고지방 식이로 비만이 유도된 C57BL/6 마우스에서 식이 기간에 따른 비만 관련 지표 변화에 대한 연구

송미영

동국대학교 한의과대학 한방재활의학교실

The Study of the Changes of Obesity-Relating Biomarkers in High Fat Fed-Induced C57BL/6 Mice

Mi-Young Song

Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Dongguk University

Received: May 10, 2016

Revised: June 8, 2016

Accepted: June 9, 2016

Correspondence to: Mi-Young Song
Department of Rehabilitation Medicine
of Korean Medicine, College of Korean
Medicine, Dongguk University, 123
Dongdae-ro, Gyeongju 38066, Korea
Tel: +82-54-770-1264
Fax: +82-54-770-1256
E-mail: miyoungsong@dongguk.ac.kr

Copyright © 2016 by The Society of Korean
Medicine for Obesity Research

Objectives: The prevalence of obesity continues rise and obesity and metabolic syndrome is a major problem in global health care. Animal models are used in the drug discovery of novel treatment for obesity. One of common models of obesity is a high fat diet induced obesity in a C57BL/6 mouse, and the development of obesity and glucose tolerance in mouse model is different according to period of diet. Therefore, this study was performed to observe the development of obesity and glucose tolerance during a high fat diet (HFD).

Methods: Male C57BL/6 mice, 5 weeks of age, were fed on a standard chow diet as a normal diet (18 kcal% fat) or a HFD (60 kcal% fat) for up to 16 weeks. The various factors related with obesity and insulin resistance were measured at 8, 12, and 16 weeks.

Results: The weights of body and epididymal fat were gradually increased for 8~16 weeks, however the change of hyperglycaemia and glucose tolerance have shown different with that of body weight. Blood glucose, oral glucose tolerance and insulin tolerance were increased more clearly at week 12 and 16 than week 8. Lipid accumulation of liver and body temperature were also significantly increased at week 16, compared with normal group.

Conclusions: The developments of obesity and related factors were different by a HFD period in a C57BL/6 obese mice. This result suggests that the development of obesity with glucose tolerance and liver lipid may induce clearly by a HFD for 16 weeks.

Key Words: C57BL/6 mice, High fat diet, Obesity, Glucose tolerance test

서론

전 세계적으로 비만 인구는 지속적으로 증가하는 추세이며, 국내에서도 성인 인구의 1/3 이상이 비만인 것으로 나타나고 있다¹⁾. 비만은 에너지 섭취와 에너지 소비의 불균형으로 체지방이 과잉 축적되어 생기는 질환으로, 2형 당뇨, 고혈압, 고지혈증을 포함하는 대사증후군으로 연결된다. 인슐린저항성은 비만과 관련한 대사증후군의 발생의 핵심인자로, 비만 치료에 있어서 비만 및 인슐린저항성의 동시 개

선이 필수적이다^{2,3)}.

비만 및 대사증후군의 병리기전 연구 및 항비만 약물의 효력 평가를 위해서 햄스터(hamster), 랫트(rat), 마우스(mouse) 등의 설치류를 이용한 동물 모델을 일반적으로 사용하고 있다⁴⁾. 동물에서 비만을 유발하는 방법은 크게 유전형질 변이 유무에 따라서 나눌 수 있는데, 유전형질 변이를 갖지 않는 동물모델에는 식이 유도, 호르몬 변화 유도 방법 등이 있으며, 유전형질 변이 동물모델에는 ob/ob 마우스, db/db 마우스, OLETF (otsuka long-evans tokushima

fatty) 랫트 등이 사용되고 있다⁵⁾. 이들 중 유전형질 변이가 없는 정상 상태의 동물에게 고지방식이 등의 과밀도 식사를 제공하여 비만을 유도하는 diet induced obese (DIO) 모델은 사람이 비만해지는 경우와 매우 유사한 과정을 가진다는 장점이 있어 가장 보편적인 비만 모델로 사용되고 있다. 또한 이 모델은 식사 환경에 의해 유발되는 비만의 기전을 연구하기에 적합한 장점이 있다. 그러나 비만 유발을 위해 일정 식이 기간이 필요하고, 유전 형질에 의하여 유발된 동물 모델에 비해 비만도가 약할 수 있으며, 실험 조건에 따라 영향을 받을 수 있다는 단점이 있다⁴⁾. 한편, DIO 모델은 랫트 혹은 마우스의 계통별로 비만 유발 형태 차이가 나는데, 여러 계통 중 C57BL/6(B6) mouse를 이용한 DIO 모델이 비만뿐만 아니라 고인슐린혈증(hyperinsulemia), 고혈당증(hyperglycemia) 등 비만으로 인한 인체의 대사적 변화와 가장 유사한 형태를 나타내는 것으로 알려져 있어 비만 연구에 보편적으로 사용하고 있다⁶⁾.

주로 C57BL/6 마우스를 이용하는 DIO 모델은 고지방식이 유도 2주 후부터 체중증가가 나타나며, 16~20주에 정상식이 대비 20%~30% 이상의 체중증가가 나타나는 것으로 알려져 있고⁷⁾, 고혈당은 4주 후부터 발현되어 고인슐린혈증과 동반되어 유발이 진행되는 것으로 알려져 있다⁸⁾. 또한 고지방식이 16주가 경과하면 장간막 내 지방축적, 전체적인 지방량 증가, 당뇨병 및 고혈압과 같은 비만과 관련된 대사증후군 현상들이 명확하게 발현되는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 그러나 식이 기간에 따른 변화 양상을 보다 구체적으로 분석한 연구는 부족한 실정이다.

이에 본 연구에서는 가장 보편적인 비만 모델로서 C57BL/6 마우스를 이용한 DIO 모델에서 8~16주에 이르는 고지방식이 유도 기간에 비만, 고인슐린혈증, 고혈당증 및 비만과 관련된 지표들의 변화를 분석함으로써 고지방식이 기간에 따른 비만 유도의 차이 확인을 통해 향후 한약의 항비만 효능 평가를 위한 실험모델 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 비만유도

실험동물은 5주령 C57BL/6 수컷 마우스를 (주)샘타코바

이오코리아(Samtako Bio Korea, Osan, Korea)로부터 구입하였다. 동물사육실의 환경은 항온($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), 항습($50\% \pm 5\%$), 12시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 폴리카보네이트 사육상자에 1마리씩 분리하여 사육하였다. 본 동물실험은 동물실험 윤리준칙을 준수하며 수행되었다. 1주간 동물사육실 환경에 적응시킨 후, 정상식이군(normal diet, ND)과 고지방식이군(high fat diet, HFD)으로 군당 10마리씩 나누어 사육하였다. ND군의 사료는 엔비고사(Envigo, Alconbury Huntingdon, UK)의 2018S 사료를 사용하였고, HFD군의 사료는 60%의 지방을 함유하는 Research Diets사(New Brunswick, NJ, USA)의 D12492 사료를 사용하였다(Table 1).

2. 체중 및 식이섭취량 측정

사료 섭취량과 체중은 일주일에 1회씩 일정시간에 측정하였다.

3. 공복 혈당 측정

혈당치(blood glucose)는 주 1회 12시간 이상 절식 후 꼬리 정맥으로부터 혈액을 수집하여 혈당측정검사기(Accu-Check; Roche, Basel, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

4. 경구당부하검사(oral glucose tolerance test, OGTT) 및 인슐린 감수성 검사(insulin tolerance test, ITT)

내당능(glucose tolerance) 측정을 위해 OGTT, ITT 두 가지 방법을 사용하였다. OGTT는 8주, 12주, 16주에 모두 부검 1일 전에 마우스를 12시간 절식시킨 후 포도당 용액을 체중(kg)당 2 g씩 경구 투여하고 0, 15, 30, 60, 90, 120분에 꼬리 정맥 채혈을 통해 혈당측정검사기로 혈당을 측정하였다. 또한 ITT는 부검 3일 전에 마우스를 12시간 절식시킨 후 혈당을 측정하고, 5 unit/kg의 insulin을 피하투여하며,

Table 1. Composition of Normal (Chow) Diet and High Fat Diet

Ingredient	ND (%)	HFD (kcal%)
Fat	18	60
Protein	24	20
Carbohydrate	58	20
Total	100	100

ND: normal diet, HFD: high fat diet.

30분 후에 포도당(2 g/kg)을 복강투여한 후 15, 30, 45, 60, 90 및 120분에 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였다.

5. 혈액 및 조직 채취

고지방식이 유도 12주경과 16주경에 두 차례 실험을 실시하였다. 동물 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후, diethyl ether로 마취하여 심장에서 혈액 1 ml를 채취하였다. 이후 간, 췌장, 부고환지방 및 하퇴부 후부 골격근을 적출하였으며, 모든 조직은 생리식염수로 세척한 다음 여과지로 수분을 제거하여 무게를 측정하였다. 또한 간의 지질 침착 정도를 분석하기 위하여 간 조직을 10% formalin에 48시간 고정시킨 다음, paraffin wax로 포매한 후 4 μ m 두께로 절편을 제조하였다. 제조된 절편은 hematoxylin과 eosin (H&E; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)으로 이중염색시킨 다음 광학현미경(Leica DM 500; Leica, Wetzlar, Germany)으로 관찰하였다. 한편 채취한 혈액은 blood clotting을 위해 30분 이상 실온에서 방치한 후 고속원심분리기(Micro12; Hanil, Incheon, Korea)를 이용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리함으로써 혈장을 분리하였다. 장으로부터 인슐린의 농도는 mouse insulin ELISA kit (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA)를 사용하여 측정하였으며, 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC)과 중성지방(triglyceride, TG)의 농도를 각 측정용 키트(AM 202-K, AM 157S-K; HBi Bio. Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다.

6. 기초체온 측정

Thermocouple probe (Physitemp, Clifton, NJ, USA)를 이용하여, 매주 1회, 오후 3시에 체온계를 직장으로 1 cm 삽입하여 직장온도를 측정하는 방식을 통해 기초체온을 측정하였다.

7. 통계분석

각 실험 모든 측정값은 평균 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ standard deviation)로 표시하였고 통계적 분석은 GraphPad Prism program ver 5.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA)을 이용하여 Student's t-test로 대조군(ND군)과 실험군(HFD) 간의 차이를 분석하였으며, P값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 체중

체중은 8주, 12주, 16주 모두 ND군에 비해 HFD군에서 유의하게 식이 기간에 의존적으로 증가하였다. 8주에는 HFD군이 ND군 대비 36.7% 높았으며(ND군 27.0 $\pm$ 1.5 g, HFD군 36.9 $\pm$ 4.1 g, $P<0.001$), 12주에는 ND군보다 50.3% 상승하였다(ND군 28.3 $\pm$ 1.7 g, HFD군 42.5 $\pm$ 1.7 g, $P<0.001$). 또한 16주에는 ND군 31.1 $\pm$ 2.39 g 및 HFD군 46.5 $\pm$ 2.2 g으로 49.5%가 증가한 것으로 나타났다($P<0.001$) (Fig. 1A).

Fig. 1. Changes of body weight (A) and levels of fasting blood glucose (B) in ND and HFD group during at 8, 12, and 16 weeks, ND: normal diet, and HFD: high fat diet (n=5). *** $P<0.001$ when compared with the normal group, ** $P<0.01$.

2. 공복혈당

공복혈당에서도 체중증가와 유사하게 8주, 12주, 16주 모두 ND군보다 HFD군에서 유의하게 높은 것으로 측정되었으나, 기간별 상승도는 상이하게 나타났다. 즉, 8주에는 HFD군 132.0 ± 4.5 mg/dl로 공복혈당이 정상범위를 초과하였으며, 이는 ND군의 78.4 ± 6.7 mg/dl보다 68.0% 높은 수치였다($P < 0.01$). 12주에는 ND군 81.4 ± 8.8 mg/dl, HFD군 156.7 ± 8.3 mg/dl로 HFD군이 ND군에 비해 92.4% 상승하였으며($P < 0.001$), 16주에는 ND군 88.5 ± 8.3 mg/dl, HFD군 172.6 ± 5.0 mg/dl로 ND군보다 95.0% 높은 것으로 나타났다($P < 0.05$) (Fig. 1B).

3. OGTT 및 ITT

내당능장애는 OGTT와 ITT의 두 가지 방법을 통해 평가하였다(Fig. 2). 그 결과, 8주에는 OGTT와 ITT 모두 ND군과 HFD군 사이에 뚜렷한 차이가 없었으며, 12주에는 OGTT에는 HFD에서 뚜렷한 상승이 나타났으나, ITT에서는 혈당 감소 경향이 HFD군이 ND군과 유사하게 나타났다. 16주에는 HFD군에서 OGTT, ITT 모두 ND군 대비 유의하게 상승한 것으로 나타났다. OGTT 그래프에서 곡선하면적(area under the curve)을 비교했을 때 8주에는 ND군보다 HFD군이 24% (ND군 759.5 mg · min/dl, HFD군 942.4 mg · min/dl), 12주에는 78% (ND군 962 mg · min/dl, HFD군 $1,357$ mg · min/dl) 및 16주에는 105%

Fig. 2. Oral glucose tolerance tests (A) and insulin tolerance tests (B) were carried out in normal diet ■ and high fat diet (HFD) □, 8, 12, 16 weeks after the start of diet (n=5).

(ND군 699 mg · min/dl, HFD군 1,438 mg · min/dl) 높은 것으로 계산되었다.

4. 혈청 인슐린 및 혈중지질

혈청 내 인슐린과 지질의 농도를 고지방식이 12주와 16주에 각각 평가하였다. 그 결과, 인슐린은 12주 ND군 1.23 ± 0.31 ng/ml, HFD군 5.40 ± 0.25 ng/ml, 16주 ND군 1.32 ± 0.62 ng/ml, HFD군 5.74 ± 0.65 ng/ml로 12주와 16주에 모두 HFD군에서 유의하게 상승한 것으로 나타났다($P < 0.001$) (Fig. 3A). 꼬리정맥에서 혈당측정기로 혈당을 측정 한 것(Fig. 1B) 외에 희생된 동물의 혈청에서 혈당을 동시 측정하였으며, 인슐린의 증가 양상과 유의하게 나타났다 (Fig. 3B).

또한 혈중 TC는 12주(ND군 167.0 ± 13.6 mg/dl, HFD군 223.8 ± 21.7 mg/dl, $P < 0.01$)와 16주(ND군 225.9 ± 9.8 mg/dl,

HFD군 276.6 ± 27.0 mg/dl) 모두 ND군에 비해 HFD군에서 유의하게 높게 나타났으며($P < 0.05$), ND군에서 12주와 16주 사이 큰 폭으로 증가하였다(Fig. 3C). TG는 12주에 ND군 106.3 ± 7.0 mg/dl, HFD군 138.9 ± 3.7 mg/dl로 HFD군에서 ND군보다 유의하게 높았지만($P < 0.001$), 16주에는 ND군 256.7 ± 3.8 mg/dl, HFD군 257.9 ± 1.7 mg/dl로 두 군 모두 많이 상승하여 ND군과 HFD군 간의 유의한 차이가 없었다(Fig. 3D).

5. 장기무게

본 연구에서 간, 췌장, 부고환지방 조직을 적출하여 무게를 측정한 결과, 간 무게는 12주에는 ND군이 HFD군보다 유의하게 높은 것으로 측정되었으며($P < 0.05$), 16주에는 HFD군이 ND군보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 또한 췌장 무게는 12주, 16주 모두 유의한 차이가 없었으며, 부고환지

Fig. 3. Plasma insulin (A), glucose (B), total cholesterol (C) and triglyceride (D) were analyzed. ND: normal diet, HFD: high fat diet (n=5). *** $P < 0.001$ when compared with the normal diet group, ** $P < 0.01$, and * $P < 0.05$.

방 조직은 12주, 16주 모두 ND군과 비교했을 때 HFD군에서 유의하게 증가한 것으로 나타났다($P < 0.05$) (Table 2).

6. 간 조직 지질침착양상

고지방식이로 유도된 비만으로 인한 간조직의 지질 침착양상을 H&E 염색을 통해 비교하였다. 12주에는 HFD군의

지질침착이 경미하게 유발되었으며, 16주에는 보다 명확하게 유발된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

7. 기초체온 및 골격근량 비율

고지방식이 기간 별로 기초체온과 골격근 비율을 측정, 비교하였다. 그 결과 기초체온은 8주와 12주에는 정상군과

Table 2. Differences of Organ Weights between ND and HFD Group at 12 and 16 Weeks

Organ weight	12 wk		16 wk	
	ND	HFD	ND	HFD
Liver (g)	$1.71 \pm 0.03^*$	1.44 ± 0.11	0.88 ± 0.06	$1.11 \pm 0.15^*$
Pancrease (g)	0.24 ± 0.02	0.25 ± 0.09	0.25 ± 0.09	0.21 ± 0.06
Epididymal fat (g)	$0.27 \pm 0.02^*$	0.51 ± 0.06	0.29 ± 0.13	$0.56 \pm 0.02^*$

Values are presented as mean $\pm$ standard deviation ($n=5$). ND: normal diet, HFD: high fat diet. * $P < 0.05$ when compared with the normal diet group.

Fig. 4. Histological changes of liver tissue were analyzed with hematoxylin and eosin (H&E, $\times 100$). ND: normal group, HFD: high fat diet group.

Fig. 5. (A) Basal body temperature were detected using rectal thermometer at 3 PM. (B) Muscle weight (MW; calf muscle) to body weight (BW) ratio were calculated. ND: normal diet, HFD: high fat diet ($n=5$). * $P < 0.05$ when compared with the normal diet group.

대조군 간에 유의한 체온 차이가 없었으나, 16주에는 HFD 군에서 유의하게($P<0.05$) 체온이 저하된 것으로 나타났다(Fig. 5A). 또한 Aguiar 등¹⁰⁾의 방법을 따라 골격근 비율을 측정된 결과, 12주, 16주 모두 HFD군이 ND군에 비해서 유의하게 감소한 것으로 나타났으며, 두 군 모두 12주보다 16주에서 각각 골격근 비율이 감소하는 양상을 나타냈다.

고찰 및 결론

본 연구에서는 5주령의 C57BL/6 마우스를 대상으로 8~16주간 고지방사료를 사용하여, 고지방식이 기간에 따른 비만 및 비만 관련 대사 지표의 변화를 관찰하였다. HFD군(60 %kcal fat)과 ND군(18 %kcal fat)에 따른 마우스의 체중 변화를 관찰한 결과 8, 12, 16주 섭식 기간별로 ND군에 비해서 HFD군에서 각 36.7%, 50.3% 및 49.5% 체중이 유의하게 증가한 것으로 나타났으며, 체중증가가 고지방식이 8주부터 16주에 걸쳐서 지속적으로 진행되었음을 알 수 있었다.

한편 비만으로 인한 2형 당뇨병 발생과 관련하여 공복혈당, OGTT, ITT 및 인슐린을 측정하여 발생 정도를 평가하였다. 공복혈당은 ND군에 비해서 HFD군이 8주 68.0%, 12주 92.4% 및 16주 95.0%가 상승하여, 12주부터 ND군과의 차이가 두드러지는 것으로 나타났다. 또한 비만으로 인한 내당능장애를 평가하기 위하여 OGTT와 ITT를 측정한 결과, 두 항목 모두 8주경에는 두 군 간의 뚜렷한 차이가 없었으며, 16주에는 두 항목 모두 ND군과 HFD군 간의 뚜렷한 차이가 나타났다. 인슐린 수치는 12주와 16주에 2회 측정하였는데, 두 기간 모두 HFD군에서 유의하게 상승한 것으로 나타났다. 이상을 통해 공복혈당은 고지방식이 8주부터 유의하게 증가하였지만, 내당능장애는 8주에는 미약한 것으로 나타났으며, 12주에서 16주로 진행할수록 내당능장애가 진행하여, 16주에 가장 뚜렷하게 내당능장애가 유발된 것으로 나타났다. 본 연구와 동일한 조성의 고지방 식이를 사용한 Williams 등¹¹⁾의 연구에서도 고지방식이 12주에서 16주 사이에 OGTT 변화가 급격히 증가하는 것으로 나타난 바 있어 기존 연구 결과와 일치하는 내용이다.

지질대사와 관련하여 혈중 TC 및 TG를 12주와 16주에 각각 측정하였는데, TC는 12주, 16주 모두 ND군에 비해서 HFD군에서 유의하게 증가하였으나, 중성지방은 12주에는

HFD군이 유의하게 상승하였으나, 16주에는 두 군 간의 유의한 차이가 없었다. 동일한 조성의 사료로 16주간 실험한 타 연구¹²⁾에서 혈중 TG 및 TC 수치에서 ND군과 HFD군과의 차이가 없는 것으로 발표된 바 있으므로, 혈중 지질의 유발 양상에 대해서는 보다 연구가 필요할 것으로 생각된다.

고지방식이 유도 동물모델을 사용한 이전 연구들에서 백색지방 조직을 대표하는 부고환지방 조직의 무게가 유의하게 증가하며, 간, 신장을 비롯한 기타 기관은 식이 유도 기간 및 방법에 따라 양상이 상이하게 나타난 바 있다^{13,14)}. 본 연구에서 부고환지방, 췌장, 간 등을 적출하여 12주와 16주에 각각 무게를 비교하였는데, 부고환지방 조직은 12주와 16주 모두 HFD군에서 유의하게 증가한 것으로 나타났으며 이를 통해 대표적인 백색지방 조직으로 적출이 비교적 용이한 부고환지방 조직에 비만 동물 모델에서 중요한 지표임을 재차 확인할 수 있었다. 췌장 무게는 기간별로 두 군 간의 차이가 없었다. 간 무게는 12주에는 ND군이 HFD군보다 유의하게 높았으나, 16주에는 HFD군이 ND군보다 유의하게 높았다. 비만으로 간 조직의 지방축적이 증가하면서 간의 무게가 증가한 것으로 알려져 있는데¹⁴⁾, 본 연구에서 16주에 유의한 차이를 확인할 수 있었다.

또한 비만으로 인한 간조직의 지질 침착 양상을 H&E 염색법을 통해 비교하였다. ND군과 비교하였을 때, 16주에는 HFD군이 지방구의 크기 및 개수가 현저하게 증가하여 비만으로 유도된 지방간의 형태가 나타났으나, 12주에는 지질침착이 경미한 것으로 나타났다. 이는 앞선 간무게의 증가 양상과도 일치하는 결과로 비만으로 인한 지방간 변화는 12주보다 16주에 보다 명확하게 유발되는 것을 알 수 있었다.

기초체온의 변화는 에너지 대사율의 변화와 유의한 관계가 있는 것으로 알려져 있으며, 여러 동물모델에서 비만도가 증가할수록 기초체온이 감소하고, 에너지 대사율도 감소하는 것으로 알려져 있다¹⁵⁻¹⁷⁾. 이에 대사율의 간접적인 평가를 위하여 고지방식이 기간별로 기초체온을 측정, 비교하였다. 그 결과 8주와 12주에는 정상군과 대조군 간에 유의한 체온 차이가 없었으나, 16주에는 HFD군에서 유의하게($P<0.05$) 체온이 저하된 것으로 나타났다(Fig. 5A).

한편, 골격근은 갈색지방과 함께 에너지 대사의 중요한 부분을 차지하며, 비만도가 증가할수록 골격근 비율이 감소하며, 이는 신체 운동 기능 감소, 인슐린저항성 증가, 에너

지 대사를 감소 등과 연관된 것으로 알려져 있다^{10,18,19)}. 본 연구에서 골격근 비율을 측정한 결과, 12주, 16주 모두 HFD군이 ND군에 비해서 유의하게 감소한 것으로 나타났으며, 두 군 모두 12주보다 16주에서 각각 골격근 비율이 감소하는 양상을 나타냈다. 이상을 통해 기초체온의 저하는 16주에 유의하게 나타났고, 골격근 비율의 감소는 12주와 16주에 모두 유의하게 발현됨을 알 수 있었다.

이상과 같이 고지방식이를 8주, 12주, 16주 동안 C57BL/6 마우스에 실시하여 비만을 유도하면서 비만관련 대사적 변화를 기간별로 측정한 결과, 체중증가 및 부고환 지방 무게는 식이 기간이 경과할수록 정상군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 혈당의 증가는 8주부터 나타났지만, 당 내성의 발현은 12주에서 시작되어 16주에 보다 명확하게 유도됨을 알 수 있었다. 또한 간 조직의 지질 축적, 기초체온 저하 역시 12주보다 16주에 보다 뚜렷하게 유발됨을 확인하였다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (No.2014R1A1A1003758).

References

1. Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea National Health and Nutrition Examination Survey [Internet]. Cheongju: Korea Centers for Disease Control and Prevention; [cited 2016 May 9]. Available from: <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/index.do>.
2. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet*. 2005 ; 366(9442) : 1197-209.
3. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000 ; 106(4) : 473-81.
4. Jang SY. Guideline of herbal drug products for obesity treatment. Osong : Korea Food and Drug Administration. 2008 : 1-36.
5. Lutz TA, Woods SC. Overview of animal models of obesity. *Protoc Pharmacol*. 2012 ; 5(61) : 1-22.
6. Collins S, Martin TL, Surwit RS, Robidoux J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav*. 2004 ; 81(2) : 243-8.
7. Speakman J, Hambly C, Mitchell S, Krol E. Animal models of obesity. *Obes Rev*. 2007 ; 8(Suppl 1) : 55-61.
8. Sato A, Kawano H, Notsu T, Ohta M, Nakakuki M, Mizuguchi K, et al. Antiobesity effect of eicosapentaenoic acid in high-fat/high-sucrose diet-induced obesity: importance of hepatic lipogenesis. *Diabetes*. 2010 ; 59(10) : 2495-504.
9. Wang CY, Liao JK. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance methods. *Mol Biol*. 2012 ; 821 : 421-33.
10. Aguiar AF, de Souza RW, Aguiar DH, Aguiar RC, Vechetti IJ Jr, Dal-Pai-Silva M. Creatine does not promote hypertrophy in skeletal muscle in supplemented compared with nonsupplemented rats subjected to a similar workload. *Nutr Res*. 2011 ; 31(8) : 652-7.
11. Williams LM, Campbell FM, Drew JE, Koch C, Hoggard N, Rees WD, et al. The development of diet-induced obesity and glucose intolerance in C57BL/6 mice on a high-fat diet consists of distinct phases. *PLoS One*. 2014 ; 9(8) : e106159.
12. Liu Y, Dang H, Li D, Pang W, Hammock BD, Zhu Y. Inhibition of soluble epoxide hydrolase attenuates high-fat-diet-induced hepatic steatosis by reduced systemic inflammatory status in mice. *PLoS One*. 2012 ; 7(6) : e39165.
13. Chang HP, Wang ML, Chan MH, Chiu YS, Chen YH. Antiobesity activities of indole-3-carbinol in high-fat-diet-induced obese mice. *Nutrition*. 2011 ; 27(4) : 463-70.
14. Han CT, Lee SH, Lim SB, Kong HS, Kim SH, Lee SK, et al. Studies on production of high fat diet induced obesity C57BL/6NCrjBgi mice. *Lab Anim Res*. 2006 ; 22(3) : 221-6.
15. Landsberg L, Young JB, Leonard WR, Linsenmeier RA, Turek FW. Is obesity associated with lower body temperatures? Core temperature: a forgotten variable in energy balance. *Metabolism*. 2009 ; 58(6) : 871-6.
16. Jürgens HS, Schürmann A, Kluge R, Ortmann S, Klaus S, Joost HG, et al. Hyperphagia, lower body temperature, and reduced running wheel activity precede development of morbid obesity in New Zealand obese mice. *Physiol Genom*. 2006 ; 25(2) : 234-41.
17. Heikens MJ, Gorbach AM, Eden HS, Savastano DM, Chen KY, Skarulis MC, et al. Core body temperature in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2011 ; 93(5) : 963-7.
18. Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, du Toit EF, Engelbrecht AM. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Exp Physiol*. 2011 ; 96(2) : 179-93.
19. Pompeani N, Rybalka E, Latchman H, Murphy RM, Croft K, Hayes A. Skeletal muscle atrophy in sedentary Zucker obese rats is not caused by calpain-mediated muscle damage or lipid peroxidation induced by oxidative stress. *J Negat Results Biomed*. 2014 ; 13 : 19.