

발 간 번 호

11-1541000-001757-01

팥의 대사성질환 개선 및 기능성 규명  
(Anti-metabolic diseases activity of *Vigna nakashimae*)

농림축산식품자료실



0022866

농림수산식품부

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “팥의 대사성질환 개선 및 기능성 규명”에 관한 연구의 최종보고서로 제출합니다.

2013년 2월 11일

연구기관명 : 부산대학교

# 연 구 진

연구기관명 : 부산대학교

연구책임자 : 정명호

연 구 원 : 손용해

연 구 원 : 장민경

# 요 약 문

## I. 제 목

- 팔의 대사성질환 개선 및 기능성 규명

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 팔의 대사성질환 개선 소재 발굴과 그 기능성을 과학적으로 증명하기 위해, 팔의 당뇨, 비만 및 비알코올성 지방간질환의 개선과 이에 관련된 분자적 기전을 세포 및 동물모델에서 규명하고자 하였다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

- 농진청에서 재배한 팔 (*Vigna nakashimae* IT17864)의 추출물 (total extract, water 층, organic 층)이 당뇨, 비만, 비알코올성지방간질환에 대한 개선 효능이 있는지를 알기위해, 1) 세포수준에서 각 질환의 분자적 표적들 (당뇨: AMPK 활성화, PPAR $\gamma$  활성화, 염증 및 스트레스 억제, 비만 : 지방세포분화 저해, 비알코올성 지방간질환 : 지방축적관련 대사 조절 효소, 지방합성 조절 신호등)을 측정하였고, 또한 in vivo (질환모델 동물, HFD mice 및 *db/db*)에서 그 기능성을 검증하였다.

## IV. 연구개발결과

- 팔의 항비만 기능성 규명

- 팔 추출물은 지방세포의 분화에 필수적인 PPAR $\gamma$ 의 발현을 억제하고 지방세포분화를 저해하는 것으로 알려진 AMPK의 활성을 촉진함으로써 지방세포 3T3-L1 세포의 분화를 억제하였다.
- 팔추출물은 HFD로 비만을 유도한 mice에서 HFD로 인한 체중 및 지방조직의 무게증가를 감소시켰으며, 지방세포의 크기도 감소시켜 항비만의 효능을 확인하였다. 또한 팔추출물은 비만으로 인해 증가하는 혈중 지질, free acid, inflammatory cytokine TNF $\alpha$ , IL-6을 감소시켰으며, 비만에 의해 감소하는 adiponectin의 양은 증가시켰다.
- 팔추출물을 식이한 HFD mice의 지방조직에서 PPAR $\gamma$ 의 발현억제와 AMPK 활성촉진을 확인하였다.

- 팔의 비알코올성 지방간 개선 기능성 규명

- HFD로 유도한 지방간 mice에서 팔 추출물은 HFD로 인해 증가하는 간무게, 간조직에서의 fat accumulation, triglyceride양을 감소시켜 지방간 개선 효능을 나타내었다
- 팔 추출물은 지방간을 억제함으로써 HFD로 인한 간 독성, 간조직에서의 염증생성 및 산화적스트레스 (oxidative stress)를 억제하였다.
- 팔추출물은 LXR-SREBP-1c의 pathway을 저해하여 hepatic lipogenesis을 억제하였다.

○ 팔의 항당뇨 기능성 규명

- 팔추출물은 이미 알려진  $\alpha$ -glucosidase inhibitor로서의 활성이외에 인슐린저항성과 관련된 분자적 표적 즉 AMPK 활성을 촉진하고, 항염증 및 ER stress을 억제함으로써 항당뇨 효능을 나타냄을 확인하였다.
- 팔추출물은 골격근육세포 C2C12에서 glucose uptake를 증가시키고, 간세포 HepG2에서는 gluconeogenic genes의 발현을 억제하여 glucose production을 억제하였다. 또한 팔추출물은 ER stress에 의한 insulin signaling 억제를 개선시켰다
- 팔추출물 (water층과 organic 층 extract)의 항당뇨효능을 *db/db* mice에서 검증하였다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 연구성과

- 팔의 항비만 효능에 관한 연구결과를 SCI저널인 Biosci. Biotechnol. Biochem. (77:332-338, 2013)에 발표하였음
- 팔의 지방간개선에 관한 연구결과를 SCI저널에 투고예정

○ 성과활용 계획

- 팔의 대사성질환 개선에 관한 기능성 홍보에 활용
- 팔의 기능성식품으로서의 개발에 활용
- 대사성질환 개선 성분을 규명함으로써 대사성질환 의약품소재 개발에 활용

## SUMMARY

### (영문요약문)

In this study, we evaluated the antiobesity effects of *Vigna nakashimae* (VN) extract and elucidated the underlying mechanisms. VN extract suppressed adipocyte differentiation and significantly attenuated the expression of adipogenic genes in 3T3-L1 cells. It decreased the expression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) and its target genes in fully differentiated 3T3-L1 cells. Moreover, it enhanced the phosphorylation of AMP-activated protein kinase (AMPK) and acetyl CoA carboxylase (ACC), and increased the expression of fatty acid oxidation genes. In high-fat diet (HFD) fed mice, VN extract suppressed HFD-induced increases in body weight, epididymal fat tissue weight, and hepatic lipid levels, and decreased the plasma levels of triacylglycerols, fatty acid, total cholesterol, and inflammatory cytokines. Consistently with *in vitro* study results, VN extract prevented HFD-induced increases in the expression of PPAR $\gamma$  and its target genes, and restored the decrease in the phosphorylation of AMPK and ACC in epididymal fat and liver tissues. These findings suggest that *Vigna nakashimae* prevents obesity through suppression of PPAR $\gamma$  expression and activation of AMPK, and that it might be a useful dietary supplement for the prevention of obesity.

Furthermore, we investigated the potential of VN extract to inhibit high fat diet (HFD)-induced hepatic steatosis and underlying mechanism. VN extract treatment attenuated fat accumulation and induction of lipogenic genes in the liver of HFD-fed mice. Blood biochemical analyses and histopathologic examinations showed that VN extract prevented liver injury with the inhibition of oxidative stress, as evidenced by thiobarbituric acid reactive substances formation and nitrotyrosinylation. Moreover, VN extract treatment inhibited LXR $\alpha$  agonist (T0901317)-mediated SREBP-1c activation. VN extract was found to activate AMP-activated protein kinase (AMPK). Our results demonstrate that VN extract has an effect of activating AMPK, contributing to the prevention of SREBP-1c-mediated hepatic lipogenesis via the inhibition of LXR $\alpha$  activity.

We also investigated antidiabetic activity of VN extract. While VN extract activated AMPK in C2C12 cells, it inhibited TNF- $\alpha$ -stimulated IKK $\beta$ /NF $\kappa$ B signaling and attenuated ER stress in HepG2 cells. The db/db mice treated with the extract showed reduced fasting blood glucose and HbA1c levels, and significantly decreased plasma free fatty acid, triglyceride and total cholesterol.

## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 팔의 대사성질환 개선 및 기능성 규명		
	(영문) Anti-metabolic diseases activity of <i>Vigna nakashimae</i>		
연 구 기 관	부산대학교 산학협력단	연 구 자	(소속) 부산대학교
참 여 기 관	부산대학교	책 임 자	(성명) 정명호
연 구 비	계	130,000,000 (원)	총 연 구 기 간 2011. 12. 30.~ 2012. 12. 29 ( 1년 0월)
참 여 연 구 원	3명 (연구책임자: 1 명, 연구원: 2명)		
<p><input type="checkbox"/> 연구개발 목표 및 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 팔의 대사성질환 개선 소재 발굴과 그 기능성을 과학적으로 증명하기 위해, 팔의 당뇨, 비만 및 비알코올성 지방간질환의 개선과 이에 관련된 분자적 기전을 세포 및 동물모델에서 규명하고자 하였다.</li> </ul> <p><input type="checkbox"/> 연구결과</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 팔의 항비만 기능성 규명           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 팔 추출물은 지방세포의 분화에 필수적인 PPAR<math>\gamma</math>의 발현을 억제하고 지방세포분화를 저해하는 것으로 알려진 AMPK의 활성을 촉진함으로써 지방세포 3T3-L1 세포의 분화를 억제하였다. 또한 팔추출물은 HFD로 비만을 유도한 micce에서 HFD로 인한 체중 및 지방조직의 무게증가를 감소시켰으며, 지방세포의 크기도 감소시켜 항비만의 효능을 확인하였다. 한편 팔추출물은 비만으로 인해 증가하는 혈중 지질, free acid, inflammatory cytokine TNF<math>\alpha</math>, IL-6을 감소시켰으며, 비만에 의해 감소하는 adiponectin을 증가시켰다.</li> </ul> </li> <li>○ 팔의 비알코올성 지방간 개선 기능성 규명           <ul style="list-style-type: none"> <li>- HFD로 유도한 지방간 mice에서 팔 추출물은 HFD로 인해 증가하는 간무게, 간조직에서의 fat accumulation, triglyceride양을 감소시켜 지방간 개선 효능을 나타내었다. 또한 팔 추출물은 지방간을 억제함으로써 HFD로 인한 간 독성, 간조직에서의 염증생성 및 산화적스트레스 (oxidative stress)를 억제하였다. 팔추출물은 LXR-SREBP-1c의 pathway을 저해하여 hepatic lipogenesis을 억제하였다.</li> </ul> </li> <li>○ 팔의 항당뇨 기능성 규명           <ul style="list-style-type: none"> <li>- 팔추출물은 이미 알려진 <math>\alpha</math>-glucosidase inhibitor로서의 활성이외에 인슐린저항성과 관련된 분자적 표적 즉 AMPK 활성을 촉진하고, 항염증 및 ER stress을 억제함으로써 항당뇨효능을 나타냄을 확인하였다.</li> </ul> </li> </ul> <p><input type="checkbox"/> 연구성과 및 성과활용 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 팔의 대사성질환 개선에 관한 기능성 홍보에 활용 - 팔의 기능성식식품으로서의 개발에 활용 - 대사성질환 개선 성분을 규명함으로써 대사성질환 의약품소재 개발에 활용</li> </ul>			

## 1. 연구의 필요성

- 예로부터 팔은 팔의 다양한 효능 때문인데 팔을 즐겨 먹었음. 특히 팔은 탄수화물과 단백질이 풍부한 영양식품으로, 지질, 칼슘, 인, 철분, 비타민A, 비타민 B1, 비타민 B2 등도 함유하고 있음. 팔은 주로 죽이나 떡, 양갱 등 별식으로 많이 먹으며, 팔물에 칼국수를 넣어 끓인 팔칼국수도 많이 해먹음. 팔은 질병이나 귀신을 쫓는 식품으로도 알려져 있어 동짓날 팔죽을 쑤어 먹는 것도 팔을 통한 질병이나 귀신을 쫓기 위한 것으로 알려짐
- 또한 팔은 문헌적으로나 전통적으로 암과 성인병의 예방이나 치료등에 효능이 있음이 알려져 왔으나 이러한 기능성에 대한 과학적인 data가 부족하여 팔의 우수성과 유효성이 많이 입증되지 못하였음
- 특히 당뇨, 비만, 비알코올성 지방간질환등은 최근 사회적인 구조 변화와 식습관의 변화로 인해 급증하는 대사성질환으로 사회적으로 매우 심각함
- 팔이 이러한 대사성질환에 대한 효능이 알려져 있음에도 불구하고 그 기능에 대한 과학적인 검증이 부족하여 팔로부터 대사성질환 소재 및 식품을 개발하려는 연구가 많이 이루어지지 않았음.
- 그러므로 팔을 원료로 하는 식품개발로 한식세계화를 이루기 위해서는 우선 우리나라에서 개발한 팔이 우수한 질병개선 기능성을 가짐을 증명하는 연구가 시도되어야 함. 그러나 현재까지 팔의 대사성질환 개선 기능성 연구는 많이 이루어지지 않았으며 특히 비만 및 지방간 개선에 대한 기능성 연구는 보고되지 않았음.
- 따라서 본 연구는 한국에서 야생으로 재배한 야생팔 (Vigna nakashimae IT17864)의 대사성질환 개선 및 기능성을 규명하여, 팔을 원료로 하는 식품을 개발하여 한식의 유용성과 우수성을 나타내는데 과학적 data를 제공하고자 함

## 2. 연구의 목적

- 본 연구에서는 팔의 대사성질환 개선 및 기능성을 규명하여 팔의 효능성과 우수성 증명하기 위해 농진청에서 야생으로 재배한 팔의 1) 인슐린저항성 개선, 2) 비만의 예방 및 개선 3) 비알코올성지방간 개선의 효능을 과학적으로 증명하고 이에 관련한 분자적 기전을 밝힘



### 3. 연구결과

---

#### 연구내용 1 : 팥 추출물의 분리

---

- 팥의 total extract : 농촌진흥청 식량과학 연구원 (밀양)에서 야생으로 재배한 팥 (*Vigna nakashimae* IT17864)을 grinder로 간 다음 80% 메탄올로 추출한 후 동결건조하여 실험에 사용함 (total extract)
- 팥의 total extract를  $\text{CHCl}_3$ 으로 다시 추출하여 water 층과 organic 층 ( $\text{CHCl}_3$ )으로 분리하여 실험에 사용함
- 따라서 본 실험에 사용한 팥추출은 80% ethanol로 추출한 total extract (T로 명명), 그리고 Water 층 (W), organic 층 (O)으로 모두 농진청으로부터 제공받아 실험에 사용하였음

---

#### 연구내용 2 : 팥 추출물의 비만개선 및 기능성 규명

---

##### (1) 팥 추출물 (total extract)의 비만 개선 기능성 규명

###### 1) 세포수준에서 팥 추출물 (total 추출물)의 항비만 분자적 활성 측정

- Total extract의 지방세포 분화 억제 영향 측정
  - Total extract가 지방세포의 분화를 억제하여 항비만의 효능을 나타내는지 알기 위해 지방세포 3T3-L1 분화를 측정하였다. 이를 위해 total extract을 농도별 (10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 첨가하여 preadipocyte 3T3-L1을 분화 medium으로 분화시킨 후 분화정도를 Oil red O-staining, 3T3-L1 세포내 TG (triacylglyceride) 양 측정 및 지방세포 분화관련 유전자의 발현을 측정하였다.
  - Total extract (VN)은 Fig.1에서 보는바와 같이 농도 의존적으로 3T3-L1 세포의 분화를 억제하였다.
  - 이를 확인하기위해 3T3-L1 세포내 TG (triacylglyceride) 양을 측정하였을 때에도 total extract은 3T3-L1 세포내 TG의 양을 농도 의존적으로 감소시켰으며 (Fig. 2)
  - 또한 total extract의 지방세포분화관련 유전자들의 발현 억제 영향을 측정하였을 때, total extract은 지방세포분화의 master regulator인 PPAR $\gamma$  및 FAS, aP2의 발현을 억제하였다. (Fig. 3)
  - 따라서 total extract은 지방세포의 분화를 억제하였으며, 이는 항비만 효능의 주요기전으로 작용할 것임을 알 수 있었음

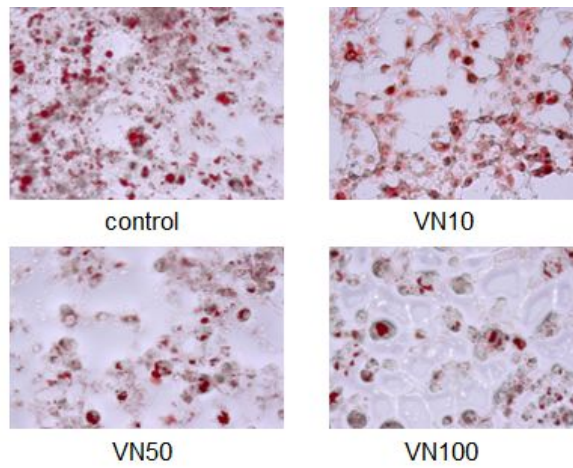


Fig.1. Effect of VN extract on differentiation of 3T3-L1 cells (Oil red staining)

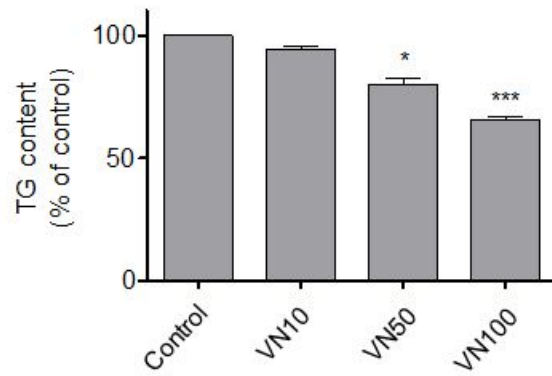


Fig.2. Effect of VN extract on accumulation of TG in 3T3-L1 cells

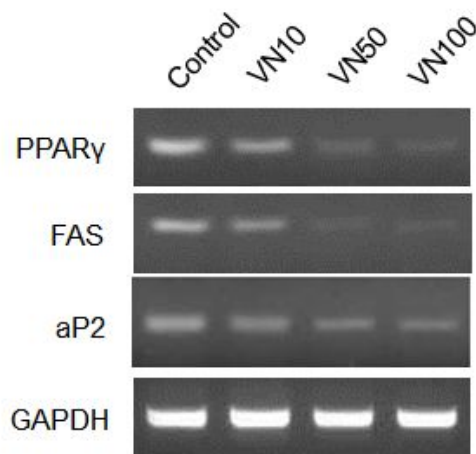


Fig.3. Effect of VN extract on expression of adipogenesis-related genes in 3T3-L1

- Total extract의 지방세포 분화 억제에 관련된 분자적 기전 분석
  - Total extract이 i) 지방세포분화에 필수적인 PPAR $\gamma$ 의 발현을 억제하여 지방세포의 분화를 억제하는지 ii) 지방세포의 분화를 억제하는 것으로 알려진 AMP-activated protein kinase (AMPK)의 활성을 촉진하여 지방세포의 분화를 억제하는지를 측정하였음
- 먼저 total extract가 PPAR $\gamma$ 의 발현을 억제하는지를 알기 위해 분화를 시킨 3T3-L1 세포에 추출물을 농도별로 첨가하여 PPAR $\gamma$  및 PPAR $\gamma$ 의 target 유전자 (FAS 및 aP2)의 발현을 측정하였다. 아래의 그림에서 보는바와 같이 total extract은 PPAR $\gamma$  및 PPAR $\gamma$ 의 target 유전자 (FAS 및 aP2)의 발현을 억제하였다. (Fig. 4)

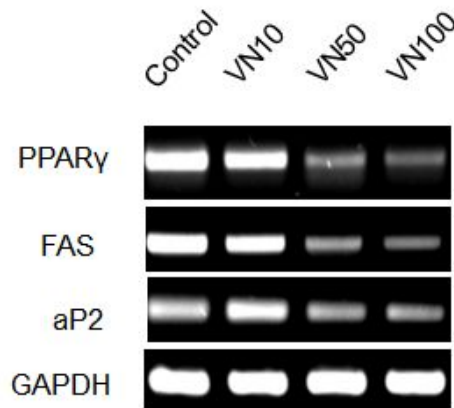


Fig.4. Effect of VN extract on expression of PPAR $\gamma$  and its target genes in differentiated 3T3-L1

- Total extract이 또한 AMPK의 활성을 촉진하는지를 알기 위해, 분화시킨 3T3-L1 세포에 추출물을 농도별로 첨가하여 AMPK의 활성화 (phosphorylated AMPK)와 AMPK의 downstream gene들의 발현을 측정하였다. 그 결과 total extract은 phosphorylated AMPK와 AMPK의 downstream 유전자인 (FAS 및 aP2)의 발현을 증가시켰다 (Fig. 5)

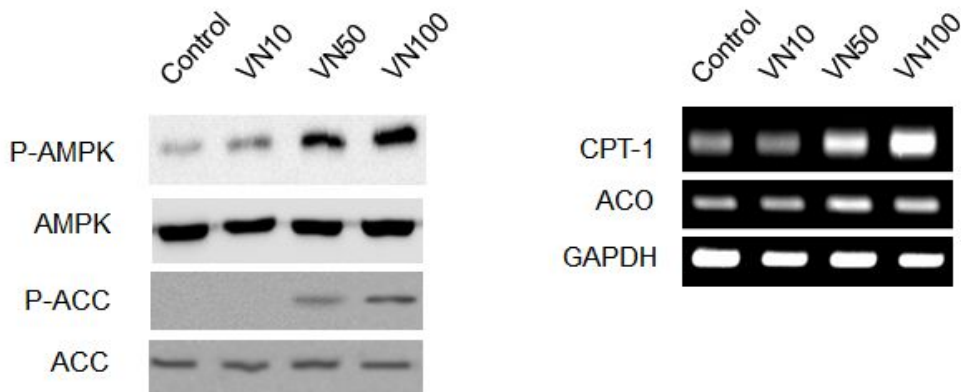


Fig.5. Effect of VN extract on AMPK activation and its downstream genes in differentiated 3T3-L1

- 이상의 결과로 팔추출물은 PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성화를 통해 지방세포의 분

화를 억제하였다.

## 2) in vivo에서 팥 추출물 (total extract)의 항비만 효능 검증 및 분자적 기전 확인

- Total extract이 비만동물에서 항비만 효능을 나타내는지 확인하기 위해 high fat diet (HFD)로 비만을 유발한 쥐에 total extract을 농도별로 주입한 후 항비만 효능을 측정하였다. 또한
- 이 동물에서 항비만의 분자적 활성화 (PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성화 촉진)을 지방조직에서 확인하였다.

### □ in vivo에서 total extract의 항비만 효능 검증

- C57BL/6 mice을 구입한 후 normal chow diet control (distilled water-treated) group, high-fat diet (distilled water-treated) group, high-fat diet (VN 300 mg/kg of body weight) group, 그리고 high-fat diet (VN 500 mg/kg of body weight) group으로 분류한 다음, 40일동안 식이한 후 항비만 효능 (체중 및 지방조직 무게 및 형태 측정, 혈액에서 항비만관련 생화학적 인자 측정)을 측정하였다.
- Fig. 6에서 보는바와 HFD로 인한 몸무게증가는 최초의 144% 증가하였으나 total extract를 식이한 300 mg/kg과 500 mg/kg group에서는 모두 HFD로 인한 몸무게의 증가를 약 110%까지 감소시켰다.

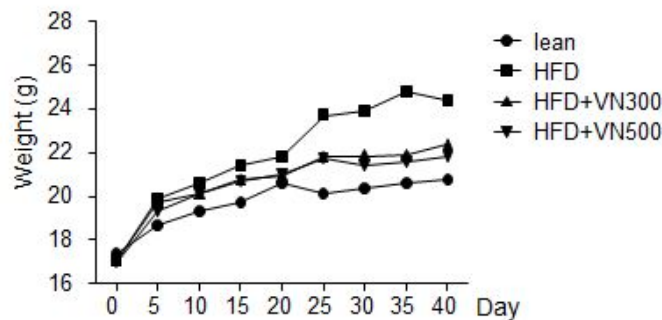


Fig.6. Effect of VN extract on body weight in HFD-mice

- 이를 다시 한번 더 확인하기 위해 몸 size을 측정하였을 때에도 아래의 그림에서 보는바와 같이 HFD로 인한 몸부피의 증가가 300 mg/kg total extract에 의해 중요하게 감소시켰다. (Fig. 7) 이상의 결과는 팥추출물은 HFD로 인한 비만에 항비만 효능을 나타냄을 알 수 있었다.

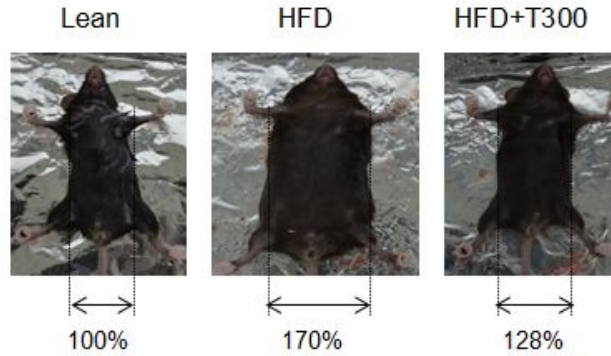


Fig.7. Effect of VN extract on body size in HFD-mice

- 또한 total extract의 지방조직의 무게 및 지방세포의 크기에 대한 영향을 측정하였을 때, 300 mg/kg과 500 mg/kg total extract 모두 지방조직의 무게를 유의적으로 감소시켰다. (Fig. 8)

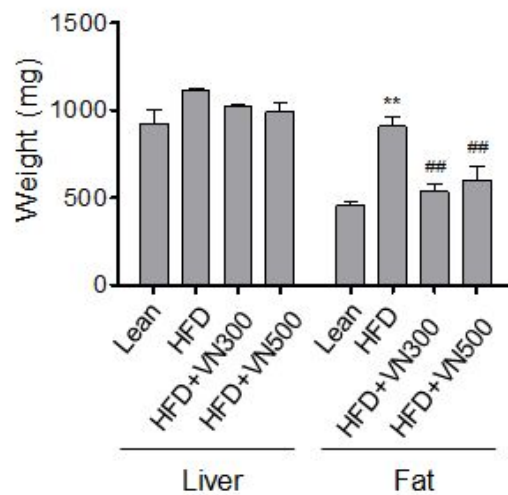


Fig.8. Effect of VN extract on fat weight in HFD-mice

- 이러한 지방조직의 감소가 지방세포 크기의 감소로 인해 일어나는지를 알기 위해 지방세포의 크기를 측정하였을 때, total extract은 지방세포의 크기를 감소시켰다. (Fig. 9)

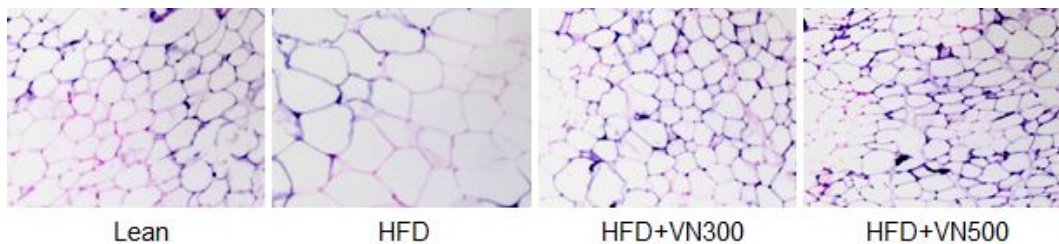


Fig.9. Effect of VN extract on fat cell size in HFD-mice

- 비만으로 인해 증가하는 혈중지질, free fatty acid, cholesterol, inflammatory cytokine ( IL-6, TNF $\alpha$ )을 측정 한 결과, total extract은 혈중지질, free fatty acid, total cholesterol의 양을 감소시켰을 뿐만아니라 IL-6, TNF- $\alpha$ 도 감소시켰다. 이에 반해 비만으로 감소하는 adiponectin의 양은 증가되었다.(Fig. 10)

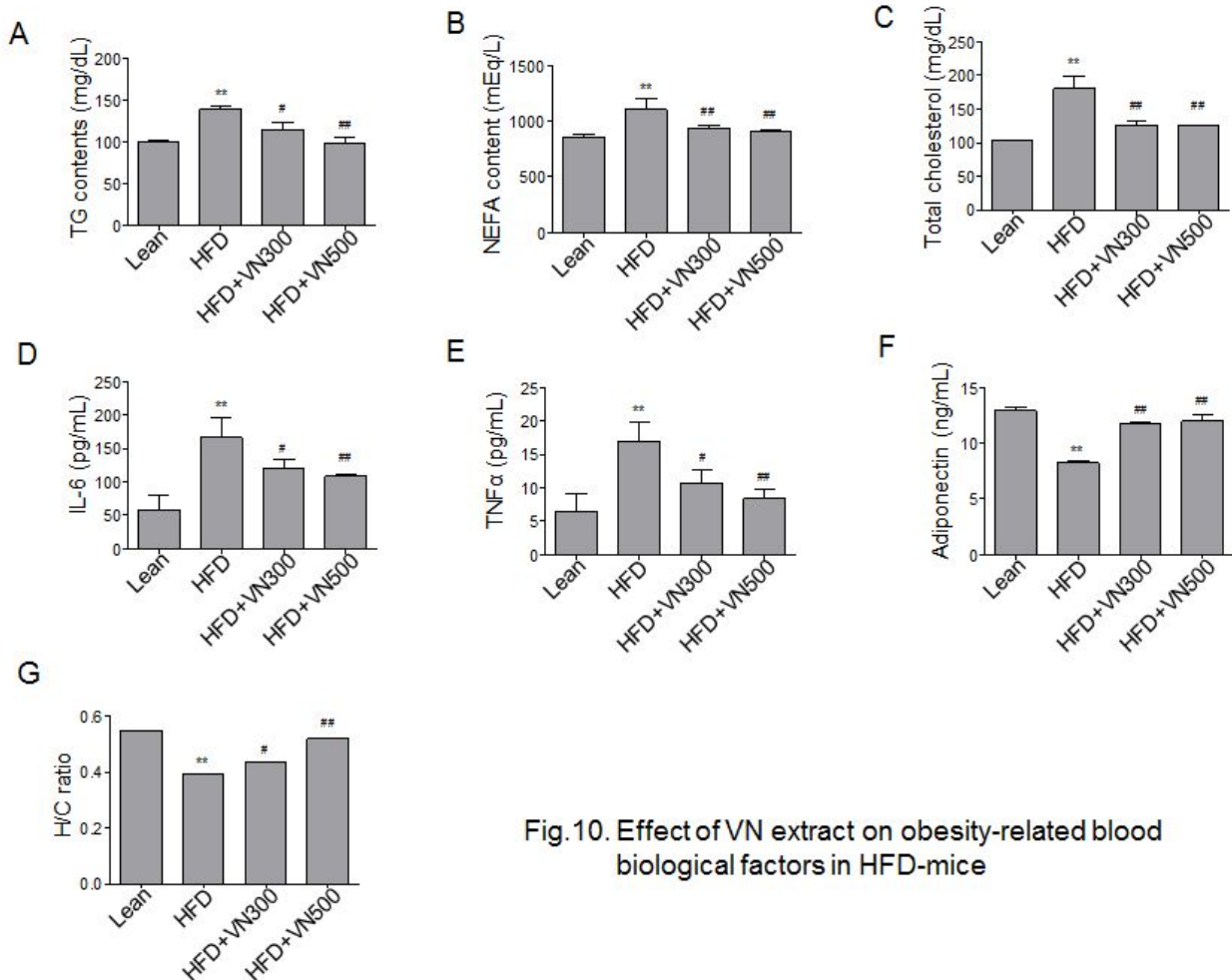


Fig.10. Effect of VN extract on obesity-related blood biological factors in HFD-mice

- in vivo에서 total extract의 항비만 분자적 기전 확인

- HFD 동물에서 total extract의 항비만의 분자적 활성 (PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성 촉진)을 지방조직에서 확인하기위해 각 군의 지방조직을 절취하여 PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성화를 측정하였다. Fig. 11에서 보는바와 같이 total extract은 HFD mice에서 증가하는 PPAR $\gamma$ 의 발현을 감소시켰을 뿐만아니라 PPAR $\gamma$ 의 target 유전인 C/EBP- $\alpha$ , FAS, aP2의 발현도 감소시켰다..
- 또한 AMPK의 활성화를 측정하였을 때에도, total extract은 HFD mice에서 감소하는 pAMPK을 증가시켰으며 이에 따른 AMPK downstream인 pACC와 CPT-1, ACO의 유전자 발현을 증가시켰다. (Fig. 12)

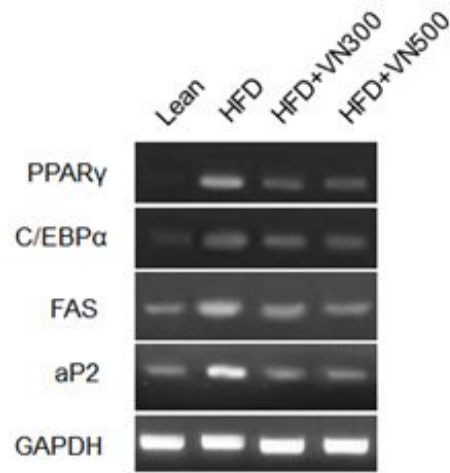


Fig.11. Effect of VN extract on expression of PPAR $\gamma$  and its target genes in HFD-mice

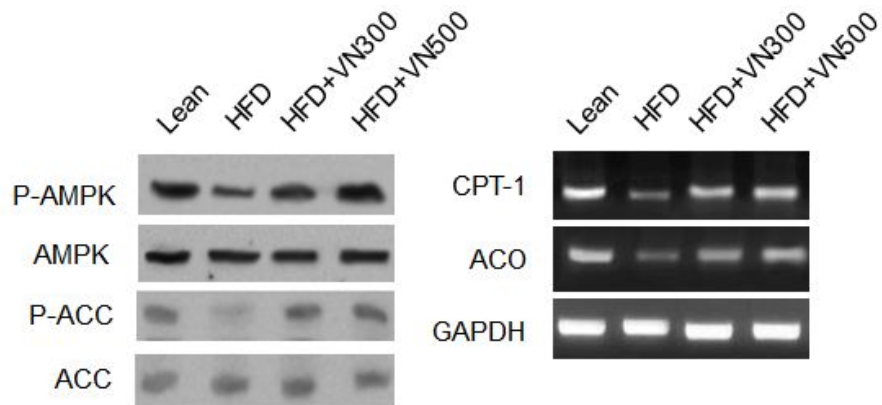


Fig.12. Effect of VN extract on AMPK activation in HFD-mice

- 팔의 total 추출물은 HFD로 유발한 비만 mice에서 항비만 효능을 나타내었으며, 이는 PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성 촉진이 관여함을 알 수 있었다.

## (2) 팔 활성분획 (water 층 및 organic 층)의 비만 개선 기능성 규명

- 팔의 total extract를  $\text{CHCl}_3$  로 추출한 후 Water층과 organic 층 ( $\text{CHCl}_3$ )으로 나눈 후 각각 extract의 항비만 효능을 total extract와 함께 세포 및 동물모델에서 측정하였음

### 1) 세포수준에서 팔 추출물 (water 층과 organic 층)의 항비만 분자적 활성

□ water 층 (W)과 organic 층 (O)의 지방세포 분화 억제 영향 측정

- 팔의 Water층 (W100, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )과 organic 층 (O100, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 추출물이 지방세포의 분화를 억제하여 항비만의 효능을 나타내는지 알기위해 지방세포 3T3-L1 분화를 측정하였다. 이를 위해 팔의 각 추출물 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도로 첨가하여 preadipocyte 3T3-L1을 분화 medium으로 분화시킨 후 분화정도를 Oil red O-staining, 3T3-L1 세포내 TG (triacylglyceride) 양을 측정하였음.
- Fig. 13에서 보는바와 같이 total extract, organic 층 extract는 3T3-L1 세포의 분화를 억제함을 oil red staining으로 확인하였는데 이중 total extract가 3T3-L1 세포의 분화억제에 가장 효과적이었다.

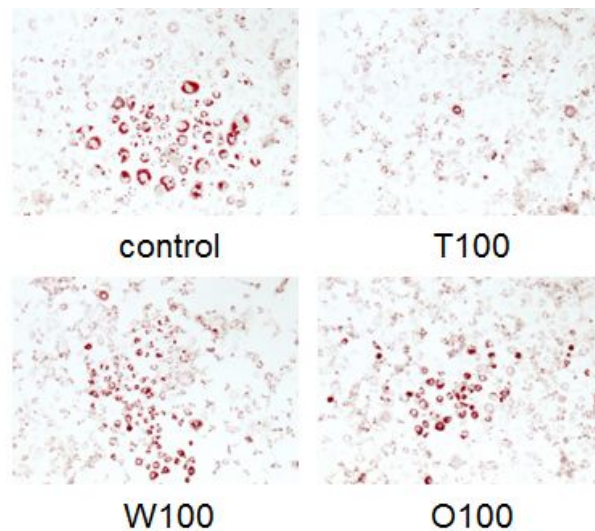


Fig.13. Effect of VN extracts on differentiation of 3T3-L1 cells (Oil red staining)

- 3T3-L1 세포내 TG (triacylglyceride) 양을 측정하였을 때에도, Oil red staining 결과와 동일하게 total extract, organic 층 extract는 3T3-L1 세포내 TG의 양을 감소시켰는데, 이중 total extract가 3T3-L1 세포내 TG의 양 감소에 가장 효과적이었다.



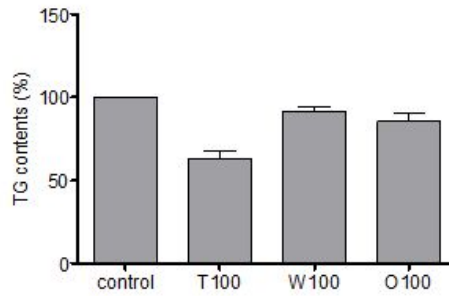


Fig.14. Effect of VN extracts on accumulation of TG in 3T3-L1 cells

□ 지방세포 (3T3-L1)에서 water층과 organic층의 PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성 촉진

- Water층과 organic층의 추출물이 PPAR $\gamma$ 의 발현을 억제하는지를 알기 위해, 분화를 시킨 3T3-L1 세포에 추출물을 첨가하여 PPAR $\gamma$  및 PPAR $\gamma$ 의 target 유전자 (FAS 및 aP2)의 발현을 측정하였다. 아래의 그림에서 보는바와 같이 total extract, organic 층 extract는 PPAR $\gamma$  및 PPAR $\gamma$ 의 target 유전자 (FAS 및 aP2)의 발현을 억제하였으며, total extract가 역시 가장 효과적으로 유전자의 발현을 억제하였다. (Fig. 15)

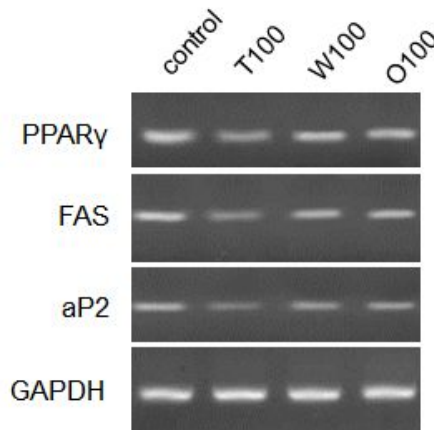


Fig.15. Effect of VN extracts on expression of PPAR $\gamma$  and its target genes in differentiated 3T3-L1

- water층과 organic층의 추출물이 AMPK의 활성을 촉진하는지를 알기 위해 분화시킨 3T3-L1 세포에 추출물을 첨가하여 AMPK의 활성화 (phosphorylated AMPK)와 AMPK의 downstream gene들의 발현을 측정하였다. 그 결과 total extract, organic 층 extract는 phosphorylated AMPK와 AMPK의 downstream 유전자인 (FAS 및 aP2)의 발현을 증가시켰으며 역시 total extract가 가장 효과적임을 알 수 있었다.

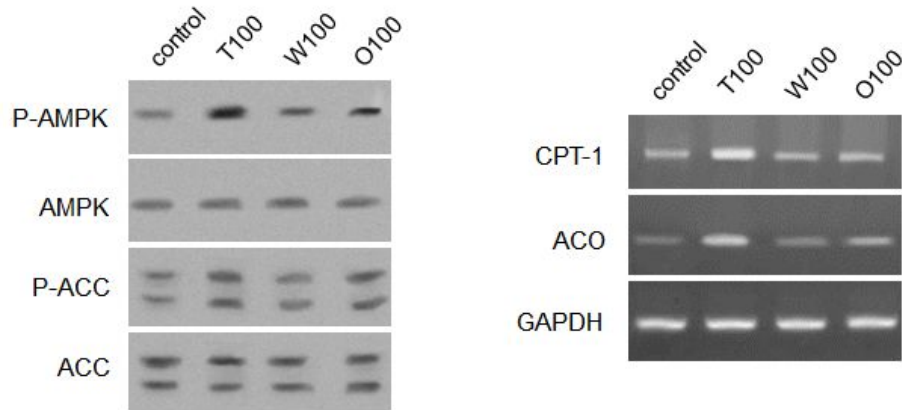


Fig.16. Effect of VN extracts on AMPK activation and its downstream genes in differentiated 3T3-L1

## 2) in vivo에서 팔 추출물 (water 층과 organic 층)의 항비만 효능과 분자적 기전 확인

- Water층과 organic층의 추출물이 비만동물에서 항비만효능을 나타내는지 확인하기 위해 HFD로 비만을 유발한 mice에 각각의 추출물을 300 mg/Kg body weight 농도로 식이한 후 항비만 효능을 측정하였으며
- 이들 동물에서 항비만의 분자적 활성 (PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성 촉진)을 지방조직에서 확인하였음

### □ in vivo에서 팔 추출물 (water 층과 organic 층)의 항비만 효능 검증

- C57BL/6 mice을 구입한 후 normal chow diet control (distilled water-treated) group, high-fat diet (distilled water-treated) group, high-fat diet (total extract 300 mg/kg of body weight, T300) group, high-fat diet (Organic extract 300 mg/kg of body weight, O300) group, 그리고 high-fat diet (Water 300 mg/kg of body weight, W300)group으로 분류한 다음, 4개월동안 식이한 후 항비만 효능 (체중 및 지방조직 무게 및 형태 측정, 혈액에서 항비만관련 생화학적 인자 측정)을 측정하였다..
- Fig. 17에서보는 바와 같이 세포수준에서 지방세포분화 억제하는 결과와 동일하게 팔추출물들은 HFD로 인한 몸무게증가를 감소시켰는데 특히 total extract, organic 층, water 층 extract의 순서로 HFD로 인한 몸무게증가를 감소시켰다. 이상의 결과는 지방세포 분화 억제의 결과와 일치하는 결과로 팔추출물은 지방세포의 분화를 억제함으로써 항비만 효능을 나타냄을 다시한번 더 확인하였다.

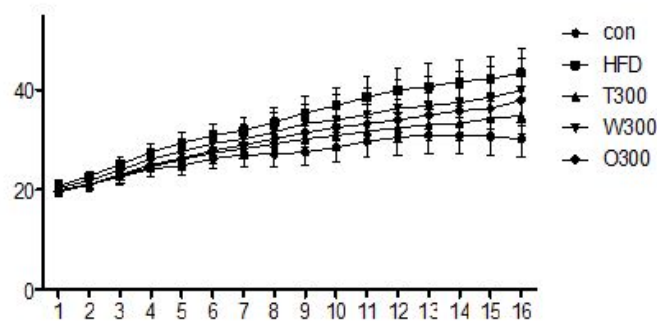


Fig.17. Effect of VN extracts on body weight in HFD-mice

- 몸 size을 측정하였을 때에도 Fig. 18에서 보는바와 같이 HFD으로 인한 몸 size의 증가가 170% 이었지만 total extract (128%), Organic 층 (135%), water 층 (146%)의 extract의 순서로 HFD로 인한 몸부피의 증가를 감소시킴을 알 수 있었다. (Fig. 18)

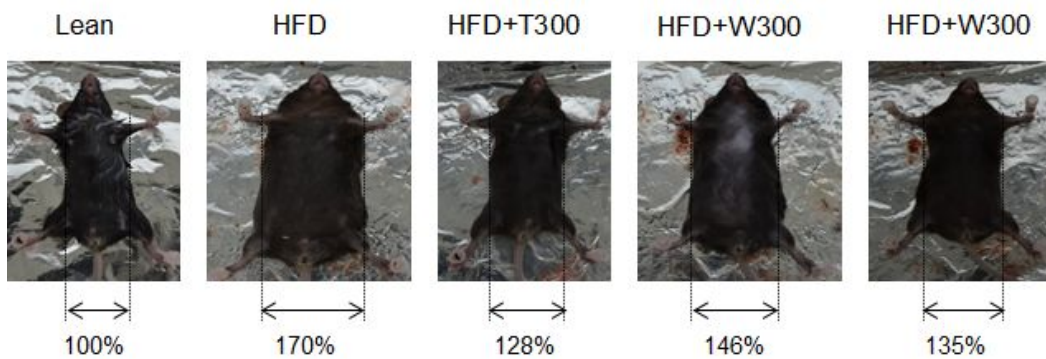


Fig.18. Effect of VN extracts on body size in HFD-mice

- 또한 지방세포의 크기에 대한 영향을 측정한 결과, total extract, organic 층, water 층 extract의 순서로 지방세포의 크기를 감소시켰다 (Fig. 19).

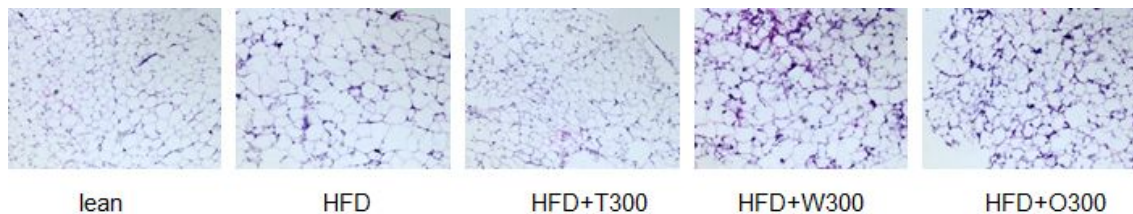


Fig.19. Effect of VN extracts on fat cell size in HFD-mice

- 이상의 결과로 organic 층, water 층 extract 역시 항비만의 효능을 나타내었으

나 total extract가 항비만의 효능이 가장 좋았으며, 다음으로 organic 층의 extract가 항비만에 효과적이었다.

□ in vivo에서 팥 추출물 (water 층과 organic 층)의 PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성화 촉진

○ HFD 동물에서 팥 추출물 (water 층과 organic 층)의 항비만의 분자적 활성화 (PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성화 촉진)을 지방조직에서 확인하기 위해 각 군의 지방조직을 절취하여 PPAR $\gamma$  억제와 AMPK 활성화를 측정하였음. Fig. 20에서 보는바와 같이 total extract, organic 층, water 층 extract 모두 PPAR $\gamma$ 와 그 target 유전자들을 억제하였으나 total extract가 가장 효과적이었다.

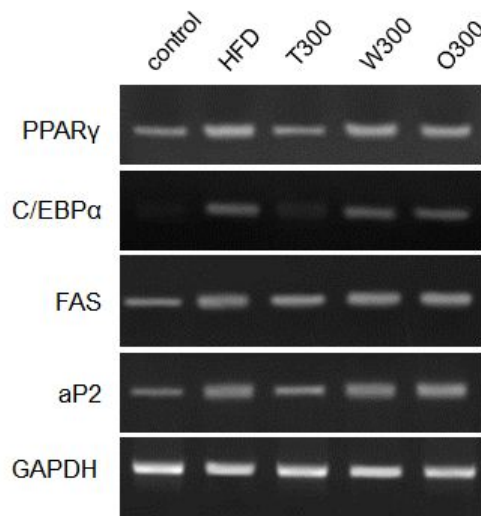


Fig.20. Effect of VN extracts on expression of PPAR $\gamma$  and its target genes in HFD-mice

○ 또한 total extract, organic 층, water 층 extract 모두 HFD mice에서 감소하는 pAMPK를 증가시켰으며 이에 따른 AMPK downstream인 pACC와 CPT-1, ACO의 유전자발현을 감소시켰음.

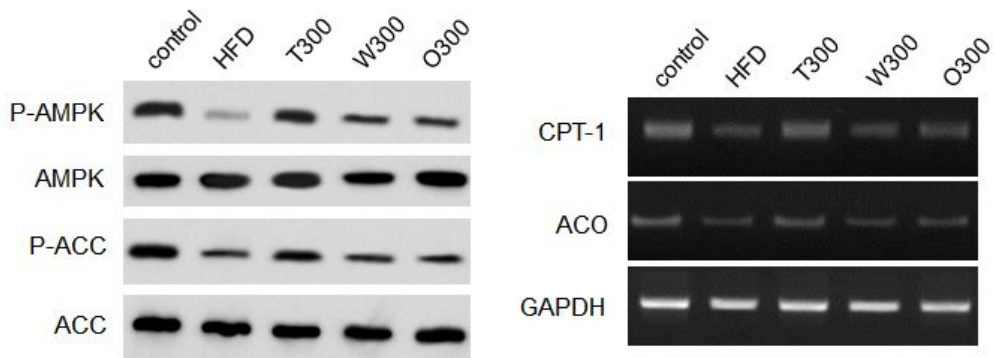


Fig.21. Effect of VN extracts on AMPK activation and its downstream genes in HFD-mice

(1) 팥 추출물 (total extract)의 비알코올성 지방간질환 개선 및 기능성 규명

1) in vivo에서 total extract의 비알코올성 지방간 개선 및 기능성 규명

- Total extract가 비알코올성 지방간의 개선효능이 있는지를 알기위해 HFD로 유발한 지방간 모델 쥐에서 지방간의 개선효과와 지방간 개선으로 인한 간 손상 물질 (산화적스트레스, 염증등) 등이 개선되는지를 측정하였음
- 또한 지방간 유도 HFD mice의 간조직에서 total extract의 지방간 개선 분자적 기전 (LXR-SREBP-1c에 의한 lipogenesis)을 규명하였음

□ Total extract의 지방간 개선 효과

- 60% HFD으로 4개월간 식이하여 지방간을 유도한 mice에서 팥 추출물 (total extract)의 지방간 개선 효과를 측정하였다. 이를 위해 total extract (100 mg/Kg body weight, 300 mg/Kg body weight) 을 60% HFD와 함께 16주간 식이한 후 간조직의 무게를 측정하였다. Fig. 22에서 보는바와 같이 HFD는 간 조직의 무게를 증가시켰으나 total extract (100 mg/Kg body weight, 300 mg/Kg body weight)은 HFD으로 인해 증가되어지는 간 무게를 감소시켰다..

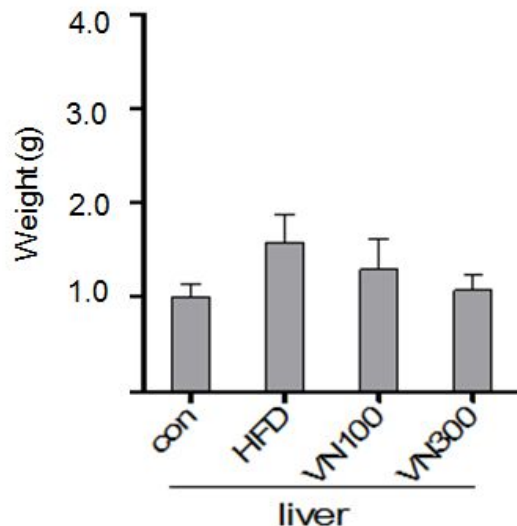


Fig.22. Effect of VN extracts on liver weight in HFD-mice

- 다음은 total extract (100, 300 mg/Kg)가 간 조직에서 fat 축적을 억제하는지를 측정하였다. 이를 위해 간조직의 fat accumulation을 oil red staining으로 측정하였는데, total

extract (100, 300 mg/Kg)은 HFD로 인한 간조직에서의 fat 축적을 농도 의존적으로 감소시켰다. (Fig. 23)

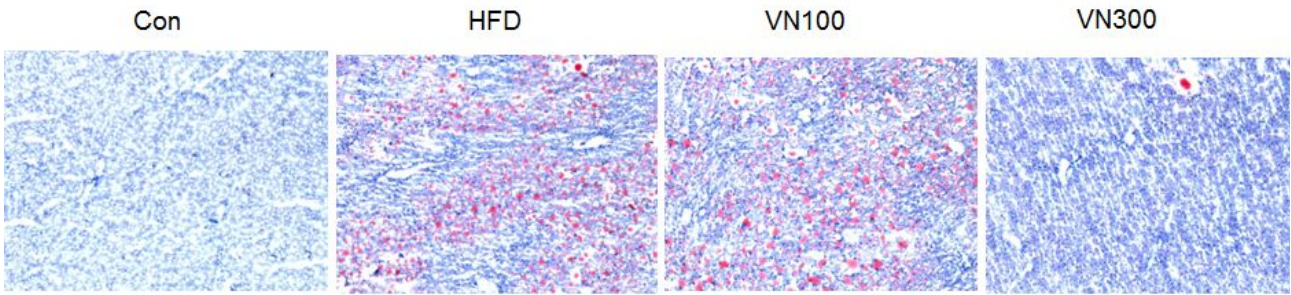


Fig.23. Effect of VN extracts on fat accumulation in the liver HFD-mice

- 또한 total extract의 지방간 개선을 다시 확인하기 위해 간조직의 TG을 측정하였는데 total extract (100, 300 mg/Kg)은 HFD으로 인한 hepatic TG의 증가를 역시 농도 의존적으로 감소시켰음 (Fig. 24)

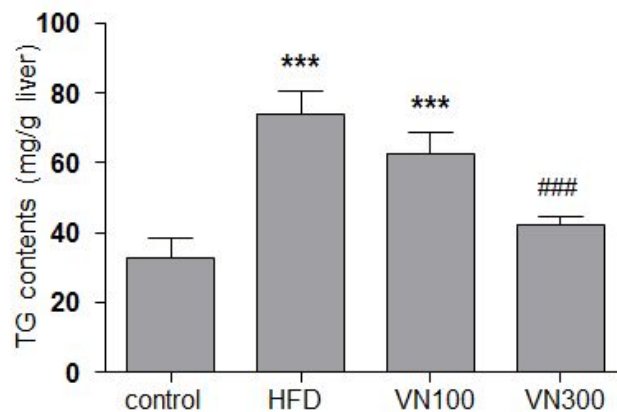


Fig.24. Effect of VN extracts on TG content in the liver HFD-mice

□ Total extract의 간 손상 개선 효과

- Total extract가 지방간을 개선함으로써 HFD로 인한 간독성도 억제하는지를 알기 위해, HFD mice의 혈액에서 간독성의 marker인 AST (alanine sulfurtransferase)와 ALT (alanine aminotransferase)의 활성을 측정하였다. Fig. 25에서 보는바와 같이 HFD는 AST와 ALT의 활성을 증가시켰으나, total extract (100, 300 mg/Kg)은 HFD으로 인한 AST, ALT의 활성증가를 농도 의존적으로 억제하였음
- 또한 total extract가 역시 HFD로 인한 간손상을 억제하는지를 알기 위해, HFD mice의 간조직을 H&E staining으로 염색하여 cytosolic lipid droplet을 측정하였다. Fig. 26에서 보는바와 같이 HFD로 식이한 동물의 간조직에서는 lipid droplet가 크게 존재하는데 비해 total extract (100, 300 mg/Kg)을 식이한 동물의 간조직에서는 lipid droplet가 유의적으로

감소하였다

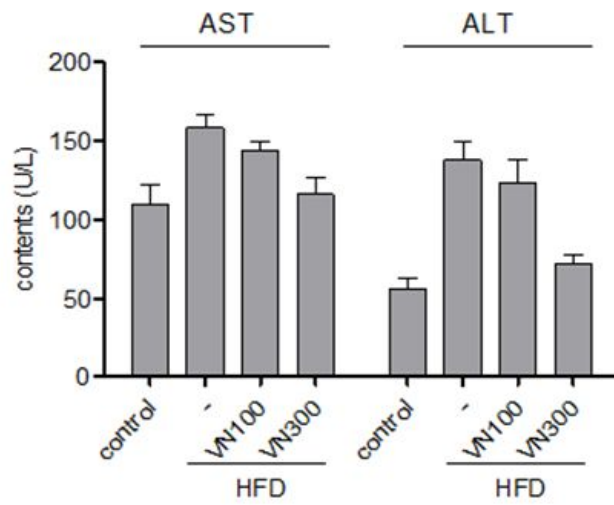


Fig.25. Effect of VN extracts on activity of AST and ALT in the liver HFD-mice

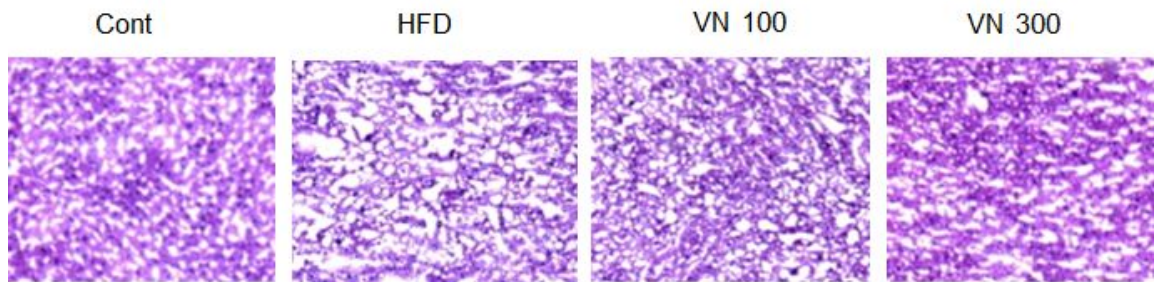


Fig.26. Effect of VN extracts on liver cell morphology in the liver HFD-mice

- 지방간은 간조직에 inflammation을 유도하므로 total extract의 지방간 개선으로 인해 간의 염증인자들도 개선하는지를 확인하였다. 이를 위해 간조직에서 inflammatory cytokine들의 발현을 측정하였는데, HFD로 식이한 동물의 간조직에서는 TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1의 발현이 증가하였으나 total extract (100, 300 mg/Kg)에 의해서 이들의 발현이 감소하였다. (Fig. 27)

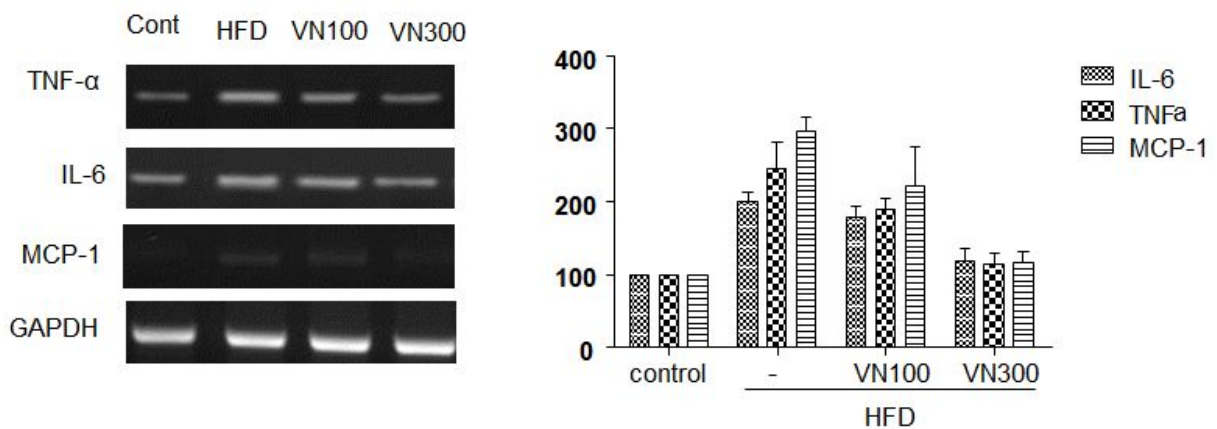


Fig.27. Effect of VN extract on inflammation in the liver HFD-mice

- 또한 iNOS와 COX-2의 발현을 측정하였을 때에도, total extract (100, 300 mg/Kg)는 HFD에 의해 증가되어지는 iNOS와 COX-2의 발현을 감소시켰다. (Fig. 28)

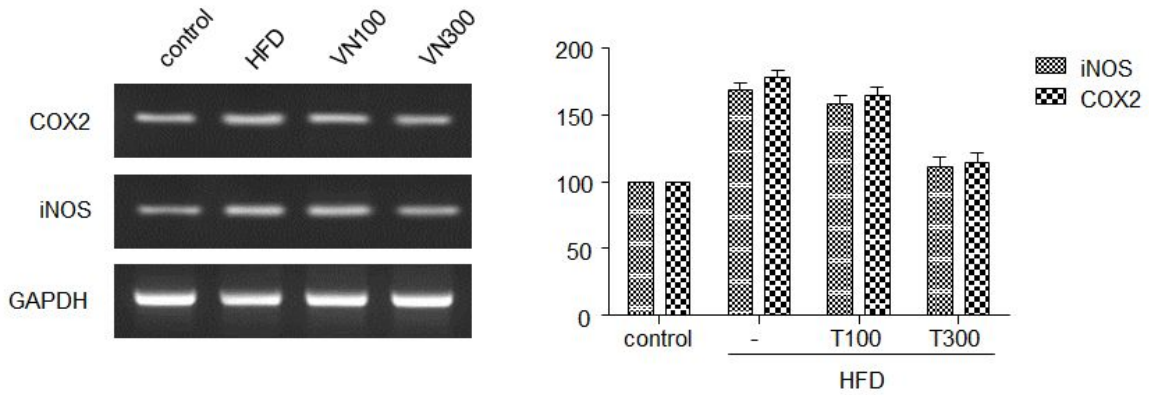


Fig.28. Effect of VN extract on inflammation in the liver HFD-mice

□ Total extract의 oxidative stress 억제 효과

- HFD로 인해 증가되는 산화적스트레스는 간 손상을 유도하므로, 팔추출물이 HFD에 의해 유도되는 간에서의 산화적스트레스를 억제하는지를 살펴보았다. 이를 위해 간조직에서 TBARS (thiobarbituric acid reactive substance)의 생성을 측정하였는데, Fig. 28에서 보는바와 같이 HFD는 TBARS의 생성을 증가하였는데, total extract (100, 300 mg/Kg)는 HFD에 의해 증가되어지는 TBARS을 농도 의존적으로 감소시켰다.

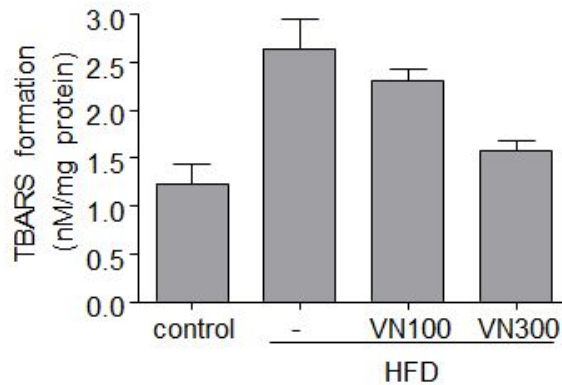


Fig.28. Effect of VN extract on TBARS formation in the liver HFD-mice

- 팔추출물에 의한 산화적 스트레스억제를 더 증명하기위해 간조직에서 산화적스트레스와 관련된 물질 및 antioxidant enzyme들의 활성을 측정하였다. 그결과 total extract (100, 300 mg/Kg)은 HFD에 의해 감소되어지는 glutathione content을 증가시켰으며 (Fig. 29), 역시 HFD에 의해 감소하는 glutathione peroxidase와 catalase의 활성을 유의적으로 증가시켰다 (Fig. 30, Fig. 31)



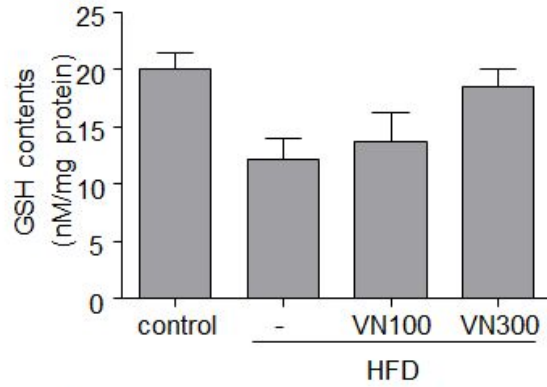


Fig.29. Effect of VN extract on GSH contents in the liver HFD-mice

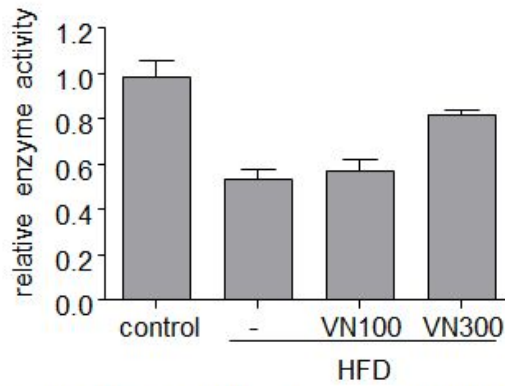


Fig.30. Effect of VN extract on Glutathione peroxidase activity in the liver HFD-mice

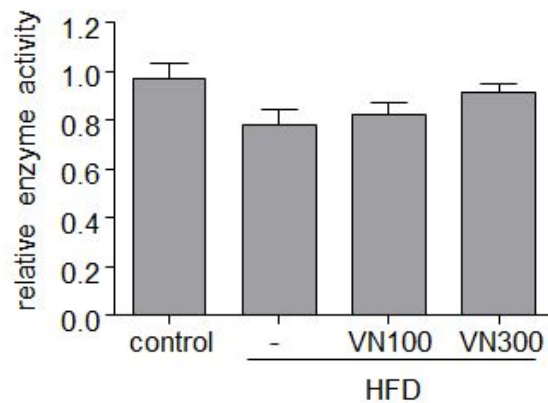


Fig.31. Effect of VN extract on oxidative stress in the liver HFD-mice (Catalase)

○ 또한 glutathione-S-transferase (GST) 역시 HFD로 식이한 동물의 간조직에서는 증가하였으나 total extract에 의해 발현이 감소하였다. (Fig. 32)

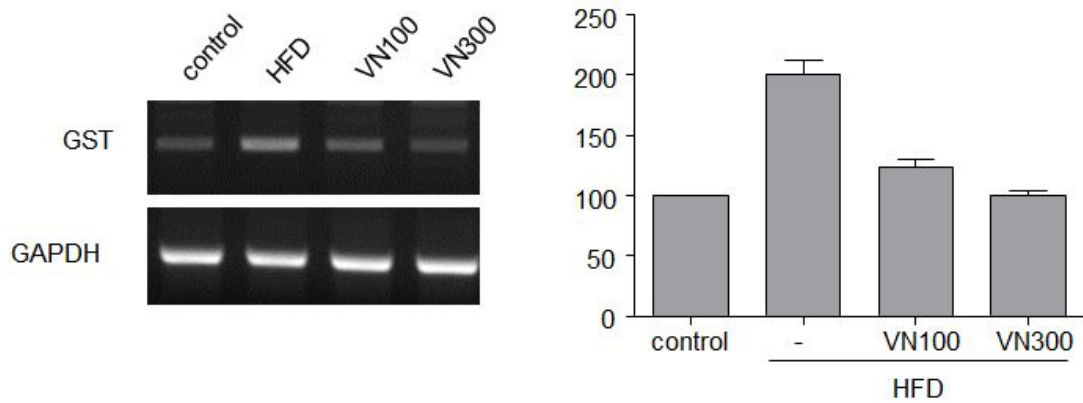
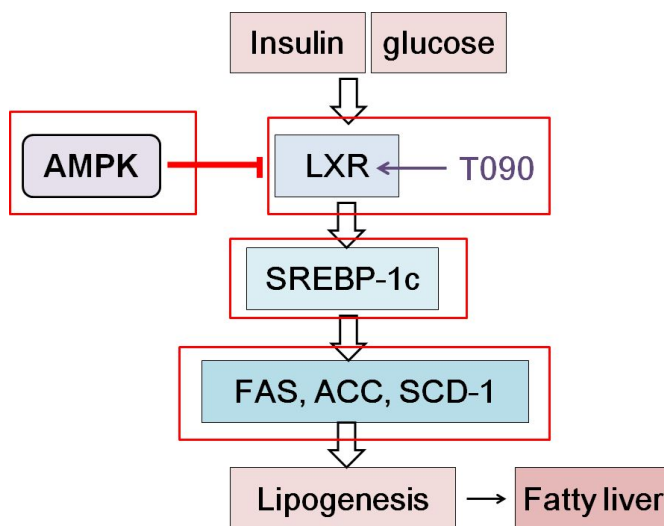


Fig.32. Effect of VN extract on expression of GST in the liver HFD-mice

□ 팔 추출물의 lipogenesis 억제와 관련된 분자적 기전

- 아래의 그림에서 보는바와 같이 LXR-SREBP-1c pathway가 지방간을 유도하는 주요한 경로로 알려져 있으므로, 팔추출물이 LXR-SREBP-1c의 억제를 통해 지방간 개선 효과를 나타내는지 알기 위해 LXR-SREBP-1c과 LXR-SREBP-1c의 downstream lipogenic genes (FAS, ACC, SCD-1등)의 발현을 total extract을 식이한 동물의 간조직에서 측정하였으며
- 또한 AMPK가 LXR을 억제하여 지방간을 개선하므로, AMPK의 활성촉진을 total extract을 식이한 동물의 간조직에서 측정하였다.



- LXR, SREBP-1c와 이들의 target lipogenic gene들인 FAS, S14, SCD-1, L-PK, C/EBP- $\alpha$ 의 발현을 측정한 결과 Fig. 33에서 보는바와 같이 HFD의 동물 간조직에서는 이들 유전자들의 발현이 증가되었으나 total extract에 의해서는 이들의

발현이 감소되었다.

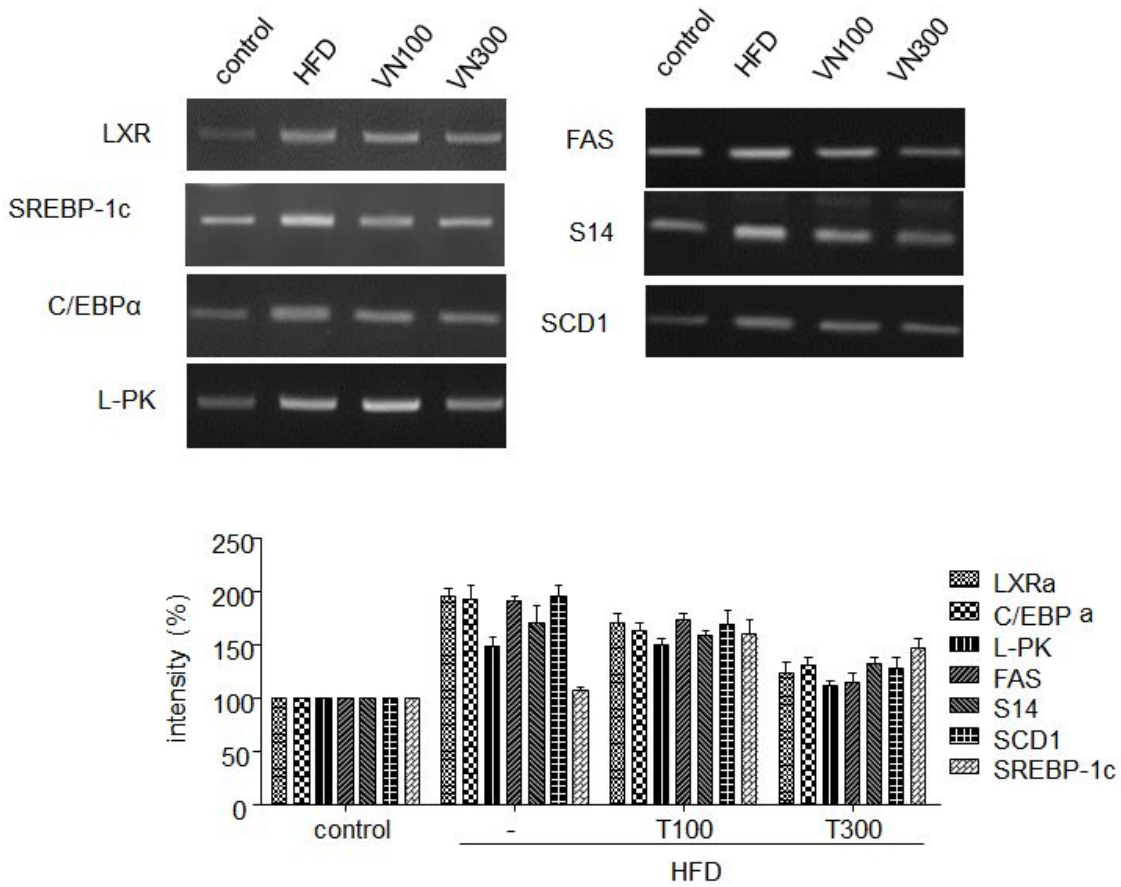


Fig.33. Effect of VN extract on expression of lipogenic genes in the liver HFD-mice

○ 앞서 설명하였듯이 AMPK가 LXR을 억제하여 지방간을 개선하므로, total extract을 식이한 동물의 간조직에서 AMPK 활성화형 즉 pAMPK와 그 downstream인 pACC을 측정하였다.

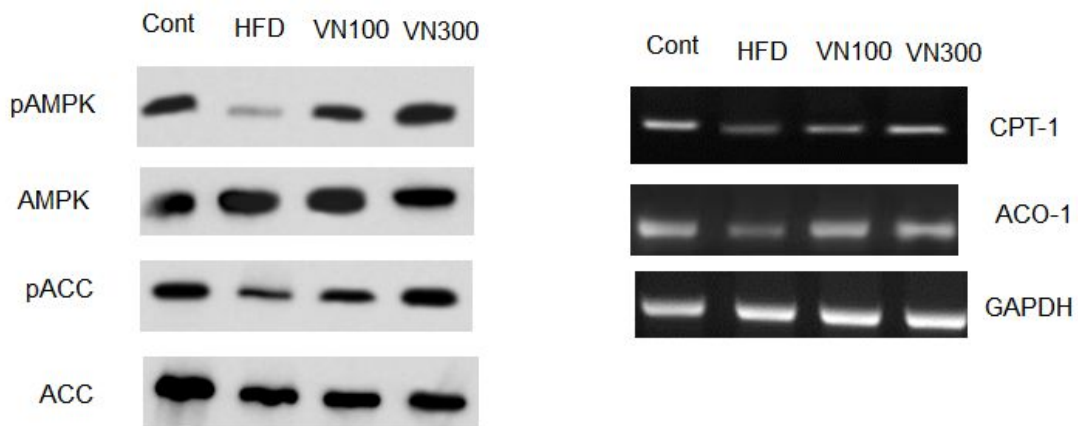


Fig.34. Effect of VN extract on AMPK activation in the liver HFD-mice

Fig. 34에서 보는바와 같이 HFD로 식이한 동물의 간조직에서는 HFD에 의해 감소된 pAMPK와 p-ACC가 total extract (100, 300 mg/Kg)에 의해 AMPK의 활성이 증가되었다. 또한 AMPK의 활성증가와 일치하게 AMPK의 target 유전자인 CPT-1, ACO-1의 발현도 증가하였다.

## 2) 세포수준에서 비알코올성 지방간 개선에 관련된 분자적 기전 측정

- 간세포 (HepG2)에서 지방간 개선과 관련된 LXR-SREBP-1c pathway을 확인하였다. 즉 HepG2에서 팔추출물이 AMPK의 활성화를 통해 LXR-dependent SREBP-1c activation을 억제하는지를 측정하였으며
  - 또한 팔추출물이 인슐린저항성에 의해 유도되는 지방간을 억제하는지를 알기위해 high insulin과 high glucose로 처리한 HepG2 세포에서 lipogenic gene들의 발현을 측정하였다
- 앞서 확인한 바와같이 팔추출물을 첨가한 HepG2에서 AMPK의 활성이 촉진됨을 다시한번 더 확인하였다. (Fig. 35)

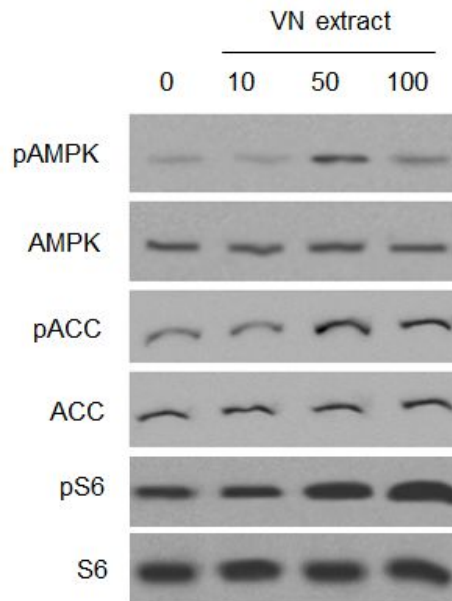


Fig.35. Effect of VN extract on AMPK activation in HepG2 cells

- 다음으로 팔추출물이 LXR-dependent SREBP-1c activation을 억제하는지를 알기위해, LXR agonist T0901317로 처리한 HepG2에서 SREBP-1c의 발현과 SREBP-1c의 downstream lipogenic genes의 발현을 측정하였는데. Fig. 36에서 보는바와 같이 total extract은 T0901317에 의해 증가되어지는 SREBP-1c의 발현을 감소시킴을 western blot과 RT-PCR에서 확인하였다..

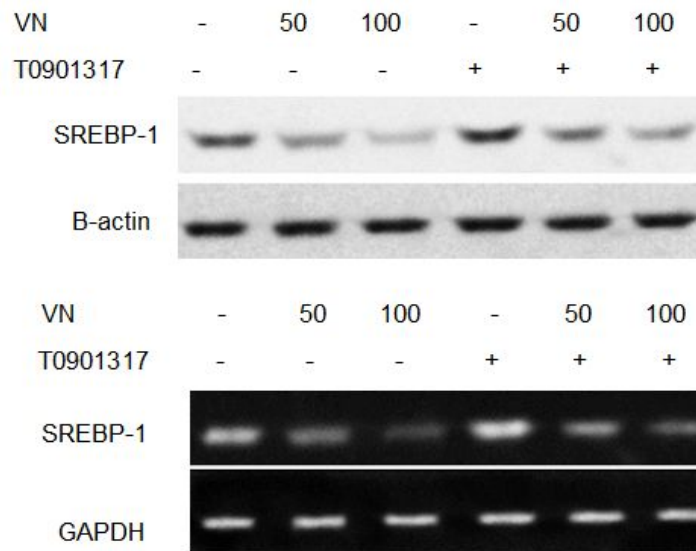


Fig.36. Effect of VN extract on LXR-mediated SREBP-1c activation in HepG2 cells

- SREBP-1c의 downstream lipogenic genes의 발현을 측정된 결과 Fig. 37에서 보는 바와 같이 FAS, ACC, SCD-1, S-14의 발현이 T070에 의해서는 증가하나 total extract에 의해서는 감소되었다.

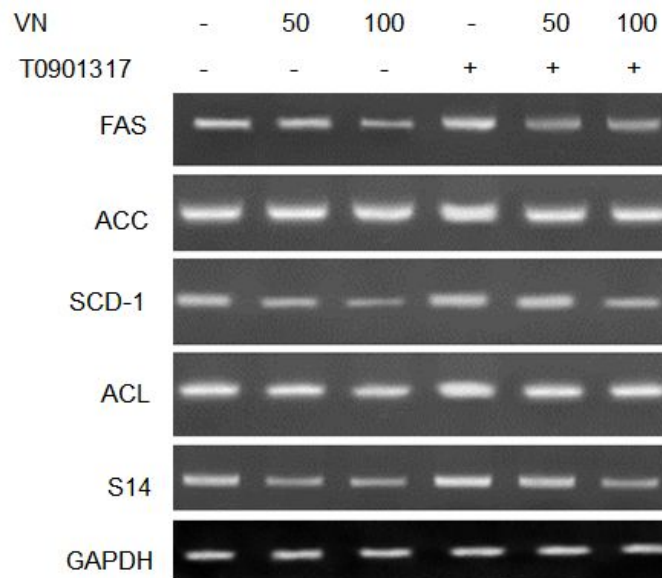


Fig.37. Effect of VN extract on expression of SREBP-1c-dependent genes in HepG2 cells

- 다음은 high insulin으로 처리한 HepG2에서 lipogenic gene들의 발현을 측정하였는데 Fig. 38에서 보는 바와 같이 insulin에 의해서 증가되는 FAS, SCD-1, S-14의 발현이 total extract에 의해 감소되었다..

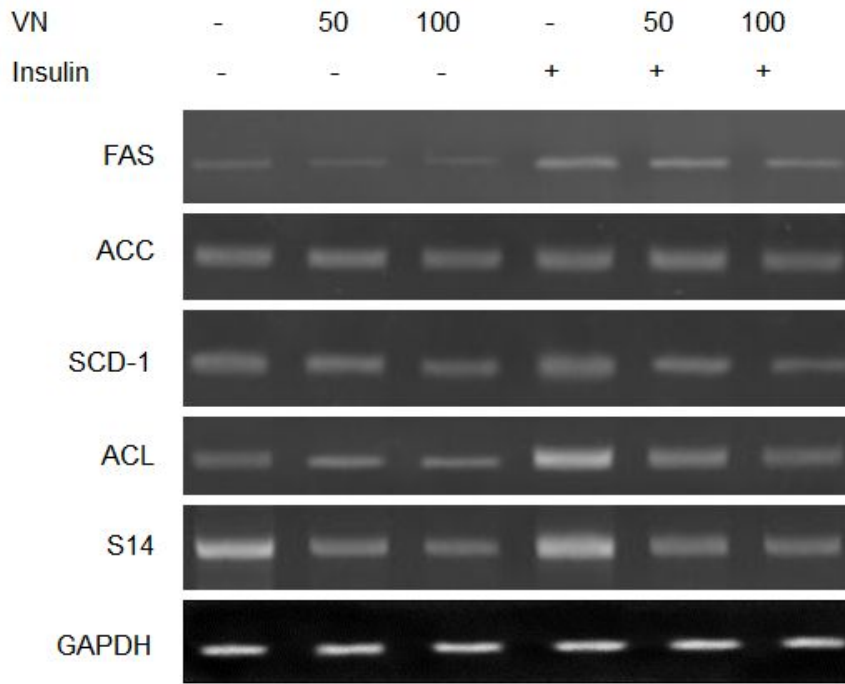


Fig.38. Effect of VN extract on expression of insulin-mediated lipogenic genes in HepG2 cells

○ High glucose로 처리한 HepG2에서 lipogenic gene들의 발현을 측정하였을 때에도, Fig. 39에서 보는 바와 같이 glucose에 의해서 증가되는 FAS, SCD-1, S-14의 발현이 팔추출물에 의해 감소되었다

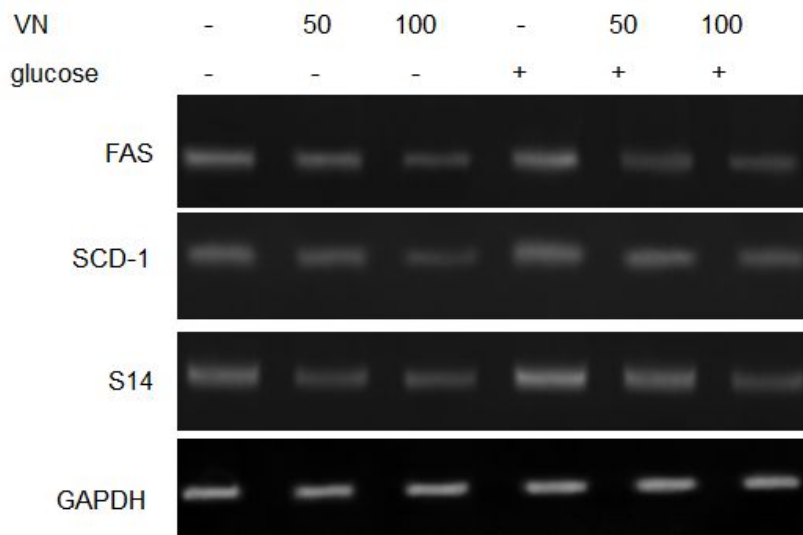
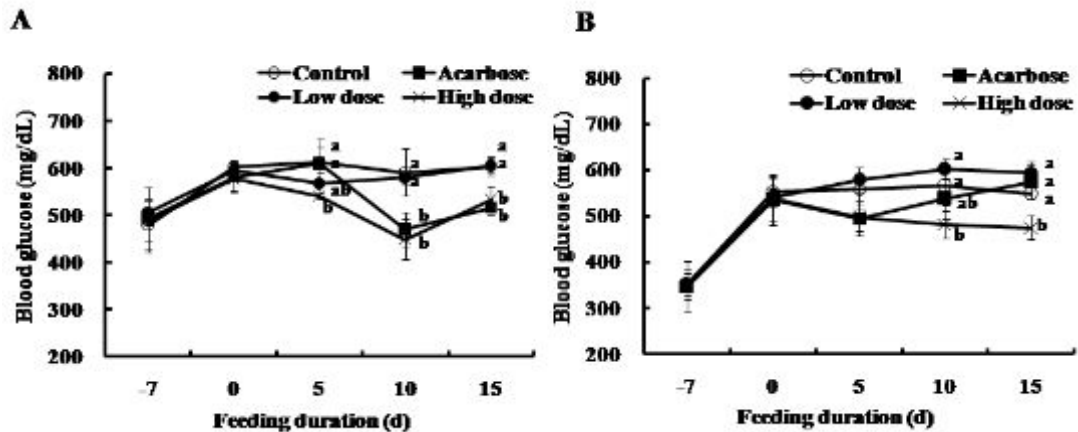


Fig.39. Effect of VN extract on expression of glucose-mediated lipogenic genes in HepG2 cells

1) 세포수준에서 팥 추출물 (total extract)의 항당뇨 분자적 활성 측정

- 이전의 연구 (Biosci. Biotechnol. Biochem. 2011, 75:2223-2228)에서 팥 추출물 (Vigna nakashimae)이  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 억제하여 항당뇨 효능을 나타냄을 제2형 당뇨병 질환모델인 db/db mice에서 규명하였다. 그런데 아래의 그림에서 보는바와같이 팥 추출물(Vigna nakashimae)은 식후 혈당 뿐만아니라 공복혈당도 감소시켰으며 내당능도 개선하였기 때문에 팥추출물이  $\alpha$ -glucosidase의 활성 억제의외에 다른 항당뇨의 활성이 있을 것으로 판단되어 인슐린저항성의 개선과 관련한 항당뇨의 분자적 활성을 연구하였다.



- 인슐린저항성 개선과 관련된 분자적 표적으로 AMPK activation, PPAR- $\alpha$  activation, 항염증 활성, 및 anti-ER stress 활성을 중점으로, 팥추출물 (total extract)이 이러한 항당뇨 활성을 가지고 있는지를 측정하였다.

□ 팥추출물의 AMPK 활성화와 이로인한 glucose uptake 및 gluconeogenesis 영향

- 골격근육에서 AMPK 활성화는 glucose의 uptake를 증가시키고, 간조직에서 AMPK 활성화는 gluconeogenesis를 억제하여 항당뇨활성을 나타내기 때문에, 팥추출물이 골격근육세포 C2C12에서 AMPK 활성을 촉진하여 glucose의 uptake를 증가시키는지와 간세포 HepG2에서 gluconeogenesis 유전자를 억제하여 glucose의 생산을 억제하는지를 측정하였다.

- C2C12에서 total extract을 첨가한 후 AMPK 활성화 pAMPK와 downstream인 pACC을 측정하였는데, total extract는 AMPK의 활성을 촉진하였고 (Fig. 40),

이에 따라 AMPK의 target 유전자들의 발현도 증가시켰다. (Fig. 41)

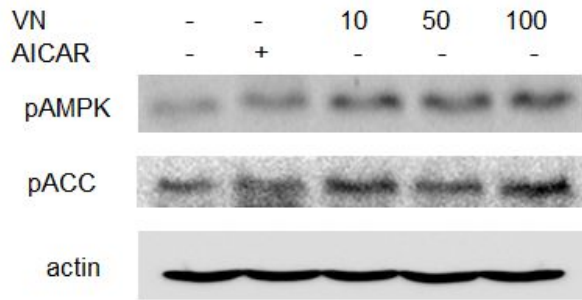


Fig.40. Effect of VN extracts on AMPK activation in C2C12 cells

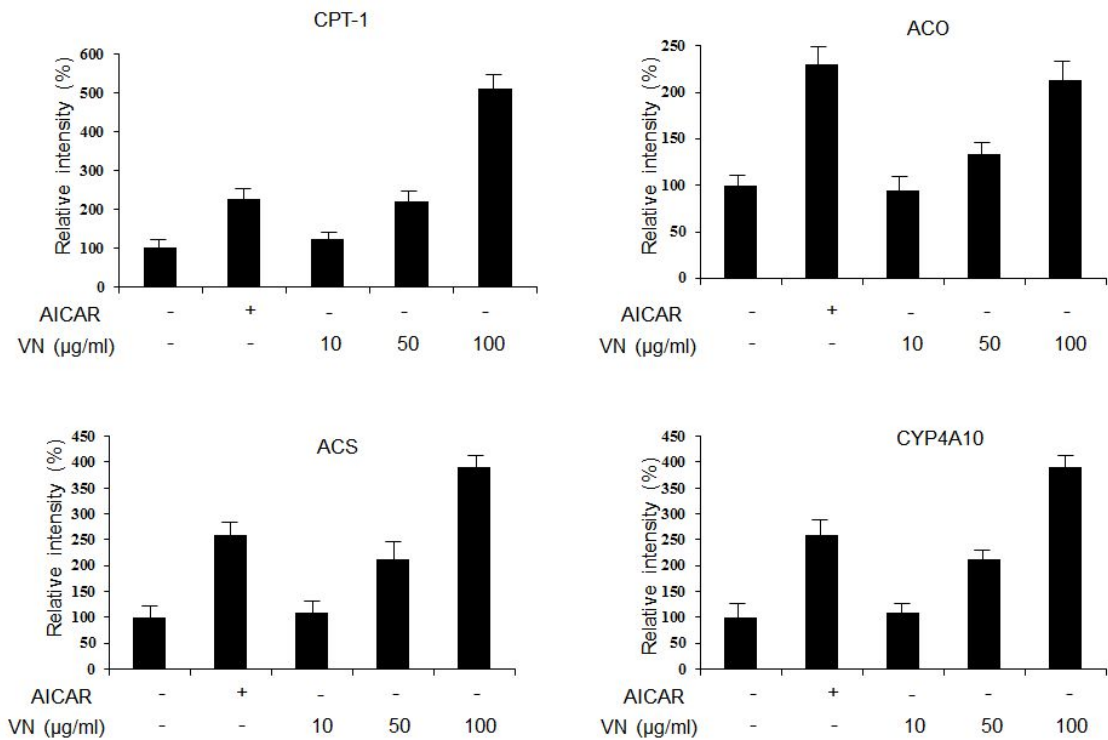


Fig.41. Effect of VN extract on expression of AMPK downstream-genes in C2C12 cells

- AMPK 활성화는 C2C12 세포에서 Gut-4의 cytoplasmic translocation을 증가하여 glucose uptake를 증가하는 것으로 알려져 있으므로, 본 연구에서도 C2C12 세포에서 팔추출물에 의해 glucose uptake와 Gut-4의 cytoplasmic translocation이 증가하는지를 측정하였다. C2C12 세포에서 total extract를 첨가한 후 glucose uptake를 측정하였는데 Fig. 42에서 보는바와 같이 total extract은 인슐린에 의한 glucose uptake를 농도 의존적으로 증가시켰다. 또한 이러한 glucose uptake가 glucose transporter 4 (Glut-4)의 cytosolic translocation 증가와 관련이 있는지를 알기 위해 Glut-4의 translocation을 측



정한 결과 Fig. 42에서 보듯이와 같이 total extract는 농도 의존적으로 Glut-4의 translocation을 증가시켰다.

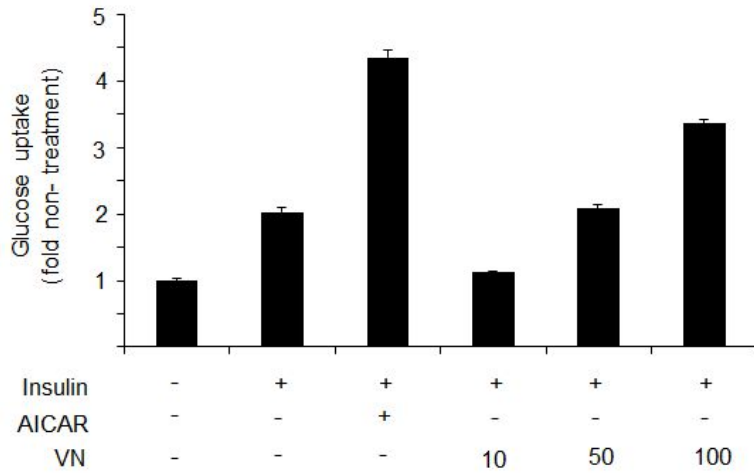


Fig.42. Effect of VN extract on glucose uptake in C2C12 cells

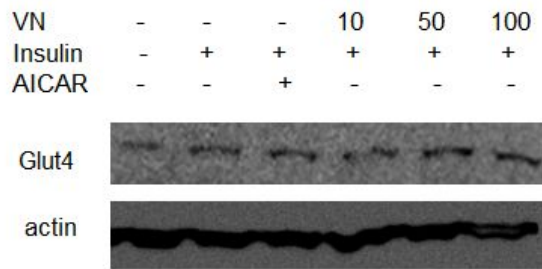


Fig.43. Effect of VN extract on Glut4 translocation in C2C12 cells

○ 또한 팔추출물이 간세포 HepG2에서 AMPK 활성화로 gluconeogenesis를 억제하는지 알기위해 phosphoenolpyruvate (PEPCK), glucose-6 phosphatase의 발현을 측정하였다. Total extract는 cAMP/Dex에 의해 증가되는 PEPCK, glucose-6 phosphatase의 발현을 농도 의존적으로 감소시켰으며 (Fig. 44).

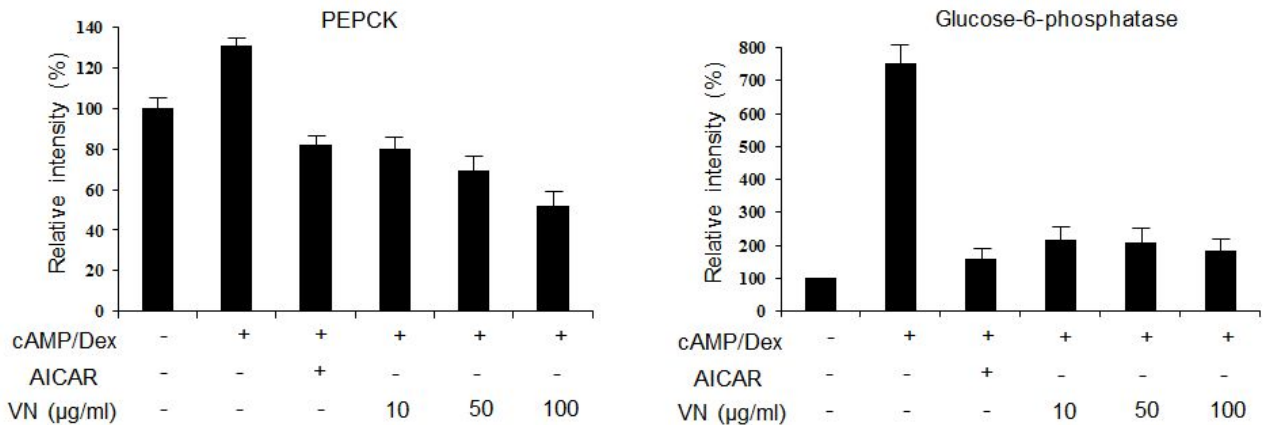


Fig.44. Effect of VN extract on expression of gluconeogenic genes in HepG2

- 또한 glucose의 production을 측정하였을 때에도 PEPCK, glucose-6 phosphatase의 발현과 동일하게 팔추추물은 cAMP/Dex에 의해 증가되는 glucose production을 농도 의존적으로 감소시켰다 (Fig. 45).

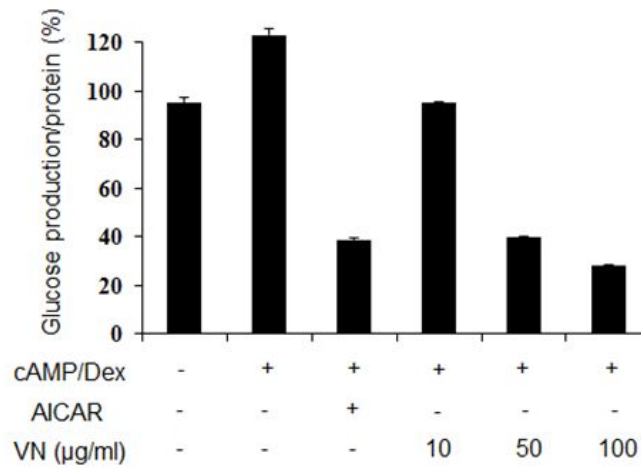


Fig.45. Effect of VN extract on glucose production in HepG2

□ 팔추추물의 PPARα 활성화에 대한 영향

- 다음으로 팔추추물이 항당뇨의 분자적 표적의 하나인 PPARα의 활성을 촉진하는지를 알기위해 GAL4/PPARα chimeric transactivation을 통해 PPARα의 활성화를 측정하였다. Fig. 46에서 보는바와 같이 PPARα의 agonist 인 WY14643은 PPARα 활성을 증가시켰으나 total extract은 유의적으로 증가시키지 않아, 팔추추물은 PPARα을 활성화시키지 못함을 알 수 있었다. .

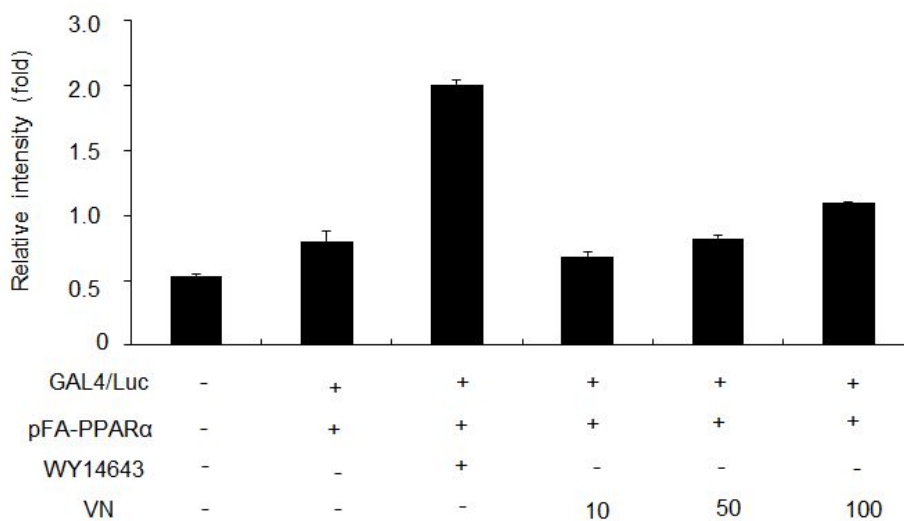


Fig.46. Effect of VN extract on PPARα activation in HepG2

□ 팔추출물의 항염증 활성화에 대한 영향

- 팔 추출물이 항염증활성을 나타내는지 NFκB reporter vector 을 이용하여 측정하였다. Fig. 47에서 보는바와 같이 total extract는 TNF-α에 의해 증가되는 luciferase 활성을 농도 의존적으로 감소시켰으며, HepG2에서 inflammatory cytokine의 발현을 측정하였을 때에도, total extract은 TNF-α, MCP-1 발현을 억제하였다.

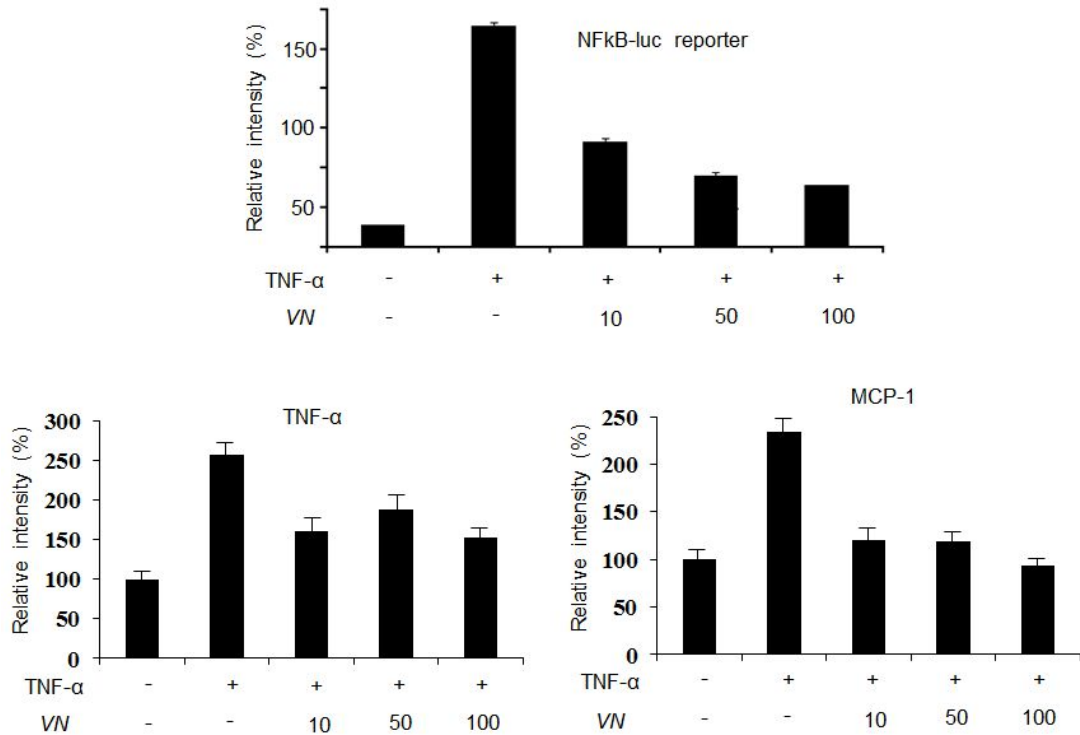


Fig.47. Effect of VN extract on inflammation in HepG2

□ 팔추출물의 anti-ER stress에 대한 영향

- 팔 추출물이 ER stress을 억제하는지를 알기위해, ER stress responsive element (ERSE)가 삽입된 reporter ERSE/luc을 이용하여 측정하였다. Fig. 48에서 보는바와 같이 total extract은 ER stress 유도물질인 thapsigargin에 의해 증가되는 luciferase 활성을 농도 의존적으로 감소시켰으며, HepG2에서 ER stress marker proteins의 발현을 측정하였을 때에도 팔 추출물은 thapsigargin에 의해 증가되는 p-JNK, GRP78의 발현을 유의적으로 억제시켰다.
- ER stress는 insulin signaling을 억제하므로, 팔추출물이 ER stress을 억제함으로써 ER stress에 의한 insulin signaling이 회복되는지를 측정하였다. Fig. 49에서

보는바와 같이 thapsigargin에 의해 증가되었던 IRS-1 serine phosphorylation이 total extract에 의해 감소되었으며, 반대로 thapsigargin에 의해 감소되었던 IRS-1 tyrosine phosphorylation 및 Akt phosphorylation은 total extract에 의해 증가하여 insulin signaling을 회복하였다

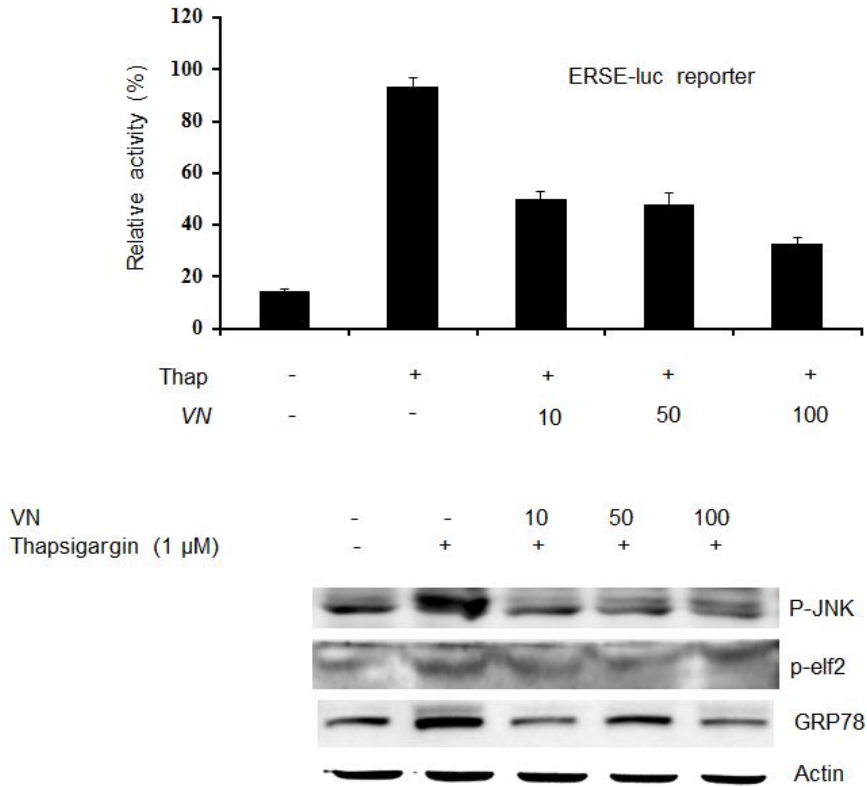


Fig.48. Effect of VN extract on ER stress in HepG2

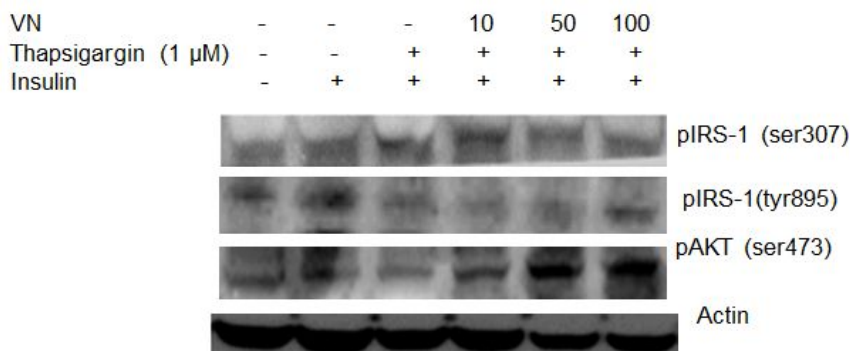


Fig.49. Effect of VN extract on ER stress-mediated insulin signaling in HepG2

- 이상의 결과 팔 추출물 (total extract)은 AMPK 활성화, 항염증 및 ER stress 억제의 활성을 통해 fasting glucose을 감소시킴을 알 수 있었다.

## 2) 당뇨동물에서 팔 추출물의 항당뇨 효능 검증

### (1) 팔 추출물 (total extract)의 항당뇨효능 기전 확인

- 앞서 설명한바와 같이 methanol 추출물 (total extract)에 대한 항당뇨효능은 C57BL/KsJ-*db/db* (*db/db*)에서 확인하였음
- 따라서 본 연구에서는 total extract 항당뇨효능의 기전을 total extract을 주입한 *db/db* mice의 liver, adipose tissue등에서 항당뇨 분자적 표적을 측정하였다.

#### □ 팔추출물의 AMPK 활성화 영향

- 팔추출물의 AMPK 활성화에 대한 영향을 알기위해 근육조직에서 p-AMPK와 p-ACC를 측정하였다. 그림에서 보는바와 같이 팔추출물 300 mg/Kg은 *db/db* mice에서 감소한 p-AMPK와 p-ACC를 유의적으로 증가시켰다.

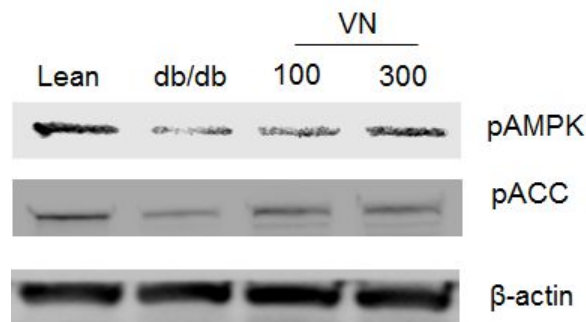


Fig. 50. Effect of VN extract on AMPK activation in skeletal muscle of *db/db* mice

#### □ 팔추출물의 항염증 영향

- 팔추출물의 항염증에 대한 영향을 알기위해 간 및 지방조직에서 inflammatory cytokine들을 측정하였다. 아래의 그림에서 보는바와 같이 팔추출물은 *db/db* mice에서 증가된 TNF- $\alpha$ , MCP-1, IL-6의 발현을 억제하였다.

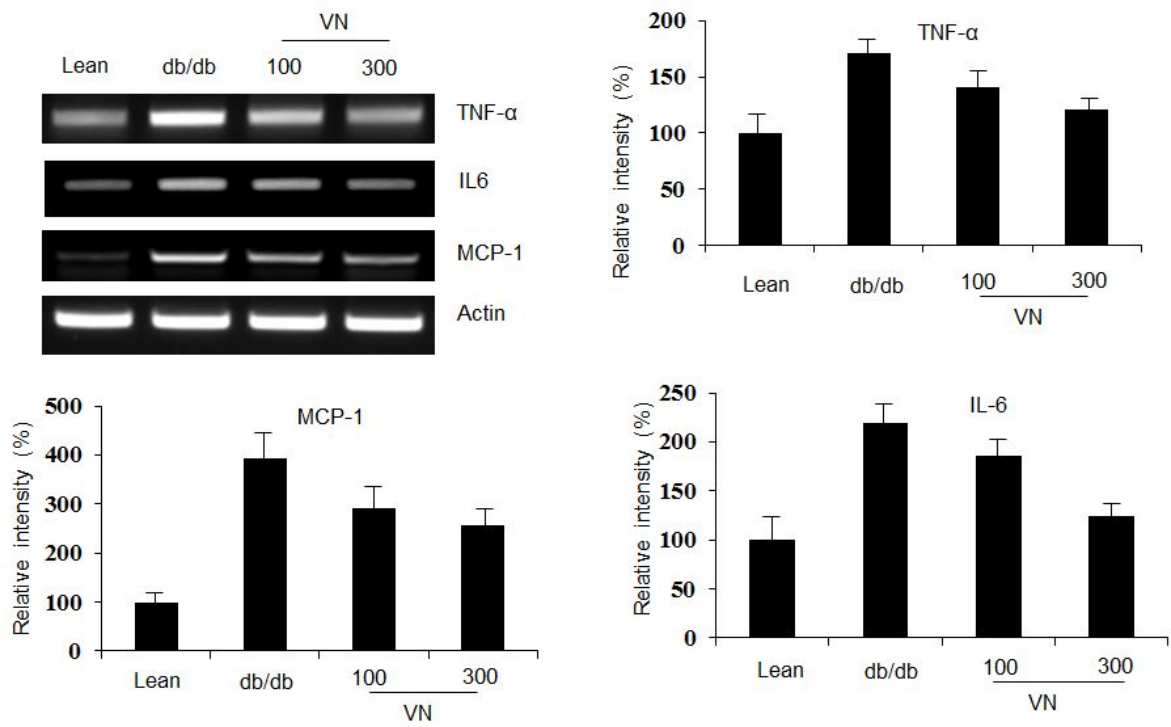


Fig. 51. Effect of VN extract on inflammation in liver of *db/db* mice

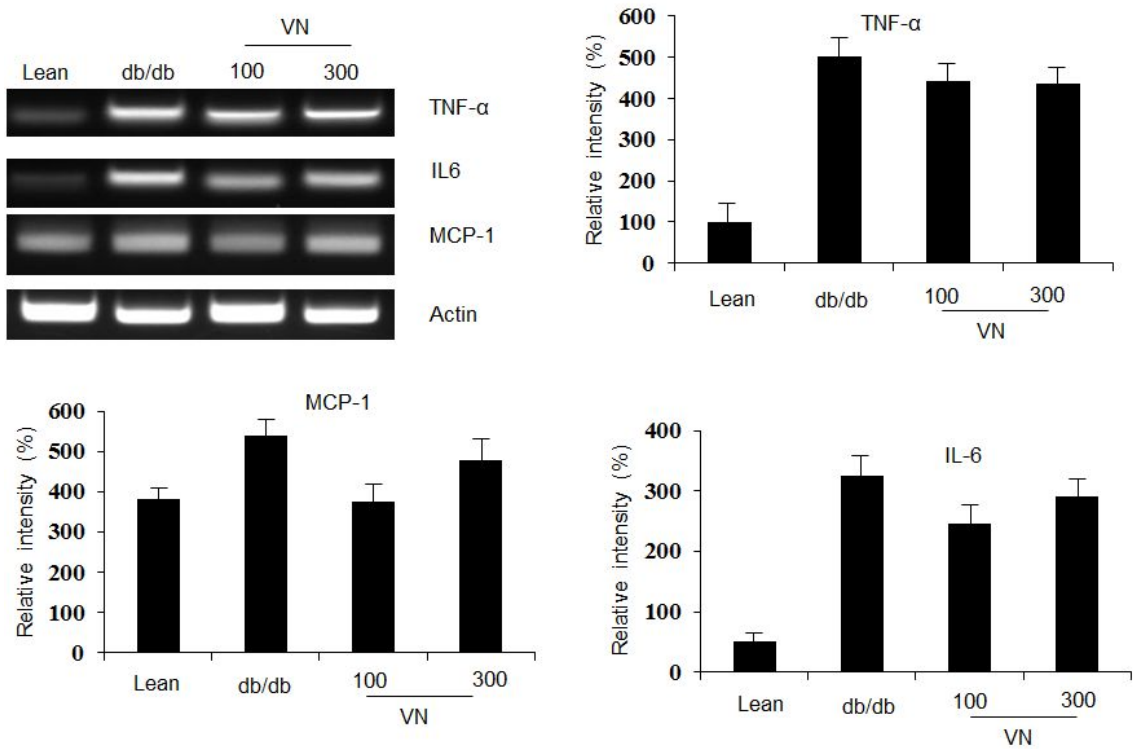


Fig. 52. Effect of VN extract on inflammation in adipose tissue of *db/db* mice

□ 팔추출물의 ER stress 억제 영향

- 팔추출물의 ER stress 억제에 대한 영향을 알기 위해, 간 및 지방조직에서 ER stress marker들을 측정하였다. 아래의 그림에서 보는바와 같이 팔추출물은 *db/db* mice에서 증가한 p-JNK, p-eIF, CHOP, 및 GRP78을 억제하였다.

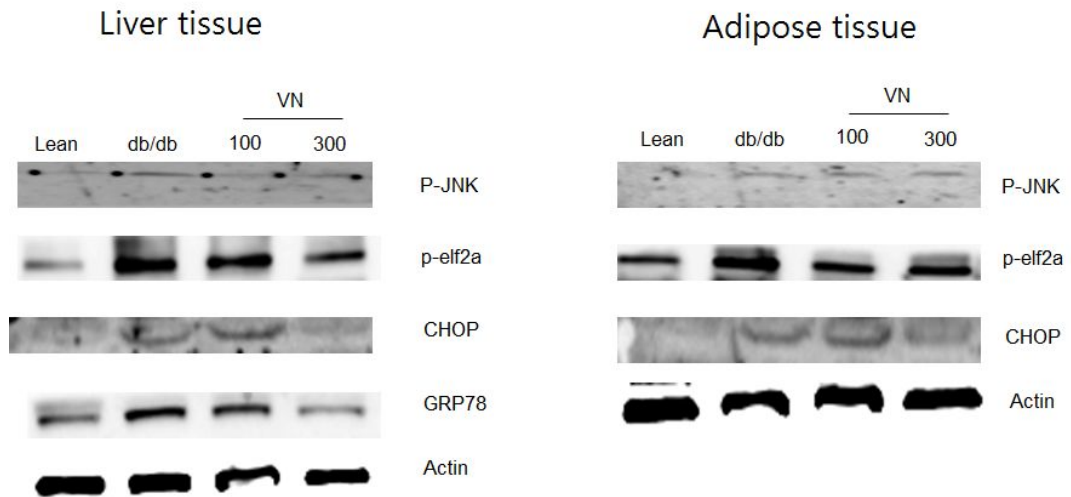


Fig. 53. Effect of VN extract on ER stress in *db/db* mice

#### 4. 연구결과의 활용

- 본 연구는 한국에서 독자적으로 개발한 팥을 활용한 식품을 세계화하기 위해 우선 농진청에서 개발한 팥 품종이 비만, 지방간 질환 및 당뇨병을 개선하는 기능성을 가짐을 증명하기 위해 계획된 연구임
  
- 이러한 연구목적에 따라 본 연구에서는 농진청에서 개발한 야생팥의 추출물을 가지고 비만, 지방간 질환 및 당뇨병의 개선 기능성을 세포 및 질병동물모델에서 검증하여 야생팥이 비만, 지방간 질환 및 당뇨병을 개선하는 효능을 가짐을 증명하였음
  
- 이러한 연구결과를 바탕으로 팥을 원료로 한 우수한 한식식품으로 개발하여 한식의 세계화를 이루기 위해서는
  - 야생팥의 기능성 성분 중 어떤 성분이 비만, 지방간 및 당뇨병 개선하는 기능성 성분인지를 밝히고
  - 중국, 일본 및 동남아시아 유래의 팥 품종들의 비만, 지방간 질환 및 당뇨병 개선 기능성을 비교하여 우리나라에서 재배한 팥이 월등한 대사성질환 개선 기능성을 가짐을 입증함이 필요. 이를 위해서는 본 연구의 대사성질환 기능성 규명을 위한 실험적 전략을 활용하여 지속적으로 대사성질환 개선에 우수한 팥 품종을 개발할 필요가 있음.
  - 팥은 전통음식으로 팥 죽을 비롯하여 떡, 빵, 과자, 팥빙수 등 여러 가지 음식의 재료로 사용되고 있으며, 현대인의 건강식품으로 팥을 원료로 하는 식품의 개발이 시도되고 있어, 대사성질환 개선에 우수한 기능성을 가진 토종 팥을 원료로 한 팥 음식을 개발하고자 하는 연구가 지속적으로 필요함