

한국인 다소비 채소의 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포와 HepG2 간장세포의 지질축적, MCP-1과 Adiponectin의 분비에 미치는 영향

안은미^{1,2} · 강현주¹ · 김 영¹ · 최정숙¹ · 강민숙^{1*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부, ²전북대학교 식품영양학과

Effects of Ethanol Extracts from Commonly Consumed Vegetables in Korea on Differentiation and Secretion of MCP-1 and Adiponectin in 3T3-L1 Adipocytes and Lipid Accumulation in HepG2 Hepatocytes

Eun Mi Ahn^{1,2}, Hyun Ju Kang¹, Young Kim¹, Jeong Sook Choe¹ and Min-sook Kang^{1*}

¹Dept. of Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Science, Wanju 565-851, Korea

²Dept. of Food Science and Human Nutrition, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the inhibitory effects of commonly consumed vegetables in Korea on lipid accumulation and production of pro-inflammatory cytokines related to obesity/metabolic syndrome. Using KNHANES (Korea National Health and Nutrition Examination Survey) raw data (1st; 1998, 5th; 2010, 2011) and a literature search, we selected vegetables for study. Edible portions of samples were prepared, ethanol-extracted, and then freeze-dried. 3T3-L1 adipocytes and HepG2 hepatocytes cells were used as *in vitro* models. Lipid accumulation determined by Oil-red O staining showed that all samples except bracken had inhibitory effects on lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. Especially, crown daisy and mugwort effectively reduced accumulation of lipids, and their inhibition rates were more than 60% of the control group. Young pumpkin, leeks, crown daisy, and mugwort showed significantly decreased MCP-1 levels compared to the control group. However, adiponectin protein level did not increase in the vegetables experimental group. In HepG2 hepatocytes, all samples showed inhibitory effects on lipid accumulation at one of the two concentrations. Although adiponectin protein levels did not increase, MCP-1 protein levels decreased in adipocytes. Further, lipid accumulation in adipocytes and hepatocytes decreased. In conclusion, all samples showed one or more improved obesity/metabolic syndrome indicators. Among them, young pumpkin, leeks, crown daisy, and mugwort were selected as the most effective portions of vegetables based on improvement of obesity/metabolic syndrome-related indicators.

Key words : Commonly consumed vegetables, 3T3-L1 adipocytes, HepG2 hepatocytes, lipid accumulation, MCP-1

서 론

비만 중 백색지방조직(white adipose tissue, WAT)에 면역 세포(macrophages)가 침윤되면 염증성 사이토카인(cytokine), 케모카인(chemokine), 프로스타글란딘(prostaglandin)과 같은 물질들의 분비가 증가하며, 인슐린 저항성을 유발한다(Overman *et al* 2010). WAT는 생리적으로 지방을 저장하는 기능 뿐만 아니라, 수많은 병리·생리적 기능을 수행하면서 신체의 다른 기관에 영향을 미치는 중요한 내분비 기관이다(Bastard *et al* 2006). 지방세포에서 분비되는 생리활성 펩타이드(bioactive peptides)인 아디포카인(adipokines)은 지방세포의 부피

가 증가하거나 감소할 때 분비되는 양상과 역할이 다르다(Scotece *et al* 2014). 비만상태에서 증가하는 angiotensinogen은 고혈압에 관여하고, plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)은 혈전의 용해를 저해한다. Acylation stimulation protein(ASP), tumor necrosis factor alpha(TNF- α), interleukin-6(IL-6), resistin 등은 인슐린 저항성과 관련된 대표적인 아디포카인이다. 반면, leptin과 adiponectin은 부분적으로 인슐린 민감성을 강화하는 것으로 알려져 있다(Guerre-Millo M 2004). Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)은 면역세포인 마크로파지의 조절인자로 염증을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 고지방식을 한 마우스 지방세포에서 MCP-1의 mRNA 발현이 증가하고, 혈중 MCP-1의 단백질이 증가하였다(Kanda *et al* 2006). 이렇듯 비만은 단순히 지방세포의 수와 크기의 증가 뿐만 아니라, 만성적 염증으로 인슐린 저항성 등의 대사질환

*Corresponding author : Min-sook Kang, Tel : +82-63-238-2314, Fax : +82-63-238-3819, E-mail: mskang0803@korea.kr

을 야기한다.

비알코올성 지방간(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)도 대사증후군과 연계된 주요 증상으로 인슐린 저항성을 유발한다. 지방간의 임상적 정의는 간에 지방이 5% 이상 축적된 상태를 말하며, 과한 음주의 지속으로 인한 알코올성 지방간(alcoholic fatty liver disease, AFLD)과 비만, 당뇨병, 고지혈증, 호르몬제 등과 같은 약물에 의한 NAFLD로 분류된다. 특히 복부비만은 지방간의 중요한 지표이며(Hashimoto *et al* 2013), 우리나라에서 NAFLD는 2004년에 11.5%에서 2010년에 23.6%로 약 두 배 이상 유병률이 증가하였다(<http://www.mfds.go.kr>). NAFLD와 대사증후군의 유기적인 발생 기전은 TNF- α , IL-6와 같은 염증성 사이토카인이 과량 분비되면서 인슐린 저항성과 이상지질혈증을 동반한다(Bastard *et al* 2006). 이 과정 중에 분비되는 산화적 스트레스가 NAFLD를 유발한다(Dietrich & Hellerbrand 2014). 간에 존재하는 유리지방산(free fatty acid)은 미토콘드리아에서 산화되거나, 초저밀도 리포단백질(very low density lipoprotein, VLDL)이 되고, 간에 중성지질(triglyceride, TG)으로 축적이 되는데, 지방간이 악화될 경우 활성형 유리지방산 대사산물이 축적되어 간의 손상을 일으키고, 간조직의 섬유화, 간암의 원인이 되기도 한다(Machado & Cortez-Pinto 2014). 한국인 성인남성 11,350명을 대상으로 5년간 추적 관찰한 연구에서 NAFLD가 전고혈압단계의 위험요인 중 하나로 제시되었으며(Ryoo *et al* 2014), 한국인 성인 남녀 43,166명을 대상으로 7년간 추적 관찰한 연구에서는 NAFLD 또는 이에 의한 간 조직의 섬유화(fibrosis)가 유발된 사람들의 경우 당뇨의 발생률도 높은 것으로 나타나, NAFLD와 대사증후군과의 연관성을 뒷받침하고 있다(Chang *et al* 2013).

한식은 주식과 부식의 구분이 뚜렷하고, 채소를 많이 포함하는 식단구성이 특징이다(Lee *et al* 2012). 그러나 최근 생활의 서구화로 비만, 대사증후군과 같은 식생활에서 기인한 질환이 증가하여 사회적 문제로 부각되고 있다. 채소류는 비타민, 무기질 등의 영양소가 풍부하며, 다양한 기능의 식이섬유와 폴리페놀이 함유되어 있어 항암, 항노화, 면역증진 관련 연구뿐만 아니라, 비만, 당뇨, 심혈관 질환, 고혈압과 같은 만성질환의 예방과 개선 효과가 있다(Liu RH 2013; Liu RH 2004). 식이섬유는 고분자 탄수화물로, 콜레스테롤의 흡수와 발암물질의 흡수를 저해한다(Philips GO 2013). 또한 2형 당뇨병환자에서 식이섬유의 섭취량이 많아질수록 혈중의 PAI-1의 수치가 낮아지는 상관성을 보였다(Belalcazar *et al* 2014). 폴리페놀류는 식물이 자외선이나 병소의 침입 등에 대하여 이차적으로 생산하는 물질로(Bechman CH 2000), 8,000종 이상 종류가 다양하다(Machado & Cortez-Pinto 2014). 폴리페놀 함유 식품을 다량 섭취하면 혈중 항산화능을 증가시킨다

는 내용은 널리 알려져 있으며, 체내의 다른 항산화제를 절약하고, 림프구(lymphocyte) DNA 손상의 감소와도 관련성이 보고되었다(Pandey & Rizvi 2009). 총 항산화능(total antioxidant ability, TAC)은 비만과 대사증후군 관련 지표인 체중, 총 지방량, 혈압, 총콜레스테롤과 역의 상관관계(inverse correlation)가 있다(Gawron-Skarbek *et al* 2014). 평소 식이섬유와 항산화물질 등 식물화학물질(phytochemicals)이 풍부한 채소류 식품을 충분히 섭취하는 것은 비만 및 대사 증후군 개선에 도움이 될 것이다.

이에 본 연구는 한국인의 다소비 채소가 비만 및 대사성 질환 관련 지표 개선에 미치는 효과를 평가하기 위한 기초 연구를 실시하고자 하였다. 지방전구세포 및 간장세포를 이용하여 *in vitro* 질환모델을 적용하여 중성지방의 축적, 분화된 지방세포의 MCP-1과 adiponectin을 측정하여 평가하고자 하였다.

연구 방법

1. 시료의 선정과 처리방법

한국인 다소비 채소의 시료 선정은 국민건강영양조사 1기(1998년)와 5기(2010, 2011년)의 DB를 분석하여 10여 년 전과 후의 결과를 비교분석하였다. 채소 섭취와 건강 연관성에 관한 국내외 문헌고찰을 통해 대사성 질환의 예방과 개선 가능성이 있는 시료를 선정하였으며, 국민건강영양조사 자료 통계산출은 수분함량이 다른 별개의 식품 간 섭취량 합산을 위해서 환산계수가 적용된 3차 식품코드를 사용하였다. 김치로 소비되는 채소는 제외하였으며, 선행 연구와의 중복 연구를 피하기 위하여 문헌고찰을 통해 9종[애호박(young pumpkin), 고사리(bracken), 부추(leeks), 씩갓(crown daisy), 우엉(burdock), 고구마줄기(sweet potato vines), 가지(eggplant), 쑥(mugwort), 늪은 호박(pumpkin)]을 선정하였다(Table 1).

실험에 사용된 시료는 건고사리를 제외하고 모두 생 시료로 구매하여 전처리 후 가식부만 사용하였다. 전처리한 시료는 -70°C 초저온 냉동고(Operon, Ilshin, Korea)에 냉동한 후 동결건조기(Bondiro, Ilshin)에서 건조시켰다. 분쇄기로 분쇄 후 20 mesh 체에 거른 분말을 시료 100 g당 80% 에탄올 1 L로 진탕하여 상온($25\sim 28^{\circ}\text{C}$)에서 총 3회 반복 추출하였다. 추출물은 감압여과기로 여과 후 진공회전농축기(N-1200B, EYELA, Japan)를 사용하여 에탄올을 휘발시키고, 농축하여 다시 동결 건조 후 분말화 하였다. 분말시료는 -20°C 냉동고에 보관하며 이용하였고, 9가지 시료의 80% 에탄올 추출물은 유기용매인 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 stock solution을 만든 후 배지에 희석하여 세포에 처리하였다. 추출물의 용매인 DMSO는 세포독성이 없는 농도로 시료 처리

Table 1. Nine kinds of commonly consumed vegetables used in the present study

Name		Scientific name
Korean	English	
Aehobak	Young pumpkin	<i>Cucurbita moschata</i>
Kosari	Bracken	<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>latiusculum</i> (Desv.) Underw. ex Hell.
Buchu	Leeks	<i>Allium tuberosum</i> Rottler
Ssukkat	Crown daisy	<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.
Ueong	Burdock	<i>Arctium lappa</i> L.
Kokumajulgi	Sweet potato vines	Sweet potato; <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.
Gaji	Eggplant	<i>Solanum melongena</i> L.
Ssuk	Mugwort	<i>Artemisia princeps</i> Pamp.
Nealgeunhobak	Pumpkin	<i>Cucurbita moschata</i> Duchesne

시 최종 농도가 0.1%로 모두 동일하였다.

2. 세포배양과 세포생존율 측정

3T3-L1 지방전구세포와 HepG2 간장세포는 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 분양받아 실험에 사용하였다. 3T3-L1 지방전구세포와 HepG2 간장세포는 각각 10% calf serum(Gibco, USA) 또는 10% fetal bovine serum(Gibco)을 포함하는 Dulbecco's modified eagle's medium(DMEM, Sigma-Aldrich, USA)에 1% penicillin streptomycin(Gibco)을 첨가하여 37°C의 5% CO₂ 조건에서 배양하였다(Autoflow IR Direct Heat CO₂ Incubator, NUAIRE, USA). 3T3-L1 지방전구세포와 HepG2 간장세포에서 각각 지방분화와 지방 독성을 유발하고, 시료를 처리하지 않은 대조군과 비교하였다.

3T3-L1 지방전구세포와 HepG2 간장세포는 96 well plate에 각각 2×10³ cells/200 µL/well, 4×10⁴ cells/200 µL/well 농도로 분주하고, 2시간 동안 배양하여 세포가 플레이트 바닥에 잘 부착하여 배양되고 있는지 확인하였다. 세포 배양용 배지에 각 시료를 DMSO에 녹여 농도별(0.01~0.2 mg/mL)로 배지에 희석한 후 세포에 처리하고, 18시간 동안 세포 배양기 내에서 배양하였다. 그 후 0.5 mg/mL 농도의 MTT solution(Sigma-Aldrich)을 20 µL/well로 가하여 2시간 동안 세포 배양기에서 배양한 뒤 formazan 형성을 확인한 후 배지를 버리고, DMSO 200 µL/well에 녹여 550 nm에서 microplate reader(Molecular Devices, USA)를 이용하여 측정하였다.

3. 3T3-L1 지방전구세포의 분화

6 well plate에 1×10⁴ cells/mL를 분주하여 이틀에 한 번 배지를 교환하면서 세포가 well에 100%로 confluent 상태까지 7일간 배양하였다. 8일째에는 DMEM에 10 µg/mL 인슐린

(Sigma-Aldrich), 0.4 µM dexamethasone(Sigma-Aldrich), 0.11 mg/mL 1-methyl 3-isobutylxanthin(IBMx, Sigma-Aldrich)이 첨가된 배지 MDI(M: IBMx, D: dexamethasone, I: insulin)를 처리하여 3일 동안 배양하면서 분화를 유도하고, 5 µg/mL 인슐린을 포함하는 DMEM 배지를 10일 동안 이틀에 한 번씩 교환해 주면서 10일간 배양하였다. 각 시료의 농도는 MTT assay를 통하여 세포생존율에 영향을 미치지 않는 농도 중 고농도와 저농도 각 2가지(10배 차이)를 선정하여 처리하였으며, 시료는 분화 유도 시작부터 배지에 희석하여 처리하였다.

4. HepG2 간장세포의 지방독성 유발

HepG2 간장세포는 100 mm dish에 2×10⁵ cells/mL 농도로 분주하여 18시간 후 70~80%로 찬 상태에서 phosphate buffered saline(PBS)로 세척하고, 배지에 oleic acid-bovine serum albumin(OA-BSA, Sigma-Aldrich)을 2 mM 농도로 희석하여 세포에 처리하였다. Oleic acid에 의한 지방 독성 유발상태를 정성적 또는 정량적으로 확인하기 위하여 콜레스테롤 저해제이며 Peroxisome proliferator activated receptor-alpha(PPAR-α) agonist(작용제)인 fenofibrate(Sigma-Aldrich)를 100 µM로 oleic acid와 함께 처리하고, 양성대조군으로 하여 비교하였다. 24시간 후 세포를 회수하여 TG(TG-S, Asan pharm., Korea)와 protein(BCA, Thermo, USA)을 측정 한 후 TG값을 protein으로 보정한 값을 비교하였다. Oleic acid에 의한 지방 독성 유발 여부를 확인한 후, 세포를 다시 6 well plate에 2×10⁵ cells/mL로 분주하여 같은 방법으로 지방 독성을 유발시키고, 그 후 시료를 처리하여 지방축적 억제 효과를 비교·평가하였다.

5. Oil-red O 염색에 의한 세포 내 축적된 지방의 측정

다소비 채소 80% 에탄올 추출물의 중성지방 축적 억제능을 확인하기 위하여 Oil-red O staining을 실시하였다. 분화된 3T3-L1 지방세포와 HepG2 간장세포는 PBS로 세척하고, 10% formalin(Sigma-Aldrich)으로 1시간 이상 충분히 고정하였다. Oilred O(Sigma-Aldrich)는 0.7 g을 200 mL의 isopropanol(Sigma-Aldrich)에 녹여 stock solution을 만들어 사용하였다. Stock solution은 D.W.를 가하여 60%로 희석한 후 필터페이퍼(Whatman, USA)로 여과하여 고정된 지방세포에 1시간 반응하였다. 반응이 끝난 세포는 60% isopropanol로 세척한 후 D.W.로 다시 세척하여 위상차 현미경으로 관찰하였다. 관찰을 마친 세포의 지방을 정량하기 위하여 염색한 세포에 DMSO를 가하여 색소를 용출시켜 회수한 다음 510 nm에서 microplate reader(Molecular Devices, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

6. MCP-1과 Adiponectin 단백질 분비량 측정

분화가 유도된 지방세포에 시료를 처리하면서 배양이 종료된 후 배지를 회수하여 시판되고 있는 mouse MCP-1 kit(BD Pharmingen, USA)와 mouse adiponectin kit(R&D System, USA)를 이용하여 sandwich ELISA법으로 정량하였다.

7. 지방분화관련 유전자 발현측정

세포에서 Total mRNA를 추출하고(Qiagen, USA) 분광광도계(Nanodrop, Thermo, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하여 정량하였다. Adiponectin, Peroxisome proliferator activated receptor-gamma(PPAR- γ)와 adipocyte fatty acid binding protein-2(aP2)의 cDNA 합성과 quantitative polymerase chain reaction(qPCR)은 reverse transcription kit과 cybergreen real time PCR kit(Qiagen, USA)을 이용하여 상대정량하였다. 실험에 사용된 PCR primer는 다음과 같다. 36b4 Forward(F): 5'-TGTGTG-TCTGCAGATCGGCTAC-3', Reverse(R): 5'-CTTTGGCGG-GATTAGTCGAAG-3'; Adiponectin F: 5'-TACAACCAACA-GAATCATTATGACGG-3' R: 5'-GAAAGCCAGTAAATGT-AGAGTCGTTGA-3'; PPAR- γ F: 5'-GGAGATCTCCAGTG-ATATCGACCA-3', R: 5'-ACGGCTTCTACGGATCGAACT; aP2 F: 5'-AAGACAGCTCCTCCTCGAAGGTT-3', R: 5'-TGACCAAATCCCCATTTACGC-3'.

8. 통계처리

본 연구 자료의 처리와 분석은 SPSS 12.0을 이용하여 분석하였다. 평균과 표준편차로 산출하여 표시하였으며, 통계적 유의성 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 Student's *t*-test와 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 사후검증을 실시하여 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 세포의 생존율에 미치는 영향

시료의 세포 처리 농도를 결정하기 위하여 각 시료를 3T3-L1 지방전구세포와 HepG2 간장세포에 대하여 0.01~0.2 mg/mL 농도에서 MTT assay를 실시하였다. MTT 측정은 세포의 증식과 성장을 알아보는 것으로, 탈수소 효소 작용에 의해 노란색의 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 청자색의 formazan으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하며, 세포의 수가 증가하면 흡광도가 증가한다(Mosmann T 1983). 본 연구에서는 추출물을 처리하지 않고 배양시킨 대조군과 시료별 농도에 따른 세포생존율을 상대적으로 평가한 후 통계적 유의성을 평가하였다. 그 결과, 3T3-L1 지방전구세포의 경우, 고사리는 0.01~0.1 mg/mL, 나머지 8가지 시료는 0.02~0.2 mg/mL에서 세포생존율이 저하되지 않았다. HepG2 간장세포에서도 고사리가 0.01~0.1 mg/mL, 나머지 8가지 시료는 0.02~0.2 mg/mL의 농도에서 세포생존율이 저하되지 않아 이 범위 내에서 시료별로 10배 차이의 두 가지 농도를 설정하고, 지방전구세포 분화 억제 효과와 간장세포 지질 독성 억제 평가를 실시하였다(Fig. 1).

2. 다소비 채소 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 지방분화 억제에 미치는 영향

시료의 80% 에탄올 추출물이 분화된 3T3-L1 지방세포의 지방구(lipid droplet) 형성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 분화유도와 시료처리를 동시에 진행하고 Oil-red O 염색을 한 후 200배율의 현미경으로 관찰하였다(Fig. 2). 위상차 현미경으로 관찰이 끝난 후 DMSO로 녹여 무처리 대조군과 비교하여 lipid droplet의 흡광도 값을 상대 정량한 값으로 나타났다. 그 결과, 고사리를 제외한 모든 시료에서 대조군에 비하여 lipid droplet이 유의적으로 감소하였다. 애호박(0.02, 0.2 mg/mL), 부추(0.02 mg/mL), 썩갓(0.02, 0.2 mg/mL), 우엉(0.02, 0.2 mg/mL), 고구마줄기(0.02, 0.2 mg/mL), 썩(0.02, 0.2 mg/mL), 늙은 호박(0.02 mg/mL)에서는 대조군에 비하여 50% 이상 감소하는 효과를 보였으며, 그 중에서도 썩갓(0.02, 0.2 mg/mL)은 각각 68, 61%, 썩(0.2 mg/mL)은 90% 감소하여 눈에 띄는 지방분화 억제 효과를 보였다.

썩갓은 주로 동양 및 유럽 남부, 지중해 연안에서 식용으로 활용되는 채소로 terpene류 화합물, β -sitosterol과 같은 생리 활성 성분들이 함유되어 있다(Lee *et al* 2003; Song *et al* 2003). 썩갓 메탄올 추출물을 에틸아세테이트와 부탄올로 분획하여 추출한 glyceride는 지방산 합성에 관여하는 acyl-coenzyme A(ACAT), diglycerol acyltransferase(DGAT), farnesyl protein transferase(FPTase) 효소를 저해하였다(Song *et al* 2009). 또

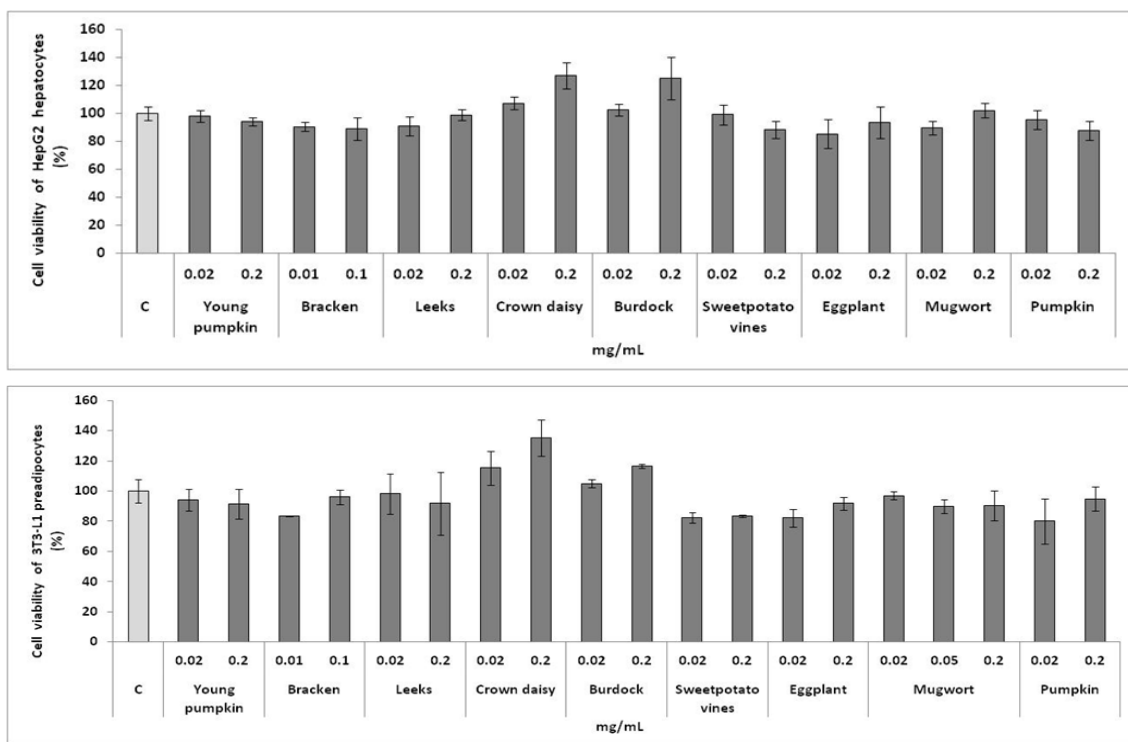


Fig. 1. Cell viability of 3T3-L1 preadipocytes and HepG2 hepatocytes.
 The values are mean±S.D., Statistical significance was tested at $P<0.05$ by Student's *t*-test compared with control group.

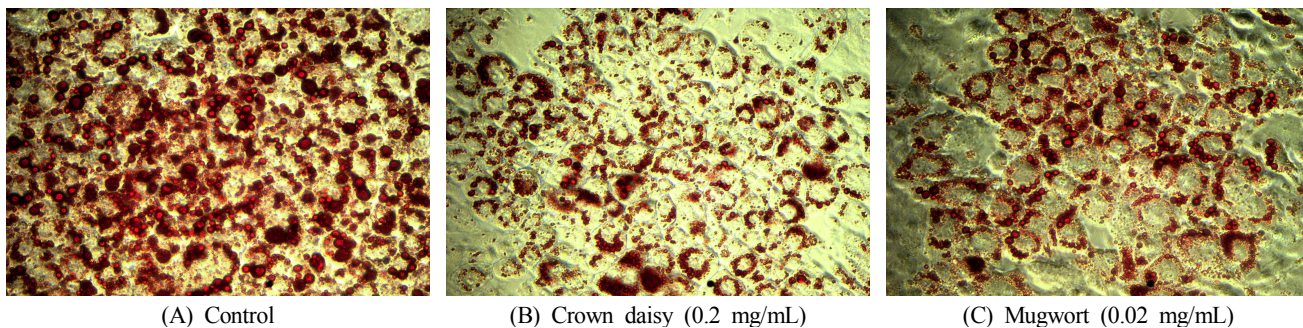
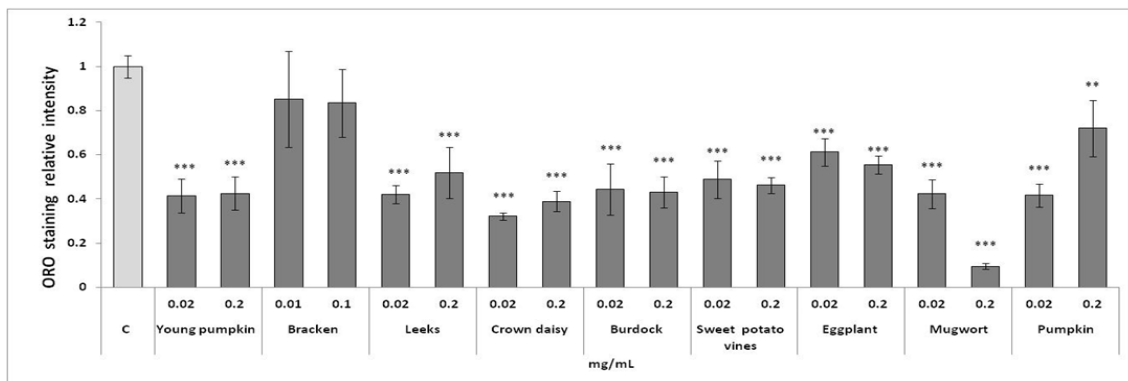


Fig. 2. Inhibitory effects of vegetables on lipid accumulation by Oil-red O staining in differentiated 3T3-L1 adipocytes.
 The values are mean±S.D. of 4 tests. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. compared with control group. Absorbance measured at 510 nm wavelength and O.D. values were presented relatively those of C. Oil-red O (lipid stain, A~C) is intended for use in the histological visualization of triglyceride. Presented images(B, C) have similar density of O.D. values.

한 쥐 지방전구세포의 초대배양(primary culture)에 β -sitosterol을 인슐린과 함께 처리하였을 때 지방세포의 분해가 증가하였다(Chai *et al* 2011). 본 연구의 썩갓 에탄올 추출물 0.02, 0.2 mg/mL에서 모두 유의적으로 분화된 지방세포의 지질축적을 저해하였으며, 대조군에 비하여 저농도와 고농도에서 각각 68, 61% 감소하는 것으로 나타났다. 썩갓에 함유된 생리활성 물질들이 지방분화의 저해 결과를 가져온 것으로 유추할 수 있었다. 썩갓의 비만 개선과 관련된 분자적 기전 구명은 식의약 소재 개발에 도움이 될 것으로 사료된다.

썩은 예부터 민간요법의 생약 소재로 사용되어 왔으며, 동양의학 연구자에 의해 다수의 연구가 진행되었다. 8종의 *Artemisia*속 썩을 메탄올로 추출하여 3T3-L1 지방전구세포에 처리 시 종에 따른 차이는 있었지만, 대부분 농도 의존적으로 분화된 지방세포에서 분비된 중성지질을 감소시켰다(Choi *et al* 2013). 본 연구에서 사용한 썩은 선행연구와 다른 종으로, 흔히 자생하는 종이다(Jeong *et al* 2014). 썩의 80% 에탄올 추출물을 0.02~0.2 mg/mL 농도로 지방전구세포에 처리하였을 때 대조군에 비하여 0.02 mg/mL 농도에서 57%, 0.2 mg/mL 농도에서 90%의 강한 지방분화 억제능을 보였다. 저농도와 비교하면 고농도에서 4.4배 높은 저해율을 보였다. 최근 썩에 함유되어 있는 artemisinic acid는 인간 지방세포유래 줄기세포 분화에 관여하는 C/EBP δ , glucose transporter-4와 vascular endothelial growth factor 유전자를 감소시켜 비만 및 대사증후군의 치료제로서의 사용 가능성이 밝혀졌다(Lee *et al* 2012). 기능성이 규명된 artemisinic acid와 같은 기능성 성분이 지방분화 감소에 영향을 준 것으로 사료된다. 한방의약 소재로 주목받았던 썩은 지방세포에서 강력한 지방축적 저해 결과를 보여 비만의 예방과 개선에 효과적인 천연물 소재로 판단된다.

3. 다소비 채소 에탄올 추출물이 지방전구세포의 MCP-1, Adiponectin 분비와 지방분화 관련 유전자 발현에 미치는 영향

3T3-L1 지방전구세포의 분화 시, lipid droplet의 형성을 효과적으로 감소시키는 것으로 판단되는 다소비 채소의 80% 에탄올 추출 시료 7가지를 선정하여 세포배양 시 시료처리와 함께 분화를 유도하였고, 세포배지를 회수하여 MCP-1과 adiponectin의 단백질을 ELISA로 측정하여 정량화하였다.

Fig. 3과 같이 애호박, 부추, 썩갓과 썩의 처리는 대조군과 비교하여 MCP-1의 분비가 저하되었다. 그러나 우엉, 고구마 줄기와 늪은 호박의 처리는 MCP-1의 분비 저하에 효과가 없었다. 동양계 호박의 애호박은 한국인이 많이 섭취하는 식물성 식품이지만, 기능성 연구는 주로 늪은 호박 위주로 이루어졌으며(Kim *et al* 2014), 애호박의 기능성 연구는 부족한 편이다. 인간 비만 세포주에 애호박 에탄올 추출물을 처리하였을 때 염증성 사이토카인의 유도인자인 TNF- α 와 IL-6가 감소하였다(Ko *et al* 2013). 본 연구에서는 마우스 유래의 분화된 지방세포에 애호박 추출물을 처리 시 염증성 케모카인인 MCP-1이 대조군에 비하여 20%($p<0.05$)의 감소 효과를 보였다. 애호박은 수분이 90%이며, 비타민 A와 베타카로틴, 칼륨의 함량이 높고, 폴리페놀(42.19 mg/100 g)과 플라보노이드(11.16 mg/100 g) 함유량이 높다(http://koreanfood.rda.go.kr). 폴리페놀류는 분화된 지방세포에서 TNF- α 에 의해 유발된 MCP-1을 감소시키는 효과가 보고된 바 있어(Yen *et al* 2011), 애호박에 함유된 폴리페놀류의 영향일 것으로 사료된다. 추후 애호박에 함유된 영양성분의 항비만 효과 연구가 필요할 것으로 판단된다.

부추는 황 함유 영양소를 포함하는 백합과의 식물로 *Allium* 속이다. 황 함유 영양소들은 항산화, 항노화, 항암작용 등 생

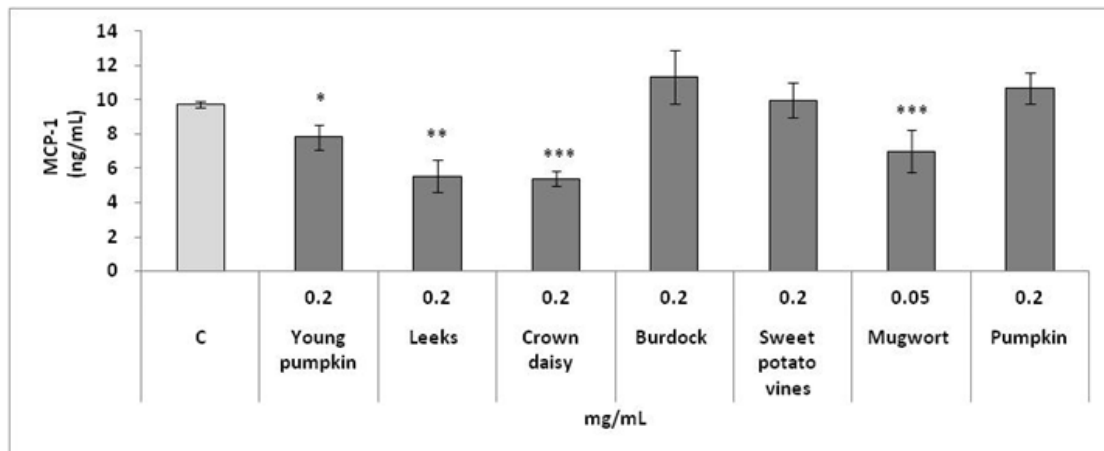


Fig. 3. Effects of commonly consumed vegetables on MCP-1 changes in 3T3-L1 adipocytes. The values are mean \pm S.D. of 4 tests. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ compared with control group.

리활성에 대한 연구가 이루어졌다(Griffiths *et al* 2002). 부추의 80% 에탄올 추출물을 지방전구세포에 처리하였을 때 지방분화 저해 효과와 함께 염증지표인 MCP-1이 대조군에 비하여 44%($p<0.01$) 감소하였다. 부추는 엽산, 비타민 E, 비타민 K, 마그네슘이 많으며, 기능성 성분을 살펴보면 총 폴리페놀(177.13 mg/100 g)과 퀘세틴(17.11 mg/100 g)과 같은 플라보노이드류(122.81 mg/mL)의 함량이 높다(<http://koreanfood.rda.go.kr>). 앞서 설명한 애호박과 마찬가지로 부추에도 다량 함유된 폴리페놀과 플라보노이드류가 MCP-1의 분비 저해 효과에 연관된 것으로 사료되며, 비만관련 염증성 질환의 개선 식품으로 활용될 가능성을 보였다.

분화된 지방세포에서 썩갯 에탄올 추출물의 처리는 과분비된 MCP-1이 대조군에 비하여 45%($p<0.001$) 감소하여, 효과적인 염증개선을 확인할 수 있었다. 썩갯의 영양성분에는 비타민 A, 베타카로틴, 루테인(3.24 mg/100 g), 폴리페놀(103.01 mg/100 g), 플라보노이드(144.08 mg/100 g)가 풍부하게 함유되어 있다(<http://koreanfood.rda.go.kr>). 썩갯의 폴리페놀류 중 클로로겐산(chlorogenic acid)의 항비만 활성이 보고된 바 있

으며, ApoE 유전자 K/O 마우스에 클로로겐산을 200, 400 mg/kg으로 12주 동안 경구투여한 경우 혈중 MCP-1이 농도의존적으로 감소하였다(Wu *et al* 2014). 본 연구에서도 썩갯에 다량 함유된 영양소 및 폴리페놀류가 비만관련 염증을 완화한 것으로 사료된다.

분화된 지방세포에서 썩갯의 에탄올 추출물 처리는 MCP-1이 과분비된 대조군에 비하여 28%($p<0.001$) 감소하였다. MCP-1의 감소폭이 지방분화 저해율에 비해 작은 이유는 처리농도를 0.2 mg/mL에서 0.05 mg/mL로 처리농도를 조절한 것에 의한 영향으로 판단된다. 썩갯의 항염증 관련 연구에서 썩갯 에탄올 추출물을 인간제대정맥 내피세포(HUVECs)에 처리한 경우, NF- κ B와 관련된 전염증성 단백질인 IL-1 β , TNF- α , Cox-2와 iNOS가 감소하였지만, MCP-1의 감소 효과는 제시되지 않았다(Han *et al* 2009).

Fig. 4와 같이 분화된 지방세포에서 adiponectin의 분비량 측정결과, 모든 처리군에서 대조군과 비교하여 유의적인 감소를 보였으나, 썩갯 처리군에서는 측정이 되지 않았다. Adiponectin의 mRNA 발현은 대조군과 비교 시 애호박, 부추, 썩

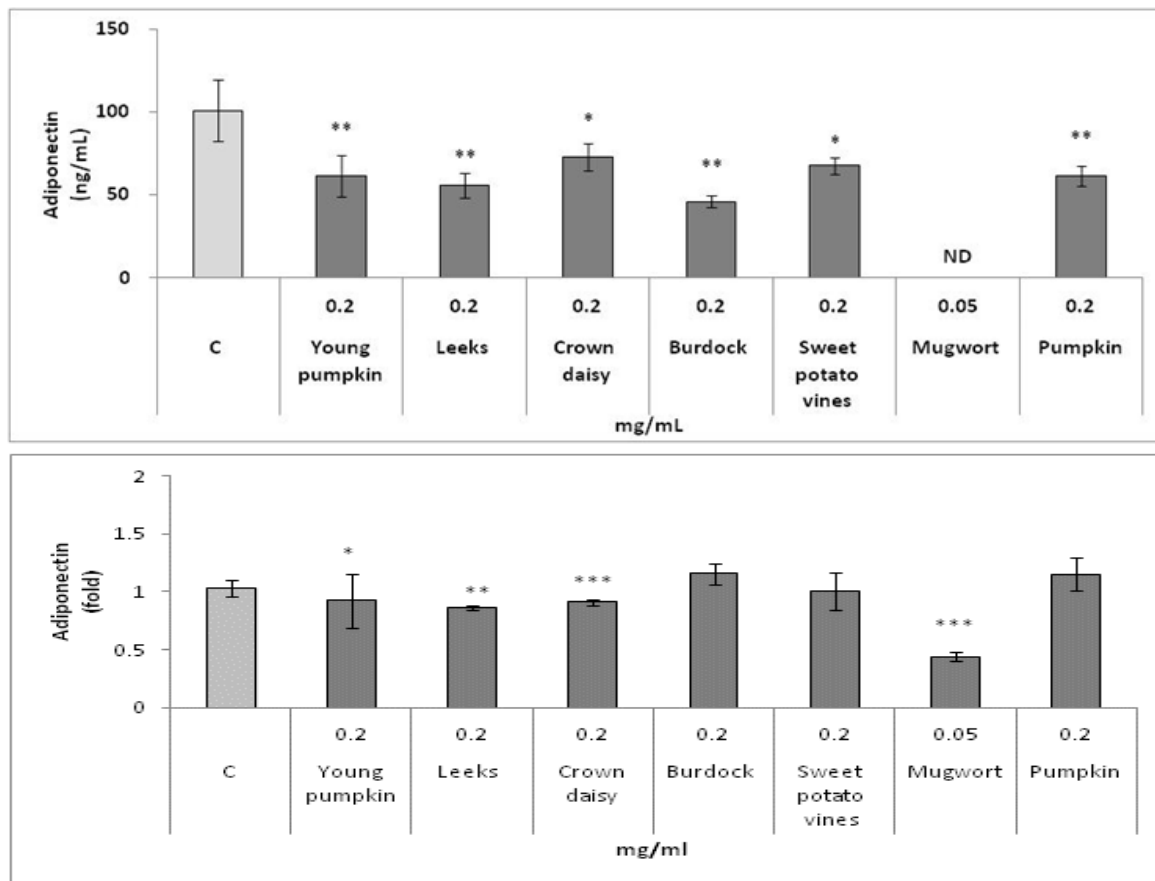


Fig. 4. Effects of commonly consumed vegetables on adiponectin secretion and mRNA expression in 3T3-L1 adipocytes. The values are mean±S.D. of 4 tests. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ compared with control group.

것, 썩에서 유의적으로 감소하였으며, adiponectin의 단백질 분비와 유사한 패턴을 보였다. Adiponectin은 지방에서 분비되는 adipocytokine의 일종으로 대사성 질환과 관련된 인슐린 저항성과 비만을 개선한다고 알려져 있지만, insulin growth factor binding protein(IGFBP-3)이나 beta-adrenergic 작용물질에 의해 adiponectin의 유전자 발현이 감소되기도 한다(Kim HS 2011). 지방전구세포의 분화 시, adiponectin receptor 1과 adiponectin receptor 2와 같은 수용체가 증가되며(Fasshaure *et al* 2004), PPAR- γ 발현의 증가도 adiponectin의 발현을 유도한다(Rosen *et al* 2000). Fig. 2에서와 같이 지방세포 분화 유도 시 함께 처리된 채소 에탄올 추출물 시료는 고사리를 제외한 시료에서 지방세포의 분화를 억제하였으며, 지방분화에 관여하는 PPAR- γ 와 aP2의 유전자 발현에서도 대조군에 비하여 차이가 없거나 감소하는 패턴을 확인하였다(Fig. 5). 특히 지방세포 분화에 관여하는 PPAR- γ 유전자의 발현은 썩(0.05 mg/mL)에서 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다(49%, $p < 0.01$). aP2 유전자는 부추(0.2 mg/mL, 35%), 썩(0.05 mg/mL, 58%), 늙은 호박(0.2 mg/mL, 28%)에서 유의적

으로 감소하였으며, 통계적 유의성은 없었지만 대조군에 비하여 애호박(25%), 썩갓(5%), 우엉(24%), 고구마줄기(27%)에서도 감소하는 패턴을 보였다. 이러한 지방세포의 분화 관련 유전자의 발현 감소가 adiponectin 분비에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

비만과 지질대사 관련 식품 소재의 생리활성물질이 염증성 사이토카인의 감소에 미치는 영향을 살펴보면, 다양한 식물화학물질(phytochemicals)은 지방전구세포의 분화 억제 또는 지방을 분해하는 과정을 촉진하며, 결과적으로 지방세포의 사멸(apoptosis)에 관여하며, 항비만 효과를 가진다(Rayalam *et al* 2008). 일부 식품유래 생리활성물질은 장기간 섭취하여 안전성이 확보된 식품을 소재로 생리활성을 평가하고, 규명된 기능성을 토대로 제품을 상업화하기도 한다. 콩에 함유된 genistein과 diadzein과 같은 이소플라본(Kang *et al* 2011), 포도의 resveratrol(Andrade *et al* 2014), 녹차의 catechin(Hursel & Westerterp-Plantenga 2013), 녹황색 채소에 들어있는 carotenoid(Maeda *et al* 2013) 등이 그 예이다. 그러나 본 연구에서는 단일 물질이 아닌 식품의 관점으로 접근하여 다소비 채소

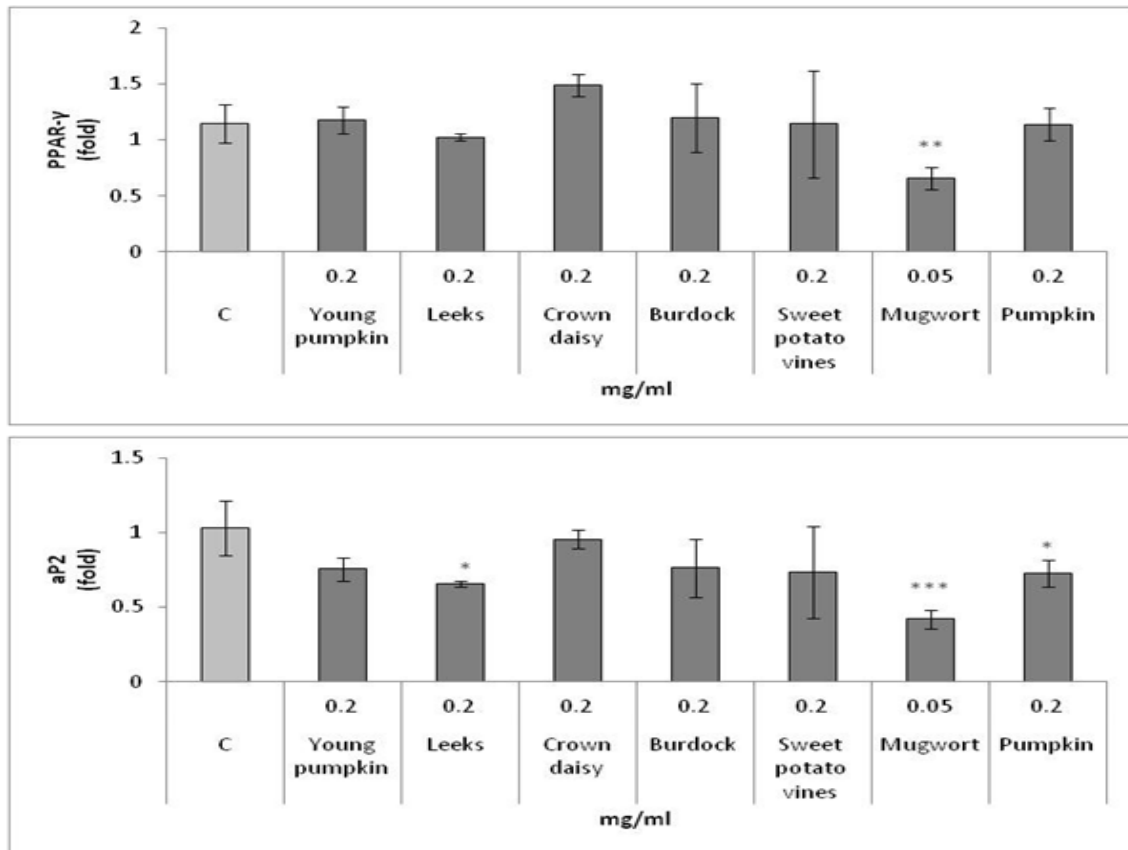


Fig. 5. mRNA levels of lipid differentiation-related genes in 3T3-L1 adipocytes.

The values are mean \pm S.D. of 4 tests. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with control group. Values were presented relatively those of C.

의 80% 에탄올 추출물을 시료로 사용하였으며, 분화된 지방 세포에서 지방축적과 과분비된 MCP-1 분비억제를 통해 일상적으로 섭취하는 채소가 비만 및 관련 염증지표 예방과 개선에 도움이 될 것으로 판단된다.

4. 다소비 채소 에탄올 추출물이 HepG2 간장세포의 Lipid Droplet 생성에 미치는 영향

NAFLD의 모델로, 간장세포의 지방 독성 유발 모델을 구축하기 위하여 HepG2 간장세포에 oleic acid를 처리하고 TG를 측정하여 비교한 결과를 Fig. 6에 제시하였다. 무처리 대조군과 0.25%의 DMSO만을 처리한 그룹의 TG 생성에는 차이가 없었다. DMSO만을 처리한 그룹과 비교 시 DMSO와 oleic acid를 함께 처리한 그룹에서는 TG 생성이 유의적으로 증가하는 것으로 나타나, oleic acid에 의해 지방 독성이 유발되었음을 확인할 수 있었다. Fenofibrate를 처리한 그룹에서는 TG 생성이 oleic acid 처리군과 대조군보다 유의적으로 감소하여 약물에 의한 TG 저하 효과를 확인할 수 있었다.

간장세포에 oleic acid를 처리하여 지방 독성 모델을 구축하고, 다소비 채소 9종의 80% 에탄올 추출물 시료를 처리한 후 Oil-red O 염색을 통해 지질축적 저해 효과를 평가한 결과는 Fig. 7과 같다. 농도 의존적이지는 않았지만 대조군과 비교하여, 모든 시료의 한 가지 이상 농도에서 간장 세포내 지질 축적을 저해하는 결과를 보여 NAFLD 모델에서 채소의 80% 에탄올 추출물이 TG 저하에 미치는 영향을 확인할 수 있었다.

각 시료별로 대조군에 비하여 저해율이 큰 순서로 나열하면, 늫은 호박(0.2 mg/mL) 33%($p<0.05$), 썩(0.02 mg/mL) 31%($p<0.05$), 부추(0.2 mg/mL) 29%($p<0.01$), 우영(0.02 mg/mL) 26%($p<0.01$), 가지(0.2 mg/mL) 26%($p<0.01$), 고구마줄기(0.02

mg/mL) 25%($p<0.05$), 애호박(0.02 mg/mL) 22%($p<0.06$), 고사리 (0.1 mg/mL) 21%($p<0.05$), 썩갓(0.02 mg/mL) 19%($p<0.05$) 순으로 간장세포 내 지질축적이 감소하였다.

특히 부추와 고구마 줄기는 저농도와 고농도 모두에서 통계적으로 유의적인 저해 효과가 있었고, 저농도(0.02 mg/mL)에서도 고농도(0.2 mg/mL) 수준의 저해 효과를 보였다. 대부분의 시료에서 농도 의존적인 결과를 보이지 않았으나, 이는 특정 기능성을 가지는 단일 추출물 또는 제약이 아닌 식품의 특성을 가지기 때문으로 사료된다.

이상의 결과는 한국인 다소비 채소가 비만 및 관련 질환의 지표 개선에 미치는 영향을 평가하기 위한 기반연구로 지방전구세포와 간장세포를 이용하여 비만과 비알코올성 간질환 모델을 구축하였다. 9가지 채소를 선정하여 80% 에탄올을 이용하여 추출하고, 지방축적과 만성질환 관련 아디포카인의 감소 효과를 평가하였다. 고사리를 제외한 8가지 에탄올 추출물 시료에서 3T3-L1 지방전구세포가 분화를 억제하는 결과를 보였다. 그 중 애호박, 부추, 썩갓, 썩의 에탄올 추출물은 분화된 지방세포에서 MCP-1의 분비를 감소하였다. 지방분화와 관련한 유전자의 발현에서 썩 에탄올 추출물은 PPAR- γ 의 발현을 감소하였고, 부추, 썩, 늫은 호박의 에탄올 추출물은 aP2의 발현을 감소하였다. 간장세포에서 9종의 에탄올 추출물은 간장세포 내 지질축적 억제 가능성을 보였으며, 특히 부추와 고구마줄기는 처리한 농도에서 모두 억제 효과가 있었으며, 저농도에서도 고농도와 같은 수준의 저해 효과가 있었다.

결과를 종합하면, 지방과 간장세포의 지질축적 억제, 지방 세포에서 과분비된 MCP-1의 감소, 지방분화 관련 유전자의 발현감소 효과가 있는 시료로 9종 중 애호박, 부추, 썩갓, 썩이 선정되었다. 추후 *in vivo* 적용실험과 기전 연구가 추가된다면, 다소비채소의 대사성 질환 관련 건강 기능성을 규명할 수 있는 기초 자료로 의미가 있으며, 소비촉진의 과학적 근거가 될 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 한국인이 다소비하는 채소 중 국민건강영양조사 자료와 관련연구 문헌을 통하여 9가지를 선정하고, 3T3-L1 지방전구세포와 HepG2 간장세포를 이용하여 채소의 80% 에탄올 추출물이 비만과 대사증후군 관련 지표에 미치는 영향을 조사하여, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 3T3-L1 지방전구세포와 HepG2 간장세포에서 세포생존율은 고사리 0.01~0.1 mg/mL 농도에서, 나머지 8가지 시료는 0.02~0.2 mg/mL의 농도에서 세포생존율에 영향을 미치지 않았다.

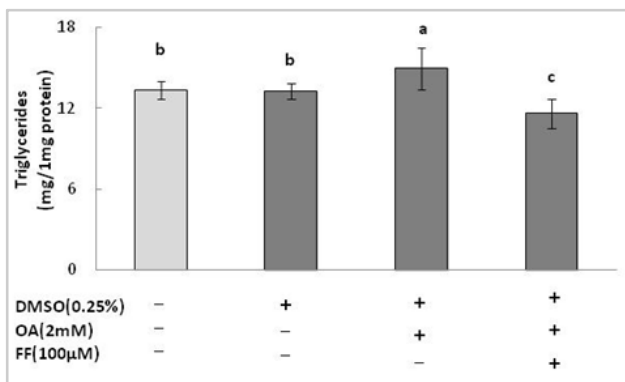


Fig. 6. Hepatocytes steatosis model contracture in HepG2 cells.

Different superscript within a given row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

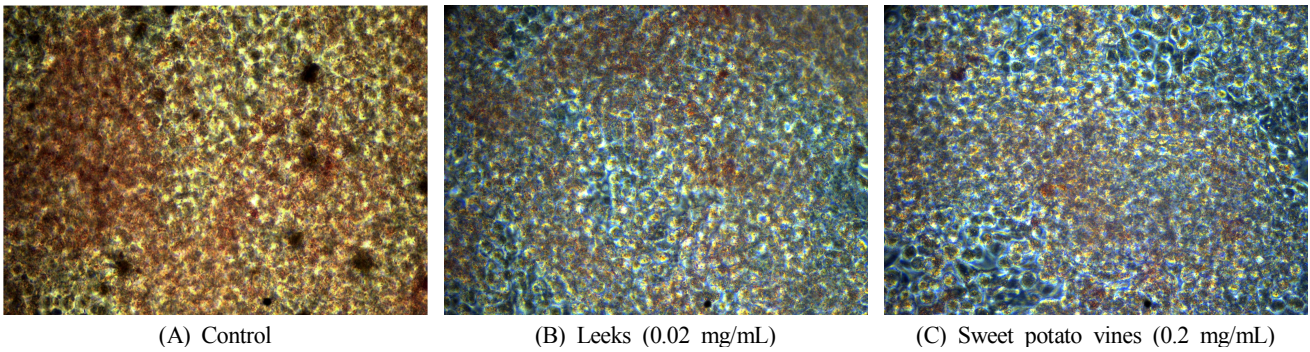
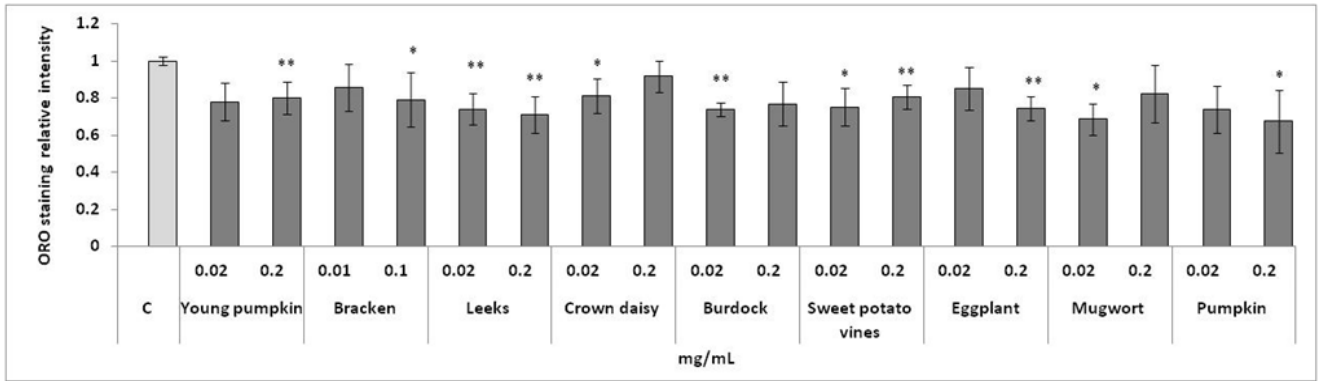


Fig. 7. Inhibitory effects of vegetables on lipid accumulation by Oil-red O staining in oleic acid induced steatosis HepG2 cells.

The values are mean±S.D. of 4 tests. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with control group. Absorbance measured at 510 nm wavelength and O.D. values were presented relatively those of C. Presented images (B, C) have similar density of O.D. values.

- 분화된 3T3-L1 지방세포의 Oil-red O 결과, 고사리를 제외한 8가지 시료는 한 가지 이상 농도에서 대조군에 비하여 유의적으로 지방분화 억제 효과를 보였으며, 시료에 따라 지방분화율을 25~90% 정도 감소시켰다. 그 중에서 썩갓(0.02 mg/mL, 68%; 0.2 mg/mL, 61%)과 썩(0.02 mg/mL, 57%; 0.2 mg/mL 90%)의 에탄올 추출물은 50% 이상의 지방분화 저해율을 보였다.
- 3T3-L1 지방전구세포의 지방분화를 효과적으로 감소시킨 다소비 채소 7가지에 대하여 염증성 사이토카인인 MCP-1 단백질 분비를 측정하였을 때, 애호박, 부추, 썩갓과 썩은 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다.
- Adiponectin의 단백질 분비는 7가지 시료에서 모두 유의적으로 감소하였으며, 유전자 발현은 애호박, 부추, 썩갓과 썩의 에탄올 추출물에서 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였으며, 지방분화 관련 유전자인 PPAR- γ 의 발현은 썩, aP2의 발현은 부추와 썩의 에탄올 추출물에서 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다.
- 비만에 의한 NAFLD의 모델로, HepG2 간장세포에 oleic acid를 처리하여 지방 독성을 유발한 후 채소의 80% 에탄올 추출물을 처리하였을 때 시료의 농도에 따른 지질축적

- 저해율의 차이는 있었지만, 9가지 시료 모두에서 간장세포의 지질축적을 저해하였다. 그 중 부추(0.02 mg/mL, 26%; 0.2 mg/mL, 29%)와 고구마줄기(0.02 mg/mL, 25%; 0.2 mg/mL, 20%) 에탄올 추출물은 처리한 농도 모두에서 감소 효과가 있었으며, 저농도에서 고농도 수준의 감소 효과를 보였다.
- 지방과 간장세포의 지질축적 억제, 지방세포에서 과분비된 MCP-1의 감소, 지방분화관련 유전자의 발현 감소 효과가 있는 시료로 애호박, 부추, 썩갓과 썩이 선정되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구과제 농식품기초기반연구(PJ-009469)의 연구비 지원으로 수행된 연구결과와의 일부로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Andrade JM, Paraíso AF, de Oliveira MV, Martins AM, Neto JF, Guimaraes AL, de Paula AM, Qureshi M, Santos SH

- (2014) Resveratrol attenuates hepatic steatosis in high-fat fed mice by decreasing lipogenesis and inflammation. *Nutrition* 30: 915-919.
- Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B (2006) Recent advances in the relationship between obesity, inflammation and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* 17: 4-12.
- Bechman CH (2000) Phenolic-storing cells: Keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants. *Physiol Mol Plant Pathol* 57: 101-110.
- Belalcazar LM, Anderson AM, Lang W, Schwenke DC, Haffner SM, Yatsuya H, Rushing J, Vitolins MZ, Reeves R, Pi-Sunyer FX, Tracy RP, Ballantyne CM (2014) Fiber intake and plasminogen activator inhibitor-1 in type 2 diabetes: look AHEAD (Action for Health in Diabetes) trial findings at baseline and year 1. *J Acad Nutr Diet* S2212-2672.
- Chang Y, Jung HS, Yun KE, Cho J, Cho YK, Ryu S (2013) Cohort study of non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD fibrosis score, and the risk of incident diabetes in a Korean population. *Am J Gastroenterol* 8: 1861-1868.
- Chai JW, Lim SL, Kanthimathi MS, Kuppusamy UR (2011) Gene regulation in β -sitosterol-mediated stimulation of adipogenesis, glucose uptake, and lipid mobilization in rat primary adipocytes. *Genes Nutr* 6(2): 181-188.
- Choi E, Park H, Lee J, Kim K (2013) Anticancer, antiobesity, and anti-inflammatory activity of *Artemisia* species *in vitro*. *J Tradit Chin Med* 33: 92-97.
- Dietrich P, Hellerbrand C (2014) Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 28: 637-653.
- Fasshauer M, Klein J, Kralisch S, Klier M, Lössner U, Blüher M, Paschke R (2004) Growth hormone is a positive regulator of adiponectin receptor 2 in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 558(1-3): 27-32.
- Gawron-Skarbek A, Chrzczanowicz J, Kostka J, Nowak D, Drygas W, Jegier A, Kostka T (2014) Cardiovascular risk factors and total serum antioxidant capacity in healthy men and in men with coronary heart disease. *Biomed Res Int* 2014: 1-8.
- Griffiths G, Trueman L, Crowther T, Thomas B, Smith B (2002) Onions-a global benefit to health. *Phytother Res* 16(7): 603-615.
- Guerre-Millo M (2004) Adipose tissue and adipokines: For better or worse. *Diabetes Metab* 30: 13-19.
- Han JM, Kim MJ, Baek SH, An S, Jin YY, Chung HG, Baek NI, Choi MS, Lee KT, Jeong TS (2009) Antiatherosclerotic effects of *Artemisia princeps* Pampani cv. Sajaval in LDL receptor deficient mice. *J Agric Food Chem* 57: 1267-1274.
- Hashimoto E, Taniai M, Tokushige K (2013) Characteristics and diagnosis of NAFLD/ NASH. *J Gastroenterol Hepatol* 28: 64-70.
- Hursel R, Westerterp-Plantenga MS (2013) Catechin-and caffeine-rich teas for control of body weight in humans. *Am J Clin Nutr* 98: 1682S-1693S.
- Jeong D, Yi YS, Sung GH, Yang WS, Park JG, Yoon K, Yoon DH, Song C, Lee Y, Rhee MH, Kim TW, Kim JH, Cho JY (2014) Anti-inflammatory activities and mechanisms of *Artemisia asiatica* ethanol extract. *J Ethnopharmacol* 152: 487-496.
- Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, Kitazawa S, Miyachi H, Maeda S, Egashira K, Kasuga M (2006) MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* 116(6): 1494-1505.
- Kang JS, Lee WK, Lee CW, Yoon WK, Kim N, Park SK, Lee HS, Park HK, Han SB, Yun J, Lee K, Lee KH, Park SK, Kim HM (2011) Improvement of high-fat diet-induced obesity by a mixture of red grape extract, soy isoflavone and L-carnitine: Implications in cardiovascular and non-alcoholic fatty liver diseases. *Food Chem Toxicol* 49: 2453-2458.
- Kim HS, Hwang MR, Park DK, Heu YC, Lee HJ, Kang NJ (2014) Changes in the activity of antioxidant enzymes depending on ripening levels in *Cucubita* spp. *Journal of Agriculture & Life Science* 48(1): 59-66.
- Kim HS (2011) The effect of IGFBP-3 on adipokines and gene expression in differentiation 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Pediatr Endocrinol* 16(1): 24-30.
- Ko YJ, Seol HG, Lee GR, Jeong GI, Ryu CH (2013) Anti-inflammatory effect and antioxidative activities of ingredients used in *Bibimbab*. *J Life Sci* 23(2): 213-221.
- Lee JS, Kim MH, Lee JH, Jung ES, Yoo ES, Park DH (2012) Artemisinic acid is a regulator of adipocyte differentiation and C/EBP δ expression. *J Cell Biochem* 113: 2488-2499.
- Lee KD, Ha TJ, Lee BW, Lee JR, Lee J, Hwang SW, Jo DR, Nam SH, Yang MS (2003) Isolation and identification of terpenoids from the leaf of *Chrysanthemum coronarium* L. *J Korean Soc Agric Chem Biothechnol* 46(1): 55-59.

- Liu RH (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *J Nutr* 134: 3479S-3485S.
- Liu RH (2013) Dietary bioactive compounds and their health implications. *J Food Sci* 1: A18-25.
- Lee SE, Kang M, Park YH, Joung H, Yang YK, Paik HY (2012) Perception of common Korean dishes and foods among professionals in related fields. *Korean J Nutr* 45(6): 562-576.
- Machado MV, Cortez-Pinto H (2014) Non-alcoholic fatty liver disease: What the clinician needs to know. *World J Gastroenterol* 20: 12956-12980.
- Maeda H, Saito S, Nakamura N, Maoka T (2013) Paprika pigments attenuate obesity induced inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *ISRN Inflamm* 2013: 1-9.
- Mosmann T (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63.
- Overman A, Bumrungpert A, Kennedy A, Martinez K, Chuang CC, West T, Dawson B, Jia W, McIntosh M (2010) Polyphenol-rich grape powder extract (GPE) attenuates inflammation in human macrophages and in human adipocytes exposed to macrophage-conditioned media. *Int J Obes (Lond)* 34: 800-808.
- Pandey KB, Rizvi SI (2009) Plant phenols as dietary antioxidants in human and disease. *Oxid Med Cell Longev* 2: 270-278.
- Philips GO (2013) Dietary fibre: A chemical category or a health ingredient? Bioactive carbohydrate and dietary fiber. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 1: 3-9.
- Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA (2008) Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J Nutr Biochem* 19: 717-726.
- Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM (2000) Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev* 14 (11):1293-1307.
- Ryoo JH, Han WT, Choi JM, Kang MA, An SH, Lee JK, Shin HC, Park SK (2014) Clinical significance of non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for prehypertension. *J Korean Med Sci* 29: 973-979.
- Scotece M, Conde J, Vuolteenaho K, Koskinen A, Lopez V (2014) Adipokines as drug targets in joint and bone disease. *Drug Discov Today* 19: 241-258.
- Song MC, Yang HJ, Cho JG, Chung IS, Kwon BM, Kim DK (2009) Glycerides from the aerial parts of garland (*Chrysanthemum coronarium* L.) and their inhibitory effects on ACAT, DGAT, FPTase, and β -secretase. *Food Sci Biotechnol* 18 (1): 95-102.
- Song MC, Hong YH, Kim DH, Kim DK, Chung IS, Lee YH, Kim SH, Park MH, Kim IH, Kwon BM, Baek NI (2003) Development of biologically active compounds from edible plant sources-VI. Isolation of sterol compounds from the aerial parts of garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 46(4): 376-379.
- Wu C, Luan H, Zhang X, Wang S, Zhang X, Sun X, Guo P (2014) Chlorogenic acid protects against atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice and promotes cholesterol efflux from RAW-264.7 macrophages. *PLoS One* 9(9): 1-9.
- Yen GC, Chen YC, Chang WT, Hsu CL (2011) Effects of polyphenolic compounds on tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced changes of adipokines and oxidative stress in 3T3-L1 adipocytes. *J Agric Food Chem* 59(2): 546-551. <http://koreanfood.rda.go.kr/> Food composition table, 8th revision, Accessed Nov. 13. 2014.
- <http://www.mfds.go.kr/> Influence of dietary intake on non-alcoholic fatty liver disease in Korean. 2012. Accessed Nov. 13. 2014.

Date Received Nov. 14, 2014
 Date Revised Feb. 25, 2015
 Date Accepted Feb. 27, 2015