

포화지방산과 불포화지방산이 배양 지방세포의 비만유전자와 지방산합성효소유전자 발현에 미치는 영향

지정규 · 박소영 · 김종연 · 김희선* · 김용운
영남대학교 의과대학 생리학교실, 미생물학교실*

Effect of Saturated and Unsaturated Fatty Acid on Ob Gene and Fatty Acid Synthase Gene Expression in 3T3-L1 Adipocyte

Jeong-Kyu Chi, So-Young Park, Jong-Yeon Kim, Hee-Sun Kim, Yong-Woon Kim

*Department of Physiology and *Department of Microbiology
College of Medicine, Yeungnam University, Daegu, Korea*

—Abstract—

Purpose : The ob gene, specifically expressed in adipocyte, encodes leptin, a hormone that induces satiety and increases energy expenditure. In this study, effects of saturated fatty acid and polyunsaturated fatty acid on ob gene expression were investigated by quantitative competitive RT-PCR in a mouse cell line (3T3-L1) which can be induced to differentiate into adipocytes. In addition to ob gene, expression of the fatty acid synthase gene as a marker of lipogenesis was measured simultaneously.

Materials and Methods : The 3T3-L1 fibroblast cell were cultured in the Dulbecco's modified Eagle medium with 10% fetal bovine serum. The differentiation of 3T3-L1 fibroblast to adipocyte was induced by the treatment of 250 nM dexamethasone and 0.5mM 1-methyl-3-isobutylxanthine. At 10~14 days after induction, 3T3-L1 cells were fully differentiated and had had lipid droplets in the cytoplasm. At that time, 3T3-L1 adipocytes were cultured for 12 hours in the fatty acids contained medium and were harvested for RNA extraction. Palmitate as a saturated fatty acid and docosahexaenoic acid (DHA) as a polyunsaturated fatty acid were used in this experiment and treated concentration was 600 µMol.

Results : After conversion to adipocytes, glycerol-3 phosphate dehydrogenase activity was increased and leptin mRNA was expressed. Ob gene expressions of differentiated adipocytes were suppressed by palmitate treatment, however, there was no significant change in DHA treated adipocyte. Fatty acid synthase gene expressions, on the other hand, were suppressed by DHA treatment and not changed by palmitate treatment.

Conclusion : These results suggested that polyunsaturated fatty acid inhibited lipogenic process and saturated fatty acid inhibited lipolytic process at cultured adipose cell level.

Key Words : 3T3-L1 adipocytes, Docosahexaenoic acid, Palmitate, Ob gene

서 론

생체에서 지방 축적은 에너지원의 저장이라는 의미에서 생리적으로 중요한 것이지만 과도한 축적은 여러 가지 대사 장애를 초래함으로써 체지방을 적당하게 유지하는 것은 개체의 항상성을 유지하는데 필요하다. 이미 1950년대부터 지방 축적되었다는 신호로 지방세포에서 포만 물질이 분비되며 식이조절중추에 작용하여 음식섭취를 감소시키고 지방산화를 증가시켜 지방축적을 억제하는 긴 고리의 음성되먹이기 전이 작동함으로써 지방의 항상성이 유지된다고 생각하였다. 1994년 미국 Rockefeller 대학의 Friedman 그룹¹⁾이 앞에 언급한 포만물질을 생성하는 비만유전자(*ob gene*)를 처음 규명하였으며 그 단백산물을 leptin이라 하였다. Leptin은 167개의 아미노산으로 된 펩타이드로 시상하부에 작용하여 neuropeptide Y의 분비를 억제하여 식욕이 감소되고 교감신경계가 활성화되어 체중이 감소하게 된다.²⁾ 비만유전자 이상으로 비만이 발생한 *ob/ob* mice에 leptin을 투여하여 현저한 체중감소효과를 관찰하여 leptin이 비만 치료에 중요한 역할을 할 것으로 기대되었다. 그리고 leptin 수용체가 시상하부뿐 아

니라 골격근, 지방세포, 및 췌장 β -세포 등의 여러 조직에서도 발견되고,³⁻⁵⁾ leptin이 이들 수용체에 작용하여 골격근 당섭취증가, 지방세포 괴사, 및 인슐린 분비감소 등의 다양한 효과가 보고되면서,^{6, 7)} leptin이 체중조절이외에도 말초조직의 여러 대사과정에 관여하는 adipocytokine의 대표적인 물질로 간주하게 되었다.⁸⁾

비만유전자는 지방세포에서 특이적으로 발현되며, leptin은 비만지방세포에서 분비가 증가하며 식사 후에 증가하였다가 공복 시에 감소하는 양상을 나타낸다.⁹⁾ 비만유전자 발현을 조절하는 호르몬으로는 인슐린, 부신피질호르몬, 및 여성호르몬 등이 있으며 시험관 실험과 생체실험에서 비만유전자 발현을 증가시키는 효과가 있다고 한다.¹⁰⁻¹²⁾ 호르몬 이외에도, Rentsch와 Chiesi¹³⁾가 배양지방세포에서 지방산이 leptin 분비를 감소시킨다고 보고하여, 영양소가 비만유전자 발현에 영향을 미칠 것이라고 생각하게 되었다. 특히 지방세포에서 adipocyte lipid-binding protein (ALBP 또는 aP2)이 다불포화지방산과 결합하여 지방산이 핵에까지 작용할 수 있으며 aP2 유전자가 다불포화지방산에 의하여 조절될 수 있다고 하며,¹⁴⁾ Wang 등¹⁵⁾이 근육과 지방세포에서 비만유전자의 발현에 영양소를 통

하여 조절되는 경로(nutrient-sensing pathway)가 있다고 보고하여 지방산이 비만유전자 발현에 직접 관여할 가능성이 높아지게 되었다. Clarke와 Jump¹⁶⁾가 다불포화 지방산이 peroxisome proliferator activated receptors (PPARs)의 발현을 조절한다고 보고하여 PPAR γ 가 비만유전자의 발현에 promoter로 작용하므로 다불포화 지방산이 비만유전자의 발현에도 관여할 것으로 추정할 수 있었다.

지방산은 탄소사슬의 포화도에 따라 포화지방산과 다불포화지방산으로 구분되는데 이들의 생체 내에서의 대사 효과는 차이가 많다. 포화지방산이 많은 음식을 섭취하면 간과 골격근에서 인슐린저항성이 발생하며 체지방이 증가하는 것으로 알려져 있으나¹⁷⁾ 다불포화지방산이 많은 어유를 섭취한 경우에는 인슐린 감수성이 증가하고 혈중 중성지방과 체지방을 감소시키는 것으로 보고되었다.¹⁸⁾

지방세포의 지방합성은 합성과 분해의 정도에 따라 결정되는데 지방합성은 지방산합성효소(fatty acid synthase)의 활성도에 의하여 조절되며 지방분해는 지방세포에서 분비되는 leptin에 의하여 이루어지므로 두가지 인자의 균형에 의하여 지방이 축적되기도 하고 분해되기도 한다. Leptin 뿐 아니라 지방산합성효소도 인슐린과 같은 호르몬뿐 아니라 지방산과 같은 영양소에 의하여 합성속도가 조절된다고 보고되고 있다.¹⁹⁾ 그래서 다불포화지방산의 체지방 감소 효과 기전이 비만유전자와 지방산합성효소 발현을 조절하여 이루어질 가능성이 제시되었으며, Bernlohr 등²⁰⁾이 지방세포내에서 다불포화지방산의 aP2 유전자 단백질인 adipocyte lipid binding protein에 대한 결합능이 포화지방산에 비하여 더 높다고 보고하였으며, Waters 등²¹⁾

이 배양 3T3-L1 지방세포에서 다불포화지방산이 지방축적에 관여하는 효소들의 발현을 억제하는 반면 포화지방산은 억제하지 못하는 것으로 보고하여 이를 뒷받침하였다. 그러나 아직까지 영양소 특히 지방산이 비만유전자의 발현에 미치는 영향과 지방산의 종류에 따른 차이를 규명한 연구는 많지 않은 실정이다.

본 연구에서는 포화도가 다른 지방산이 지방세포의 대사에 다르게 작용하는 기전을 규명하기 위하여 다불포화지방산과 포화지방산이 지방세포의 비만유전자와 지방산합성효소 발현에 미치는 영향을 배양 3T3-L1 지방세포주를 이용한 시험관 실험으로 조사하고자 하였으며, 다불포화지방산으로 docosahexaenoic acid (DHA)를, 포화지방산으로 탄소사슬의 길이가 다른 palmitate와 myristate를 처치하였다.

재료 및 방법

실험재료로 3T3-L1 세포주를 사용하였으며 실험군을 대조군, 포화지방산 처치군, 및 DHA 처치군으로 나누었으며, 포화지방산 처치군은 palmitate 처치군, myristate 처치군으로 세분하였다.

3T3-L1세포의 배양: 생쥐 배아로부터 얻은 3T3-L1 세포주를 한국세포주은행으로부터 구하여 fetal bovine serum(FBS, Life Technologies, Grand Island, NY)이 10% 함유된 Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM, Sigma chemical Co., St. Louis, USA)에서 배양하였으며 환경은 37°C, 5% CO₂를 유지시켰으며 48~72 시간마다 배지를 교환하였다. 배양 플라스크에서 유지시키는 동안에는 confluence에 이르지 않도록 하고 4 × 10³ cells/cm²의 밀도로 배양 접

시에 옮겼다. 배양접시에서 confluence에 이른 후에 250 nM dexamethasone, 0.5mM 1-methyl-3-isobutylxanthine, 10 µg/ml 인슐린을 첨가하고 48시간 배양하여 지방세포로 분화하게 유도하였다. 분화 유도 48시간 후에는 배지 교환 시 인슐린 10 µg/ml만 첨가하면서 10~14 일간 유지하여 세포질에 지방적(lipid droplet)이 나타나도록 하였다. 지방세포로의 분화는 glycerol-3-phosphate dehydrogenase 활성도를 측정하여 확인하였다. 분화된 지방세포에서 지방산의 효과를 알아보기 위하여 포화지방산으로 palmitate (C16:0, Sigma Chemical Co)와 myristate (C14:0, Sigma Chemical Co), 불포화지방산으로 cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid (C22:6, Sigma Chemical Co)를 600µM씩 12시간 동안 처치하였다. 농도에 따른 반응을 보기 위하여 palmitate와 DHA를 각각 0.06 mM, 0.6 mM, 및 3 mM 농도로 처치한 다음 비만유전자와 지방산합성효소 유전자 발현을 측정하였다. DHA를 3 mM 농도로 처치한 군에서는 지방세포가 고사하여 유전자 발현을 측정할 수 없었다.

Glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH) 활성도 측정 : 세포를 얼음으로 차게 한 phosphate buffered saline으로 2번 씻은 뒤 끓어모아 tube에 옮기고 차게 한 100µL extraction buffer (0.5% triton X-100, 10 nM tris-HCl, pH 7.5, 1mM MgCl₂, 20 mM KCl, 0.2 mM dithithreitol, 10% glycerol)를 넣은 뒤 4°C에서 30분간 두었다가 4°C에서 16,000 rpm으로 60분간 원심분리하여 상청액을 나누어 -73°C에서 보관하였다. 상청액의 단백질량은 kit (Sigma Chemical Co)를 이용한 micro-determination 법으로 측정하였다. G3PDH의 활성도를 측정하기 위하

여 cuvette에 추출한 상청액 100 µL와 반응 용액(reaction mixture) 0.4 mL를 넣어 빨리 섞어 반응을 시작시키고 340 nm에서 반응시작 30초부터 30초 간격으로 반응이 직선관계를 유지할 때까지의 흡광도를 기록하였다. 효소활성도의 절대값을 알기 위한 표준물질로 토끼 근육에서 추출한 glycerol-3-phosphate dehydrogenase (Sigma Chemical Co)를 이용하였다. 분화 전의 시료는 세포양이 적어서 한꺼번에 모아서 측정하였다.

비만 유전자와 지방산합성효소의 발현측정

1) RNA의 분리 : RNA의 분리는 guanidium salt-lysis 방법을 이용하는 kit (RNA Prepmate I, Bioneer, Korea)를 이용하였다. 차가운 PBS로 배양 접시에 자란 세포들을 씻은 후 끓어모아 tube에 옮긴다. 세포가 담긴 tube에 lysis buffer 1 ml을 넣고 잘 섞어준 뒤 4°C에서 10분간 반응시키고 chloroform 750 µl를 첨가하여 섞고는 4°C에서 15분간 방치한 다음 4°C에서 13,000 rpm으로 20분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상청액을 취하고 동일한 양의 2-propanal을 첨가하여 실온에서 1시간 방치시킨 다음 4°C에서 13,000 rpm으로 20분간 다시 원심분리하였다. Diethylpyrocarbonate (DEPC) 처리한 70% ethanol로 2번 씻은 후 tube에 남아 있는 용액을 모두 제거하고 56°C heating block에서 5분간 반응시켜 남은 에탄올을 날려보낸 후 RNA hydration buffer에 녹였다. DNase I을 첨가하여 2시간 37°C에서 2시간 반응시키고 94°C에서 10분간 끓여 DNase I의 활성을 없앴다. 분리된 RNA는 다음 실험으로 이어지지 않는 경우 -70°C deep freezer에 보관하였다.

2) RT-PCR (reverse-transcriptase polymerase chain reaction) : 비만유전자와 지방산합성효소

유전자의 RT-PCR을 위하여 Perkin Elmer사 (USA)의 RNA PCR kit을 사용하였다.

비만유전자의 RT-PCR을 위한 primer(Bioneer, Korea)의 염기서열은 아래와 같다.

5' primer CCAAACCCCTCATCAAGACC
3' primer CTCAAAGCCACCACCTCTGT

지방산합성효소 유전자의 RT-PCR을 위한 primer(Bioneer, Korea)의 염기서열은 아래와 같다.

5' primer GGAAGATTTCTGGGAAAGTT
3' primer ACCAGGTTGGTGTA AAAATG

RT-PCR은 10×PCR 완충액 1 μ l, 25mM MgCl₂ 2 μ l, 10mM dNTP 혼합액 4 μ l, 20 U/ μ l RNAase inhibitor 0.5 μ l, 50 U/ μ l MuLV RTase 0.5 μ l, 3'primer를 0.75 μ M이 되도록,

그리고 RNA 1 μ g을 넣은 후 DEPC처리한 증류수로 전체량이 10 μ l가 되도록 하였다. 실온에서 10분 정도 방치하고 42°C에서 45분간, 99°C에서 5분간 반응시켰다. 여기에 다시 10×PCR 완충액 0.8 μ l, 25mM MgCl₂ 0.4 μ l, 4 U/ μ l Ampli Taq 0.1 μ l, dNTP mix 0.45 μ l, 및 primer가 0.2 μ M이 되도록 넣은 후 증류수로 8 μ l가 되도록 한 다음 RT mix 용액 2 μ l를 첨가하였다. 처음 95°C에서 5분간 변성시킨 후, 95°C에서 20초, 60 °C에서 20초, 72°C에서 20초의 반응주기를 35회 반복하고 마지막으로 72°C에서 7분간 반응시킨다. 일반적으로 모든 세포에서 일정하게 발현되는 β -actin의 유전자 발현량을 측정하여 상대적 발현 정도를 비교하였으며 β -actin 유전자의 RT-PCR을 위한 primer (Bioneer, Korea)의 염기서열은 아래와 같다.

5' primer CCAGATCATGTTTGAGACCT

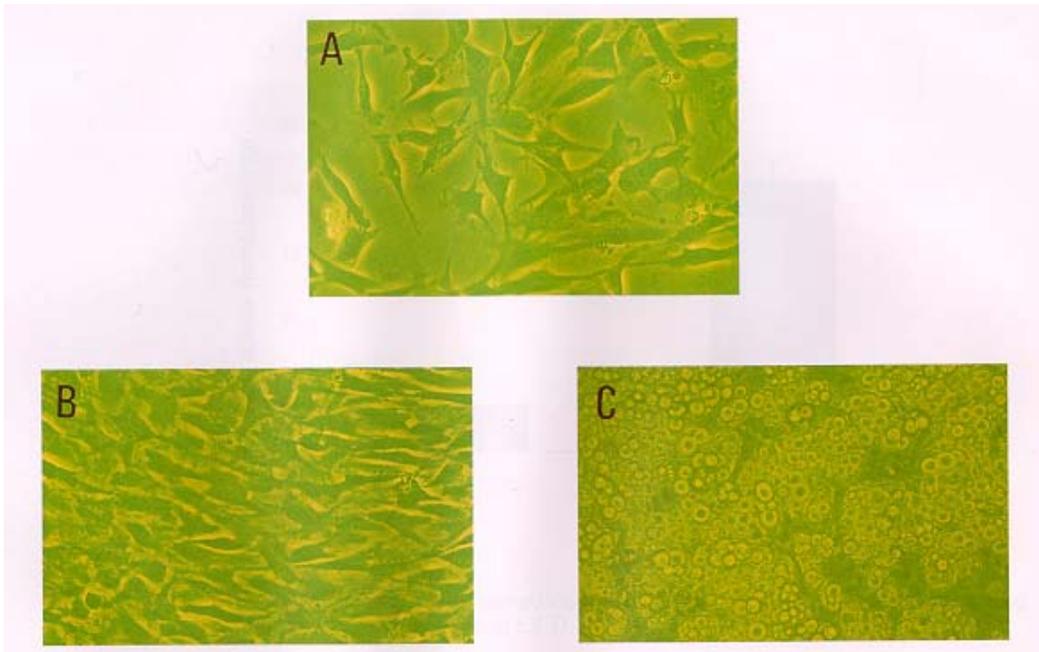


Fig. 1. Morphology of 3T3-L1 cells before and after differentiation. Preadipocytes before (A) and after (B) confluence ($\times 400$). Adipocytes with lipid in the cytoplasm (C) ($\times 200$).

3' primer AATGTAGTTTCATGGATGCC

비만유전자, 지방산합성효소 유전자, 및 β -actin 유전자의 발현은 Bio-profil Bio-ID (Viber-Lourmat)를 이용하여 분석하였다.

성 적

3T3-L1세포주를 지름 3 cm인 배양 접시에 4×10^3 cells/cm²의 밀도로 분주한 후 confluence에 이르기까지 5~6일이 소요되었으며 이때 10% fetal bovine serum 이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium에 인슐린, 1-methyl-3-isobutyl-xanthine, 및 dexamethasone을 첨가하여 분화를 유도하였다. 분화유도후 10~14 일에 지방적으로 가득찬 지방세포로 분화되었으며 이때 실험을 시행하였다(그림 1). Confluence에 이르기 전후의 3T3-L1 세포는 섬유모세포에서 특징적인 방추형의 모양이었으며(그림 1-A, B), 지방세포로 분화된 이후에는 세포 모양이 타원

형으로 되었고 세포질에는 지방세포에서 특징적인 지방적으로 가득 차 있었다(그림 1-C).

지방세포로의 분화를 확인하기 위하여 GPDH 활성도(nmole/min/mg)를 측정하였으며, 분화하기 전의 3.5에서 분화 후 20.7±3.16으로 증가하였다(그림 2).

분화한 지방세포는 아무런 자극없이도 비만 유전자와 지방산합성효소를 발현하였다. DHA는 비만유전자 발현에 대하여 농도에 따른 차

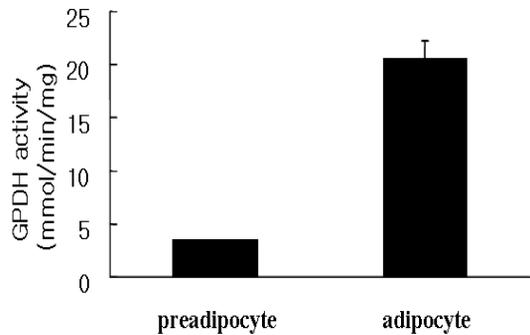


Fig. 2. Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) activity of preadipocyte and adipocyte. Bars are mean±S.D..

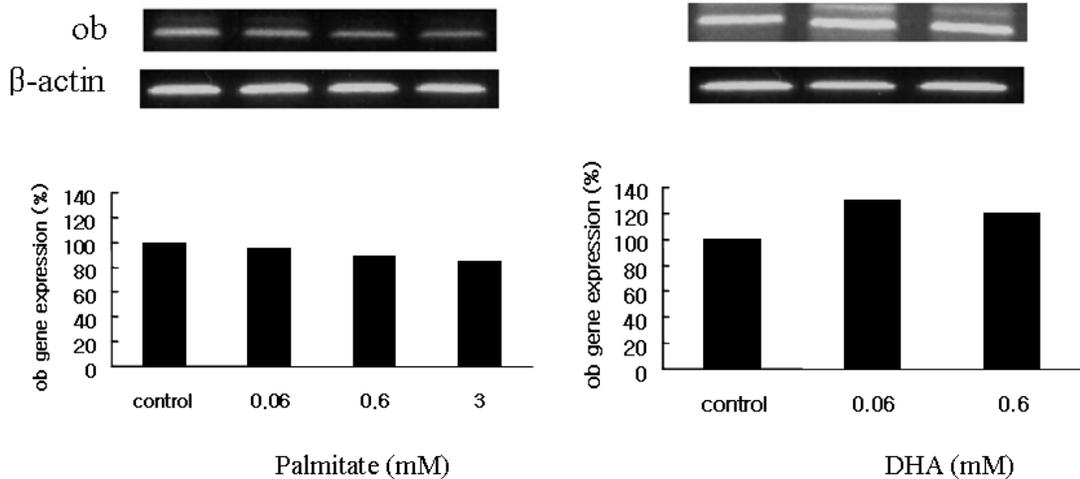


Fig. 3. Dose dependent effect of palmitate and docosahexaenoic acid (DHA) on ob gene expression. Values are ob/ β -actin (%).

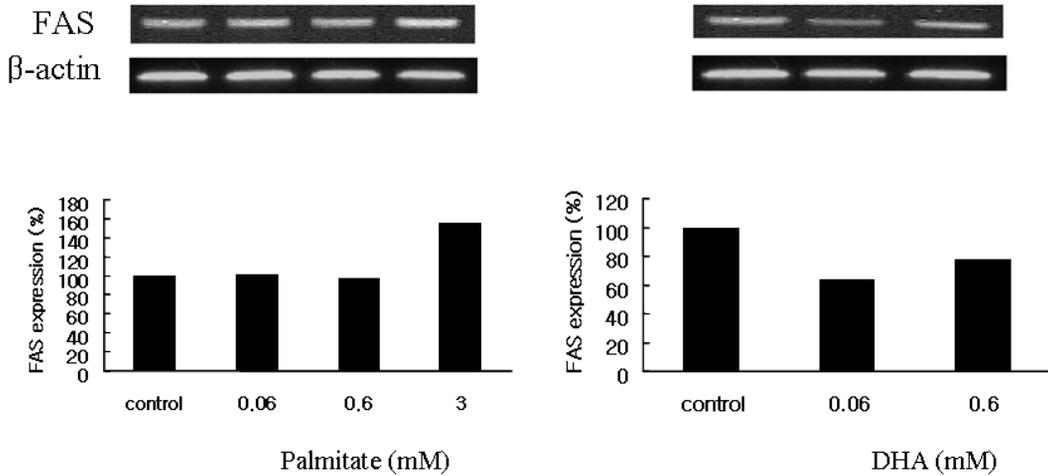


Fig. 4. Dose dependent effect of palmitate and docosahexaenoic acid (DHA) on fatty acid synthase (FAS) gene expression. Values are FAS/ β -actin (%).

이를 나타내지 않았으나 palmitate는 기울기는 낮지만 농도에 의존적으로 비만유전자 발현을 감소시켰다(그림 3). 지방산합성효소 발현에 대해서 DHA는 농도에 의존적이지 않았으나 palmitate는 0.06 mM과 0.6 mM에서는 변화가 없었으나 3 mM에서는 발현이 증가하는 양상이었다(그림 5).

공복시 생체 지방산 농도에 가장 가까운 0.6 mM의 지방산을 처치한 후 비만유전자와 지방산합성효소발현을 측정하였으며 비만유전자는 palmitate를 처치하여 발현이 억제되었으나 DHA를 처치해서는 특이적인 변화가 없었다. Myristate의 처치로 비만유전자 발현이 억제되는 경향이었으나 palmitate보다 억제 정도가 낮았다(그림 5).

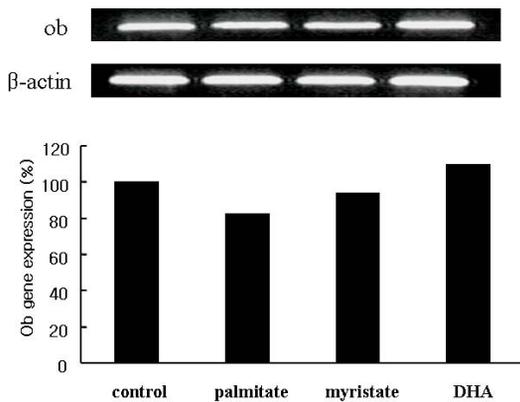


Fig. 5. Effect of saturated (DHA) and unsaturated fatty acids (palmitate and myristate) on ob gene expression in the glucose free media. Values are ob/ β -actin (%). DHA: docosahexaenoic acid.

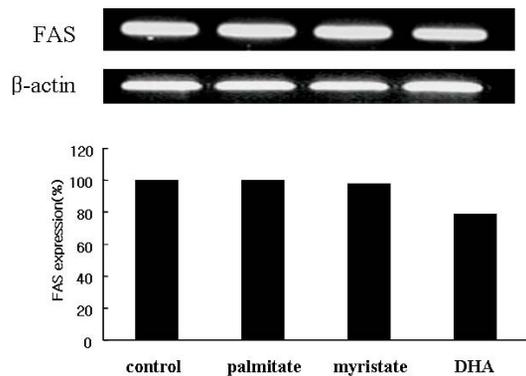


Fig. 6. Effect of saturated (DHA) and unsaturated fatty acids (palmitate and myristate) on fatty acid synthase (FAS) gene expression in the glucose free media. Values are FAS/ β -actin (%). DHA : docosahexaenoic acid.

지방산합성효소의 발현은 비만유전자와 다르게 palmitate와 myristate에 의해서는 감소되지 않았으나 DHA에 의해서는 억제되었다(그림 6).

고 찰

생쥐 배아로부터 얻은 세포주인 3T3-L1 섬유모세포는 인슐린, 1-methyl-3-isobutylxanthine, 및 dexamethasone의 처리로 지방세포로 분화되었다. 분화를 확인하기 위하여 생화학적인 지방세포분화 표시자인 GPDH의 활성도로 측정하였으며 분화전에 비하여 6배 증가하였다. GPDH는 해당과정의 대사산물인 dihydroacetone phosphate를 glycerol-3-phosphate로 전환시키는 효소로 glycolipid 즉, 중성지방의 합성을 위한 glycerol backbone을 제공하는 역할을 함으로 지방세포의 지방축적을 위해서는 필수적인 효소이다.²²⁾

분화된 지방세포는 지방세포에 특이적인 비만유전자를 발현하기 시작하는데 본 연구에서도 아무런 처치를 가하지 않은 배양 지방세포도 비만유전자를 발현하였다. 배양액에 혈중 포화지방산의 가장 많은 부분을 차지하고 16개의 탄소사슬을 가진 palmitate를 공복시 혈중 농도와 유사한 600 μM 씩 처리하였을 때 비만유전자 발현이 억제되었다. 이 결과는 Rentsch와 Chiesi¹³⁾의 3T3-L1 지방세포에서 비특이적인 유리지방산을 50 μM 처리하였을 때 비만유전자가 50%로 감소하였다는 보고와 유사하였으나 감소 정도는 낮았다. 본 연구에서 지방산의 탄소사슬 길이에 따른 지방세포 발현에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 14개의 탄소사슬을 가진 포화지방산인 myristate를 동일한 농

도로 처리한 경우에는 비만유전자의 발현이 palmitate와 다르게 특별한 변화가 없었다. 다불포화지방산인 DHA를 동일한 양 처리한 경우의 비만유전자 발현은 특이적인 변화가 없었다.

비만유전자와 동일한 시료에서 지방산합성효소의 발현을 측정하였다. Palmitate 처리로 지방산합성효소의 발현은 변화가 없었으나, DHA 처리시 억제되었다. 이는 DHA 투여로 인한 체지방의 감소가 지방산합성효소의 억제를 통한 lipogenesis의 감소에 기인함을 짐작할 수 있었다. 이와같은 결과는 생체에서 Clarke 등,²³⁾ Raclot 등,²⁴⁾ 및 Clandinin 등²⁵⁾이 다불포화지방산이 많이 함유된 식이섭취시 지방세포에서 지방산합성효소가 억제되었다는 보고와 일치하였다. 그러나 배양 지방세포에서 특이적으로 지방산합성효소 발현을 측정된 보고는 없었으나, 지방산합성효소와 유사하게 불포화지방산성을 증가시켜 lipogenesis를 증가시키는 stearoyl-CoA desaturase gene 1의 발현이 불포화지방산에 의하여 억제되거나 포화지방산에 의해서는 억제되지 않았다는 Waters 등²¹⁾의 보고와 일맥상통하는 결과였다. 이러한 결과로 지방산의 포화도에 따라 생체 내에서의 대사에 차이가 있어서 포화지방산이 많은 음식을 섭취하면 체지방이 증가하며,¹⁷⁾ 다불포화지방산이 많은 어유를 섭취한 경우에는 체지방이 감소하는 기전을,^{18, 26)} 포화지방산은 비만유전자를 억제시키며 다불포화지방산은 지방산합성효소를 억제시키는 것으로 설명할 수 있게 되었다.

지방산은 탄소사슬의 길이에 따라 대사과정에 차이가 있는데 탄소사슬의 길이가 길수록 지방세포에서 지방합성이 증가하는 것으로 보고되었으며,²⁷⁾ 지방산의 인슐린 분비 자극도 탄소사슬의 길이가 길수록 커지는 것으로 보고

되어,²⁸⁾ 지방산의 탄소사슬길이가 길어질수록 이에 따른 대사적인 문제도 증가할 것으로 사료된다. 본 연구의 결과도 palmitate (C16:0)에 비하여 탄소사슬의 길이가 짧은 myristate (C14:0)가 palmitate에 비하여 비만유전자 발현은 적게 억제시켰으며 지방산합성효소 발현은 조금 낮게 하여서 위의 보고들과 일치하는 경향을 나타내었다.

지방산이 유전자 발현에 관여하는 기전으로는 세포내에서 adipocyte lipid-binding protein 등의 단백질과 결합하여 핵에 직접작용하는 방법뿐만 아니라^{14, 29)}, 대사산물이 신호전달과정에 관여하는 방법¹⁵⁾과 세포막에 삽입되어 세포막의 지방 조성을 변화시킴으로써^{30, 31)} 세포막을 통한 신호전달과정에 영향을 주거나 세포막의 유동성을 조절하여 인슐린 수용체와 같은 세포막 단백질의 기능에 영향을 주는 간접적인 방법들이 있다. 위의 과정중 세포막의 조성변화를 통한 작용기전은 Fickova 등³⁰⁾의 연구에서도 나타났듯이 수 일 이상의 기간이 필요한 과정이므로 본 연구에서 시행한 지방산 노출 시간을 12시간으로 제한한 모델에서는 관여할 가능성이 적은 것으로 생각되었다. 본 연구에서 지방산이 유전자 발현에 직접적으로 관여하는 기전으로는 세포내로 들어온 지방산이 prostaglandin이나 arachidonic acid와 같은 second messenger로 대사되고 이들이 smooth endoplasmic reticulum에서 포장되어 핵으로 이동하여 핵에 있는 특이 호르몬 수용체인 peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ)와 결합하고 PPAR γ 가 retinoid X receptor와 결합하여 여러 가지 nuclear co-activators나 repressors에 작용하여 transcription을 조절하는 과정을 생각할 수 있다.¹⁴⁾ PPAR γ

가 비만유전자의 promoter로 작용하기 때문에 지방산들이 비만유전자의 발현에 영향을 미치게 될 것으로 생각되었다. 이러한 작용단계에서 포화지방산과 불포화지방산은 fatty acid binding protein나 adipocyte lipid-binding protein과의 결합능과 이들 단백질의 발현조절을 통한 양적 변화^{20, 32)} 및 세포내 대사과정에서 차이가 있어서 유전자 발현에서의 다른 효과를 나타내는 것으로 사료되었으며 자세한 기전에 관해서는 추후 연구가 있어야 할 것으로 생각한다.

이상의 결과를 요약하면 불포화지방산이 비만유전자의 발현감소없이 지방산합성효소발현을 억제하였으며 포화지방산이 지방산합성효소감소없이 비만유전자를 억제하였는데, 이러한 결과는 불포화지방산의 체지방 감소 효과와 포화지방산의 체지방 증가 효과를 지방세포의 유전자 발현의 차이로 설명할 수 있게 되었으며 포화지방산중에서는 탄소사슬의 길이가 길수록 지방합성을 증가시키는 방향으로 유전자 조절이 일어남을 알 수 있었다. 추후 지방산합성효소를 억제하고 비만유전자의 발현을 증가시키는 방법을 연구하면 효과적인 체중감소의 방법을 제시할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

포화도가 다른 지방산이 지방세포의 대사에 다르게 작용하는 기전을 규명하기 위하여 다불포화 지방산과 포화지방산이 지방세포의 비만유전자와 지방산합성효소 발현에 미치는 영향을 배양 3T3-L1 지방세포주를 이용한 시험관 실험으로 조사하고자 하였으며, 불포화지방산으로 docosahexaenoic acid (DHA)를, 포화지방산으로 탄소사슬의 길이가 다른 palmitate와

myristate를 처치하였다

실험재료로 3T3-L1 세포주를 사용하였으며 실험군을 대조군, 포화지방산 처치군, 및 DHA 처치군으로 나누었으며, 포화지방산 처치군은 palmitate 처치군, myristate 처치군으로 세분하였다.

3T3-L1 세포는 10% fetal bovine serum 이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium에서 인슐린과 dexamethasone을 첨가하여 분화 유도후 10~14일에 지방적으로 가득찬 지방세포로 분화되었으며 이때 실험을 시행하였다.

지방세포의 분화를 확인하기 위하여 glycerol-3-phosphate dehydrogenase의 활성도로 측정하였으며 분화전에 비하여 6배 이상 증가하였다.

분화 지방세포는 비만유전자를 발현하였으며 palmitate를 처치하여 비만유전자 발현 억제를 관찰하였으나 DHA를 처치해서는 비만유전자 발현이 감소되지 않았다. Myristate처치로 비만유전자 발현이 억제되는 경향이었으나 palmitate보다 억제 정도가 낮았다.

지방산합성효소의 발현은 비만유전자와 다르게 palmitate와 myristate에 의해서는 감소되지 않았으나 DHA에 의해서는 억제되었다.

이상의 결과를 요약하면 불포화지방산이 비만유전자의 발현감소없이 지방산합성효소발현을 억제하였으며 포화지방산이 지방산합성효소감소없이 비만유전자를 억제하였는데, 이러한 결과는 불포화지방산의 체지방 감소 효과와 포화지방산의 체지방 증가 효과를 지방세포의 유전자 발현의 차이로 설명할 수 있게 되었으며 포화지방산중에서는 탄소사슬의 길이가 길수록 지방합성을 증가시키는 방향으로 유전자 발현 조절이 일어남을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
2. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG: identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 1996;98(5):1101-6.
3. Girard J: Is leptin the link between obesity and insulin resistance? *Diabetes Metab* 1997; 23(Suppl 3):16-24.
4. Siegrist-Kaiser CA, Pauli V, Juge-Aubry CE, Boss O, Pernin A, Chin WW, Cusin I, et al.: Direct effects of leptin on brown and white adipose tissue. *J Clin Invest* 1997;100(11):2858-64.
5. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME: The biology of leptin: a review. *J Anim Sci* 1998;76(5):1405-20.
6. Timothy JK, Heller RS, Leech CA, Holz GG, Habener JF: Leptin suppression of insulin secretion by the activation of ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic β -cells. *Diabetes* 1997;46:1087-93.
7. Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA, Holz GG, Moritz W, Ricordi C, Habener JF: Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(2):670-6.
8. Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW: Adipocyte tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obes* 1998;22:1145-58.
9. Kim JB, Sarraf P, Wright M, Yao KM, Mueller E, Solanes G, Lowell BB, et al.: Nutritional

- and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP 1. *J Clin Invest* 1998;101(1):1-9.
10. Chen XL, Hausman DB, Dean RG, Hausman GJ: Hormonal regulation of leptin mRNA expression and preadipocyte recruitment and differentiation in porcine primary cultures of S-V cells. *Obes Res* 1998;6(2):164-72.
 11. Reul BA, Ongemba LN, Pottier AM, Henquin JC, Brichard SM: Insulin and insulin-like growth factor 1 antagonize the stimulation of ob gene expression by dexamethasone in cultured rat adipose tissue. *Biochem J* 1997;324(pt2):605-10.
 12. Yoshida T, Hayashi M, Monkawa T, Saruta T: Regulation of obese mRNA expression by hormonal factors in primary cultures of rat adipocytes. *Eur J Endocrinol* 1996;135(5):619-25.
 13. Rentsch J, Chiesi M: Regulation of ob gene mRNA in cultured adipocytes. *FEBS Letters* 1996;379:55-9.
 14. Hertzel AV, Bernlohr DA: Regulation of adipocyte gene expression by polyunsaturated fatty acids. *Mol Cell Biochem* 1998;188(1-2):33-9.
 15. Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L: A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature* 1998;393:684-8.
 16. Clarke SD, Jump D: Polyunsaturated fatty acids regulate lipogenic and peroxisomal gene expression by independent mechanisms. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;57(1):65-9.
 17. Rifkin H, Porte D: *Diabetes Mellitus*. 4th ed, Elsevier Science Publishing Co, New York, P457-9, 1991.
 18. 박소영, 김종연, 김용운, 도경오, 김석준, 이석강: 고지방식이 흰쥐에서 어유와 운동이 인슐린 저항성에 미치는 영향. 1998년 기초의학 학술대회 초록집 pp363-5, 1998.
 19. Fukuda H, Iritani N, Noguchi T: Transcriptional regulatory regions for expression of the rat fatty acid synthase. *FEBS Lett* 1997;406(3):243-8.
 20. Bernlohr DA, Coe NR, Simpson MA, Hertzel AV: Regulation of gene expression in adipose cells by polyunsaturated fatty acids. *Adv Exp Med Biol* 1997;422:145-56.
 21. Waters KM, Miller CW, Ntambi JM: Localization of a polyunsaturated fatty acid response region in stearoyl-CoA desaturase gene 1. *Biochim Biophys Acta* 1997;1349(1):33-42.
 22. Coleman RA, Bell RM: Selective changes in enzymes of the sn-glycerol 3-phosphate and dihydroxyacetone-phosphate pathways of triacylglycerol biosynthesis during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J Biol Chem* 1980;255(16):7681-7.
 23. Clarke SD, Turini M, Jump DB, Abraham S, Reedy M: Polyunsaturated fatty acid inhibition of fatty acid synthase transcription is independent of PPAR activation. *Z Ernährungswiss* 1998;37(Suppl 1):14-20.
 24. Raclot T, Groscolas R, Langin D, Ferre P: Site-specific regulation of gene expression by n-3 polyunsaturated fatty acids in rat white adipose tissues. *J Lipid Res* 1997;38(10):1963-72.
 25. Clandinin MT, Cheema S, Pehowich D, Field CJ: Effect of polyunsaturated fatty acids in obese mice. *Lipids* 1996;31(Suppl):S13-22.
 26. Luo J, Rizkalla SW, Boillot J, Alamowitch C, Chaib H, Bruzzo F, Desplanque N, et al.: Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids improve adipocyte insulin action and glucose metabolism in insulin-resistant rats: Relation to membrane fatty acids. *J Nutr* 1996;126(8):1951-8.
 27. Smith DR, Knabe DA, Smith SB: Depression

- of lipogenesis in swine adipose tissue by specific dietary fatty acids. *J Anim Sci* 1996; 74(5):975-83.
28. Stein DT, Stevenson BE, Chester MW, Basit M, Daniels MB, Turley SD, McGarry JD: The insulintropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation. *J Clin Invest* 1997;100(2):398-403.
29. Sessler AM, Ntambi JM: Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *J Nutr* 1998;128(6):923-6.
30. Fickova M, Hubert P, Cremel G, Leray C: Dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids rapidly modify fatty acid composition and insulin effects in rat adipocytes. *J Nutr* 1998;128(3):512-9.
31. Parrish CC, Myher JJ, Kuksis A, Angel A: Lipid structure of rat adipocyte plasma membranes following dietary lard and fish oil. *Biochim Biophys Acta* 1997;1323(2):253-62.
32. Niot I, Poirier H, Besnard P: Regulation of gene expression by fatty acids: special reference to fatty acid-binding protein (FABP). *Biochimie* 1997;79(2-3):129-33.
30. Fickova M, Hubert P, Cremel G, Leray C: