

## 난소절제 흰쥐에서 흑미 호분층 추출물의 체지방 감소 효과

이영민<sup>1\*</sup> · 남송이<sup>1</sup> · 장환희<sup>1</sup> · 김정봉<sup>1</sup> · 김행란<sup>1</sup> · 이해정<sup>2</sup> · 이성준<sup>3</sup> · 박계원<sup>4</sup> · 이성현<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>국립농업과학원 기능성식품과, <sup>2</sup>울지대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>고려대학교 식품공학과, <sup>4</sup>성균관대학교 식품생명공학과

### Reducing Effects of Black Rice (*Oryza sativa* L.) Extract on Body Fat Weight in Ovariectomized Rats

Young Min Lee<sup>1\*</sup>, Song Yee Nam<sup>1</sup>, Hwan Hee Jang<sup>1</sup>, Jung Bong Kim<sup>1</sup>, Haeng Ran Kim<sup>1</sup>,  
Hae-Jeung Lee<sup>2</sup>, Sung-Joon Lee<sup>3</sup>, Kye Won Park<sup>4</sup> and Sung Hyen Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Functional Food & Nutrition Division, Department of Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju 565-851, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food and Nutrition, Eulji University, Seongnam 461-713, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Biotechnology, Graduate School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul 136-713, Korea

<sup>4</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

#### ABSTRACT

Estrogen deficiency is associated with increased body weight and fat mass, resulting in obesity-associated complications such as insulin resistance, cardiovascular disease, and type-2 diabetes. The present study was performed to investigate the effect of black rice (*Oryza sativa* L.) extracts (BRE) on body weight and fat mass in ovariectomized rats. Ovariectomized (or sham-operated) rats were randomly blocked into three groups (n=8~10 per group): sham operated group (S), ovariectomized control group (OVX), and ovariectomized group with BRE 30 mg/kg B.W. (BRE). High fat diet (fat calories 45%) was fed to all experimental rats for 12 weeks. Final body weight, weight gain, and body fat weight showed significant increases in the OVX group, whereas they were reduced by BRE supplementation. Serum TAG, T-chol level, and adipocyte size were not significantly different among the three groups. However, ovariectomy-induced hepatic steatosis was improved in BRE-treated group. Moreover, in the BRE group, serum leptin levels was significantly lower and fecal total lipid concentrations was significantly higher compared to the OVX group. The gathered data suggest that BRE is a potentially useful ingredient to protect against estrogen deficiency-related obesity and its related diseases.

**Key words:** Estrogen deficiency, body fat mass, black rice extract, leptin, fecal lipid

#### 서론

폐경은 에스트로겐의 감소로 인한 안면 홍조 등의 혈관 운동 장애와 비만, 심혈관 질환 및 골다공증의 유병률 증가를 주요 특징으로 갖는다(Carr MC 2003). 우리나라는 지난 2000년에 고령화 사회로 진입하였고, 평균수명의 증가에 따라 여성의 경우 폐경 이후의 삶이 전 생애의 1/3 이상을 차지하게 되어, 이 때 건강한 삶을 유지하는 것이 중요하다. 폐경을 전후로 하여 겪게 되는 급격한 대사적 변화는 체지방 분포, 지질 대사, 당 대사 및 인슐린 작용 등과 관련이 있으며, 에스트로겐 결핍이 일차적 또는 이차적 원인이 될 수 있는 '폐경기 대사증후군'(postmenopausal metabolic syndrome)이

제시되었다(Spencer CP *et al* 1997).

사람이나 실험동물에서 모두 에스트로겐 결핍은 체중 증가와 관련되며 특히, 복부지방의 증가를 초래하여 대사증후군, 심혈관 질환 등의 위험을 증가시킨다(Meli R *et al* 2004). 또한, 에스트로겐 결핍 상태에서 혈중 지질의 증가나 간 조직의 지질 침착이 유도되는 것이 보고되어 있다(Wang JF *et al* 2004). 폐경기 여성에서 에스트로겐 대체 요법(Estrogen replacement therapy; ERT)이 비만과 비만 관련 합병증을 개선 시키나(Sumino H *et al* 2003; Siddiqui NI *et al* 2005), 생식기 관의 암 발생과 같은 ERT의 부작용 때문에 그 대체 식품소재의 규명이 필요하다.

흑미(*Oryza sativa* L.)는 유색미로 독특한 향미와 각종 무기질, 비타민과 식이섬유 이외에 감마 오리자놀( $\gamma$ -oryzanol), 폴리페놀, 안토시아닌(anthocyanin) 등 기능성 성분 또한 함유하고 있다(RDA 2011; Kong S *et al* 2008). 흑미는 다른 특수미에 비해 총 항산화력, 환원력, 지질과산화 억제력 등이 가장

\*Corresponding author : Sung Hyeon Lee, Tel: +82-63-238-3702, E-mail: lshin@korea.kr

\*Current address : Department of Food and Nutrition, Seoul Women's University, Seoul, 139-774, Korea.

우수하였고(Seo SJ *et al* 2008), 고지방식이를 섭취한 C57BL/6J mice에서 지방산의 산화를 증가시킴으로 간 조직의 지질 축적을 효과적으로 억제하였다(Jang HH *et al* 2012). 또한, 흑미 미강 색소분획을 첨가한 배아젤리를 투여한 흰쥐의 체중증가량 및 식이효율이 낮게 나타났고, 혈장과 간조직의 지질대사가 유의적으로 개선되었다(Cho MK *et al* 2008). 그러나 호르몬 결핍에 의한 난소절제 동물모델에서 흑미가 체중, 체지방 및 간 지질 축적에 미치는 영향에 대한 연구는 자세히 수행되지 않았다.

현재, 난소절제로 유도되는 비만에 관한 분자생리학적 메커니즘이 자세히 규명되어 있지는 않다. 초기에 난소절제 흰쥐에서 비만이 유도되는 것은 식이섭취량의 증가와 관련지어 설명되었다(Meli R *et al* 2004). 그러나 식이섭취량의 변화 없이 즉, 에너지 과잉 섭취와 상관없이 난소절제 마우스에서 에너지 소비가 감소하고, 지방조직의 염증 반응이 증가하며, 간조직의 지방합성 유전자의 발현 증가와 함께 지방간이 나타났다(Rogers NH *et al* 2009). 호르몬 결핍에 의한 비만은 과도한 에너지의 축적에 의한 비만과 발병 메커니즘이 분명히 구분되며, 같은 추출물이라 하더라도 호르몬 결핍 모델에서 그 효과가 평가되어야 할 것으로 여겨진다.

따라서 본 연구에서는 흑미 호분층 추출물이 폐경기 여성의 동물모델인 난소절제 흰쥐에서 호르몬 결핍에 의해 유도되는 비만에 미치는 영향을 평가하고자 하였다. 난소절제한 흰쥐에서 체중과 체지방 함량, 지방세포 크기 및 간 지질 축적에 미치는 영향을 평가하였고, 혈중 렙틴의 수준과 변 중 지질 배설 함량도 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 흑미 추출물 제조

현미 상태의 흑미(*Oryza sativa* L.)를 진도정미소에서 구입하여 도정기(Samwoo co., Daegu, Korea)를 이용하여 쌀겨 제거방법과 같은 방법으로 흑미현미를 10도미까지 절삭하여 흑미 호분세포층(8%)을 분리하였다. 흑미의 호분층을 10배의 50% 발효알콜 수용액(주정)으로 40℃에서 48시간 동안 추출하였다. 추출물을 여과지로 거른 후에, 감압농축기(Riakiikai Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 농축하고, 동결건조(IlsinBio-Base, Dongducheon, Korea)하여 시료로 사용하였다. 흑미 호분층의 50% 주정 추출 수율은 10%이었다.

### 2. 실험동물 및 식이

5주령의 Sprague Dalwley계 암컷 쥐를 Sham 또는 난소절제 수술하고(Central Lab. Inc., Seoul, Korea), 3주 후 난소절제 수술군을 두 군으로 나누어 식이 중 지방함량이 45%를 차지

하는 고지방식이(Research Diets(D12451), New Brunswick, NJ)를 제공하였다. 흑미 추출물(black rice extract; BRE)은 체중 kg 당 30 mg의 수준으로 12주간 경구투여로 공급하였다. 흰 쥐는 개별 사육하였고, 온도 23±1℃, 상대습도 65±5%, 12시간의 낮·밤 주기로 조절되었으며, 물과 실험식은 자유급식으로 하였다. 체중은 일주일에 1회, 식이섭취량은 일주일에 3회 측정하였다. 모든 실험동물의 절차는 국립농업과학원 동물실험윤리위원회로부터 승인을 받아 수행하였다(승인번호 NAAS 1408).

### 3. 시료 채취

BRE를 12주간 경구투여하고 나서, 15시간 절식시킨 후 흰 쥐를 CO<sub>2</sub>로 마취시키고, 심장에서 혈액을 채취하였다. 혈액은 항응고제(sodium heparin)로 처리된 튜브에 담아 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 혈장을 분리하였다. 혈액 채취 후 간을 채취하여 무게를 측정하고, 액체질소로 급속 냉동하였으며, 조직학적 분석을 위해 간의 일부를 포르말린에 고정하였다. 지방조직은 개봉했을 때 복강 앞쪽으로 생식기관 주변에 저장되어 있는 지방(gonadal fat)과 뒤편으로 신장 주변에 저장되어 있는 지방(retroperitoneal fat)을 채취하였고, 이 둘을 합하여 내장지방(visceral fat)이라 하였다(Bjørndal B *et al* 2011). 간과 마찬가지로 지방조직의 무게 측정 후에 액체질소로 급속 냉동하였고, 조직학적 분석을 위해 gonadal fat의 일부를 포르말린에 고정하였다. 혈액과 조직은 분석 시까지 -80℃에 보관하였다.

체지방 지수(adiposity index)는 다음과 같이 계산하였고(Medei E *et al* 2010), 여기에서 총 지방 함량은 visceral fat으로 하였다.

$$\text{Adiposity index} = (\text{총 지방 함량}/\text{최종 체중}) \times 100$$

### 4. 혈중 지질과 호르몬 분석

혈중 총 콜레스테롤과 중성지질은 효소 kit(ASAN Diagnostics, Seoul, Korea)를 이용하여 혈장에서 측정하였고, 혈중 렙틴은 rat leptin kit(R&D system, Minneapolis, MN)를 이용하여 분석하였다.

### 5. 간중 지질 측정

간 조직의 일부를 10% 포르말린용액에 고정하여, H&E 염색 슬라이드를 제작하였다. 이미지는 Olympus AX 70 카메라로 촬영하였고, 간의 지질 축적 정도는 간 조직 전체에서 지방이 축적된 면적의 비율을 퍼센트로 측정하였다. 지방침윤이 관찰되는 비율은 <5%는 0점, 5~33%는 1점, 34~66%는 2점, >66%는 3점으로 점수화하였다. 초기 평가는 저배율

(40×~200×)에서 수행되었고, 고배율(400×)에서 확인하였다. 간 조직의 염색은 200× 배율에서 림프구 및 호중구 등의 염색세포가 침윤하여 형성한 염색소의 수를 세어 평가하였다.

## 6. 지방세포 크기 측정

지방(gonadal fat) 조직의 일부를 10% 포르말린 용액에 고정하여, H&E 염색 슬라이드를 제작하였고, 이미지는 Olympus AX 70 카메라로 촬영하였다. 서로 다른 고배율(×400)로 세 시야에서 제일 큰 지방세포 세 개의 장축의 길이를 구하여 평균을 구하였다.

## 7. 변중 총 지질 분석

대변은 실험식이 급여 12주에 실험동물을 대사케이지에 1 마리씩 옮겨 24시간 동안 수집하였고, 이물질 제거 후 무게를 측정하고, 분석 전까지 냉동 보관하였다. 변중 총 지질 함량은 Frings 법(Frings CS & Dunn RT 1970)에 준하여 클로로포름과 메탄올의 2:1 혼합용액으로 지질을 추출하여 정량하였다.

## 8. 통계처리

실험 결과는 SPSS 21.0을 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였다. BRE 공급에 따른 영향은 ANOVA로 분석한 후, 군 간의 차이는  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 식이섭취량과 체중 증가량

실험동물의 초기 체중, 난소절제 3주 후의 체중, 12주간 실험식이 공급 후의 식이섭취량, 체중 증가량 및 식이효율은 Table 1에 제시하였다. 최종 체중과 12주간의 체중 증가량은 OVX 군에서 Sham 군에 비해 유의적으로 증가하였으나, OVX 군에서 BRE의 보충은 최종 체중 및 체중 증가량을 유의적으로 감소시켰다. 식이섭취량은 난소절제술에 의해 유의적으로 증가하였으나, BRE 보충에 따른 유의적인 차이는 없었다. 식이효율 또한, OVX 군에서 유의적으로 증가하였고, BRE의 공급은 OVX 군의 식이효율을 감소시키는 경향을 나타냈다. 간 조직의 무게는 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 BRE는 고지방식을 12주간 섭취한 흰쥐에서 식이섭취량의 차이 없이, 난소절제술로 인한 체중 증가를 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있다.

### 2. 체지방 함량, 지방세포 크기 및 혈중 지질 농도

실험동물의 체지방 함량, 지방세포 크기 및 혈중 지질 농

**Table 1. Body weight, weight gain, and intake of experimental rats**

	Sham <sup>1</sup>	OVX	BRE
Initial B.W. (g)	88.9±4.0 <sup>2NS3</sup>	83.5±3.6	83.8±4.0
OVX (at 0 week) B.W. (g)	200.5±11.1 <sup>b</sup>	237.6±20.1 <sup>a</sup>	234.9±14.8 <sup>a</sup>
Final B.W. (at 12 week) (g)	332.3±20.0 <sup>c</sup>	448.8±24.7 <sup>a</sup>	411.3±13.2 <sup>b</sup>
Weight gain (for 12 wks) (g/d)	131.8±20.2 <sup>c</sup>	203.0±24.0 <sup>a</sup>	181.9±18.3 <sup>b</sup>
Intake (for 12 wks) (g/d)	14.4±0.9 <sup>b</sup>	16.8±1.2 <sup>a</sup>	16.0±1.8 <sup>a</sup>
FER (for 12 wks)	0.11±0.01 <sup>b</sup>	0.14±0.01 <sup>a</sup>	0.12±0.04 <sup>ab</sup>
Liver wt (g)	8.5±1.0 <sup>NS</sup>	8.7±1.1	8.1±0.9

<sup>1</sup> Abbreviations: Sham, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; BRE, ovariectomized + high fat diet with 30mg/kg/day black rice extract.

<sup>2</sup> Data are expressed as Mean±S.D. of 8~10 rats per group.

<sup>3</sup> Values with different alphabet within the same row are significantly different at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range tests. NS;  $P \geq 0.05$ .

<sup>4</sup> FER: Food efficiency ratio=weight gain(g/day)/food intake(g/day).

도를 Table 2에 제시하였다. Retroperitoneal fat 함량은 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았으나, 난소절제에 의해서 약 2배 증가( $p < 0.05$ )한 gonadal fat 함량은 BRE 투여에 의해 유의적으로 21% 감소하였다. 총 지방(visceral fat으로 retroperitoneal fat과 gonadal fat의 합) 함량 또한, OVX 군은 Sham 군에 비해 약 1.5배 증가하였고, BRE 군은 OVX 군에 비해 19% 감소하였다( $p < 0.05$ ). 체지방 지수는 체중에 대한 총 지방 함량의 비율(%)으로써, 난소절제술에 의해 유의적으로 증가하였으나, BRE의 보충은 체지방 지수의 증가를 Sham 군의 수준으로 회복시켰다( $p < 0.05$ ).

실험동물의 지방세포 크기의 경우, 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 이것은 난소절제 흰쥐에 에스트로젠을 공급했을 때 지방조직의 함량은 감소하였으나, 지방세포의 크기는 군 간에 다르지 않은 것과 일치한다(Anderson T *et al* 2010). 즉, 지방세포의 크기는 변하지 않고 지방조직의 무게가 감소한 것은 지방세포의 증식(hyperplasia)을 제시하나, 추후 연구가 필요하다.

### 3. 혈중 중성지질과 총 콜레스테롤 농도

실험동물의 혈중 중성지질과 총 콜레스테롤 농도를 Table 2에 제시하였다. 혈중 중성지질이나 총 콜레스테롤 함량은 군

**Table 2. Fat weight, adipocyte size, serum triglycerides, and total cholesterol of experimental rats**

	Sham <sup>1</sup>		OVX		BRE	
Retroperitoneal fat (g)	6.87±	1.03 <sup>2NS3</sup>	7.63±	1.44	6.45±	1.80
Gonadal fat (g)	8.45±	1.40 <sup>c</sup>	16.33±	4.20 <sup>a</sup>	12.94±	2.65 <sup>b</sup>
Visceral fat (g)	15.31±	1.55 <sup>c</sup>	23.95±	4.95 <sup>a</sup>	19.28±	4.38 <sup>b</sup>
Adiposity index <sup>4</sup> (%)	4.67±	0.46 <sup>b</sup>	5.38±	0.84 <sup>a</sup>	4.44±	0.77 <sup>b</sup>
Adipocytes size (μM)	1,376.9±	242.4 <sup>NS</sup>	1,542.6±	541.9	1,420.9±	151.2
TAG (mg/dL)	79.7±	10.1 <sup>NS</sup>	82.2±	12.2	74.8±	8.3
T-chol (mg/dL)	146.7±	11.4 <sup>NS</sup>	152.8±	20.8	150.7±	20.7

<sup>1</sup> Abbreviations: Sham, sham-operated + high fat diet; OVX, ovariectomized + high fat diet; BRE, ovariectomized + high fat diet with 30mg/kg/day black rice extract.

<sup>2</sup> Data are expressed as Mean±S.D. of 8~10 rats per group.

<sup>3</sup> Values with different alphabet within the same raw are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range tests. NS;  $P\geq 0.05$ .

<sup>4</sup> Adiposity index=(visceral fat/final body weight)×100.

간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. Park YS & Kim M(2012)의 연구에서는 6주간 일반 고형사료를 공급한 후, 난소절제군에서 Sham군에 비해 혈중 중성지방과 총 콜레스테롤 농도가 증가하였다. Cho MK 등(2008)은 SD 흰쥐에 고콜레스테롤 식이를 주어 고지혈증을 유발하고, 흑미 미강 색소 배아젤리를 6주간 급여하였을 때, 혈중 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 함량을 유의적으로 감소시켰다. 탄수화물 급원을 백미, 백미와 현미(1:1), 백미와 흑미(1:1), 현미와 흑미(1:1)로 대체하여 8주간 공급하였을 때, 현미와 흑미군이 다른 군에 비해 TG, TC, LDL-C 수준이 유의적으로 가장 낮았고, HDL-C 수준이 가장 높았다(Kim JY *et al* 2006). 그러나 본 연구에 사용된 흰쥐는 12주간 지방함량으로부터 에너지가 총 열량의 45%를 차지하는 고지방식이를 섭취하였다. 혈중 지질 수준이 난소절제나 흑미 투여에 의해 군 간에 유의적인 차이가 없는 것은, 과잉지방이 장기간 공급되면서 상승된 혈중 지질 농도가 난소절제나 흑미 공급과 같은 실험적 조건에 의해 영향을 받지 않은 것으로 고려된다(Lee YM *et al* 2005). 한편, 콜레스테롤을 함유하지 않은 고지방식은 혈중 중성지방과 총 콜레스테롤 함량에는 영향을 미치지 않고, 간 조직의 지질 축적을 증가시킨 반면, 고탄수화물(서당) 식이는 간 조직의 지질 축적 대신에 혈중 지질 수준을 증가시켰다(Ryu MH & Cha YS, 2003). 콜레스테롤을 함유한(식이 kg 당 194 mg) 고지방식이를 14주간 공급한 경우, 혈중 콜레스테롤이 증가한 경향을 보였으나, 중성지방 농도는 영향을 받지 않았다(Eisinger K *et al* 2014). 따라서 혈중 지질 농도에는 식이 공급 기

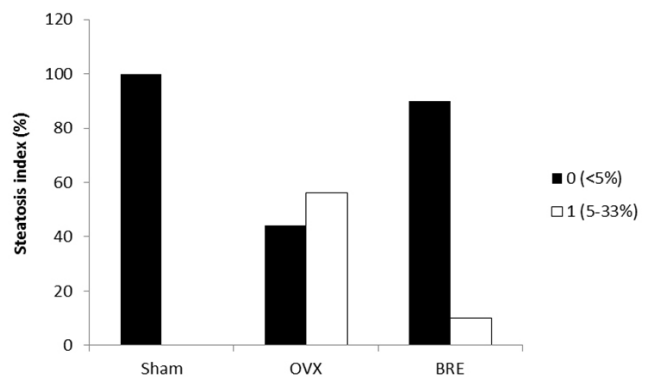
간, 식이 중 지방, 탄수화물 및 콜레스테롤 함량 등이 영향을 미치는 것으로 보인다.

#### 4. 간중 염증 정도와 지질 축적

실험동물의 지질 축적 정도를 Fig. 1에 제시하였다. 간 조직의 염증 정도를 평가한 결과, 모든 슬라이드에서 지방침윤과 관련 있는 염증소가 관찰되지 않았다(데이터 제시하지 않음). 간 조직에서 간세포 내 지방침윤이 관찰되는 비율을 기준으로 <5%는 0점, 5~33%는 1점, 34~66%는 2점, >66%는 3점으로 점수화하였다. 그 결과, 지방이 총 열량의 45%를 차지하는 고지방식이를 12주간 섭취한 Sham 군에서는 어느 개체에서도 간 조직의 지방증이 관찰되지 않았다. 그러나 OVX 군에서는 전체 개체의 56%가 1점을 나타낸 반면, 나머지는 지방증을 보이지 않았다. BRE 군에서는 10%만 1점으로 나타났고, 90%가 지방증을 보이지 않아, 흑미 호분층 추출물 의해 난소절제군으로 유도된 간 조직 내 지질 축적 정도가 개선됨을 확인하였다. 이것은 Jang HH 등(2012)의 연구결과와도 일치하는 것으로, C57BL/6J 마우스에서 식이 중 1% 수준의 흑미 추출물은 고지방식의 지방간 점수(2.63)를 0.25로 유의적으로 감소시킴을 보고한 바 있다. 또한, 난소절제 동물 모델에서 간의 지방산 산화 감소로 인해 간 조직 내 중성지방의 함량이 증가한 것도 보고되어 있다(Paquette AI *et al* 2009).

#### 5. 혈중 렙틴 농도

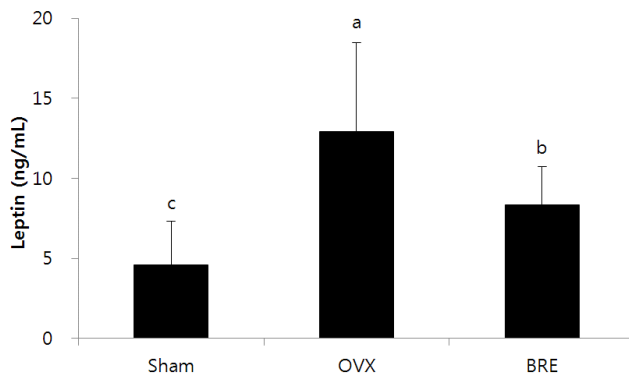
실험동물의 혈중 렙틴 농도를 Fig. 2에 제시하였다. 본 연구에서 혈중 렙틴의 농도는 OVX 군에서 Sham 군에 비해 유의적으로 증가하였으나, BRE 군에서는 유의적으로 감소하였다. 렙틴은 지방세포로부터 분비되는 호르몬으로 식품 섭취



**Fig. 1. Distribution of hepatic steatosis grade.**

Sham: sham-operated + high fat diet, OVX: ovariectomized + high fat diet, BRE: ovariectomized + high fat diet with 30 mg/kg/day black rice extract.

Data are expressed as Mean±S.D. of 8~10 rats per group.

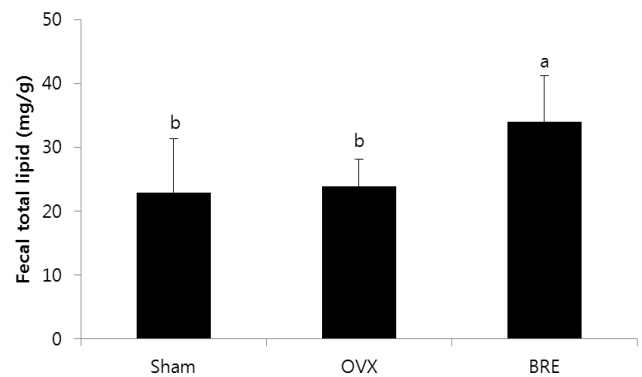


**Fig. 2. Serum leptin concentration of experimental rats.**

Sham: sham-operated + high fat diet, OVX: ovariectomized + high fat diet, BRE: ovariectomized + high fat diet with 30 mg/kg/day black rice extract.

Data are expressed as Mean±S.D. of 8~10 rats per group.

Values with different alphabet on the bar are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range tests.



**Fig. 3. Fecal total lipid of experimental rats.**

Sham: sham-operated + high fat diet, OVX: ovariectomized + high fat diet, BRE: ovariectomized + high fat diet with 30 mg/kg/day black rice extract.

Data are expressed as Mean±S.D. of 8~10 rats per group.

Values with different alphabet on the bar are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range tests.

와 에너지 항상성을 조절한다(Schwartz MW *et al* 2000). 그러나 비만 모델에서는 렙틴에 대한 감수성이 감소하고, 이를 보상하려고 혈중 렙틴 농도가 증가해 있는 렙틴 저항성을 보이며, 혈중 leptin 농도는 체지방 함량에 비례하여 체지방 정도를 반영하는 지표이다(Hong KH *et al* 2001). 난소절제 모델에서 에스트로겐 결핍은 체중과 체지방 함량을 증가시켰으며, 혈중 렙틴 농도를 증가시킨 반면, 흑미 추출물은 이러한 효과를 억제시켰으며, 이는 체지방 함량에 대한 난소절제술과 BRE 투여의 영향과 동일한 것을 확인하였다. 최근에 Pandey G 등(2015)은 비만하고 당뇨병인 대상자에서 고렙틴혈증이 지질 및 단백질 산화물의 증가, 항산화 효소 활성의 감소와 같은 산화 스트레스와 유의한 상관성을 나타냈고, 이것은 심혈관 합병증에 관여할 것으로 보고하였다. 따라서 난소절제 동물모델에서 흑미 호분층 추출물이 혈중 렙틴 농도를 감소시킨 것은 인슐린 저항성의 감소, 산화스트레스 감소, 관련된 합병증의 감소 등 대사에 이롭게 영향을 미칠 것으로 사료된다.

## 6. 변중 총 지질 농도

실험동물의 변중 총 지질 농도를 Fig. 3에 제시하였다. Sham 군이나 OVX 군에서는 변중 총 지질 함량이 유의한 차이를 보이지 않았으나, BRE는 변으로의 지질 배설을 유의적으로 증가시켰다. 이것은 Son J(2006)이 고지방식이(지방이 총 열량의 42% 차지)로 비만이 유도된 흰쥐에 고지방식이와 함께 탄수화물 급원을 흑미로 대체하여 4주간 공급하였을 때 변중 중성지질의 함량이 유의적으로 증가한 것과 유사하다. 식이 지방 중 흡수되지 못한 것은 변으로 배설되므로 변의

지방 함량은 지방 흡수 저하 기전을 잘 보여준다.

Zawistowski J 등(2009)은 흑미 호분층 추출물의 성분을 분석하여 건물 100 g 당 수용성 식이섬유가 3.1 g, 불용성 식이섬유가 6.6 g, 총 안토시아닌이 313 mg(cyanidin-3-glucoside 97.9%, peonidin-3-glucoside 2.1%), 오리자놀이 0.57 g 함유되어 있다고 보고하였다. 펙틴, 검 등의 수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유인 리그닌은 소장에서 지방산, 콜레스테롤, 담즙산 등을 흡착하여 미셀을 형성하지 못하게 함으로 소장에서 흡수되지 못하고 변으로 배설되도록 한다. 열량은 동일하고, 펙틴을 농도별로(식이 무게 당 0, 3.3, 6.7, 10%) 함유한 실험식을 흰쥐에게 공급하였을 때, 펙틴은 식이 섭취량과 체중, 체지방 함량을 농도의존적으로 감소시켰다(Adam CL *et al* 2015). Brighenti F(2007)의 연구에서도 식이섬유의 섭취는 체지방과 허리둘레의 감소와 상관성을 보였다. 오리자놀 또한 변 중으로의 지질 배설을 증가시킨 것으로 보고되어 당뇨병 모델 마우스에서 오리자놀을 식이 0.2% 수준으로 공급하였을 때 변중 총 지질 함량이 약 2배 수준으로 증가하였다(Lee SH *et al* 2004). 또한, Mulberry에서 분리된 안토시아닌이 고지방식을 섭취한 C57BL/6J 마우스에서 체중과 체지방을 감소시킨 것으로 보고되어 있다(Wu T *et al* 2013). 따라서 흑미 호분층에 함유된 식이섬유와 오리자놀, 안토시아닌이 체지방 축적을 억제하는데 기여한 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구에서는 5주령의 암컷 흰쥐를 Sham 수술 또는 난소절제 수술하여 3주 후에 고지방식이를 12주간 공급하였고,

난소절제 수술 흰쥐는 두 군으로 나누어 흑미 호분층 추출물 (BRE)을 경구투여 하였다. 그 결과, BRE의 투여는 난소절제에 의한 체중 증가량과 체지방 함량을 유의적으로 억제하였으며, 이것은 간 지질 축적의 억제와 혈중 렙틴 농도 감소를 수반하였다. 변중 총 지질 함량 또한 난소절제 군에서 BRE의 보충에 의해 유의적으로 증가하였다. 즉, 폐경기 여성의 동물모델인 난소절제 흰쥐에서 흑미의 호분층 추출물은 지방 흡수를 억제하여 변 중 지질의 배설을 증가시킴으로 체내 지질 함량을 감소시키는 것으로 나타났다. 따라서 흑미 호분층은 폐경기 여성에서 에스트로겐의 결핍으로 유도되는 체지방 축적을 감소시키며, 관련 합병증을 개선시키는데 효과가 있을 것으로 사료된다. 흑미 호분층의 체지방 감소 효과의 분자생물학적 기전 구명과 유효성분의 분리를 위해 추가 연구가 필요하다.

### 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술연구개발사업 “흑미의 *in vivo* 뼈 건강과 비만 동시조절 개선 기전 연구(PJ01009001)”에 의해 이루어진 것이며, 동물실험 과정에서 도움을 준 최봉겸, 조수연, 조수정 선생에게 감사드립니다.

### REFERENCES

- Adam CL, Williams PA, Garden KE, Thomson LM, Ross AW (2015). Dose-dependent effects of a soluble dietary fibre (pectin) on food intake, adiposity, gut hypertrophy and gut satiety hormone secretion in rats. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4300082/> Accepted January 25, 2015.
- Andersson T, Söderström I, Simonytė K, Olsson T (2010) Estrogen reduces 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in liver and visceral, but not subcutaneous, adipose tissue in rats. *Obesity* 18:470-475.
- Bjørndal B, Burri L, Staalesen V, Skorve J, Berge RK (2011) Different adipose depots: Their role in the development of metabolic syndrome and mitochondrial response to hypolipidemic Agents. (<http://www.hindawi.com/journals/job/2011/490650/> Accepted December 27, 2010)
- Brightenti F (2007) Dietary fructans and serum triacylglycerols: A meta analysis of randomized controlled trials. *J Nutr* 137: 2552S-2556S.
- Carr MC (2003) The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 2404-2411.
- Cho MK, Kim MH, Kang MY (2008) Effects of rice embryo and embryo jelly with black rice bran pigment on lipid metabolism and antioxidant enzyme activity in high cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 51: 200-206.
- Eisinger K, Liebisch G, Schmitz G, Aslanidis C, Krautbauer S, Buechler C (2014) Lipidomic analysis of serum from high fat diet induced obese mice. *Int J Mol Sci* 15: 2991-3002.
- Frings CS, Dunn RT (1970) A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophosphovanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53: 89-91.
- Hong KH, Kang SA, Kim S, Choue RW (2001) Effects of high fat diet on serum leptin and insulin level and brown adipose tissue UCP 1 expression in rats. *Korean J Nutr* 34: 865-871.
- Jang HH, Park MY, Kim HW, Lee YM, Hwang KA, Park JH, Park DS, Kwon O (2012) Black rice (*Oryza sativa* L.) extract attenuates hepatic steatosis in C57BL/6 J mice fed a high-fat diet via fatty acid oxidation. <http://www.nutrition-andmetabolism.com/content/9/1/27> Accepted March 30, 2012.
- Kim JY, Do MH, Lee SS (2006) The effects of a mixture of brown and black rice on lipid profiles and antioxidant status in rats. *Ann Nutr Metab* 50: 347-353.
- Kong S, Choi Y, Lee SM, Lee J (2008) Antioxidant compounds and actioxidant activities of the methanolic extracts from milling fractions of black rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 815-819.
- Lee SH, Chun HK, Park HJ, Lee YS (2004) Supplementary effect of  $\gamma$ -oryzanol on lipid metabolism in diabetic KK mice. *Kor J Nutr* 37: 347-351.
- Lee YM, Jung MH, Lee YS, Song J (2005) Effect of genistein and soy protein on lipids metabolism in ovariectomized rats. *Kor J Nutr* 38: 267-278.
- Medei E, Lima-Leopoldo AP, Pereira-Junior PP, Leopoldo AS, Campos DH, Raimundo JM, Sudo RT, Zapata-Sudo G, Bruder-Nascimento T, Cordellini S, Nascimento JH, Cicogna AC (2010) Could a high-fat diet rich in unsaturated fatty acids impair the cardiovascular system? *Can J Cardiol* 26: 542-548.
- Meli R, Pacilio M, Raso GM, Esposito E, Coppola A, Nasti A, Di Carlo C, Nappi C, Di Carlo R (2004) Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology* 145: 3115-3121.
- Park YS, Kim M (2012) The effect of *Eisenia bicyclis* extracts

- on antioxidant activity and serum lipid level in ovariectomized rats. *J Life Science* 22: 1407-1414.
- Pandey G, Shihabudeen MS, David HP, Thirumurugan E, Thirumurugan K (2015) Association between hyperleptinemia and oxidative stress in obese diabetic subjects. *J Diabetes Metab Disord* 14:24.
- Paquette A1, Chapados NA, Bergeron R, Lavoie JM (2009) Fatty acid oxidation is decreased in the liver of ovariectomized rats. *Horm Metab Res* 41:511-515.
- RDA (2011) Food Composition Table. 8<sup>th</sup> ed. Rural Development Administration. Suwon, Korea. pp 28-29.
- Rogers NH, Perfield II JW, Strissel KJ, Obin MS, Greenberg AS (2009) Reduced energy expenditure and increased inflammation are early events in the development of ovariectomy-induced obesity. *Endocrinology* 150: 2161-2168.
- Ryu MH, Cha YS (2003) The effects of high-fat or high-sucrose diet on serum lipid profiles, hepatic acyl-CoA synthetase, carnitine palmitoyltransferase-I, and the acetyl-CoA carboxylase mRNA levels in rats. *J Biochem Mol Biol* 36: 312-318.
- Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG (2000) Central nervous system control of food intake. *Nature* 404: 661-667.
- Seo SJ, Choi YM, Lee SM, Kong SH, Lee JS (2008) Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 129-135.
- Siddiqui NI, Rahman S, Mia AR, Shamsuzzaman AK (2005) Evaluation of hormone replacement therapy. *Mymensingh Med J* 14: 212-218.
- Son J (2006) Effect of glutinous barley intake on lipid metabolism and antioxidant capacity in middle-aged rats. *Ph D Dissertation* Ewha Womans University, Seoul. pp 60-61.
- Spencer CP, Godsland IF, Stevenson JC (1997) Is there a menopausal metabolic syndrome? *Gynecol Endocrinol* 11: 341-355.
- Sumino H, Ichikawa S, Itoh H, Utsugi T, Ohyama Y, Umeda M, Nakamura T, Kanda T, Mizunuma H, Tomono S, Murakami M, Kurabayashi M (2003) Hormone replacement therapy decreases insulin resistance and lipid metabolism in Japanese postmenopausal women with impaired and normal glucose tolerance. *Horm Res* 60: 134-142.
- Wang JF, Guo YX, Niu JZ, Liu J, Wang LQ, Li PH (2004) Effects of Radix Puerariae flavones on liver lipid metabolism in ovariectomized rats. *World J Gastroenterol* 10: 1967-1970.
- Wu T, Qi XM, Liu Y, Guo J, Zhu RY, Chen W, Zheng XD, Yu T (2013) Dietary supplementation with purified mulberry (*Morus australis* Poir) anthocyanins suppresses body weight gain in high-fat diet fed C57BL/6 mice. *Food Chem* 141: 482-487.
- Zawistowski J, Kopec A, Kitts DD (2009) Effects of a black rice extract (*Oryza sativa* L. *indica*) on cholesterol levels and plasma lipid parameters in Wistar Kyoto rats. *J Funct Foods* 1: 50-56.

---

Date Received May 12, 2015  
 Date Revised Jun. 5, 2015  
 Date Accepted Jun. 8, 2015