Anti-obesity Effects of Mulberry Leaf and Yacon Extract in Obese Rats

Yong Lim^{1,*}, Ji Hye Oh^{2,**}, Un Kyu Park^{2,**}, Man Kyu Huh^{3,*} and Seock-Yeon Hwang^{2,†,*}

¹Department of Clinical Laboratory Science, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

²Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University, Daejeon 34520, Korea

³Food Engineering and Technology Major, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

We evaluated the effect of anti-obesitic activity of MYE (mulberry leaf + Yacon tuber) extracted from *Morus alba* as mulberry leaf and *Smallanthus sonchifolia* as yacon. 1%, 3%, or 5% of MYE were treated to Sprague-Dawley rats exposed to a high-fat diet. MYE treated rats were suppressed weight during four weeks, and they lost weight significantly after six weeks. Common blood chemistry panels related to liver function revealed significant improvement in the MYE-treated groups. The expression of leptin as indicators for obesity was decreased in perirenal fat. Such results indicate that MYE could be a promising candidate for the improvement of obesity. In addition, MYE effected on deceased glucose metabolism, reducing the activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) and glucokinase related to glycogen synthesis. The fatty liver was observed in high-fat diet-treated rats, resulting from increased number of adipose cells and Ito cells. However, this pathologic change was significantly improved by administration of MYE. MYE have significant effects on antioxidant function and glycometabolism against high fat diet. Thereby, it seems that MYE prevent fatty liver by high-fat diet. Thus it is suggested that MYE would be worth being developed as a biofunctional food to prevent undesirable effects caused by obesity.

Key Words: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), Leptin, Mulberry leaf, Obesity, Yacon

서 론

비만은 건강에 유해한 영향을 미칠 정도로 체내에 지방이 과다하게 축적되는 것으로 정의되며(Ogden et al., 2007), 그 원인은 유전적, 생리적, 요인과 관련이 있다(Prentice, 2001). 일반적으로 비만은 일차성 비만과 이차성 비만으로 나누어지는데, 일차성 비만은 에너지 섭취량이 에너지 소모량보다 많은 상태에서 체지방이 증가하여 발생하며, 이차성 비만은 유전, 내분비 질환, 약제 등에 의해 발생한다. 이 중 일차성 비만은 전체의 90% 이상으로 대다수의 비만이 이에 해당된다. 세계보건기구(World

Health Organization, WHO)는 비만의 유병률이 1980년에 비해 2008년 전세계적으로 거의 두 배 증가하였고, 유럽 여성의 23%, 남성의 20%가 비만이라고 발표하였다(Ogden et al., 2007). WHO는 비만을 질병으로 선언하였고, 멀지 않아 미국 뿐만 아니라 한국을 비롯한 아시아 국가들에게도 비만에 직면할 것이라고 발표하였으며(WHO, 2000), 실제로 한국인 성인 비만율은 2017년에 25.9%이었다(Ministry of Health and Welfare, 2018).

비만은 독립적으로, 혹은 당뇨병, 심혈관 질환 등 다른 질환과 연관되어 많은 건강관련 문제를 야기시켜(Kopelman, 2007), 비만으로 인한 당뇨병, 심혈관 질환의 발병률은 연령, 성별, 인종에 관계없이 지속적으로 증가

Received: March 6, 2020 / Revised: May 10, 2020 / Accepted: May 12, 2020

*Professor, ** Graduate student.

†Corresponding author: Seock Yeon Hwang. Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon University 62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 34520, Korea.

Tel: +82-42-280-2802, Fax: +82-42-280-2904, e-mail: syhwang@dju.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하고 있다(Kereiakes and Willerson, 2003; Jee et al., 2006). 비만은 암, 뇌졸중, 심혈관 질환, 고혈압, 당뇨병성 당뇨병(인슐린 의존성과 비인슐린 의존성) 등 1차 질환과 2차 질환도 유발할 수 있다(Pi-Sunyer, 1993). 따라서 비만 환자에 대해 만성 질환의 진행을 막기 위한 각종 처방과 예방조치가 시행되고 있다. 비만을 위한 식이요법과 예방법으로 비만도, 운동, 저칼로리 식단에 따라 소량의 섭취와 식욕억제제 복용량이 제시되고 있으며, 심한 경우에는 소장의 위와 우회수술이 도입되고 있다(Atkinson, 1997; Carmichael, 1999; Weledji, 2016). 그러나 약물 치료법은 철분 결핍과 그에 따른 빈혈을 유발할 수 있으며, 보통 체내의 철분흡수 장애가 원인이 되는 여러 질병이 될 수 있다는 지적이 있었으며 각종 미네랄과 비타민, 보충제를 받은 환자에도 불구하고 철분 부족을 막을 수 없었다(Guallar et al., 2013). 이와 같이 약물 치료 성공률이 낮다는 점과 부작용의 위험성이 공존한다는 점을 고려할 때 비만을 감소시키기 위해 자연 물질로부터 활성적이고 안전한 성분을 찾는 것도 한 방안이 될 수 있다.

뽕나무(*Morus alba* L.)는 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 관목으로 잎을 약재로 사용할 경우에 한약재명은 상엽(桑葉), 줄기의 약재는 상지(桑枝), 열매는 상심자(桑椹子), 뿌리껍질은 상백피(桑白皮)라고 한다. 뽕잎에는 아미노산, 플라보노이드, 무기염류, 비타민 등이 함유되어 지방 과산화, 콜레스테롤, 동맥경화, 고지혈증 등의 대사 질환을 억제하는 것으로 알려져 있다(Fujimoto and Nomura, 1985). 야콘(*Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endl) H. Robinson)은 페루의 안데스 산맥에서 자라는 다년생 초본이다. 야콘(yacon)의 뿌리에는 다량의 fructo-oligosaccharide가 함유되어 있어 항산화, 고지혈증 저해작용이 알려져 있고(Russo et al., 2015), 변비를 예방 및 완화, 혈액 지질과 혈당을 줄여 당뇨병을 예방하여 환자 식단에 도움이 되며(Chen et al., 2000), 비만, 동맥경화증 및 당뇨병으로 인해 비흡수성 및 체내 미사용 물질을 제거한다(Kim, 2005).

본 연구의 예비조사와 실험에서 비만에 미치는 뽕잎과 야콘의 영향을 판단하기 위한 각종 주요 지표를 평가한 결과 비만에 대한 척도에서 긍정적인 영향을 나타내었다(Lim, 2015). 따라서 본 연구에서 상엽과 야콘 추출물의 비율에 따라 쥐의 비만이 경감되는 정도가 유의미한지 조사하였다. 본 연구 결과는 뽕잎과 야콘의 에탄올 추출물을 이용한 비만 실험 지표에 도움이 될 수 있을 것이다.

재료 및 방법

추출물의 준비

뽕잎과 야콘은 대구 약령시장에서 시험 재료로 구입하였다. 스테인리스 용기에 건조된 시험 물질(뽕잎과 야콘 각각 1 kg)과 50% 에탄올(10 L)을 넣고, 85℃에서 8시간 동안 시료를 추출한 후 냉각관으로 수집하였다. 한편, 동일 무게의 건조 시료에 70% 에탄올 6 L를 첨가하여 24시간 교반한 후 초음파세척기로 1시간 처리하여 두 번째 추출물을 추출했다. 이 두 추출물을 혼합한 후 회전형 감압농축기로 농축한 후 동결건조기로 분말화하였다. 예비시험에서 분말된 뽕잎과 야콘 추출물의 두 가지 다른 비율을 혼합하여 비만에 가장 효과적인 비율을 산출하였고, 뽕잎과 야콘을 7:3의 비율로 섞은 것이 시너지 효과가 높아 본 연구에 사용하였다.

실험동물과 먹이

본 실험에 사용된 쥐는 100~150 g 수컷 Sprague-Dawley (SD)으로 DBL Ltd(충청북도 음성)에서 구입했다. 구입한 쥐는 7일 동안 사육 환경에 순치시켰고, 실험에는 건강한 동물들만 사용하였다. 동물들은 에어컨과 온풍기로 온도 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 가습기로 상대 습도($50 \pm 5\%$) 및 조명장치로 12시간 명/암 주기로 사육하였다. 각각의 쥐들은 별도의 사육상자에서 먹이를 섭취하도록 관리하였다. 먹이 외 수분은 증류수로 쥐에게 제공되었다.

쥐들은 여섯 그룹으로 나누고, 각 그룹당 10마리씩 배분하였다: G1: 정상군(normal diet group), G2: 고지질군(high fat diet group, HFD), G3: 양성대조군(고지질 + 0.5% 하이드록시시트릭산(high fat diet group with 0.5% hydroxycitric acid (HFD + HCA), G4: 1% 처리군(high fat diet with 1% mulberry leaf and yacon diet group, HFD + 1% MYE), G5: 3% 처리군(high fat diet with 3% mulberry leaf and yacon group, HFD + 3% MYE), G6: 5% 처리군(high fat diet with 5% mulberry leaf and yacon group, HFD + 5% MYE).

쥐는 체중이 정상 범위의 30% 이상이 될 때까지 4주 동안 고지방 식이요법으로 비만을 유도한 후 각 그룹별로 옮겨 4주 동안 실험 물질을 먹였다. 정상 그룹 및 고지방 먹이 그룹은 목적으로 한 구성물(AIN 93-M)을 제공하였다(Table 1). 실험 그룹의 식단에서 정상 그룹의 총 에너지 함량은 4.25 kcal/g이며 고지방 그룹은 총 에너지 함량은 5.20 kcal/g이다. 양성대조군 G3 그룹은 0.5%의 수산

Table 1. Composition (g/kg) of the experimental diets for treatment groups

Constituent	G1	G2	G3	G4	G5	G6
Casein	200	200	200	200	200	200
Maize starch	521	321	321	321	321	321
Sucrose	100	100	100	100	100	100
Maize oil	100	100	100	100	100	100
Lard	—	200	200	200	200	200
Cellulose	30	30	30	30	30	30
DL-methionine	2	2	2	2	2	2
Mineral mix ^a	35	35	35	35	35	35
Vitamin mix ^b	10	10	10	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2	2	2	2
Gross energy content (kcal/g)	4.25	5.20	5.20	5.20	5.20	5.20

HFD, high-fat diet. HCA, hydroxycitric acid. MYE, Mulberry leaf + yacon.

- a) AIN mineral mixture (g/kg): calcium phosphate dibasic 500, sodium chloride 74, potassium citrate 220, potassium sulfate 52, magnesium oxide 24, manganous carbonate 3.5, ferric citrate 6, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, sodium selenate 0.01, chromium potassium sulfate 0.55
- b) AIN vitamin mixture (g/kg): thiamine HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine HCl 0.7, niacin 3, calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, biotin 0.02, vitamin B12 (0.1% trituration in mannitol) 1, dry vitamin A palmitate (500,000 U/g) 0.8, dry vitamin E acetate (500 U/g) 10, vitamin D, trituration (400,000 U/g), 0.25, manganese sodium bisulfate complex 0.15

화지질산을 투여하였고, G4~G6 그룹은 1, 3, 5% MYE의 고지방 식단을 제공하였다.

체중, 음식, 물 소비량 측정

쥐의 체중은 처리 전에 1차로 측정하였고, 처리를 시작한 후 2주 동안 매일 세 번씩 측정하였으며, 처리 당일에도 측정하였다. 2주 동안 매일 식품과 물 소비량을 측정하였으며, 일일 평균 식품 소비량(g/동물/일)도 계산하였다.

부위별 체지방조직의 분석

복강 내 표피 지방조직을 제거한 후 복막 지방조직과 중간 지방조직이 분리하여 무게를 측정하였다.

지방조직 내 체지방, 체단백질, DNA 함량 측정

시료 대상 동물을 처치 후 위장관(gastrocader)을 적출하고 내부 내용물을 모두 제거하여 105℃에서 건조시킨 후 믹서기에 균질화했다. 시료는 체지방 및 단백질 함량 측

정에 사용하였으며, 시료 약 20 g으로 Oxhlet 추출법에 따랐다. 체단백질 함량은 Kjeldahl 방법에 의한 무지질 시료로 질소 함량을 측정한 후 질소 지수 6.25를 적용해 계산했다.

측간 갈색 지방조직(interscapular brown adipose tissue)의 단백질 함량은 균질화기에 0.3 N NaOH를 첨가하여 동질성에서 측정한 후 45℃에서 1시간 동안 용해하였다. 단백질의 함량은 Lowry et al. (1951) 방법으로 산출하였다. 8% perchloric acid로 DNA를 추출하는 데 사용하였다. Diphenylamine 함량은 Burton에 기술된 방법을 사용하여 측정했다.

당생성 측정

글리코젠과 포도당 대사의 함량을 측정하기 위해 간 2 g을 0.1 M citrate buffer (pH 4.2) 6 mL로 균질화시키고, 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 글리코젠 함량과 포도당-6-인산염 탈수소효소(Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, G-6-PDH) 활성은 각각 Murat (1974)와 Hara (1986) 방법으로 측정하였다.

포도당-6-인산염(Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD) 활성은 Baginski (1983) 방법에 의해 니코틴아마이드 아데닌 다이뉴클레오타이드 인산(Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP)로부터 포도당-6-인산염의 산화로 생성된 NADPH 양을 분석하였다. 간 2 g은 0.25 M 자당 15 mL와 0.5 M EDTA로 처리하고, Teflon Potter Elvehjem을 사용하여 균질화하였다. 균질액을 4℃, 20,000 × g에서 10분간 원심분리하여, 미토콘드리아 상등액 내 G-6-PDH의 활성도를 측정하였다.

Glucokinase 활성은 DeMoss (1968) 방법에 따라 버터 혼합물 6 mL로 처리된 간 2 g을 1 mM EDTA로 균질화하여 12,000 × g에서 1시간 동안 원심분리한 후 상등액으로 glucokinase 활성을 측정하였다.

혈청 내 렙틴 분석

혈청 내 렙틴 함량은 렙틴 진단 키트(Animal Leptin RIA Kit, LINCO Research, Inc.)를 사용하여 Radioimmunoassay 방법으로 측정하였다.

조직학적 평가

병리학적 검사를 위해 먼저 동물을 처치하여 장기를 분리하고 무게를 측정하였다. 적출된 장기는 10%의 중성 완충 포르말린으로 고정한 후 파라핀으로 포매하여 4 μm

Table 2. Effect of MYE on absolute organ weights in normal and high-fat diet-fed rats

Treatment group	Organ weight (g)				
	Liver	Lung	Kidney	Spleen	Testis
G1	7.81±0.3	1.80±0.5	1.92±0.3	0.78±0.12	3.31±0.2
G2	7.46±0.2	1.69±0.2	1.89±0.2	0.71±0.11	3.22±0.3
G3	7.71±0.4	1.67±0.3	1.94±0.3	0.71±0.11	3.33±0.4
G4	7.85±0.5	1.79±0.3	1.88±0.3	0.77±0.11	3.33±0.2
G5	7.71±0.7	1.84±0.6	1.95±0.5	0.85±0.15	3.36±0.5
G6	7.85±0.8	1.83±0.7	1.93±0.5	0.86±0.15	3.41±0.5

두께로 절화하고, 헤마톡실린에오신(H & E)으로 염색하여 조직을 현미경으로 검정하였다.

통계분석

데이터의 모든 숫자는 평균 ± 표준 편차로 표시하였다. 통계적 유의성은 Duncan의 다중 범위 검사에 이어 일원 분산 분석(ANOVA)로 분석하였다. 유의성은 $P < 0.05$ 수준에서 판정하였다. 통계적 분석은 SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 20.0 프로그램을 사용하였다.

결 과

고지방 식이요법 쥐의 MYE가 신체 및 장기 체중 변화에 미치는 영향

시료 동물 그룹별 사육 후 4주 동안 식이요법만 실시하여 체중이 거의 일정하게 증가하였다. 특히 6주 동안 고지방 먹이 섭취 그룹의 체중은 정상 대조군(G1)에 비해 11% 증가했다($P < 0.05$) (Fig. 1). HCA로 2주 처리한 전체 6주에서 G3의 체중이 크게 증가하지 않았다($P > 0.05$). 그러나 MYE 처리 후 2주 경과한 6주에는 1%, 3%, 5% MYE로 처리한 세 그룹의 체중은 치료 후 6주, 8주 동안 G1에 비해 크게 줄었다($P < 0.05 \sim 0.01$). 한편, 간, 폐, 신장, 고환을 포함한 장기 무게에 있어서 그룹간 차이가 있었다 (Table 2). G1에 비해 G2의 5개 장기 무게는 모두 감소하였다. G2에 비해 G3 및 1%, 3%, 5% MYE 처리군은 증가하였고, 특히 G6그룹은 G1과 유사하였다.

고지방 식이 처리 쥐의 MYE가 체지방, 단백질, 에너지 소비에 미치는 영향

G2의 위 지방조직은 G1에 비해 52.4% 증가하였다($P < 0.01$) (Table 3). 그러나 G2에 비해 1%, 3%, 5% MYE 처리

Fig. 1. Effect of MYE (mulberry leaf + yacon tuber) on body weight changes in high-fat diet-fed rats.

그룹은 17.2%, 22.1%, 21.2% 감소하였다. 양성대조군(G3)은 G2에 비해 25.3% 감소하였다($P < 0.01$). G2의 신장 지방조직은 G1에 비해 14.0% 증가하였다($P < 0.05$). 그러나 G2에 비해 3%, 5% MYE 그룹은 8.7%, 8.5%가 감소하였다($P < 0.05$). G2의 부정소 지방조직은 G1에 비해 38.5% 증가하였다($P < 0.05$). 그러나 G2에 비해 3% MYE 그룹과 5% MYE 그룹에서는 각각 20.3%, 22.6% 감소하였다($P < 0.05$). 장내 지방조직의 결과는 부정소 지방조직($P < 0.05$)과 유사하였다. G2의 갈색 지방조직(BAT)은 G1보다 1.3배(31.3%) 증가하였다($P < 0.05$). 특히, G6 그룹은 G2과 비교하여 7.9%로 감소하였다.

체지방에 대해 G2는 55.1 g으로 G1의 39.6 g에 비해 41.8% 증가하였다(Table 4). 처리군(G4~G6)은 고지방군에 비해 11.0~27.4% 감소하였다. 그러나 체단백질은 유의미한 변화가 관찰되지 않았다. DNA 농도는 정상군에 비해

Table 3. Effect of MLYE (mulberry leaf + yacon tuber) on organ fats in normal and high-fat diet-fed rats (unit: g)

Treatment group	Stomach fat	Perirenal fat	Epididymal fat	Visceral fat	BAT
G1	8.13±1.26	7.65±1.14	5.54±1.19	5.26±0.90	1.12±0.12
G2	12.39±1.35 ^b	8.72±1.10 ^a	7.67±2.36 ^a	6.88±0.65 ^a	1.47±0.10 ^a
G3	9.25±1.12 ^d	8.01±2.23	6.84±1.72	5.39±0.87	1.25±0.10
G4	10.26±2.63 ^b	8.11±2.36	6.62±1.54	5.86±0.88	1.34±0.13
G5	9.65±1.65 ^d	7.96±1.92 ^c	6.11±1.86 ^c	5.16±0.68 ^c	1.31±0.27
G6	9.76±1.38 ^d	7.98±1.29 ^c	5.97±1.93 ^c	4.95±0.83 ^c	1.16±0.17 ^c

BAT, brown adipose tissue; G1, Normal; G2, High-fat diet (HFD) alone; G3, HFD + HCA (hydroxycitric acid); G4, HFD + 1% MYE (Mulberry leaf + yacon); G5, HFD + 3% MYE (mulberry leaf + yacon); G6, HFD + 5% MYE (mulberry leaf + yacon). Each value represents the mean ± S.D. (n = 10 per group)

^{a,b}Significantly different from normal ($P<0.05$, 0.01). ^{c,d}Significantly different from HFD alone ($P<0.05$, 0.01)

Table 4. Effect of MYE (mulberry leaf + yacon tuber) on total body fat, protein and DNA concentration in normal and high-fat diet-fed rats

Treatment group	Body fat (g)	Body protein (mg/dL)	DNA conc. (μg)
G1	39.0±6.4	68.7±3.4	396.6±34
G2	55.3±5.1 ^a	67.5±3.3	427.3±67
G3	45.2±5.8 ^c	65.3±6.41	451.3±71 ^a
G4	49.2±5.9	66.3±3.4	449.3±49
G5	40.5±2.6 ^c	67.9±2.5	469.1±48 ^a
G6	40.1±1.9 ^c	65.3±3.3	463.2±65 ^a

BAT, brown adipose tissue; G1, Normal; G2, High-fat diet (HFD) alone; G3, HFD + HCA (hydroxycitric acid); G4, HFD + 1% MYE (mulberry leaf + yacon); G5, HFD + 3% MYE (mulberry leaf + yacon); G6, HFD + 5% MYE (mulberry leaf + yacon). Each value represents the mean ± S.D. (n = 10 per group)

^aSignificantly different from normal ($P<0.05$). ^cSignificantly different from HFD alone ($P<0.05$).

고지질군, 처리군 모두 증가하였다.

고지방 처리 쥐의 당생성에 미치는 MYE의 영향

G2의 글리코젠은 G1보다 17.2% 유의미하게 감소하였다($P<0.05$) (Fig. 2). 그러나 3% MYE 그룹은 G2에 비해 13.3% 증가하였다($P<0.05$). G2의 G-6-P는 G1보다 38.1% 증가하였다($P<0.05$). 그러나 G2에 비해 1%, 3%, 5% MYE 처리군 및 G3은 19.2%, 26.8%, 26.1%, 23.0% 감소하였다($P<0.05$). G2의 G-6-PDH는 G1보다 29.1% 낮아 유의성을 나타내었다($P<0.05$). 그러나 G2와 비교하여 G3에서는 큰 차이가 없었다. 그러나 G2에 비해 1%, 3%, 5% MYE 그룹은 21.3%, 27.9%, 24.6% 증가하였다($P<0.05$). G2의 Glucokinase는 G1보다 47.3% 유의미하게 감소하였다($P<0.05$). 그러나 G2에 비해 1%, 3%, 5% MYE 그룹과 G3은 70.7%, 65.3%, 71.4%, 48.5% 증가하였다($P<0.05$).

렙틴에 미치는 영향

렙틴의 경우 G2가 일반 그룹보다 4배(305.6%)나 크게 증가하였다($P<0.01$) (Fig. 3). G3 및 모든 MYE 처리 그룹이 G1에 비해 155.6~250.0% 증가하였다($P<0.05\sim0.01$). 그러나 G2에 비해 1%, 3%, 5% MYE 처리군 및 G3은 각각 13.7%, 16.4%, 17.8%, 37.0%로 감소하였다($P<0.05$) (Fig. 3).

고지방 처리 쥐의 간에 대한 병리학적 평가

G1의 간 조직이 정상적인 모습을 나타낸 반면, G2은 지방 변화, 간엽의 괴사, Ito 세포의 다수, 간 손상 등을 나타내었다(Fig. 4). G2에서 간 손상이 9.4로 정량화되었으며 G1에 비해 G2가 현저하게 손상을 나타내었다. 반면 간 손상은 G2에 비해 G3에서 개선되었다. 간 손상은 G3에서 3.4로 정량화되었다. 처리 그룹의 간 손상은 1%, 3%,

Fig. 2. Effect of MYE (mulberry leaf + yacon) on glycogenesis activities in high-fat diet-fed rats. (A) Glycogen; (B) G-6-P, glucose-6-phosphatase; (C) G-6-PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase; (D) Glucokinase; ^aSignificantly different from normal ($P<0.05$). ^cSignificantly different from HFD alone ($P<0.05$).

Fig. 3. Effect of MYE (Mulberry leaf + yacon) on leptin content in high-fat diet-fed rats. G1, Normal; G2, High-fat diet (HFD) alone; G3, HFD+HCA (hydroxycitric acid); G4, HFD + 1% MYE (mulberry leaf + yacon); G5, HFD + 3% MYE (mulberry leaf + yacon); G6, HFD + 5% MYE (mulberry leaf + yacon). Each value represents the mean $\pm$ S.D. ($n = 10$ per group). ^bSignificantly different from normal ($P<0.01$). ^{cd}Significantly different from HFD alone ($P<0.05$, $P<0.01$).

5% MYE 처리군, 대조군에서 각각 2.0, 0.8, 1.2, 0.2%로 정량화되었다. 특히 3% MYE 처리군은 고지방 처리군에

비해 지질 유적, 지방 변화, Ito 세포가 크게 줄었다. 정량적 분석의 결과 MYE 처리 그룹 중에서 3% MYE가 가장 효과적인 것으로 나타났다(Fig. 3, Table 5).

고찰

물 및 사료 섭취량 분석을 통해 1%, 3%, 5% MYE 처리군은 G1에 비해 체중이 감소하였다. 이것은 지방대사의 개선과 혈액, 간의 체지방의 개선과 같은 효과에서 지방 분해로 인해 체중으로 전이되는 것을 억제한 것으로 간주된다. 이런 체중의 감소는 이전에 뽕잎으로 실험한 결과와 유사하였다(Kim et al., 1998, 1999). 1%, 3%, 5% MYE 처리 투여군은 G1에 비해 체중의 변화와는 달리 물과 사료 섭취량 및 장기 체중에 유의미한 변화가 관찰되지 않았다. 실험 기간 동안에 에너지 균형 변화를 측정하기 위해서 실험 시작일과 종료일에 실험군의 체지방과 체단백질의 내용물이 중요하다. 실험 종료일에 신체 구성의 내용은 믹서를 사용한 건조 회생 생쥐의 균질화 방법으로 측정할 수 있지만 실험 시작일에서는 불가능하다. 이점을

Table 5. Liver pathology scores of 8-week oral repeated dose MYE

Treatment group	Cell necrosis	Destruction of lobular structure	Fatty change	Ito cell	Lesions (maximum score)	Total
G1	0	0	0.2	0	0	0.2
G2	0	0.5	3.0	2.9	3.0	9.4
G3	0	0.1	0.7	1.2	1.4	3.4
G4	0	0.1	0.4	0.9	0.6	2.0
G5	0	0	0.2	0.3	0.3	0.8
G6	0	0	0.3	0.5	0.4	1.2

Fig. 4. Representative microscopic findings of the liver in rats. Fed normal diet (A), high-cholesterol diet alone (B), high-cholesterol diet containing 0.5% Hydroxycitric acid (C) 3% MYE (Mulberry leaf + yacon) (D), 5% MYE (mulberry leaf + yacon) (E). Note foamy hepatocytes distributed in centrilobular region in B and more extensive hepatocytic change and congestion in C, in comparison with minimal lesions in D, E. H&E stain ($\times 200$).

고려하여 실험 시작일에 유사한 체중의 생쥐 10마리로 부터 얻은 데이터와 비교하여 실험 시작일에 체지방과 단백질의 함량을 계산하여 체성분 함량을 평가하고 있다 (Kawada et al., 1986; Cho and Shin, 1999, 2000). 쥐의 체중과 함께 체구성의 내용에는 차이가 있다. 본 연구에서는 체 중 차이를 줄이기 위해 비슷한 무게의 생쥐를 사용했다. 실험에서는 경막 지방조직, 체지방에 대한 지방 효과, 체 내 단백질 등 전염성 지방조직이 관찰되었다.

간에서 글리코겐의 함량은 G1, G3 및 MYE 그룹과 비

교했을 때 G2에서 상당한 감소를 보인 반면 MYE 그룹과 3% MYE 비교했을 때 3% MYE에서 현저하게 증가했다($P<0.05$). 이러한 결과는 G2의 고지질에 의한 B 세포의 파괴가 인슐린의 배설을 감소시켜 간에서 글리코겐 증상의 활성화를 감소시키고, 글리코겐을 분해하는 효소인 글리코겐 인산화 효소의 활성화를 증가시켰음을 나타낸다(Wilcox, 2005). 이것은 간에서 글리코겐의 함량을 줄이는 근거가 될 수 있다. 혈당 함량이 3% MYE 처리 그룹에서 현저히 감소된 것은 간에서 글리코겐 함량이 증가로 보여진다. G-6-P는 글리코겐의 분해와 포도당 생성을 위한 촉매 효소로 글루코르티코이드, 포도당, 지방산 등을 증가시키며 인슐린, 종양 괴사 인자(TNF), 인터루킨-6에 염증이 있을 경우에는 그 작용이 억제된다. 특히 고지방 식단에 의한 제2형 당뇨병의 경우 G-6-P mRNA가 점차 발달하여 당뇨 G-6-P의 활성도가 증가하고 단백질 키나아제 및 인슐린 농도가 고지혈증과 함께 감소하였다 (Fu et al., 2013). 따라서 MYE 처리 그룹에서 G-6-P를 억제하는 것이 그러한 결과를 뒷받침한다고 추정된다. G-6-PDH는 포도당 신진대사의 5탄당 인산염의 초기 과정에 관여하는 효소로서 신체의 모든 세포에 존재하며 glutathione peroxidase (GSH-Px)에서 glutathione disulfide (GSSG)를 glutathione (GSH)로 전환하는 데 필요한 NADPH를 생산하는 효소이기도 하다. 당뇨병과 고지질의 촉발제인 streptozotocin에 의한 제2형 당뇨병의 경우, G-6-PDH의 활성화 감소는 NADPH의 생산을 억제하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 G2에 비해 MYE 처리군에서 G-6-PDH의 현저한 증가가 관찰되었다. Glucokinase (GK) 활성화도 위에서 논의한 G-6-P와 G-6-PDH와 같은 결과를 보였다. 특히 당뇨병의 경우 GK의 활성도가 현저하게 감소하는데, 이 연구에서도 이를 뒷받침하고 있다. 위에서 논의된 당질과 관련된 지수의 결과에 근거하여, 테스트 물

질이 당질성에 큰 영향을 미친 것으로 가정한다. 그러나 시험 물질의 용량 의존성은 관찰되지 않았다. 특히 당뇨병의 경우 GK의 활성화는 현저하게 감소해 당대사 이용에 지장을 주고 있는데, 이 연구에서도 이를 뒷받침하고 있다. 위에서 논의된 당질과 관련된 지수의 결과에 근거하여, MYE 처리 물질이 당대사에 큰 영향을 미친 것으로 판단된다. 그러나 시험 물질의 용량 의존성은 관찰되지 않았다.

GST는 G1에 비해 G2에서 크게 증가한 반면, G3을 포함한 모든 MYE 그룹에서 현저하게 감소했다($P<0.05$). GST는 글루타티온의 티올을 체내에서 생산되는 전기적 독성 물질로 포착해 이 같은 독성 물질을 고갈시키는 것으로 알려졌다. 위에서 관찰된 GST 감소는 GSH를 독성 물질로 포획하고 비만으로 인한 손상과 염증으로부터 간을 보호하는 추출물에서 비롯되었다고 볼 수 있다.

Adipocytokine의 일종인 렙틴은 체중과 체지방 함량과 관련이 있으며, 특히 복부지방과 더 밀접하게 연관되어 있다(Considine et al., 1996). 체지방, 체형의 증가에 따라 지방조직에서 분비되는 렙틴에 많은 초점이 맞춰져 있으며 식생활 연구의 변화도 렙틴과 연관시키고 있다(Havel et al., 1996). 그 결과 렙틴이 식이 섭취를 줄이고 에너지 소비를 증가시키는 부분을 가지고 있다는 것이 보고되었다(Pellymounter et al., 1995). 그런데 캘리포니아 주 Thousand Oaks에 있는 생명공학 회사인 암젠사(Amgen Inc.)는 비만을 치료하는 약인 렙틴을 개발했지만, 비만 환자에게 20%에 효과를 나타내는데 그쳤다(Singhal et al., 2002). 최근 동맥경화증 발생의 렙틴 역할에 대해 보고되었으며, 렙틴은 심혈관 질환의 위험요소라는 의견이 있다(Cooke and Oka, 2002). 본 연구에서 혈액 내 렙틴 농도는 과산화물 형성을 위한 지표에서 양의 관계를 보여주었으며 혈액 내 지질 농도와도 매우 관련이 있었다. 따라서 혈액 속의 렙틴의 농도는 비만의 정도를 객관적으로 보여주는 매우 중요한 지수로 여겨진다. 혈류 내 렙틴은 체지방 함량과 체지방률 지수와 뚜렷한 양의 상관관계를 나타내었기 때문에 비만군은 혈청 렙틴 수준에서 정상군보다 현저히 높게 나타난다(Considine et al., 1996; Kim and Sung, 2000). 이는 본 연구의 결과를 뒷받침하지만, MYE가 렙틴의 수준을 어떻게 향상시키는지 정확히 알려지지 않았다. 지질대사 개선이나 플라보노이드에 의한 항산화 효과 때문일 수 있으나 정확한 메커니즘에 대한 연구가 필요하다.

지질 변화는 보통 동물의 약 10~15%에서 관찰된다. 반대로 고농축성 핵이 있는 간세포, 세포질의 변화, 중성지

방의 지방 변화 등은 고지방 식단군에서 주목되었다. 특히 많은 Ito 세포가 관찰되었다. 이에 대한 정량적 평가는 간엽의 파괴 때문에 0.5로 평가되었다. 지방 변화, Ito 세포, 그리고 모든 병변이 평가된 9.4의 가장 높은 점수를 받은 모든 동물에서 관찰되었다. 또 G2는 세포의 불규칙한 크기와 형태, 세포 크기의 다양성, 단핵구 침투 등 전형적인 조직학적 변화를 보여주었다. 1%와 5%의 MYE 물질에 대한 정량적 평가는 각각 2.0과 1.2로, MYE 처리 그룹이 G2뿐만 아니라 G3과 비교해 현저히 개선된 것으로 나타났다. 특히 3%의 MYE 처리 그룹은 지방세포와 Ito 세포의 현저한 감소를 보였다. 간도 G1과 비슷하게 개선되었다. 이는 고지방식을 했기때문에 간의 경우 지방이 많이 축적되어 간 무게 증가하는 것이 일반적인 현상임에도 불구하고 간 지방의 증가가 늘어나지 않는 것은 간 조직의 미토콘드리아에서 베타-산화로 지질의 분해가 활발했을 것으로 판단된다(Nassir et al., 2015). 또한 본 실험에서 관찰된 결과는 지질대사와 관련된 효소의 생화학적 작용과 대사장애의 개선에서 비롯되었다고 판단된다. 본 연구 결과 뽕잎과 야콘에서 추출한 MYE 처리군은 전반적으로 HCA 처리군에 비해 간, 폐, 신장, 고환을 포함한 장기 무게를 보존하고, 신장과 부고환, 내장 지방에 있어서 비만을 억제하는 효과를 나타내었다. 그러나 HCA는 체중 감량 또는 지방 연소의 역할을 하지 않으며, 소화기 통증을 유발할 수 있다는 점에서 소화기 질환을 가진 환자에게 처방은 주의해야 한다(Yamada et al., 2007)는 점에서 뽕잎과 야콘 추출물이 3% 정도라도 지방 축적을 막는 역할을 보여주어 천연 물질의 항비만제 개발에 기초가 될 수 있다. 뽕나무 뿌리의 Mulberroside A 성분이 항지질성 비만에 도움이 되는 것으로 보고(Jo et al., 2014)되어 뽕나무에 대한 많은 연구가 기대된다.

ACKNOWLEDGEMENTS

본 연구는 대전대학교 2016년 교내 연구비에 의해 수행되었다(This work was supported by research funds of Daejeon University in 2016).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

Atkinson RL. Use of drugs in the treatment of obesity. *Annu Rev*

- Nutr. 1997. 17: 383-403.
- Baginski ES, Foa PP, Zak B. Glucose-6-phosphatase. In: Methods of enzymatic analysis. 2. (Bergmeyer HU. Ed). 1983. pp 876-880. Academic Press; NY, USA:
- Carmichael AR. Treatment for morbid obesity. Postgrad Med J. 1999. 75: 7-12.
- Chen HL, Lu YH, Lin JJ, Ko LY. Effects of fructooligosaccharide on bowel function and indicators of nutritional status in constipated elderly men. Nutr Res. 2000. 20: 1725-1733.
- Cho JJ, Shin HJ. Body-fat suppressive effects of capsaicin through β -adrenergic stimulation in rats fed a high-fat diet. Korean J Nutr. 1999. 32: 533-539.
- Cho JJ, Shin HJ. Sensory evaluation and changes in physiochemical properties, and microflora and enzyme activities of pumpkin-added kochujang. Korean J Food Sci Technol. 2000. 32: 851-859.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immuno-reactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med. 1996. 334: 292-295.
- Cooke JP, Oka RK. Dose leptin cause vascular disease? Circulation. 2002. 106: 1904-1905.
- DeMoss RD. Kinases in *Leuconostoc mesenteroides*. J Bacteriol. 1968. 95: 1692-1697.
- Fu Z, Gilbert ER, Liu, D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes. Curr Diabetes Rev. 2013. 9: 25-53.
- Fujimoto T, Nomura T. Components of root bark of *Cudrania tricuspidata* 3. Isolation and structure studies on the flavonoids. Planta Med. 1985. 51: 190-196.
- Guallar E, Stranges S, Mulraw C, Appel LJ. Enough is enough: Stop wasting money on vitamin and mineral supplements. Ann Intern Med. 2013. 159: 850-851.
- Hara H, Miwa I, Okuda J. Inhibition of rat glucokinase by alloxan and ninhydrin. Chem Pharm Bull. 1986. 34: 4731-4737.
- Havel PJ, Kasim-Karakas S, Dubuc GR, Mueller W, Phinney SD. Gender differences in plasma leptin concentrations. Nat Med. 1996. 2: 949-950.
- Hirano T. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia. J Atheroscler Thromb. 2018. 25: 771-782.
- Jee SH, Sull JW, Park J, Lee SY, Ohrr H, Guallar E, Samet JM. Body-mass index and mortality in Korean men and women. N Engl J Med. 2006. 355: 779-787.
- Jo SP, Kim JK, Lim YH. Antihyperlipidemic effects of stilbenoids isolated from *Morus alba* in rats fed a high-cholesterol diet. Food Chem Toxicol. 2014. 65: 213-218.
- Kawada T, Hgihara K, Iwai K. Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. J Nutr. 1986. 116: 1272-1278.
- Kereiakes DJ, Willerson JT. Metabolic syndrome epidemic. Circulation. 2003. 13: 1552-1553.
- Kim CH, Choi TM, Chang SG, Hong SY. Plasma homocysteine, folate and vitamin B concentrations in coronary artery disease. J Kor Cir. 1998. 28: 516-524.
- Kim IJ. Autoantibodies against oxidized LDLs and atherosclerosis in type 2 diabetes. Diabetes Research Digest. 2005. 2: 70-71.
- Kim SS, Oh HY, Kim HR, Yang JS, Kim DS, Sheen YY, Choi KH. Effect of biphenyl dimethyl dicarboxylate on cytochrome P450 1A1 and 2B1 and CCl4-induced hepatotoxicity in rat liver. Yakhak Hoeji. 1999. 43: 827-833.
- Kim MH, Sung CJ. The study of relationship among serum leptin, nutritional status, serum glucose and lipids of middle-school girls. Kor J Nutr. 2000. 33: 49-58.
- Kopelman P. Health risks associated with overweight and obesity. Obes Rev. 2007. 8: 13-17.
- Lim TK. Edible medicinal and non medicinal plants. 2015. pp 717-734. Springer, Dordrecht.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951. 193: 265-275.
- Ministry of Health and Welfare. National Health Interview Survey (NHIS). National Center for Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention; Sejong, Korea. 2018. pp 71-72.
- Murat JC, Serfaty, A. Simple enzymatic determination of polysaccharide (glycogen) content of animal tissue. Clinical Chemistry. 1974. 20: 1576-1577.
- Nassir F, Rector RS, Hammound GM, Ibdah JA. Pathogenesis and prevention of hepatic steatosis. Gastroenterol Hepatol (NY). 2015. 11: 167-175.
- Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM. The epidemiology of obesity. Gastroenterology. 2007. 132: 2087-2102.
- Pellymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science. 1995. 269: 540-543.
- Pi-Sunyer XF. Medical hazards of obesity. Ann Intern Med. 1993. 119: 655-660.
- Prentice AM. Obesity and its potential mechanistic basis. Brit Med Bull. 2001. 60: 51-67.
- Russo D, Valentao P, Andrade PB, Fernandez EC, Milella L.

- Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *Smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles. *Int J Mol Sci.* 2015. 16: 17696-17718.
- Singhal A, Farooqi IS, Cole TJ, O'Rahilly S, Fewtrell M, Kattenhorn M, Lucas A, Deanfield J. Influence of leptin on arterial distensibility: a novel link between obesity and cardiovascular disease. *Circulation.* 2002. 106: 1919-1924.
- Yamada T, Hida H, Yamada Y. Chemistry, physiological properties, and microbial production of hydroxycitric acid. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2007. 75: 977-982.
- Weledji, EP. Overview of gastric bypass surgery. *Int J Sur Open.* 2016. 5: 11-19.
- WHO. The Asia pacific perspective: redefining obesity and its treatment. Geneva. Ref. Type, Report. 2000.
- Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev.* 2005. 26: 19-39.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2020.26.2.75>

Cite this article as: Lim Y, Oh JH, Park UK, Huh MK, Hwang SY. Anti-obesity Effects of Mulberry Leaf and Yacon Extract in Obese Rats. *Biomedical Science Letters.* 2020. 26: 75-84.