

최 종 보 고 서

<p>(뒷면)</p> <p style="text-align: center;">T G F b e t a</p> <p style="text-align: center;">신호전달체계를 타겟으로 한 셀레늄의 새로운 항비만 기능성 규명 농림축산식품부</p> <p style="text-align: center;">↑ 3cm ↓</p>	<p style="text-align: right;">(앞면)</p> <table border="1" data-bbox="614 421 877 510"><tr><td style="text-align: center;">발간등록번호</td></tr><tr><td style="text-align: center;">11-1543000-000243-01</td></tr></table> <p style="text-align: center;">5cm ↓</p> <p style="text-align: center;">TGF-beta 신호전달체계를 타겟으로 한 셀레늄의 새로운 항비만 기능성 규명</p> <p style="text-align: center;">(18 포인트 고딕계열)</p> <p style="text-align: center;">(Anti-obese Function of Selenium via Regulation of TGF-beta Signaling Pathway)</p> <p style="text-align: center;">(17 포인트 명조계열)</p> <p style="text-align: center;">경남대학교 산학협력단</p> <p style="text-align: center;">(17 포인트 명조계열)</p> <p style="text-align: center;">↑ 9cm ↓</p> <p style="text-align: center;">농림축산식품부</p> <p style="text-align: center;">(17포인트 명조계열)</p> <p style="text-align: center;">↑ 4cm ↓</p>	발간등록번호	11-1543000-000243-01
발간등록번호			
11-1543000-000243-01			

주 의
(편집순서 8)

(15 포인트 고딕계열)

↑
6cm
↓

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “TGF-beta 신호전달체계를 타겟으로 한 셀레늄의 새로운 항비만 기능성 규명에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2013년 11월 10일

주관연구기관명 : 경남대학교 산학협력단

주관연구책임자 : 김 교 남

세부연구책임자 : 김 교 남

연 구 원 : 손 명 수

연 구 원 : 황 미 연

연 구 원 : 김 주 안

협동연구기관명 : ○ ○ ○

협동연구책임자 : ○ ○ ○

협동연구기관명 : ○ ○ ○

협동연구책임자 : ○ ○ ○

요 약 문

I. 제 목

TGF-beta 신호전달체계를 타겟으로 한 셀레늄의 새로운 항비만 기능성 규명

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 필요성

○ 경제적·사회적 발전과 함께 급속히 증가되고 있는 비만은 당뇨병·고지혈증·고혈압·관상동맥질환 등의 만성질환과 밀접한 연관성을 가지고 있을 뿐만 아니라 삶의 질 (Quality of Life) 에도 큰 영향을 미치는 것으로 알려짐. 특히 소아·청소년기의 비만은 대인기피 등 정신과적 질병까지 야기 시킬 수 있어 사회문제로도 대두되고 있는 상태임. 전지방세포 (preadipocyte)가 지방세포 (adipocyte)로 분화되는 과정인 adipogenesis는 비만 예방의 중요한 타겟으로 알려져 있음. 이러한 adipogenesis 과정에서 최근 transforming growth factor-β (TGF-β) 신호전달체계가 주요 조절 인자로 검토되고 있는 상황임. 하지만 비만에서 TGF-β 신호전달의 역할 및 그 작용기전에 대한 연구는 아직 시작 단계에 불과하며 특히 천연물 및 영양성분을 이용한 TGF-β 조절연구는 보고된 바 없음. 본 연구자는 선행연구에서 셀레늄의 한 형태인 셀레네이트가 (selenate) TGF-β 신호전달체계에 관여하여 adipogenesis 조절함을 확인하여 항비만 활성의 가능성을 제시한 바 있음. 본 연구를 통하여 TGF-β 신호전달을 통한 셀레네이트의 항비만 작용기전을 규명하고 in vivo 동물모델에서 항비만 활성을 평가하여 비만 연구에 있어 한 단계 도약할 수 있는 계기를 마련함은 물론 셀레늄의 비만 연구에서 세계 선도적 위치를 점하고자 함.

2. 연구의 중요성

○ **삶의 질 향상:** 비만은 고혈압, 당뇨병, 심혈관계 질환과 같은 만성질환과 밀접한 관련이 있을 뿐만 아니라 최근 증가하고 있는 소아·청소년 비만은 대인관계의 자신감 상실 및 이로 인한 정신과적 질병까지 야기하고 있음. 그러므로 비만을 예방하고 그 신호전달체계 및 작용기전을 체계적으로 규명하는 것은 국민건강 증진 및 삶의 질 향상에 도움이 됨.

○ **새로운 학문적 가치 도출:** 최근 급증하고 있는 비만에 대해 접근하고자 하는 학문적인 시도로서, 비만과 밀접하게 관련된 adipogenesis를 조절하는 셀레늄의 주요 신호전달체계를 규명할 수 있을 것으로 기대됨. 또한 셀레늄을 이용한 비만연구는 물론 형태에 따른 특이적 기

작을 찾아내는 시도는 지금까지 보고된 바 없는 새로운 시도이며, 그 작용기전을 규명한다면 비만연구에 있어 한 단계 도약할 수 있는 계기 마련 및 셀레늄의 비만 연구에 있어 선도적 연구 지위를 확보할 수 있음.

○ **경제발전 이바지:** 식품의 생리활성 물질 탐색은 국민의 건강 증진에 도움이 될 뿐만 아니라 비만으로 인해 발생하는 사회·경제적인 부담을 감소시켜 국가 경제 발전에도 도움이 될 수 있음. 또한 천연물 및 영양성분을 이용한 비만 연구는 향후 의약품 보조제 및 건강기능 식품으로 활용이 가능해 관련 산업 발전에도 도움을 줌.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 연구개발의 목표

- (1) TGF-beta 신호전달을 통한 셀레네이트의 항비만 작용기전 규명
- (2) *In vivo* 마우스 모델에서 셀레네이트의 항비만 활성평가

2. 연구개발의 내용

- (1) TGF-beta 신호전달에서 셀레네이트의 타겟 molecule을 탐색
- (2) 셀레네이트의 항비만 작용기전 규명
- (3) *In vivo* 마우스 모델에서 셀레네이트의 조직 특이적 작용평가
- (4) *In vivo* 마우스 모델에서 셀레네이트의 항비만 활성 평가

IV. 연구개발결과

○ 기존 암 연구에서 보고된 결과와 같이 셀레나이트 및 MSA는 3T3-L1 세포에서도 강한 세포독성을 나타냈으며 셀레네이트는 100 μ M 까지 어떠한 세포독성을 보이지 않았음. 이것은 셀레늄이 형태에 따라 특이적으로 작용할 수 있음을 의미함. 또한 3T3-L1 세포에서 50 μ M의 셀레네이트는 전지방세포 수준으로 adipogenesis를 억제하였으며, adipogenesis 과정에 중요하게 작용하는 관련 전사인자 및 marker 유전자의 발현을 억제하였음.

○ 셀레네이트를 C3H10T1/2 세포에 24시간 25, 50, 75, 그리고 100 μ M의 농도로 처리한 결과 유의적인 세포독성을 나타내지 않았으며, 세포독성이 나타나지 않은 1, 10, 25, 그리고 50 μ M 셀레네이트는 농도 의존적이며 유의적으로 C3H10T1/2 지방세포 분화를 억제하였음. 또한 adipogenesis의 전사인자인 C/EBP β 및 PPAR γ 의 발현수준 또한 효과적으로 감소시킴을 확인

○ Inhibitor study, KO 모델에서의 실험결과를 바탕으로 셀레네이트의 adipogenesis 조절에

있어 TGF- β 는 필수적이며 핵심적인 신호전달체계로 작용함. 또한 셀레네이트는 TGF- β 하위 신호전달에 관여하는 유전자의 발현을 증가시킴을 확인함

○ 고지방 식이를 이용한 *in vivo* 마우스 모델에서 셀레네이트는 체중 및 체지방 증가를 효과적으로 억제하였으며, 지방조직 특이적으로 TGF- β 를 발현시킴을 확인함

V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 셀레늄의 항비만 기능성의 검증 및 체계적인 기전연구를 통해 비만 연구에 있어 한 단계 도약하는 계기를 마련함은 물론 셀레늄의 비만연구에 있어 선도적 연구 지위 확보

○ 질병모델에 따른 셀레늄의 적용을 통한 기능성 소재로의 개발

○ 국내에서 이용이 아직까지 미진한 셀레늄의 신규 기능성 제품 개발을 통하여 비만 예방 및 치료 보조제 시장의 활성화

○ 비만으로 인한 건강상, 경제적인 손실을 감소시킴과 동시에 국가 산업발전에 기여

○ 비만연구 전문가 및 우수한 기초과학자 양성에 이바지 함

SUMMARY

(영문요약문)

Obesity is a major health problem and it also closely associated with metabolic disorders. Adipogenesis was defined as a differentiation process of preadipocyte into the adipocytes. Thus, to control of adipogenesis can be one of the most important strategies to prevent obesity. Selenium has been reported to possess potent antioxidant and pro-apoptotic properties. However, the precise biological role of selenium for prevention of obesity remains unknown. Here, we showed the potential role of selenium and its molecular mechanism underlying regulation of adipogenesis of 3T3-L1 cells. We found that selenate dose-dependently inhibited adipogenesis, accompanied by reduced level of adipogenic marker genes, such as PPAR γ and fatty acid synthase (FAS). This anti-adipogenic function of selenate was limited to the early phase of adipogenesis. Interestingly, selenate pretreated preadipocytes also displayed impaired adipogenesis, suggesting a role of selenate in fate determination of preadipocytes. To obtain further mechanistic insight into selenate's anti-adipogenic function, we then tested the effects of various kinase inhibitors such as SB431542 (a TGF- β receptor), SP600125 (a JNK), and LY294002 (a PI3K), on adipogenesis of selenate-treated preadipocytes. Among these inhibitors, SB431542 completely restored selenate-inhibited adipogenesis. Moreover, selenate treated 3T3-L1 cells exhibited a dose-dependent expression of genes involved in TGF- β signaling. Selenate was able to induce expression of TGF- β downstream genes in preadipocytes to a similar extent of recombinant TGF- β protein. These results implicate that the inhibitory action of selenate is strongly linked to the TGF- β 1 activation both in undifferentiated preadipocytes and the early phase of adipogenesis. We further investigated the anti-obese function of selenate *in vivo* mouse model and TGF- β also closely linked to the antiadipogenic role and function of selenate *in vivo*. Taken together, our results reveal a novel function of selenate in adipogenesis. This preventive and inhibitory role in adipogenesis appears to be specific to selenate, which is generally considered to have the least cancer preventive function among other forms of selenium. Since TGF- β is a multipotent cytokine affecting on a wide range of cellular processes, including inhibition of adipogenesis, our study also elucidates selenate as a new inorganic dietary activator of TGF- β signaling.

CONTENTS
(영 문 목 차)

1. Outline of this study08
가. Objectives08
나. Background08
다. Gravity12
라. Goal of this study13

2. Internal and external research trend14
가. Product and market trend14
나. Expected effect16

3. Results of this study19
가. Objectives19
나. Promotion strategy20
다. Results of this study20

4. Accomplishment28
가. Research accomplishment28
나. Quantitative accomplishment28

5. Outcome of this study29

6. Collected information and data29

7. References29

목 차

제1장 연구개발과제의 개요	08
가. 연구의 목적	08
나. 연구의 배경 및 필요성	08
다. 연구의 중요성	12
라. 연구개발 목표 및 내용	13
제2장 국내외 기술개발 현황	14
가. 제품생산 및 시장현황	14
나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과	16
제3장 연구개발수행 내용 및 결과	19
가. 연차별 연구개발의 목표 및 내용	19
나. 추진체계	20
다. 연구결과 및 내용	20
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	28
가. 연구달성도	28
나. 정량적 목표달성도	28
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	29
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	29
제7장 참고문헌	29

제 1 장 연구개발과제의 개요

가. 연구의 목적

○ 경제적·사회적 발전과 함께 급속히 증가되고 있는 비만은 당뇨병·고지혈증·고혈압·관상동맥질환 등의 만성질환과 밀접한 연관성을 가지고 있을 뿐만 아니라 삶의 질(Quality of Life)에도 큰 영향을 미치는 것으로 알려짐. 특히 소아·청소년기의 비만은 대인기피 등 정신과적 질병까지 야기 시킬 수 있어 사회문제로도 대두되고 있는 상태임. 전지방세포(preadipocyte)가 지방세포(adipocyte)로 분화되는 과정인 adipogenesis는 비만 예방의 중요한 타겟으로 알려져 있음. 이러한 adipogenesis 과정에서 최근 transforming growth factor- β (TGF- β) 신호전달체계가 주요 조절 인자로 검토되고 있는 상황임. 하지만 비만에서 TGF- β 신호전달의 역할 및 그 작용기전에 대한 연구는 아직 시작 단계에 불과하며 특히 천연물 및 영양성분을 이용한 TGF- β 조절연구는 보고된 바 없음. 본 연구자는 선행연구에서 셀레늄의 한 형태인 셀레네이트가(selenate) TGF- β 신호전달체계에 관여하여 adipogenesis 조절함을 확인하여 항비만 활성의 가능성을 제시한 바 있음. 본 연구를 통하여 TGF- β 신호전달을 통한 셀레네이트의 항비만 작용기전을 규명하고 *in vivo* 동물모델에서 항비만 활성을 평가하여 비만 연구에 있어 한 단계 도약할 수 있는 계기를 마련함은 물론 셀레늄의 비만 연구에서 세계 선도적 위치를 점하고자 함.

나. 연구의 배경 및 필요성

○ 만병의 근원으로 불리며 삶의 질(Quality of Life)을 갉아먹는 비만(obesity)이 전 세계적으로 급속히 늘어나고 있는 추세로 우리나라만 하더라도 성인 비만이 해마다 40 만명씩 늘고 있어 심각한 사회 문제로 대두되고 있음. 비만이 증가하는 이유는 신체활동의 저하, 식습관의 변화, 스트레스 등 다양한 환경적인 변화와 유전적 요인이 주요 원인으로 알려짐. 비만이란 단순한 체중의 증가 보다는 지방세포의 비정상적인 증가, 즉 지방축적증(adiposity)에 의해 체중의 증가 상태를 말함.

○ 최근 통계자료에 의하면 선진국을 비롯한 대부분의 개발도상국에서도 비만 유병률이 크게 증가하고 있음. 2007년 OECD에서 발표한 “Health at a glance”를 보면 대한민국 성인 비만인구는 3.5%로(그림 1A) 다른 OECD 국가들에 비해 상대적으로 낮은 편이나 같은 해 세계보건기구 WHO가 발표한 자료를 보면 성인 과체중 인구자료에서 비만인구가 비슷했던 일본이 22.6%를 보인데 반해 대한민국은 42.0%로 유럽 국가들과 비슷한 수준을 나타냄(그림 1B). 이것은 대한민국에 잠재된 비만인구의 수가 다른 아시아 국가들에 비해 월등히 높은 것을

의미하며 빠른 시일 내 비만인구가 유럽 국가의 수준으로 증가할 수 있음을 의미함. 또한 소아·청소년의 비만 유병률이 꾸준한 증가세를 나타내 사회적 문제로 대두됨.

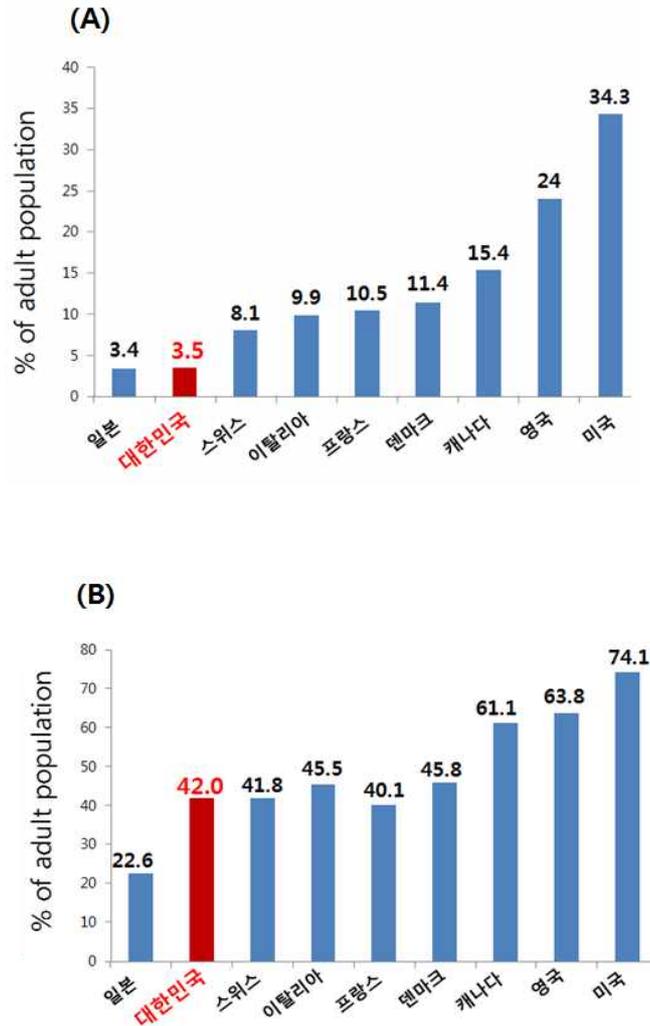


그림 1. OECD 국가 성인 비만율(A) 및 성인 과체중 비율(B).

○ 전지방세포가 지방세포로 분화되는 과정인 adipogenesis는 특이적 전사인자 (transcriptional factor)의 발현과 체계적 신호전달 과정을 통해 진행됨 (그림 2). 이러한 adipogenesis는 지방세포 수의 증가와 밀접한 관련이 있는데 특히 소아 및 청소년기는 지방세포 크기 및 수가 함께 증가하고 관련기관들이 형성되는 시기로 adipogenesis의 조절은 비만 예방에 있어 중요한 의미를 가짐. 또한 최근 보고된 임상 연구결과에 따르면 성인에게서도 매년 약 10%의 지방세포가 교체되어 항상성을 유지하는 것으로 알려짐. 그러므로 전지방세포가 지방세포로 분화되는 과정인 adipogenesis의 조절은 소아·청소년은 물론 성인 비만의 예방에서도 매우 중요한 타겟이라 할 수 있음.

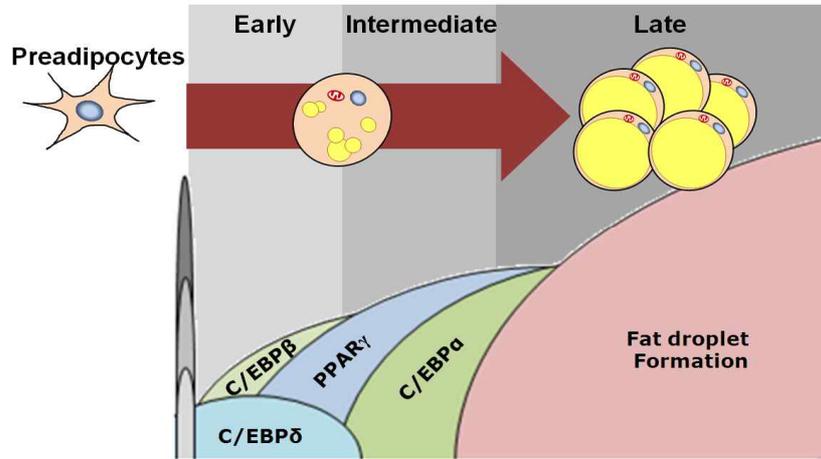


그림 2. Adipogenesis 과정의 특이적 전사인자의 발현.

○ Adipogenesis에 있어 전사인자들을 직·간접적으로 조절하는 신호전달체계들이 다수 보고되었는데 그 중 대표적인 것이 TGF-β 신호전달체계임 (그림 3). TGF-β는 다양한 기능을 가진 cytokine으로서 세포질에 존재하는 전사인자인 Smads를 통해 TGF-β 관련 유전자의 발현을 조절하여 세포의 성장과 분화, 염증반응, 세포 사멸프로그램 및 세포의 matrix 합성에 밀접한 관련이 있는 것으로 알려짐.

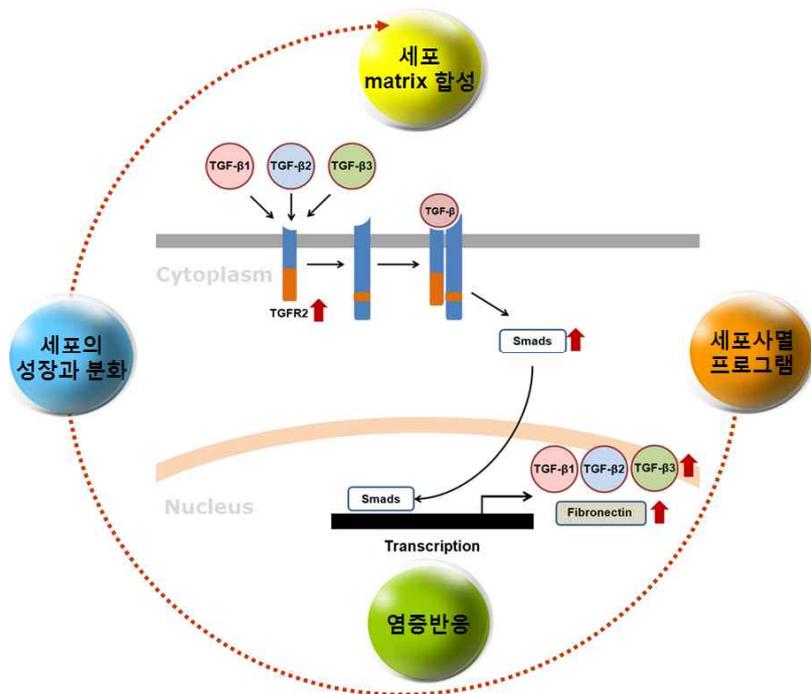


그림 3. TGF-β 신호전달체계와 기능.

○ 최근 연구에 따르면 지방세포에서 TGF-β 처리나 Smad3의 ectopic expression은 adipogenesis를 억제하고, 이와는 반대로 Smad3의 발현을 억제시키면 dominant negative TGF-β receptor 세포모델에서 adipogenesis 진행을 가속화시키는 것으로 나타남 (Choy *et al.* JBC 2003). 이러한 연구결과는 TGF-β가 adipogenesis 조절을 통한 비만예방에 있어 중요한 신호전달체계를 확인시켜 줌. 하지만 비만에 있어 TGF-β 신호전달의 역할 및 그 작용기전에 대한 연구는 시작 단계에 불과하며 체계적인 연구가 절실히 필요함.

○ TGF-β는 대부분의 세포에 존재하며 다양한 기능을 가지고 있어 조절은 질병의 예방 및 치료에 중요한 의미를 가짐. 그러나 합성의약품에 의한 TGF-β의 과도한 억제 및 증가는 심각한 부작용을 초래할 수 있음. 실제로 TGF-β의 과도한 억제는 암 발생 초기 암 성장을 촉진할 뿐만 아니라 손상된 조직이나 상처의 회복을 저해함. 반대로 TGF-β의 과도한 증가는 후기 암의 진행과 전이를 촉진하며 관절염, 간질 등을 유발한다는 보고도 있어 합성의약품을 이용한 TGF-β 조절은 안전성 문제로 사용에 제한적임. 이에 반해 천연물 및 영양성분은 비교적 안전하여 TGF-β 조절자로 사용이 가능하나 아직까지 비만에 있어 천연물 및 영양성분을 이용한 TGF-β 조절연구는 보고된 바 없는 상태임.

○ 셀레늄 (selenium)은 필수 미량 무기질로서 육류, 해산물, 브로콜리, 그리고 마늘 등에 함유되어 있으며 크게 무기형과 유기형으로 구분할 수 있음 (표 1). 셀레늄은 항암, 항산화, 항당뇨 등 다양한 생리활성이 보고되었으나 비만과 관련한 연구는 전무한 실정임. 여러 형태의 셀레늄 중 셀레나이트, 셀레네이트, 그리고 셀레노메티오닌에 대한 암 연구가 비교적 많이 이루어진 상태이며, 세 가지 형태의 셀레늄 중 셀레네이트를 제외한 셀레나이트 및 셀레노메티오닌은 강력한 항암활성을 나타내는 것으로 보고됨. 셀레늄은 여러 형태가 존재하며 이에 따른 질병모델에서의 생리활성 차이가 기대되며 보다 세부적인 연구가 요구됨.

표 1. 셀레늄의 형태에 따른 구분

	무기형 셀레늄 (Inorganic selenium)	유기형 셀레늄 (Organic selenium)
종류	셀레나이드 (Selenide, Na ₂ Se) 셀레나이트 (Selenite, Na ₂ SeO ₃) 셀레네이트 (Selenate, Na ₂ SeO ₄)	셀레노메티오닌 (Selenomethionine, SeMet) 셀레노시스테인 (Selenocysteine, Sec) 메틸셀레노시스테인 (Methylselenocysteine, MSC)

○ 또한 셀레늄은 황 (sulphur)과 유사한 생리작용을 하는 것으로 보고되었는데 그 예로 메티오닌,시스테인 등의 아미노산 합성 시 황은 셀레늄으로 대체되어 셀레노메티오닌이나 셀레노시스테인을 형성하기도 하며 같은 수의 최외곽 전자를 가지는 등 유사한 전자구조를 보임. 국내에서 셀레늄 섭취 권장량은 아직 설정되지 않은 상태지만, 미국 dietary reference

intakes (DRIs)는 일반 성인 일일 55 µg 그리고 세계보건기구 WHO는 일일 50-200 µg 섭취를 권장하고 있음. 또한 일일 3.3-6.9 mg 이상 섭취 시 말초신경저하, 손톱, 모발 손상증인 셀레늄 중독증 (selenosis)을 유발한다고 보고하였음. 그러므로 셀레늄 연구에 있어 황과 유사한 작용인지 확인하는 과정은 꼭 필요하며 셀레늄 중독증을 고려한 생리학적 농도 (physiological concentration)의 적용 또한 중요한 사항임.

다. 연구의 중요성

1) 삶의 질 향상

○ 비만은 고혈압, 당뇨병, 심혈관계 질환과 같은 만성질환과 밀접한 관련이 있을 뿐만 아니라 최근 증가하고 있는 소아·청소년 비만은 대인관계의 자신감 상실 및 이로 인한 정신과적 질병 까지 야기하고 있음. 그러므로 비만을 예방하고 그 신호전달체계 및 작용기전을 체계적으로 규명하는 것은 국민건강 증진 및 삶의 질 향상에 도움이 됨.

2) 새로운 학문적 가치 도출

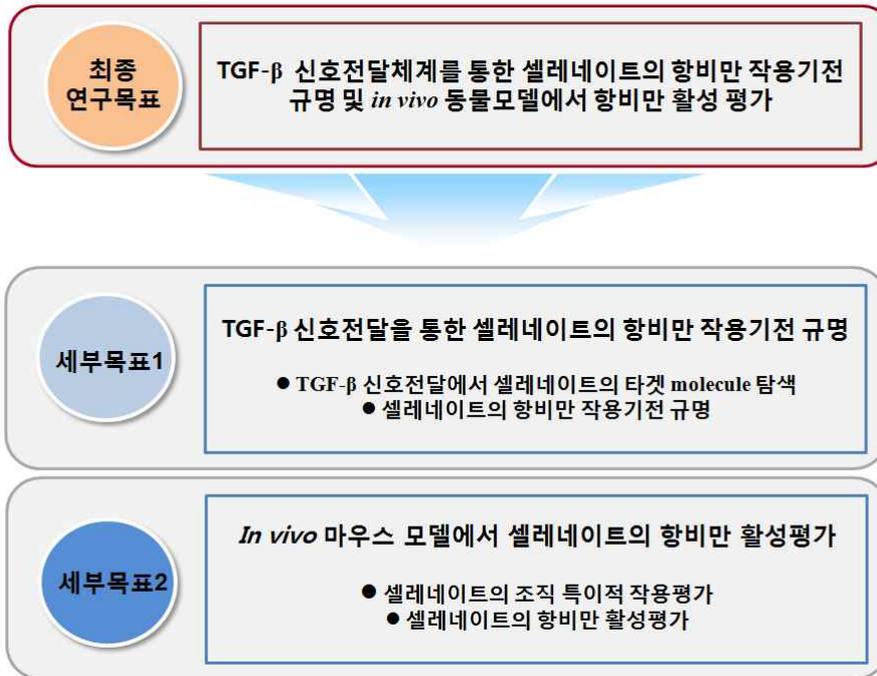
○ 최근 급증하고 있는 비만에 대해 접근하고자 하는 학문적인 시도로서, 비만과 밀접하게 관련된 adipogenesis를 조절하는 셀레늄의 주요 신호전달체계를 규명할 수 있을 것으로 기대 됨. 또한 셀레늄을 이용한 비만연구는 물론 형태에 따른 특이적 기작을 찾아내는 시도는 지금 까지 보고된 바 없는 새로운 시도이며, 그 작용기전을 규명한다면 비만연구에 있어 한 단계 도약할 수 있는 계기 마련 및 셀레늄의 비만 연구에 있어 선도적 연구 지위를 확보할 수 있음.

3) 경제발전 이바지

○ 식품의 생리활성 물질 탐색은 국민의 건강 증진에 도움이 될 뿐만 아니라 비만으로 인해 발생하는 사회·경제적인 부담을 감소시켜 국가 경제 발전에도 도움이 될 수 있음. 또한 천연물 및 영양성분을 이용한 비만 연구는 향후 의약품 보조제 및 건강기능식품으로 활용이 가능해 관련 산업 발전에도 도움을 줌.

라. 연구개발 목표 및 내용

1) 연구개발의 최종목표



제 2 장 국내외 기술개발 현황

가. 제품생산 및 시장 현황

1) 국내 현황

○ 1973년 셀레늄이 대표적인 항산화 효소인 글루타티온 퍼옥시다제 (glutathione peroxidase)의 필수성분으로 밝혀지면서 1978년 세계보건기구 (WHO)는 셀레늄을 필수영양소로 인정하였음. 이후 셀레늄은 ‘20세기의 가장 빛나는 영양 원소’라는 이름을 얻으며 활발한 연구가 진행되어 왔음.

○ 우리나라에서는 단일 셀레늄 형태로 판매되는 제품은 전무한 상태이며 단일 셀레늄 형태의 제품은 대부분 미국 수입에 의존하고 있음. 대다수의 셀레늄 제품은 항산화 기능을 내세운 복합 비타민 제품이나 영양제임. 대표적으로 LG생명과학의 엘팜 큐텐트리플 (비타민 A, E, C, 셀레늄 복합형태), 일동제약의 코큐텐 (코엔자임 Q10, 비타민 A, B, C, E, 셀레늄 복합형태), 일양약품의 트리플 퓨어 (정제어유, 비타민 E, 아세로라 추출분말, 건조효모 복합형태)등을 들 수 있음 (그림 4).



그림 4. 셀레늄 함유 항산화 복합 비타민 제품

○ 우리나라 비타민 시장은 2011년 기준 2500억원 규모로 알려져 있으며 비타민 C가 40% (약 1200억원)의 시장을 점유하고 있음. 비타민 시장에서 복합 비타민이나 영양제 제품의 시장 점유율은 10% 미만 (250억원)이며 이중 셀레늄 함유 복합 비타민 시장은 미미한 수준으로 생각 됨.

○ 셀레늄 시장이 협소한 이유는 항산화 기능성에 국한된 보조 소재로만 이용되고 셀레늄의 신기능성 연구가 뒷받침 되지 못해 신규 시장을 형성하지 못한 것이 주된 이유로 판단됨.

○ 따라서 본 연구 과제를 통해 셀레늄의 새로운 항비만 기능성을 규명하고 그 작용기전을 확립한다면 셀레늄이 건강기능식품 및 보조 의약품 시장 확대에 크게 이바지 할 수 있을 뿐만 아니라 화장품에 비롯한 다양한 신규시장 형성에 활력소가 될 것으로 기대됨.

2) 해외 현황

○ 일본의 경우 셀레늄관련 상품을 판매하는 회사만 30여사에 달하며, 5억엔 시장을 차지하는 것으로 알려져 있음. 시장 규모는 우리나라에 비해 크지만 우리나라와 유사한 제품군으로 이루어져 있으며 항산화 기능성에 국한된 제품들이 대부분임.

○ 미국의 경우 셀레늄은 미국의 전체 건강기능식품 시장규모인 200억 달러 (한화 20조원 규모)의 약 8%인 16억 달러 (한화 1.6조원)의 시장규모를 가지고 있음. 보조 의약품 및 화장품 시장까지 포함하면 그 규모는 더 클 것으로 생각됨.

○ 미국의 경우 셀레늄이 보조 비타민 소재로만 이용되는 것이 아니라 다양한 기능성 (항산화, 항염, 면역증진, 숙취해소, 피부미용, 피로회복 등)의 셀레늄 건강기능식품, 건강보조식품, 일반식품은 물론 화장품 및 의약품 보조제까지 다양하고 큰 시장을 형성하고 있음 (그림 5).



그림 5. 다양한 기능성의 셀레늄 제품군 (미국)

○ 따라서 소규모의 한정된 셀레늄 시장을 형성하고 있는 우리나라의 경우 셀레늄의 새로운 기능성을 규명하고 작용기전을 확립하여 새로운 제품개발에 노력을 기울인다면 우리나라

는 물론이며 가까운 일본시장까지 진출하여 셀레늄 시장의 선두 지위를 확보할 수 있을 것으로 판단됨.

나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

○ 본 연구 과제를 통해 셀레늄의 새로운 항비만 기능을 규명하고 그 작용기전을 확립한다면 셀레늄이 건강기능식품 및 보조 의약품 시장 확대에 크게 이바지 할 수 있을 뿐만 아니라 화장품에 비롯한 다양한 신규시장 형성에 활력소가 될 것으로 기대됨. 다양한 셀레늄 시장을 보유한 미국시장을 벤치마킹하는 것 또한 필요함.

2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

산업화 기준 항 목	1차년도	사업종료 후 1년	사업종료 후 2년	사업종료 후 3년	사업종료 후 4년	계
직접 경제효과	0	30	200	400	800	1,430
경제적 파급효과	0	50	400	800	2,000	3,250
부가가치 창출액	0	100	400	800	1,000	2,300
합 계	0	180	1,000	2,000	3,800	6,980

- 1) 직접 경제효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 제품의 매출액 추정치
- 2) 경제적 파급효과 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통한 농가소득효과, 비용절감효과 등 추정치
- 3) 부가가치 창출액 : 본 연구과제 개발기술의 산업화를 통해 기대되는 수출효과, 브랜드가치 등 추정치

다. 3P(특허, 논문, 제품)분석을 통한 연구추진계획

1) 특허분석 범위

대상국가	대한민국
특허 DB	특허정보원 DB (www.kipris.or.kr), 네이버 특허검색 (academic.naver.com), 특허청 특허로 (www.patent.go.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목 및 초록

2) 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	셀레늄을 이용한 항비만 기능성 소재개발	
Keyword	셀레늄 항비만 소재	
검색건수	7	
유효특허건수	0	
핵심특허 및 관련성	특허명	-
	보유국	-
	등록년도	-
	관련성(%)	-
	유사점	-
	차이점	-

3) 논문분석 범위

대상국가	미국, 일본, 유럽
논문 DB	pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), 국회도서관(www.nanet.go.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목, 초록 및 키워드

4) 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	셀레늄을 이용한 항비만 기능성 소재개발	
Keyword	Selenium and obesity (셀레늄 항비만 소재)	
검색건수	142	
유효논문건수	18	
핵심논문 및 관련성	논문명	AMP-activated kinase regulates adipocyte differentiation process in 3T3-L1 adipocytes treated with selenium
	학술지명	Journal of Life Science
	저자	Song Yi Park, Jin-Taek Hwang, Yun-Kyoung Lee, Young-Min Kim, and Ock Jin Park
	게재년도	2009
	관련성(%)	30%
	유사점	○ 셀레늄의 형태중 셀레네이트가 AMP-activated kinase (AMPK)의 조절을 통해 adipogenesis의 억제 및 mature fat cell의 apoptosis를 유도하여 비만을 예방할 수 있음을 제시
	차이점	○ 해당 연구는 adipogenesis 과정에서 AMPK의 역할에 중점을 둔 논문으로서 셀레네이트의 항비만 활성을 평가하고 작용기전을 체계적으로 규명하고자 하는 본 연구와 차별됨. ○ Adipogenesis과정에 특이적인 과학적 증거가 많이 알려져 있음에도 불구하고 단순히 지방세포를 염색한 결과만으로 adipogenesis를 억제했다고 하기에 부족하다고 판단됨. ○ 셀레네이트 100-400 μM은 생리학적으로 적용이 어려운 고농도 수준으로 보여지며 <i>in vivo</i> 동물실험 및 임상연구 적용 시 독성을 나타낼 수 있을 것으로 예상됨. (본 연구자의 연구에서 사용된 셀레네이트 1-50μM 수준과 차별됨.)

5) 특허 분석결과를 바탕으로 한 연구계획

○ 국내 출원/등록된 기존특허를 분석한 결과 셀레늄의 항비만 기능성에 대한 특허는 전무한 실정이며 본 연구과제에서는 셀레늄의 새로운 항비만 기능성의 규명과 작용기전 확립에 주안점을 두고 있음.

○ 셀레늄의 항비만 기능성과 작용기전이 확립된다면 추후 셀레늄이 풍부한 천연물이나 식품소재를 다양하게 활용할 수 있을 것으로 판단되며 연구결과는 국내외 특허 출원/등록 할 계획임.

6) 논문 분석결과를 바탕으로 한 연구계획

○ 기존에 발표된 논문은 셀레늄의 여러 형태 중 특히 셀레나이트에 편중된 연구가 대부분이며 체계적으로 여러 형태의 셀레늄에 대하여 항비만 활성을 평가하고 그 작용기전을 규명하지 못하였음.

○ 또한, 셀레네이트를 사용한 논문역시 생리학적으로 적용이 어려운 고농도 수준 (100~400 μM)으로 보여지며 *in vivo* 동물실험 및 임상연구 적용 시 독성을 나타낼 수 있을 것으로 예상됨.

7) 제품 및 시장 분석결과를 바탕으로 한 연구계획

○ 국내 및 국외시장 분석결과, 우리나라에서는 단일 셀레늄 형태의 제품은 전무한 상태이며 대부분 미국 수입에 의존하고 있음. 또한 대다수의 제품이 복합 비타민 제품이나 영양제 형태의 한정된 셀레늄 시장을 형성하고 있음. 셀레늄 시장이 협소한 이유는 항산화 기능성에 국한된 보조 소재로만 이용되고 신기능성 연구가 이뤄지지 못해 신규 시장을 형성하지 못한 것이 주된 이유로 판단됨.

○ 따라서 본 연구 과제를 통해 셀레늄의 새로운 항비만 기능성을 규명하고 그 작용기전을 확립한다면 셀레늄이 건강기능식품 및 보조 의약품 시장 확대에 크게 이바지 할 수 있을 뿐만 아니라 화장품을 비롯한 다양한 신규시장 형성에 활력소가 될 것으로 기대됨. 이는 더 나아가 일본시장까지 진출하여 셀레늄 시장의 선두 지위를 확보할 수 있을 것으로 판단됨.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

가. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용						
1 차 년 도	2012 - 2013	TGF-β 신호전달을 통한 켈레네이트의 항비만 작용기전 규명	<p>■ TGF-β 신호전달에서 켈레네이트의 타겟 molecule을 탐색</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ TGF-β 신호전달체계를 통한 켈레네이트의 항비만 활성의 타겟 molecule을 탐색하기 위하여 TGF-β 신호전달관련 유전자 및 단백질 발현수준을 분석함. <table border="1"> <thead> <tr> <th>TGF-β 신호전달 초기</th> <th>TGF-β 신호전달 중기</th> <th>TGF-β 신호전달 후기</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>○ TGF-β1, -β2, -β3 ○ TGF-β receptor 1, receptor 2, receptor 3</td> <td>○ Smad2, Smad3, Smad4</td> <td>○ Fibronectin ○ Collagenase</td> </tr> </tbody> </table> <p>■ 켈레네이트의 항비만 작용기전 규명</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Recombinant TGF-β를 이용하여 TGF-β 조절능력을 켈레네이트와 비교 ○ TGF-β 신호전달체계를 통한 켈레네이트의 작용이 타겟 molecule에 의한 것인지 확인하기 위하여 타겟 molecule을 shRNA로 knockdown 시킨 모델을 이용하여 타겟 molecule을 규명하고 신호전달체계 확립 <p style="text-align: center;">연구 방법</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자 발현수준 분석 : Reverse transcriptase PCR (RT-PCR), Quantitative PCR (qPCR) ○ 단백질 발현수준 분석 : Western blot (WB), Immunofluorescence staining (IF) ○ Recombinant protein assay ○ Oil Red O (ORO) 염색법 ○ Lentiviral short hairpin RNA (shRNA) : shRNA 기술은 기존 연구에 활용해 왔으며 적용에 어려움이 없음. 	TGF-β 신호전달 초기	TGF-β 신호전달 중기	TGF-β 신호전달 후기	○ TGF-β1, -β2, -β3 ○ TGF-β receptor 1, receptor 2, receptor 3	○ Smad2, Smad3, Smad4	○ Fibronectin ○ Collagenase
		TGF-β 신호전달 초기	TGF-β 신호전달 중기	TGF-β 신호전달 후기					
○ TGF-β1, -β2, -β3 ○ TGF-β receptor 1, receptor 2, receptor 3	○ Smad2, Smad3, Smad4	○ Fibronectin ○ Collagenase							
<i>In vivo</i> 마우스 모델에서 켈레네이트의 항비만 활성평가	<p>■ <i>In vivo</i> 마우스 모델에서 켈레네이트의 조직 특이적 작용평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 조직에 따른 켈레네이트의 작용을 알아보기 위하여 <i>in vivo</i> 마우스 모델에서 사주간 켈레네이트 경구투여 후 지방 (피하지방, 갈색지방, 내장지방, 부고환 지방), 간, 비장, 신장, 위 그리고 장 조직을 적출하여 TGF-β 신호전달 유전자 및 단백질의 발현양상을 분석함. <p>■ <i>In vivo</i> 마우스 모델에서 켈레네이트의 항비만 활성평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 켈레네이트의 항비만 활성을 평가하기 위하여 사주간 켈레네이트 경구투여 후 체중 및 지방조직의 변화를 측정하고 지방조직에서 adipogenesis 관련 전사인자, marker 유전자 및 단백질 발현수준을 분석함. <p style="text-align: center;">연구 방법</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자 발현수준 분석 : RT-PCR, qPCR ○ 단백질 발현수준 분석 : Western blot, Immunohistochemistry (IHC, 조직염색법) ○ 체중, 지방조직의 변화를 측정 								

나. 추진체계

	세부 추진내용	세부 추진일정											
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
1 단계	TGF-β 신호전달체계 타겟 molecule의 탐색			3개월									
	Antibody neutralization 및 recombinant protein assay를 통한 타겟 molecule의 확인			4개월									
2 단계	<i>In vivo</i> 마우스 모델에서 셀레네이트의 조직 특이적 작용 평가 (Bioavailability)					5개월							
	<i>In vivo</i> 마우스 모델에서 셀레네이트의 항비만 활성 평가									5개월			

다. 연구결과 및 내용

연구결과 그림 6B, 6C, 9A, 9B, 10A, 11은 선행연구를 통해 도출한 결과이며, 해당결과는 BBRC 426: 551-557(2012)에 게재되었음을 밝힙니다.

1) 3T3-L1 전지방세포에 미치는 셀레늄의 세포독성

○ 기존 연구에서 높은 생리활성을 보인 세 가지 형태의 셀레늄, 무기형의 셀레나이트, 셀레네이트, 그리고 유기형의 메틸셀레닉산 (MSA)이 본 선행연구에 이용되었음. 여러 농도의 (0, 1, 10, 25, 50 그리고 100 μM)의 셀레나이트, 셀레네이트 그리고 MSA를 3T3-L1 전지방세포에 24시간 처리한 결과 셀레네이트는 100 μM 이하의 농도에서 어떠한 세포독성도 보이지 않았으나 셀레나이트는 20 μM 이상에서 MSA는 5 μM 이상에서 현저한 세포독성을 나타냈음 (데이터 생략).

▶ **결과의 요약:** ① 기존 암 연구에서 보고된 결과와 일치하는 것으로 셀레네이트를 제외한 셀레나이트 및 MSA는 강한 세포독성을 유발하였으며 이 결과는 셀레늄의 형태에 따라 다양한 질병모델에서 생리활성의 차이를 나타낼 수 있음을 의미함. ② 이후 실험에서는 셀레네이트가 사용됨.

2) 셀레네이트가 3T3-L1 세포의 adipogenesis에 미치는 영향

○ 3T3-L1 전지방세포를 adipogenic cocktail (dexamethasone, 1-methyl 3-isobutylxanthine, and insulin, DMI)로 분화를 유도하면서 1, 10, 25, 50, 그리고 100 μM의 셀레네이트를 6일간 처리하였음 (그림 6A). 분화유도 6일째, Oil Red O (ORO) 염색법으로

농도별 셀레네이트의 adipogenesis 억제 활성을 측정한 결과 농도 의존적으로 adipogenesis를 억제하였으며 특히 50 μM 의 셀레네이트는 전지방세포 수준으로 3T3-L1의 분화를 억제하였음 (그림 6B, 6C). 또한 황과 유사한 작용에 기인했는지 알아보기 위해 같은 농도의 sulfate를 비교군으로 시험한 결과 sulfate는 3T3-L1의 분화에 아무런 영향을 미치지 않았음 (데이터 생략).

셀레네이트가 adipogenesis에서 중요하게 작용하는 전사인자에 미치는 영향을 알아보기 위하여 초기 진행과정을 유도하는 C/EBP β 전사인자의 발현을 RT-PCR로 분석한 결과 C/EBP β 의 발현을 농도 의존적으로 억제시켰으며 전지방세포 marker 유전자인 Pref-1 (Preadipocyte factor-1; Delta-like protein 1, Dlk1 이라고도 불림)의 발현을 지속시켰음. 또한 중기단계의 대표적 전사인자인 PPAR γ , C/EBP α 와 후기과정의 marker 유전자인 FAS (fatty acid synthase)의 발현을 현저히 감소시켰음 (그림 6D).

▶ **결과의 요약:** ① 3T3-L1 세포의 adipogenesis 억제를 통하여 셀레네이트의 항비만 agent로서의 가능성을 확인함과 동시에 황의 유사작용에 의한 효과가 아님을 확인함. ② 셀레네이트는 일련의 adipogenesis 과정 유도에 중요하게 작용하는 전사인자들의 (C/EBP β , PPAR γ , C/EBP α , 그리고 FAS) 발현을 억제하였음.

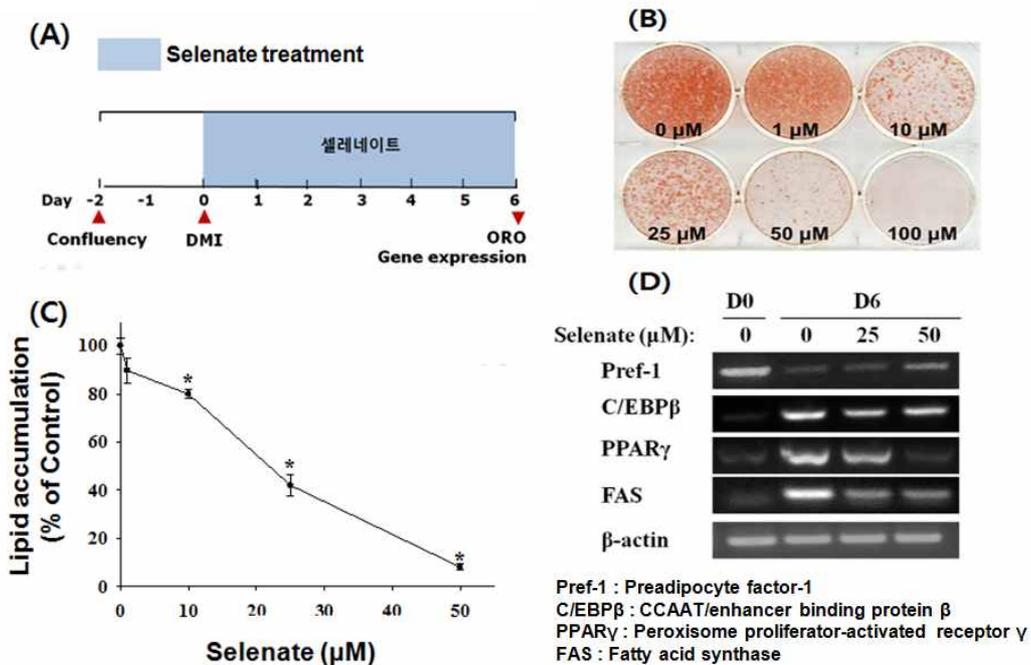


그림 6. 셀레네이트 처리가 3T3-L1 세포의 adipogenesis 및 관련 전사인자에 미치는 영향.

3) Adipogenesis 초기단계 특이적인 셀레네이트의 작용

○ Adipogenesis는 초기, 중기, 그리고 후기 3단계의 과정으로 구분됨. 셀레네이트가 adipogenesis 어느 단계에 특이적으로 작용하는지 알아보기 위하여 처리기간을 달리하여 실험하였음 (그림 5A). 그 결과 셀레네이트는 초기단계 (처리 4, 5, 6, 그리고 7번)에서 가장 강력하게 adipogenesis를 억제하였음 (그림 7B). 또한 50 μM 셀레네이트 처리 2일후 adipogenic 전사인

자인 C/EBP β , PPAR γ , C/EBP α 와 지방세포 특이적 호르몬인 leptin의 발현 수준을 quantitative PCR (qPCR)로 분석한 결과 셀레네이트는 PPAR γ , C/EBP α , 그리고 leptin의 발현을 현저하게 감소시켰음 (그림 7C).

▶ **결과의 요약:** ① 셀레네이트는 adipogenesis 초기단계에 특이적으로 작용하는 것으로 생각됨. ② 셀레네이트는 일련의 adipogenesis 과정에 중요하게 작용하는 전사인자들 (PPAR γ , C/EBP α) 및 지방세포 특이적 호르몬인 leptin의 발현을 억제하였음.

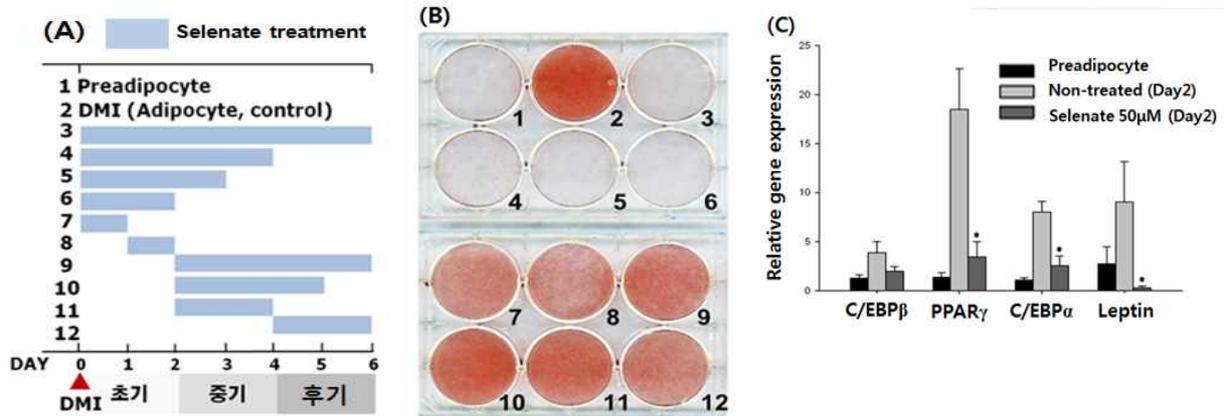


그림 7. Adipogenesis 단계에 따라 처리기간을 달리한 셀레네이트가 adipogenesis에 미치는 영향.

4) 셀레네이트가 C3H10T1/2 세포의 adipogenesis에 미치는 영향

○ 그림 7의 결과에 따라 셀레네이트가 adipogenesis 초기에 작용하여 억제한다는 결과를 얻을 수 있었음. 따라서 C3H10T1/2 세포를 이용하여 adipocyte로 분화를 유도 하면서 day -1 에서 day 0까지 24시간 동안 셀레네이트를 처리 하였음. 분화유도 6일째, Oil Red O (ORO) 염색법으로 농도별 셀레네이트의 adipogenesis 억제 활성을 측정 한 결과 농도 의존적으로 adipogenesis를 억제하였으며 특히 50 μ M의 셀레네이트는 80%에 가까운 adipogenesis 억제 효과를 나타냈음 (그림 8A, 8B). 또한 adipogenesis에 중요하게 작용하는 전사인자인 PPAR γ 와 C/EBP β 역시 농도 의존적으로 감소시켰음 (그림 8C).

▶ **결과의 요약:** ① 셀레네이트는 3T3-L1 세포 및 C3H10T1/2 세포의 adipogenesis를 효과적으로 억제함으로써 우수한 항비만 소재로서의 가능성을 보임. ② 셀레네이트는 일련의 adipogenesis 과정 유도에 중요하게 작용하는 전사인자들의 발현을 효과적으로 억제하였음.

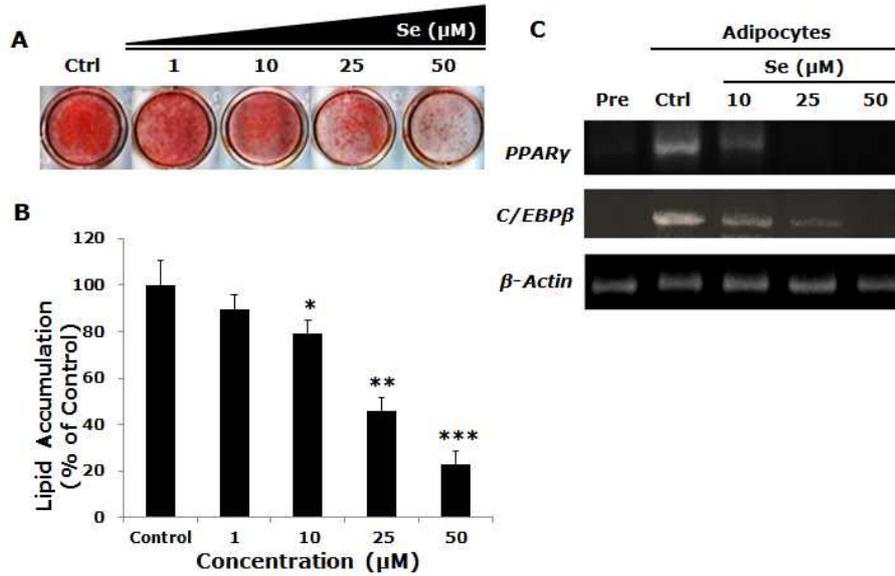


그림 8. 셀레네이트 처리가 C3H10T1/2 세포의 adipogenesis 및 관련 전사인자에 미치는 영향.

5) 신호전달체계 스크리닝을 위한 inhibitor assay

○ 셀레네이트가 어떠한 신호전달체계를 통하여 adipogenesis를 억제하는지 알아보기 위하여 50 μM의 셀레네이트와 예상되는 신호전달체계의 kinase inhibitor (TGF-β receptor inhibitor - SB431542, JNK inhibitor - SP600125, ERK inhibitor - U0126, PI3K inhibitor - LY294002) 들을 각각 분화유도 전 24시간 처리하였음. 분화 6일째 ORO 염색법으로 adipogenesis 억제 활성을 분석한 결과 50 μM의 셀레네이트 처리는 전지방세포 수준으로 adipogenesis를 억제하였으나 (대조군 대비 8%의 지방축적), 10 μM SB431542 또는 10 μM U0126는 셀레네이트의 작용을 80%이상 저해하였음 (대조군 대비 각각 82%, 85%의 지방축적을 보임) (그림 9A, 9B).

▶ **결과의 요약:** ① 셀레네이트는 TGF-β 또는 ERK 신호전달체계를 통하여 adipogenesis를 억제함. ② ERK 신호전달체계를 TGF-β 하위 신호전달체계인 TGF-β Smad independent 신호전달체계와 함께 작용되므로, 셀레네이트의 특이적 adipogenesis 조절에 관여하는 핵심적인 신호전달체계는 TGF-β로 추정됨.

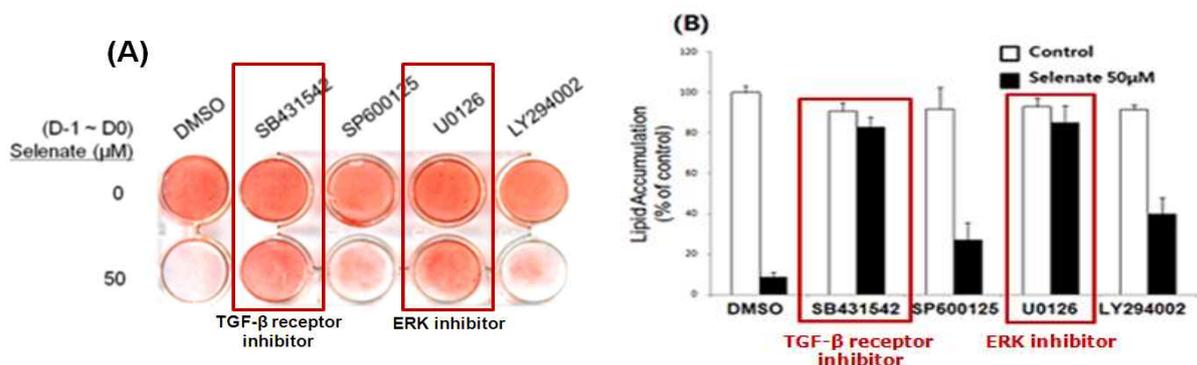


그림 9. Adipogenesis에 관여하는 주요 신호전달체계의 inhibitor (TGF- β receptor, JNK, ERK, PI3K) 처리가 셀레네이트에 의해 억제된 adipogenesis에 미치는 영향.

6) 셀레네이트 처리가 3T3-L1 세포의 TGF- β 유전자 발현에 미치는 영향

○ 셀레네이트 처리가 3T3-L1 세포의 어떠한 TGF- β 에 영향을 미치는지 알아보기 위하여 50 μ M의 셀레네이트를 처리한 후 TGF- β 1, - β 2, 그리고 β 3의 유전자 발현을 real time quantification PCR로 분석함. 그 결과 셀레네이트는 TGF- β 1에 대하여 특이적인 작용을 함을 확인함. 따라서 셀레네이트는 TGF- β 1을 특이적으로 활성화 시켜 adipogenesis를 억제하는 것으로 생각됨 (그림 10A). 더 나아가 셀레네이트가 TGF- β 신호전달체계를 활성화 시킬 수 있는지 알아보기 위하여 하위 신호전달 유전자의 발현을 분석함. 그 결과 셀레네이트는 농도 의존적으로 TGF- β 신호전달체계 유전자인 TGF- β 1, TGF- β receptor 2(TGF β -R2), fibronectin 등의 발현을 증가시킴 (그림 10B). 또한 셀레네이트 50 μ M의 활성을 recombinant TGF- β 1과 비교한 결과 약 10 ng/mL의 recombinant TGF- β 1과 유사한 활성을 나타냄 (그림 10C)

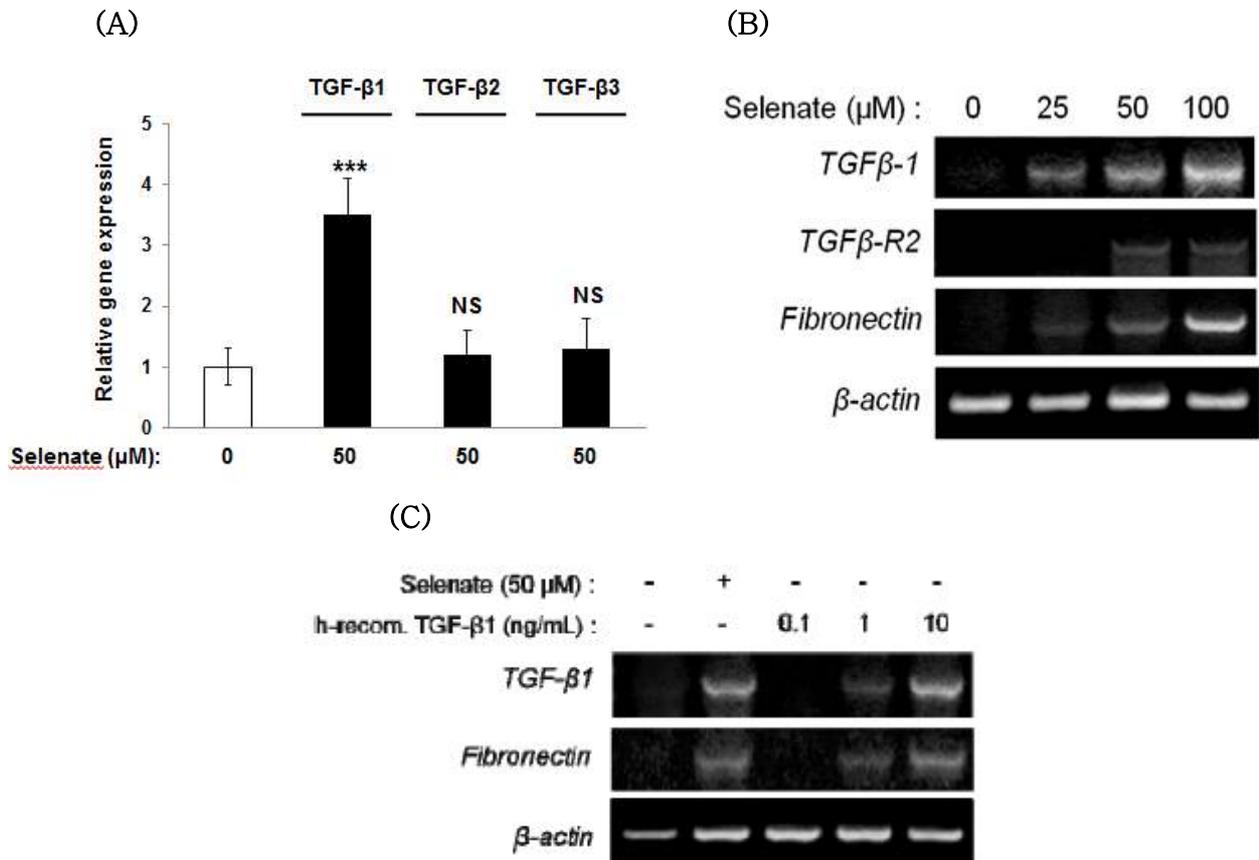


그림 10. 셀레네이트 처리가 3T3-L1 세포의 TGF- β 1, - β 2, 그리고 - β 3의 유전자 발현 및 TGF- β 하위 신호전달체계에 미치는 영향

6) sh-TGF-β1 모델을 통한 셀레네이트의 역할 규명

○ sh RNA 기법을 통해 3T3-L1 세포의 TGF-β를 knockdown 시켰음. 그 결과 3T3-L1세포에 50 μM의 셀레네이트를 처리하였을 때 기존과 같이 유의적인 adipogenesis 억제를 보인 반면, sh-TGF-β1 모델에서는 셀레네이트에 의한 adipogenesis가 발견되지 않음. 이것은 셀레네이트가 TGF-β1의 발현을 통해 adipogenesis를 억제한다는 것을 증명하는 결과라 할 수 있음 (그림 11).

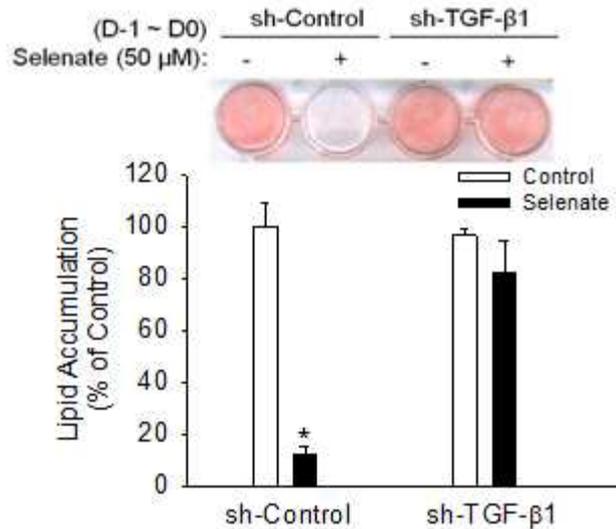


그림 11. sh-TGFβ1을 통한 셀레네이트의 adipogenesis에서의 역할 규명

7) *In vivo* 마우스 모델에서의 셀레네이트의 항비만 활성화

○ 4주간 C57BL/6 마우스 모델에 고지방 식이(60% fat)를 유도하고 셀레네이트를 1.3 mg/kg으로 경구투여한 결과, 셀레네이트에 의한 유의적인 체중감소가 발견됨. 또한 selenite를 공급한 군에서는 4주째 유의적인 체중감소가 발견됨 (그림 12A). 이 결과는 셀레네이트가 *in vitro* 세포 모델뿐만 아니라 *in vivo*에서도 adipogenesis를 억제하여 항비만 활성을 나타낼 수 있다는 가능성을 보여주는 결과로 생각됨. 또한 마우스의 지방조직을 적출하여 TGF-β1 및 하위신호전달체계의 유전자 발현을 분석한 결과, 셀레네이트 투여는 마우스 지방조직의 TGF-β 신호전달체계를 활성화 시켰음 (그림 12B).

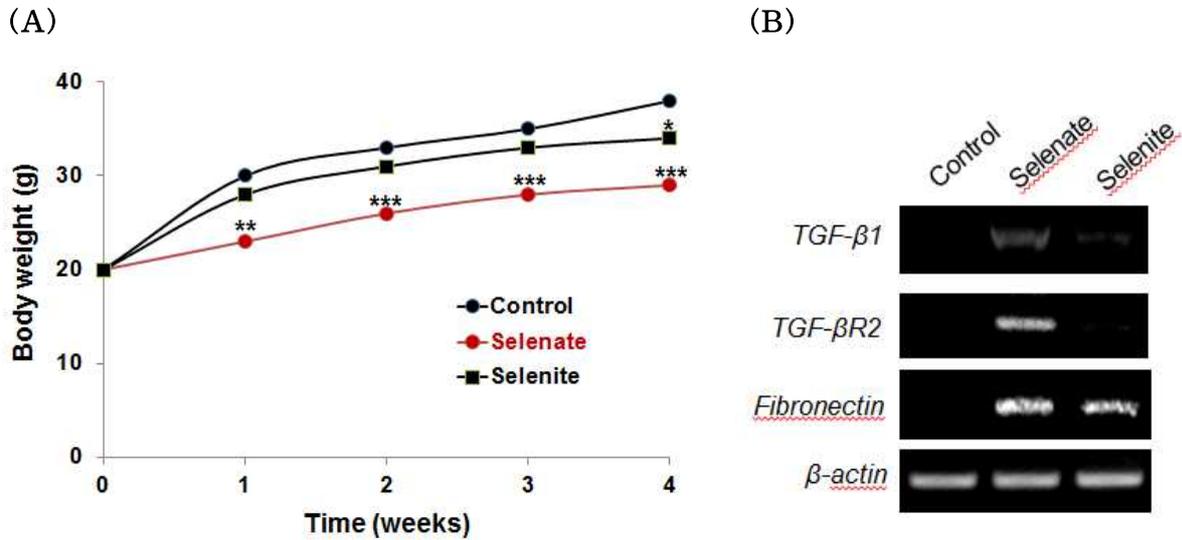


그림 12. 고지방 식이로 비만을 유도한 마우스 모델에서 셀레네이트가 체중에 미치는 영향

8) 셀레네이트의 조직 특이적 작용 평가

○ 4주간 C57BL/6 마우스 모델에 고지방 식이(60% fat)를 유도하고 셀레네이트를 1.3 mg/kg으로 경구투여한 결과, 셀레네이트는 지방조직(WAT; White adipose tissue)에 특이적으로 TGF-β1의 발현을 증가시킴. 셀레네이트에 의한 근육조직의 TGF-β1 발현증가는 추후 연구가 요구됨. 이 결과는 *in vivo* 마우스 모델에서 셀레네이트가 TGF-β1의 발현을 통해 체중 증가를 억제한다는 것을 보여주는 결과임.

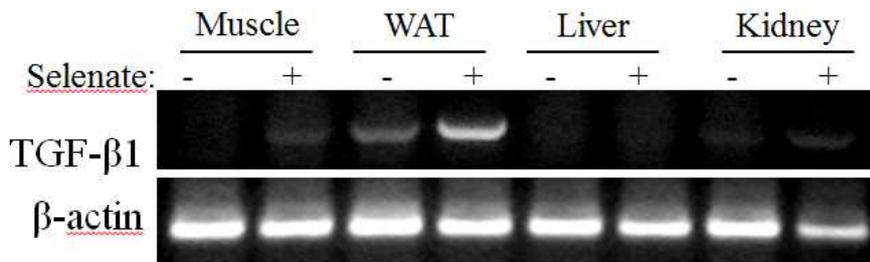


그림 13. 셀레네이트 투여가 *in vivo* 마우스의 근육, 지방, 간, 신장 조직에서의 TGF-β1 발현에 미치는 영향

9) 셀레네이트 투여가 *in vivo* 마우스의 지방세포 크기에 미치는 영향

○ 4주간 C57BL/6 마우스 모델에 고지방 식이(60% fat)를 유도하고 셀레네이트를 1.3 mg/kg으로 경구투여한 후 마우스의 지방조직을 분리하여 flow cytometry를 통해 지방세포의 크기를 분석하였음. 그 결과, 셀레네이트는 4주째 마우스의 체중을 유의적으로 감소시켰지만 지방세포의 크기는 대조군과 차이가 없었음. 하지만 셀레네이트는 대조군과 비교하여 유의적인 지

방세포의 크기를 감소시켰음 (그림 14).

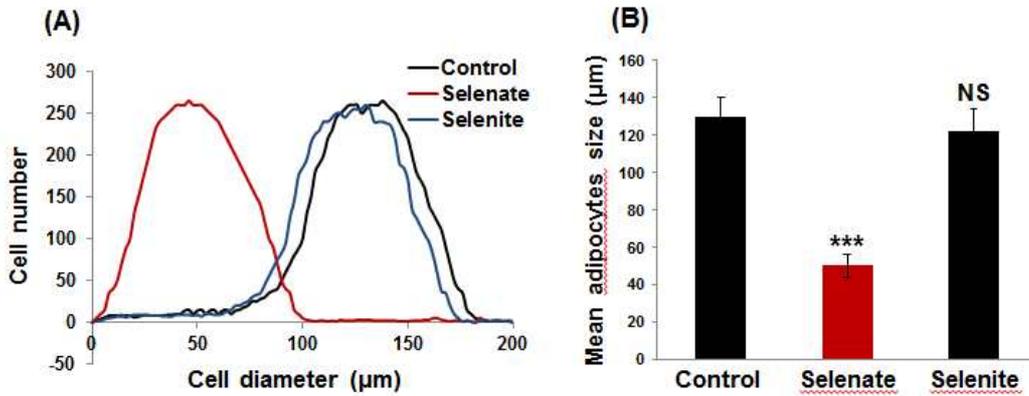


그림 14. 셀레네이트, 셀레나이트 투여가 마우스 지방세포의 크기에 미치는 영향

10) 셀레네이트 투여가 마우스 지방조직의 TGF-beta1 발현에 미치는 영향

○ 4주간 C57BL/6 마우스 모델에 고지방 식이(60% fat)를 유도하고 셀레네이트를 1.3 mg/kg 으로 경구투여한 후 마우스의 지방조직을 분리하여 TGF-beta1, TGF-beta receptor2(TGF-β R2), 그리고 fibronectin의 mRNA 발현을 측정 한 결과 셀레나이트 투여군에서 fibronectin의 발현이 증가하였지만, TGF-β1 및 TGF-βR2의 발현에는 변화가 없었음. 이것은 셀레나이트는 다른 경로를 통해 fibronectin의 발현을 증가시키는 것으로 보여지며 이것에 대한 추후 연구가 요구됨. 이와 달리 셀레네이트 투여군은 대조군과 비교하여 TGF-β1, TGF-βR2, 그리고 fibronectin의 mRNA 수준이 유의적으로 증가한 것을 발견할 수 있었음. In vitro의 결과와 마찬가지로 in vivo 마우스 모델에서도 셀레네이트는 TGF-beta signaling의 활성화를 통해 adipogenesis를 억제하고 지방축적의 감소로 이어지는 것으로 판단됨. (그림 15).

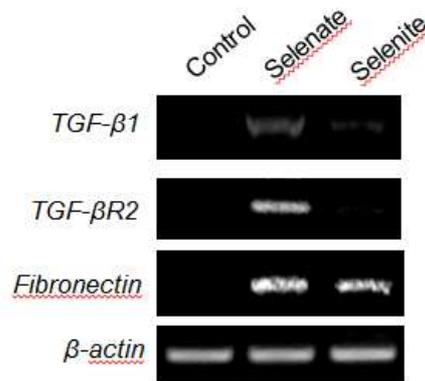


그림 15. 셀레네이트, 셀레나이트 투여가 마우스 지방세포의 TGF-beta1, TGF receptor2, 그리고 fibronectin의 발현에 미치는 영향

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

가 연구달성도

연구기관	주요연구내용	달성도 (%)
(주관기관)	○ TGF-β 신호전달에서 셀레늄의 타겟 molecule을 탐색 (3T3-L1 세포모델)	100
	○ 타겟 molecule shRNA knockdown을 통한 타겟 규명 및 신호전달 확립 (3T3-L1 세포모델)	100
	○ 셀레늄의 항비만 작용기전 규명 (3T3-L1 세포모델)	100
	○ <i>In vivo</i> 마우스 모델에서 셀레늄의 형태별 독성평가	80
	○ <i>In vivo</i> 마우스 모델에서 셀레늄의 조직 특이적 작용 평가	100
	○ <i>In vivo</i> 마우스 모델에서 셀레늄의 항비만 활성 평가	100

나 정량적 목표달성도

연구의 착안점	결 과	달성도(%)
○ Recombinant TGF-β를 비교 대조군으로 하여 셀레네이트의 항비만 활성을 상대적으로 비교할 수 있도록 함	○ Recombinant TGF-β를 비교 대조군으로 하여 셀레네이트의 항비만 활성을 평가한 결과, 셀레네이트 50 μM은 약 10 ng/mL의 recombinant TGF-β1과 유사한 활성을 나타냄 (그림 10)	100
○ 초기, 중기, 후기 TGF-β 신호전달 중 셀레네이트가 특이적으로 작용하는 1종 이상의 타겟 molecule을 선정함	○ 신호전달 초기 (TGF-β1, TGF receptor 2), 신호전달 후기 (fibronectin)을 선정 (그림 10, 그림 12)	80
○ 연구결과를 해외 SCI 논문 1편, 비 SCI 논문 1편 이상 게재하도록 함	○ 본 연구결과를 대한피부미용학회에 투고하였으며, 게재되었음 (비 SCI 1편). ○ 동물실험 결과를 현재 해외 SCI 학회지에 투고 중에 있으며, 연구기간이 1년인 점을 감안하여 고려되어야 함.	70
○ 연구결과를 학술대회에 3회 이상 발표하도록 함.	○ 본 연구결과를 학술대회에서 4회 발표 하였음 (2012년 대한피부미용학회 추계 학술대회 2건, 2012년 한국식품영양과학회 정기 학술대회 1건, 2012년 한국생명과학회 정기 학술대회 1건)	130
○ 연구결과의 홍보 1건	○ 본 연구결과를 2012년 대한피부미용학회 추계학술대회에서 구두발표 은상, 포스터논문 학회장상을 수상함 (기타홍보 2건)	200

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

○ 본 연구를 통해 얻은 결과는 셀레늄의 비만 예방 효과 검증을 위한 전임상 및 임상실험의 기초데이터로 중요하게 사용될 것으로 사료되며, 더 나아가 비만 예방 및 치료 보조제 연구에도 활용이 가능함.

○ 본 연구 과제를 통해 셀레늄의 새로운 항비만 기능성을 규명하고 그 작용기전을 확립하는 연구에 대한 지원은 셀레늄이 건강기능식품 및 보조 의약품 시장 확대에 크게 이바지 하고 다양한 신규시장 형성에 활력소가 될 것으로 기대됨. 또한 향후 항비만 연구에 있어 기초자료로 유용히 사용될 수 있을 것이라 사료됨.

○ 비만 의약품은 부작용을 비롯한 안전성의 문제와 대부분이 국외 기술로 제조된 제품으로써 필수 무기질 성분인 셀레늄의 효과와 기전연구가 확보된다면 이는 비만예방과 관련한 비만 치료 보조제 및 건강기능식품 산업에 적용하여 비만으로 인한 건강상, 경제적인 손실을 감소 시킴과 동시에 국가 산업발진에도 기여할 것으로 예상됨.

○ 본 연구는 비만연구 전문가 및 우수한 기초과학자 양성에 이바지 함. 또한 체계적이고 심도 있는 기전연구는 신진연구자의 연구 활성화 및 질적 향상을 유도하는 본 과제의 목적에 부합함.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ 본 연구자의 연구내용 외 특이사항 없음

제 7 장 참고문헌

- (1) Asina B. *et al.* Disruption of selenoprotein biosynthesis affects cell proliferation in the imaginal discs and brain of *Drosophila melanogaster*. *J. Cell. Sci.* 112(Pt17): 2875-2884. 1999.
- (2) Battin E.E. *et al.* Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. *Cell Biochem. Biophys.* 55, 1-23. 2009.
- (3) Bierie B. *et al.* Tumour microenvironment: TGF beta: the molecular Jekyll and Hyde of cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 6: 506-520. 2006.
- (4) Choy L. *et al.* Transforming growth factor-beta inhibits adipocyte differentiation by

Smad3 interacting with CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) and repressing C/EBP transactivation function. *J. Biol. Chem.* 278: 9609–9619. 2003.

(5) Clouthier D.E. *et al.* Hepatic fibrosis, glomerulosclerosis, and a lipodystrophy-like syndrome in PEPCK-TGF-beta1 transgenic mice. *J. Clin. Invest.* 100: 2697–2713. 1997.

(6) Curran J.E. *et al.* Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. *Nat. Genet.* 37: 1234–1241. 2005.

(7) Denk P.O. *et al.* Effect of cytokines on regulation of the production of transforming growth factor beta-1 in cultured human Tenon's capsule fibroblasts. *Eur. J. Ophthalmol.* 10: 110–115. 2000.

(8) Dhandapani K.M. *et al.* Induction of transforming growth factor-beta1 by basic fibroblast growth factor in rat C6 glioma cells and astrocytes is mediated by MEK/ERK signaling and AP-1 activation. *J. Neurosci. Res.* 85: 1033–1045. 2007

(9) Kim H.J. *et al.* Transforming growth factor-beta1 is a molecular target for the peroxisome proliferator-activated receptor delta. *Circ. Res.* 102: 193–200. 2008.

(10) Kim J.H. *et al.* IFATS collection: Selenium induces improvement of stem cell behaviors in human adipose-tissue stromal cells via SAPK/JNK and stemness acting signals. *Stem Cells.* 26: 2724–2734. 2008.

(11) Labunskyy V.M. *et al.* Both maximal expression of selenoproteins and selenoprotein deficiency can promote development of type 2 diabetes-like phenotype in mice. *Antioxid. Redox. Signal* 14: 2327–2336 (2011)

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.