어성초가식이 유도 비만 마우스의 간조직 지질 축적 억제에 미치는 영향

조수정¹ · 권오준²

¹대구한의대학교 간질환한약융합활용연구센터
²(재)경북지역사업평가단

Houttuynia cordata Thunb. Attenuates Hepatic Lipid Accumulation in Diet-Induced Obese Mice

Su-Jung Cho¹ and O-Jun Kwon²

¹HCLD, Daegu Haany University
²Gyeongbuk Institute for Regional Program Evaluation

ABSTRACT This study investigated the hepatic lipid-lowering effect of *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) in high-fat diet-induced obese mice. Antioxidant activities were measured using ABTS and DPPH assays in 30% ethanol extract of HC. C57BL/6 mice were classified into five groups: Normal group; 60% high-fat diet group (Control); Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group (GC200); Control with HC 100 mg/kg/d group (HC100); Control with HC 200 mg/kg/d group (HC200). The DPPH and ABTS free radical scavenging activities of HC extract were estimated to be high (27.90±0.39 and 60.35±1.65 µg/mL, respectively). The high-fat Control diet resulted in significantly increased body weight and liver and epididymal adipose tissue weights compared to Normal diet. Supplementation with GC200 or HC200 reduced body weight, and all three supplementations (GC200, HC100, and HC200) decreased liver weight. Moreover, HC200 lowered epididymal white adipose tissue weight. The three treatments significantly lowered serum triglyceride and total cholesterol (TC) levels. Especially, HC200 showed the strongest serum TC-lowering effect. HC200 also suppressed expression of hepatic lipogenesis proteins (NADPH oxidase 4 (NOX4), p47phox, p22phox, sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1), fatty acid synthesis (FAS), and stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1)). As a result, hepatic lipids levels were lowered in the HC200 group. These results suggest that HC200 protects against hepatic lipid accumulation and has an anti-obesity effect.

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb., hepatic lipid-lowering effect, anti-obesity, high-fat diet, obese mice

서론

현대인의 건강에 대한 관심도는 매우 높아지고 있으며 건강식, 영양식과 같은 안정된 먹을거리에 대한 선호도가 증가하고 있다. 반면 국민건강영양조사(Statistics Korea, 2021)에 따르면 한국인의 비만율은 2007년 31.7%에서 2019년 33.8%로 지난 10여 년간 소폭 상승한 것으로 나타났다. 비만은 대사성질환 및 만성질환 발생의 주요한 원인으로 꼽히고 있으며 경제발전과 사회구조 및 생활방식의 변화와 함께 발생할 수 있는 현상으로 조절이 쉽지 않다. 비만 및 대사성질환에서 지방간은 간에서의 주요한 질환으로 꼽히고 인슐린 저항성과도 연관성이 크며 전 세계적 건강 문제로 관심이 증대되고 있다(Kang과 Koppula, 2015). 한국인의 지방간

유병률은 중국이나 일본보다 높고 세계적으로도 다소 높은 편이라 알려져 있다(Park 등, 2011). 이와 함께 비만 및 간질환 치료제 시장은 점차 늘어났으나 개발 제품의 효과가 미미하거나 부작용 또한 나타나고 있어 이를 조절할 수 있는 천연 식이 소재의 연구가 꾸준히 요구되고 있다.

어성초(*Houttuynia cordata* Thunb.)는 잎을 비벼 부수면 생선비린내가 난다고 해서 붙여진 이름으로 그늘지고 습한 들판에서 흔히 발견되는 다년초이다(Shingnaisui 등, 2018). 중국이나 인도 등지에서 식물 전체 또는 잎 등을 생샐러드나 주스 등 다양한 형태로 섭취하였으며 여러 질환 치료의 섭취 목적이 있었다(Kumar 등, 2014). 전통적으로 한국, 중국, 일본, 인도 등에서 염증, 폐렴, 급성 호흡기 증후군, 해열, 피부질환, 위궤양 등의 치료에 사용되었으며, 면역

Received 18 June 2021; Revised 12 August 2021; Accepted 19 August 2021

Corresponding author: O-Jun Kwon, Gyeongbuk Institute for Regional Program Evaluation, Gyeongbuk, 27 Sampoong-ro, Gyeongsan-si, Gyeongbuk 712210, Korea, E-mail: ojkwon@irpe.or.kr

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

능 증가, 항산화 작용, 항균, 항알레르기, 항암, 탈모 개선 등 여러 효능이 알려져 있다(Kumar 등, 2014; Shingnaisui 등, 2018).

어성초에서 분리된 단일 물질들의 항산화 활성은 잘 알려져 있으며, 어성초 추출물의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 자유라디칼 소거능 또한 보고되었다(Li 등, 2008). 어성초의 항산화 활성능의 주요 기여 성분으로는 chlorogenic acids, catechin 및 procyanidin B 등이 알려져 있다(Kumar 등, 2014). 어성초 추출물의 항염증 작용으로는 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 또는 cyclooxygenase-2(COX-2) 발현을 억제한다는 보고가 있으며(Choi 등, 2010), 비만세포에서 nuclear factor- κ B(NF- κ B) 활성을 저해하고 바이러스 감염을 억제한다고 보고되었다(Choi 등, 2010; Kim 등, 2007; Chen, 2011). 어성초는 항당뇨 효능으로도 알려져 있다(Kumar 등, 2014). Wang 등(2018)은 고지방식이 유도 비만 마우스에서 어성초의 혈당 저하 효능과 함께 간조직에서 염증성 사이토카인 발현 감소와 체중 및 체지방 감소의 항비만 효능을 보고하였다(Wang 등, 2018).

어성초 연구에서 주로 보고되고 있는 항산화 및 항염증 작용 등은 현대사회의 대부분 질환과 관련되며 비만 및 지방간과도 연관성이 매우 크다고 할 수 있다(Kumar 등, 2014). 반면, 어성초의 항비만 연구뿐만 아니라 간에서의 항비만 관련 기작은 많이 보고되지 않은 실정이다(Miyata 등, 2010). 이와 관련된 기능성 식이 소재로서 더 많은 어성초 관련 연구들이 보고되고 제품이 개발되면 소재의 사회·경제적 기여가 클 것으로 기대된다. 따라서 본 연구는 고지방식으로 인한 비만에서 어성초의 간 지질 축적 억제 작용을 동물실험을 통해 검증해 보고자 하였다.

재료 및 방법

시료 제조

본 실험에 사용한 어성초는 웅기한약국(Daegu, Korea)에서 구입하여 실험하였다. 어성초(뿌리를 제외한 전초) 100 g을 30% 에탄올 10배수에 넣고 80°C에서 2시간 가열하여 추출하였으며, 필터로 여과한 다음 감압농축기(B-480, Buchi, Flawil, Switzerland)로 농축한 후 동결건조(FD 5508, Ilshin, Seoul, Korea)하여 파우더 25.1 g을 얻었다. 어성초 30% 에탄올 추출물의 수율은 25.1%로 건조된 파우더는 -80°C에서 보관한 후 실험 직전에 사용하였다.

시약

본 실험에 사용된 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), potassium persulfate, phenyl methyl sulfonyl fluoride(PMSF), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid, ABTS)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서, L-ascorbic acid는 Alfa Aesar(Cam-

bridge, MA, USA)에서 구입하여 사용하였다. Protease inhibitor mixture solution과 EDTA는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)로부터 구입하였으며, BCA protein assay kit은 Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, MA, USA)에서 구입하였다. ECL western blotting detection reagents와 pure nitrocellulose membranes는 GE Healthcare(Chicago, IL, USA)에서 구입하였다. 1차 항체 NOX4(SC-518092), p47phox(SC-17845), p22phox(SC-271968), SREBP-1(SC-13551), FAS(SC-48357), SCD1(SC-14720), β -actin(SC-4778), histone(SC-8030)은 Santa Cruz Biotechnology, Inc.(Dallas, TX, USA)에서, 2차 항체는 GeneTex, Inc.(Irvine, CA, USA)로부터 구입하였다.

DPPH 자유라디칼 소거능 분석

어성초 추출물의 항산화능 분석을 위해서 DPPH 자유라디칼 소거법을 활용하였다(Blois, 1958). 60 μ M DPPH 용액(100 μ L)과 어성초 추출물을 농도별로 희석한 용액(100 μ L)을 혼합한 후 실온의 암실에서 30분 동안 반응시켜 microplate reader(Infinite M200 PRO, Tecan, Männedorf, Switzerland)로 흡광도를 540 nm에서 측정하였다. 본 실험에서 L-ascorbic acid는 양성대조군으로 실험에 사용하였으며, 전자공여능은 아래의 식으로 계산하여 흡광도 값을 구하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{OD}_{\text{sample}}}{\text{OD}_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

OD_{sample}: Absorbance of sample.

OD_{control}: Absorbance without sample.

ABTS 자유라디칼 소거능 분석

어성초 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해서 ABTS 자유라디칼 소거법을 활용하였다(Re 등, 1999). 2.4 mM potassium persulfate와 7 mM ABTS 시약을 혼합하여 암소에서 약 16시간 이상을 방치한 후 ABTS⁺을 형성시켜 흡광도 415 nm에서 0.70 $\pm$ 0.02 측정값이 되도록 에탄올로 희석하여 사용하였다. 희석된 ABTS 용액(95 μ L)에 어성초 추출물 5 μ L를 가하여 15분 동안 방치하고 microplate reader(Tecan)로 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. L-ascorbic acid는 양성대조군으로 사용하였으며 아래의 식으로 계산하여 흡광도 값을 구하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{OD}_{\text{sample}}}{\text{OD}_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

OD_{sample}: Absorbance of sample.

OD_{control}: Absorbance without sample.

동물사육 실시

4주령의 수컷 C57BL/6 mouse(DaeHan BioLink Co., Ltd., Eumseong, Korea)를 물과 고형사료(Samyang Cor-

puration, Seoul, Korea)를 충분히 공급하며 1주간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물실험의 윤리적, 과학적 타당성 검토 및 효율적인 관리를 위하여 대구한의대학교 동물실험윤리 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee(IACUC))의 승인(승인번호: DHU2019-052)을 받았다. 마우스는 난피법으로 8마리씩 5개군(일반식이(Samyang Corp.)와 증류수를 급여한 정상군(Normal), 60% high-fat diet(HFD, Diet 12492, Research Diets Inc., New Brunswick, NJ, USA)와 증류수를 급여한 대조군(Control), HFD와 가르시니아 캄보지아 추출물 200 mg/kg/d를 급여한 약물군(garcinia cambogia(GC)200), HFD와 어성초 30% 에탄올 추출물 100 mg/kg/d를 급여한 약물군(*Houttuynia cordata* Thunb.(HC)100), HFD에 어성초 추출물 200 mg/kg/d를 급여한 약물군(HC200))으로 나누었다. 식이는 매일 새롭게 공급하였으며 약물은 증류수에 녹여 매일 일정한 시각에 6주간 존대(zonde)를 이용하여 경구 투여하였다. 1일 1회 일정한 시간에 실험동물의 체중 및 식이 섭취량을 측정하였으며, 동물실 환경은 conventional system으로 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $50\pm 5\%$, 명암주기(light: dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였다. 부검 전 12시간 공복시킨 후, 마우스의 혈액과 간 및 부고환 지방조직을 채취하였다.

혈청 지질 분석

6주간 약물 투여 후 마우스의 심장에서 채혈한 혈액을 4,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며, 마우스 혈청의 triglyceride(TG)와 total cholesterol(TC) 농도는 TG, TC assay kit(Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)의 프로토콜에 따라 측정하였다.

간조직 지질 측정

간조직의 지질 추출은 Folch 등(1957)의 방법을 이용하였으며, 총 콜레스테롤 및 중성지질 농도 측정은 혈액에서와 동일한 방법을 사용하였다(Folch 등, 1957).

간조직의 형태학적 관찰

간조직의 일부를 추출하여 10% 중성 포르말린에 고정시킨 후, 탈수 및 파라핀 포매를 하여 3~4 μm 두께의 절편을 제작하였다. 조직 절편을 hematoxylineosin으로 염색한 후 광학현미경(Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)으로 200배에서 조직의 변화를 관찰하였다.

간조직 western blot 분석

Western blot 분석을 위해 마우스의 간조직을 lysis buffer(20 mM Tris, 1 mM Na_3VO_4 , 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 50 mM NaF)로 처리해 단백질을 추출한 다음 BCA protein assay reagent kit을 사용해 정량하였다. 간에서 추출한 동량의 단백질을 SDS PAGE gel에 전기영동

하여 nitrocellulose membrane으로 전이시키고 5% skim milk에 1시간 동안 blocking 하였다. 1차 항체는 4°C 에서 밤새(overnight) 반응시키고 여러 차례 세척 후, 2차 항체를 상온에서 1시간 반응시킨 다음 ECL western blotting detection reagents와 Image Quant LAS 4000 Mini Biomolecular Imager(GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)를 사용하여 단백질 발현을 확인하였으며 band를 정량(ATTO Densitograph Software, ATTO Corporation, Tokyo, Japan)하였다.

통계처리

모든 수치는 평균과 표준오차로 표시하였으며, SPSS(Version 25.0, IBM, Armonk, NY, USA)를 사용하여 Student's t-test를 실시해 대조군과 투여군 사이에 *P*-value가 0.05 미만일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능 분석

어성초 에탄올 추출물의 항산화 활성을 알아보기 위해 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능을 분석해 IC_{50} 값, 즉 자유라디칼을 1/2로 소거하는데 필요한 시료의 농도로 나타내었다. DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능 IC_{50} 값은 각각 27.90 ± 0.39 , 60.35 ± 1.65 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다(Fig. 1, 2). 어성초는 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높은 약재로 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거 활성에서 높은 항산화 활성이 보고되었다(Jeong 등, 2010). 어성초 에탄올 추출물의 항산화능을 물 추출물과 비교한 연구에서 에탄올 추출물의 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능, FRAP(ferric reducing antioxidant power) 환원능이 물 추출물보다 우수한 것으로 보고된 바 있다(Kim 등, 2013). Lee 등(2011)은 어성초 잎 80% 에탄올 추출물의 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능 IC_{50} 값이 각각 69.64, 24.06 $\mu\text{g/mL}$ 로 다른 약재들에 비해 우수했으며, 폐놀성 물질의 항산화 활성지표와 유사하다고

Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of HC. HC, *Houttuynia cordata* Thunb. All values are three replications.

Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of HC. HC, *Houttuynia cordata* Thunb. All values are three replications.

보고했다(Lee 등, 2011). 또한 양성대조군으로 사용된 BHA 및 ascorbic acid의 IC₅₀값은 2.43~3.90 µg/mL로 본 연구 결과의 ascorbic acid IC₅₀값과 유사하였다(Lee 등, 2011). 어성초의 부위별 항산화 활성 연구에서 어성초 70% 에탄올 추출물은 뿌리보다 잎에서 높은 항산화 활성을 보여 잎의 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능 IC₅₀값이 각각 23.51, 35.42 µg/mL로 보고되었으며, 본 연구에서는 항산화 활성이 다소 낮다고 보고된 뿌리를 제외한 전초를 사용하였다(Lee와 Kang, 2018). Kim 등(2013)은 어성초 잎 70% 에탄올 추출물의 2 mg/mL 농도에서 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능을 각각 91.8%, 54.8%로 보고하여 DPPH 소거능이 ABTS 소거능보다 높게 나타난 패턴은 본 연구와 유사하였다(Kim 등, 2013). 이러한 결과로 볼 때, 본 연구에 사용된 어성초 30% 에탄올 추출물의 항산화 활성 또한 우수하다고 판단되며 어성초의 부위와 추출 에탄올 함량 등 실험 조건에 따라 값의 차이는 있을 것으로 여겨진다.

체중 및 식이 섭취량

실험기간 동안 측정된 체중 및 식이 섭취량은 Table 1과 같다. 대조군은 정상군에 비해 유의적으로 체중 증가가 많았으며, 고지방식이 섭취로 높아진 체중 증가는 모든 약물 처리군에서 유의적으로 감소하였다. 특히 HC200군에서 체중의 증가율이 낮았으며 최종 체중이 Control군에 비해 유의적으로 낮게 측정되었다. 식이 섭취량은 모든 군에서 유의적

Table 2. Liver and epididymal adipose tissues weights

Group	Liver (g/100 g body weight)	Epididymal adipose tissue (g/100 g body weight)
Normal	4.22±0.21	0.99±0.08
Control	5.36±0.36 ^{##}	4.17±0.23 ^{###}
GC200	3.88±0.26 ^{**}	3.31±0.21 ^{**}
HC100	3.86±0.26 ^{**}	3.85±0.17
HC200	3.58±0.40 ^{***}	3.13±0.27 ^{**}

All values are mean±SE (n=8). ^{##}P<0.01 and ^{###}P<0.001, compared with Normal group. ^{**}P<0.01 and ^{***}P<0.001, compared with Control group. Control, 60% high-fat diet group; GC200, Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group; HC100, Control with *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) 100 mg/kg/d group; HC200, Control with HC 200 mg/kg/d group.

차가 나타나지 않아 약물이 식이 섭취량에 영향을 미치지 않았다고 판단되었다. 고지방식이 유도 비만 마우스에서 어성초 식이 보충의 체중 감소 효과는 Park과 Shim(2015)의 연구에서 보고된 바 있으며, Wang 등(2018)도 사육기간 동안 체중 증가량을 감소시켰다고 보고하였다(Park과 Shim, 2015; Wang 등, 2018).

간 및 부고환 백색지방 무게

6주간 투여 후 간 및 부고환 백색지방 조직 무게를 비교한 결과는 Table 2와 같다. 정상군에 비해 대조군에서 간 및 부고환 백색지방 무게가 유의적으로 증가하였다. 간조직 무게는 모든 약물 처리군에서 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 특히 HC200군에서 간 무게 감소가 크게 나타났다. 고지방식이 급여로 인해 증가된 부고환 백색지방 무게는 HC200 투여군에서 GC200군과 유사하게 감소하는 효과를 보였다. 어성초 식이 보충은 고지방식이 유도 비만 흰쥐에서 지방 무게를 감소시켰으며 비만에서 동반되는 인슐린 저항성과 렙틴 농도 증가를 억제시켰다고 보고된 바 있다(Tunkamnerdthai 등, 2019). Park과 Shim(2015)의 마우스 연구에서는 어성초의 보충이 고지방식이에 의해 증가한 피하 및 복부 지방세포의 크기를 감소시킨 것으로 나타났으며, 또 다른 연구에서 복부 및 신 주위 지방 감소 효능이 있었으나 본 연구에서 나타난 부고환 지방 감소 효능은 보이지 않았다고 보고되었다(Park과 Shim, 2015; Wang 등, 2018). 어성초 에탄올 추출물의 간 무게 감소 효과는 Wang 등(2018) 연구에서 고지방식으로 인해 증가된 간 무게 감소

Table 1. Body weight and food intake

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g)	Food intake (g/d)
Normal	21.90±0.49	26.04±0.25	4.36±0.44	2.46±0.77
Control	21.92±0.47	31.74±0.79 ^{###}	10.33±0.66 ^{###}	2.17±0.69
GC200	21.78±0.77	29.08±0.90 ^{**}	6.71±1.11 ^{**}	2.22±0.52
HC100	21.86±0.43	30.78±0.88	8.09±0.81 [*]	2.00±0.35
HC200	21.86±0.43	28.69±0.41 ^{**}	6.71±0.62 ^{**}	2.14±0.53

All values are mean±SE (n=8). ^{###}P<0.001, compared with Normal group. ^{*}P<0.05 and ^{**}P<0.01, compared with Control group. Control, 60% high-fat diet group; GC200, Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group; HC100, Control with *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) 100 mg/kg/d group; HC200, Control with HC 200 mg/kg/d group.

Fig. 3. Serum lipid levels. All values are mean±SE (n=8). ^{###}*P*<0.001, compared with Normal group; ^{*}*P*<0.05 and ^{***}*P*<0.001, compared with Control group. Control, 60% high-fat diet group; GC200, Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group; HC100, Control with *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) 100 mg/kg/d group; HC200, Control with HC 200 mg/kg/d group. (A) TG, triglyceride; (B) TC, total cholesterol.

작용이 보고되었다(Wang 등, 2018).

혈액 지질 농도

사육기간 후 혈청에서 측정된 TC 및 TG 농도는 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 높아졌다(Fig. 3). 소재 투여군 3개군(GC200군, HC100 및 HC200군)에서는 고지방식이에 의해 증가된 혈청 TC, TG 농도가 모두 유의적으로 감소하였다. 고지방식이에 어성초 보충으로 인한 혈액 총 콜레스테롤 농도 감소 효과는 Park과 Shim(2015), Wang 등(2018)의 마우스 연구에서 보고된 바 있으나 이들 연구에서 혈액 중성지방 감소 효과는 보이지 않았다(Park과 Shim, 2015; Wang 등, 2018). 어성초 추출물 보충은 비만 흰쥐에서 이상지질혈증 개선 효과가 알려진 바 있다(Tunkamnerdthai 등, 2019; Kang과 Koppula, 2015). Miyata 등(2010) 연구에서는 어성초 열수 추출물이 고지방식이 유도 비만 마우스에서 혈액 TG 농도를 감소시켰으며, 지방산 및 글리세롤 흡수를 억제시켜 항비만 효과가 있다고 보고되었다(Miyata 등, 2010). TG는 췌장 lipase에 의해 지방산과 글리세롤로 분해되어 소장 점막을 통해 흡수되고 체내 지방 축적 및 비만이 야기된다(Jang과 Jeong, 2010). 본 연구는 고지방식이 유도 비만 마우스에서 어성초 에탄올 추출물 보충 효과를 분석한 연구로, 어성초 200 mg/kg 보충은 혈액 TC 및 TG 농도를 저하시켰으며 체내 지방 축적 억제 및 체중 감소 효과를 가져왔다.

간조직 지질 농도

간조직의 TG 및 TC 농도는 고지방식이 섭취 대조군에서 정상군에 비해 유의적으로 높아졌다(Table 3). 소재 투여군 3개군(GC200, HC100 및 HC200군)에서는 간조직 TG 및 TC 농도가 대조군에 비해 모두 유의적으로 감소하는 효과를 보였다. 어성초 추출물의 간조직 TG 및 TC 농도 감소 효과는 Kang과 Koppula(2015) 연구에서 흰쥐의 고지방식

Table 3. Hepatic lipids

Group	Triglyceride (mg/g)	Total cholesterol (mg/g)
Normal	9.19±0.37	6.39±0.23
Control	14.02±0.56 ^{###}	10.91±0.39 ^{###}
GC200	12.17±0.20 [*]	8.02±0.39 ^{***}
HC100	12.29±0.24 [*]	8.26±0.38 ^{**}
HC200	11.05±0.28 ^{**}	7.47±0.38 ^{***}

All values are mean±SE (n=8). ^{###}*P*<0.001, compared with Normal group. ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01 and ^{***}*P*<0.001, compared with Control group. Control, 60% high-fat diet group; GC200, Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group; HC100, Control with *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) 100 mg/kg/d group; HC 200, Control with HC 200 mg/kg/d group.

이 어성초 에틸아세테이트 추출물 200 mg/kg 및 300 mg/kg 보충에서 모두 나타났다(Kang과 Koppula, 2015). 본 연구의 마우스 연구에서는 특히 어성초 에탄올 추출물 200 mg/kg 투여가 간조직 TG 및 TC 농도 감소 효능에 뛰어났으며, 간조직 지질 축적 관련 단백질 발현을 함께 분석하였다. Wang 등(2018)은 본 연구보다 고농도인 어성초 에탄올 추출물 400 mg/kg 보충의 마우스 간조직 지질 축적 억제 효과를 장내 미생물 환경 조절 작용과 관련지어 보고하였다(Wang 등, 2018).

간조직의 형태학적 비교

고지방식이로 비만이 유도된 Control군에서 Normal군에 비해 간조직의 지방구 축적이 증가한 것으로 관찰되었다(Fig. 4). 한편, 고지방식이에 소재를 보충시킨 3개군에서는 Control군에 비해 지방구의 크기와 수가 감소하였으며 지방 축적이 억제된 것으로 나타났다. 어성초 보충군들 중에서 특히 어성초 에탄올 추출물 200 mg/kg이 마우스 간조직 지질 축적 억제 효과가 큰 것으로 관찰되었다. 이러한 결과들은 본 연구의 간 무게 및 간조직 지질 농도 결과와 일관성을 보였으며, Wang 등(2018) 연구(마우스의 식이에 어성초

Fig. 4. Hepatic morphology. (A) Normal; (B) Control, 60% high-fat diet group; (C) GC200, Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group; (D) HC100, Control with *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) 100 mg/kg/d group; (E) HC200, Control with HC 200 mg/kg/d group. Hematoxylin and eosin (H&E) stain, $\times 200$.

Fig. 5. Hepatic NADPH oxidase subunits protein expression. All values are mean $\pm$ SE (n=8). ### P <0.001, compared with Normal group; * P <0.05, ** P <0.01 and *** P <0.001, compared with Control group. Control, 60% high-fat diet group; GC200, Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group; HC100, Control with *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) 100 mg/kg/d group; HC200, Control with HC 200 mg/kg/d group. (A) NOX4, (B) p47phox, (C) p22phox.

에탄올 추출물 400 mg/kg 보충) 및 Kang과 Koppula(2015) 연구(흰쥐의 식이에 어성초 에틸아세테이트 추출물 200 및 300 mg/kg 보충) 결과와 유사하게 나타났다(Wang 등, 2018; Kang과 Koppula, 2015).

간조직 단백질 발현

Lipogenesis 조절과 관련된 단백질 발현을 간조직에서 분석한 결과는 Fig. 5, 6과 같다. 어성초 고농도군인 HC200 군에서 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase(NOX)4, p47phox, p22phox, sterol regulatory element binding protein(SREBP)-1, fatty acid synthesis(FAS) 및 stearyl-CoA desaturase(SCD)-1의 발현이 Control군에 비해 유의적으로 감소하였다. HC100군에서는 SREBP-1, FAS 및 SCD-1 발현이 유의적으로 감소하는 효과를 보였다. 유전적 또는 식이 유도 비만에서 NOX subunits는 여러 조직에서 그 발현이 증가하며, 비만 또는 type II 당뇨 마우스의 지방조직에서 NOX와 그 구성단위인 p47phox 및 p22phox 발현이 증가하였다(Furukawa, 2004). 고지방식이 유도 비만 흰쥐 연구에서는

체중 증가와 함께 지방 또는 신장 조직에서 NOX4, p47phox 및 p22phox의 발현이 증가하였다(Jiang 등, 2011). 본 연구에서는 현재 많이 보고되지 않은 마우스의 간조직에서 NOX4, p47phox 및 p22phox 단백질 발현을 분석하였다. 고지방식으로 비만이 유도된 마우스에서 체중 증가와 함께 간조직의 NOX4, p47phox 및 p22phox 발현이 증가하였으며, HC200 급여로 이들 단백질 발현이 억제되어 간조직 지질 축적을 억제하고 체지방 및 체중 감소에 영향을 준 것으로 사료된다. 한방약 연구에서 간조직의 항비만 및 항염증 관련 지질대사에서 SREBP-1, peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)- α , AMP-activated protein kinase(AMPK), 및 Sirtuin 1(SIRT1) signaling이 주요한 pathway로 알려졌으며, lipogenesis 효소인 FAS, acetyl-CoA carboxylase(ACC)-1, SCD-1 등의 발현 또한 주요하게 포함된다(Li 등, 2020). 어성초는 *in vitro* 간세포에서 AMPK signaling pathway를 활성화해 지방 축적을 억제시켰다는 보고가 있으며(Li 등, 2020), 어성초 에틸아세테이트 추출물은 흰쥐의 간에서 SREBP-1 및 FAS 단백질 발현을 저하시켰다고 보고되었다(Li 등, 2020; Kang과 Kopp-

Fig. 6. Hepatic lipogenesis protein expression. All values are mean $\pm$ SE (n=8). [#] P <0.01, ^{##} P <0.01, ^{###} P <0.001, compared with Normal group; ^{**} P <0.01 and ^{***} P <0.001, compared with Control group. Control, 60% high-fat diet group; GC200, Control with garcinia cambogia 200 mg/kg/d group; HC100, Control with *Houttuynia cordata* Thunb. (HC) 100 mg/kg/d group; HC200, Control with HC 200 mg/kg/d group. (A) SREBP-1, sterol regulatory element binding protein(SREBP)-1; (B) FAS, fatty acid synthesis; (C) SCD-1, stearyl-CoA desaturase-1.

pula, 2015). SREBP-1은 간에서 지질 생합성의 주요한 전사인자로 지질을 생성하는 FAS, SCD-1 등의 유전자 발현을 조절한다(Kang과 Koppula, 2015). 조직학적으로 비알콜성 지방간을 진단받은 환자와 지방간이 있는 비만 마우스에서 SREBP-1 발현이 증가된 것으로 보고되어 SREBP-1은 비알콜성 지방간에서 주요한 역할을 할 것으로 여겨진다(Kang과 Koppula, 2015). 본 연구에서 HC100 및 HC200 보충은 간조직 SREBP-1, FAS 및 SCD-1 단백질 발현을 억제시켰다. 특히 HC200 보충에서 간조직 lipogenesis 관련 단백질 발현 억제 효과가 뛰어나 간조직 지질 농도를 크게 감소시켰고, 이는 체중 및 체지방 저하의 항비만 효과에 영향을 미친 것으로 사료된다. 본 연구에서는 여성초 30% 에탄올 추출물 200 mg/kg의 보충이 마우스의 간조직에서 NOX4, p47phox, p22phox, SREBP-1, FAS 및 SCD-1 단백질 발현을 억제시키는 것으로 나타났고, 이는 간조직 지질 축적 억제에 영향을 준 것으로 보인다.

요 약

본 연구는 고지방식이 유도 비만 마우스에서 여성초의 간조직 지질 축적 억제 작용을 알아보고자 하였다. 여성초 30% 에탄올 추출물의 항산화 활성을 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능을 통해 측정하였다. C57BL/6 마우스를 Normal군, 60% 고지방식이군(Control), 고지방식이에 200 mg/kg/d 가르시니아 캄보지아 보충군(GC200), 고지방식이에 100 mg/kg/d 여성초(HC) 보충군(HC100) 및 200 mg/kg/d HC 보충군(HC200) 5개군으로 동물실험을 진행하였다. 여성초 추출물의 DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능은 각각 $27.90 \pm 0.39 \mu\text{g/mL}$, $60.35 \pm 1.65 \mu\text{g/mL}$ 로 측정되었다. 고지방식이 Control군은 Normal군에 비해 체중과 간 및 부고환 백색지방 조직 무게가 유의적으로 증가되었다. 반면, 고지방식이에 GC200 및 HC200 보충은 체중을 감소시켰으며, 3가지 보충군(GC200, HC100 및 HC200군)에서는 간 무게가 감소되었다. HC200은 또한 부고환 백색지방 조직 무게를 감소시켰다. 3개 보충군은 혈장 TG 및 TC 농도를 감소시켰으며 특히, HC200의 혈장 TC 감소 효과가 크게 나타났다. HC 200 보충은 간조직에서 lipogenesis 관련 단백질인 NOX4, p47phox, p22phox, SREBP-1, FAS 및 SCD-1 발현을 억제시켜 간조직 지질 농도를 감소시켰다. 결론적으로 HC200은 간조직 지질 축적을 억제시키고 항비만 효과를 보인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2021년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구입니다(No. 2018 R1A5A2025272).

REFERENCES

- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958. 26:1199-1200.
- Chen X, Wang Z, Yang Z, Wang J, Xu Y, Tan RX, et al. *Houttuynia cordata* blocks HSV infection through inhibition of NF- κ B activation. *Antiviral Res*. 2011. 92:341-345.
- Choi JY, Lee JA, Lee JB, Yun SJ, Lee SC. Anti-inflammatory activity of *Houttuynia cordata* against lipoteichoic acid-induced inflammation in human dermal fibroblasts. *Chonnam Medical Journal*. 2010. 46:140-147.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957. 226:497-509.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004. 114:1752-1761.
- Jang YS, Jeong JM. Effects of phyto-extract mixture on adiposity and serum lipid levels in obese mice induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2010. 39:1439-1445.
- Jeong HR, Kwak JH, Kim JH, Choi GN, Jeong CH, Heo HJ. Antioxidant and neuronal cell protective effects of an extract of *Houttuynia cordata* Thunb (a culinary herb). *Korean J Food Preserv*. 2010. 17:720-726.
- Jiang F, Lim HK, Morris MJ, Prior L, Velkoska E, Wu X, et al. Systemic upregulation of NADPH oxidase in diet-induced obesity in rats. *Redox Rep*. 2011. 16:223-229.
- Kang H, Koppula S. *Houttuynia cordata* alleviates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver in experimental rats. *Pharm Biol*. 2015. 53:414-422.
- Kim HS, Kim MJ, Cheong C, Kang SA. Antioxidant properties in water and 70% ethanol extracts of *Houttuynia Cordata* Thunb. *Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society*. 2013. 14:5091-5096.
- Kim IS, Kim JH, Kim JS, Yun CY, Kim DH, Lee JS. The inhibitory effect of *Houttuynia cordata* extract on stem cell factor-induced HMC-1 cell migration. *J Ethnopharmacol*. 2007. 112:90-95.
- Kumar M, Prasad SK, Hemalatha S. A current update on the phytopharmacological aspects of *Houttuynia cordata* Thunb. *Pharmacogn Rev*. 2014. 8:22-35.
- Lee SG, Jeong HJ, Lee EJ, Kim JB, Choi SW. Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extracts from medicinal herb mixtures. *Korean J Food Sci Technol*. 2011. 43:200-205.
- Lee SG, Kang H. Effects of *Houttuynia cordata* extracts of different aerial parts on antioxidants and anti-inflammatory. *Bio-med Sci Lett*. 2018. 24:87-93.
- Li HB, Wong CC, Cheng KW, Chen F. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT—Food Sci Technol*. 2008. 41:385-390.
- Li S, Xu Y, Guo W, Chen F, Zhang C, Tan HY, et al. The impacts of herbal medicines and natural products on regulating the hepatic lipid metabolism. *Front Pharmacol*. 2020. 11:351. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00351>
- Miyata M, Koyama T, Yazawa K. Water extract of *Houttuynia cordata* Thunb. leaves exerts anti-obesity effects by inhibiting fatty acid and glycerol absorption. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2010. 56:150-156.
- Park HS, Shim SM. Preventive responses to a standardized extract of *Houttuynia cordata* supplemented diet in obesity induced by a high-fat diet in mice. *J Korean Soc Appl Bio Chem*. 2015. 58:643-649.
- Park YH, Yoo SR, Son CG. Overview for prevalence and path-

- ology of non-alcoholic fatty liver disease. Korean J Orient Int Med. 2011. 32:26-32.
- Re R, Pellegrini N, Protoggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999. 26:1231-1237.
- Shingnaisui K, Dey T, Manna P, Kalita J. Therapeutic potentials of *Houttuynia cordata* Thunb. against inflammation and oxidative stress: A review. J Ethnopharmacol. 2018. 220:35-43.
- Statistics Korea. 2019 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. 2021 [cited 2021 Apr 1]. Available from: <https://www.index.go.kr/unify/idx-info.do?idxCd=4239>
- Tunkamnerdthai O, Auvichayapat P, Chaiwiriyaikul S. Effect of *Houttuynia cordata* Thunb. extract in high-fat diet-induced obese rats. Srinagarind Med J. 2019. 34:461-467.
- Wang JH, Bose S, Shin NR, Chin YW, Choi YH, Kim H. Pharmaceutical impact of *Houttuynia cordata* and metformin combination on high-fat-diet-induced metabolic disorders: Link to intestinal microbiota and metabolic endotoxemia. Front Endocrinol. 2018. 9:620. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00620>