설치류에서 식이로 유발된 비만모델

고관표*

제주대학교 의학전문대학원 내과학교실

Rodent Models of Diet-induced Obesity

Gwanpyo Koh*

Department of Internal Medicine, Jeju National University School of Medicine, Jeju, Korea

The prevalence of obesity is rapidly increasing worldwide, and its complications such as type 2 diabetes and cardiovascular disease are also increasing. To avoid long-term damage caused by obesity and its complications, we must develop preventive measures and therapeutic agents based on the pathophysiology of human obesity. However, genetically-modified rodents are mainly used for obesity research. This type of animal model is not very suitable for the study of human obesity because environmental factors such as excessive food intake and sedentary life-style are major causes of the recent explosion in human obesity. Therefore, diet-induced obesity rodent models are more appropriate for research in human obesity. Type of diet, animal species, duration of food intake, age, and sex can play a role in determining body weight and levels of glucose, insulin, triglycerides, and leptin. Animal housing conditions such as the number of animals per cage, ambient temperature, and length of the light-dark cycle also influence body weight and metabolic parameters. As a result, many influencing factors should be considered in the development of an appropriate diet-induced obesity rodent model for successful obesity research.

Key words: Diet-induced obesity, Obesity, Type 2 diabetes mellitus, Cardiovascular disease

서론

전 세계적으로 심혈관 및 대사질환이 지속적으로 증가되고 있으며, 이들의 대부분은 비만인에서 발생한다. 많은 인구기반연구(population-based study)들에서 지방조직의 과잉, 특히 과다한 복부지방은 관상동맥질환과 고혈압 등의 심혈관질환과 밀접한 관계가 있다고 나타났다. 또한 지방과잉은 이상지혈증, 인슐린저항성, 제2형당뇨병 등의 대사질환도 초래한다. 부적절한 식이와 게으른 생활방식 등의 환경인자들은 인간에서 비만을 초래하는 주요 인자이다.

비만이 질병을 초래하는 기전에 대한 연구는 주로 동물모델을 통해 이루어진다. 현재 다양한 동물모델이 존재하며, 주로 유전적 변이로 비만을 초래하는 설치류를 이용하고 있다. 그러나 비만 동물모델은 인간에서 비만이 초래되는 상황과 최대한 유사해야 한다. 따라서 구미가 당기는(palatable) 고열량 음식섭취를 통한 비만발생이 인간

비만연구를 위한 바람직한 모델이다.

본 종설의 목적은 설치류에서 특정 식이를 이용한 비만모델들의 이론적 배경을 알아보고, 이 모델들에서 발생하는 대사 및 혈관이상들을 조사하고자 함이다. 또한 실험동물의 체중 및 대사지표에 영향을 주는 인자들을 분석함으로써 식이유발성 비만모델을 선택하는데 있어서 고려해야 할 점들을 알아보고자 한다.

본론

1. 비만발생과 관련된 인자들

과체중과 비만 유병률의 전 세계적 증가는 가사 등의 일상생활과 외부활동에서 소요되는 에너지의 감소와 비례한다. 또한 미각을 자극하는 음식 공급의 증가도 비만인구의 증가와 밀접히 관련된다. 비만의 원인은 다양하고 복잡하다. 어떤 저자들은 인간의 유전체가 과

Corresponding author Gwanpyo Koh <http://orcid.org/0000-0002-6020-2777>
 Department of Internal Medicine, Jeju National University School of Medicine, 15 Aran 13-gil, Jeju 63241, Korea
 Tel +82-64-754-8163 Fax +82-64-717-1131 E-mail okdom@jejunu.ac.kr

Copyright © 2016 Korean Society for the Study of Obesity

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://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.

거 30년 동안 그다지 변하지 않았으므로, 환경이 비만의 일차 원인이라고 주장한다.¹ 세탁기 또는 식기세척기의 사용 같은 일상생활의 작은 변화와 자동차를 이용한 이동 등은 총 하루 에너지소모량을 상당히 감소시킨다. 활동량 감소로 인한 에너지 소모 감소 외에 음식 내 과도한 지방, 고열량 음식, 대용량 식품, 음식섭취 횟수 증가, 저렴하고 편리한 식품구입요건 등의 많은 환경적 요인들은 과도한 에너지섭취를 부추긴다.²

비만과 사회스트레스의 관계에 대한 연구들도 수행돼 왔다. 생쥐를 사회스트레스 모델에 노출시키면, 아직 그 기전은 모르지만 배고픔(hunger)과 관련된 호르몬인 ghrelin의 혈중수치가 증가된다. 증가된 ghrelin은 카테콜아민을 방출하는 뇌신경세포에 위치한 수용체에 작용하여 우울감을 감소시키고, 동시에 식욕을 항진시켜 체중이 증가된다.³

비만의 50-90%는 유전적 요인에 의해 결정되며, 환경은 단지 형질 발현(phenotypic expression)만을 결정한다는 가설을 뒷받침하는 연구들도 있다.⁴ 어쨌든 유전적 인자가 비만의 유일한 원인은 아니라는 것이 현재까지의 공통된 의견이다. 인간에서 leptin이나 식욕호르몬의 생산을 조절하는 유전자의 변이(mutation)에 의한 비만은 드물다. 그러나 음식섭취와 에너지소모를 조절하는 호르몬 생산과 관련된 유전자다형성(genetic polymorphism)은 상당수 보고되고 있다. 이러한 유전자다형성이 활동량이 적은 생활방식⁵ 그리고 과도한 탄수화물⁶ 및 포화지방⁷ 섭취 등의 환경 인자와 만나면 비만발생 위험도가 증가되는 것이다.

인간과 달리 실험실의 비만 동물모델들은 식욕 또는 신진대사와 관련된 호르몬과 신경펩티드의 분비를 조절하는 유전자의 조작에 의해 만들어 진다. 게다가 어떤 유전자가 변형되었느냐에 따라 비만이 일찍 생기거나 늦게 발생하며, 인슐린저항성, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증, 고혈압과 남성 불임 등의 질환 동반이 결정되기도 한다. 이러한 현상은 비만에 합병되는 질환들의 연구를 가능하게 한다. 현재 동물모델들은 비만과 동반질환들의 후보유전자와 기전을 찾기 위한 연구에 이용되고 있다. 후보유전자의 발굴과 그 기능에 대한 연구들로 인해 특정 질환을 앓고 있는 인간과 매우 유사한 유전자변형동물 개발이 가능해졌다.⁸ 향후 추가연구가 시행되고 기술이 더 발전되면, 몇 년 내보다 많은 연구자들이 이 유전자기법을 사용할 수 있을 것이다.

아직까지 유전자변형에 기반을 둔 비만 동물모델들은 유전자변이에 의한 경우가 드문 인간의 비만과는 많이 다르다. 지방세포에서 분비되는 호르몬인 leptin은 실험동물과 인간의 비만이 다름을 보여주는 좋은 예이다. Leptin은 neuropeptide Y 등의 식욕 관련 신경펩티드 형성을 억제하거나 α -melanocyte stimulating hormone, corticotropin-releasing hormone 그리고 중추신경계에서 amphetamine과 cocaine에 반응하여 생산되는 물질 등의 식욕억제 신경펩티드 발현을

증가시킴으로써 식욕을 감소시킨다.⁹ ob 유전자변이가 있는 ob/ob 생쥐는 leptin 수치가 매우 감소돼 있어 음식섭취가 증가되고 비만이 초래된다. 이 쥐에게 leptin을 투여하면 음식섭취와 체중이 감소한다.¹⁰ 그러나 비만한 인간에서는 마른 인간보다 leptin의 혈장수치가 5배 정도로 많이 상승돼 있어, 중추신경계가 leptin에 대한 저항성을 가지고 있는 것으로 추정된다.¹¹ 게다가 인간에게는 leptin을 투여하더라도 비만개선 효과는 나타나지 않는다. 이렇듯 실험동물과 인간에서 서로 반대되는 결과는 대사와 체중을 조절하는 기전이 생각보다 복잡함을 시사하며, 향후 종과 속이 다른 동물들을 대상으로 하는 추가 연구가 필요하다.¹²

2. 식이로 유발된 비만과 대사 및 혈관이상

고열량 또는 고지방식은 실험동물에서 비만을 유도하는 데 폭넓게 쓰여져 왔다. 이 모델은 과도한 고열량식이 섭취와 활동량 부족 등 환경적 요인으로 인한 인간의 비만과 유사하기 때문에 인간 비만의 실험연구에 특히 유용하다.¹³

고지방식은 비만과 직접 관련된다.¹⁴ 최근 붉은 살코기(red meat)에서 주로 존재하는 긴사슬 포화지방산은 시상하부 소교세포(microglia)의 Toll-like receptors (TLR2 and TLR4)에 결합하여 전염증성 시토카인 (TNF- α , IL-1 β , and IL-6) 생산을 자극함으로써 결국 식욕조절과 열생산에 관여하는 신경세포를 파괴한다고 보고되었다.¹⁵ 일부 연구자들은 고열량 또는 고지방식이 돼지나 Sprague-Dawley 쥐에서 비만을 유발하는 데 유용하다고 보고하였다.¹⁶⁻¹⁸

Wistar 쥐도 식이유발성 비만연구에 이용되며, 3개월간 고열량 및 고지방식을 먹이면 대조군에 비해 체중이 약 1.4배 증가된다고 보고되었다.¹⁹ 그러나 인슐린변화에 대해서는 상반된 결과를 보였다. 일부 연구들에서는 식이에 의해 인슐린치가 증가되었으나²⁰⁻²³, 다른 연구에서는 차이가 없었다.^{24,25} 혈중 포도당수치가 의미있게 증가된 연구는 많지 않았다.^{23,26} Wistar 쥐의 식이유발성 비만모델은 혈관내피세포 기능연구에도 이용되고 있으며, 혈중 중성지방과 superoxide anion이 증가되어 혈관내피세포에서 분비되는 중요한 혈관확장제인 nitric oxide의 생체이용률(bioavailability)을 감소시킨다. Wistar 쥐 비만모델을 이용한 일부 연구에서 지방과 설탕이 풍부한 식이를 3일 또는 12주간 섭취시킨 결과 장간막동맥에서 혈관내피세포를 매개로 하는 작용(cabarchol) 또는 혈관평활근에 대한 직접작용(sodium nitroprusside)을 통한 시간의존적 혈관확장이 유의하게 감소되었다.^{27,28} 비만이 혈관확장반응을 감소시키는 기전은 확실치 않으나 일부 저자들은 혈중 중성지방과 콜레스테롤(주로 LDL-C)이 증가되어 혈관내피세포를 손상시켜 nitric oxide 생산을 감소시킴으로써 고혈압과 혈전질환이 발생한다고 주장하였다.^{21,29}

Table 1. Effects of different types of diet on body weight and metabolic parameters in rodent models of diet-induced obesity

Reference	Sex	Initial weight (g)	Type of diet	Duration (week)	Weight change	Glucose	Insulin	Triglyceride	Leptin
Barnes et al. (2003) ²⁶	M	250-275	High-fat diet (soybean oil added)	12	↑	↑	↑	N/A	↑
Burneiko et al. (2006) ³⁰	M	180-200	High-calorie diet (peanuts, milk chocolate, and corn biscuits)	8	→	N/A	N/A	↑	N/A
De Schepper et al. (1998) ²²	M	200	Cafeteria diet (biscuits, salami, butter, cheese, and bacon)	20	↑	N/A	↑	N/A	↑
Estadella et al. (2004) ²⁴	M	N/A	High-calorie diet (peanuts, milk chocolate, and sugar cookies)	8	↑	→	→	↑	↑
Guerra et al. (2007) ³²	M	210-230	Cholesterol-rich diet (1% cholesterol+0.25% cholic acid added)	8	↑	N/A	N/A	↑	N/A
López et al. (2003) ²⁵	M	N/A	Cafeteria diet (pate, French fries, chocolate, bacon, and biscuits)	8	↑	→	→	→	↑
de Moraes et al. (2007) ²⁰	M	270-300	High-calorie diet (AIN93 plus sweetened condensed milk and sucrose)	8	↑	→	↑	↑	N/A
de Moraes et al. (2008) ²¹	M	295-310	High-calorie diet (AIN93 plus sweetened condensed milk and sucrose)	8	↑	↑	↑	↑	N/A
Naderali et al. (2001) ²⁷	F	200-210	High-calorie diet (sweetened condensed milk and sucrose)	12	↑	→	→	↑	↑
Naderali et al. (2003) ²⁸	M	180-200	High-calorie diet (sweetened condensed milk and sucrose)	15	↑	→	↑	↑	↑
Nascimento et al. (2008) ²³	M	105-120	High-calorie diet (peanuts, casein, soybean oil, chocolate+corn biscuits or chips or instant noodles+grated cheese or sweetened condensed milk+wafer biscuits)	14	↑	↑	↑	↑	↑
Da Silva et al. (2010) ¹⁹	M	N/A	High-calorie diet (corn starch, casein, sucrose, dextrin powder, lard, soybean oil, cellulose, minerals and vitamins mix, cystine, and choline)	12	↑	→	↑	N/A	N/A

M, male; F, female; N/A, not available; ↑, increase compared to controls; →, no difference compared to control.

3. 식이유발성 비만모델의 효율을 높이는 방법

식이유발성 비만모델의 효율을 높일려면 실험동물이 사육되는 주변환경을 잘 살펴야 한다. 특히 Wistar 쥐처럼 유전자변이가 없는 설치류에서는 더욱 그렇다. 쥐의 경우 우리(cage)당 사육되는 개체 수는 네 마리를 넘지 말아야 한다. 사육장의 기온이나 밤-낮 주기 중 밤 시간이 조금이라도 증가하면 비만이 촉진된다. 기온의 증가하면 동물은 체온을 일정하게 유지하기 위해 에너지소모를 감소시키므로 양의 에너지균형이 초래되어 체중이 증가하게 된다. 또한 설치류는 야행성 동물이므로 밤 시간이 길어지면 음식섭취 시간이 길어져 비만이 초래된다. 상당히 구미가 당기는 음식이거나, 음식이 우리 바닥의 그릇에 담겨있는 경우에 특히 그렇다.¹³

비만유도 시점의 동물연령도 체중증가에 영향을 끼친다. 어린 동물은 주로 지방을 제외한 체중이 증가되는 대사적 특징을 가지고 있기 때문에 식이유발성 비만실험을 위해서는 약 100일 정도의 나이든 동물이 바람직하다.¹³ 그러나 어린 동물에서 오랜 기간 고열량식이를 공급했을 때 대조군보다 체중이 증가했다는 연구도 존재한다.²⁰ 식이형태는 또 다른 체중증가의 결정인자이다. 따라서 유사한 체중과 나이에서 식이를 시작하더라도 식이형태에 따라 다른 결과를 초래하게 된다(Table 1).^{25,30,31}

결론

최근 전 세계적으로 비만이 폭발적으로 증가하게 된 주요 원인은 유전적 인자보다는 잘못된 식이섭취와 활동량감소 등의 환경적 인자로 봐야 한다. 따라서 유전적 변이에 의한 비만보다 식이유발성 비만

에 의한 설치류가 인간비만 연구를 위한 적합한 실험모델이다. 또한 식이유발성 비만모델은 비만으로 인한 합병증을 동반하므로 비만과 연관된 대사질환이나 심혈관질환 연구에도 유용하다.

식이유발성 비만 동물모델에서 식이형태나 사육환경과 관련된 여러 인자들은 체중증가와 대사지표들의 변화를 결정한다. 따라서 이런 인자들을 정확히 고려하여 동물모델을 결정하는 것은 성공적 비만연구의 필수조건이다.

요약

최근 전 세계적으로 비만인구가 폭발적으로 늘고 있으며, 비만의 합병증인 제2형당뇨병 등 대사질환과 동맥경화성 심혈관질환도 동반되어 증가하고 있다. 비만으로 인한 피해를 막기 위해서는 원인 및 병인에 근거한 대책과 치료법 개발이 필요하다. 현재 비만병인 연구를 위해 주로 사용되는 동물모델은 유전자변이에 의해 비만이 유발되는 설치류다. 그러나 인간 비만의 일차 원인은 부적절한 식이섭취와 활동량의 감소 등의 환경적 요인이므로, 인간 비만연구에 적합한 모델은 유전적변이가 아닌 고열량 및 고지방 식이섭취에 의한 비만 설치류라고 할 수 있다. 식이유발성 비만 설치류모델에 있어서 동물의 종, 식이형태, 섭취기간, 연령, 성별 등은 체중증가 및 혈당, 인슐린, 중성지방과 leptin의 혈중 수치에 영향을 미친다. 또한 우리(cage) 당 개체 수, 낮-밤 주기, 기온 등의 사육환경도 체중 및 대사지표에 영향을 준다. 따라서 비만연구를 성공적으로 수행하기 위해서는 이러한 여러 인자들을 고려하여 적절한 식이유발성 비만 설치류모델을 선택해야 한다.

중심단어: 식이유발성 비만, 비만, 제2형당뇨병, 심혈관질환

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- Jéquier E. Pathways to obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26 Suppl 2:S12-7.
- Hill JO, Melanson EL. Overview of the determinants of overweight and obesity: current evidence and research issues. *Med Sci Sports Exerc* 1999;31(Suppl 11):S515-21.
- Chuang JC, Perello M, Sakata I, Osborne-Lawrence S, Savitt JM, Lutter M, et al. Ghrelin mediates stress-induced food-reward behavior in mice. *J Clin Invest* 2011;121:2684-92.
- Barsh GS, Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000;404:644-51.
- Ochoa MC, Moreno-Aliaga MJ, Martínez-González MA, Martínez JA, Martí A; GENOI Members. TV watching modifies obesity risk linked to the 27Glu polymorphism of the ADRB2 gene in girls. *Int J Pediatr Obes* 2006;1:83-8.
- Martinez JA, Corbalán MS, Sánchez-Villegas A, Forga L, Martí A, Martínez-González MA. Obesity risk is associated with carbohydrate intake in women carrying the Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism. *J Nutr* 2003;133:2549-54.
- Memisoglu A, Hu FB, Hankinson SE, Manson JE, De Vivo I, Willett WC, et al. Interaction between a peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene polymorphism and dietary fat intake in relation to body mass. *Hum Mol Genet* 2003;12:2923-9.
- Cox RD, Church CD. Mouse models and the interpretation of human GWAS in type 2 diabetes and obesity. *Dis Model Mech* 2011;4:155-64.
- Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998;395:763-70.
- Wilding JP. Leptin and the control of obesity. *Curr Opin Pharmacol* 2001;1:656-61.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-5.
- Lee DW, Leinung MC, Rozhavskaya-Arena M, Grasso P. Leptin and the treatment of obesity: its current status. *Eur J Pharmacol* 2002;440:129-39.
- Tschöp M, Heiman ML. Rodent obesity models: an overview. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109:307-19.
- Velloso LA. The brain is the conductor: diet-induced inflammation overlapping physiological control of body mass and metabolism. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009;53:151-8.
- Milanski M, Degasperi G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci* 2009;29:359-70.
- Dobrian AD, Davies MJ, Prewitt RL, Lauterio TJ. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension* 2000;35:1009-15.
- Petry CJ, Ozanne SE, Wang CL, Hales CN. Effects of early protein restriction and adult obesity on rat pancreatic hormone content and glucose tolerance. *Horm Metab Res* 2000;32:233-9.
- Thomas TR, Pellechia J, Rector RS, Sun GY, Sturek MS, Laughlin MH. Exercise training does not reduce hyperlipidemia in pigs fed a high-fat diet. *Metabolism* 2002;51:1587-95.
- Da Silva AS, Pauli JR, Ropelle ER, Oliveira AG, Cintra DE, De Souza CT, et al. Exercise intensity, inflammatory signaling, and insulin resistance in obese rats. *Med Sci Sports Exerc* 2010;42:2180-8.
- de Moraes C, Camargo EA, Antunes E, de Nucci G, Zanesco A. Reactivity of mesenteric and aortic rings from trained rats fed with high caloric diet. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2007;147:788-92.
- de Moraes C, Davel AP, Rossoni LV, Antunes E, Zanesco A. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. *BMC Physiol* 2008;8:12.
- De Schepper JA, Smits JP, Zhou XL, Louis O, Velkeniers BE, Vanhaelst L. Cafeteria diet-induced obesity is associated with a low spontaneous growth hormone secretion and normal plasma insulin-like growth factor-I concentrations. *Growth Horm IGF Res* 1998;8:397-401.
- Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Luvizotto RA, Nogueira CR, et al. A hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and co-morbidities in Wistar rats. *Arq Bras Endo-*

- crinol Metabol 2008;52:968-74.
24. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller Do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition* 2004;20:218-24.
  25. López IP, Marti A, Milagro FI, Zulet Md Mde L, Moreno-Aliaga MJ, Martinez JA, et al. DNA microarray analysis of genes differentially expressed in diet-induced (cafeteria) obese rats. *Obes Res* 2003;11:188-94.
  26. Barnes MJ, Lapanowski K, Conley A, Rafols JA, Jen KL, Dunbar JC. High fat feeding is associated with increased blood pressure, sympathetic nerve activity and hypothalamic mu opioid receptors. *Brain Res Bull* 2003;61:511-9.
  27. Naderali EK, Brown MJ, Pickavance LC, Wilding JP, Doyle PJ, Williams G. Dietary obesity in the rat induces endothelial dysfunction without causing insulin resistance: a possible role for triacylglycerols. *Clin Sci (Lond)* 2001;101:499-506.
  28. Naderali EK, Williams G. Prolonged endothelial-dependent and -independent arterial dysfunction induced in the rat by short-term feeding with a high-fat, high-sucrose diet. *Atherosclerosis* 2003;166:253-9.
  29. Kusterer K, Pohl T, Fortmeyer HP, März W, Scharnagl H, Oldenburg A, et al. Chronic selective hypertriglyceridemia impairs endothelium-dependent vasodilatation in rats. *Cardiovasc Res* 1999;42:783-93.
  30. Burneiko RC, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GM, Faine LA, et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol* 2006;44:1167-72.
  31. Eynard AR, Lopez CB. Conjugated linoleic acid (CLA) versus saturated fats/cholesterol: their proportion in fatty and lean meats may affect the risk of developing colon cancer. *Lipids Health Dis* 2003;2:6.