

## 고지방식이로 유도된 C57BL/6J 마우스 비만모델에서 참마홍국발효의 비만 억제 및 지질 저하 효과

오 득 창\* · †강 순 아\*\*,\*\*

호서대학교 벤처대학원 융합공학과 박사과정, \*호서대학교 보건산업연구소 연구원,  
\*\*호서대학교 벤처대학원 융합공학과 교수, \*\*\*호서대학교 보건산업연구소 소장

### Anti-Obesity and Lipid Lowering Effect of *Discorea japonica* Thunb. Fermented with *Monascus* in High-Fat Diet Induced Obese C57BL/6J Mice Model

Deuk Chang Oh\* and †Soon Ah Kang\*\*,\*\*

Ph.D. Student, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*Researcher, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*\*Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

\*\*\*Director, Institute of Health Industry, Hoseo University, Seoul 06724, Korea

#### Abstract

This study was conducted to investigate the anti-obesity effect of *Discorea Japonica* Thunb. fermented with *Monascus* After inducing obesity by feeding high fat diet (diet induced obesity model: DIO) for four weeks, each 8 rats were assigned to normal (Nor), high fat diet (HF), high fat diet containing orlistat (PC), high fat diet containing different concentration of *Discorea Japonica* Thunb. fermented with *Monascus* (UPDM\_L, UPDM\_H) and *Discorea Japonica* Thunb. (UPD) extract. Although the UPD, UPDM\_L (ultrafine pulverized *Discorea Japonica* Thunb. fermented with *Monascus*: 400 mg/kg) and UPDM\_H (DIO oral administration ultrafine pulverized *Discorea Japonica* Thunb. fermented with *Monascus*: 800 mg/kg) showed weight gain inhibition effects, the results of poor obesity inhibition rather than PC were confirmed. However, it showed a more effective weight loss effect in UPDM\_H than UPD, and significantly reduced the weight of epididymal fat and subcutaneous fat. Furthermore, the possibility of anti-obesity effects of *Discorea Japonica* Thunb. fermented with *Monascus* can be confirmed by observing the effects of reducing serum total cholesterol, triglyceride and LDL concentrations, reducing ALT and AST levels, and inhibiting fat build-up in liver tissue. It is believed that *Discorea Japonica* Thunb. fermented with *Monascus* can be expected to utilize as a functional material that is important to improve anti-obesity and metabolic syndrome.

Key words: *Discorea japonica* Thunb. fermented with *Monascus*, diet induced obesity model (DIO), anti-obesity effect

#### 서 론

세계보건기구(WHO) 유럽 지역 내 20% 이상의 사람들이 비만과 함께 살아가고 있으며 미국에서는 2030년에는 비만 성인의 비율이 42%에 달할 것으로 예측하고, 비만 개인에 대한 연간 의료비용이 매년 상승하고 있다(WHO 2017; Cardel

등 2020). 이는 과체중 및 비만과 함께 더 빠른 속도로 발생하는 제2형 당뇨병, 관상동맥질환, 폐색수면무호흡증과 같은 비만 관련 동반질환의 치료비용도 함께 상승하기 때문이다(Sharma 등 2009). 비만치료약물에 의한 부작용을 감소시키기 위하여 최근에는 천연약용물질 추출물, 식물성 스테롤, 페놀성화합물과 같은 천연물 및 식품 유래 기능성소재에

† Corresponding author: Soon Ah Kang, Professor, Dept. of Convergence Technology, Graduate School of Venture, Hoseo University, Seoul 06724, Korea. Tel: +82-2-2059-2353, Fax: +82-2-2059-1405, E-mail: sakang@hoseo.edu

대한 연구가 다수 진행되고 있다(Heal 등 1998; Li & Cheung 2009; Yoo & Shin 2012; Kim 등 2015; Lee & Kang 2018; Kim 등 2020; Park 등 2021).

참마(*Dioscorea japonica* Thunb.)는 마과(Dioscoreaceae)에 속하는 국내 자생 덩굴성 다년생 식물로서 원산지는 중국이며 우리나라 전국에 자생하는데 주로 전라도 산간지방에서 재배되고 있다(Xue 등 2015; Kim 등 2017). 참마의 지상부는 덩굴이며 지하부는 뿌리로 건조시켜 말린 후 약재로 사용하는데 이를 산약이라고 부르며 한방에서는 참마의 근경을 기열을 식혀주는 약재로서 식욕부진, 위허약증, 신체피로, 당뇨, 빈뇨, 설사 등에 유효한 약재로 알려져 있다(Jang 등 1999; Kim & Lim 2000; Kim MW 2001). 참마는 식물유래 저장성단백질 및 사포닌(diocin, cryptogenin 등)을 함유하고 있어서 항산화활성, 콜레스테롤 저하작용, 고혈압, 동맥경화증에 효과가 있다고 보고되었다(Hou 등 2001; Hou 등 2002; Oh 등 2004; Lee 등 2006). 마과에 속하는 마(yam)는 일반적 마라고 불리는 *Dioscorea batatas* Decene와 참마인 *Dioscorea japonica* Thunb.로 구분되는데 *Dioscorea batatas* Decene 열수추출물을 활용하여 고지방식이로 유도된 비만 마우스에서 체내 조직에 중성지방의 축적을 감소시켰으며 혈중 지질 농도를 감소시키며 간기능 개선 소재로 활용할 수 있다고 보고하였다(Yoo & Shin 2012). 또한 *Dioscorea japonica* Thunb.의 3주 섭취에 의하여 위 및 소장 of 형태학적 기능을 조절하며 총콜레스테롤을 조절하는 효과를 보였다(Chen 등 2003).

홍국은 *Monascus purpureus* 누룩곰팡이를 쌀에 접종하여 제조한 것으로 Red koji라고 불리며 발효 과정에서 polyketide 계열인 다양한 색소성분이 생성되는데 그중에서 monacolin K는 콜레스테롤 생성 저하효과(Jeong 등 2013; Lee 등 2013; Kim 등 2015; Zhu 등 2019; Mohankumari 등 2021), 면역증진효과(Lee 등 2012), 항산화 및 항염증효과(Hsu 등 2010), 항균활성(Kim & Rhyu 2008) 등을 나타내는 것으로 보고되었다. 홍국 자체의 항비만 효과를 검증한 선행 연구 외에도 홍국발효 식품의 항비만효과에 관한 연구들이 보고되고 있는데 그 예로는 홍국발효메밀(Hong 등 2017), 홍국발효 홍삼(Park 등 2009), 홍국발효 참당귀 추출물(Kim 등 2018), 홍국첨가에 의한 중성지방 감소효과(Choi & Yu 2005) 등이 있다. 그러나 마의 여러 품종 중 장마(*Dioscorea batatas*)에 대한 연구가 많고 단마 혹은 참마에 대한 연구가 미비하며 이를 홍국발효에 의한 항비만 효과 연구 또한 미비한 편이다. 홍국균은 모나콜린 K와 같은 기능성물질 생산에 전분질이 적합한데 마는 70% 이상이 전분으로 구성되어 있고 amylose형태가 주성분이므로 홍국균 발효에 더욱 우수한 기질 특성을 가지고 있다. 따라서 C57BL/6J 마우스를 고

지방식이로 비만유도모델(DIO: diet induced obesity)을 이용하여 monacolin K 함유량이 높은 홍국균을 접종한 참마 홍국발효의 항비만 효과를 입증하고자 체중변화량, 식이효율변화, 장기무게, 지방조직무게, 혈중 생화학, 간 및 지방조직의 조직학적 변화 등을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

본 실험의 소재인 참마는 경상북도 생산 참마(*Dioscorea japonica* Thunb.)를 구입하여 에어제트밀(Retsch ZM100,  $\phi=1.0$  mm, Rheinische, Germany)을 이용하여 초미세 분쇄하여 사용하였다. 분말화 참마의 입도를 Lazer Particle Size Analyzer(Beckman Coulter Inc., Pasadena, California, USA)로 측정하여 평균 입도는 30.1  $\mu\text{m}$ 로 액상 기질화 실험에 사용하였다. 초미세 분쇄 참마소재에 적합한 홍국균주 개발은 한국생명공학연구원(Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology 2015)에서 하였고, *Monascus* sp. RY1 균주를 이용하여 발효시킨 참마홍국발효를 본 연구의 실험 재료로 제공받아 사용하였다. 참마의 액상홍국발효를 위한 기본 배지로서 초미세분쇄 참마 50 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.5 g/L,  $\text{MgSO}_4$  1.0 g/L를 첨가한 배지를 사용하였다. 기본배지에 무기질소원으로 sodium nitrate, ammonium nitrate, ammonium chloride를 1.5 g/L 농도로 첨가한 후 배양 후 30°C에서 진탕 배양하였다. 일반 참마와 참마홍국발효를 -20°C에서 냉동 후, 동결건조기(FD5512, Ilshin BioBase Co., Korea)로 건조하였다. 건조된 참마와 참마홍국발효는 Ultra-Blender(Rumilly, Haute-Savoie, France)로 분말하여 에탄올 10 g에 분말시료 1 g을 혼합 후 25°C에서 8시간 동안 3회 반복 교반하여 추출하였다. 추출 용액은 감압농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축 후 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 첨가하여 실험시료로 사용하였다.

### 2. 실험동물의 사육조건 및 식이조성

실험에 사용한 동물은 5주령의 SPF계 C57BL/6J 수컷 46 마리를 (주)대한바이오링크(Eumseong, Korea)에서 구입하여 환경조건은 온도 22±2°C, 습도 50±15%, 명암주기 12시간, 조도 150~300 Lux로 설정된 동물 케이지(Polysulfone, 331 D×159 W×132 H(mm))에서 사육하였다. 실험 전 체중 측정 후, 개체식별법에 의하여 7일 적응 기간 후 전자저울로 체중을 측정하고, 일반증상 관찰 후 이상이 없는 동물을 배치하였다. 사료는 정상식이(10 kcal% fat: PO Box 19798, St. Louis, MO, USA)와 고지방식이(60 kcal% fat: PO Box 19798, St. Louis, MO, USA)로 (주)두얼바이오텍에서 구매

하여 자유섭취시켰다. 시험물질은 투여당일에 투여용량에 맞게 전자저울로 칭량한 후, 멸균수와 혼합하여 30분간 sonication 후 사용하였으며 존데(DAZ01, Fuchigami, Japan)를 이용해 경구 투여하였다. 실험군은 정상식이군(Nor), 고지방식이군(HF), 양성대조군(PC, Orlistat 30 mg/kg), 참마군(UPD)과 참마홍국발효 저농도(400 mg/kg, UPDM\_L), 고농도(800 mg/kg, UPDM\_H)로 총 6개 군으로 분리하여 28일 동안 하루 1회 동일한 시간에 사료를 경구 투여하였다. 체중은 7일 주기로 일정한 시간에 측정하였고, 식이 섭취량과 일반 증상 관찰은 매일하였다. 본 실험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용하는 규정을 준수하였고, 동물보호법(제정 1991년 5월 21일 법률 제 4379호, 일부개정 2020년 2월 11일 법률 제 16977호)에 근거한 (주)KLSBIO의 동물실험윤리위원회(IACUC)에 의하여 승인을 받아 진행하였다(승인번호: KLS IACUC20201201-4-01).

### 3. 혈액 및 조직 채취

시험 기간 종료 후, 1 mL syringe(REF301321, BD, USA)로 심장 채혈을 통하여 채혈을 하였고, 약 30분간 실온에 방치한 후 3,000 rpm으로 4°C에서 15분간 원심 분리하여 얻은 혈청은 생화학적 분석에 사용하였다. 실험 최종일에는 12시간 절식 후 에테르로 가볍게 마취하여 해부를 하여 채혈 후 각 장기(간, 신장, 심장)를 적출하고 fat을 부위별(subcutaneous, mesentric, epididymal, peritoneal)로 분리하여 0.9% 차가운 생리식염수로 세척한 후 여과지로 물기를 제거하여 무게를 전자저울(BT224S, Sartorius, Germany)로 측정 후, 조직검사를 위하여 간 및 epididymal fat 조직의 일부를 적출하였다.

### 4. 체중 변화 및 식이효율 분석

실험동물의 체중 변화는 전자저울(Entris2202, Sartorius, Germany)로 체중을 주 1회 일정한 시간에 측정하였고, 식이 효율(FER: food efficiency ratio)은 체중 증가량을 동일 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어서 산출하였다.

식이효율(FER)=

실험기간동안 체중 증가량(g)/실험기간동안 식이섭취량 (g)

### 5. 혈중 생화학적 지표분석

혈중 지질농도 및 생화학적 지표는 생화학자동분석기(H7020, HITACHI, Japan)를 이용하여 총콜레스테롤(total cholesterol: T-Chol, mg/dL, WAKO, JPN), 고밀도 지단백 콜레스테롤(HDL Cholesterol, mg/dL, WAKO, JPN), 저밀도 지단백 콜레스테롤(LDL Cholesterol, mg/dL, WAKO, JPN), 중성지방

(Triglyceride: TG, mg/dL, WAKO, Japan) 검사를 실시하였다. 또한 TNF- $\alpha$ 의 진단 키트(TNF- $\alpha$ : pg/mL, Invirtogm, Waltham, Massachusetts, USA)를 이용하여 항원항체 면역흡착법(ELISA)으로 TNF- $\alpha$ 와 항체를 반응시킨 후 발색하여 ELISA(spectramaxM2, MOLECULAR DEVICES, USA)로 분석하였다.

### 6. 간 및 지방 조직 내 조직학적 변화(H&E 염색)

간 및 지방 조직 내 조직학적 변화를 H&E 염색으로 확인하기 위하여 간 좌측 큰엽과 부고환지방 조직을 적출하고 10% 포르말린에 고정시킨 후 조직표본 제작에 적합한 약 2~3  $\mu$ m의 두께로 삭정 후 개체번호가 작성된 카세트에 넣어 13시간 동안 조직처리(STP120 Spin tissue Processor, Myr)를 하였다. 박절기(Finesse ME Microtome, Thermo Shandon)를 이용하여 약 3  $\mu$ m 두께로 절편을 만들어서 슬라이드에 부착한 후 건조과정을 거쳐 탈 파라핀, 함수 과정, 증류수 세척 후 H&E(hematoxylin and eosin) 염색을 하여 Virtual Slide Scanner(Pannoramic MID, 3D Histech Ltd., Budapest, Hungary)로 관찰하였다(Cardiff 등 2014).

### 7. 간 조직 내 지질의 조직학적 변화 (Oil red O 염색)

간 조직은 적출하여 10% 포르말린에 고정시킨 후 약 2~3  $\mu$ m의 두께로 삭정 후 30% sucrose(Merck) 용액에 처리한 후 OCT Compound(Tissue Tek OCT Compound)로 cryoblock을 제작 후, 동결 박절기(CM3000, Leica)로 제작된 절편을 슬라이드에 부착 후 Oil red O stain 염색을 실시하였다(Riva 등 2018).

### 8. 통계방법

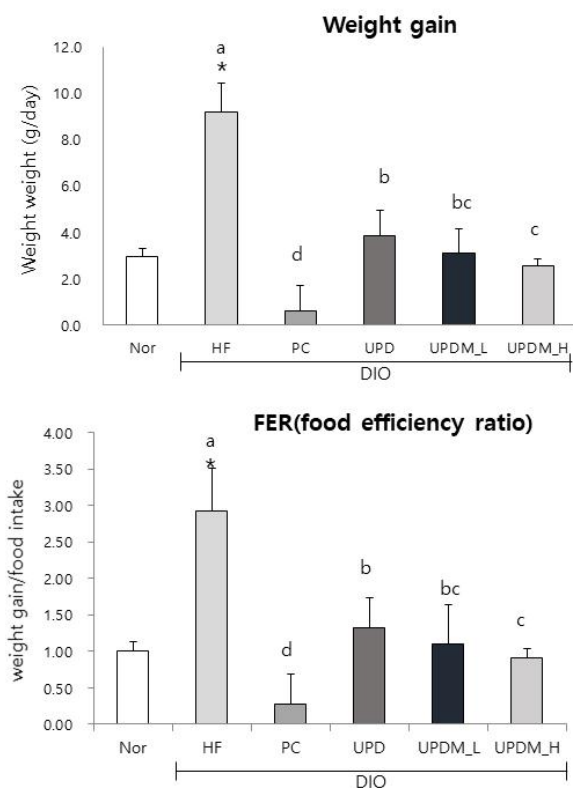
실험결과는 평균치(mean)와 표준편차(standard deviation)로 표기하고 각 군 간의 통계처리는 Software Statview (Version 4.51, Abacus Concepts, Berkeley, CA, USA)를 사용하여 ANOVA분석 One-way analysis of variance를 수행하였으며 유의수준은  $p < 0.05$ 을 적용하여 검증하였다. 정상식이군(Nor)과 고지방식이군(HF)은 student's  $t$ -test로 두군 간의 차이를 확인하였고(\*로 표기) 실험 그룹별 차이는 SAS (Statistical analysis system) version 9.3(SAS Institute, Ctrlth carolina, USA) 사용하여 Duncan's multiple range test를 이용하여 실험 군 간의 유의성을 검증하였고, 5%의 유의수준에서 실험 군 간의 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중변화 및 식이효율

실험동물을 정상식이와 고지방식이를 공급한 후의 체중

변화 결과는 Fig. 1과 같다. 4주간의 체중 변화는 전체 실험군에서 체중이 증가하는 것을 보였다. 정상식이군(Nor)의 체중 변화는  $2.95 \pm 0.34$  g 증가하였고, 고지방식이군(HF)은 체중 변화가  $9.17 \pm 1.29$  g로 증가하여 가장 높은 체중 증가율을 보이면서 고지방식으로 유도한 비만 군에서 체중증가가 유의하게 증가함을 보여주었다( $p < 0.05$ ). 고지방식으로 유도한 군에서 양성대조군(PC)의 체중변화는  $0.62 \pm 1.09$  g 증가로 가장 낮은 체중증가율을 보여주었다. 그러나 참마(*Dioscorea japonica* Thunb.), 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L) 및 참마 홍국발효 고농도군(UPDM\_H)은 고지방식이군(HF)보다



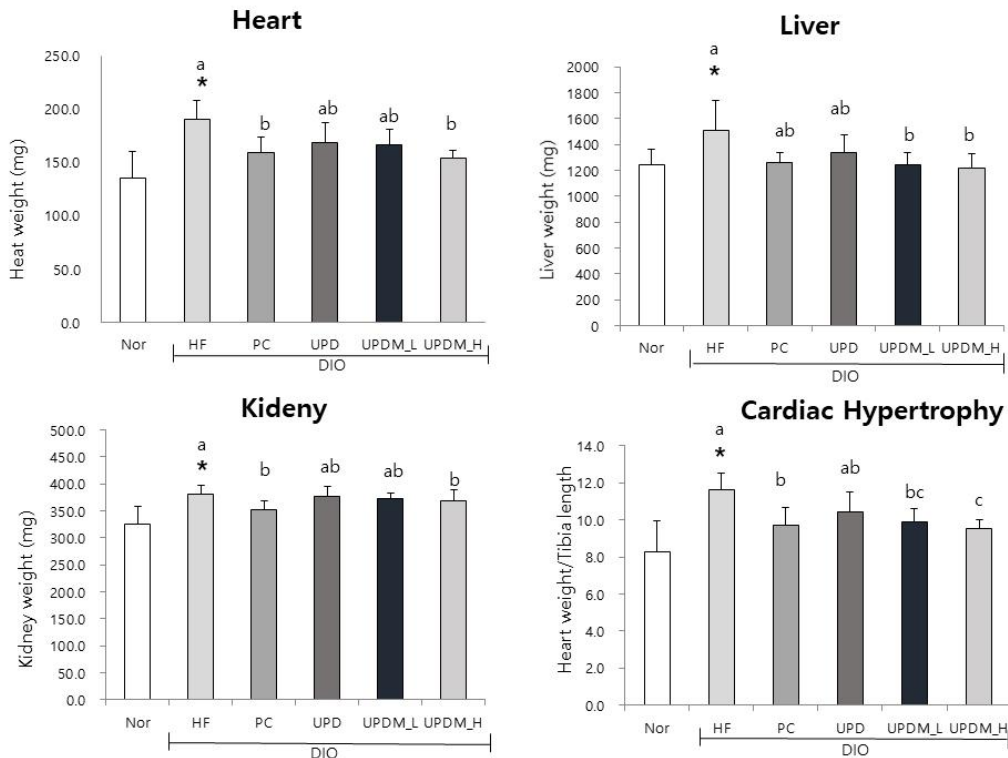
**Fig. 1. Changes in body weight gain and food efficiency ratio (FER) and in diet induced obesity model (DIO).** Each value represents the mean $\pm$ S.D. Nor: normal, HF: high-fat diet induced obesity animal (DIO), PC: positive control (orlistat 30 mg/kg), UPD: DIO oral administration ultrafine pulverized *Discorea japonica* Thunb. 400 mg/kg, UPDM\_L: DIO oral administration ultrafine pulverized *Discorea japonica* Thunb. fermented with *Monascus* 400 mg/kg, UPDM\_H: DIO oral administration ultrafine pulverized *Discorea japonica* Thunb. fermented with *Monascus* 800 mg/kg. \*Significantly different from Nor vs HF at  $p < 0.05$  by *t*-tests. <sup>a-d</sup>Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

유의적으로 낮은 체중 증가량을 보였고( $p < 0.05$ ), 특히 참마보다 참마 홍국발효 고농도군에서 체중 감소에 유효한 효과를 보이는 것을 알 수 있었다( $p < 0.05$ ). Yoo & Shin(2012)의 연구에서는 5주간 고지방식이 유도한 마우스 실험 결과 고지방식이에 의하여 증가된 체중은 마(*Dioscorea batatas* D.) 추출물에 의하여 유의하게 낮은 체중증가를 볼 수 있었다. 홍국발효 참당귀 추출물에 의하여 고지방식이군보다 체중증가가 유의하게 감소하는 것을 볼 수 있었고 참당귀를 홍국발효 전과 후의 차이가 유의하게 보임으로써 홍국발효에 의하여 체중감소효과가 증가함을 보임으로써 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다(Kim 등 2018). 또한 홍삼분말 및 홍국발효홍삼분말을 투여한 군에서 고지방식이군에 비하여 7.3% 및 13.6% 감소함으로써 홍국발효에 의하여 체중감소효과가 증가하는 것을 볼 수 있었다(Cha 등 2009). 본 연구에서도 참마홍국발효가 참마보다 체중감소효과가 있음을 보였다.

실험기간동안 식이섭취량에 대한 체중증가율인 식이효율 변화 결과는 Fig. 1과 같다. 전체 군에서 식이섭취량 변화는 유의적으로 큰 차이를 보이지 않았지만 체중감소가 유의하게 일어남으로써 식이효율의 변화가 유의하게 나타남은 시험물질이 에너지대사를 촉진하는 것으로 판단된다. 식이효율은 고지방식이군(HF)이  $2.93 \pm 0.79$ 로 가장 높았고 양성대조군(PC)이  $0.27 \pm 0.62$ 로 고지방식이군(HF)에 비하여 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 참마군(UPD)의 식이효율 값은  $1.32 \pm 0.51$ , 참마 홍국 발효 저농도군(UPDM\_L)과 참마 홍국발효 고농도군(UPDM\_H)이 각각  $1.11 \pm 0.63$ ,  $0.91 \pm 0.13$ 으로 고지방식이군(HF)보다 유의적으로 낮았고( $p < 0.05$ ) 참마군에 비하여 참마홍국발효 고농도군에서 유의하게 감소함으로써( $p < 0.05$ ) 참마홍국발효는 식이효율에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 고지방식으로 비만 유도 후 마 추출물에 의한 연구(Yoo & Shin 2012)에서도 고지방식이군에서 높은 식이 효율이 마 추출물에 의하여 감소하였다. 체중증가율이 낮은 실험군에서 낮은 식이 효율을 보여 본 연구 결과와 유사하였다. 이는 참마 홍국발효 추출물을 첨가한 식이가 체중 감소에 도움을 주는 것으로 판단된다.

## 2. 장기무게 및 지방조직 무게

실험기간동안의 장기 무게 변화 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 정상식이군(Nor)에 비하여 고지방식이군(HF)은 심장, 간, 신장의 무게가 유의하게 비대해짐을 보이면서 지방간의 소견을 보였다( $p < 0.05$ ). 참마군, 참마홍국발효 실험군은 고지방식이군에 비하여 심장, 간, 신장의 무게는 감소하는 경향을 보였다. 특히 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L)과



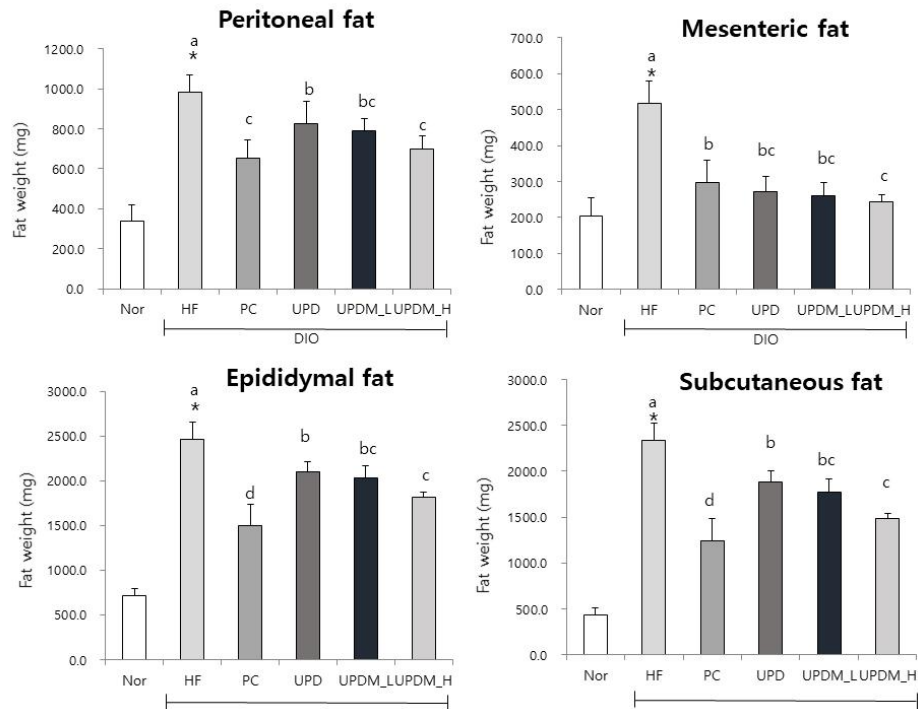
**Fig. 2. Changes in weight of organ and fat tissue in diet induced obesity model (DIO).** Groups are specified in Fig. 1. Each value represents the mean±S.D. \*Significantly different from Nor vs HF at  $p<0.05$  by  $t$ -tests. <sup>a-c</sup>Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

고농도군(UPDM\_H)의 간의 무게는 고지방식이군(HF)에 비하여 통계적으로 유의하게 감소함으로써( $p<0.05$ ) 참마홍국발효가 체중 및 지방간 저하에 더 효과적인 것으로 사료된다. 또한, 신장 지방(perirenal fat), 창자간막 지방(mesentric fat), 부고환 지방(epididymal fat), 피하 지방(subcutaneous fat) 무게에서도 전체 실험군에서 고지방식이에 의해 지방 무게가 유의하게 증가하였고( $p<0.05$ , Fig. 3) 참마군과 참마홍국발효군은 고지방식이군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하는 것을 보였다( $p<0.05$ ). 특히, 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)은 참마군(UPD)보다 신장지방, 창자간막지방, 부고환지방, 피하지방의 무게가 통계학적으로 유의하게 감소하는 것을 보였다( $p<0.05$ ). 이 결과는 참마보다 참마홍국발효가 장기 무게 및 지방조직무게 감소에 긍정적인 영향을 미치는 것을 확인함으로써 비만 예방 기능성 소재의 가치를 보였다고 판단된다. 마 추출물에 의한 연구(Yoo & Shin 2012)에서도 고지방식이군에 비하여 간의 비대현상이 감소하였고 부고환지방조직의 무게가 유의하게 감소함으로써 마 열수추출물이 체지방감소에 효과적이라고 하였다. 홍국에 있는 Monascin은 HMG-CoA의 단백질 발현을 감소시키고

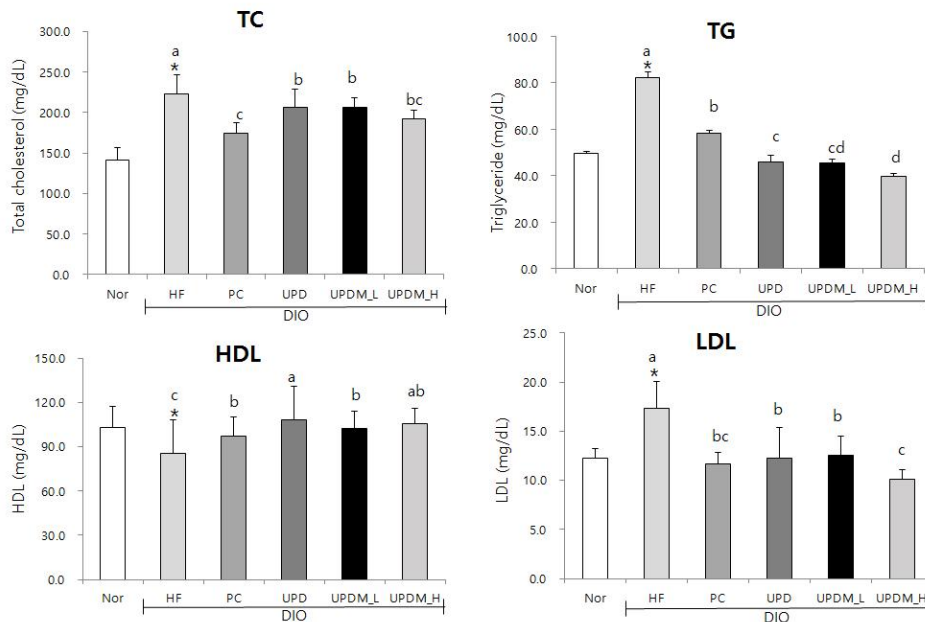
생체 내 콜레스테롤 합성을 억제하면서 체중 감소 혹은 혈중지질개선에 영향을 미친다고 보고하였다(Hu 등 2020). 본 연구에서 참마보다 참마홍국발효가 체중 감소에 더 효과적이었던 것은 홍국에 풍부한 Monacolin 계열 성분이 존재하기 때문인 것으로 사료된다. 또한 Lee 등(2006)의 연구에서는 마는 콜레스테롤 합성저해제인 monacolin-K와 항염증제인 monascin을 생성하는데 가장 좋은 기질이라고 하였다. 이는 알송이모자반 추출물을 급여한 Jang 등(2011)의 연구에서도 고지방식이군의 간, 신장의 중량이 정상식이군에 비해 약 8% 증가하였고 알송이모자반 추출물을 급여한 군의 장기 무게 증가량 및 지방조직 중량이 고지방식이군에 비해 감소하여 본 연구 결과와 유사하였다.

### 3. 혈중 생화학적 지표분석

심혈관계 질환의 진단지표인 혈중 지질농도 변화를 Fig. 4에 보여주듯이, 총콜레스테롤의 경우 고지방식이군(HF)은 정상식이군(Nor)에 비하여 유의하게 증가하였고, 참마군(UPD)과 참마홍국발효의 농도를 증가시킬수록 총 콜레스테롤이 고지방식이군(HF)보다 유의하게 감소하였다( $p<0.05$ ). 중성



**Fig. 3. Changes in weight of fat tissue in diet induced obesity model (DIO).** Groups are specified in Fig. 1. Each value represents the mean±S.D. \*Significantly different from Nor vs HF at  $p < 0.05$  by  $t$ -tests. <sup>a-d</sup>Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

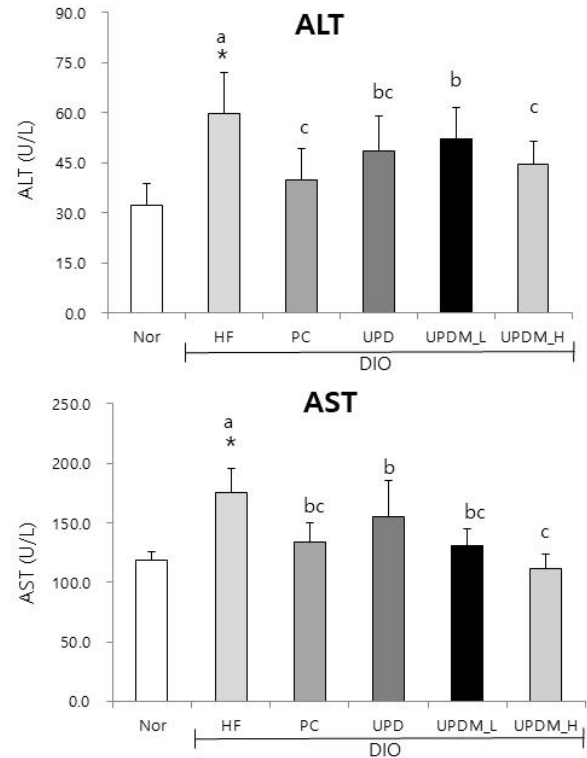


**Fig. 4. Changes in blood biochemistry in diet induced obesity model (DIO).** Groups are specified in Fig. 1. Each value represents the mean±S.D. TC: total cholesterol, TG: triglyceride, HDL: high density lipoprotein cholesterol, LDL: low density lipoprotein cholesterol. \*Significantly different from Nor vs HF at  $p < 0.05$  by  $t$ -tests. <sup>a-d</sup>Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.



지방의 경우 참마군(UPS), 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L)과 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)은 고지방식이군(HF)에 비하여 유의하게 낮은 값을 보였다( $p<0.05$ ). 또한, 참마군(UPD)과 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L), 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)의 경우 고지방식이군(HF)에 비하여 혈중 LDL 농도가 유의하게 감소함을 보여주었고( $p<0.05$ ) 특히, 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)은 참마군(UPD)에 비하여 유의하게 낮은 LDL 농도를 보였다( $p<0.05$ ). Kim 등(2018)의 연구에서도 정상식이군에 비해 고지방식이만을 섭취한 실험군에서 높은 중성지방과 콜레스테롤 농도를 보였고 홍국발효 참당귀 실험식이 투여로 인해 전반적인 혈중 지질 농도가 감소하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 보였다. 홍국발효홍삼 분말투여군에서 혈중 총콜레스테롤의 농도가 고지방식이섭취군에 비하여 유의하게 감소함으로 보였고 HDL-콜레스테롤의 농도가 유의하게 증가함으로 보였으며 홍국발효에 의하여 혈중지질의 농도변화를 보여주었다(Cha 등 2009). Zhou 등(2019)의 연구에서는 홍국균이 가지고 있는 *Monascus* 색소는 HMG-CoAR mRNA 발현을 억제해 콜레스테롤 감소에 영향을 미치며 Monascin과 Ankaflavin은 acyl coenzyme A-cholesterol acyltransferase(ACAT)를 저해시켜 LDL 콜레스테롤을 감소시킨다고 보고하였다. 따라서 홍국발효는 콜레스테롤 합성조절효소 활성을 감소시켜 콜레스테롤 농도를 감소시키는 가능성을 보였다.

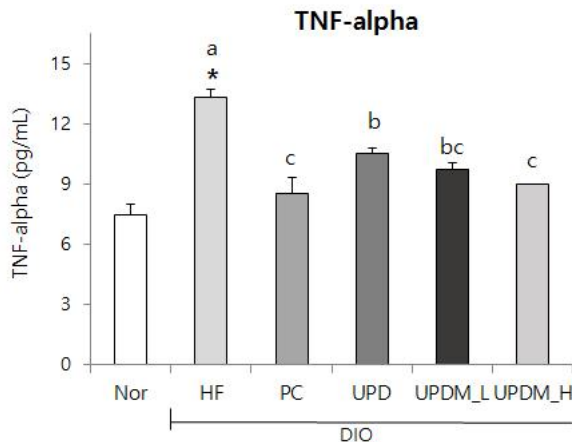
다양한 원인에 의하여 지방간 현상이 심해지면 간세포의 비정상적인 손상에 의하여 혈중 ALT, AST 효소가 방출되어 혈중 농도가 증가하게 된다. 혈중 ALT, AST 농도의 변화를 Fig. 5에 보여주듯이, 총ALT는 고지방식이군(HF)에서 정상식이군(Nor)보다 유의하게 증가하였고( $p<0.05$ ), 참마군과 참마홍국발효의 농도를 증가시킬수록 ALT 농도는 고지방식이군에 비하여 유의하게 감소하였다( $p<0.05$ ). 또한, 참마군(UPD)과 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L), 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)의 경우 고지방식이군(HF)에 비하여 혈중 ALT 농도가 유의하게 감소함을 보여주었다( $p<0.05$ ). AST는 고지방식이군(HF)에서 정상식이군(Nor)에 비하여 유의하게 증가하였고( $p<0.05$ ), 참마군과 참마홍국발효의 농도를 증가시킬수록 AST 농도는 고지방식이군(HF)에 비하여 유의하게 감소하였다( $p<0.05$ ). 또한, 참마군과 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L), 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)의 경우 고지방식이군에 비하여 혈중 AST 농도가 유의하게 감소함을 보여주었으며( $p<0.05$ ). 특히, 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)은 참마군에 비하여 유의하게 낮은 AST 농도를 보였다( $p<0.05$ ). 대부분의 간질환에서 ALT가 AST보다 유용하게 진단에 활용한다고 하였는데 본 실험의 결과 ALT, AST 농도가 고지방식에 의하여 증가하였다가 참마 혹은



**Fig. 5. Changes in alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in diet induced obesity model (DIO).** Groups are specified in Fig. 1. Each value represents the mean±S.D. \*Significantly different from Nor vs HF at  $p<0.05$  by *t*-tests. <sup>a-c</sup>Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

참마 홍국발효에 의하여 유의하게 감소함으로써 간질환개선에 참마 및 참마홍국발효의 효용성을 보여주었다. 마 추출물에 의한 연구(Yoo & Shin 2012)에서도 고지방식이군에서 상승한 GPT와 GOT의 농도가 마 추출물에 의하여 유의하게 감소함으로써 마 열수추출물이 간기능 손상 및 지방간증의 보호작용이 있다고 보고하였다.

TNF- $\alpha$ 의 결과는 Fig. 6에 보여주듯이 고지방식에 의해 유의하게 증가한 수치가 참마 혹은 참마홍국발효 처리에 의해 유의적으로 감소하는 결과를 나타내었고( $p<0.05$ ), 특히, 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)이 참마군(UPD)과 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L)보다 낮아 참마홍국발효 농도가 증가할수록 TNF- $\alpha$ 의 발현 저해능이 높아지는 것으로 사료된다. 홍국의 monacolin K가 염증 반응 촉진제인 NF- $\kappa$ B를 차단하고 TNF- $\alpha$ 의 발현을 저해하여 항염증 효과를 보인다고 하였다(Choi 등 2018). 또한 홍국발효마가 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 생성을 유의하게 억제하면서 COx-2와 iNOS의 발



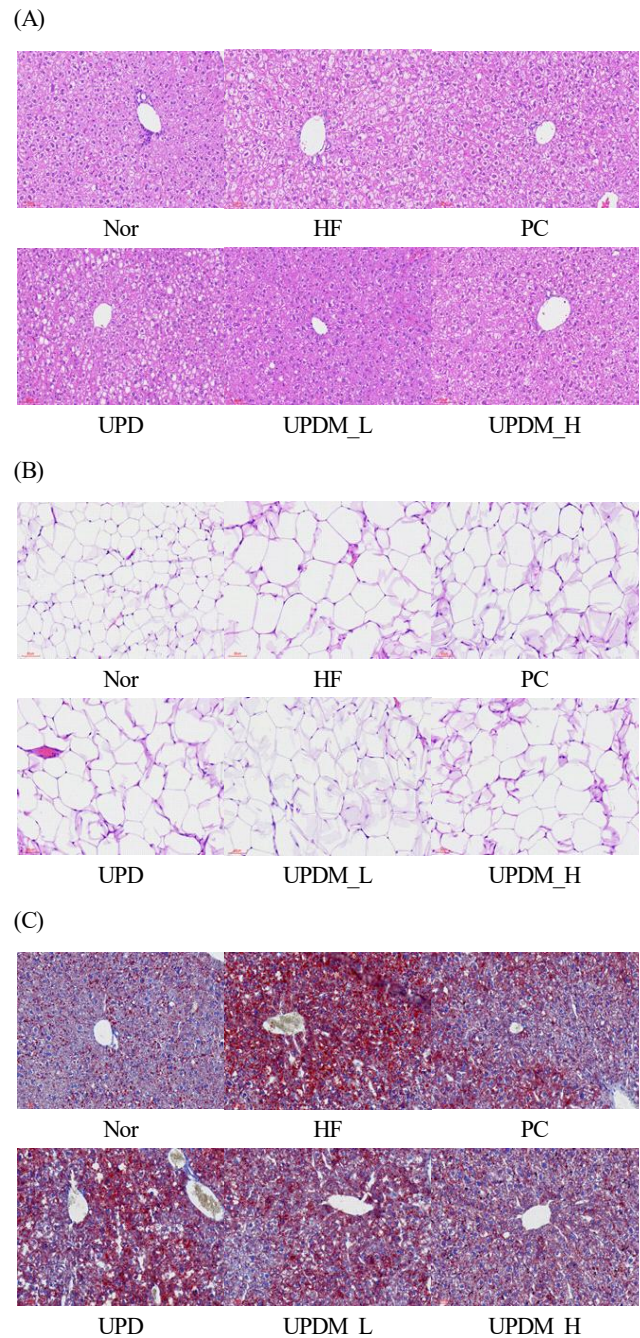
**Fig. 6. Changes in blood TNF- $\alpha$  in diet induced obesity model (DIO).** Groups are specified in Fig. 1. Each value represents the mean $\pm$ S.D. TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor- $\alpha$ . \*Significantly different from Nor vs HF at  $p < 0.05$  by  $t$ -tests. <sup>a-c</sup>Means indicated with different letters are significantly different among DIO groups at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

현을 하향 조절하면서 항염증효과 혹은 관절염치료에 효과가 있다고 보고하였다(Kim 등 2004). 본 연구에서 참마홍국발효군에서 높은 TNF- $\alpha$ 의 발현 저해능을 보인 것은 monacolin 계열 성분에 기인한 것으로 판단된다.

#### 4. 간 및 지방 조직의 조직학적 관찰

간과 지방 조직의 H&E stain과 Oil Red O 염색 결과는 Fig. 7에 나타내었다. H&E stain 결과 고지방식이군(HF)의 간 소엽 구조의 분자배열성 상실에 의하여 지방축적현상이 일어나면서 지방간 현상이 일어나면서 붉은색 정도가 진하게 보이는 것을 관찰할 수 있었고, 참마군(UPD)과 참마홍국발효군에서 붉은색이 희미하게 관찰되었다. 이는 간 조직 내에 지질 침착현상을 참마 혹은 참마홍국발효가 억제하는 것임을 보였다. 이 결과는 고지방식이에 의하여 간세포 내 지방 축적이 비정상적으로 나타난 Ryu 등(2011)의 결과와도 유사하였다. 또한 참마군(UPD)에 비하여 참마홍국발효(UPDM)는 지방구의 크기가 감소하면서 지방 세포의 지방 축적 현상을 방해함을 관찰하였다.

간 조직에 축적된 지방구는 Oil Red O stain에 의하여 붉은색으로 염색되는데 고지방식이군(HF)은 붉은색이 광범위하게 퍼져있음을 보이면서 지방축적이 많이 일어남을 볼 수 있었다. 참마홍국발효를 고농도 투여한 군에서는 지방구의 붉은 염색 정도가 감소하면서 지방이 축적되는 현상을 억제함을 보여주었다. 본 연구에서는 참마군(UPD)과 참마홍국발효



**Fig. 7. Histological change of hepatic tissue (A), epididymal fat tissue (B) by H&E stained and hepatic tissue (C) using Oil red O stain for the male C57BL/6 mice ( $\times 200$ ).** Groups are specified in Fig. 1.

저농도군(UPDM\_L)보다 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)이 붉은 정도가 감소함을 보여주면서 참마홍국발효가 참마보다 간 조직의 지방 축적 억제현상을 보여주었다.



## 요약 및 결론

본 연구는 C57BL/6J 마우스를 고지방식으로 4주간 비만을 유도하여 참마와 참마홍국발효의 섭취에 의한 체중증가, 식이효율, 장기무게 변화, 지방조직의 무게 변화, 혈중 지질의 변화, 간과 지방의 조직학적 변화를 분석하였다. 참마균(UPD)과 참마홍국발효균(UPDM)의 항비만효과를 보기 위하여 양성대조군으로 orlistat라는 식이 지방의 흡수를 방해하여 체중 감소를 유도하는 약물을 사용하였다. 참마균(UPS), 참마홍국발효 저농도군(UPDM\_L) 및 참마홍국발효 고농도군(UPDM\_H)에서 고지방식이군(HF)에 비하여 체중 증가 억제효과가 유의하게 감소하였다. 참마균보다 참마홍국발효 고농도군에서 더 효과적인 체중 감소, 간 무게 감소, 부고환 지방과 피하지방의 무게 감소 현상이 관찰되었다. 또한, 참마홍국발효 고농도군에서 혈중 중성지방 및 LDL 농도의 감소, ALT와 AST 농도 감소, 간조직 및 지방조직의 지방 축적 억제 효과를 관찰함으로써 참마홍국발효의 항비만 및 대사증후군 개선에 중요한 기능성소재로서의 역할을 할 것으로 기대한다.

## References

- Cardel MI, Atkinson MA, Taveras EM, Holm JC, Kelly AS. 2020. Obesity treatment among adolescents: A review of current evidence and future directions. *JAMA Pediatr* 174:609-617
- Cardiff RD, Miller CH, Munn RJ. 2014. Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harb Protoc* 2014:655-658
- Cha JY, Park JC, Ahn HY, Eom KE, Park BK, Jun BS, Lee CH, Cho YS. 2009. Effect of *Monascus purpureus*-fermented Korean red ginseng powder on the serum lipid levels and antioxidative activity in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:1153-1160
- Chen HL, Wang CH, Chang CT, Wang TC. 2003. Effects of Taiwanese yam (*Dioscorea japonica* Thunb var. *pseudojaponica* Yamamoto) on upper gut function and lipid metabolism in Balb/c mice. *Nutrition* 19:646-651
- Choi HW, Shin PG, Lee JH, Choi WS, Kang MJ, Kong WS, Oh MJ, Seo YB, Kim GD. 2018. Anti-inflammatory effect of lovastatin is mediated via the modulation of NF- $\kappa$ B and inhibition of HDAC1 and the PI3K/Akt/mTOR pathway in RAW264.7 macrophages. *Int J Mol Med* 41:1103-1109
- Choi MJ, Yu TS. 2005. Effects of red-yeast-rice supplementation on blood lipids and relations among cholesterol, bone markers, and hormones in ovariectomized rats. *J East Asian Soc Diet Life* 15:264-270
- Heal DJ, Aspley S, Prow MR, Jackson HC, Martin KF, Cheetham SC. 1998. Sibutramine: A novel anti-obesity drug. A review of the pharmacological evidence to differentiate it from d-amphetamine and d-fenfluramine. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22:S18-S28
- Hong H, Park J, Lumbera WL, Hwang SG. 2017. *Monascus ruber*-fermented buckwheat (red yeast buckwheat) suppresses adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J Med Food* 20:352-359
- Hou WC, Hsu FL, Lee MH. 2002. Yam (*Dioscorea batatas*) tuber mucilage exhibited antioxidant activities *in vitro*. *Planta Med* 68:1072-1076
- Hou WC, Lee MH, Chen HJ, Liang WL, Han CH, Liu YW, Lin YH. 2001. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. *J Agric Food Chem* 49:4956-4960
- Hsu WH, Lee BH, Pan TM. 2010. Protection of *Monascus*-fermented dioscorea against DMBA-induced oral injury in hamster by anti-inflammatory and antioxidative potentials. *J Agric Food Chem* 58:6715-6720
- Hu J, Wang J, Gan Q, Ran Q, Lou G, Xiong H, Peng C, Sun J, Yao R, Huang Q. 2020. Impact of red yeast rice on metabolic diseases: A review of possible mechanisms of action. *J Agric Food Chem* 68:10441-10455
- Jang SM, Noh SH, Park SD. 1999. Botany of Herbal Medicine Resources. pp.299-300. Hakmun
- Jang YJ, Kwon SO, Yeo KM, Hong MJ, Kim BN, Han D. 2011. Anti-obesity effect of *Sargassum confusum* ethanol extract in obese rats. *Korean J Food Sci Technol* 43:189-194
- Jeong EJ, Kim KP, Bang BH. 2013. Quality characteristics of cookies added with hongkuk powder. *Korean J Food Nutr* 26:177-183
- Kim EY, Rhyu MR. 2008. Antimicrobial activities of *Monascus koji* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 40:76-81
- Kim MW. 2001. Effects of H<sub>2</sub>O-fraction of *Dioscorea japonica* Thunb. and selenium on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 17:344-352

- Kim MW, Lim SJ. 2000. The effect of *Dioscorea japonica* Thunb. subfractions on blood glucose levels and energy metabolite composition in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Nutrition and Health* 33:115-123
- Kim MJ, Kim HN, Kang KS, Baek NI, Kim DK, Kim YS, Kim SH, Jean BH. 2004. Methanol extract of *Dioscoreae Rhizoma* inhibits pro-inflammatory cytokines and mediators in the synoviocytes of rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol* 4:1489-1497
- Kim RH, Lee SC, Kim GN. 2020. Effect of banana (*Musa acuminata* Colla) peel extract on the anti-adipogenic activity in 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 49:1335-1341
- Kim SA, Choi SC, Youn YH, Ko CI, Ha YS, Lee IA. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Dioscorea japonica* and *Chenopodium album*. *J Soc Cosmet Sci Korea* 43:337-347
- Kim SH, Park BW, Kim JH. 2015. Quality characteristics of tarakjuk (milk porridge) prepared with red yeast-rice. *Korean J Food Nutr* 28:313-319
- Kim YW, Kim TH, Sim SY, Ahn HY, Park KR, Kim JW, Cho YS. 2018. Effects of extracts of *Monascus*-fermented *Angelica gigas* Nakai in high-fat diet-induced obesity in rats. *J Life Sci* 28:58-67
- Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology. 2015. *Monascus* strain suitable for liquid fermentation of ultra finely pulverized substrate and uses thereof. Korea Patent 10-1542909
- Lee BH, Hsu WH, Liao TH, Pan TM. 2012. Inhibition of leukemia proliferation by a novel polysaccharide identified from *Monascus*-fermented *dioscorea* via inducing differentiation. *Food Funct* 3:758-764
- Lee CL, Wang JJ, Kou SL, Pan TM. 2006. *Monascus* fermentation of *dioscorea* for increasing the production of cholesterol-lowering agent—monacolin K and antiinflammation agent—monascin. *Appl Microbiol Biotechnol* 72:1254-1262
- Lee CL, Wen JY, Hsu YW, Pan TM. 2013. *Monascus*-fermented yellow pigments monascin and ankaflavin showed antiobesity effect via the suppression of differentiation and lipogenesis in obese rats fed a high-fat diet. *J Agric Food Chem* 61:1493-1500
- Lee MS, Kang SA. 2018. Improved effects of fermented Stockfish of Alaska pollack skin (FSAP H-I, II) on adiposity and serum lipids levels in high fat-induced obese mouse. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:1059-1068
- Li M, Cheung BMY. 2009. Pharmacotherapy for obesity. *Br J Clin Pharmacol* 68:804-810
- Mohankumari HP, Naidu KA, Narasimhamurthy K, Vijayalakshmi G. 2021. Bioactive pigments of *Monascus purpureus* attributed to antioxidant, HMG-CoA reductase inhibition and anti-atherogenic functions. *Front Sustain Food Syst* 5590427
- Oh MH, Houghton PJ, Whang WK, Cho JH. 2004. Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. *Phytomedicine* 11:544-548
- Park JC, Cha JY, Lee CH, Doh ES, Kang IH, Cho YS. 2009. Biological activities and chemical characteristics of *Monascus*-fermented Korean red ginseng. *J Life Sci* 19:1553-1561
- Park JH, Guo L, Kang HM, Son BG, Kang JS, Lee YJ, Park YH, Je BI, Choi YW. 2021. Leaves of *Cudrania tricuspidata* on the shoot positional sequence show different inhibition of adipogenesis activity in 3T3-L1 cells. *J Life Sci* 31:209-218
- Riva G, Villanova M, Cima L, Ghimenton C, Bronzoni C, Colombari R, Crestani M, Sina S, Brunelli M, D'Errico A, Montin U, Novelli L, Eccher A. 2018. Oil red O is a useful tool to assess donor liver steatosis on frozen sections during transplantation. *Transplant Proc* 50:3539-3543
- Ryu HJ, Um MY, Ahn JY, Jung CH, Huh D, Kim TW, Ha TY. 2011. Anti-obesity effect of *hypsizigus marmoreus* in high fat-fed mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:1708-1714
- Sharma AM, Caterson ID, Coutinho W, Finer N, Van Gaal L, Maggioni AP, Torp-Pedersen C, Bacher HP, Shepherd GM, James WPT, SCOUT Investigators. 2009. Blood pressure changes associated with sibutramine and weight management - An analysis from the 6-week lead-in period of the sibutramine cardiovascular outcomes trial (SCOUT). *Diabetes Obes Metab* 11:239-250
- World Health Organization [WHO]. 2017. The statistics of obesity. Available from [https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1) [cited 10 March 2021]
- Xue YL, Miyakawa T, Nakamura A, Hatano K, Sawano Y,

- Tanokura M. 2015. Yam tuber storage protein reduces plant oxidants using the coupled reactions as carbonic anhydrase and dehydroascorbate reductase. *Mol Plant* 8:1115-1118
- Yoo HS, Shin KS. 2012. Effect of yam extract on body weight levels and serum lipid profiles in C57BL/6J mice fed a high fat diet. *J East Asian Soc Diet Life* 22:231-238
- Zhou W, Guo R, Guo W, Hong J, Li L, Ni L, Sun J, Liu B, Rao P, Lv X. 2019. *Monascus* yellow, red and orange pigments from red yeast rice ameliorate lipid metabolic disorders and gut microbiota dysbiosis in Wistar rats fed on a high-fat diet. *Food Funct* 10:1073-1084
- Zhu B, Qi F, Wu J, Yin G, Hua J, Zhang Q, Qin L. 2019. Red yeast rice: A systematic review of the traditional uses, chemistry, pharmacology, and quality control of an important Chinese folk medicine. *Front Pharmacol* 10:1449
- 
- Received 27 September, 2021  
Revised 05 October, 2021  
Accepted 12 October, 2021