high fat diet  
 OH = *Opuntia humifusa* extracts; fOH = *Lactobacillus plantarum*-fermented OH extracts.  
<sup>a</sup>p<0.01 and <sup>b</sup>p<0.05 as compared with intact control by LSD test.  
<sup>c</sup>p<0.01 as compared with HFD control by LSD test.

mg/kg 투여군과 유사한 증체량의 변화가 나타났다(Table 1). 투여기간 84일 동안의 증체량은 HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 308.04% point의 변화를 나타내었으며, 실험물질인 OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는, HFD 대조군에 비해 각각 -55.36, -69.37, -61.60 및 -57.44% point의 변화를 확인하였다.

**체지방 및 복부 지방량의 변화**

HFD 대조군에서는 정상 대조군에 비해 체지방 및 복부 축적 지방량이 증가된 반면(p<0.01), OH 400 mg/kg을 포함한 모든 실험물질 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 체지방 및 복부 축적 지방량이 감소하였다(p<0.01). 특히 fOH 400 및 200 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군에 비해서도 체지방 및 복부 지방량이 감소하였다(p<0.01). 한편 fOH 100 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군과 비교하여 의미 있는 체지방 및 복부 지방량의 변화는 보이지 않았다(Fig. 2, Fig. 3).

체지방량은 HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 각각 222.44% point의 변화를 나타내었으나, OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 각각 -30.70, -53.73, -46.76 및 -30.86% point의 체지방량의 변화가 확인되었다.

복부 지방량은 HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 각각 227.17% point의 변화를 나타낸 반면, OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 각각 -20.79, -50.99, -42.39 및 -22.34% point의 변화가 확인되었다.

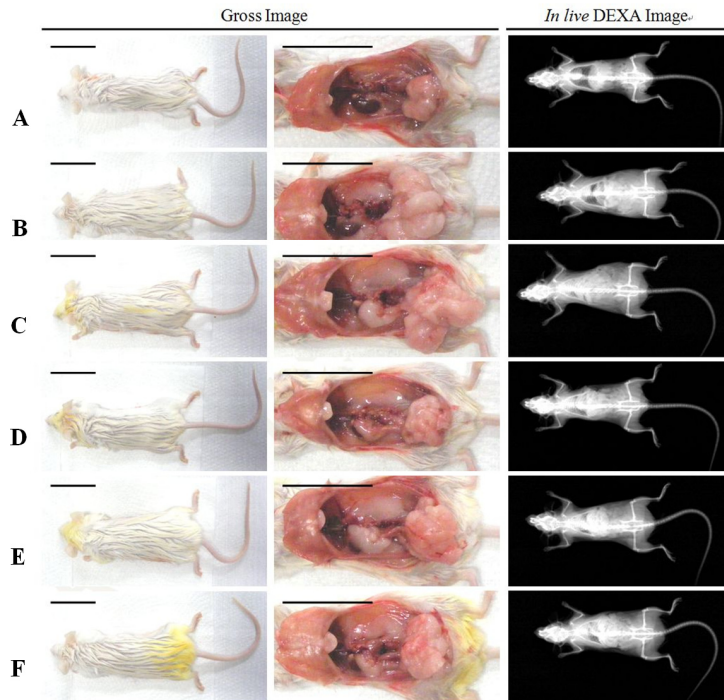


Fig. 2. Analysis of gross inspections and in live DEXA images, respectively. (A, Intact control: Normal pellet diet supplied vehicle control mice; 10 ml/kg of distilled water oral administered mice; B, HFD (vehicle) control: 10 ml/kg of distilled water oral administered mice with HFD supply; C, OH 400: 400 mg/kg of OH oral administered mice with HFD supply; D, fOH 400: 400 mg/kg of fOH oral administered mice with HFD supply; E, fOH 200: 200 mg/kg of fOH oral administered mice with HFD supply; F, fOH 100: 100 mg/kg of fOH oral administered mice with HFD supply) DEXA = Dual-energy x-ray absorptionmetry; Scale bar = 35 mm.

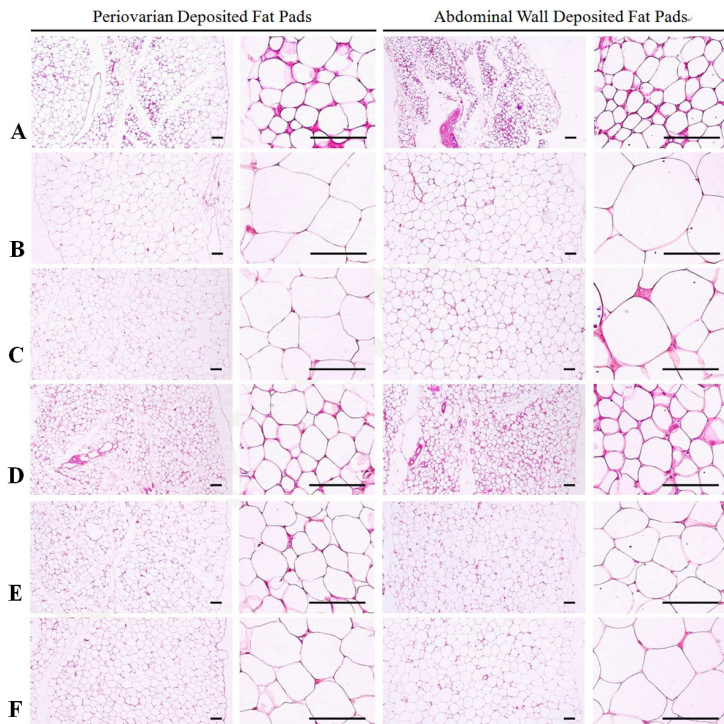


Fig. 3. Representative histological images of the adipocytes by Hematoxylin & Eosin stain. (A, Intact control; B, HFD (vehicle) control; C, OH 400; D, fOH 400; E, fOH 200; F, fOH 100) Scale bars = 80  $\mu$ m.

**난소주위축적 지방 중량의 변화**

HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 유의성 있는( $p < 0.01$ ) 난소주위 축적 지방의 상대 및 절대 중량의 증가가 보였으나, fOH 400 mg/kg 투여군을 포함한 모든 실험물질 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 유의성 있는( $p < 0.01$ ) 난소주위 축적 지방 중량의 감소가 보였고, 특히 fOH 400 및 200 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군에 비해서도 유의성 있는( $p < 0.01$ ) 난소주위 축적 지방 상대 및 절대 중량의 감소가 각각 확인되었다. 한편 fOH 100 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군과 비교하여 의미 있는 난소주위 축적 지방 중량의 변화는 인정되지 않았다(Table 2, Table 3, Fig. 2).

Table 2. Changes on absolute organ weights in NFD or HFD supplied mice

Groups	Organs	Absolute organ weights (g)	
		Periovarian fat pads	Abdominal wall fat pads
Controls			
	Intact	0.027±0.010	0.043±0.011
	HFD	0.648±0.142 <sup>a</sup>	0.437±0.095 <sup>a</sup>
Reference			
	OH 400 mg/kg	0.291±0.038 <sup>ac</sup>	0.250±0.042 <sup>ac</sup>
fOH treated			
	400 mg/kg	0.158±0.019 <sup>acd</sup>	0.099±0.046 <sup>bcd</sup>
	200 mg/kg	0.185±0.037 <sup>acd</sup>	0.127±0.043 <sup>acd</sup>
	100 mg/kg	0.277±0.032 <sup>ac</sup>	0.245±0.052 <sup>ac</sup>

Values are expressed as Mean ± SD of six mice.  
<sup>a</sup> $p < 0.01$  and <sup>b</sup> $p < 0.05$  as compared with intact control by MW test.  
<sup>c</sup> $p < 0.01$  as compared with HFD control by MW test.  
<sup>d</sup> $p < 0.01$  as compared with OH 400 mg/kg by MW test.

Table 3. Changes on relative organ weights in NFD or HFD supplied mice

Groups	Organs	Relative organ weights (% of body weights)	
		Periovarian fat pads	Abdominal wall fat pads
Controls			
	Intact	0.090±0.030	0.147±0.037
	HFD	1.426±0.155 <sup>a</sup>	0.962±0.106 <sup>a</sup>
Reference			
	OH 400 mg/kg	0.828±0.174 <sup>ac</sup>	0.715±0.181 <sup>ac</sup>
fOH treated			
	400 mg/kg	0.474±0.064 <sup>ace</sup>	0.296±0.144 <sup>ce</sup>
	200 mg/kg	0.533±0.132 <sup>ace</sup>	0.371±0.151 <sup>ace</sup>
	100 mg/kg	0.771±0.073 <sup>ac</sup>	0.685±0.162 <sup>ac</sup>

Values are expressed as Mean ± SD of six mice.  
<sup>a</sup> $p < 0.01$  as compared with intact control by LSD test.  
<sup>c</sup> $p < 0.01$  as compared with HFD control by LSD test.  
<sup>e</sup> $p < 0.01$  as compared with OH 400 mg/kg by LSD test.

난소주위 축적 지방의 절대 및 상대 중량은 HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 각각 2314.91 및 1489.41% point의 변화를 나타낸 반면, OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 각각 -55.14, -75.69, -71.50 및 -57.25% point의 절대 중량의 변화를 나타내었고, -41.93, -66.77, -62.65 및 -45.98% point의 난소주위 축적 지방 상대 중량의 변화를 각각 나타내었다.

**복벽 축적 지방 중량의 변화**

HFD 대조군의 경우 난소주위 축적 지방 중량의 변화와 유사하게, 정상 대조군에 비해 복벽 축적 지방의 상대 및 절대 중량이 유의적으로( $p < 0.01$ ) 증가한 반면, 실험물질 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 복벽 축적 지방 중량이 유의적으로( $p < 0.01$ ) 감소하였다. 특히 fOH 400 및 200 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군에 비해서도 유의성 있는( $p < 0.01$ ) 감소를 확인하였다. 한편 fOH 100 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군과 비교하여 의미 있는 복벽 축적 지방 중량의 변화는 나타나지 않았다(Table 2, Table 3, Fig. 2).

복벽 축적 지방의 절대 및 상대 중량은 HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 각각 908.46 및 554.26% point의 변화를 나타낸 반면, OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 절대 중량은 각각 -42.79, -77.46, -70.86 및 -44.01% point의 변화가, 복벽 축적 지방 상대 중량은 각각 -25.73, -69.20, -61.41 및 -28.78% point의 변화가 나타났다.

**난소주위 및 복벽 축적 지방의 조직병리학적 변화**

HFD 대조군의 경우, 현저한 지방세포의 비대가 보여져, 정상 대조군에 비해 난소주위 및 복벽 축적 지방조직의 두께 및 지방세포 직경이 증가되었으나( $p < 0.01$ ), 실험 물질 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 감소되었다( $p < 0.01$ ). 특히 fOH 400 및 200 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군에 비해서도 난소주위 및 복벽 축적 지방조직의 두께 및 지방세포 직경이 감소하였다( $p < 0.01$  또는  $p < 0.05$ ). 한편 fOH 100 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군과 비교하여 의미 있는 변화는 나타나지 않았다(Table 4; Fig. 3 and Fig. 4).

난소주위 축적 지방조직의 두께 및 지방세포 평균 직경은 HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 각각 289.26 및 207.47% point의 변화를 보였으나, OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 축적 지방 두께가 각각 -27.65, -49.68, -39.77 및 -28.83% point의 변화를 나타내었고, 지방세포 평균 직경은 각각 -33.38, -63.96, -52.29 및 -33.59% point의 변화를 나타내었다.

복벽 축적 지방조직의 두께 및 지방세포 평균 직경은 HFD 대조군의 경우, 정상 대조군에 비해 각각 213.76 및 175.09% point의 변화를 나타낸 반면, OH 400 mg/kg, fOH 400, 200



Table 4. Changes on the histopathology-histomorphometry of the periovarian and abdominal wall deposited fat pads in NFD or HFD supplied mice

Groups	Items	Periovarian fat pads		Abdominal wall fat pads	
		Thickness (mm)	Adipocyte diameters (µm)	Thickness (mm)	Adipocyte diameters (µm)
Controls					
	Intact	1.34±0.31	38.11±11.77	1.87±0.35	42.14±12.44
	HFD	5.20±0.97 <sup>a</sup>	111.16±20.80 <sup>a</sup>	5.85±0.83 <sup>a</sup>	115.92±18.59 <sup>a</sup>
Reference					
	OH 400 mg/kg	3.76±0.43 <sup>ac</sup>	78.06±10.03 <sup>ac</sup>	4.52±0.42 <sup>ac</sup>	87.88±10.85 <sup>ac</sup>
fOH treated					
	400 mg/kg	2.62±0.38 <sup>acd</sup>	42.22±11.29 <sup>cd</sup>	2.82±0.62 <sup>acd</sup>	57.68±7.77 <sup>bcd</sup>
	200 mg/kg	3.13±0.20 <sup>ace</sup>	55.90±12.36 <sup>bcd</sup>	3.22±0.32 <sup>acd</sup>	67.07±7.61 <sup>acd</sup>
	100 mg/kg	3.70±0.60 <sup>ac</sup>	77.81±11.91 <sup>ac</sup>	4.51±0.47 <sup>ac</sup>	85.72±11.10 <sup>ac</sup>

Values are expressed as Mean ± SD of six mice.  
<sup>a</sup>p<0.01 and <sup>b</sup>p<0.05 as compared with intact control by LSD test.  
<sup>c</sup>p<0.01 as compared with HFD control by LSD test.  
<sup>d</sup>p<0.01 and <sup>e</sup>p<0.05 as compared with OH 400 mg/kg by LSD test.

및 100 mg/kg 투여군에서는 HFD 대조군에 비해 축적 지방 두께는 각각 -22.81, -51.89, -44.92 및 -22.96% point의 변화를 나타내었고, 지방세포 평균 직경은 각각 -24.19, -50.24, -42.14 및 -26.05% point의 변화를 나타내었다.

### 고 찰

현재 비만 및 다양한 심혈관계 질환을 포함한 각종 성인병과 관련된 제 2형 당뇨병의 발병률이 현저히 증가되고 있는 추세이며, 만성적 경과를 취함과 동시에, 다양한 합병증을 유

발하므로, 사회적으로 매우 심각한 질환으로 간주되고 있는 실정이다[1]. 근래에 들어, 적절한 혈당 조절과 함께 당뇨 및 관련 합병증의 주요 병인으로 지목되고 있는 산화 스트레스의 적절한 제어가 당뇨 치료에 가장 핵심적인 방법으로 부각됨에 따라[1, 16], 부작용이 낮고 보다 효과적인 α-glucosidase 차단제 또는 항산화제들의 개발이 시도되고 있는 실정이다[7, 16, 21]. 또한 근래에 들어 무해한 식용 미생물을 이용한 발효에 의해 천연물의 생리활성이 biotransformation 또는 probiotic 효과에 의해 증가되는 것이 알려짐에 따라[13, 16, 18, 27], 새로운 약제학적 소재 또는 건강기능식품 소재로서 발효 천연물이 각광 받고 있는 실정이다. 이에 따라 본 연구에서는 현재 당뇨 및 당뇨 합병증, 특히 인슐린 저항성 개선 효과가 알려져 있는 OH [6, 14]의 약리 효과가 유산균(*L. plantarum*) 발효에 의해 증가되는지 여부를 확인하기 위하여, fOH의 항비만 효과를 현재 mild Type II 당뇨병 및 비만 실험동물 모델로 가장 흔히 이용되고 있는 HFD 공급 마우스[13, 19, 22, 28]를 이용하여, 원재료인 OH와 비교 평가하였다.

본 연구에서 1주일간 HFD에 적응하여, 일정한 체중 증가를 나타내는 실험동물을 선별하여, OH 400 mg/kg, fOH 400, 200 및 100 mg/kg을 멸균 증류수에 용해시켜, 10 ml/kg의 용량으로 84일간 연속 경구 투여한 다음 체중을 기준으로 군당 6 마리의 실험동물을 선별하고, 항비만 효과를 비교한 결과 HFD대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 체중 및 증체량, 체지방 및 복부지방량, 난소주위 및 복벽 축적 지방증량의 증가가 인정되었으며, 현저한 난소주위 및 복벽 축적 지방 두께의 증가와 함께 지방세포의 비대가 조직병리학적 및 조직형태측정학적으로 각각 인정되었다. 따라서 전형적인 당대사 장애에 의한 비만 유도 소견이 HFD 대조군에서 인정되었다. 한편 이러한 비만 유도 소견이 fOH 400, 200 및 100 mg/kg의 84일에 걸친 연속 경구 투여에 의해 투여 용량의 의존적으로

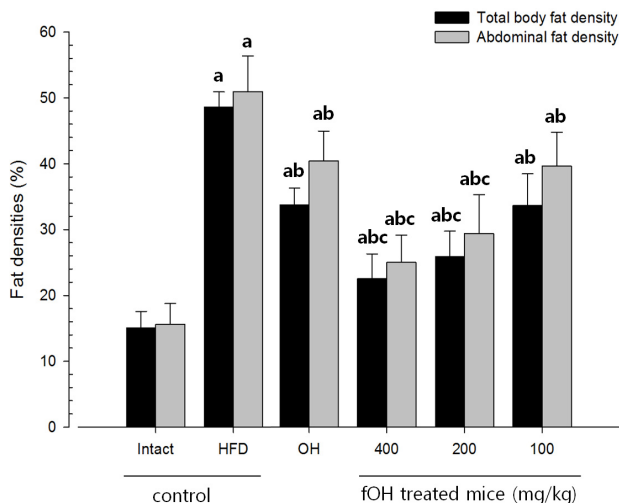


Fig. 4. The densities of total body and abdominal fat in mice by *in live* DEXA, respectively. Values are expressed mean ± SD of six mice.  
<sup>a</sup>p<0.01 as compared with intact control by LSD test.  
<sup>b</sup>p<0.01 as compared with HFD control by LSD test.  
<sup>c</sup>p<0.01 as compared with OH 400 mg/kg by LSD test.

현저히 억제효과가 확인되었다. 특히, fOH 400 및 200 mg/kg 투여군에서는 각각 OH 400 mg/kg 투여군에 비해서도 유의성 있는 항비만 효과의 증가를 나타내었으므로 유산균 발효에 의해 천연초의 생리학적 및 약리학적 활성이 증대됨을 확인되었다.

*L. plantarum* 를 이용한 천연초 발효액은 적어도 본 연구의 조건 하에서, 비만성 대사증후군에 대한 OH의 개선 효과를 상승시키는 것으로 확인되었다. 즉, fOH 400 및 200 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군에 비해 서도 유의성 있는 비만 개선 효과의 증가를 나타내었다. 한편 fOH 100 mg/kg 투여군에서는 OH 400 mg/kg 투여군과 비교하여 의미 있는 약효 상승 효과는 나타나지 않았다. 비만 발생의 중요한 요인 중의 하나는 지방이 특정 부위 특히 복부에 쌓이는 복부 비만의 증가이며, 고혈압이나 이상 지질 혈증, 염증성 사이토카인의 변화, 고인슐린성 인슐린저항성 변화 등의 아테롬성 위험 요소로 작용한다[20]. 비만과 관련한 Type II 당뇨병 개선으로 확대하여 약리효과 평가가 요구되며, 본 연구에 현재 대표적인 Type II 당뇨병 및 비만 치료제로 사용되고 있는 metformin [25] 투여군 및 대표적인 지질 저하제로 당뇨병성 고지혈증 및 신장질환 예방제로 사용되고 있는 simvastatin [3, 4, 11, 17] 투여군을 추가하여 각각 비교하여, 추가적으로 당뇨 및 합병증에 미치는 효과를 간보호, 혈중 지질개선, 항당뇨, 신장보호 효과 등으로 평가한다면 fOH는, 새로운 효과적인 당뇨 및 합병증 개선제 또는 치료제로서 의의가 클 것으로 기대된다.

## References

- Chen, H., Qu, Z., Fu, L., Dong, P. and Zhang, X. 2009. Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3 polysaccharides from green tea, oolong tea, and black tea. *J. Food Sci.* **74**, C469-474.
- Cho, J. Y., Park, S. C., Kim, T. W., Kim, K. S., Song, J. C., Kim, S. K., Lee, H. M., Sung, H. J., Park, H. J., Song, Y. B., Yoo, E. S., Lee, C. H. and Rhee, M. H. 2006. Radical scavenging and anti-inflammatory activity of extracts from *Opuntia humifusa* Raf. *J. Pharm. Pharmacol.* **58**, 113-119.
- Desai, C. S. and Martin, S. S. and Blumenthal, R. S. 2014. Non-cardiovascular effects associated with statins. *BMJ.* **349**, g3743.
- Föger, B. 2011. Lipid lowering therapy in type 2 diabetes. *Wien. Med. Wschr.* **161**, 289-296.
- Goldstein, G. and Nobel, P. S. 1994. Water relations and low temperature acclimation for cactus species varying in freezing tolerance. *Plant Physiol.* **104**, 675-681.
- Hahm, S. W., Park, J. and Son, Y. S. 2011. *Opuntia humifusa* stems lower blood glucose and cholesterol levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr. Res.* **31**, 479-487.
- Hays, N. P., Galassetti, P. R. and Coker, R. H. 2008. Prevention and treatment of type 2 diabetes: current role of lifestyle, natural product, and pharmacological interventions. *Pharmacol. Ther.* **118**, 181-191.
- Hida, K., Wada, J., Eguchi, J., Zhang, H., Baba, M., Seida, A., Hashimoto, I., Okada, T., Yasuhara, A., Nakatsuka, A., Shikata, K., Hourai, S., Futami, J., Watanabe, E., Matsuki, Y., Hiramatsu, R., Akagi, S., Makino, H. and Kanwar, Y. S. 2005. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 10610-10615.
- Inzucchi, S. E. 2002. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. *JAMA.* **287**, 360-372.
- James, P. T., Leach, R., Kalamara, E. and Shayeghi, M. 2001. The worldwide obesity epidemic. *Obes. Res.* **9**, 228S-233S.
- Joseph, J. J. and Golden, S. H. 2014. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: what next? *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* **21**, 109-120.
- Jung, Y. M., Lee, D. S. and Kwon, K. S. 2017. The Characterization of *L. plantarum*-fermented *Opuntia humifusa*. *J. Korea Convergence Society* **8**, 107-114
- Jung, Y. M., Lee, S. H., Lee, D. S., You, M. J., Chung, I. K., Cheon, W. H., Kwon, Y. S., Lee, Y. J. and Ku, SK. 2011. Fermented garlic protects diabetic, obese mice when fed a high-fat diet by antioxidant effects. *Nutr. Res.* **31**, 387-396.
- Kang, J., Lee, J., Kwon, D. and Song, Y. 2013. Effect of *Opuntia humifusa* supplementation and acute exercise on insulin sensitivity and associations with PPAR- $\gamma$  and PGC-1 $\alpha$  protein expression in skeletal muscle of rats. *Int. J. Mol. Sci.* **14**, 7140-7154.
- Kang, J., Park, J., Choi, S. H., Igawa, S. and Song, Y. 2012. *Opuntia humifusa* supplementation increased bone density by regulating parathyroid hormone and osteocalcin in male growing rats. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 6747-6756.
- Kang, S. J., Lee, J. E., Lee, E. K., Jung, D. H., Song, C. H., Park, S. J., Choi, S. H., Han, C. H., Ku, S. K. and Lee, Y. J. 2014. Fermentation with *Aquilariae Lignum* enhances the anti-diabetic activity of green tea in type II diabetic db/db mouse. *Nutrients* **6**, 3536-3571.
- Keating, G. M. 2011. Fenofibrate: a review of its lipid-modifying effects in dyslipidemia and its vascular effects in type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* **11**, 227-247.
- Kim, C. M., Yi, S. J., Cho, I. J. and Ku, S. K. 2013. Red-koji fermented red ginseng ameliorates high fat diet-induced metabolic disorders in mice. *Nutrients* **5**, 4316-4332.
- Kim, U. H., Yoon, J. H., Li, H., Kang, J. H., Ji, H. S., Park, K. H., Shin, D. H., Park, H. Y. and Jeong, T. S. 2014. Pterocarpin-enriched soy leaf extract ameliorates insulin sensitivity and pancreatic  $\beta$ -cell proliferation in type 2 diabetic mice. *Molecules* **19**, 18493-18510.
- Kunitomi, M., Wada, J., Takahashi, K., Tsuchiyama, Y., Mimura, Y., Hida, K., Miyatake, N., Fujii, M., Kira, S., Shikata, K. and Maknio, H. 2002. Relationship between reduced serum IGF-I levels and accumulation of visceral fat in Japanese men. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **26**, 361-369.
- Kwon, Y. I., Apostolidis, E. and Shetty, K. 2008. *In vitro* studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors

- of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. *Bioresour. Technol.* **99**, 2981-2988.
22. Lee, J. W., Lee, K. W., Lee, S. W., Kim, I. H. and Rhee, C. 2004. Selective increase in pinolenic acid (all-cis-5,9,12-18:3) in Korean pine nut oil by crystallization and its effect on LDL-receptor activity. *Lipids* **39**, 383-387.
  23. Levene, A. 1981. Pathological factors influencing excision of tumours in the head and neck. *Part I. Clin. Otolaryngol. Allied. Sci.* **6**, 145-151.
  24. Ludbrook, J. 1997. Update: microcomputer statistics packages. A personal view. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **24**, 294-296.
  25. Park, S. H., Ko, S. K. and Chung, S. H. 2005. *Euonymus alatus* prevents the hyperglycemia and hyperlipidemia induced by high-fat diet in ICR mice. *J. Ethnopharmacol.* **102**, 326-335.
  26. Tilg, H. and Moschen, A. R. 2006. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 772-783.
  27. Trinh, H. T., Han, S. J., Kim, S. W., Lee, Y. C. and Kim, D. H. 2007. Bifidus fermentation increases hypolipidemic and hypoglycemic effects of red ginseng. *J. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 1127-1133.
  28. Yun, S. N., Moon, S. J., Ko, S. K., Im, B. O. and Chung, S. H. 2004. Wild ginseng prevents the onset of high-fat diet induced hyperglycemia and obesity in ICR mice. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 790-796.
  29. Zimmet, P. 2003. The burden of type 2 diabetes: are we doing enough? *Diabetes Metab.* **29**, 6S9-18.

#### 초록 : 유산균 발효된 천년초 열매 추출물의 고지방식이 마우스에서의 항비만 효과

정영미<sup>1</sup> · 구세광<sup>2</sup> · 이동섭<sup>3</sup> · 권기상<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup>순자식품, <sup>2</sup>대구한의대 한의과대학, <sup>3</sup>경운대학교 보건바이오학과, <sup>4</sup>경운대학교 임상병리학과)

미생물을 이용한 천연물 발효 시 유용생리활성 증가가 보고된 바, 천년초(*Opuntia humifusa*; OH)를 *Lactobacillus plantarum* 을 이용하여 발효시켰으며(fermented *Opuntia humifusa*; fOH), fOH 의 비만 억제 효과를 확인하기 위해 45%Kcal 고지방식이(HFD)로 비만을 유도하였다. 이 전의 동물실험에 근거하여 OH 400 mg/kg 농도로 처리하였으며, fOH 는 최고 농도 400 mg/kg을 비롯하여 200, 100 mg/kg으로 처리하였다. 지속적인 HFD 공급으로 HFD 대조군에서는 체중, 복부지방 밀도, 난소주위 축적 지방 및 복부 축적 지방량 등이 증가하였으나, fOH 400, 200 mg/kg 처리군에서는 이들 비만인자들이 모두 유의적으로 감소하였다. fOH 100 mg/kg 처리 된 HFD 마우스는 OH 400 mg/kg 처리 마우스에 비해 의미 있는 억제 효과가 나타나지 않았다. 이는 OH에 비해 *L. plantarum* 로 발효된 fOH가 HFD공급 마우스에서 항비만 효과를 상승시키는 것으로 보인다. 추가적으로 2형 당뇨병 및 관련 합병증으로 확대하여 비만, 고지질혈증, 간지방증, 신장 기능 등을 이용하여 억제 기작 연구가 진행되면 대사증후군을 위한 새로운 강력한 치료제로서의 제안될 가능성이 있다.