

Ethanol Extract of *Hermetia illucens* Larvae Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes

Ji Yeong Park^{1†}, Kyu-Won Kwak^{1†}, Ji-Yeon Choi², Si-Eun Lee², Yong-Soon Kim¹, Bonwoo Koo¹, Eunsun Kim¹, Kwanho Park^{1*} and Sun Young Kim^{1*}

¹Industrial Insect and Sericulture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

²Southeast Medi-Chem Institute, 11F, 410, Suyeong-ro, Suyeong-gu, Busan 48308, Korea

Received October 12, 2021 / Revised December 2, 2021 / Accepted December 2, 2021

Hermetia illucens (Black soldier fly) is attracting attention as an environmental purification insect because it can supply a wide range of by-products of the agricultural food industry. Also, it has a potential feed for fish, birds, and pets due to a short life cycle and excellent nutritional components. Several pharmacological effects, including antimicrobial, of *H. illucens* have been reported. However, no study has focused on anti-obesity effects of ethanol extract of *H. illucens*. In this study, we aimed to assess the anti-obesity effects of ethanol extract of *H. illucens* larvae (HIE) through inhibition of differentiation of 3T3-L1 preadipocytes into adipocytes. The amount of lipid accumulated in adipocytes was measured by oil red-O staining, and the inhibitory effect on adipogenesis was confirmed. The expression levels of factors related to adipocyte differentiation and fat synthesis were determined using Western blot analysis. Lipid droplet formation in adipocytes was remarkably inhibited by HIE. In addition, treatment with 400 µg/ml of HIE significantly reduced the expression levels of peroxisome proliferator-activated receptor γ and CCAAT/enhancer-binding protein α -transcription factors involved in adipocyte differentiation. Therefore, the results of this study indicate that HIE is a potential anti-obesity agent because it inhibits adipocyte differentiation.

Key words : Anti-adipogenesis, C/EBP α , *Hermetia illucens*, PPAR γ , 3T3-L1 adipocytes

서 론

현대사회에서 서구화된 생활 습관이 증가되면서 다양한 대사 증후군이 발생되고 있다[12]. 특히, 비만은 다양한 대사 증후군, 고혈압, 제2형 당뇨병, 뇌졸중, 암, 이상지질혈증과 조기 사망위험을 야기시키며[5, 8, 21], 에너지 섭취와 소비의 불균형이 원인으로 체내 지방이 축적되는 것으로 알려져 있다[3]. 이외에도 유전적 요인 등 복합적인 요인이 비만의 원인이 되며, 이에 따라 비만을 예방하고 치료하기 위하여 지방세포 분화, 대사 및 항비만에 대한 연구가 꾸준히 진행되어 왔다[20].

지방을 축적하는 세포는 간세포(hepatocyte)와 지방세포(adipocyte)로 구성되며, 그 중 비정상적인 지방세포의 증가

및 축적이 비만의 원인이 된다[18, 26]. 지방구는 지방전구세포가 성숙한 지방세포로 분화하는 과정의 가장 큰 특징 중 하나로, 주로 중성지방인 triglyceride (TG)로 구성되어 있으며[15], TG는 중요한 에너지원이다. 하지만 과잉섭취할 경우 지방세포에 흡수되고 저장되어 비만의 원인으로 작용하는 것으로 알려져 있으므로, 이를 효과적으로 조절함으로써 비만을 예방할 수 있다[12, 22]. 지방세포 수의 증가는 지방세포분화에 있어 특이적인 전사인자의 발현에 의해 조절되며[20], 대표적 전사인자로는 CCAAT/enhancer binding protein family (C/EBPs)와 peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) 등이 있다[22, 30]. 지방생성(adipogenesis) 과정 초기에 C/EBPs β 이 발현할 경우, PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현이 유도되어 지방세포분화를 촉진시킨다[22]. PPAR γ 와 C/EBP α 는 adipogenesis와 관련된 유전자인 fatty acid binding protein (aP2), fatty acid synthase (FAS), stearoyl-coenzyme desaturase-1 (SCD1) 및 lipoprotein lipase (LDL)의 발현을 조절한다[9, 24]. 이러한 지방세포분화 조절 및 식욕억제 효능이 있는 천연물 유래의 항비만 소재 개발 연구는 활발히 진행되고 있으며, 카테킨, 플라보노이드, 리놀렌산 등이 항비만 효능이 있는 것으로 보고되고 있다[11, 15].

둥에둥에(Black Soldier Fly; *Hermetia illucens*)는 환경정화 곤충으로 알려져 있으며, 아메리카 대륙이 주요 서식지로 열

[†]Authors contributed equally.

*Corresponding authors

Tel : +82-63-238-2978, Fax : +82-63-238-3833

E-mail : carp0120@korea.kr (Sun Young Kim)

Tel : +82-63-238-2994, Fax : +82-63-238-3833

E-mail : nicegano@korea.kr (Kwanho Park)

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.

대지방부터 온난화 지방까지 서식한다[25]. 이들은 매우 광범위한 환경 조건(온도, 조도, 습도 등)에 적응이 가능하며[6], 병원균 침입에 대응하기 위하여 강력한 항균 펩타이드를 발현하는 선천성 면역 기전을 보유하고 있다[10]. 또한 유충과 번데기는 조단백질 및 미네랄 함량이 우수한 것으로 평가되고 있으며[28], 특히 유충의 장 추출물은 아밀라아제, 리파아제 및 프로테아제 활성을 가지는 것으로 알려져 있다[14]. 최근, 동애등에의 유충 및 성충의 항균[2, 16], 면역력 증진[1, 10], 항산화[4], 및 미백[29] 활성 등은 보고되고 있으나, 현재까지 항비만 효능과 관련 연구는 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 동애등에 유충 추출물을 3T3-L1 지방전구세포에 처리하여 지방세포의 분화 및 지방생성 억제에 미치는 영향을 조사함으로써 항비만 천연물 소재로서의 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

실험곤충 및 전처리

아메리카동애등에는 국립농업과학원의 유리온실에서 채란한 알을 부화시켜 사용하였다. 부화 후 5 일 경과한 유충을 플라스틱 사육상자(가로 60 × 세로 40 × 높이 15 cm)에서 남은 음식물을 공급하여 약 15 일간 집단사육하였다. 노숙유충이 발생하기 전 시점에서 유충을 분리하였다. 약 1일간 절식시킨 유충을 채반을 이용하여 이물질을 제거한 후 물에 2-3회 세척하고 물기를 제거하였다. 전처리된 유충을 영하 70℃의 초저온 냉동고(NIHON freezer, Japan)에서 24시간 이상 급속냉동한 후, 약 65±5시간 동안 동결건조기(Ilshin biobase, Korea)로 건조하였다. 건조된 동애등에 유충을 분쇄기(Garyeo Industry, Korea)로 분쇄한 후, 100 mesh로 걸러 동애등에 분말(HI)을 제조하였다.

동애등에 에탄올 추출물 제조

동애등에 분말(HI) 1 g에 70% ethanol 10 ml을 가하여 vortex한 후, ultrasonication (Sonics & Materials, Australia)하여 추출하였고, 원심분리(4℃, 3,500 rpm, 15분)한 다음 상층액을 회수하였다. 상층액은 원심 진공 농축기(Gyrozen, Korea)를 사용하여 용매를 완전히 제거한 후, 분말상태로 제조하였으며 -20℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

세포 배양 및 분화 유도

지방세포 3T3-L1은 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 3T3-L1 지방전구세포(preadipocytes)를 성숙한 지방세포(mature adipocyte)로 분화를 유도하기 위해, 세포 배양 및 분화에 사용된 배지는 10% bovine calf serum (BCS, Welgene, Korea), 10% Fetal bovine serum (FBS, Wel-

gene, Korea)와 Dulbecco modified eagle medium (DMEM, Welgene, Korea)이며, 항생제로 penicillin (100 units/ml)/streptomycin (100 µg/ml) (P/S, Welgene, Korea)을 구입하여 사용하였다. 3T3-L1 지방세포는 10% BCS와 P/S을 첨가한 DMEM 배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂ incubator (Sanyo, Japan) 환경에서 2-3일 주기로 배지를 교체하며 배양하였다. Confluent 상태가 되면 48시간 방치 후, 분화유도배지 [(10% FBS, 100 unit/ml P/S, DMEM, 500 µM isobutylmethylxanthine (IBMX, Sigma-Aldrich, USA), 0.25 µM dexamethasone (Sigma-Aldrich, USA) 및 10 µg/ml insulin]를 처리하여 6일 동안 분화를 유도하였다. 이후 2일 동안 10% FBS, 10 µg/ml insulin (Sigma-Aldrich, USA)이 포함된 DMEM을 사용하여 배양한 후, 분화를 종료하였다. 음성 대조군은 20% DMSO (Sigma-Aldrich, USA)을 사용하였다.

세포독성 측정

3T3-L1 지방세포를 96 well cell culture plate (SPL, Korea)에 최종 농도가 1×10⁴ cells/well이 되도록 분주한 뒤, CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배양한 세포가 골고루 분포되어 성장하였는지 확인한 후 각 well의 배지를 제거하였고, HIE를 농도별(0, 1, 10, 50, 100, 200 µg/ml)로 100 µl씩 분주하여 처리한 후, CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 이후, 각 well의 배지를 제거한 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide reagent (MTT reagent, Duche-fa Biochemie, Netherlands)를 50 µl씩 분주하고 1시간 배양하였다. 세포 내 보라색 침전물 확인하고 MTT reagent를 제거한 후, isopropanol (Sigma-Aldrich, USA) 100 µl를 첨가하여 570 및 650 nm에서 흡광도(Molecular Devices, USA)를 측정하였다. 세포 독성은 다음의 식을 이용하여 산출하였으며, 생존율이 대조군의 70% 미만(<70%)으로 감소하는 경우, 세포 독성이 있음을 나타낸다.

1차 계산 : 각 well의 OD₅₇₀-OD₆₅₀

2차 계산 : Viability (%) = $\frac{OD_{(570-650)e}}{OD_{(570-650)b}} \times 100$

OD_{(570-650)e} : HIE 처리된 well의 흡광도

OD_{(570-650)b} : 공시험액 처리된 well의 흡광도

Oil Red O 염색

분화가 완료된 성숙한 3T3-L1 지방세포의 세포내 lipid droplet을 확인하기 위하여, 3T3-L1 지방세포의 분화유도와 함께 HIE를 농도별(10, 50, 100, 200 µg/ml)로 처리하여 Oil red-O (ORO, Sigma-Aldrich, USA) staining을 실시하였고, 지방세포 내 중성지방 축적량을 측정하여 adipogenesis 억제 효과를 확인하였다. 분화가 완료된 세포는 PBS (Welgene, Korea)로 세척 후 4% PFA solution (Biosesang, Korea)으로 30분 동

안 실온에서 고정하였다. 1시간 이상 충분히 고정시킨 후 증류수로 세척하고, 세포 외 배경 염색을 방지하기 위해 60% isopropanol을 첨가하여 5분간 상온에서 반응하였다. 60% isopropanol을 제거한 후 ORO를 첨가하여 상온에서 15분 동안 염색하였다. 증류수를 이용하여 ORO를 세척하고 100% isopropanol을 첨가하여 세포 내 ORO를 용출시킨 후 96 well plate에 100 µl/well씩 옮겨 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. HIE를 처리하지 않은 분화된 지방세포를 대조군으로 하여 lipid accumulation (% of control)을 계산하였다.

세포 내 단백질 발현 수준 측정

3T3-L1 지방세포의 분화 유도과 함께 HIE를 200, 400 µg/ml로 처리하였고, 분화된 3T3-L1 지방세포에 적당량의 lysis buffer (Biosesang, Korea)를 첨가하여 4°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 원심분리(12,000 rpm, 20 분)하여 상층액의 단백질을 회수하였다. Bradford assay (Bio-Rad, USA)를 통하여 회수한 단백질의 농도를 정량하여 샘플을 제조하였다. 샘플을 전기영동으로 분리한 후, PVDF membrane (Atto, Japan)으로 전이하였고, 단백질이 전이된 PVDF membrane을 5% skim-milk (Volo, USA)를 처리하여 비특이적인 단백질들에 대한 blocking을 실시하였다. 1차 항체(PPAR-γ, C/EBPα, Cell signaling, USA)를 4°C에서 overnight 처리하였고 TBST (Volo, USA)로 세척 후, 2차 항체(anti-Rabbit IgG, anti-Mouse IgG, Sigma-Aldrich, USA)를 사용하여 상온에서 1시간 반응하였다. 반응 종료 후, Chemi-doc XRS system (Bio-Rad, USA)을 이용하여 단백질 발현량을 분석하였다. 음성 대조군은 20% DMSO (Sigma-Aldrich, USA)을 사용하였다.

통계처리

통계적 검정은 Statview 통계 프로그램(Statview 5.0, USA)을 이용하여 대조군 대비 *, p<0.05, **, p<0.01, ***, p<0.001일 경우 통계적으로 유의한 것으로 검정하여 나타내었다. 각 항목에 대한 유의한 차이에 대한 비교분석은 t-test one-way ANOVA를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

동애등에 추출물이 지방전구세포의 생존율에 미치는 영향

세포 독성 실험에 사용할 HIE의 농도 결정을 위해 MTT assay를 수행하였으며, 동일한 농도의 시료를 이용하여 지방세포 분화 조절을 확인하였다. 3T3-L1 지방세포에 HIE를 농도별 (0, 1, 10, 50, 100, 200 µg/ml)로 처리하여 확인한 결과, 모든 농도에서 100% 이상 세포 생존율이 확인되었다(Fig. 1). 일반적으로 살아있는 세포의 수가 감소하면 대사활동이 줄어들게 되므로, 세포 생존율이 공시험의 70% 이하(<70%)로 감소되는 경우 세포 독성이 있는 것으로 간주된다. 본 실험에서는 HIE

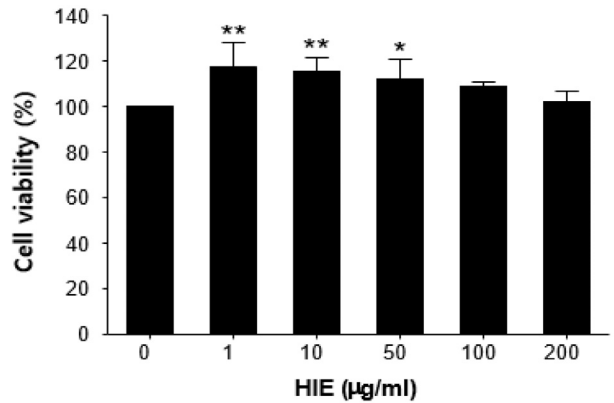


Fig. 1. Effect of *Hermetia illucens* ethanol extract (HIE) on viability in 3T3-L1 cells. Cells were treated with various concentration of HIE. Cell viability was determined by MTT assay. Values are expressed mean ± SD (n=3). T-test, *, p<0.05, **, p<0.01

가 3T3-L1 지방세포의 생존율에 영향을 미치지 않으므로 HIE는 세포 독성이 없음을 확인하였다.

동애등에 추출물이 지방전구세포 분화에 미치는 영향

비만 연구에 널리 사용되는 지방전구세포인 3T3-L1의 지방세포 분화과정에서 나타나는 지방구(lipid droplet)의 축적에 HIE가 미치는 생성 및 억제 효과를 확인하고자, ORO 염색을 통하여 현미경 관찰 및 정량 분석을 수행하였다. 분화시키지 않은 3T3-L1 지방전구세포(음성대조군)에서는 지방구의 축적이 발생하지 않았으나, HIE 처리 없이 분화만 유도한 지방전구세포(양성대조군)에서는 지방구가 과다하게 축적됨을 확인하였다(Fig. 2a). 이는 정량분석에서도 동일한 경향을 나타내었으며, 양성대조군과 비교하여 모든 농도의 HIE 처리군에서 지방구 축적이 감소하는 경향을 확인하였다. 분화시키지 않은 3T3-L1 지방전구세포(음성대조군)는 약 56%, HIE 200 µg/ml 처리군은 약 65%의 지방 축적율을 나타냄을 확인하였다. 본 연구에서 양성대조군과 비교하였을 경우, HIE 10, 200 µg/ml 처리군에서 유의한 수준으로 지방구 축적이 감소함을 나타내어 HIE가 지방축적 억제 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 2b). 한편, 고지방식이로 유도한 비만 마우스 모델에서 누에체액 투여가 마우스의 체중 감소 및 혈중 지질 개선 효과가 있음이 보고된 바 있으며[19], 동일한 마우스 모델에서 갈색거저리 유충 에탄올 추출물 투여 시 체중 감소, 지방세포의 지질 축적 및 중성지방 함량 감소를 보였고, 세포시험에서 아데노신 인산화를 유도하여 체중이 감소됨을 확인하였다[28]. 따라서 HIE에서 다른 곤충 유래 추출물과 비슷한 항비만 효과를 나타냈으므로 잠재적 비만 예방 가능성을 확인하였다[19].

동애등에 추출물이 지방생성과정에 관여하는 유전자의 단백질 발현에 미치는 영향

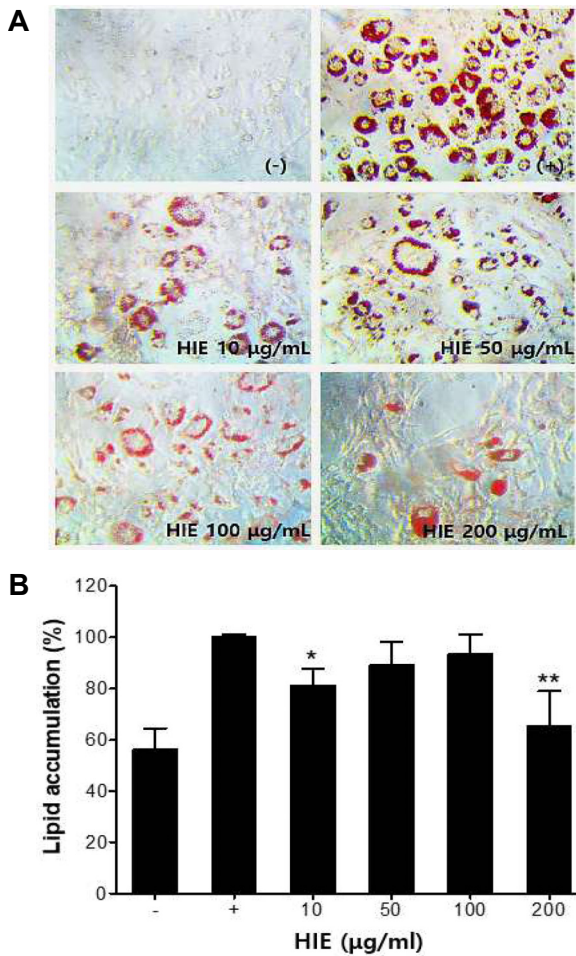


Fig. 2. Effect of *Hermetia illucens* ethanol extract (HIE) on lipid droplet accumulation of 3T3-L1 adipocytes. (A) Lipid droplets were stained by Oil Red O solution and photographed at 100x magnification. The negative control (-) are preadipocytes and the positive control (+) are fully differentiated adipocytes. (B) The absorbance of stained cells measured at 510 nm. Values are expressed mean \pm SD (n=3). T-test, *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$

지방전구세포가 지방세포로 전환되는 과정인 adipogenesis는 비만과 밀접한 관련이 있으며 이를 효과적으로 조절하는 것은 비만을 예방하는데 있어 중요한 부분이다[19, 27]. 지방전구세포에서 지방세포로 분화되는 과정에는 여러 종류의 adipogenic factor들이 관여하며 지방세포 특이적 단백질들의 발현이 유도된다고 알려져 있다[17, 23]. 지방세포분화의 초기 단계에서는 extracellular signal-related kinase (ERK)와 phosphatidylinositide 3-kinase (PI3K)/Akt에 의해 조절되며[30, 32], 후기단계에서는 CCAAT/enhancer binding proteins α (C/EBP α)와 peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)와 같은 특정한 전사인자들이 성숙한 지방세포로의 분화를 유도한다[31]. 그 중에서도 지방축적과 인슐린 감수성에 관여하는 많은 유전자들의 발현을 활성화시키는 PPAR γ 와 C/EBP α 가 지방분화의 중추적인 역할을 담당하며[22, 30], 이는 지방세포로 분화될 때 발현량이 증가하여 지방생성 단백질의 발현에 관여한다[17]. 본 연구에서는 HIE가 3T3-L1 세포의 지방분화를 억제하는지를 확인하기 위하여 PPAR γ 와 C/EBP α 의 단백질 발현량을 western blot을 통하여 확인하였다 (Fig. 3).

3T3-L1 지방세포 분화를 유도하였을 때 PPAR γ 와 C/EBP α 의 단백질 발현량이 유의적인 수준으로 증가함을 확인한 반면, HIE를 처리하였을 때 농도 의존적으로 PPAR γ 와 C/EBP α 의 단백질 발현이 감소되어 지방 분화 억제 활성을 가지는 것을 확인하였다. 특히 PPAR γ 의 단백질 발현은 200 μ g/ml, C/EBP α 의 단백질 발현은 200, 400 μ g/ml에서 유의적인 수준으로 감소하는 것을 확인하였다. 장수풍뎅이 유충 추출물을 3T3-L1세포에 처리했을 때 중성지방의 수치가 22.15% 감소되었고, 추출물에 의해 지방 전구세포를 지방세포로의 분화를 촉진하는 전사인자인 PPAR γ , C/EBP α 의 발현이 억제되어 지방세포로의 분화가 억제됨을 확인할 수 있었다[4, 33]. 전 세계적으로 비만 치료를 위한 안전성이 확보된 우수한 효능을 가진 물질 개발이 요구되고 있으며, 특히 독성, 부작용이 없는

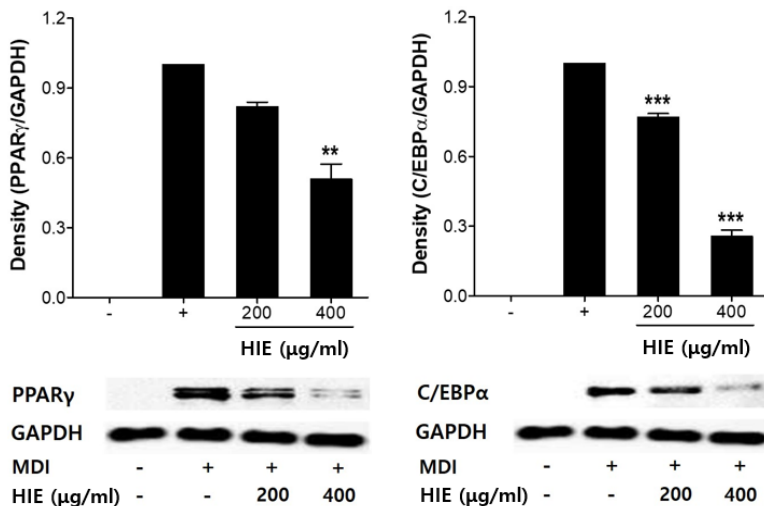


Fig. 3. Effects of *Hermetia illucens* ethanol extract (HIE) on protein expression of adipogenic-related genes in 3T3-L1 adipocytes. The confluent 3T3-L1 cells were treated with HIE for 8 days. The protein levels of PPAR γ , C/EBP α were analyzed by Western blot. Values are expressed mean \pm SD (n=3). T-test, **, $p < 0.01$, ***, $p < 0.001$

천연물 유래 항비만 효능을 가진 소재 발굴을 위해 많은 노력을 하고 있는 실정이다[7]. 본 연구에서 동애등에 유충 추출물은 지방전구세포의 지방세포 분화에 의한 세포 내 지방 축적을 감소시켰으며 지방축적과 관련된 특이 전사인자인 C/EBP α 와 PPAR γ 유전자의 발현을 억제함을 확인하였다. 이 결과들은 동애등에 유충 추출물이 지방세포 분화 과정에서 전사인자 발현을 억제함으로써 중성지방 감소 효과를 나타낼 것으로 생각된다. 따라서 추후 항비만 소재로서 활용 가능성이 높은 동애등에 유충에 대한 동물 및 임상시험 등의 후속연구가 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(연구개발과제명: 동애등에를 이용한 과채류 부산물 분해 및 유충사료화, PJ015960)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Ali, M. F. Z., Ohta, T., Ido, A., Miura, C. and Miura, T. 2019. The dipterose of black soldier fly (*Hermetia illucens*) induces innate immune response through Toll-like receptor pathway in mouse macrophage RAW264.7 cells. *Biomolecules* **9**, E677.
2. Alvarez, D., Wikinson, K. A., Treihou, M., Téné, N., Castillo, D. and Sauvain, M. 2019. Prospecting peptides isolated from black soldier fly (Diptera: stratiomyidae) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* (Campylobacterales: Helicobacteraceae). *J. Insect Sci.* **19**, 1-5.
3. Bradford, B. L. and Bruce, M. S. 2000. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature* **404**, 652-660.
4. Chung, M. Y., Yoon, Y. I., Hwang, J. S., Goo, T. W. and Yun, E. Y. 2014. Anti-obesity effect of *Allomyrina dichotoma* (Arthropoda: Insecta) larvae ethanol extract on 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Entomol. Res.* **44**, 9-16.
5. Firmansyah, M. and Abduh, M. Y. 2019. Production of protein hydrolysate containing antioxidant activity from *Hermetia illucens*. *Heliyon* **5**, e02005.
6. Flegal, K. M., Graubard, B. I., Williamson, D. F. and Gail, M. H. 2007. Cause-specific excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA* **298**, 2028-2037.
7. Gujarathi, G. and Pejaver, M. 2013. Occurrence of black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) in biocompost. *Res. J. Recent Sci.* **2**, 65-66.
8. Gupta, R., Rath, P., Gupta, N. and Bradoo, S. 2003. Lipase assays for conventional and molecular screening: an overview. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **37**, 63-71.
9. Guzman, A. K., Ding, M., Xie, Y. and Martin, K. A. 2014. Pharmacogenetics of obesity drug therapy. *Curr. Mol. Med.* **14**, 891-908.
10. Gwon, S. Y., Ahn, J. Y., Kim, T. W. and Ha, T. Y. 2012. *Zanthoxylum piperitum* DC ethanol extract suppresses fat accumulation in adipocytes and high fat diet-induced obese mice by regulating adipogenesis. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **58**, 393-401.
11. Ji, S. Y., Park, G., Kim, K., Lee, H. S., Choi, G., Kim, Y., Yu, R., Choi, I. and Chung, T. H. 2018. Influence of *Hermetia illucens* larvae-derived functional feed additives on immune function of broilers. *J. Environ. Sci. Int.* **27**, 1305-1307.
12. Kaur, J. 2014. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol. Res. Pract.* **2014**, 943162.
13. Kim, D. J., Jung, J. H., Kim, S. G., Lee, H. K., Lee, S. K., Hong, H. D., Lee, B. Y. and Lee, O. H. 2011. Antioxidants and antiobesity activities of hot water and ethanolic extracts from *Cheonnyuncho*. *Kor. J. Food Preserv.* **18**, 366-373.
14. Kim, K. B. and Jang, S. H. 2014. Anti-obesity effect of EGCG and glucosamine-6-phosphate through decreased expression of genes related to adipogenesis and cell cycle arrest in 3T3-L1 adipocyte. *J. Nutr. Health* **47**, 1-11.
15. Kim, W., Bae, S., Kim, A., Park, K., Lee, S., Choi, Y., Han, S., Park, Y. and Koh, Y. 2011. Characterization of the molecular features and expression patterns of two serine proteases in *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae. *BMB Rep.* **44**, 387-392.
16. Lee, S. H., Lee, Y. R., Ryu, D. G., Kim, H. R., Kim, M. S., Kim, B. S. and Kwon, K. B. 2016. Inhibitory effects of *Albizia cortex* extracts on adipocyte differentiation. *J. Physiol. Pathol. Kor. Med.* **30**, 447-451.
17. Ministry of health and welfare. 2015. Korea Health Promotion Institution. The 4th National Health Promotion Plan (2016-2020). Sejong, Korea.
18. Miyano, A., Hara, S., Sugiyama, M., Asaoka, A., Tanai, K., Yukuhiro, F. and Yamakawa, M. 1996. Isolation and characterization of a new member of the insect defensin family from a beetle, *Allomyrina dichotoma*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **220**, 526-531.
19. Nam, Y. R., Ko, Y. E. and Ly, S. Y. 2018. Anti-obesity and LDL-cholesterol lowering effects of silkworm hemolymph in C57BL/6N mice fed high fat diet. *J. Nutr. Health* **51**, 201-207.
20. Park, J. Y. and Kim, J. B. 2002. Molecular insights into fat cell differentiation and functional roles of adipocytokines. *Endocrinol. Metab.* **17**, 1-9.
21. Peng, Y., Yu, S., Li, H., Xiang, H., Peng, J. and Jiang, S. 2014. MicroRNAs: Emerging roles in adipogenesis and obesity. *Cell Signal.* **26**, 1888-1896.
22. Prusty, D., Park, B. H., Davis, K. E. and Farmer, S. R. 2002. Activation of MEK/ERK signaling promotes adipogenesis by enhancing peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) and C/EBP alpha gene expression during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J. Biol. Chem.* **277**, 46226-46232.

23. Rayalam, S., Della-Fera, M. A. and Baile, C. A. 2008. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J. Nutr. Biochem.* **19**, 717-726.
24. Rodgers, R. J., Tschop, M. H. and Wilding, J. P. 2012. Anti-obesity drugs: Past, present and future. *Dis. Models Mech.* **5**, 621-626.
25. Rosen, E. D., Walkey, C. J., Puigserver, P. and Spiegelman, B. M. 2002. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev.* **14**, 1293-1307.
26. Rowen, E. D. and MacDougald, O. A. 2006. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 885-896.
27. Sagisaka, A., Miyanoshita, A., Ishibashi, J. and Yamakawa, M. 2001. Purification, characterization and gene expression of a glycine and proline-rich antibacterial protein family from larvae of a beetle, *Allomyrina dichotoma*. *Insect Mol. Biol.* **10**, 293-302.
28. Seo, M. C., Goo, T. W., Chung, M. Y., Baek, M. H., Hwang, J. S., Kim, M. A. and Yun, E. Y. 2017. *Tenebrio molitor* larvae inhibit adipogenesis through AMPK and MAPKs signaling in 3T3-L1 adipocytes and obesity in high-fat diet-induced obese mice. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 518.
29. Shin, O. S., Shin, Y. H., Lee, K. H., Kim, G. Y., Kim, K. H., Park, J. K., Ahn, J. I. and Song, K. Y. 2012. Inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes with ethanol extracts of *Saururus chinensis*. *KSBB J.* **27**, 381-386.
30. Shon, M. S. and Kim, G. N. 2014. Anti-oxidant and anti-obese activities of turmeric (*Curcuma longa* L.) extract in 3T3-L1 Cells. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **12**, 169-175.
31. Sim, Y., Kim, D., Pyo, S., Sohn, H., Jung, C., Kim, D. and Cho, Y. 2020. Oils from *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens* prevent binge Alcohol-induced gut leakiness and hepatic inflammation. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **49**, 1175-1183.
32. Suh, H. J., Kim, S. R., Lee, K. S., Park, S. and Kang, S. C. 2010. Antioxidant activity of various solvent extracts from *Allomyrina dichotoma* (Arthropoda: Insecta) larvae. *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.* **99**, 67-73.
33. Yoon, Y. I., Chung, M. Y., Hwang, J. S., Han, M. S., Goo, T. W. and Yun, E. Y. 2015. *Allomyrina dichotoma* (Arthropoda: Insecta) larvae confer resistance to obesity in mice fed a high-fat diet. *Nutrients* **7**, 1978-1991.

초록 : 동애등에 유충 에탄올 추출물의 지방세포 분화 억제 효과

박지영^{1*} · 광규원^{1*} · 최지연² · 이시은² · 김용순¹ · 구분우¹ · 김은선¹ · 박관호^{1*} · 김선영^{1*}

(¹농촌진흥청 국립농업과학원 곤충양잠산업과, ²동남의화학연구원)

동애등에(*Hermetia illucens*)에 대한 몇 가지 약리적 효능이 보고된 바 있으나, 이 추출물의 항비만 및 작용기전에 대한 보고는 전무한 실정이다. 본 연구에서는 3T3-L1 지방전구세포를 지방세포로 분화시키는 과정에 동애등에 유충 에탄올 추출물을 첨가하여 분화 억제를 통한 항비만 효과를 확인하고자 하였다. 지방세포 분화에서 나타나는 중성지방의 양을 Oil red O 염색을 통하여 지방 축적 정도를 측정하였고, 지방세포의 분화와 지방 합성에 관련된 인자들의 발현량을 western blot을 통해 확인하였다. 동애등에 추출물에 의해 지방세포의 지방구 형성은 유의한 수준으로 억제되었다. 또한, 지방세포의 분화에 관여하는 전사인자인 peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)와 CCAAT enhancer-binding protein α (C/EBP α)의 단백질 발현은 400 $\mu\text{g/ml}$ 동애등에 추출물에 의해 현저하게 감소되었다. 이에 본 연구결과를 토대로 동애등에 추출물은 지방세포 분화 및 지방 축적 억제를 통한 항비만 소재로 활용하기에 적합할 것으로 판단된다.