

석사학위논문

# 제주 용암해수의 생물학적 기능성



2009년 2월

석사학위논문

# 제주 용암해수의 생물학적 기능성



김보연

2009년 2월

# 제주 용암해수의 생물학적 기능성

지도교수 : 박덕배

김 보 연

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함

2009년 2월

김보연의 의학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장	이 영 기	(甲)
위 원	강 희 경	(甲)
위 원	박 덕 배	(甲)

제주대학교 대학원

2009년 2월

**Metabolic Activity of Desalted  
Underground Seawater of Jeju**

**Bo-Youn Kim**

**(supervised by professor Deok-Bae Park)**

**A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement  
for the degree of master in medicine**

**2009. 2**

**This thesis has been examined and approved**



Deokyoung Kang

DeokBAE PARK

*Dec 29, 2008*

**Department of Medicine**

**Graduate School**

**Cheju National university**

## ABSTRACT

Underground seawater is found in the east area of volcanic Jeju island and is plenty of minerals which is deficient in surface seawater. Recently the deep seawater in the East sea has been focused to its application for the improvement of human health. The purpose of the study was to investigate the effect of the electro dialysed, desalted underground seawater (EDSW) of Jeju on the metabolic activities in cultured cells and experimental animals. Supplementation of EDSW to the culture medium (up to 20%, v/v) reduced the leakage of LDH, however, increased the MTT activity in CHO-IR cells. EDSW more stimulated insulin-induced glucose uptake and activities of ethanol-metabolizing enzymes like as ADH and ALDH. Moreover, we aimed to investigate the metabolic activities of EDSW in terms of lipid metabolism *in vitro* and *in vivo*. EDSW suppressed intracellular fat accumulation induced by supplementing palmitate in culture medium in HepG<sub>2</sub> cells. EDSW reduced the body weight gain and hepatic lipid accumulation induced by high calorie diet in mice. Activities of AMP-stimulated protein kinase (AMPK) and acetyl CoA carboxylase (ACC), enzymes modulating fat metabolism, were changed by EDSW in HepG<sub>2</sub> cells toward the suppression of intracellular lipid accumulation. Taken together, EDSW lead to beneficial metabolic activities including the enhancement of ethanol metabolism, and the suppression of fat accumulation within cells, and so on. These results suggest a strong bioavailability of EDSW to control lipid metabolism in order to alleviate hepatic steatosis.

Keyword : EDSW, ADH, ALDH, AMPK, ACC, steatosis

# 목 차

<b>A B S T R A C T</b> . . . . .	i
목 차 . . . . .	ii
<b>LIST OF TABLES</b> . . . . .	iv
<b>LIST OF FIGURES</b> . . . . .	v
<b>I. 서 론</b> . . . . .	<b>1</b>
<b>II. 재료 및 방법</b> . . . . .	<b>3</b>
1. 실험재료	
2. 세포배양	
3. 배양세포내 활성산소물질 (Reactive Oxygen Species, ROS)의 측정	
4. Lactic dehydrogenase (LDH) 활성도 측정	
5. MTT assay	
6. H33342염색	
7. 포도당농도 측정	
8. 전기영동 및 Western blot 분석	
9. Alcohol dehydrogenase (ADH) 및 aldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성도 측정	
10. Oil-red O 염색	
11. 간세포 중성지방량 측정	
12. 동물실험	
<b>III. 결 과</b> . . . . .	<b>8</b>

1. EDSW가 세포의 생존능에 미치는 영향
2. EDSW의 항산화활성
3. EDSW가 포도당 수송에 미치는 영향
4. EDSW가 인슐린-수용체 신호전달에 미치는 영향
5. EDSW가 알콜분해효소 활성화에 미치는 영향
6. EDSW가 지질대사에 미치는 영향

IV. 고찰	26
V. 참고문헌	30
VI. 적 요	33



## LIST OF TABLES

**Table 1.** Composition of underground seawater of Jeju.

**Table 2.** Composition of EDSW.



## LIST OF FIGURES

- Figure 1.** Formation of underground seawater of Jeju.
- Figure 2.** Regional distribution of underground seawater of Jeju.
- Figure 3.** Effect of ED-desalted magma seawater (EDSW) on the viability of HepG2 cells.
- Figure 4.** Effect of EDSW on the viability of CHO-IR cells.
- Figure 5.** Anti-oxidant activity of EDSW.
- Figure 6.** Effect of EDSW on the basal- or insulin-induced glucose utilization in L6 myocytes.
- Figure 7.** Effect of EDSW on the basal- or insulin-stimulated signaling pathways in L6 myocytes.
- Figure 8.** Effect of EDSW on ADH/ALDH activity.
- Figure 9.** Pathways of ethanol metabolism.
- Figure 10.** Regulation of glucose and lipid metabolism by AMPK-ACC.
- Figure 11.** Effect of EDSW on palmitate-induced intracellular lipid accumulation.
- Figure 12.** Effect of EDSW on activities of AMPK and ACC in HepG2 cells.
- Figure 13.** Effect of EDSW on high fat diet-induced hepatic fat accumulation in ICR mice.

## I. 서 론

인체는 70~80%가 물로 구성돼 있다. 인체에 물 구성 비율이 70%가 되지 않으면 신체 이상을 겪게 된다. 세계보건기구(WHO)도 최근의 보고서에서 "인간의 질병의 80%는 물과 관련이 있다"고 밝히고 있다. 이처럼 물은 인간과 떼어 수 없는 필수불가결의 요소임에 틀림없다. 최근, 오염의 증가와 더불어 상수도에 대한 불안이 커지면서 깨끗한 물을 마시려는 욕구가 높아졌으며, 최근에는 웰빙(well-being) 열풍과 생활 수준의 향상과 환경오염이 대두되면서 증류수처럼 너무 깨끗한 물에서 인체에 필요한 미네랄이 적절히 들어있는 건강한 물을 찾게되고 이에 따라 물이 갈증해소 역할로서만이 아닌 기능성 물에 대한 소재로서의 중요성이 점점 커지고 있다(문무일 외., 1990 ; 이창기, 1997 ; 권혁순 외., 1990). 이러한 기능성 물 중에서 최근 가장 주목받고 있는 해양심층수는 깊은 바닷속을 흐르는 특성에 따라 일체의 유기물이 없고, 10℃이하의 온도를 항상 유지하며 미네랄이 풍부하여 해양심층수가 죽상경화증 및 아토피성 피부염의 개선에도 효과가 있을(Miyamura M *et al.*, 2004 ; Kimata H *et al.*, 2002) 가능성이 제시되고 있어 산업적 소재로서의 중요성이 강조되고 있다.

제주도 동부지역은 용암이 굳어 형성된 화산암이 지표에서부터 해수면 아래 약 150m 내외까지 두텁게 분포하며, 본암층은 지하수를 저류시킬 수 있는 공극이 차지하는 비율이 높으며, 해안과 인접하여 해수와 약간의 지하수가 혼합된 대수층이 발달하고 있다(Fig. 1). 화산암 하부의 서귀포층은 저투수성 지층으로서 화산암층 내 두터운 용암해수 층을 떠받치고 있으며, 화산암층 내 유리질쇄설성 각력암과 용암류의 경계 및 절리대는 고염분의 염지하수(이하 제주용암해수)의 부존을 용이하게 하는 부존특성을 보이고 있다(Fig. 2).

제주 용암해수는 지하 70m 또는 그 이상의 깊이에 대량으로 매장되어 있어 세균, 바이러스, 유해 화학물질 등으로부터 완전히 격리되어 있는 반면 일반 해수보다 미네랄성분이 다량으로 함유되어 있다(Table. 1).

제주 용암해수는 해양심층수와 유사한 물리화학적 성질을 갖고 있으며 제주에서는 어류의 사육 및 종묘생산을 위해 용암해수를 이용해 왔으나 아직

그 기능적인 효과에 대해서는 연구가 진행되어 있지 않은 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 전기투석과정을 통해 고농도의 염분을 제거하고 미네랄 성분은 포함되어 있는 탈염수(electrodialyzed, desalted underground seawater, EDSW)를 재료로 하여 제주 용암해수의 생물학적 활성을 규명하고자 하였다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

제주 동부 한동지역에서 취수된 원수(용암해수)를, 0.1~1.0 미크론 막재질을 갖고 있어 5 미크론 이상의 부유물질 및 미생물을 제거하고 시간당 10톤을 여과할 수 있는 정밀여과장치를 거쳐 탱크에 저장하고, 10~500 Å 범위의 세공 크기의 한외여과막을 통해 초순수 입자의 크기가 1nm ~ 0.1 $\mu$ m 정도의 당류, 단백질, 고분자물질을 분리하는 (UF)처리 과정을 거쳤으며, 계속하여 역삼투압 및 전기투석과정을 거쳤다. 전기투석장치에 의해 1가양이온과 2가음이온이 약 80~90%가 제거되고 세포내에서 삼투압 스트레스를 일으키는 고농도의 염 성분이 제거된 반면 인체에 유용한 미네랄 성분이 잔존하고 있는 전기투석 탈염수(electrodialyzed desalted seawater, EDSW)를 실험재료로 사용하였다.

### 2. 세포배양

간암세포주인 HepG2 세포 및 간암세포주 기원이 아닌 포피세포 기원의 Chinese hamster ovary (CHO)세포, L6 근육세포들을 한국세포주은행(서울)로부터 공여받아 사용하였다. HepG2 세포와 L6세포는 100U/ml penicillin, 100 $\mu$ g/ml streptomycin, 10% 우태아혈청(fetal bovine serum)이 포함된 Dulbecco's Minimal Essential Medium (D-Mem) 액을, CHO 세포는 Ham's F-12 배양액을 사용하였고 5% CO<sub>2</sub> 및 37°C가 유지되는 배양기에서 배양하였다. 세포는 T75 배양용기에서 배양된 후 우태아혈청이 제거된 혈청결핍 (serum-free) 배양액에서 일정시간 동안 전배양(serum-starvation)하고 난 뒤 시료의 처리실험에 사용하였다.

### 3. 배양세포내 활성산소물질 (Reactive Oxygen Species, ROS)의 측정

ROS의 측정을 위해서 세포막 투과성 ROS 탐색자(probe)인 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (H<sub>2</sub>DCFDA)를 사용하여 세포질내 ROS의 생성과 축적을 측정하였다. 배양이 끝난 세포를 PBS로 세척한 후 1mM의 H<sub>2</sub>DCFDA를 함유한 phenol red-free D-Mem/F-12 배양액에서 37 °C, 15분 및 30분간 배양한

후 multiwell 형광측정기(Tecan, Austria)를 이용하여 485nm/535nm의 파장에서 형광의 강도를 측정하였다.

#### 4. Lactic dehydrogenase (LDH) 활성화 측정

세포에 대한 비특이적(nonspecific) 상해의 지표가 되는 LDH 활성도를 측정하여 시료가 배양세포에 독성을 나타내는 지를 조사하였다. 시료처리가 끝난 세포 배양액과 LDH assay agent (Takara, Japan)를 동량으로 섞어 10분 간 상온에서 반응시킨 뒤 492nm에서의 흡광도를 측정하였으며 이때 기저 흡광도는 배양에 사용되지 않은 배양액으로부터 측정하고 각 실험군의 흡광도로부터 기저흡광도를 제한 값을 실제 LDH 활성도로 계산하였다.

#### 5. MTT assay

MTT assay (Carmichael *et al.*, 1987)를 이용하여 세포 독성 실험을 하였다. 살아있는 세포 mitochondria의 탈수소 효소작용에 의하여 수용성의 노란색 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]가 환원되어 형성되는 자주색을 띠는 비수용성의 formazan을 microplate (ELISA) reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여, 생존하면서 대사적으로 왕성한 세포의 농도를 조사하였다. 각각의 세포 ( $2.5 \times 10^5$  cells/ml)를 96 well plate에 넣고 EDSW를 농도별로 처리하였다. 이를 1 ~ 2일간 배양한 다음 MTT (Sigma, MO, USA) 200  $\mu$ l (2 mg/ml)을 첨가하고 4시간 동안 반응 시킨 후 plate를 1000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상층액을 제거하였다. Isopropanol 150  $\mu$ l를 가하여 침전물을 용해시킨 후 microplate reader (Amersham Pharmacia Biotech, NY, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 증식 억제 정도를 조사하였다.

#### 6. H33342 염색

세포의 생존, 또는 세포사멸 여부를 조사하는 또다른 방법으로 세포내 DNA 특이적인 형광색소인 H33342를 최종농도가 1  $\mu$ g/ml이 되도록 배양중인 세포에 투

여하고 37°C에서 30분간 배양한 후 CoolSNAP-Pro color digital camera(Media Cybernetics, MD, USA)가 장착된 형광현미경 아래에서 관찰하였다. 세포핵의 응축도와 apoptotic body의 형성 여부를 관찰하여 세포의 생존 또는 세포사멸의 지표로 삼았다.

## 7. 포도당농도 측정

Sigma사의 glucose assay kit (Trinder reagent)을 사용하여 시료의 포도당 농도를 측정하였다.

## 8. 전기영동 및 Western blot 분석

배양이 끝난 세포를 직접 5%의 2-mercaptoethanol을 포함한 cell lysis buffer로 균질화시키고 70°C에서 10분간 가열하고 4-12%의 polyacrylamid gel에 전기영동하고 polyvinylidene difluoride(PVDF)에 흡착시켰다. PVDF membrane을 blocking buffer[Tris-buffered saline-0.1%(w/v) Tween-20](TBS-T)으로 상온에서 1시간동안 반응시키고 난 뒤 1차 항체(1:1000-1:5000)인 anti-Akt/PKB, anti-phospho AMPK, anti-phospho ACC (Upstate, Inc)가 들어있는 TBS-T에서 1시간(25°C) 또는 16시간(4°C)동안 반응시키고 TBS-T로 3회 세척 후 HRP-conjugated 2차 항체 anti-rabbit 또는 mouse IgG (Santa Cruz Biotechnology, Inc)와 상온에서 30분간 반응시킨 뒤 Enhanced chemiluminescence(ECL) 방법으로 각 band의 영상을 얻었다.

## 9. Alcohol dehydrogenase (ADH) 및 aldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성도 측정

ADH/ALDH 활성의 측정은 <식품의약품안전청>에서 발행한 <건강기능식품 시험법가이드, 2004>의 "숙취관련기능성시험"의 방법에 따라 실시하였다. 이때 효소원으로는 동결건조된 S9 rat liver homogenate (MOLTOX Co. USA)를 0.1% bovine serum albumin 용액 8 ml에 녹여 0.45µm 여과한 후 사용하였다. 각각의 반응용액에서 반응시킨 후 340nm 에서의 흡광도를 NADH의 생성지표로 삼았고 이때, 시료를 첨가하지 않은 것을 대조군으로 하였으며 시료의 활성은 대조군에

대한 상대활성으로 표시하였다.

## 10. Oil-red O 염색

HepG2 세포( $4 \times 10^5$  cells/well)를 24-well 배양접시에 접종하고 하룻밤 배양한 다음 serum-free 배지에 하룻밤 전배양하였다. Palmitate solution ( $500\mu\text{M}$ ) 과 EDSW를 24 시간 처리하였다. 24 시간이 지난 후 세포들을 인산 완충액 (phosphate-buffered saline, PBS)로 세척하고, 10% formaldehyde로 5 분간 고정 시켜준 후 다시 PBS로 세척하였다. 고정된 세포들은 1% Oil Red 용액(in isopropanol)을 증류수로 6:4의 비율로 의석한 염색용액에 15분간 염색한후 다시 PBS로 세척하고 난 뒤 hematoxylin염색하여 광학 현미경으로 관찰하였다.

## 11. 간세포 중성지방량 측정

HepG2 세포를 6-well ( $1 \times 10^6$  cells/well) 배양접시에 24시간 동안 배양한 후 serum-free 배지에 다시 24시간 전배양하였다. Palmitate( $500\mu\text{M}$ )와 EDSW를 48시간 처리하였다. 세포를 떼어낸 후 0.5% triton-X100 lysis buffer로 세포를 균질화 하고 BCA assay로 단백질의 양을 측정한 후 동량을 중성지방 측정용시액 (ASAN PHARM. CO.,LTD.)으로 10분 동안  $37^\circ\text{C}$ 에서 반응시키고 530nm에서 흡광도를 측정하였다. 중성지방 표준용액을 이용하여 위의 방법과 동일하게 발색시켜 흡광도를 측정한 후 시료의 흡광도 값을 다음 식에 대입하여 중성지방 농도를 구했다.

$$\text{중성지방 (mg/ml)} = \frac{\text{검체의 흡광도}}{\text{표준액의 흡광도}} \times 300$$

## 12. 동물실험

체중 변화 및 지질대사에 대한 EDSW의 효능을 알아보기 위하여 생후 3주령인 ICR mice 수컷을 사용하였다. 그룹당 7마리씩으로 하여 19주 동안 고지방 사료 (Research diet with 45%Kcal Fat)와 EDSW 10%를 음용하게 하였으며 고지방 사료 대조군 그룹은 EDSW 10% 대신 수돗물(tap water)을 음용케 하였다. 또한 대

조군 그룹은 일반 사료와 수돗물을 마시게 하였다. 본 실험기간 동안 접등은 4:00~ 21:00까지 하루에 17시간씩 일정하게 유지하였으며 물과 사료는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였고, 일주일에 한번씩 체중 변화를 확인하였다. 15주 후에 희생하여 간조직 및 혈액을 채취하였다. 간조직은 hematoxylin & eosin 조직염색을 시행하였고 혈액으로부터 혈장을 분리하여 생화학 분석을 시행하였다. 적출한 간조직을 10% neutral buffered formalin (pH 7.2)용액에 고정(fixation)시킨 뒤, 흐르는 물에 수세 (washing) 하여 조직 내에 남아있는 포르말린을 제거하였고, 60% 에탄올에서부터 무수에탄올까지 농도 상승순으로 각각 1시간씩 탈수 (dehydration) 하였다. 에탄올 : 자일렌 (xylene) (1 : 1)에서 1시간, 자일렌으로 1시간씩 2회 치환 (clearing) 하였고 파라핀 침투 (paraffin infiltration)과정을 거쳐, 동일 파라핀으로 블록을 회전형 박절기 (microtome, Leica Co.)를 사용하여 4~5 $\mu$ m 두께로 자르고, 슬라이드글라스 (slide glass) 위에 부착하여 자일렌으로 2회에 걸쳐 파라핀을 제거하고 무수에탄올에서부터 60% 에탄올까지 침수 (rehydration) 과정을 거친 후, 흐르는 물에 수세하였다. 수세과정을 거친 절편을 헤마톡실린 (hematoxylin)과 에오신 (eosin)으로 이중염색을 하고 canadabalsam을 이용하여 봉입 (mounting)한 후, 광학현미경으로 검경하고 사진촬영을 실시하였다.

### Ⅲ. 결 과

#### 1. EDSW가 세포의 생존능에 미치는 영향

EDSW로 세포배양액을 제조하고 0-20%(v/v) 비율로 혼합배양액을 구성한 뒤 HepG2 세포와 CHO-IR 세포의 생존능 변화에 미치는 영향을 관찰하였다(Fig. 1,2). HepG2세포는 MTT 실험 결과 48시간 후에 농도의존적으로 세포의 생존능이 감소하였고, 세포괴사의 생화학적 지표인 LDH분비 또한 증가하였다(Fig. 3A). 또한, 같은 실험 조건에서 세포핵 염색질을 형광염색 한 결과 10% EDSW가 혼합된 배양액에서 apoptotic body가 현저하게 증가하였다(Fig. 3B). 반면에, EDSW가 포함된 배양액을 정상배양액에 혼합하여 CHO-IR 세포를 배양하면 HepG2 세포에서와는 반대로 전체적으로 농도의존적으로 MTT활성이 증가하며 동시에 세포괴사성 LDH의 세포외 분비도 감소하여 세포독성이 감소됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 4A). 또한 세포사멸의 지표인 세포핵 염색질의 응축정도도 감소하였다(Fig 4B).

#### 2. EDSW의 항산화활성

EDSW가 포함된 배양액을 각각 0, 1.25, 2.5, 5, 10% 비율로 혼합하여 하루 동안 전배양한 뒤 배양세포에 과산화수소를 처리한 H<sub>2</sub>DCFDA로 세포내 활성산소를 형광표지하였다. HepG2, CHO-IR 두 세포주 모두에서 과산화수소의 처리는 급격한 활성산소종 농도의 증가를 일으켰는데 이때 배양액 내 EDSW의 존재는 이러한 활성산소종 농도의 증가를 억제하지 못하였다(Fig 5A). 또한 배양세포에 과산화수소를 처리하였을 때 발생하는 산화스트레스는 세포생존능의 저하 (또는 세포사멸의 증가)를 일으키는데, 이 경우에서도 EDSW는 두 세포주 모두에서 산화스트레스 세포사멸을 억제하지 못하였다(Fig 5B).

#### 3. EDSW가 L6 myocytes에서 포도당 수송에 미치는 영향

EDSW가 L6 myocytes에서 포도당 수송에 미치는 영향을 보기 위해, L6 myocytes를 혈청결핍배양액(serum-free medium)에 3시간동안 전배양하고 난 뒤

10% EDSW가 포함된 배양액에 30분간 전처리하고 인슐린 (100nM)을 후처리하고 24-48 시간 동안 처리하여 배양액내에 남아있는 포도당의 농도를 측정하므로써 최초 배양액에 포함되어 있던 포도당의 감소분을 세포내 이동량으로 환산하였다(Fig. 6). EDSW만 포함되어 있는 배양액 내에서의 포도당은 대조군에 비하여 24시간, 48시간 모두 약 40% 정도의 포도당 흡수 증가를 보였으며 이는 인슐린 단독처리에 따른 포도당 흡수 증가와도 유사한 수준이었다. 또한 인슐린에 의한 포도당 흡수 역시 EDSW에 의해 더욱 증가되었다.

#### 4. EDSW가 L6 myocytes에서 인슐린-수용체 신호전달에 미치는 영향

EDSW가 포도당흡수를 증가시키는 작용이 인슐린-수용체 신호전달체계에 영향을 미치므로써 매개되는 지, 아니면 관계없이 단독적으로 이루어지는 지를 규명하기 위하여 EDSW의 처리가 대표적인 인슐린-수용체 신호전달단백질들인 Akt/PKB 및 ERK 활성화에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 7). 혈청결핍배양액 (serum-free medium)에 3시간 전배양한 L6 myocytes에 EDSW가 포함(10%)된 배양액에 30분간 전처리 한 후 인슐린을 5분간 처리하여 활성화된 Akt/PKB 및 ERK 단백질에 대한 immunoblotting 분석을 시행하였다. EDSW의 단독처리도 Akt/PKB의 활성을 증가시키지는 못했으나 ERK의 활성화는 EDSW의 단독으로도 현저하게 증가되었다. 그러나 인슐린 (1nM 이하)에 의해 활성화된 Akt/PKB 활성화는 EDSW의 첨가로 현저하게 더욱 증가되었다.

#### 5. EDSW가 알콜분해효소 활성화에 미치는 영향

EDSW가 ADH 및 ALDH 효소활성을 조절하는지를 조사하였다. 이를 위하여 알콜분해활성에 유효한 효과를 갖고 있는 것으로 알려진 아스파라거스식물의 추출물 및 음료, 시중숙취해소음료를 동결건조한 후 이를 EDSW에 용해시킨 후 위의 두 효소활성에 미치는 효과를 비교하였다(Fig. 8). 대조군(무처리군)에 비해 EDSW 자체만으로도 ADH 및 ALDH 활성이 약 2배 증가하였으며 시중숙취음료 동결건조물 역시 EDSW가 첨가된 경우 ADH, ALDH 활성이 더욱 증가되었다.

## 6. EDSW가 지질대사에 미치는 영향

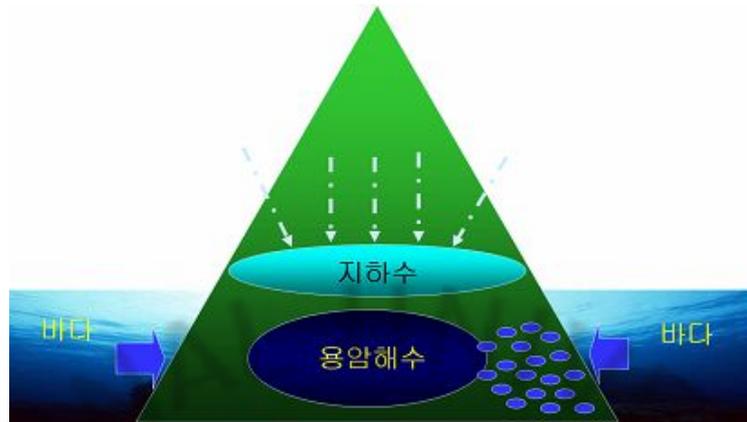
EDSW가 지질대사 활성화에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 지질대사 활성화의 중요한 두 활성인자인 AMP-stimulated protein kinase (AMPK) 와 acetyl-CoA carboxylase (ACC)의 활성을 측정하기 위해 HepG2 세포에 palmitate(0.5mM)을 24시간 처리하여 세포내 지질의 축적을 유도하였으며 여기에 EDSW(10%)를 병행처리하였다. 그 결과, palmitate에 의해 감소되었던 AMPK와 ACC의 활성이 EDSW에 의해 회복되었다(Fig. 11) 또한, Oil red 염색으로 세포내 지질을 염색했을 때 palmitate 처리로 증가된 세포내 지질의 양이 EDSW의 병행처리로 감소하였고(Fig. 12A), 세포내 중성지방의 양을 측정한 결과, palmitate에 의한 중성지방의 축적이 EDSW에 의해 억제됨을 확인하였다(Fig. 12B). 실험동물(ICR mice)에서도 고지방사료를 장기간(15주) 섭취하게 한 후 EDSW를 음용케하여 체중의 변화 및 간조직내 변화를 조사하였다. 그결과, 식이 15주간 체중의 변화는 고지방사료 섭취로 증가하였고 EDSW의 음용은 이러한 체중의 증가를 억제하였고(Fig. 13A), 간조직의 지질축적 정도는 EDSW의 음용에 의해 현저히 감소하였다(Fig. 13B).

**Table 1. Composition of underground seawater of Jeju**

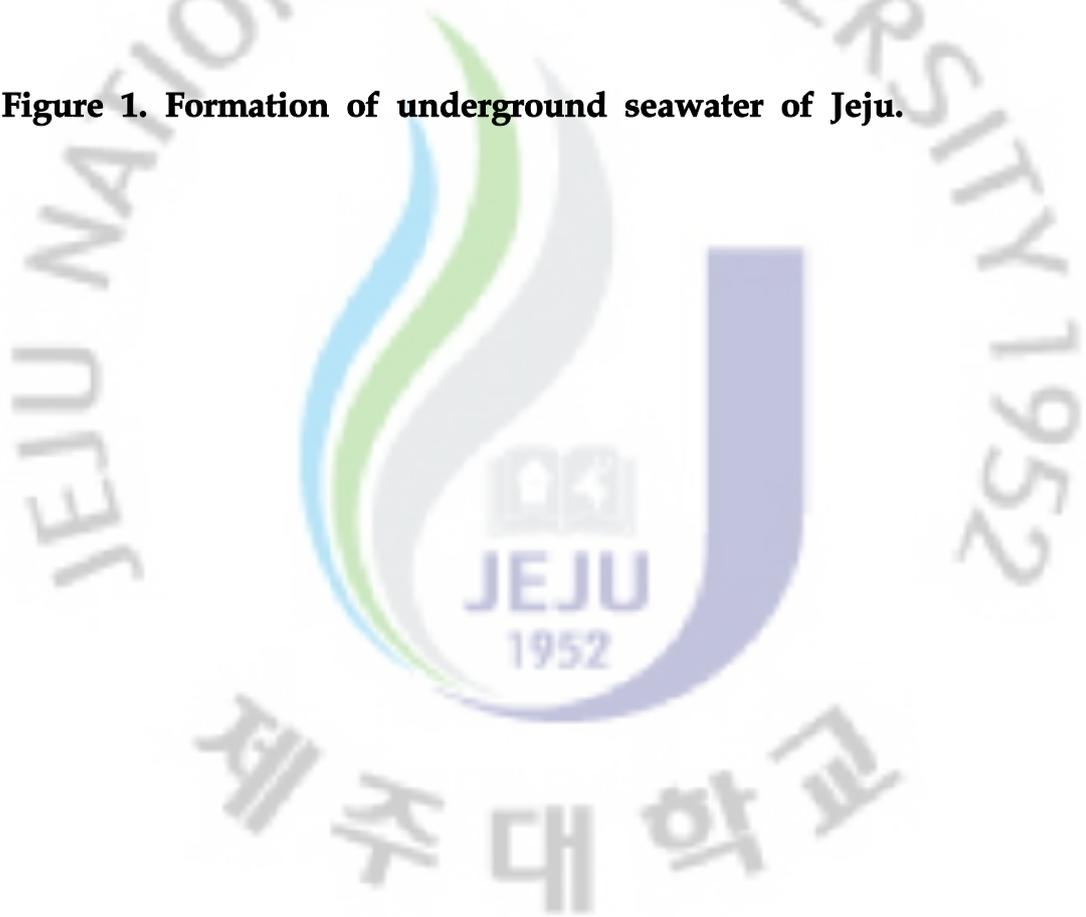
Sample 분석항목	용암해수 ('06. 11월 ~ '07. 6월)	일본심층수 (고지현)	삼다수	일반해수 (전세계 77개 해역 평균)
Na(나트륨)	10439	11000	7.2	10762
Mg(마그네슘)	1242	1270	2.8	1294
Ca(칼슘)	408	474	3.6	413
K(칼륨)	407	403	3.4	387
Cu(구리)	0.0088	0.02	-	0.00015
Mo(몰리브덴)	0.0096	0.00773	-	0.01
V(바나듐)	0.010	-	0.002	0.002
Ge(게르마늄)	0.0015	-	-	0.0000055
Se(셀레늄)	0.011	<0.005	-	0.00001
Br(브롬)	65.4	80.8	-	67
Sr(스트론튬)	7.22	8.03	-	7.80
SO42-(황산이온)	2210	2570	-	2712
Si(SiO2)(규소-규산염)	9.93	-	-	3.10
Zn(아연)	0.026	<0.005	-	0.00035
Fe(철)	0.015	<0.03	-	0.00003
Mn(망간)	0.012	<0.005	-	0.00002
Cl-(염소이온)	22228	19300	-	19353
B(보론)	3.98	4.69	-	4.5
Pb(납)	불검출	<0.005	불검출	0.0000027
F(불소)	0.70	1.2	-	1.3
As(비소)	0~0.010	<0.005	불검출	0.0012
Hg(수은)	불검출	<0.00005	불검출	0.000000014
CN-(시안)	불검출	<0.005	불검출	-
Cr(크롬)	불검출	-	-	0.00021
Cd(카드뮴)	불검출	<0.005	불검출	0.00007
Al(알루미늄)	불검출	-	-	0.00003
일반세균(cfu/ml)	0~89	≤30	-	-
대장균군(ND/50ml)	불검출	불검출	-	-
질산성질소(mg/L)	0.65	-	0.4	0.42
페놀류(mg/L)	불검출	<0.005	-	-
Cr6+(크롬6가이온)	불검출	<0.005	-	-
수소이온농도(pH)	7.4~7.5	7.8	-	7.9~8.4

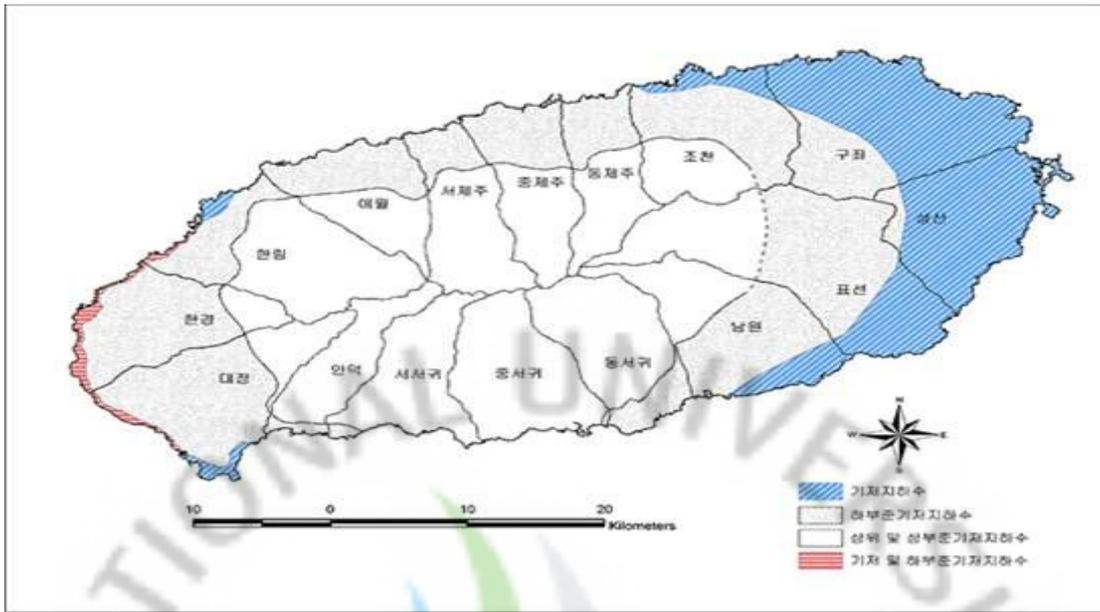
**Table 2. Composition of ED-desalted magma seawater.**

Sample 분석항목	원수	RO 탈염수		RO 염수		ED 미네랄수 (12m/S)		
		분석결과	제거율(%)	분석결과	농축율(%)	분석결과	제거율(%)	비고
Na(나트륨)	10800	0.33	≒100	12090	≒11	461.4	≒96	1가양이온
Mg(마그네슘)	1329	0.06	≒100	1497	≒12	1216	≒9	
Ca(칼슘)	407	0.05	≒100	477.2	≒15	321	≒22	
K(칼륨)	416	0.10	≒100	492.8	≒15	17.32	≒96	1가양이온
Cu(구리)	0.014	0.005	-	0.021	-	0.007	-	
Mo(몰리브덴)	0.011	0.001	-	0.013	-	0.003	-	
V(바나듐)	0.022	0.001	-	0.023	-	0.013	-	
Ge(게르마늄)	0.001	<0.001	-	0.0022	-	<0.001	-	
Se(셀레늄)	0.008	0.001	-	0.003	-	0.022	-	
Br(브롬)	61.2	0.008	≒100	66.7	≒10	11.8	≒81	1가음이온
Sr(스트론튬)	8.36	<0.001	≒100	9.46	≒12	7.28	≒13	
SO42-(황산이온)	1691	불검출	100	1983.85	≒15	584	≒65	2가음이온
Si(SiO2)(규소-규산염)	10.8	0.01이하	≒100	13.74	≒22	11.0	-	
Zn(아연)	0.016	0.013	-	0.020	-	0.010	-	
Fe(철)	0.010	0.01이하	-	0.005	-	0.022	-	
Mn(망간)	0.003	0.001	-	0.001	-	0.004	-	
Cl-(염소이온)	19422	0.89	≒100	22875.3	≒15	3630	≒82	1가음이온
B(보론)	4.97	0.23	≒95	5.34	≒7	5.34	-	
F(불소)	0.82	불검출	100	0.965	≒15	0.89	-	
경도	6500	6		7700		5000		
일반세균	불검출	불검출		불검출		불검출		
대장균군	불검출	불검출		불검출		불검출		
분원성대장균군	불검출	불검출		불검출		불검출		
수소이온농도	7.9	6.2		7.7		7.5		
암모니아성질소	불검출	불검출		불검출		불검출		
질산성질소	0.1	불검출		0.1		0.1		
Cr <sup>6+</sup> (6가크롬)	불검출	불검출		불검출		불검출		

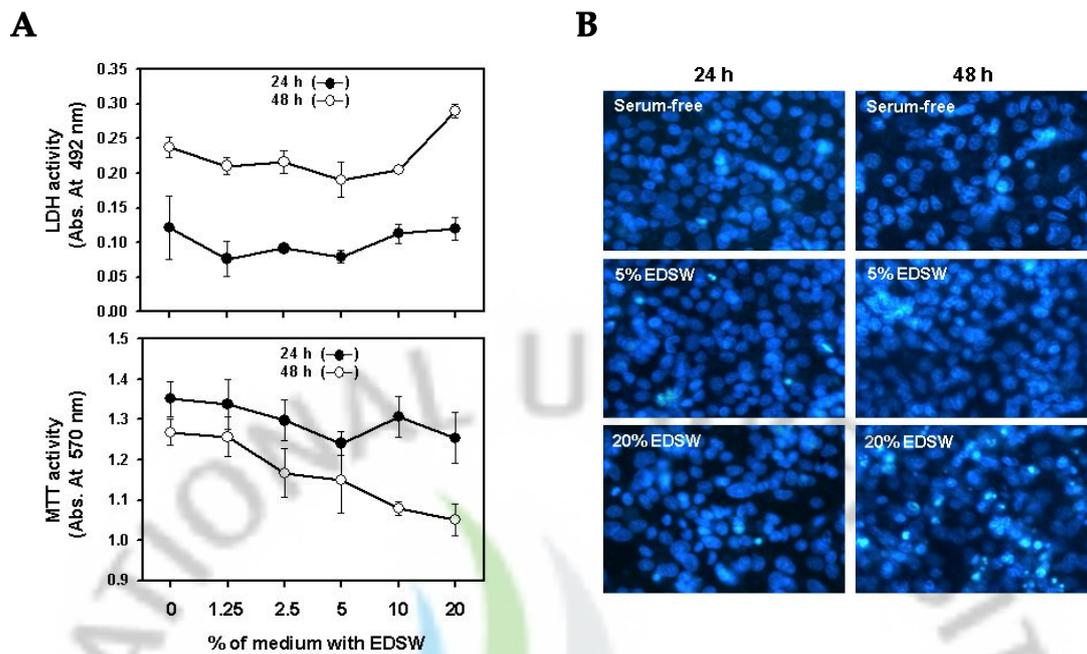


**Figure 1. Formation of underground seawater of Jeju.**



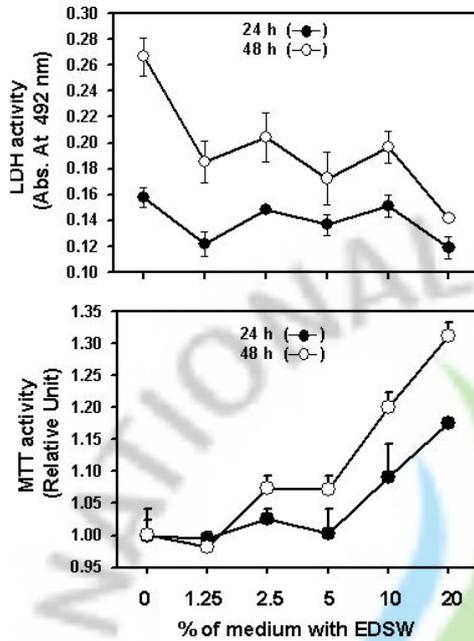


**Figure 2. Regional distribution of underground Seawater of Jeju.**

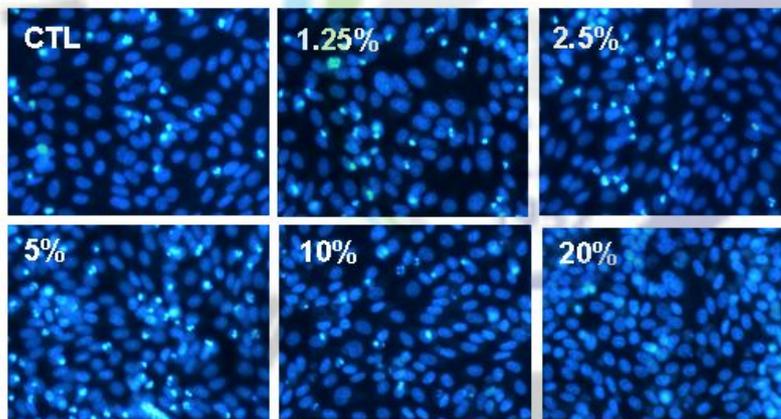


**Figure 3. Effects of ED-desalted magma seawater(EDSW) on the viability of HepG2 cells.** Serum-starved(3h) cells were further incubated for 24h to 48h with/without EDSW. Cells were stained with H33342, a cell membrane permeable DNA-specific fluorescent dye.

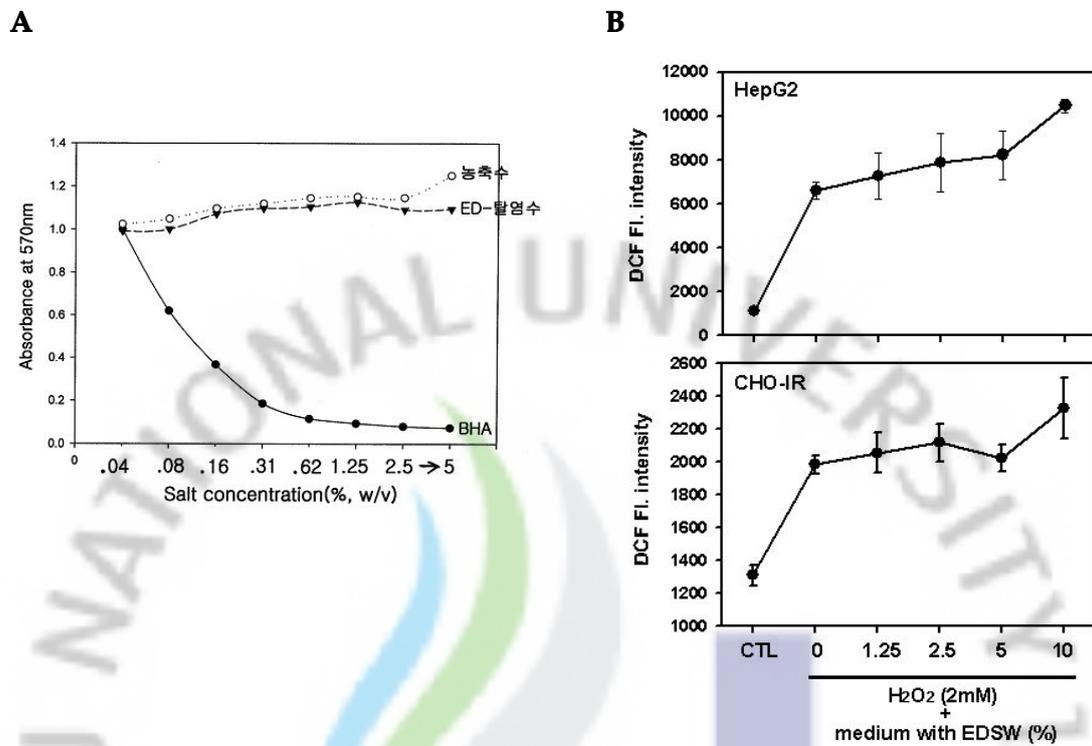
**A**



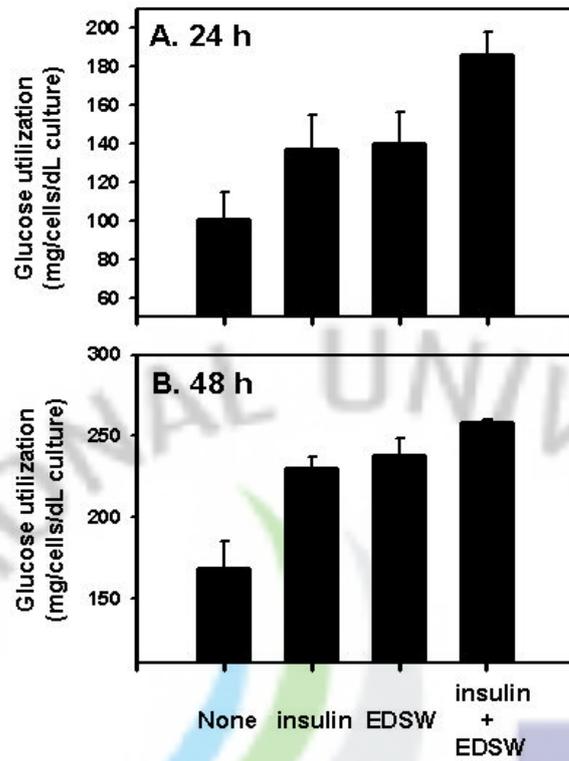
**B**



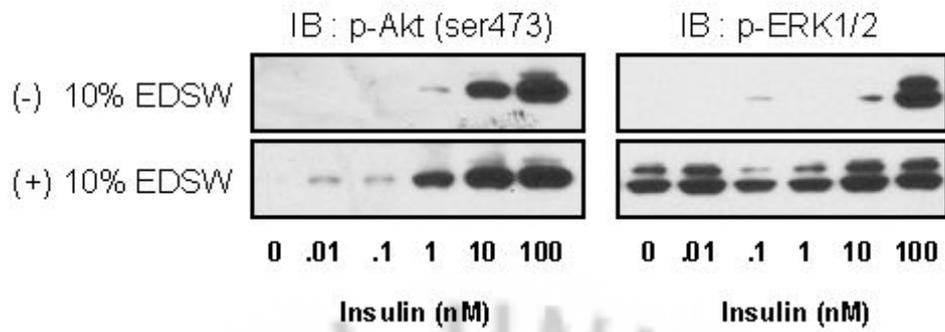
**Figure 4. Effects of EDSW on the viability of CHO-IR cells.** Serum starved(3h) cells were further incubated for 24h to 48h with/without EDSW. Cells were stained with H333342, a cell membrane permeable DNA-specific fluorescent dye.



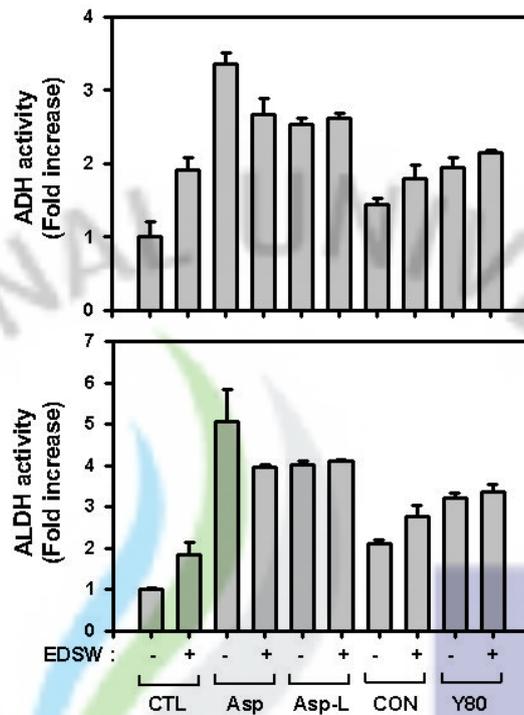
**Figure 5. Anti-oxidant activity of EDSW.** (A) DPPH radical scavenging activity of concentrated magma seawater and EDSW. (B) Effect of EDSW on ROS generation induced by hydrogen peroxide in HepG2 and CHO-IR cells.



**Figure 6. The Effect of EDSW on the basal- or insulin-induced glucose utilization in L6 myocytes.** Confluent cells were serum-starved for 3h, pretreated with EDSW (20%) for 30 min before insulin (100 nM) addition.



**Figure 7. Effect ED-desalted magmaseawater (EDSW) on the basal- or insulin-stimulated signaling pathways in L6 myocytes.** Confluent cells were serum-starved for 3 h, pretreated with EDSW (20%) for 30 min before insulin (0 - 100 nM) addition. Cells were lysed, separated on SDS-polyacrylamide gels, and immunoblotted as described in 'Materials and Methods'.



**Figure 8. Effect of EDSW on activities of ADH and ALDH. CTL, control; Asp, asparagus shoot extract; Asp-L, asparagus leaf-extract; CON, commercial drink A; Y80, commercial drink B.**

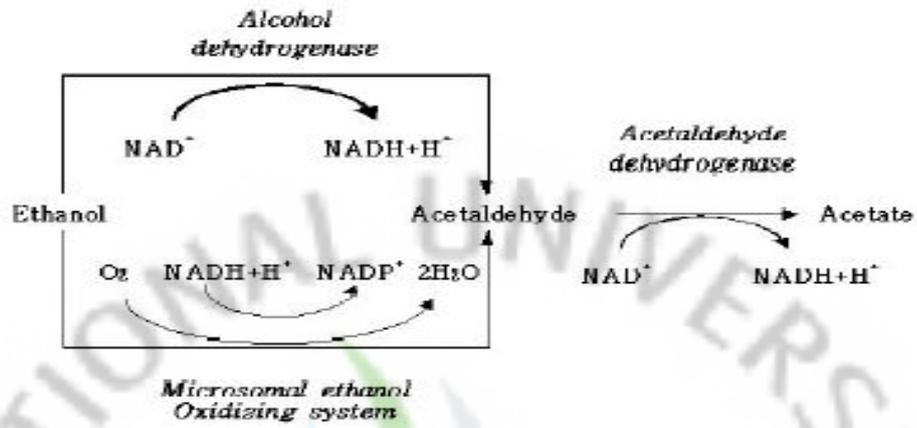
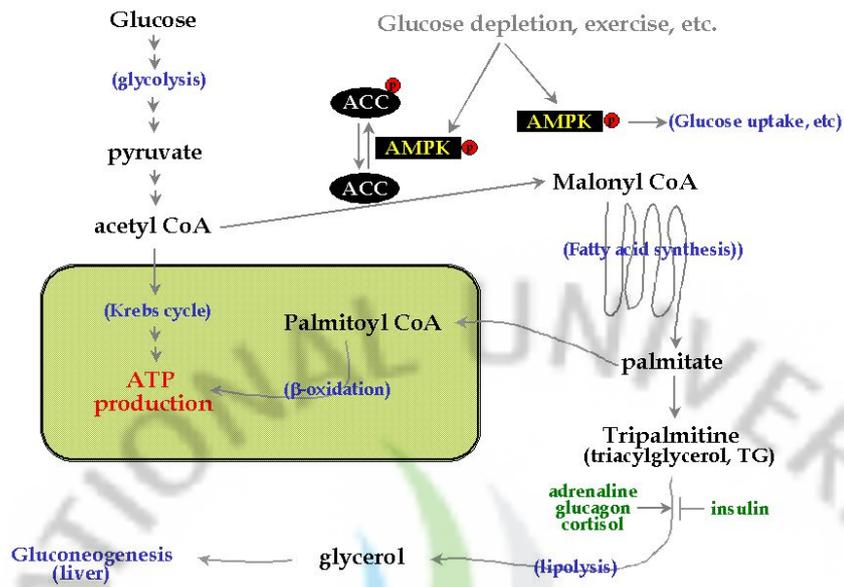
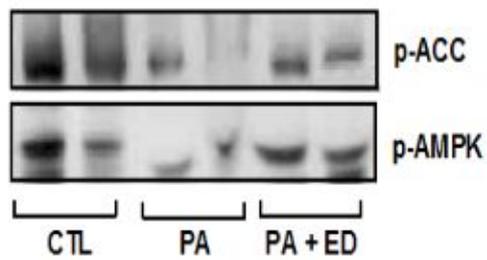


Figure 9. Pathways of ethanol metabolism (조재열 외., 1977)



**Figure 10. Regulation of glucose and lipid metabolism by AMPK-ACC.**

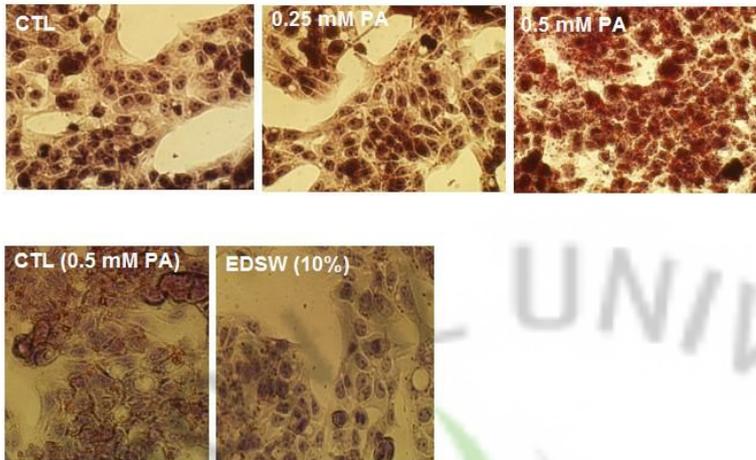


PA : palmitate (0.5 mM)  
 ED : electrodialized magma seawater (10%)

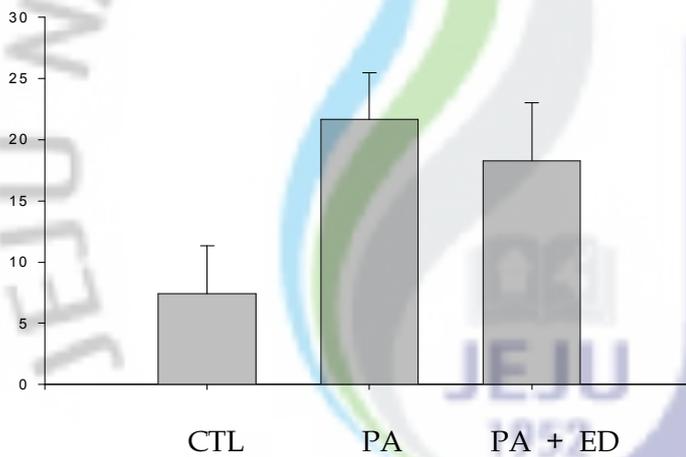
**Figure 11. Effect of EDSW on activities of AMPK and ACC in HepG2 cells.**

Confluent cells were serum-starved overnight in D-Mem, treated with EDSW (10%) and palmitate (0.5mM) for 24h. Cells were lysed, separated on SDS-polyacrylamide gels, and immunoblotted as described in 'Materials and Methods'.

**A**



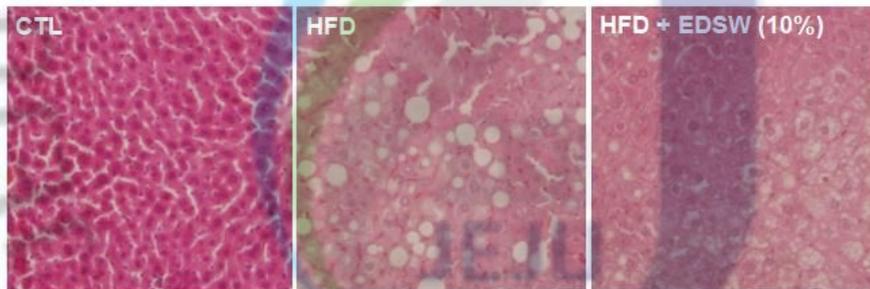
**B**



**Figure 12. Effect of EDSW on palmitate-induced intracellular lipid accumulation.** (A) Confluent cells were serum-starved overnight in D-Mem, treated with EDSW (10%) and palmitate (0.5mM) for 24h. Cells were stained with Oil-red O. (B) Confluent cells were serum-starved overnight in D-Mem, treated with EDSW (10%) and palmitate (0.5mM) for 48h. Cells were lysed, TG assay as described in 'Materials and Methods'.

**A**

**B**



**Figure 13. Effect of EDSW on high fat diet-induced hepatic fat accumulation ICR mice.** (A) Effect of EDSW on high-fat diet-induced body weight gain in mice. (B) Effect of EDSW on high-fat diet-induced hepatic fat accumulation in mice.

## IV. 고찰

본 연구에서는 제주 용암해수 원수를 가공공정을 거쳐 생산된 EDSW의 생물학적 기능성을 조사하였다. 먼저, EDSW가 세포의 생존능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 암세포주인 HepG2 cell과 정상세포주인 CHO-IR cell 두 종류의 세포에서 EDSW의 효과를 조사하였다. EDSW는 암세포주인 HepG2 cell에 있어서는 LDH를 증가시키고, MTT 활성은 감소시켰다(Fig. 3A). 이러한 결과는 EDSW-배양액의 성분이 급격하지는 않으나 완만하게 암세포의 성장을 억제할 가능성을 제시하나 대부분 항암성분 규명을 위한 실험에서 보여지는 것과 같은 유효한 항암활성을 기대하기는 어려울 것으로 사료되며 추후 보다 세밀한 분석이 요구된다. 반면, 정상세포주인 CHO-IR cell에서는 혈청미포함 배양액에서 배양시 영양 결핍성 세포사멸이 유도되는데, 흥미롭게도 EDSW 농도의존적으로 MTT활성이 증가하며(Fig. 4A), 세포사멸의 지표인 염색질의 응축정도도 감소하고(Fig. 4B), 세포괴사성 LDH의 세포외 분비도 감소하였다(Fig. 4A). 이러한 결과는 EDSW의 어떤 구성성분이 암세포에 대한 활성과는 별도로 정상세포에 대한 보호활성을 나타내는 것으로 판단할 수 있다. 세포에 대한 긍정적인 효과들은 상당부분 자체의 항산화활성에서 비롯되는 경우들이 많으므로(Ekambaram G *et al.*, 2008 ; Rayalam S *et al.*, 2007 ; Deiana M *et al.*, 2002) 본 실험에서도 ED탈염수의 항산화 활성을 측정하였지만 DPPH radical 소거능, H<sub>2</sub>DCFDA 두 실험에서 모두 항산화활성을 확인할 수 없었다(Fig. 5). 또한, EDSW가 포도당대사의 표적세포인 L6 근육세포에서 insulin과 EDSW를 단독으로 처리했을 때 각각 대조군에 비하여 40%정도의 포도당 흡수 증가를 보였으며 특히 병행 처리하였을 때 EDSW는 인슐린에 의한 포도당 흡수를 더욱 증가시켰다(Fig. 6). 이러한 결과는 EDSW 단독으로도 세포의 포도당 흡수를 촉진시키는 효과가 있으며 이러한 효과는 부분적으로 인슐린의 작용과는 별개로 이루어지고 있음을 시사한다. 이러한 결과를 바탕으로 EDSW가 포도당흡수를 증가시키는 작용이 인슐린-수용체 신호전달체계에 영향을 미치므로써 매개되는지, 아니면 단독적으로 이루어지는지를 규명하기 위하여 대표적인 인슐린-수용체 신호전달단백질인 Akt/PKB 및 , ERK 활성화에 미치

는 영향을 조사하였다(Cheatham B *et al.*, 1995 ; Kahn CR *et al.*, 1997). 그 결과 EDSW의 단독처리는 Akt/PKB의 활성을 증가시키지는 못했으나 ERK의 활성은 EDSW 단독으로도 현저하게 증가하였다(Fig. 7). ERK 활성은 주로 세포의 증식을 촉진하는 효과가 있는 것으로 생각되므로 (Ballif, *et al.*, 2001) EDSW 단독으로도 세포의 증식을 촉진하는 효과가 예상되고 이에 따라 증식된 세포수에 비례하여 인슐린비의존적으로 배양액내 포도당의 소모가 증가했을 것으로 추측된다. 그러나 저농도의 인슐린(1nM 이하)에 의해 활성화된 Akt/PKB 활성은 EDSW의 첨가로 현저하게 더욱 증가되는 반면 10nM 이상의 인슐린에 의해 활성화된 Akt/PKB 활성은 EDSW에 의해 더 이상은 증가되지 않는 것으로 보아 이러한 결과는 생리적 수준 이하의 농도환경에서 EDSW는 인슐린의 작용을 보완적으로 증가시켜 결과적으로 인슐린-의존적인 포도당수송을 촉진시키는 것으로 보여진다. 즉 EDSW의 포도당흡수 촉진효과는 인슐린수용체 신호전달을 매개(Akt/PKB를 통한)하는 인슐린-의존적 부분과, 세포의 성장을 촉진하므로써 전체적으로 세포에 의한 포도당 소모를 증가시키는 인슐린-비의존적 부분을 모두 포함하는 것으로 판단된다. 결과적으로 EDSW는 체내 인슐린의 결핍 또는 부족으로 인해 야기되는 포도당대사의 부전 (한국인 당뇨병의 중요한 측면)을 보완할 수 있는 가능성 생리활성소재로서의 가능성을 가지고 있다고 사료된다.

인체의 간 조직은 섭취한 알코올을 대사과정을 거쳐 분해하는 일차적인 부위로서 과도한 알코올섭취로 비롯되는 알코올성 세포독성을 완화하게 된다(Guyton *et al.*, 1986 ; Lieber CS *et al.*, 1986 ; Linder MC *et al.*, 1991). 이때 알코올분해효소(alcohol dehydrogenase, ADH) 및 알데히드분해효소(aldehyde dehydrogenase, ALDH) 두가지 효소가 중추적인 역할을 하며 이 과정에서 조효소(cofactor, 이 경우에는 NAD-NADH의 전환)들이 효소활성 조절에 중요한 역할을 한다(Fig. 9) (Lasari *et al.*, 1966). 본 실험에서는 EDSW가 알코올대사 과정에 영향을 미치는지 알아보기 위해 ADH, ALDH 활성을 측정하였는데, 대조군에 비해 EDSW 자체만으로도 ADH 및 ALDH 활성이 약 2배 증가하였으며 아스파라거스 식물체의 경우를 제외하고 시중숙취음료 동결건조물도 EDSW로 용해시킬 경우가 증류수로 용해시킨 경우에 비해 ADH, ALDH 활성을 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 8). 이러한 결과들은 EDSW의 구성성분이 알코올대사의 활성을 증가시키는데

기여하고 있음을 나타낸다. 최근 탄수화물 및 지질대사의 이상, 심혈관계통의 이상을 동시에 수반하는 대사성증후군(metabolic syndrome) 유병률이 크게 높아지고 있으며 (Eckel RH *et al.*, 2005 ; Magliano DJ *et al.*, 2006) 이는 주로 인슐린 저항성으로 인한 포도당대사의 이상, 지질대사의 부조로 인한 비만, 고지혈증에 기인하는 것으로 알려지고 있다(Reaven, 1998). 지질의 대사과정에는 AMP-stimulated protein kinase (AMPK) 및 acetyl-CoA carboxylase (ACC)의 두 가지 효소가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 즉, 활성화된(phosphorylated) AMPK는 인슐린의존적 또는 비의존적으로 포도당흡수를 촉진하며(Breen *et al.*, 2008) 동시에 acetyl CoA를 malonyl CoA로 전환시켜 결과적으로 중성지방의 축적을 증가시키는 효소인 ACC를 인산화시키므로써 활성을 억제시킨다(Fig. 10)(Carling *et al.*, 1987). 본 연구에서 EDSW가 ACC의 활성화에 미치는 영향을 조사하기 위해 포화지방산인 palmitate를 EDSW와 병행처리 하였을 때 EDSW의 영향으로 AMPK의 활성이 증가하고 반대로 ACC의 활성이 감소되었다(Fig. 11). 이는 EDSW가 지질의 축적을 조절하는 두 효소의 활성을 조절하여 지질의 축적을 억제함을 의미한다. 이러한 결과를 바탕으로 palmitate를 HepG2에 처리하거나 고지방식이를 투여한 실험동물에서 EDSW의 효능을 조사하였다. HepG2 cell에 palmitate를 단독 또는 EDSW와 병행처리하여 oil-red O 염색과 세포내 중성지방량을 측정하였을 때, palmitate 단독 처리군에 비해 중성지방의 축적이 EDSW에 의해 감소된것을 확인할 수 있었다(Fig. 10). 또한 실험동물(ICR mice)에서 고지방사료를 장기간(15주) 섭취하게 한 후 EDSW를 동시에 음용케 한 결과, 체중의 변화를 보았더니, 고지방사료 식이군에 비해 체중감소를 보였고, 특히 간조직의 지질축적 정도는 ED탈염수의 음용에 의해 현저히 감소하였다(Fig. 11). 이는 EDSW가 비알콜성 지방간 형성을 개선하는데 기여할 것으로 사료된다.

결론적으로, EDSW는 정상세포의 영양결핍성 손상을 억제하며, 암세포에서는 제한적인 세포독성을 나타내고 알콜분해 효소의 활성화에 기여하며, Akt/PKB의 활성을 증가시켜 포도당 수송을 촉진하는 것으로 사료된다. 또한 AMPK와 ACC의 활성을 조절함으로써 중성지질의 과도한 축적을 억제하므로 EDSW가 인체의 대사활성 이상과 관련된 질환들(당뇨병, 대사성 증후군 등)을 예방하거나 치유하

는데 도움이 될 수 있는 생리활성 소재로 활용될 수 있다는 가능성이 제시되었다.



## V. 참고문헌

권혁순 외 5인, 청주 근교 광천수 수질에 관한 연구, 충북보건환경연구원보 1권, 1990,

문무일 외 5인, 전북지역 약수 수질에 관한 조사연구, 전북보건환경연구원보. 1990,

이창기, 환경과 건강, 하서출판사, 1997

조재열, 김애라, 연재덕, 임승욱, 이재휘, 유은숙, 유영효, 박명환, 북어엑스 및 말  
들 함유 복합 조성물(DWP715)의 혈중 알코올 농도 저하, 항피로 및 항산화 효  
과. 한국식품과학회지. 29(1): 167-172 (1977)

A. C. guyton. Medical physiology, 7th deition. Philadelphia, W. B. Saunders.  
p. 838 (1986)

Ballif, B. A., and Blenis, J. (2001) Molecular mechanisms mediating  
mammalian mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase (MEK)-MAPK  
cell survival signals. Cell Growth Differ. 12, 397 - 408

Breen DM, Sanli T, Giacca A, Tsiani E. Stimulation of muscle cell glucose  
uptake by resveratrol through sirtuins and AMPK. Biochem Biophys Res  
Commun. 2008 Sep 12;374(1):117-22. Epub 2008 Jul 2.

Cheatham B, Kahn CR: Insulin action and insulin signalling network.  
Endocrinol Rew, 1995; 16: 117-29

D. Carling, V.A. Zammit and D.G. Hardie, A common bicyclic protein kinase cascade inactivates the regulatory enzyme of fatty acid and cholesterol biosynthesis, *FEBS Lett.* 223 (1987), pp. 217 - 222.

Deiana M, Dessi MA, Ke B, Liang YF, Higa T, Gilmour PS, Jen LS, Rahman I, Aruoma OI. The antioxidant cocktail effective microorganism X (EM-X) inhibits oxidant-induced interleukin-8 release and the peroxidation of phospholipids in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 Sep 6;296(5):1148-51

Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* 2005;365:1415-28

Ekambaram G, Rajendran P, Magesh V, Sakthisekaran D. Naringenin reduces tumor size and weight lost in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in rats. *Nutr Res.* 2008 Feb;28(2):106-12.

Kahn CR: Insulin receptors and insulin signaling in normal and disease states. In: *International Textbooks of Diabetes*, (2<sup>nd</sup> ed.) John Wiley & Sons Limited, Chichester, 1997; 437-67

Kimata H, Tai H, Nakagawa K, Yokoyama Y, Nakajima H, Ikegami Y. Improvement of skin symptoms and mineral imbalance by drinking deep sea water in patients with atopic eczema/dermatitis syndrome (AEDS). *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2002;45(2):83-4.

Lieber CS, LED MA. In *Progress in liver diseases*. Popper, H. and Schaffner, F. (Ed), Grune and Stratton, New York, p. 253 (1986)

Linder MC. Nutrition and metabolism of fats. In. Linder MC ed. Nutritional Biochemistry and Metabolism with Clinical Applications, 2nd ed. Elsevier, New York, Amsterdam, Oxford, 79-83 (1991)

Magliano DJ, Shaw JE, Zimmet PZ. How to best define the metabolic syndrome. *Ann Med.* 2006;38(1):34-41. Erratum in; *Ann Med.* 2006;38(2):160.

Miyamura M, Yoshioka S, Hamada A, Takuma D, Yokota J, Kusunose M, Kyotani S, Kawakita H, Odani K, Tsutsui Y, Nishioka Y. Difference between deep seawater and surface seawater in the preventive effect of atherosclerosis. *Biol Pharm Bull.* 2004 Nov;27(11):1784-7.

O.A. Iasari, C. S. Lieber, L. S. Gottlieb, The ultrastructure of fatty liver induced by prolonged ethanol ingestion. *Am. J. Pathology.* 48 535(1966)

Rayalam S, Della-Fera MA, Yang JY, Park HJ, Ambati S, Baile CA. Resveratrol potentiates genistein's antiadipogenic and proapoptotic effects in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr.* 2007 Dec;137(12):2668-73.

Reaven GM : Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607, 1988.

Wang, Q, Somwar, R., Bilan, P. J, Liu, Z, Jin, J., Woodgett, J. R. and Klip, A. (1999) Protein kinase B/Akt participates in GLUT4 translocation by insulin in L6 myoblasts. *Mol. Cell. Biol.* 19, 4008 - 4018.

## VI. 적 요

용암해수는 제주 동부 지역에 부존하고 있는 지하해수를 말하며 일반 표층해수와 비교할 때 미네랄 조성이 특이하다. 최근 일본 및 동해의 해양심층수에 대한 산업적 활용의 범위가 커지고 있으며 이에 따라 제주 고유의 용암해수의 활용에 대한 관심이 높아지고 있다. 본 연구에서는 전기투석과정을 통해 고농도의 염분을 제거하고 미네랄성분은 포함되어 있는 탈염수(electrodialyzed, desalted underground seawater, EDSW)를 재료로 하여 제주 용암해수의 생물학적 활성을 규명하고자 하였다. EDSW는 간암세포주인 HepG2 세포에 대해 농도의존적인 세포독성을 보였으나, 기원이 암세포주가 아닌 CHO-IR 세포에 대해서는 반대로 증식을 촉진하였다. 또한, EDSW 단독으로는 CHO-IR 세포와 L6 myocytes에서 기저 포도당의 흡수에 영향을 미치지 못하나 인슐린 의존적 포도당흡수를 부가적으로 더욱 증가시켰으며, 인슐린의존성 포도당수송에 중요한 역할을 하는 신호전달 단백질들 중 하나인 Akt/PKB의 활성 또한 향상시켰다. 알콜분해 과정의 중추적인 효소인 alcohol dehydrogenase(ADH) 및 aldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성도 EDSW에 의해 증진되었다. 또한 EDSW가 지질대사에 미치는 영향을 배양세포와 실험동물을 대상으로 조사하였다. HepG2 세포에 palmitate acid(PA)를 처리하여 지방간을 유도한 후 지질대사의 조절에 중요한 두가지 효소인 AMP-stimulated kinase (AMPK) 및 acetyl-CoA carboxylase (ACC) 활성을 측정된 결과 AMPK는 EDSW에 의해 활성이 증가하였고, ACC의 활성은 억제되므로서 궁극적으로 EDSW는 세포내 지질축적을 억제하는 데 기여하는 것으로 보여졌다. 또한, PA의 처리로 증가된 세포내 지질의 축적이 EDSW 처리에 의해 억제되는 것이 확인(Oil-Red 염색)되었고 세포내 중성지방 (Triglyceride, TG)의 양도 감소된 것을 확인하였다. 실험동물(생쥐, ICR)에게 고지방사료와 함께 EDSW를 동시 음용하게 하여 19주 동안 유지하였을 때, EDSW(10%, v/v)를 음용한 실험군에서 지질조성이 개선되었고, 간조직에서도 중성지방의 축적이 억제된 것을 확인하였다. 이러한 결과들로부터, EDSW는 포도당대사, 지질대사, 에탄올대사에 대한 개선활성을 나타내었고, 특히 간세포를 비

룻한 체내 지질대사 조절에 기여할 가능성을 제시하였다. 본 연구에서 보여진 EDSW의 생물학적 효능은 제주 용암해수를 기능성식품, 신의약품 개발의 기본소재로서 활용할 수 있을 것으로 기대된다.



## 감사의 글

어느덧 대학원 생활 2년을 마치며, 저에게도 이런 글을 쓸 수 있는 기회가 오게 되었습니다. 2년 대학원 생활동안 수업 준비, 다른 학생들과의 교류, 학회, 실험 등을 하면서 이런 일 저런 일 많은 일들이 있었던 것 같다는 생각이 들며 고마운 분들에게 글로나마 마음을 전하려고 합니다.

우선, 실력으로나 성품으로나 항상 본보기가 되어주시고, 역성 한번 안내시며, 항상 여유롭고 인자한 모습을 보여주신 박덕배 교수님...교수님 앞으로도 좋은 성과 거두시고, 건강 관리 잘하세요 ^^

그리고 지도교수님도 아니시지만 관심 가져주시고 따뜻하게 바라봐 주신 이영기 교수님, 강희경 교수님, 유은숙 교수님, 은수용 교수님, 조문제 교수님, 고영상 교수님, 현진원 교수님, 정영배 교수님 그 외 많은 의과대학 교수님들께도 깊이 감사드립니다.

지금도 함께하고 있거나 혹은 잠깐이나마 우리 실험실을 거쳐갔던 가영이, 지현이, 혜란이, 많은 조언을 해주는 최지강 선생님...실험실에서 거의 혼자인 저에게 같은 실험실 식구인 냥 대해준 약리학 교실의 혜자언니, 상철오빠, 재희언니, 경진오빠, 정일오빠, 혜진이...생화학 교실의 영미언니, 희경언니, 경아언니, 진영이...같이 결혼준비 하며 많은 수다를 떨었던 미생물학 교실의 정은언니...그리고 많아서 장점도 있고 단점도 있었던 우리 대학원 동기 은진이, 민경이, 은희, 선순이, 변윤영 선생님... 다들 지금쯤 여유롭겠죠? ^^

나의 20대의 시작에서부터 이제는 평생의 동반자가 된 원울오빠^^ 너무 고맙고 사랑하고 앞으로도 이쁘게 살자아~! 그리고 오빠를 통해 이제 가족이 된 시부모님...스트레스 안받게 하려고 많이 배려해주시고 이해해주셔서 정말 감사합니다.

마지막으로 아직 친정이란 말이 어색하지만 친정부모님, 언니, 동생들...시집 가는 날까지 짜증만 부리다 갔는데^^ 키워주셔서 감사드리고 잘 사는 모습으로 보답하고 효도할게요.

그리고 저를 아는 모든 사람들에게도 좋은 일만 있길 빌면서 이 글을 마칩니다.

2008년 12월. 김보연 올림

