



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

李名淑 教授 指導  
碩士學位 請求論文

Spontaneously  
Hypertensive Rat (SHR)에서  
고나트륨 섭취가 비알코올성  
지방간염 발생에 미치는 영향

2017

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

朴秀淨

Spontaneously  
Hypertensive Rat (SHR)에서  
고나트륨 섭취가 비알코올성  
지방간염 발생에 미치는 영향

李名淑 教授 地道

이 論文을 碩士學位 論文으로 提出함

2017年 5月

誠信女子大學校 大學院

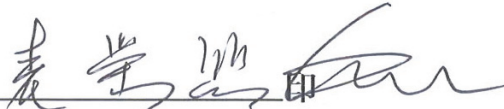
食品營養學科


朴秀淨


# 認 准 書

朴 秀 淨 의 碩士學位 論文을 認准함.

2017年 5月

審査委員長 裴崇熙 印 

審査委員 박미영 印 

審査委員 李石根 印 

誠信女子大學校 大學院



## 논문 개요

2015년 국민건강영양조사 자료에 의하면 한국인 1일 평균 나트륨 섭취량이 3890 mg/일으로 한국인 영양섭취기준인 건강한 성인의 1일 나트륨 목표 섭취량인 2,000 mg/일보다 약 2배 정도로 섭취하고 있다. 과도한 나트륨의 섭취는 비만, 인슐린 저항성 증가, 제 2형 당뇨병과 심혈관계질환의 발병의 증가와 관련이 있다는 것은 다수의 연구에 의해서 알려져 왔다.

비알콜성 지방간염 (Non-alcoholic steatohepatitis, NASH)의 병태 생리는 'Two-hit hypothesis'을 근거로 한다. 간세포 내 중성지방의 축적(steatosis)의 형성과정을 '1<sup>st</sup> hit' 이라하며 염증성 사이토카인, 산화스트레스, 미토콘드리아의 기능 이상 등과 같은 '2<sup>nd</sup> hit' 에 의한 손상요인들에 취약해지기 때문에 지방간염이나 섬유화로 진행되는 것이다. 1<sup>st</sup> hit' 과 2<sup>nd</sup> hit을 야기하는 중성지방의 축적, 염증성 사이토카인, 산화스트레스 등의 현상은 고나트륨에 의해 발병하는 만성 염증성 질환의 원인과 유사하다. 그럼에도 불구하고 나트륨과 NASH의 상관성에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다. 이에 본 연구의 목적은 'Two-hit hypothesis' 를 기반으로 고나트륨 섭취가 NASH 발병에 영향을 주는지 확인하고자 하는 것이다.

본 연구는 본태성 고혈압 쥐인 Spontaneously Hypertensive Rats(SHR)을 대상으로 저나트륨(0.8%)과 고나트륨(8%) 식이를 4주간 섭취시킨 다음 NASH 인자를 검증하였으며 대조군으로는 정상 혈압쥐 Wistar Kyoto Rats (WKY)를 이

용하였다. 분석대상은 1) 식이 섭취에 따른 체중변화 2) 심장과 신장에서의 부담, 3) 혈장에서의 지질(TG, TC), 인슐린 저항성(공복혈당, 인슐린, HOMA- IR), 4)간 기능 손상(혈청 AST와 ALT, 간 지질과산화물 함량 및 G6PD), 5) NASH 인자(지질합성 인자, 염증인자 및 Fibrosis) 등 이며, 그 결과는 다음과 같다.

1. WKY와 SHR의 나트륨섭취에 따른 체중변화를 관찰하기 위해서 체중, 식이 및 물 섭취량, 식이효율을 측정하였다. WKY와 SHR 모두 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 체중은 5-7% 감소하였으나 물 섭취량은 각각 100- 132% 증가하였다. WKY와 SHR 모두 식이 섭취량은 5-7% 증가하였으나 식이효율은 변화가 없었다. 즉, 고나트륨의 섭취에 의하여 WKY와 SHR 모두 식이 및 물 섭취량을 증가하였으나 체중은 감소하였다.
2. WKY와 SHR에서 고나트륨섭취에 의한 심장과 신장의 부담을 관찰하고자 혈압, 심장 및 신장 무게, 뇨 크레아티닌을 측정하였다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 WKY에서 혈압 및 심장 무게가 각각 17%, 11% 증가하였고 신장관련인자는 변화가 없었다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 SHR에서 혈압 및 심장 무게가 각각 20%, 8% 증가하였으며 뇨 크레아티닌은 10% 증가하였다. 고나트륨섭취는 WKY와 SHR에서 혈압 상승으로 심장비대 현상이 나타났고 SHR에서만 신장근육 손상 등이 예상되었다.
3. WKY와 SHR에서 blood biochemistry 확인을 위하여

중성지방(TG), 총 콜레스테롤(TC), 공복혈당(FBS), 인슐린, 인슐린 저항성(HOMA-IR)을 확인하였다. 나트륨 섭취량에 관계없이 WKY군에서는 유의적인 혈청수치의 변화가 없었다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 SHR에서 TG감소와 FBS 증가가 관찰되어서 고나트륨 섭취가 본태성 고혈압쥐에서만 혈당증가를 보였다.

4. WKY와 SHR의 간 기능손상을 확인하기 위해서 조직손상 인자로 혈청 Aspartate transaminase (AST)와 Alanine transferase (ALT)를, 산화 스트레스인자로 Malondialdehyde(MDA), Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD), NADPH oxidase(NOX2)를 확인하였다. 고나트륨 WKY군에서 NOX2만 유의적으로 증가하였다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 SHR에서 혈청 AST(75%) 및 ALT(50%)가 증가하였고 G6PD(14%)는 감소하였다. 나트륨섭취량과 관계없이 SHR이 WKY보다 간 무게, MDA가 유의적으로 증가하였고, G6PD는 50% 감소하였다. 결론적으로 고나트륨섭취는 간독성 (AST/ALT 증가)을 야기하는데, SHR의 경우 지질과산화 및 산화스트레스 증가가 원인으로 보인다.
5. WKY와 SHR의 간 지질대사를 확인하기 위해서 간의 TG 및 TC, 지방산 합성인자인 Acetyl-CoA carboxylase (ACC), fatty acid synthase complex(FAS), Sterol regulatory element-binding transcription factor 1c(SREBP-1c), 지방분해인자인 AMP-activated protein kinase (AMPK) 등을 확인하였다. 저나트륨군

에 비해 고나트륨군 WKY에서 간 TC(25%)와 FAS(11%)가 감소하였다. SHR의 경우 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 TG, TC는 변화가 없었으나 FAS, ACC/p-ACC, SREBP-1c가 유의적으로 증가하였다. 따라서 고나트륨 섭취는 간의 지방산 합성인자의 발현을 증가시켰다.

6. WKY와 SHR의 간 염증 정도를 확인하기 위해서 pro-inflammatory cytokine인 Interleukin-6(IL-6), Cyclooxygenase-2(COX2), Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)와 anti-inflammatory cytokine인 Interleukin-10(IL-10)을 확인하였다. WKY의 경우 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 IL-6, MCP-1, COX-2의 발현이 각각 40%, 50%, 48% 증가하였다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 COX-2의 발현이 47% 증가하였지만 MCP-1, COX-2는 유의적인 변화가 없었다. WKY와 SHR 모두 IL-10은 유의적인 변화가 없었다. 따라서 고나트륨 섭취는 WKY와 SHR에서 염증인자를 증가시켰다.

7. WKY와 SHR의 간 염증 정도를 확인하기 위해서 Transforming growth factor beta 1(TGF- $\beta$ 1),  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)을 확인하였다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 WKY에서 간 TGF- $\beta$ 1(40%)와  $\alpha$ -SMA(40%)가 감소하였다. SHR의 경우 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 TGF- $\beta$ 1(56%) 유의적으로 감소하였다. 고나트륨 섭취는 정상 혈압일 경우에 간의

Fibrosis를 증가시켰다.

NASH 병태 생리의 기반인 2 hit hypothesis 중에 1<sup>st</sup> hit 을 확인하기 위해 혈청 및 간 지질, 인슐린 저항성, 간 손상, 지질과산화, 지방생성, 그리고 2<sup>nd</sup> hit을 확인하기 위해 염증을 분석하였다 그 결과 고나트륨 섭취 시 SHR은 1<sup>st</sup> hit에서 간 손상, 지질과산화, 지방생성이 증가하였고, 2<sup>nd</sup> hit에서 염증이 증가하였다. WKY는 2<sup>nd</sup> hit인 염증만이 증가하였다. 따라서 SHR은 고나트륨 섭취가 ‘2 hit hypothesis’ 을 기반으로 NASH가 발생하는 기전과 상관성이 있었다. WKY는 지방간 없이 산화스트레스 및 염증현상이 나타났다. 즉 정상 혈압시 고나트륨 섭취는 지방간 단계 없이 NASH 현상을 간 섬유화까지 나타낸 반면 고혈압 시 고나트륨 섭취는 1<sup>st</sup> hit-2<sup>nd</sup> hit 등의 단계를 거치면서 지방간, 염증, 산화스트레스 등을 나타냈지만 간경화 및 섬유화 단계까지 가지 못하였다. 이는 고혈압 환자보다는 정상인에서 고나트륨 섭취가 급성 간경화 증세를 보일수 있다고 생각된다. 따라서 본 연구는 본태성 고혈압 환자와 정상인이 고혈압 섭취를 할 경우 나타나는 기전에 따라 식이 치료의 지침이 될 수 있을 것으로 사료되어 향후 인체 임상 연구의 기초 자료가 될 것으로 기대한다.

# 목 차

## 논문개요

|                            |    |
|----------------------------|----|
| I. 서론                      | 1  |
| 1. 나트륨의 기능 및 급원            | 1  |
| 2. 나트륨 섭취 및 권장량 변화         | 2  |
| 3. 나트륨 섭취와 질병의 상관성         | 5  |
| 1) 고혈압                     | 5  |
| (가) 고혈압의 원인 및 발병률          | 5  |
| (나) 고혈압과 소금 민감성의 관계        | 5  |
| 2) 비만                      | 9  |
| 3) 당뇨                      | 10 |
| 3. 비알코올성 지방간 질환/비알코올성 지방간염 | 11 |
| 1) 정의 및 발병률                | 11 |
| 2) 병태 생리                   | 13 |
| 3) 영양소와의 상관성               | 15 |
| 4. 연구의 목적                  | 17 |
| II. 재료 및 방법                | 18 |
| 1. 실험 디자인                  | 18 |
| 2. 실험 식이                   | 21 |
| 3. 혈압 측정                   | 23 |
| 4. 체중, 식이/물 섭취량, 식이효율      | 24 |

|  |           |
|--|-----------|
| 5. 인슐린 저항성 검사.....                           | 24        |
| 1) 공복혈당 측정.....                              | 24        |
| 2) 인슐린 측정.....                               | 24        |
| 3) HOMA-IR 계산.....                           | 25        |
| 6. 지질 성상 검사.....                             | 25        |
| 1) 중성지방 측정.....                              | 25        |
| 2) 총 콜레스테롤 측정.....                           | 26        |
| 7. 간 효소 수치(AST, ALT) 측정.....                 | 26        |
| 8. 지질과산화물 함량 및 관련 인자 측정.....                 | 27        |
| 1) Malondialdehyde 분석.....                   | 27        |
| 2) Glucose-6-phosphate dehydrogenase 분석..... | 27        |
| 9. 간의 Lipogenesis 인자 분석.....                 | 28        |
| 10. 간의 염증 인자 분석.....                         | 29        |
| 11. 간의 Fibrosis 인자 분석.....                   | 29        |
| 12. 통계 분석.....                               | 31        |
| <br>   |           |
| <b>Ⅲ. 연구 결과 및 고찰.....</b>                    | <b>32</b> |
| 1. 체중, 식이섭취량 및 식이효율 .....                    | 32        |
| 2. 혈압 및 심장 무게.....                           | 35        |
| 3. 신장 무게 및 뇨 크레아티닌.....                      | 39        |
| 4. 혈청 chemistry.....                         | 41        |
| 1) 혈청 중성지방 및 총 콜레스테롤.....                    | 41        |
| 2) 인슐린 저항성 .....                             | 41        |
| 5. 간 기능 손상 정도.....                           | 45        |

|  |    |
|--|----|
| 1) AST & ALT .....                       | 45 |
| 2) 간 무게와 지질과산화물(MDA) 및 G6PD .....        | 45 |
| 6. 간 조직의 Lipogenesis 관련 인자에 미치는 영향 ..... | 48 |
| 7. 간 조직의 염증 반응에 미치는 영향 .....             | 51 |
| 8. 간 조직의 Fibrosis에 미치는 영향 .....          | 54 |
| <br>                                     |    |
| IV. 요약 및 결론 .....                        | 57 |

## 참고문헌

## ABSTRACT

## List of Table

|   |    |
|---|----|
| Table 1. Characteristics of prospective studies included in meta-analysis of studies on salt intake and stroke and cardiovascular disease (CVD) ..... | 7  |
| Table 2. The different characteristics between WKY and SHR strain provided by NBRP .....  | 19 |
| Table 3. Diet composition of experiment diet .....  | 22 |
| Table 4. Primers sequences used for quantification of gene expression by real-time PCR ..   | 31 |
| Table 5. The effects of NaCl 0.8% and 8% diet on body weight, Food/ Water intake and Food efficiency in WKY and SHR .....                             | 33 |
| Table 6. The organ weight, first and final SBP, Urine creatinine in WKY and SHR that fed NaCl 0.8 and 8% diet .....                                   | 37 |
| Table 7. The blood biochemistry and liver MDA in WKY and SHR that fed NaCl 0.8 and 8% diet .....  | 43 |

## List of Figure

- Figure 1. Salt consumption per year in Korea. .... 4
- Figure 2. Analysis of arterial pressure regulation in non salt- sensitive essential hypertension and salt-sensitive essential hypertension .. 8
- Figure 3. Fig 3. Mechanisms of progression of a fatty liver to NASH. .... 15
- Figure 4. The experimental design of this study .. 20
- Figure 5. The picture of measuring Systolic Blood Pressure of WKY and SHR ..... 23
- Figure 6. The effects of NaCl 0.8% and 8% diet on body weight(a) and Food intake(b) in male WKY and SHR ..... 34
- Figure 7. The First & Final SBP and Heart/Body Weight in WKY and SHR that fed NaCl 0.8 and 8% diet ..... 38
- Figure 8. The Kidney/Body Weight(a) and Urine creatinine(b) in WKY and SHR fed NaCl 0.8 and 8% diet ..... 40
- Figure 9. The difference in plasma lipid profiles(a) and insulin resistance biomarkers (glucose, insulin and HOMA-IR, b) in WKY and SHR fed NaCl 0.8% and 8% diet ..... 44

|  |    |
|--|----|
| Figure 10. The effects of NaCl 0.8% and 8% diet<br>on AST & ALT(a) and liver/body weight,<br>liver MDA(b), G6PD, NOX2(c) in WKY and<br>SHR .....   | 47 |
| Figure 11. Triglyceride and total cholesterol<br>accumulation(a) and adipogenesis<br>markers(b) in liver on WKY and on SHR<br>that fed NaCl 0.8% and 8% diet.....                              | 50 |
| Figure 12. The expression of pro-inflammatry<br>cytokine(IL-6, MCP-1, COX-2, a) and<br>anti-inflammatory cytokine(IL-10, b) in<br>liver of WKY and SHR that fed NaCl 0.8%<br>and 8% diet. .... | 53 |
| Figure 13. The expression of $\alpha$ -SMA(a) and<br>TGF- $\beta$ 1(b) in liver of WKY and SHR that<br>took NaCl 0.8% and 8% diet.....   | 56 |

# I. 서론

## 1. 나트륨의 기능 및 급원

인체의 생명유지를 위한 필수적인 무기질인 나트륨은 세포 외액의 주성분으로서 칼륨(K)을 주성분으로 하는 세포 내액과의 삼투압평형을 유지하는 역할을 한다.[1] 또한 인체에서 체액과 혈액량을 일정하게 조절하여 적절한 수분균형과 혈압을 유지시킬 뿐만 아니라 산·염기평형, 세포막 전위의 조절, 세포막의 영양소 이동, 신경 흥분, 근육 수축 등 중요한 생리적 기능을 한다.[1,2] 이처럼 소금은 인간의 생명 영위에 필요불가결한 물질이며, 소변이나 땀의 형태로 체외로 배설되기 때문에 입을 통해 식품처럼 섭취하여야 할 필요가 있다.[4]

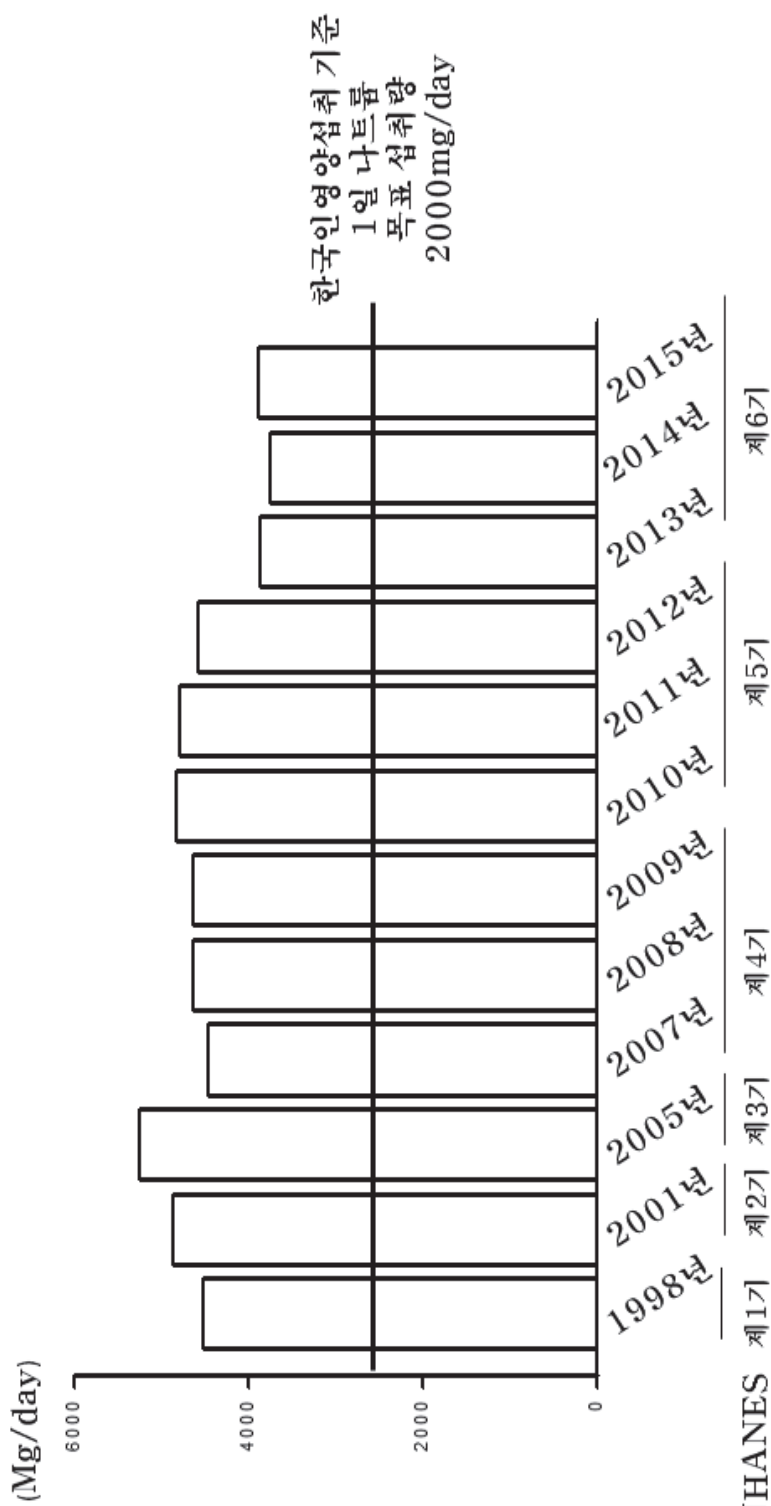
나트륨은 주로 식품 자체에 함유되어 섭취하는 것보다 조리 시나 식사 시에 첨가하는 식염 형태의 섭취량이 많다.[5] 우리나라의 경우 서양에 비해 조리 및 식사 시 첨가되는 나트륨의 양이 높은 편으로 서양의 경우 조리, 가공 및 식사 중 첨가되는 나트륨이 일일 나트륨 섭취량의 35~40%인데[6] 반하여 우리나라의 경우는 73~80%에 달하고 있다.[7,8] 국민건강영양조사 제1~5기(1998, 2001, 2005, 2007~2009, 2010) 조사 자료로부터 분석한 결과, 나트륨의 주요 급원 식품군 순위는 조미료류(38.6~44.3%), 채소류(28.2~36.8%), 곡류 및 그 제품(10.0~14.1%), 어패류(5.3~7.3%)로 1일 나트륨 섭취량의 90.7~93.8%에 기여하였다. 이 순위는 최근 10여 년간 변화가

없었으나, 나트륨 섭취 기여율은 92.8%(1998년), 93.2%(2001년), 93.8%(2005년), 92.1%(2007년), 91.7%(2008년), 90.9%(2009년), 90.7%(2010년)으로 약간 낮아지는 경향을 보였다. 조미료에서는 소금으로부터 섭취되는 나트륨의 비율이 가장 높았고, 채소류로부터의 나트륨 섭취 비율이 가장 높은 것은 배추김치로 나타났다. 곡류 및 그 제품에서는 라면으로 부터의 나트륨 섭취 비율이 높았으며, 어패류에서는 젓갈 또는 어묵의 나트륨 섭취 비율이 높았다.

## 2. 나트륨의 권장량 및 섭취량

나트륨의 경우는 불충분한 용량-반응 평가 자료로 인해 평균 필요량 및 권장 섭취량 수치가 설정되지 못하여 충분섭취량을 제안하며, 나트륨의 충분섭취량은 모유를 섭취하는 영아를 제외한 다른 연령대의 경우 실험적 추정치에 근거한 값이다.[9] 2005년, 2010년, 2015년 한국인 영양섭취기준에 의하면 건강한 성인의 1일 나트륨 충분섭취량을 1,500 mg/일(65 mmol, 소금으로는 3.75 g), 목표 섭취량은 2,000 mg/일(87 mmol, 소금으로는 5.0 g)이하로 제시한다.[10] 나트륨은 생활 습관병의 예방차원에서 과잉섭취에 대한 대책이 요구된다. 이에 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서 혈압을 낮추고 심혈관질환과 뇌졸중 및 관동맥질환의 위험도를 줄이기 위한 기준으로 2,000 mg을 나트륨 목표섭취량으로 제시하였다.[11] 또한 DASH(Dietary Approaches to Stop Hypertension)

연구에서도 나트륨 조절식으로 1,500 mg을 섭취하는 것을 제안하였다.[12] 우리나라의 1998-2015년 국민건강영양조사 자료에 의하면 국민 1일 평균 나트륨 섭취량은 4,000 mg 이상을 섭취하고 있었으나 2013년 이후 4,000 mg 이하로 감소하였다. 그러나 여전히 WHO에서 권장하는 1일 나트륨 권장량의 2배 정도를 섭취하고 있다.[13](Fig 1.) 우리나라 남녀 전체 평균 나트륨 섭취량을 소금으로 환산 시 약 13.5 g 인데, 이는 WHO가 권장량의 약 2.5배로 OECD 국가 중 나트륨 섭취가 가장 높다.[14] 과도한 나트륨의 섭취는 비만, 인슐린 저항성 증가, 제 2형 당뇨병과 심혈관계질환의 발병의 증가와 관련이 있으므로, 우리나라 국민의 과도한 나트륨 섭취는 이와 같은 질환의 발병 위협에 대한 심각성을 나타내고 있다.



KNHANES 제1기 제2기 제3기 제4기 제5기 제6기  
**Fig 1. Sodium consumption per year in Korea.**

### 3. 나트륨 섭취 관련 질병

#### 1) 고혈압

##### (가) 고혈압의 원인 및 발병률

고혈압은 발병 원인에 따라 본태성 고혈압(Essential hypertension)과 이차성 고혈압(Secondary hypertension)으로 나눌 수 있는데, 전자는 동맥경화증, 비만, 비인슐린 의존성 당뇨병 및 심장 질환 등을 수반하는 다인자성 질환으로, 원인이 밝혀진 후자와는 달리 아직까지 원인 규명이 확실하게 이루어져 있지 않다. 역학 조사에 의하면 고혈압의 대부분은 본태성 고혈압이며, 약 5-10% 정도는 이차성 고혈압이다.[15] 현재까지 알려진 고혈압의 위험 요인으로는 고령, 비만, 운동부족, 당뇨병, 고지혈증 및 흡연, 스트레스 등의 생활 인자 이외에도 과다한 염분 섭취, 칼슘, 칼륨 및 마그네슘 섭취 부족 등의 식이성 인자가 대표적인 원인 인자로 알려져 있다.[16]

고혈압은 심혈관 질환과 신장 질환의 주요 위험요인으로써[17] 우리나라만 30세 이상 성인 고혈압 유병률은 2007년 24.6%에서 2012년 29.0%로 증가했다가 2014년 25.5%로 약간 감소하는 추세이며 남자의 경우 26.9%에서 32.2%로, 여성의 경우 21.8%에서 25.4%로 2012년까지 증가했다가 2013년 이후 약간 감소하였다.[18]

2009년 한국인 사망원인 통계연보에 의하면, 3대 사망원인으로 악성신생물(암)에 이어 뇌혈관 질환, 심장 질환이 각각 2, 3위를 차지하고 있으며 총 사망자의 47.8%를 차지한다. 2014년에 우리나라에서 고혈압 질환으로 사망한 사람은 5061명으로 인구 10만 명당 10명으로 증가하였다.[19]

##### (나) 고혈압과 소금 민감성의 관계

다수의 메타분석결과에 의하면, 고나트륨 섭취는 고혈압의 위험인자이며 나트륨 섭취가 증가할수록 심혈관계 질환의 위험을 높이는 것으로 나타났

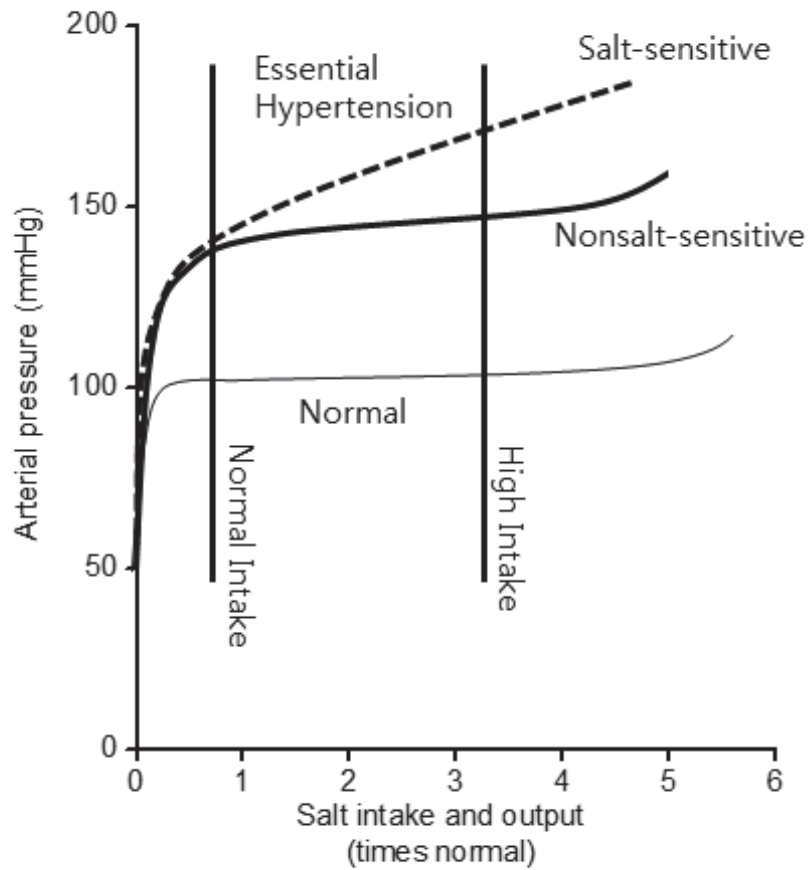
다.[20,21] (Table 1) 나트륨섭취가 증가하면 체내 세포 외액에 축적되어 세동맥 벽의 흥분성을 증가시킬 뿐만 아니라,[22] 부신수질 호르몬인 노르 에피네프린 분비의 증가로 혈관수축 및 말초혈관의 저항이 증가함으로써 고혈압을 유발한다.[23]

소금 민감성이란 저나트륨 식이( $\text{Na}=100\text{mmol/L}$ )시의 혈압에 비하여 고나트륨 식이( $\text{Na}=240\text{mmol/L}$ )에 의해 혈압이 10% 이상 상승한 경우로 정의 한다.[24] 소금 민감성의 기전은 아직 정확하게 규명되지 않았으나, 레닌-안지오텐신계(Renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS), 교감신경계, 칼리크레인-키닌계, 질소 산화물 (nitric oxide) 시스템, 아이코사노이드, 혈관 내피의 이상이 소금 민감성 고혈압의 발병에 관련이 있을 것으로 추정되고 있다.[25] 그 중 레닌-안지오텐신계(Renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)의 이상으로 유전적으로 나트륨 배설이 억제되는 경우 나트륨 및 수분 배설의 장애로 고혈압이 발생한다.[26]

따라서 정상인이든 고혈압환자이든 소금 민감성이 강한 사람은 염분이 과도한 환경에 노출되면 나트륨 저류와 고혈압이 발생할 수 있다.[27-29] 나트륨 관련 인체대사 연구에서는 우리 국민 중 28%가 소금 민감성을 지닌 것으로 밝혀진 적이 있다.[30] 사람이나 동물모델에서 보면, 소금 민감성 고혈압에서는 심혈관계 질환이나 요단백, 신병증 유발과 그로 인한 사망률이 높게 나타난다.[31] 또한 소금 민감성 고혈압인에서는 인슐린 저항성이 높게 나타나는데, 이는 심장순환계 질병과 그로 인한 사망의 위험 인자로 작용하게 된다.[32]

**Table 1. Characteristics of prospective studies included in meta-analysis of studies on salt intake and stroke and cardiovascular disease (CVD)**

| Study                            | Age (years) | Sex           | No of people | Outcome(s)              | Outcome assessment   | Sodium intake assessment           |
|----------------------------------|-------------|---------------|--------------|-------------------------|--|------------------------------------|
| Tuomilehto, 2001, Finland[33]    | 25-64       | Men; women    | 1173;1263    | CVD death, total stroke | National hospital discharge register ICD-8 and ICD-9, 430-438, and 390-448         | 24h urine collection               |
| Nagata, 2004, Japan[34]          | ≥35         | Men; women    | 13355;15724  | Stroke death            | National vital statistics ICD-9 430-448  | food frequency questionnaire (FFQ) |
| Cohen, 2006, US, NHANES III[35]  | 30-74       | Men and women | 7154         | CVD death, stroke death | Mortality based on death certificate reports ICD-9 430-438                         | 24h dietary recall                 |
| Geleijnse, 2007, Netherlands[36] | ≥55         | Men and women | 1448         | CVD death, total stroke | GPs registries (ICD-10): I20-I25, I46, I49, I50, I60-I67, I70-I74 and R96; I60-I67 | FFQ and overnight urine sodium     |
| Cohen, 2008, US, NHANES III[37]  | ≥30         | Men and women | 8699         | Total CVD               | Vital status and cause of death (ICD-9 and ICD-10)                                 | 24h dietary recall                 |



**Fig 2. Analysis of arterial pressure regulation in non salt-sensitive essential hypertension and salt-sensitive essential hypertension. (Modified from Arthur C. Guyton et al (1980) Annu Rev Med 31: 15)[38]**

소금 민감성에서 고나트륨 식이로 혈압이 증가하는 이유는 혈압이 충분히 높지 않으면 신장에서 소금 배설이 낮기 때문에 소금이 축적되어서 체액량이 증가하고 혈압도 증가하게 된다. 소금 민감성에서는 고나트륨 섭취 후, 혈압이 높아져야만 신장에서 과량의 나트륨을 배설 할 수 있게 된다. Guyton의 연구에 의하면[39], 정상 혈압일 경우에는 저나트륨에서 고나트륨 섭취로 바뀌면 혈압이 약간만 상승해도 신장에서 과량의 나트륨을 배설 할 수 있기 때문에 체액 축적이 없다. 그러나 고혈압 환자에서는 같은 양의 나트륨을 배설하기 위하여 혈압이 정상보다 훨씬 높아야 한다. 고혈압 환자에서 같은 양의 나트륨을 배설하기 위해서 소금 민감성은 소금 저항성보다 혈압이 더 높아야 한다. 같은 혈압일 때, 소금 민감성은 소금 저항성보다 소금 배설이 낮은 것은 신장의 기능 저하 때문이 아니라, 교감 신경계나 RAAS 또는 혈관내피세포 기능의 이상이 신장에 영향을 미치기 때문인 것으로 보인다. (Fig 2)

## 2)비만

비만은 사회경제적 성장과 생활양식과 식습관의 변화로 빈도가 증가되고 있으며, 과도한 양의 지방이 체내에 축적되어 과체중과 대사 장애를 동반하는 것으로 정의되며 단순히 체중이 많이 나가는 것과는 구분이 된다.[40] 비만은 유전적, 환경적 요인이 복합적으로 관여하고 있으며, 그 중에서도 특히 식사 요인은 비만의 조절 가능한 중요 요인 중 하나이다. 몇몇 역학연구 결과들은 고열량, 고지방 식사 외에도 과도한 나트륨의 섭취가 비만과 직, 간접적으로 연관되어 있다고 제안하였다. 제 4 기 2007-2009년도 KNHANES에 참여한 19세-64세 성인을 대상으로 나트륨 섭취와 비만 발병간의 연관성을 본 연구에서, 비만군의 일일 평균 나트륨 섭취량(5490.5 mg/day)은 비비만군(5051.7 mg/day)에 비해 유의적으로 높은

것으로 나타났으며, 남성과 여성 모두에서 나트륨 섭취량이 높을수록 과체중 유병률이 각각 1.67배, 1.31배로 증가하는 경향을 보였다.[41] 고나트륨 섭취는 혈장 렙틴 농도의 증가와 지방 생합성에 관여하는 효소들의 활성을 높여 지방세포의 비대와 내장지방의 과다 축적을 유도한다.[42] 이로 인한 지방조직의 기능장애를 일으켜 아디포넥틴의 수치를 감소시키고 염증성 사이토카인 수준을 증가시키는 것으로 나타났으며,[43] 지방세포의 인슐린 저항성 증가시키는 것으로 제안되었다.[44] 또한 인슐린저항이 되면 혈관의 수축을 증가시키고 그 결과 말초 혈관의 저항성과 혈압의 상승을 초래하여 2차적으로 인슐린 수준을 증가시킨다고 하였다.[45]

### 3) 당뇨

대한당뇨병학회에서 국민건강영양조사 자료를 바탕으로 분석한 당뇨병관련 역학자료분석(Diabetes Fact Sheet in Korea)에 의하면[46] 2009년부터 2013년까지의 우리나라 당뇨병 유병률은 증가하는 경향을 보였다. 2013년 기준으로 30세 이상 성인의 11.9%(약 320만 명)가 당뇨병 환자로 파악되었는데 이는 30세 이상 성인 8명 중 1명이 당뇨병 환자에 해당하는 것이다. 더 큰 문제는 향후 당뇨병으로 진행할 가능성이 매우 높은 당뇨병 전 단계(pre-diabetes) 상태의 고위험군에 속하는 공복혈당장애 인구가 30세 이상 성인의 24.6%(약 660만 명)에 이른다는 것이다. 이는 우리나라에서 당뇨병 및 당뇨병 전단계를 합치면 30세 이상 성인 3명 중 1명(약 천만 명)이 당뇨병 혹은 잠재적 당뇨 고위험군에 속한다는 것이다.

우리나라 당뇨병 환자들의 가장 특징적인 식습관 문제 중 하나는 당뇨병 유형에 관계없이 식사 중 나트륨 섭취 수준이 높다는 것이다.[47] 당뇨병 집단의 평균 나트륨 섭취량은 5,939 mg으로 조사되었고, 이는 세계보건기구에서 제안한 목표섭취량인 2,000 mg 대비 약 3배에 해당하는 섭취 수

준이다.[48] 우리나라 만 40세 이상 성인을 대상으로 혈당수준에 따른 영양섭취 상태를 비교한 연구에서 공복 혈당 장애군과 당뇨병군의 나트륨 섭취량은 각각 6,253.9 mg/day, 5,939.2 mg/day로 정상혈당군의 5,897.1 mg/day에 비해 높은 것으로 나타났다.[49] 또한 임신성당뇨병 또는 제2형 당뇨병으로 진단받은 임산부를 대상으로 영양소 섭취를 조사한 연구에 따르면, 두 그룹 모두 임산부에게 권장하는 나트륨 수준 보다 많은 수준의 나트륨(3,930.0 mg/day, 4,471.8 mg/day)을 섭취하고 있는 것으로 조사되었다.[50] 이와 같은 과도한 나트륨의 섭취는 인슐린 저항성을 악화시켜 당뇨병 발병 위험을 증가시키며,[51,52] 당뇨병 합병증인 심혈관 질환 및 미세혈관합병증을 증가시키는 것으로 보고되었다.[53]

### 3. 비알코올성 지방간 질환/ 비알코올성 지방간염

#### 1) 정의 및 발병률

비알코올성 지방간 질환(Non-alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD)은 알코올 섭취에 의하지 않은 간 내 지방침착과 관련된 모든 질환을 뜻하며,[54] 이 질환의 범주는 단순지방간(Steatosis)에서부터 지방간염(Steatohepatitis), 간섬유화, 간경화까지 포함한다.[55] 비알코올성 지방간 질환은 원인을 알 수 없는 만성 간염의 원인 중 70~90%가 비알코올성 지방간 질환에 의한 것이라는 보고가 있을 정도로 흔한 간질환이다.[53] 비알콜성 지방간염(Non-alcoholic steatohepatitis, NASH)은 비알코올성 지방간 질환이 더욱 진전된 단계로써 간 조직에 과도한 지질 축적 외에 다양한 염증세포의 침윤, 간세포 풍선화(Ballooning), 세포질 내 세포골격단백질의 응집체인 Mallory 소체와 함께 다양한 수준의 섬유화(Fibrosis)와 같은 현상들이 관찰된다.[57]

2004년 우리나라의 비알코올성 지방간 질환 유병률은 11.5%였으나, 2010년 23.6%로 대략 2배 정도 증가하였다.[58] 간 조직에 비가역적인 손상을 유발할 수 있다는 점과 더불어 우리나라에서의 유병률도 급증하고 있어 비알코올성 질환에 대한 관심이 높아지고 있다.[59] 그러나 NASH의 실제 발병률과 유병률은 정확하게 밝혀져 있지 않다. NASH 진단은 간 조직 생검으로 확진되어야 하므로 병원환자를 대상으로 한 보고들은 제한적으로 선택된 환자를 대상으로 간 조직 검사를 시행했고 일반인들을 대상으로 한 보고들은 간 조직 검사 없이 비침습적 검사인 임상소견과 영상진단 소견을 진단의 근거로 하여 단순 지방간, 잠재성 간염, NASH가 감별되지 않고 혼재된 문제가 있다.[60]

최근 비알코올성 지방간 질환은 인슐린 저항성을 근간으로 한 비만, 고혈압, 제2형 당뇨, 지질 대사이상과 같이 간에 나타나는 대사증후군의 한 모습으로 간주되고 있다.[61] 비알코올성 지방간 질환의 위험 인자인 복부 비만, 고혈압, 제2형 당뇨병, 고지혈증은 미국 National Cholesterol Education Program의 Adult Treatment Panel III(NCEP-ATP III)에서 정의한 대사증후군의 5가지 위험 인자이고, 개수가 증가할수록 비알코올성 지방간의 유병률이 유의하게 증가하는 것으로 보고하고 있다.[62] 비알코올성 지방간질환 환자의 약 80%가 대사증후군을 가진 것으로 보고되고 있다.[63] 대사증후군과 관련된 질환인 비만, 당뇨, 고지혈증 등의 유병률이 증가하면서 지방간 질환도 증가되어 만성 간질환의 원인으로 지방간이 차지하는 비중이 점차 높아지고 있다.[64] 전세계적으로 비알코올성 간질환의 유병률은 평균 20%이며, 비만인구에서는 유병률이 57~78%까지 증가한다. 비만 환자를 대상으로 간 조직 생검을 시행한 경우 정상인 4~8%, 단순 지방간 22~85%, NASH가 26~69%, 섬유화가 1~2%로 나타났으며 상당수의 환자에서 비알코올성 지방간 질환과 관련

된 조직소견을 보였다.[65] 우리나라에서 비알코올성 지방간에 대한 대규모 역학 조사는 아직 없으나 비만 인구의 증가에 따라 비알코올성 지방간 질환의 유병률도 증가하고 있을 것으로 보고되었다.[66] 제2형 당뇨병 환자의 75%에서는 간 내 지방증이 관찰되고 중성지방혈증 환자의 2/3, 고콜레스테롤혈증 환자의 1/3이 지방간이 있으며 비만과 지방간을 갖는 환자의 20%는 고지혈증을 보인다.[67] 비알코올성 지방간 질환의 유병률은 여러 다른 국가에서 10~24% 정도로 보고되고 있으며 전체 13,500명의 성인을 대상으로 한 미국의 조사에서는 23.5%가, 일본에서 전체 2,574명을 대상으로 조사한 결과에는 14%의 유병률을 보고하였다.

## 2) 병태 생리

지방간의 발병기전과 단순 지방간에서 지방간염 및 간경변증으로 진행되는 과정은 충분히 알려져 있지 않지만, 최근 이러한 기전을 규명하고자 하는 노력들이 있어 왔다.[68] NASH의 병태 생리에 관한 초기 이론은 '2-hit hypothesis'에 바탕을 두고 있다(Fig. 3). 간세포 내 중성지방의 축적, 즉 지방간(Steatosis)의 형성을 'First hit' 이라 했을 때 염증성 사이토카인, 미토콘드리아의 기능이상, 산화스트레스들과 같은 'Second hit' 에 의한 손상요인들에 취약해지기 때문에 지방간염이나 섬유화로 진행되는 가설이다.[69]

복부에 지방이 축적이 되면 간 문맥을 통해 중성 지방이 간으로 이동하게 되고 증가된 중성 지방에 의해 인슐린 수용체의 티로신(Tyrosine) 인산화 반응(Phosphorylation)을 감소시켜 인슐린 저항성을 유발하게 된다. 인슐린 저항성이 발생하면 이로 인한 지질 대사 장애로 간 내에 지방이 축적되어 지방간이 발생하는 것이 일차적 손상(First hit)이다. 고인슐린혈증으로 인한 간의 지방산 합성은 지방산 생합성 경로에 중요한 효소인

acetyl-CoA carboxylase(ACC)와 Fatty acid synthase(FAS) 유전자의 전사활성이 증가하여 일어나며,[70] 이 과정에서 sterol regulatory element binding protein(SREBPs)가 인슐린의 역할을 매개하는 중요한 전사인자를 알려져 있다.[71,72] 인슐린 저항성으로 인한 고인슐린혈증은 간의 SREBP-1c의 발현을 증가시킴으로써 지방산의 생합성을 증가시키고 결과적으로 간 조직에 중성지방의 축적을 유발한다.[73,74]

이차적 손상(Second hit)은 간으로 전달되는 지방산이 증가하고 이에 따라 간세포 미토콘드리아의 지방산 베타 산화반응이 포화되면 중성지방 형성이 증가하고, peroxisome 베타 산화반응이 일어나 과산화수소 생산이 일어나고 산소유리기 생성이 증가하여 간세포막 손상이 일어난다. 지질 과산화의 최종 산물인 Malondialdehyde는 염증반응을 유발할 수 있는데, 케모카인인 MCP-1을 통해 면역세포를 끌어들이고, NF- $\kappa$ B 세포를 활성화하여 TNF- $\alpha$ 와 IL-6 등 염증성 싸이토카인 생산을 유도하며 간세포에 손상을 일으키는 것이다. 또한 Malonidaldehyde는 간의 성상세포(Stellate cell)을 자극하여 콜라겐을 많이 생산함으로써 결국 섬유화를 일으키며 또한 사이코케라틴을 교차결합시켜 Mallory 소체를 만든다. 손상된 간세포는 지속적인 세포의 손상으로 간 섬유화를 초래하여 결국 간경화증으로 진행한다고 한다.

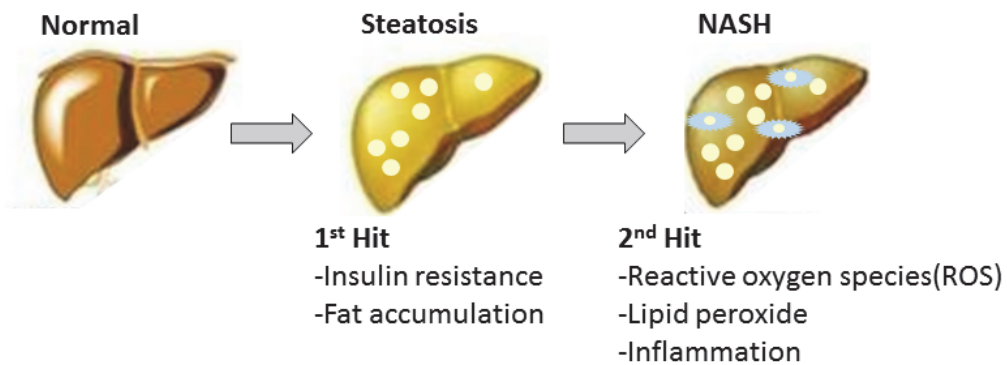


Fig 3. Mechanisms of progression of a fatty liver to NASH.

### 3) 영양소와의 상관성

NASH 환자들은 포화지방(saturated fat)과 콜레스테롤이 풍부한 음식을 많이 섭취하는 반면, 다중불포화지방(polyunsaturated fat), 섬유질, 항산화 비타민 C와 E를 덜 섭취한다.[75] 다른 연구에서도 단순 지방간 환자에 비해 NASH 환자들은 탄수화물 섭취가 과다한 반면 단백질과 아연의 섭취가 낮고, 포화지방에 비해 불포화지방을 덜 섭취한다.[76] 이러한 포화지방을 과도하게 섭취하는 식사습관은 직접적으로 간에 TG의 축적과 염증을 증가시킬 뿐만 아니라 간접적으로 인슐린 저항성을 증가시켜 지방간염을 유발할 수 있다.[77]

Methionine-choline-deficient(MCD) 식이는 수크로오스와 지방 함량은 높지만, 두 개의 필수적인 항 지방간인자, methionin과 choline은 부족하다.[78] 그 결과로, 동물은 주로 단핵세포와 다형 핵 호중성 백혈구로부터 기인한 극심한 주심 지방증과 간에서의 세포 괴사와 염증을 유발한다. 게다가, MCD 식이를 한 마우스는 지방증에서 지방간염으로 그리고 최종적인 증상인 간 섬유증으로의 변화에 중요하게 여겨지는 산화적 스트레스의 증가를 명백한 증거로 나타낸다. MCD 식이 마우스 모델은 사람과 거의

비슷한 조직학적 특성을 갖는 NASH의 영양상의 모델로서 널리 사용된다.[80] choline-deficient L-amino acid-defined(CDAA) 식이를 섭취한 쥐는 초기에는 지방간과 간염을 발생시키고 최종적으로 간섬유증과 HCC로 진행시켜[81] MCD와 같이 NASH 모델로 사용된다. 탄수화물, 특히 과당(fructose)을 풍부하게 섭취시킨 실험 모델에서 간지방의 축적과 NASH로의 진행이 촉진된다.[81,82] 고포화지방과 고콜레스테롤에 추가로 과당(fructose) 함량을 높인 식이를 개발하여 쥐에 24주 투여한 결과 사람의 NASH에서와 유사하게 비만과 인슐린 저항을 포함하여 조직병리학적 특징인 간세포의 풍선화(ballooning)를 동반한 염증, 섬유증(fibrosis) 및 지방세포자멸사(lipoptosis)를 보였다.[83] 더불어 이 모델에 간섬유증과 간경변증 유발제로 확립된 소량의 사염화탄소( $CCl_4$ )를 함께 투여하여 8주 만에 지방증, 지방간염 및 섬유증을 유발시키는데 성공하였다.[84] 특히  $CCl_4$ 에 의한 간독성은  $CCl_4$ 가 cytochrome P450 효소계를 통하여 산소분자와 신속히 반응하여  $CCl_3O_2$ 를 생성하여 세포막 인지질의 불포화지방산을 공격함으로써 지질 과산화를 일으켜 발생한다.[85]  $CCl_4$ 에 의한 간손상은 조직병리학적으로 괴사, 단핵세포 침윤, 지방증 (steatosis), 섬유증 및 간경변증을 일으키는 것으로 잘 알려져 있다[86]

다양한 연구에서 NASH의 완화 및 치료를 위해서 다양한 연구를 진행하였다. Curcumin은 효과적인 항산화제로 알려져 있으며 이는 항산화적 효과를 더 극대화 한다.[87] 이전의 연구들은 curcumin이 몇 가지 간 독성 물질로부터 발생한 산화적 손상에 대하여 강력한 간보호적 영향을 갖고 있다는 것이 사실임을 보여주고 있다. 몇몇 질병에 대한 curcumin의 근본적인 유익한 효과 중에서 가장 잘 알려진 기전은, 다면발현성 항산화제 효과이다.[88] 이는 ROS와 reactive nitrogen species (RNS)의 형성을 막는다.[89,90] Curcumin은 ROS, PKD, 그리고 염증유발 사이토카인

의 NF- $\kappa$ B에 대한 활성화를 억제한다. Inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 NF- $\kappa$ B-mediated expression 또한 curcumin에 의해서 억제된다.[91] Berberine는 몇몇 식물의 뿌리와 나무껍질에서 발견되는 식물성 알칼로이드로 비만 혹은 당뇨 환자들한테 체중감소와 내당능 및 인슐린 작용 향상 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.[92,93] berberine는 인슐린 감수성을 향상시킬 뿐만 아니라 고지질혈증 및 지방간을 완화시킨다.[94]

#### 4. 연구목적

본 연구는 ‘Two-hit hypothesis’를 기반으로 고나트륨 섭취가 NASH 발병에 영향을 주는지 확인하고자 하여 본태성 고혈압 환자와 정상인이 고혈압 섭취를 할 경우 나타나는 기전에 따라 식이 치료의 지침이 될 수 있을 것으로 사료되어 향후 인체 임상 연구의 기초 자료가 될 것으로 기대한다.

본 연구의 실험디자인은 본태성 고혈압 쥐인 Spontaneously Hypertensive Rats(SHR)을 대상으로 저나트륨(0.8%)과 고나트륨(8%) 식이를 4주간 섭취시킨 다음 NASH 인자를 검증하였으며 대조군으로는 정상혈압쥐 Wistar Kyoto Rats (WKY)를 이용하였다. 분석대상은 1) 식이 섭취에 따른 체중변화 2) 심장과 신장에서의 부담, 3) 혈장에서의 지질(TG, TC), 인슐린 저항성(공복혈당, 인슐린, HOMA-IR), 4)간 기능손상(혈청 AST와 ALT, 간 지질과산화물 함량 및 G6PD), 5) NASH 인자(지질합성 인자, 염증인자 및 Fibrosis)을 확인하였다.

## II. Material and Method

### 1. 실험 디자인

본 실험은 소금의 농도에 따른 본태성 고혈압 쥐(Spontaneously Hypertensive Rats, SHR; 실험군)와 정상 혈압 쥐(Wistar Kyoto Rats, WKY; 대조군)를 Charles River Japan, Inc에서 공급받았다. SHR은 WKY에서 자연적으로 고혈압이 있는 쥐를 근친 교배한 종으로 수축기 혈압이 평균 200mmHg 이상 이르는 등 원래 사람의 본태성 고혈압(Essential Hypertension)을 위한 실험동물 모델로서 이용되며,[95] 7~15주 사이에 100%로 고혈압이 발생한다.[96] SHR의 대동맥 및 장간 동맥에서 내피의존 이완 반응이 WKY보다 저하되어 있으며, 이러한 변조된 혈관장력의 변화가 고혈압의 발생 및 유지에 기여하는 것으로 보인다.[97] SHR에서는 고혈압이 지속됨에 따라 혈관 근육세포 비대화와 내피세포의 비대화 또는 증식이 나타나고 내피세포 사이의 gap junction에 변화와 투과성 증가가 있다고 한다.[98] SHR은 나이에 따라 혈압 상승률이나 고혈압 정도도 다르므로 고염 섭취를 시작하는 나이에 따라서 그 반응도 다르게 나타날 것이다.[99]

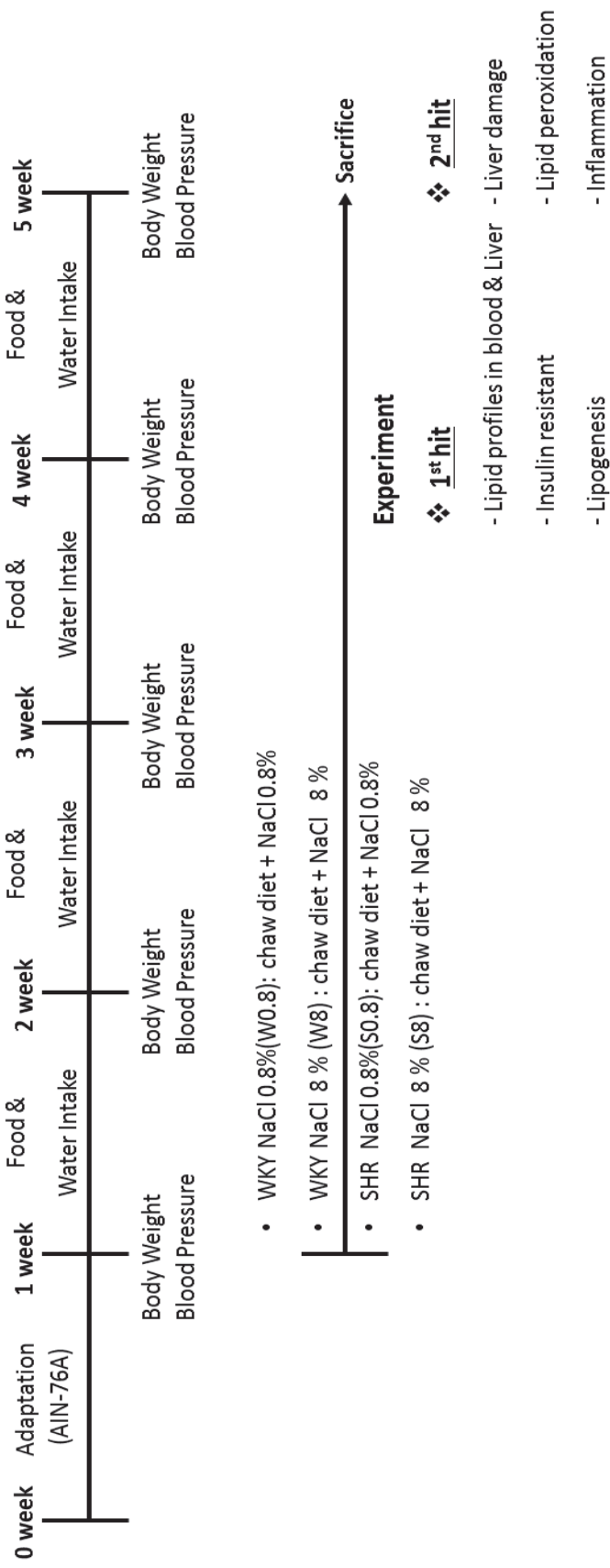
처음 일주일 동안은 적응 사육한 후, 무작위로 WKY와 SHR를 각각 8마리씩 4군으로 나눠 4주간 사육하였다. 물은 증류수로 공습하였으며, 사료와 물은 자유롭게(ad libitum) 섭취하도록 하였다. 동물 사육실의 조건은  $21 \pm 1$  °C와 습도  $55 \pm 1\%$ 를 유지하였으며, 12시간 dark-light cycle로 명암을 조절하였다. 4주간의 사육 후 12시간 이상 절식시킨 다음 에테르로 마취시켜 heart puncture로 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 EDTA tube에 담아 2000rpm에서 10분간 원심분리 시킨 후 혈장을 취하여 -80

℃에서 다음 분석 시까지 보관하였다. 심장, 신장, 간 조직은 0.9% NaCl에 담가 혈액을 제거하였으며, 물기를 완전히 제거한 후 무게를 측정하였다. 간의 제1엽은 10% 포르말린에 담가 보관하였고 나머지 간 조직은 액체 질소에 급속 냉동시켜 -80℃에 보관하였다.

**Table 2. The different characteristics between WKY and SHR strain provided by NBRP\*.**

| Strain Name                        | WKY           | SHR           |
|------------------------------------|---------------|---------------|
| Body Weight (g)                    | 241.5 ± 8     | 265.3 ± 9.7   |
| Systolic Blood Pressure (mmHg)     | 128 ± 13      | 169 ± 18      |
| Heart Rate (1/min)                 | 388 ± 21      | 464 ± 28      |
| Glucose (mg/dL)                    | 130 ± 6       | 122 ± 14      |
| Triglycerides (mg/dL)              | 36 ± 8        | 15 ± 4        |
| Total Cholesterol (mg/dL)          | 97 ± 5        | 59 ± 2        |
| Aspartate transaminase (IU/L)      | 76 ± 2        | 106 ± 11      |
| Alanine transferase (IU/L)         | 27 ± 1        | 40 ± 4        |
| <u>Sodium</u>                      |               |               |
| Plasma Sodium (mEq/L)              | 146.7 ± 0.9   | 146.5 ± 0.4   |
| Urine Na (mEq/L)                   | 100.1 ± 16.1  | 109 ± 22.2    |
| Na/Body Weight (μEq/100g/6 hrs)    | 121 ± 40      | 244 ± 55      |
| Heart (g)                          | 0.956 ± 0.093 | 1.151 ± 0.086 |
| Heart (g%)                         | 0.396 ± 0.041 | 0.434 ± 0.026 |
| Liver (g)                          | 6.226 ± 0.192 | 8.016 ± 0.392 |
| Liver (g%)                         | 2.579 ± 0.051 | 3.022 ± 0.106 |
| Kidneys (g)                        | 1.555 ± 0.045 | 1.695 ± 0.027 |
| Kidneys (g%)                       | 0.644 ± 0.014 | 0.64 ± 0.021  |
| Urine Volume (ml/6 hrs)            | 3.15 ± 1.07   | 6.5 ± 1.27    |
| Volume/Body Weight (mL/100g/6 hrs) | 1.2 ± 0.4     | 2.3 ± 0.4     |

\*: the National BioResource Project  
 ([http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr/strainsx/blood\\_d.aspx?BMP\\_BLOOD\\_ID=3](http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr/strainsx/blood_d.aspx?BMP_BLOOD_ID=3))[100]



**Fig 4. The experimental design of this study**

## 2. 실험 식이

본 실험에서 사용한 식이는 AIN-76A을 기준으로 하였으며, NaCl 0.8%와 8%의 식이는 AIN-76A식이 구성에서 NaCl을 추가로 첨가하였다. 실험 식이의 구성 비율은 Table 2과 같다.

처음 일주일 동안은 AIN-76A 식이로 적응 사육한 후, 무작위로 WKY와 SHR를 각각 8마리씩 4군으로 나누었다. AIN-76A식이에 NaCl 0.8%(NaCl 8g/kg, Na 3.2g/kg, 136.9mM/L)와 8%(NaCl 80g/kg, Na 32g/kg, 1368.9mM/L)를 추가 시킨 실험 식이를 제공하였다. 두 그룹은 NaCl 0.8% 식이를 먹인 WKY와 SHR그룹이고, 나머지 두 그룹은 NaCl 8% 식이를 먹인 WKY와 SHR그룹이다.(WKY NaCl 0.8%; WKY NaCl 8%; SHR NaCl 0.8%; SHR NaCl 8%)

**Table 3. Diet composition of experiment diet**

| <b>Ingredient</b>                 | <b>AIN-7-6A</b> | <b>NaCl 0.8%</b> | <b>NaCl 8%</b> |
|-----------------------------------|-----------------|------------------|----------------|
| Casein                            | 200             | 200              | 200            |
| DL-Methionine                     | 3               | 3                | 3              |
| Corn Starch                       | 150             | 150              | 150            |
| Sucrose                           | 500             | 500              | 500            |
| Cellulose, BW200                  | 50              | 50               | 50             |
| Corn Oil                          | 50              | 50               | 50             |
| Mineral Mix #200000 <sup>1)</sup> | 35              |                  |                |
| Sodium Chloride                   |                 | 7.941            | 79.41          |
| Vitamin Mix #300050 <sup>2)</sup> | 10              | 10               | 10             |
| Choline Bitartrate                | 2               | 2                | 2              |

<sup>1)</sup>Dyets #200000 AIN-76A Mineral Mix (g/Kg, use at 35g/Kg)  
 Calcium phosphate Dibasic 500.00; Sodium Chloride 74.00;  
 Potassium Citrate H<sub>2</sub>O 220.00; Potassium Sulfate 52.00; Magnesium  
 Oxide 24.00; Manganese Carbonate 3.50; Ferric Citrate U.S.P. 6.00;  
 Zinc Carbonate 1.60; Cupric Carbonate 0.30; Potassium Iodate 0.01;  
 Sodium Selenite 0.01; Chromium Potassium Sulfate 12H<sub>2</sub>O 0.55;  
 Sucrose, finely powdered 118.03

<sup>2)</sup>Dyets #300050 AIN-76A Vitamin Mixture (g/Kg, use at 35g/Kg)  
 Thiamine HCl 0.60; Riboflavin 0.60; Pyridoxine HCl 0.70; Niacin  
 3.00; Calcium Pantothenate 1.60; Folic Acid 0.20; Biotin 0.02;  
 Vitamin B12 (0.1%) 1.00; Vitamin A Palmitate (500,000 IU/g) 0.80;  
 Vitamin D3 (400,000 IU/g) 0.25; Vitamin E Acetate (500 IU/g)  
 10.00; Menadione Sodium Bisulfite 0.08; Sucrose finely powdered  
 981.15

### 3. 혈압 측정

혈압을 측정하기 위해서 비침습적 혈압 측정 방법인 tail-cuff 방법 (Non-Invasive Blood Pressure System, Kent Scientific Corporation)을 사용하였다. 본격적인 혈압 측정에 앞서, 적응 기간 동안 3일 연속으로 15분씩 Holder에 적응 훈련을 실시하였다. 혈압 측정에 앞서 Animal Warming Platform을 38℃까지 온도를 높여주었다. 쥐는 Holder의 nose cone을 쥐의 크기에 알맞게 고정시킨 후, 스스로 Holder안으로 들어갈 수 있도록 유도하였다. 쥐가 들어가면 꼬리만 Holder 밖으로 나올 수 있도록 조정하여 Thumb nut을 조여서 고정시킨다. 이 때 쥐가 불편하거나 다치지 않았는지 확인하였다. 혈압 측정은 쥐를 한 마리씩 Holder에 집어넣고 Animal Warming Platform 위에서 꼬리의 온도가 32~35℃까지 도달하면 시작하였다. 꼬리 시작 지점에 적당한 크기의 Occlusion cuff와 VPR cutt를 끼운 후 쥐가 안정화되면 혈압을 측정하였다.



**Fig 5. The picture of measuring Systolic Blood Pressure of WKY and SHR**

#### 4. 체중 증가량, 식이/물 섭취량, 식이효율

체중은 일주일에 한번 일정한 시간에 측정하였으며, 식이 및 음수 섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하였다. 식이 효율은 사육기간 동안의 체중 증가량을 식이 섭취량으로 나눈 값에 100을 곱하여 계산하였다.

$$\text{FER} = \frac{\text{Body Weight gain(g/Week)}}{\text{Food Intake (g/Week)}} \times 100$$

#### 5. 인슐린 저항성 검사

##### 1) 공복혈당 측정

혈장 glucose를 Mutarotase, Glucose oxidase, Peroxidase를 이용한 Enzymatic Colorimetric method(ASAN Pharm. Co, Korea)로 분석하였다. 시료 10  $\mu\text{l}$ 에 효소시약 1.5 ml 첨가하여 혼합한 후, 37°C에서 5분 가운시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준액의 glucose를 농도별로 위와 같은 방법으로 발색시켜 표준곡선을 작성하여 시료의 흡광도와 비교하여 시료의 glucose 농도를 구하였다.

##### 2) 인슐린 측정

혈장 인슐린은 Mouse/Rat Insulin ELISA Kit(MioBS, Japan)를 이용하여 분석하였다. 각 well에 95  $\mu\text{l}$ 의 Sample diluent와 시료 및 농도별로 희석한 표준물질을 5  $\mu\text{l}$ 씩 넣고 4°C에서 2시간 동안 반응시킨다. 각 well의 용액을 흡입한 후 300  $\mu\text{l}$ 의 washing buffer로 5번 세척한다. 이

때, 각 세척마다 well 안에 남은 용액이 없도록 완전히 제거하도록 한다. 100  $\mu\text{l}$ 의 anti-insulin enzyme conjugate 용액을 첨가한 후, 30분 동안 상온에서 반응시킨다. 위와 같이 7번 세척한 후 100  $\mu\text{l}$ 의 enzyme substrate 용액 첨가하고 빛을 차단한 상태로 40분 동안 상온에서 반응시킨다. 100  $\mu\text{l}$ 의 enzyme reaction stop solution을 첨가하고 흡광도를 450와 630 nm에서 측정한다. 450 nm에 찍은 흡광도 값에서 630 nm에서 찍은 흡광도 값을 뺀 값을 표준곡선을 이용하여 인슐린 수치를 계산한다.

### 3) HOMA-IR 계산

인슐린 저항성을 나타내는 Homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR)은 공복혈당과 인슐린 수치를 이용하여 아래의 식에 대입하여 계산하였다.

$$\text{HOMA IR} = \frac{\text{Serum insulin (mmol/L)}}{\text{Blood glucose (mmol/L)}} \div 22.5$$

## 6. 지질성상 검사

### 1) 중성지방 측정

혈청과 간의 중성지방은 Lipoproteinlipases(LPL), Glycerolkinase (GK), Glycerol-3-phosphateoxidase(GPO), Peroxidase(POD)를 이용한 Enzymatic Colorimetric method(ASAN Pharm. Co, Korea)로 분석하였다. Folch법을 이용하여 간에서 지질을 추출하였다. 간 0.5 g에 0.9% NaCl을 섞어 균질화 시킨 후 Folch solution (Chloroform/methanol:2/1)을 10 ml 첨가하였다. 4 $^{\circ}\text{C}$ , 3000 rpm, 10분간 원심분리 하여 하층액을 얻었으며 0.9% NaCl 2 ml씩 넣어주었

다. 잘 혼합한 다음에 4 °C, 3000 rpm, 10분간 원심분리하고 상층액을 제거하였다. 얻어진 하층액에 질소가스(N<sub>2</sub>)를 이용하여 용매를 제거한 후 메탄올에 녹여 사용하였다. 실험은 시료 10 µl에 효소시액 1.5 ml 첨가하여 혼합한 후, 37°C에서 10분 발색시킨 후 흡광도계를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 중성지방 표준액을 시료 10 µl 대신 넣어서 표준농도를 검사하여 시료의 중성지방 함량을 구하였다. 간의 중성지방 값은 Bradford를 이용한 단백질 값으로 보정하였다.

## 2) 총 콜레스테롤 측정

혈청과 간의 총 콜레스테롤은 cholesterol esterase, cholesterol oxidase, Peroxidase를 이용한 Enzymatic Colorimetric method (ASAN Pharm. Co, Korea)로 분석하였다. 간의 중성지방 함량 측정과 동일한 방법으로 전처리하여 실험에 사용하였다. 실험은 시료 10 µl에 효소시액 1.5 ml 첨가하여 혼합한 후, 37°C에서 5분 발색시킨 후 흡광도계를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 중성지방 표준액을 시료 10 µl 대신 넣어서 표준농도를 검사하여 시료의 중성지방 함량을 구하였다. 간의 중성지방 값은 Bradford를 이용한 단백질 값으로 보정하였다.

## 7. 간 효소 수치(AST/ALT) 측정

혈청 AST(GOT)와 ALT(GPT)의 농도는 Reitman-Frankel method(ASAN PHARM. Co, Korea)를 사용하여 분석하였다. 기질액 100 µl와 시료 20 µl를 넣고 잘 혼합하여 37°C에서 60분 반응시킨다. 정색시약 100 µl과 0.4N-NaOH용액 1000 µl을 넣고 혼합하여 등갈색으로 발색시킨 후 60분 이내에 파장 505 nm에서 비색측정을 하였다.

## 8. 지질과산화물 합량 및 관련 인자 측정

### 1) Malondialdehyde(MDA)

간 조직에서 대표적인 지질과산화물인 Malondialdehyde(MDA) 발생 정도를 비교하기 위해 Thiobarbituric acid(TBA)와 MDA간 반응에 따른 발색현상을 이용한 TBA reactive substances(TBARS) assay로 분석하였다. 간 0.1 g을 정량하여 1 ml 1.15% KCl용액과의 비율이 1:10이 되게 하여 균질화 하였다. sample 상층액 10  $\mu$ l에 SDS(8.1%) 20  $\mu$ l, Acetic acid(20%) 150  $\mu$ l, TBA(0.8%) 150  $\mu$ l, 증류수 70  $\mu$ l를 넣고 잘 혼합한 뒤 95°C에서 60분 동안 가열하였다. 가열 후 얼음에서 약 5분간 방치하여 식힌 다음, 증류수 100  $\mu$ l, N-Butanol: Pyridine(15:1) 혼합용액 500  $\mu$ l을 넣고 다시 잘 혼합하였다. 4000 rpm, 4°C에서 15분간 원심 분리 후 상층액을 채취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 1,1,3,3-tetramethoxypropane (Sigma Aldrich, US)을 에탄올 1 ml과 증류수 49 ml에 용해하여 사용하였고, 시료와 같은 방법으로 흡광도를 구해 표준곡선을 그려 실제 시료의 TBARS를 정량하였다. TRABS값은 Bradford법으로 분석한 간 단백질량으로 나누어 nM/mg으로 표시하였다.

### 2) Glucose-6-phosphate dehydrogenesis(G6PD) 분석

간 조직 0.1 g에 500  $\mu$ l lysis buffer(cell signaling technology Inc, US)와 protease inhibitor(GenDEPOT Inc, USA)를 첨가하여 조직을 완전히 분쇄하였다. 이후 4°C의 원심분리기에서 13,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후, 상층액을 분리하였다. Bradford method로 단백질 농도를 측정 후 6~12% gel에 SDS-PAGE를 실시하였다. 전기영동으로 분리된 단백질은 nitrocellulose membrane(GE Healthcare

Life Sciences, Amersham, Germany)으로 120 V로 90분 동안 transfer한 후, 3% BSA로 상온에서 1시간 blocking하였다. G6PD 일차 항체를 이용하여 membrane을 4℃에서 12~16동안(overnight) 반응시켰다. TBST 용액으로 membrane를 4번 씻어준 후 이차 항체를 상온에서 1시간 반응시켰다. membrane을 다시 10분씩 3번 씻어준 다음 ECL용액(GE Healthcare Life Sciences, Amersham, Germany)으로 발색 후 ChemiDoc Touch Imaging System(Bio-Rad Laboratories Inc, USA)을 사용하여 band를 확인하였다. 이후, Image Lab Touch Software을 이용하여 분석하였다.

## 9. 간의 Lipogenesis 인자 분석

간 조직 0.1g에 500  $\mu$ l lysis buffer(cell signaling technology Inc, US)와 protease inhibitor(GenDEPOT Inc, USA)를 첨가하여 조직을 완전히 분쇄하였다. 이후 4℃의 원심분리기에서 13,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후, 상층액을 분리하였다. Bradford method로 단백질 농도를 측정 한 후 6~12% gel에 SDS-PAGE를 실시하였다. 전기영동으로 분리된 단백질은 nitrocellulose membrane(GE Healthcare Life Sciences, Amersham, Germany)으로 120 V로 90분 동안 transfer한 후, 3% BSA로 상온에서 1시간 blocking하였다. AMPK, p-AMPK, ACC, p-ACC, FAS, SREBP-1c 일차 항체를 이용하여 membrane을 4℃에서 12~16동안(overnight) 반응시켰다. TBST 용액으로 membrane를 4번 씻어준 후 이차 항체를 상온에서 1시간 반응시켰다. membrane을 다시 10분씩 3번 씻어준 다음 ECL용액(GE Healthcare Life Sciences, Amersham, Germany)으로 발색 후 ChemiDoc Touch Imaging System(Bio-Rad Laboratories Inc,

USA)을 사용하여 band를 확인하였다. 이후, Image Lab Touch Software을 이용하여 분석하였다.

## 10. 간의 염증 인자 분석

간 조직 0.1 g에 500  $\mu$ l lysis buffer(cell signaling technology Inc, US)와 protease inhibitor(GenDEPOT Inc, USA)를 첨가하여 조직을 완전히 분쇄하였다. 이후 4°C의 원심분리기에서 13,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후, 상층액을 분리하였다. Bradford method로 단백질 농도를 측정 후 6~12% gel에 SDS-PAGE를 실시하였다. 전기영동으로 분리된 단백질은 nitrocellulose membrane(GE Healthcare Life Sciences, Amersham, Germany)으로 120 V로 90분 동안 transfer한 후, 3% BSA로 상온에서 1시간 blocking하였다. IL-6, MCP-1, COX-2, IL-10 일차 항체를 이용하여 membrane을 4°C에서 12~16동안(overnight) 반응시켰다. TBST 용액으로 membrane를 4번 씻어준 후 이차 항체를 상온에서 1시간 반응시켰다. membrane을 다시 10분씩 3번 씻어준 다음 ECL용액(GE Healthcare Life Sciences, Amersham, Germany)으로 발색 후 ChemiDoc Touch Imaging System(Bio-Rad Laboratories Inc, USA)을 사용하여 band를 확인하였다. 이후, Image Lab Touch Software을 이용하여 분석하였다.

## 11. 간의 Fibrosis 인자 분석

미량의 간 조직에 Trizol (Molecular Research Center, Inc) 1 ml 을 넣고 균질화한 후 Chloroform (Sigma Aldrich, USA)을 Trizol 100  $\mu$ l당 20  $\mu$ l의 비율로 첨가하여 15초간 잘 혼합하여 상온에서 5분간 방치한다. 층이 생긴 것을 확인 후 13,000rpm, 4°C에서 15분간 원심 분

리한다. 약 200  $\mu\text{l}$  정도의 깨끗한 상층액을 회수하여 동량의 Isopropanol (Sigma Aldrich, USA)을 혼합 후 천천히 위 아래로 흔들고 상온에서 10분간 방치하였다. 이를 다시 13,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리한 후 차가운 75% 에탄올로 수세하고 3분간 건조하여 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 50  $\mu\text{l}$ 의 diethyl pyrocarvionate(DEPC)에 녹여서 사용하였다.

역전사 반응은 SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen)을 사용하였다. 준비한 5  $\mu\text{g}$ 의 total RNA에 1  $\mu\text{l}$ 의 OligoDT, 1  $\mu\text{l}$ 의 dNTP 넣고 DEPC를 총량 14  $\mu\text{l}$ 가 되도록 첨가한다. 65°C에서 5분간 가열한 후 얼음에서 약 1분간 식혀준다. 그 후, 5× First-Strand Buffer 4  $\mu\text{l}$ , 0.1 M DTT 1  $\mu\text{l}$ , Superscript III RT 1  $\mu\text{l}$ 을 첨가하여 잘 혼합한다. 혼합액을 50°C에서 60분간 가열하고, 70°C에서 15분 더 가열하여 First-strand cDNA를 합성하였다.

TGF- $\beta$  1, SMA- $\alpha$ , NOX2의 mRNA의 수준을 분석하기 위해서 quantitative real-time PCR법을 이용하였으며, Primer의 sequences는 아래 Table 3와 같다. SYBR Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, USA) 50  $\mu\text{l}$ , forward와 reverse primer 각각 0.5  $\mu\text{l}$ , 증류수 4  $\mu\text{l}$ 을 혼합하여 반응액 55  $\mu\text{l}$ 을 준비하였다. 합성한 cDNA을 50배 희석하여 5  $\mu\text{l}$ 를 반응액에 혼합하여 총량 60  $\mu\text{l}$ 로 하였다. CFX connect™ Real-Time system (Bio-Rad Laboratories, USA)을 이용하여 95°C에서 3분 반응시킨 후, 95°C에서 10초, 60°C에서 20초, 72°C에서 20초를 1회로 반응조건을 맞추어 39 cycle를 반응시켰다. 이 후 95°C에서 10초, 65°C에서 3초간 반응시켰다.

**Table 4. Primers sequences used for quantification of gene expression by real-time PCR.**

| Gene           | Primers                         | Size(bp) |
|----------------|---------------------------------|----------|
| NOX2           | 5' -ATGAGGTGGTGGTATGTTAGTGG-3'  | 64       |
|                | 5' -GACTTGAGAATGGAGGCAGAG-3'    |          |
| TGF- $\beta$ 1 | 5' -TGCGCCTGCAGAGATTCAAG-3'     | 82       |
|                | 5' -ACGTAACGCCAGGAATTGTTGCTA-3' |          |
| SMA- $\alpha$  | 5' -AGCCAGTCGCCATCAGGAAC-3'     | 127      |
|                | 5' -GGGAGCATCATCACCAGCAA-3'     |          |
| GAPDH          | 5' -GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'   | 140      |
|                | 5' -TGGTGAAGACGCCAGTA-3'        |          |

Abbreviations: NOX2,4; NAPDPH Oxidase 2,4, TGF- $\beta$  1, Transforming growth factor beta 1; SMA- $\alpha$ , smooth muscle actin-alpha; GAPDH, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

## 12. 통계 분석

본 연구의 모든 실험은 3반복으로 수행하였으며, 평균  $\pm$  표준편차 (mean  $\pm$  SD)로 나타내었다. 실험 결과는 Statistical Package for the Social Science(SPSS) software version 22(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분석하였다. 군에 따른 유의성 검증은 t-test와 ANOVA test를 이용하였으며, p-value값이 0.05미만일 때 통계적으로 유의적인 차이가 있는 것으로 판정하였다.

### Ⅲ. 연구 결과 및 고찰

#### 1. 체중, 식이섭취량 및 식이효율

WKY와 SHR의 식이 섭취에 따른 체중변화를 관찰하기 위해서 체중, 식이 및 물 섭취량, 식이효율을 측정하였다. WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 체중은 7% 감소하였고, 식이 및 물 섭취량은 각각 7%, 132% 증가하였다. SHR은 체중이 5% 감소하였고, 식이 및 물 섭취량이 각각 4% 101% 증가하였다. 식이효율은 WKY와 SHR 모두 유의적인 변화가 없었다.

Coelho et al의 연구에 의하면[101] 본 실험과 같은 0.8%와 8%의 나트륨을 섭취시킨 Wistar에서 8% 나트륨을 섭취한 쥐의 체중 감소와 식이 섭취량 증가를 확인하였다. 이에 Coelho는 고나트륨을 섭취한 쥐에서 식이 섭취량이 증가하였음에도 불구하고 체중 감소가 일어나는 이유를 갈색지방에서의 Uncoupling Protein 1(UCP1) 발현의 증가로 인한 에너지 소비 증가에 의한 것으로 보고하였다. NASH를 유발하는 것으로 알려진 Choline-deficient L-amino acid defined diet(CDAA)에 나트륨이 첨가된 식이를 섭취한 SHR에서 고나트륨 섭취 시 체중 감소가 나타났다.[102] Ogiwara et al 연구에 의하면[103], Dahl salt-sensitive (Dahl-S)쥐와 salt-resistant(Dahl-R)쥐가 0.3%와 8% 나트륨을 섭취하였을 때, 두 쥐 모두 식이 섭취량에서 유의적인 차이가 없었음에도 불구하고 Dahl-S에서는 체중이 감소한 반면에 Dahl-R의 경우 체중의 변화가 없었다. 본 실험과 유사하게 고나트륨의 섭취는 체중감소와 식이 및 물 섭취량의 증가에 영향을 미치는 것을 알 수 있다.

**Table 5. The effects of NaCl 0.8% and 8% diet on body weight, Food/ Water intake and Food efficiency in WKY and SHR.**

|                      | WKY                         |                              | SHR                         |                              | P-value |
|----------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------|
|                      | NaCl 0.8%<br>(n=8)          | NaCl 8%<br>(n=8)             | NaCl 0.8%<br>(n=7)          | NaCl 8%<br>(n=8)             |         |
| Initial Weight(g)    | 125.63 ± 5.24               | 124.75 ± 5.78                | 128.29 ± 5.15               | 127.38 ± 8.37                | NS      |
| Final Weight(g)      | 249.88 ± 5.82 <sup>bc</sup> | 234.38 ± 12.57 <sup>a*</sup> | 256.29 ± 10.77 <sup>c</sup> | 244.88 ± 9.61 <sup>b*</sup>  | 0.002   |
| Total Weight Gain(g) | 123.5 ± 9.89 <sup>ab</sup>  | 109.63 ± 13.10 <sup>a*</sup> | 133.71 ± 19.23 <sup>b</sup> | 119.38 ± 10.62 <sup>ab</sup> | 0.016   |
| Food Intake(g/day)   | 15.26 ± 2.45 <sup>a</sup>   | 16.40 ± 2.25 <sup>b*</sup>   | 16.41 ± 2.78 <sup>b#</sup>  | 17.20 ± 2.46 <sup>c**</sup>  | <0.001  |
| Water Intake(ml/day) | 31.69 ± 10.16 <sup>a</sup>  | 73.82 ± 12.60 <sup>d*</sup>  | 34.33 ± 12.90 <sup>b#</sup> | 69.08 ± 11.46 <sup>c**</sup> | <0.001  |
| FER(%)               | 27.37 ± 14.70               | 24.10 ± 13.81                | 24.50 ± 6.91                | 21.31 ± 10.22                | NS      |

Values are expressed mean ± SD

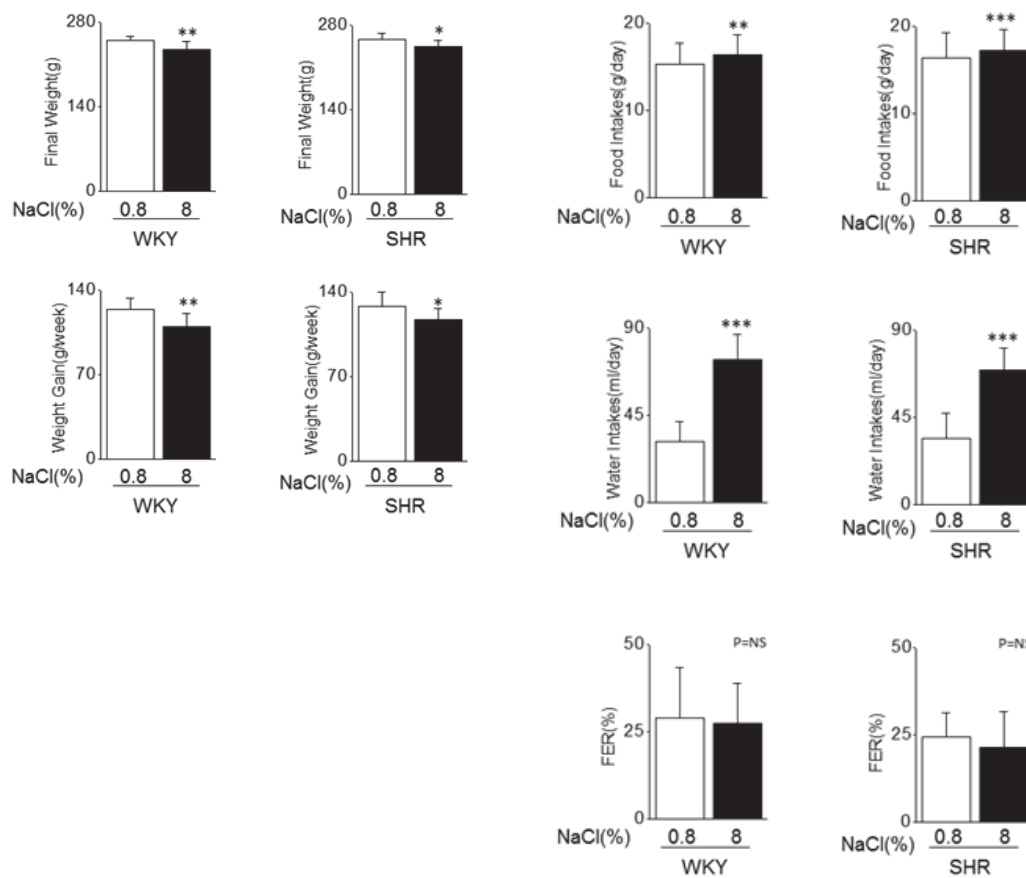
NS : Values are not significantly among groups

a,b,c : differences in continuous variables between the groups were tested by ANOVA

FER : Food efficiency rate

\*: p<0.05 compared with NaCl 0.8% group

#: p<0.05 compared with WKY group



**Fig 6. The effects of NaCl 0.8% and 8% diet on body weight(a) and Food intake(b) in male WKY and SHR.**

(\*:  $p < 0.05$  compared with NaCl 0.8% group, \*\*:  $p < 0.01$  compared with NaCl 0.8% group, \*\*\*:  $p < 0.001$  compared with NaCl 0.8% group)

## 2. 혈압 및 심장무게

WKY와 SHR에서 고나트륨이 심장에 미치는 영향을 확인하고자 체중 당 심장 무게와 혈압을 측정하여 Table 6, Figure 7에 나타내었다. Baseline에서 SHR의 혈압은 WKY보다 약 1.1배 증가하였다. WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 심장 무게와 혈압이 각각 11%, 17% 증가하였다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 심장 무게와 혈압이 각각 8%, 20% 증가하였다.

나트륨의 섭취는 고혈압을 유발하고 이는 동맥혈압의 증가로 인해 심장비대를 야기한다.[104] Layla et al[105]에 의하면 일반 식이를 섭취한 WKY와 SHR에서 SHR군이 WKY군보다 유의적으로 혈압이 증가하는 것을 나타냈다. 이는 WKY의 혈압이 시간에 따라 큰 차이 없이 안정적인 것에 비해서 SHR군의 혈압이 시간에 따라 증가하였기 때문이다. Koga et al[106]은 WKY와 SHR 쥐에게 각각 0.5%와 8%의 소금은 섭취시킨 후, 혈압을 측정한 결과 SHR군이 WKY군보다 유의적으로 혈압이 상승하였으며, 8% 소금을 먹인 SHR에서 가장 높은 혈압을 보여주었다. Ogiyama et al 연구에 의하면[107], Dahl salt-sensitive(Dahl-S)와 salt-resistant (Dahl-R)쥐에서 0.3%와 8% 나트륨을 먹였을 때, Dahl-R의 경우 혈압의 변화가 없었던 반면에 Dahl-S에서는 혈압이 유의적으로 증가하였다. 또 다른 논문에서는 Dahl Salt-Sensitive쥐에게 저나트륨(0.3%)과 고나트륨(8%)을 각각 섭취시켰을 때 혈압 및 체중 당 심장의 무게가 고나트륨을 섭취한 군에서 유의적으로 높았다고 한다.[108] Henry et al[109]등에 의하면 1%와 8%의 소금을 섭취한 WKY와 SHR 쥐에서 혈압이 그룹별, 농도별 증가하였다. 또한 고염은 WKY와 SHR 모두에서 좌심실 비대를 유발하였으며, 1% 소금을 섭취한 SHR에서

좌심실의 무게가 이에 대응하는 WKY보다 증가하였다고 보고하였다. John et al[110] 연구에서는 Dahl Salt-Sensitive쥐와 Salt-Resistant 쥐에서 소금의 농도가 증가하면 혈압 증가와 함께 심장 무게가 증가하는 것으로 나타났다.

나트륨의 섭취가 증가할수록 혈압 및 체중 당 심장의 무게가 증가하였다. 따라서 고나트륨 섭취는 쥐의 strain과는 상관없이 혈압 및 심장비대를 야기하는 것으로 보인다.

**Table 6. The organ weight, first and final SBP, Urine creatinine in WKY and SHR that fed NaCl 0.8 and 8% diet**

|                                | WKY                         |                              | SHR                          |                               | P-value |
|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------|
|                                | NaCl 0.8%<br>(n=8)          | NaCl 8%<br>(n=8)             | NaCl 0.8%<br>(n=7)           | NaCl 8%<br>(n=8)              |         |
| <b>Heart/Body Weight (%)</b>   | 0.39 ± 0.03 <sup>a</sup>    | 0.46 ± 0.05 <sup>b*</sup>    | 0.45 ± 0.04 <sup>b#</sup>    | 0.54 ± 0.05 <sup>c**</sup>    | <0.001  |
| <b>Kidney/Body Weight (%)</b>  | 94.56 ± 12.93 <sup>c</sup>  | 83.96 ± 13.03 <sup>bc</sup>  | 73.86 ± 5.89 <sup>ab#</sup>  | 69.87 ± 7.84 <sup>a#</sup>    | <0.001  |
| <b>Liver/Body Weight (%)</b>   | 2.52 ± 0.13 <sup>a</sup>    | 2.51 ± 0.25 <sup>a</sup>     | 2.74 ± 0.10 <sup>b#</sup>    | 2.76 ± 0.14 <sup>b#</sup>     | 0.008   |
| <b>1wk SBP(mmHg)</b>           | 164.53 ± 15.93 <sup>a</sup> | 160.06 ± 14.53 <sup>a</sup>  | 183.32 ± 12.80 <sup>b#</sup> | 183.18 ± 11.46 <sup>b#</sup>  | 0.007   |
| <b>4wk SBP(mmHg)</b>           | 160.42 ± 10.19 <sup>a</sup> | 178.78 ± 20.21 <sup>b*</sup> | 197.35 ± 9.30 <sup>c#</sup>  | 213.22 ± 13.42 <sup>d**</sup> | <0.001  |
| <b>Urine Creatinine(mg/dl)</b> | 80.26 ± 12.26 <sup>ab</sup> | 68.92 ± 9.09 <sup>a</sup>    | 91.33 ± 1.11 <sup>bc</sup>   | 101.13 ± 2.06 <sup>c**</sup>  | 0.01    |

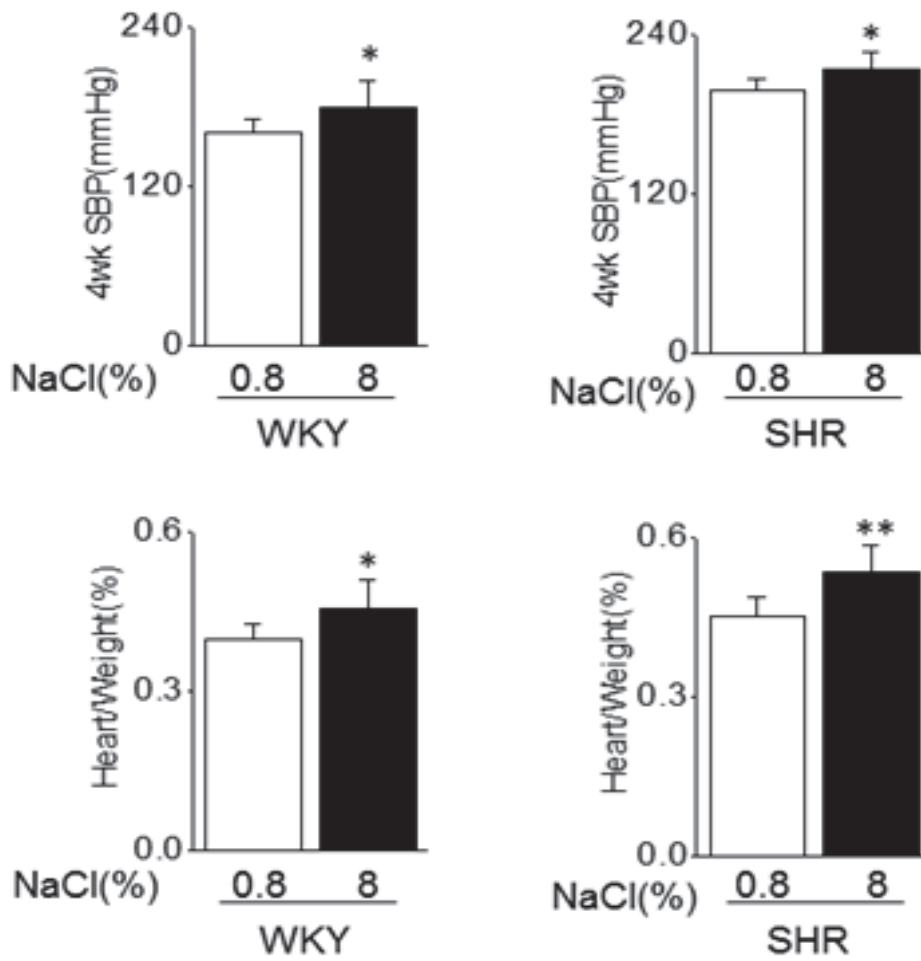
Values are expressed mean ± SD

NS : Values are not significantly among groups

a,b,c : differences in continuous variables between the groups were tested by ANOVA

\*: p<0.05 compared with NaCl 0.8% group

#: p<0.05 compared with WKY group



**Fig 7. The 4wk SBP(a) and heart/body weight(b) in WKY and SHR that fed NaCl 0.8 and 8% diet.**

(\*:  $p < 0.05$  compared with NaCl 0.8% group, \*\*:  $p < 0.01$  compared with NaCl 0.8% group)

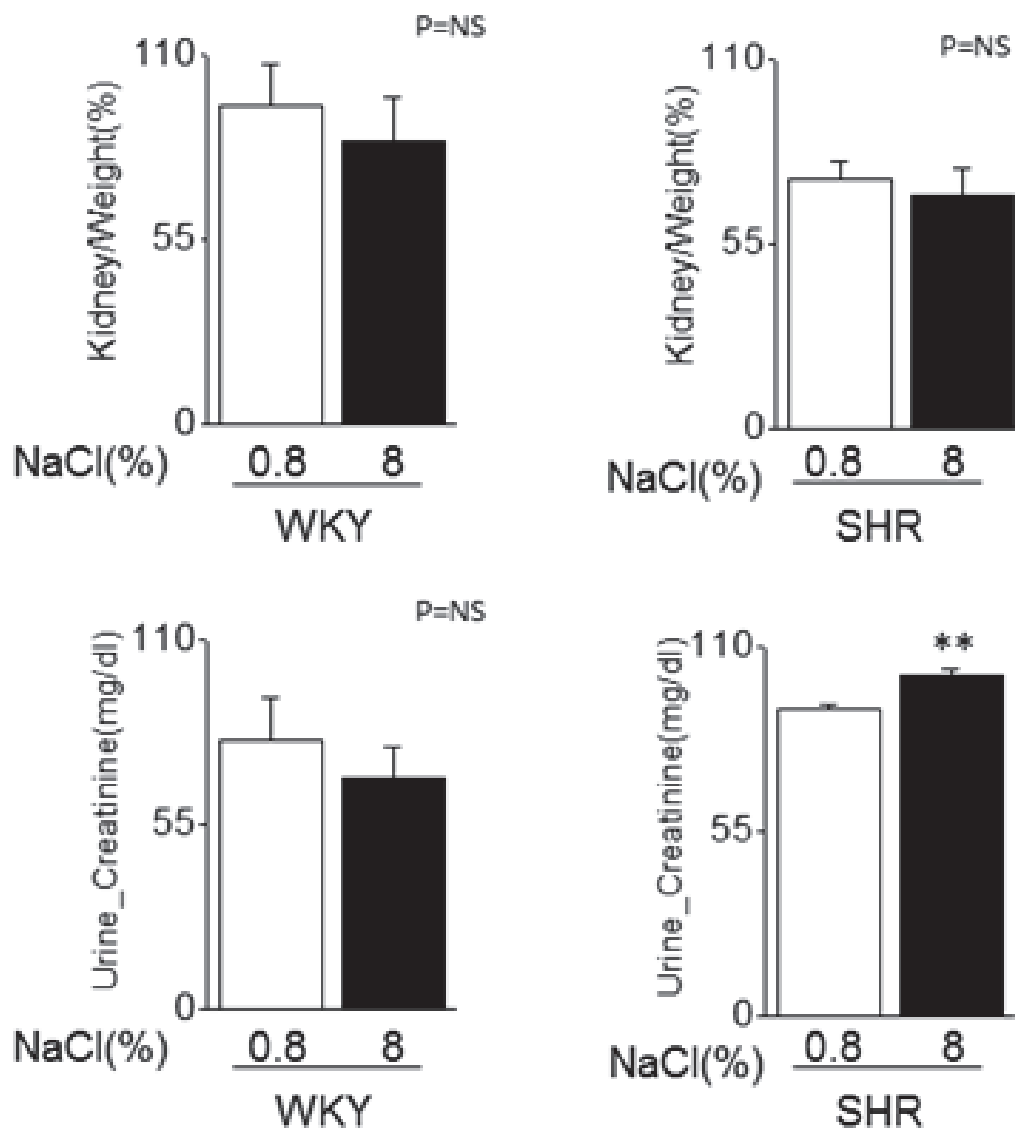
### 3. 신장 무게 및 뇨 크레아티닌

WKY와 SHR에서 고나트륨이 신장에 미치는 영향을 확인하고자 체중 당 신장 무게와 뇨 크레아티닌은 Table 6과 Figure 8에 나타내었다. 크레아티닌은 근육의 크레아틴 대사산물로 간에서 생성되고 소변으로만 배출이 가능하다. 따라서 크레아티닌은 신장을 통해 배출되어 재흡수 되지 않기 때문에 신장 기능의 이상을 감지하는 지표로 사용된다.[111]

WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 신장 무게와 뇨 크레아티닌은 유의적인 변화가 없었다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 신장 무게의 변화는 없지만 뇨 크레아티닌은 10% 증가하였다. 저나트륨군과 고나트륨군 모두 SHR의 신장무게가 WKY보다 약 20% 감소하였다.

Henry et al[112]에 의하면, 고나트륨은 WKY와 SHR 모두에서 신장 비대를 유발하였으나 동일한 농도의 나트륨을 섭취한 SHR의 신장 무게가 WKY에 비해 유의적으로 낮았다. Dahl Salt-Sensitive쥐에게 저나트륨 (0.3%)과 고나트륨 (8%)을 각각 섭취시켰을 때 체중 당 신장의 무게는 고나트륨을 섭취한 군에서 유의적으로 높았다고 한다.[113] Park의 논문에서는 Dahl Salt-Sensitive쥐에게 저나트륨 (0.3%)과 고나트륨 (8%)을 각각 섭취시켰을 때 Proteinuria는 고나트륨을 섭취한 군에서 유의적으로 높았다.[114]

비록 나트륨의 섭취에 따른 체중 당 신장의 무게의 유의적인 변화는 없었으나, 저나트륨군과 고나트륨군 모두 SHR이 WKY보다 체중 당 신장의 무게가 감소하였다 또한 SHR에서 고나트륨군에서 뇨 크레아티닌은 증가하였다 따라서 고나트륨은 SHR에게 신장 근육 손상 및 기능 이상을 야기하는 것으로 보인다.



**Fig 8. The kidney/body weight(a) and urine creatinine(b) in WKY and SHR fed NaCl 0.8 and 8% diet**

(\*\* : p<0.01 compared with NaCl 0.8% group)

## 4. 혈청 chemistry

### 1) 혈청 중성지방(TG) 및 총 콜레스테롤(TC)

WKY와 SHR에서 혈청의 중성지방(TG)과 총 콜레스테롤(TC)로 혈청 지질 수준을 확인하여 Table 7과 Figure 9에 나타냈다. WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 TG, TC 모두 유의적인 변화가 없었다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 혈청 TG는 22% 감소하였고 TC는 유의적인 변화가 없었다. 저나트륨군과 고나트륨군 모두 SHR의 혈청 TC가 WKY보다 약 50% 감소하였다. Tahar et al[115]에 의하면 일반 식이를 섭취한 WKY와 SHR의 혈액 샘플에서 TG와 TC를 분석한 결과, 중성지방의 경우 유의적인 차이가 없으나 총 콜레스테롤의 함량은 SHR이 WKY보다 감소하였다. Ogihara et al은 0.3%와 8%의 나트륨을 섭취한 Sprague Dawley(SD) 쥐에서 고나트륨군의 중성지방이 유의적으로 감소하였으나, 총 콜레스테롤은 유의적인 차이가 없었다.[116] 고나트륨의 섭취는 혈청 총 콜레스테롤에는 영향을 미치지 않으나, 혈청 중성지방은 감소시켰다.

### 2) 인슐린 저항성

SHR와 WKY의 인슐린 저항성을 확인하기 위해서 공복혈당, 인슐린 농도, HOHA-IR을 측정하여 Table 7과 Figure 9에 나타내었다. WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 공복혈당, 인슐린, HOMA-IR은 유의적인 변화가 없었다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 공복혈당은 13% 증가하였으나, 인슐린, HOMA-IR은 모두 유의적인 변화가 없었다. 저나트륨군과 고나트륨군 모두 SHR의 인슐린이 WKY보다 20% 감소하였다. Ahmad et al에 의하면[117], 일반 식이를 섭취한 WKY와 SHR의 공복혈당의 변화는 34일까지 유의적인 차이는 없었다. Ogihara et al

의 연구에 의하면[118], 고나트륨(NaCl 8%) 식이를 섭취한 Sprague Dawley(SD) 쥐에서 대조군(NaCl 0.3%)에 비해 공복혈당 및 혈중 인슐린 농도가 유의적으로 증가하였다. 또한 Hyperinsulinemic-Euglycemic Clamp 중 glucose infusion과 disposal rate가 고나트륨을 섭취할수록 유의적으로 낮아질 뿐만 아니라 간의 포도당 생성을 억제하는 인슐린의 활성도 손상되었던 것을 확인하여 고나트륨 섭취가 인슐린 저항성을 유도함을 제안하였다. Giner의 연구에 따르면[119], 소금 민감성을 가진 고혈압 환자가 소금 저항성을 가진 환자보다 인슐린 저항성을 보였다. 본 연구에서는 SHR만 공복혈당이 증가되었으나 고나트륨 섭취가 인슐린 저항성을 유발하지는 않았다.

**Table 7. The blood biochemistry and liver MDA in WKY and SHR that fed NaCl 0.8 and 8% diet.**

|                                  | WKY                        |                            |                            | SHR                           |                               |        | P-value |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------|---------|
|                                  | NaCl 0.8%<br>(n=8)         | NaCl 8%<br>(n=8)           | NaCl 0.8%<br>(n=7)         | NaCl 8%<br>(n=8)              | NaCl 8%<br>(n=8)              |        |         |
| <b>Triglyceride (ul/dl)</b>      | 30.25 ± 3.44 <sup>b</sup>  | 30.49 ± 3.97 <sup>b</sup>  | 30.43 ± 5.49 <sup>b</sup>  | 23.59 ± 3.38 <sup>a*#</sup>   | 23.59 ± 3.38 <sup>a*#</sup>   | <0.001 |         |
| <b>Total cholesterol (ul/dl)</b> | 84.00 ± 22.29 <sup>b</sup> | 82.89 ± 17.27 <sup>b</sup> | 44.62 ± 9.43 <sup>a#</sup> | 47.68 ± 15.16 <sup>a#</sup>   | 47.68 ± 15.16 <sup>a#</sup>   | <0.001 |         |
| <b>Glucose(mg/dl)</b>            | 83.56 ± 6.32 <sup>a</sup>  | 86.94 ± 8.56 <sup>a</sup>  | 90.93 ± 11.18 <sup>a</sup> | 103.13 ± 10.28 <sup>b*#</sup> | 103.13 ± 10.28 <sup>b*#</sup> | 0.001  |         |
| <b>Insulin(ng/ml)</b>            | 0.43 ± 0.11 <sup>b</sup>   | 0.46 ± 0.11 <sup>b</sup>   | 0.34 ± 0.03 <sup>a#</sup>  | 0.34 ± 0.06 <sup>a#</sup>     | 0.34 ± 0.06 <sup>a#</sup>     | 0.038  |         |
| <b>HOME-IR</b>                   | 0.029 ± 0.007              | 0.031 ± 0.01               | 0.025 ± 0.004              | 0.029 ± 0.006                 | 0.029 ± 0.006                 | NS     |         |
| <b>AST(IU/ml)</b>                | 1.40 ± 0.42 <sup>a</sup>   | 1.20 ± 0.53 <sup>a</sup>   | 1.35 ± 0.64 <sup>a</sup>   | 2.35 ± 0.90 <sup>b*#</sup>    | 2.35 ± 0.90 <sup>b*#</sup>    | 0.021  |         |
| <b>ALT(IU/ml)</b>                | 11.05 ± 1.45 <sup>a</sup>  | 10.17 ± 2.60 <sup>a</sup>  | 10.04 ± 3.38 <sup>a</sup>  | 15.04 ± 3.35 <sup>b*#</sup>   | 15.04 ± 3.35 <sup>b*#</sup>   | 0.012  |         |
| <b>Liver MDA(nM/mg)</b>          | 1.28 ± 0.25 <sup>a</sup>   | 1.41 ± 0.22 <sup>a</sup>   | 1.76 ± 0.20 <sup>b#</sup>  | 1.78 ± 0.16 <sup>b#</sup>     | 1.78 ± 0.16 <sup>b#</sup>     | <0.001 |         |

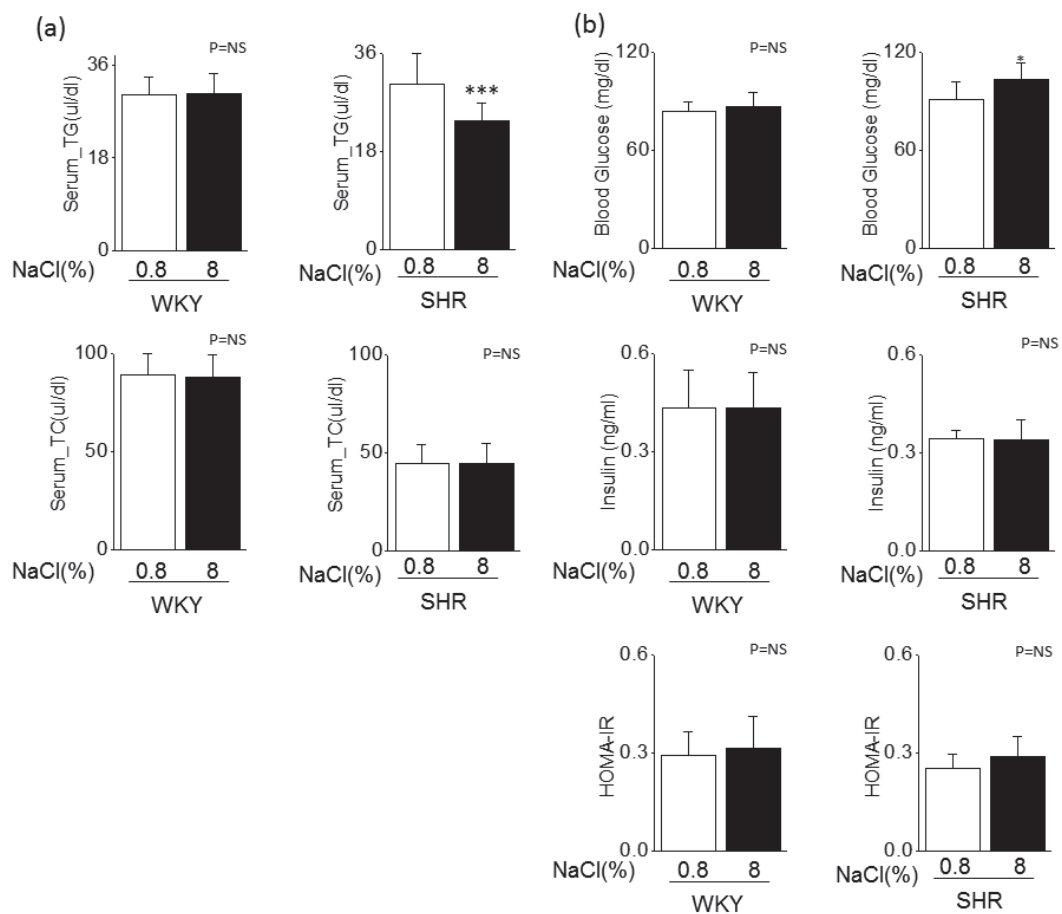
Values are expressed mean ± SD

NS : Values are not significantly among groups

a,b,c : differences in continuous variables between the groups were tested by ANOVA

\*: p<0.05 compared with NaCl 0.8% group

#: p<0.05 compared with WKY group



**Fig 9. The difference in plasma lipid profiles(a) and insulin resistance biomarkers (glucose, insulin and HOMA-IR, b) in WKY and SHR fed NaCl 0.8% and 8% diet.**

(\*:  $p < 0.05$  compared with NaCl 0.8% group, \*\*\*:  $p < 0.001$  compared with NaCl 0.8% group)

## 5. 간 기능 손상 정도

### 1) 혈청 AST, ALT

간 기능 측정의 지표 성분인 혈청 AST, ALT 농도는 Table 5, Figure 10에 나타내었다. 혈청 AST와 ALT는 간 독성으로 인한 간세포의 괴사나 파괴가 진행됨에 따라 aminotransferase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타낸다.[120] 지방간에서 간세포로부터 방출되는 AST와 ALT효소는 지방 침착이 진행될수록 유출이 증가하게 된다.[121] WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 AST, ALT의 유의적인 변화가 없었다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 혈청 AST, ALT가 각각 75%, 50% 증가하였다.

Kim[122]의 연구에서 간 독성 작용제로 알려진 CCl<sub>4</sub>를 처치한 SD쥐의 혈청 AST, ALT 수치는 각각 약 3배, 8배 증가하였다. Mattace Raso et al에 의하면[123], 고지방식을 섭취한 SD쥐에서 대조군에 비해 혈청 AST, ALT 수치가 증가하였다. 또 다른 연구에서 NASH 모델을 위해서 고지방고콜레스테롤 식이를 먹인 SD쥐에서 대조군에 비해 혈청 AST, ALT 수치가 증가하였다.[124] 위에 두 논문은 NASH 연구를 한 것을 아니지만 CCl<sub>4</sub>와 고지방식은 NASH 유발 식이로 사용되고 있는 식이들이다. NASH 유발에 사용하는 식이를 먹인 경우 AST, ALT 수치가 증가하였고 본 연구에서도 고나트륨의 섭취가 AST와 ALT를 증가시키는 것으로 보아 고나트륨으로 인한 간 독성이 NASH 발병에 영향을 미치는 것으로 보인다.

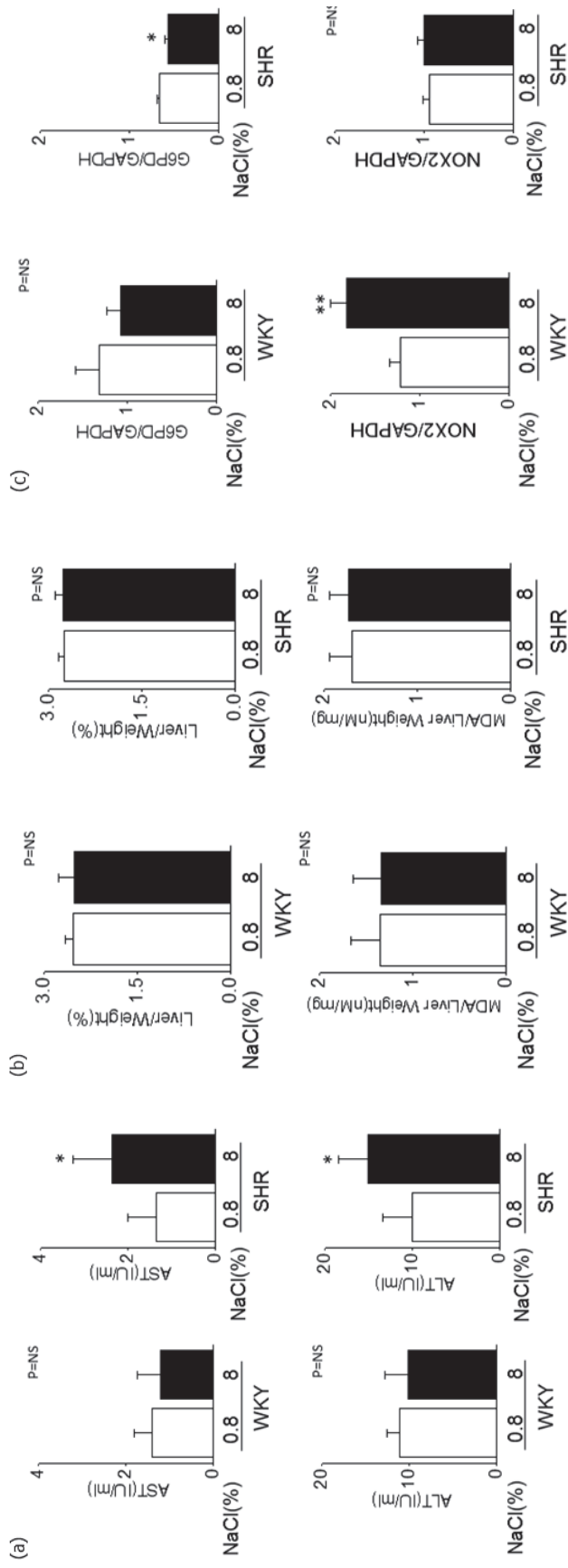
### 2) 간 무게, 지질과산화물(MDA), G6PD

SHR과 WKY의 산화스트레스를 확인하기 위해서 체중 당 간 무게, 지질과

산화물(MDA), G6PD를 Figure 10에 나타내었다. MDA는 대표적인 지질과산화물로 간, 심장, 신장 등의 장기에서 지질과산화물을 증가시키는 요인 중 하나는 비만이다. MDA의 증가는 활성산소의 축적을 증가시켜 지질과산화물의 생성을 자극하고 산화스트레스를 증가시킨다.[125] G6PD는 NADPH 생성하여 세포 내 산화 환원 전위 및 세포 생존에 중요한 효소이다.[126] G6PD 활성 억제는 NADPH의 수준을 감소시켜 결과적으로 산화스트레스를 증가시킨다.[127] WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 간 무게와 MDA, G6PD의 유의적인 변화가 없었다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 G6PD가 14% 감소하였으나 간 무게와 MDA는 유의적인 변화가 없었다. 저나트륨군과 고나트륨군 모두 SHR에서 WKY보다 간 무게, MDA가 각각 10%, 25% 증가하였고, G6PD는 50% 감소하였다.

Kim[128]의 연구에서 간 독성 작용제로 알려진 CCl<sub>4</sub>를 처치한 SD쥐의 체중 당 간 무게 및 MDA의 증가를 확인하였다. 또한 콜라겐 합성(저장)의 지표인 Hydroproline과 MDA는 양의 상관관계, SOD와는 음의 상관관계를 보여주었다. NASH 모델을 위해서 고지방고콜레스테롤 식이를 먹인 SD쥐에서 대조군에 비해 간 MDA가 증가하였다.[129]

고나트륨 섭취 시 SHR에서만 G6PD는 감소하였고 체중 당 간 무게와 MDA는 트륨에 의한 변화는 없으나 SHR이 WKY보다 유의적으로 증가하였다. SHR에서만 나트륨 섭취에 따른 산화스트레스의 증가가 관찰되었다.



**Fig 10. The effects of NaCl 0.8% and 8% diet on AST & ALT(a) and liver/body weight, liver MDA(b), G6PD, NOX2(c) in WKY and SHR. (\*: p<0.05 compared with NaCl 0.8% group,)**

## 6. 간 조직의 Lipogenesis 관련 인자에 미치는 영향

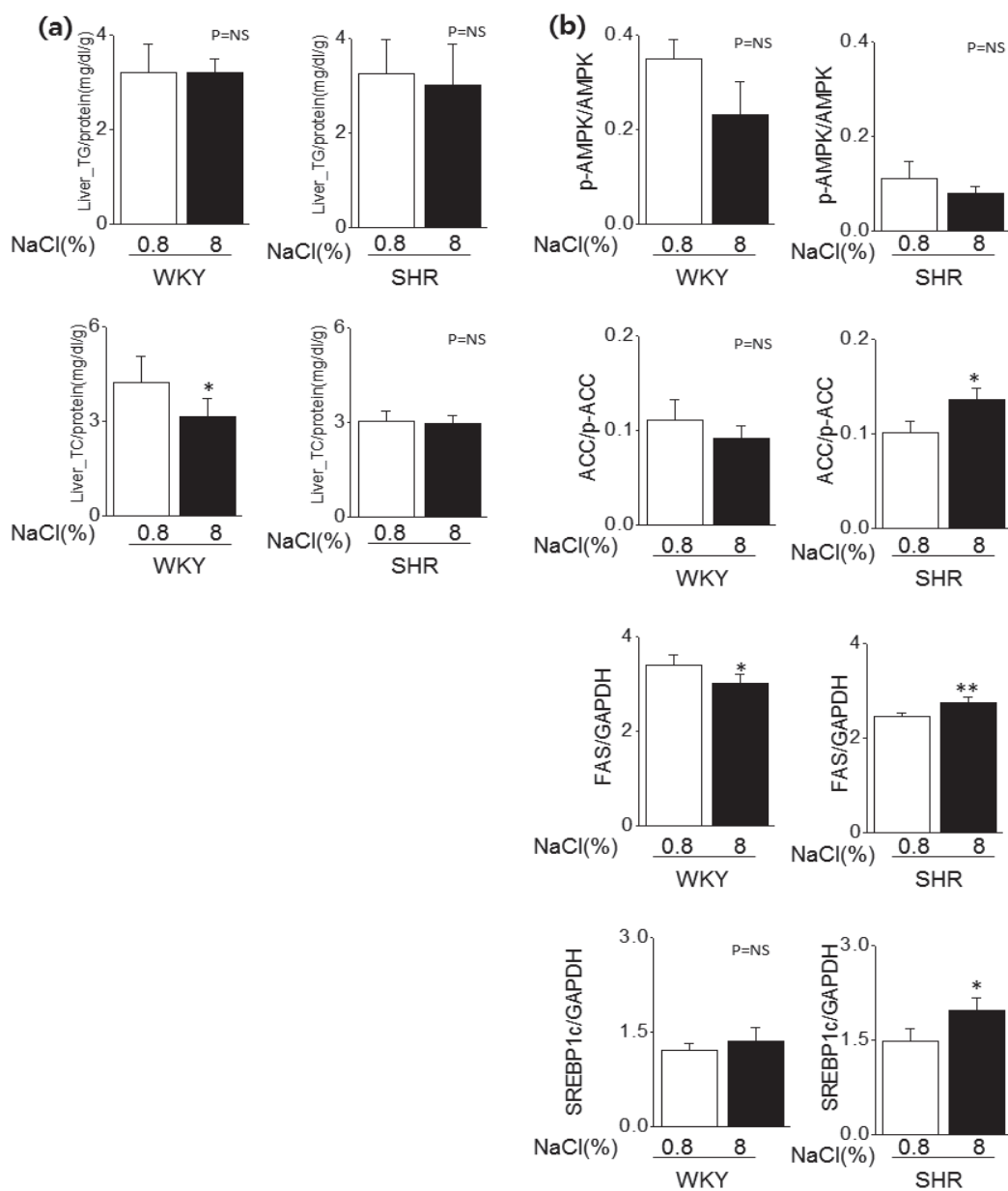
WKY와 SHR의 간의 지질 축적을 확인하기 위해서 간의 중성지방(TG), 총 콜레스테롤(TC)과 지방산 합성인자인 AMP-activated protein kinase (AMPK), Acetyl-CoA carboxylase(ACC), fatty acid synthase complex(FAS), Sterol regulatory element-binding transcription factor 1c(SREBP-1c)를 확인하였다.

WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 간 TC와 FAS가 각각 25%, 11% 감소하였고, 나머지 TG, p-AMPK/AMPK, ACC/p-ACC, SREBP-1c는 유의적인 변화가 없었다. SHR는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 TG, TC는 유의적인 변화는 없었으나 ACC/p-ACC, FAS, SREBP-1c가 각각 40%, 12%, 33%증가하였다.

AMPK는 세포의 에너지 수준을 감지하는 역할을 하는 이질이합체로 세포 내 AMP가 증가되면 활성화 되어 지방산의 베타산화를 자극하고 지방산 합성을 억제한다.[130] Lipogenesis은 해당 작용을 통해 생성된 acetyl-CoA로부터 지방산이 중합되는 과정이다. 이 때 속도제한 효소인 acetyl-CoA carboxylase (ACC)작용으로 acetyl-CoA로부터의 malonyl-CoA가 생성되며, ACC가 인산화(비활성화)되면 지방산 합성이 감소하게 된다.[131] 다음 단계로 FAS의 작용으로 지방산 중합이 반복되어 탄소 16개 분량의 palmitate라는 지방산이 합성된다.[132] SREBP-1c는 간에서의 lipogenesis를 조절하는 주요한 전사조절인자이다. AMPK가 인산화되어 지방산이 산화되는 조건은 지방산합성을 조절하는 ACC, FAS, SREBP-1c 등 효소 및 단백질 발현이 억제된다.

Mattace Raso et al에 의하면[133], 고지방식을 섭취한 SD쥐에서 대조군에 비해 간 TG가 증가하였다. Yun et al의 연구에 의하면[134],

고지방식이군의 간 조직에서 지질 생성 관련 유전자인 ACC, FAS, SREBP-1 단백질 발현의 증가를 확인하였다. 비록 나트륨섭취 증가에 따라 유의적으로 간 TG 증가가 나타나지는 않았지만 나트륨섭취가 증가하면 지방산합성인자의 발현은 증가하였다. 이 같은 현상은 WKY보다 SHR에서 현저한 경향을 보이므로 나트륨섭취 증가와 지방산합성은 연관성이 있는 것으로 생각된다.



**Fig 11. Triglyceride and total cholesterol accumulation(a) and adipogenesis markers in liver on WKY and on SHR that took NaCl 0.8% and 8% diet.**

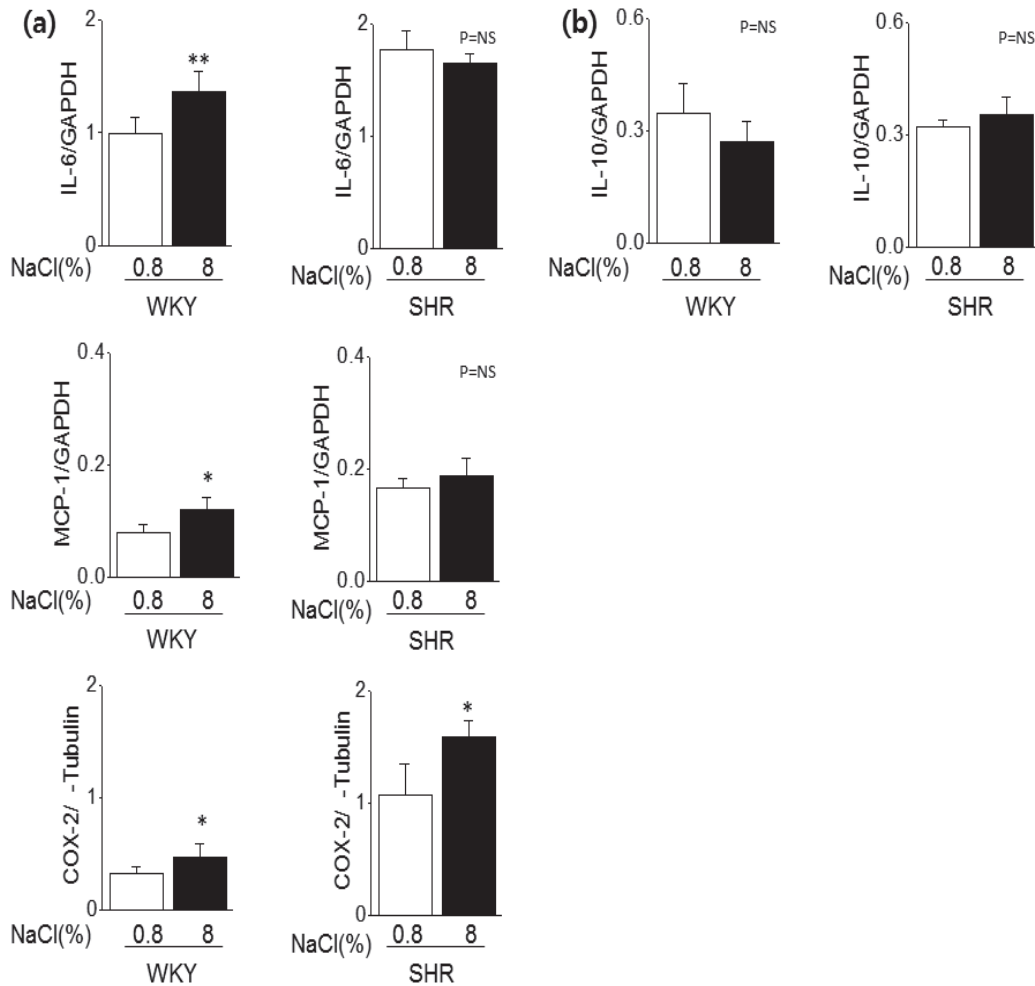
(\*:  $p < 0.05$  compared with NaCl 0.8% group)

## 7. 간조직의 염증반응에 미치는 영향

WKY와 SHR의 간 염증 정도를 확인하기 위해서 Interleukin-6 (IL-6), Cyclooxygenase-2(COX-2), Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1), Interleukin-10(IL-10)을 확인하였다. WKY는 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 IL-6, MCP-1, COX-2의 발현이 각각 40%, 50%, 48% 증가하였으나 IL-10은 유의적인 변화가 없었다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 COX-2의 발현이 47% 증가하였고 MCP-1, COX-2, IL-10은 유의적인 변화가 없었다.

Wieckowska et al[135]는 임상연구에서 간 IL-6 발현 정도가 염증, 섬유화, 인슐린 저항성과 상관관계가 있음을 확인하였다. IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1, IL-10과 같은 다양한 케모카인과 사이토카인은 지방증의 발생과 NASH로의 발달의 원인으로 간주되어 왔다.[136] Park et al에 의하면 비만 mice에서 전염증성 사이토카인인 IL-6와 TNF- $\alpha$ 는 간 지방증에서 지방간염으로의 발달에 중요하며, IL-6와 TNFR1의 부재시 간의 지질 축적이 감소하고 간으로의 대식세포와 호중구의 유입이 감소하였다고 보고하였다.[137] 그러나 다른 연구에서는 IL-6의 역할을 간 염증을 촉진하는 것으로 IL-6의 결핍 혹은 봉쇄는 간 염증을 약화시킬 뿐, 지방증의 발생에는 영향을 미치지 않는다고 하였다.[138, 139] Mattace Raso et al에 의하면, 고지방식을 섭취한 SD쥐에서 대조군에 비해 간의 IL-6, MCP-1, COX-2 발현이 증가하였다. MCP-1은 NASH를 가진 임상 환자와 지방간염 혹은 간섬유화 동물 모델에서 그 수준이 증가하였다.[140] MCP-1은 지속적으로 염증을 유발하기 때문에 NAFLD와 NASH에서 중요하고, 단순 지방증에서 NASH로의 진행에 중요한 역할을 한다.[141] COX-2는 NASH에서 발현이 증가할 뿐만 아니라 TNF- $\alpha$ 와 IL-6같은 염증인자들의 분비를 조절한다.[142] 또 다른 연구에서는 신

장 조직에서의 MCP-1의 mRNA의 수준이 Dahl Salt-Sensitive쥐에게 저나트륨(0.3%)보다 고나트륨(8%)을 섭취시켰을 때 유의적으로 높았다고 한다.[143] 고나트륨의 섭취가 WKY와 SHR 모두에서 염증인자를 증가시켰다.



**Fig 12. The expression of pro-inflammatory cytokine (IL-6, MCP-1, COX-2, a) and anti-inflammatory cytokine (IL-10, b) in liver of WKY and SHR that fed NaCl 0.8% and 8% diet**

(\*:  $p < 0.05$  compared with NaCl 0.8% group, \*\*:  $p < 0.01$  compared with NaCl 0.8% group)

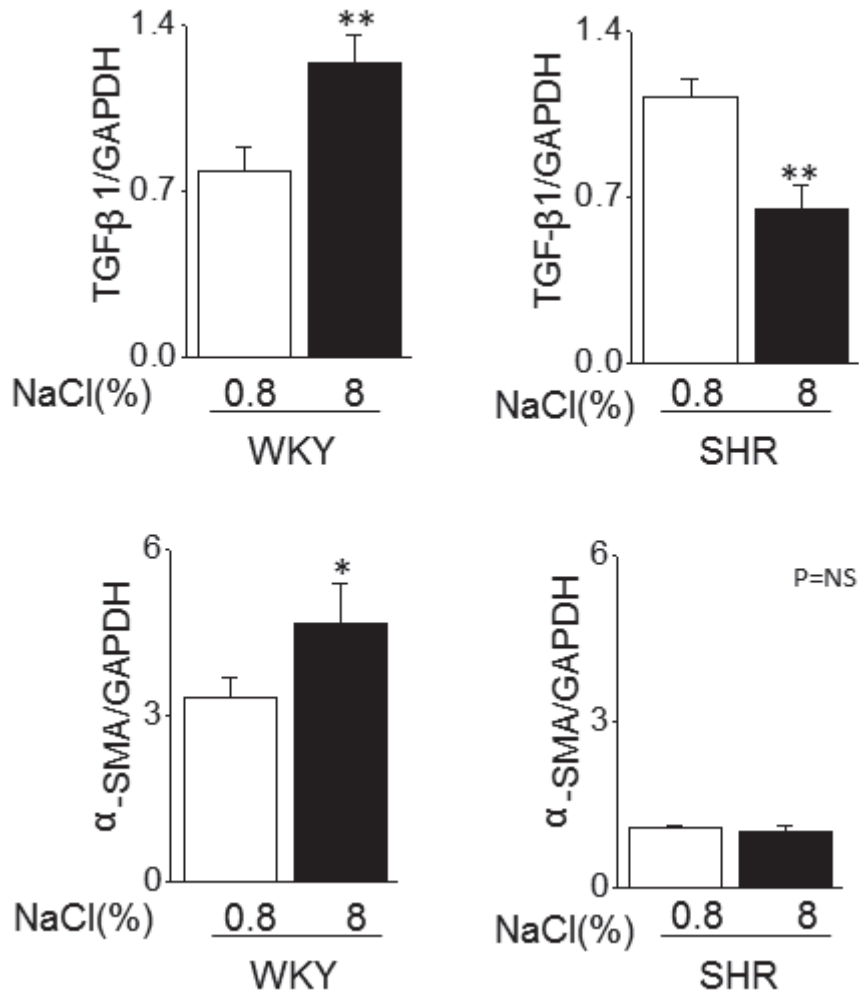
## 8. 간조직의 Fibrosis에 미치는 영향

간에서 Fibrosis 관련 인자를 확인하기 위해서 Transforming growth factor- $\beta$  1(TGF  $\beta$  1),  $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ -SMA)의 활성을 확인하였다. TGF- $\beta$  1은 고나트륨을 섭취한 SHR에서는 56% 감소하였으나, 고나트륨을 섭취한 WKY에서는 40% 증가하였다.( $p < 0.01$ )  $\alpha$ -SMA는 고나트륨을 섭취한 WKY에서만 각각 40% 증가하였다. ( $p < 0.05$ )

Profibrotic cytokine인 TGF- $\beta$  1은 간섬유화 및 간경화를 일으키는 주된 요인으로 정상 간뿐만이 아니라 활발히 재생 하고 있는 재생 간에서도 생산되는데 주로, 간 실질세포(hepatocytes), 내피세포(sinusoidal endothelial cells), 쿠퍼세포(Kupffer cells), 간 성상세포(hepatic stellate cells) 등에서 만들어진다.[144] 간 손상 후에 생산되는 TGF- $\beta$  1은 간 손상의 양상에 따라 생산하는 세포에 차이가 있는데, 부분 간 절제 후에는 간 실질세포에서 주로 생산되고 염증이나 섬유화가 있을 때는 간 성상세포에서 주로 생산된다.[145] 간세포에서는 불활성형으로 존재하다가, 분비되면 비실질 세포인 성상 세포에서 활성화되어 간 실질 세포의 증식을 억제하고 비실질 세포의 증식을 자극하여 collagen을 과도하게 생성하게 되며 결국 간섬유화 및 간경화를 일으키게 된다.[146, 147] 반복되는 간 손상으로 인해 간성상세포가 자극을 받아 활성화되면서 근섬유모세포와 유사한 활성상태의 세포로 전환이 일어나며, 이때  $\alpha$ -SMA이 발현되어 collagen과 fibronectin의 합성을 촉진시키며, 이 과정에 TGF - $\beta$  1이 중요한 매개체로써 작용하는 것이다.[148] Mattace Raso et al에 의하면, 고지방식을 섭취한 SD쥐에서 대조군에 비해 TGF - $\beta$  1 발현이 증가하였다. NASH를 유발하는 것으로 알려진 Choline-deficient L-amino acid defined diet(CDAA)에 나트륨을 첨가한 식이를 섭취한 SHR에 고나트륨을 섭취 시 TGF- $\beta$  1,  $\alpha$ -SMA mRNA 수준이 증가하

였다.[149]

나트륨의 섭취에 따라 WKY에서만 간 섬유화 인자가 유의적으로 증가하는 것으로 보아 고나트륨의 섭취가 정상혈압에서 간 섬유화에 영향을 미치는 것으로 보인다



**Fig 13. The expression of  $\alpha$ -SMA(a) and TGF- $\beta$ 1(b) in liver of WKY and SHR that took NaCl 0.8% and 8% diet.**

(\*:  $p < 0.05$  compared with NaCl 0.8% group, \*\*:  $p < 0.01$  compared with NaCl 0.8% group)

## IV. 요약 및 결론

본 연구는 본태성 고혈압 쥐인 Spontaneously Hyper tensive Rats(SHR)을 대상으로 저나트륨(0.8%)과 고나트륨(8%) 식이를 4주간 섭취시킨 다음 NASH 인자를 검증하였으며 대조군으로는 정상 혈압쥐 Wistar Kyoto Rats (WKY)를 이용하였다. 분석대상은 1) 식이 섭취에 따른 체중변화 2) 심장과 신장에서의 부담, 3) 혈장에서의 지질(TG, TC), 인슐린 저항성(공복혈당, 인슐린, HOMA- IR), 4)간 기능 손상(혈청 AST와 ALT, 간 지질과산화물 함량 및 G6PD), 5) NASH 인자(지질 합성 인자, 염증인자 및 Fibrosis) 등 이며, 그 결과는 다음과 같다.

1. WKY와 SHR의 나트륨섭취에 따른 체중변화를 관찰하기 위해서 체중, 식이 및 물 섭취량, 식이효율을 측정하였다. WKY와 SHR 모두 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 체중은 5-7% 감소하였으나 물 섭취량은 각각 100- 132% 증가하였다. WKY와 SHR 모두 식이 섭취량은 5-7% 증가하였으나 식이효율은 변화가 없었다. 즉, 고나트륨의 섭취에 의하여 WKY와 SHR 모두 식이 및 물 섭취량을 증가하였으나 체중은 감소하였다.
2. WKY와 SHR에서 고나트륨섭취에 의한 심장과 신장의 부담을 관찰하고자 혈압, 심장 및 신장 무게, 뇨 크레아티닌을 측정하였다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 WKY에서 혈압 및 심장 무게가 각각 17%, 11% 증가하였고 신장관련인자는 변화가 없었다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 SHR에서 혈압 및 심장 무게가 각각 20%, 8% 증가하였으며 뇨 크레아티닌은 10% 증가하였다. 고나트륨섭취는 WKY와 SHR에서 혈압 상승으로 심장비대 현상이 나타났고 SHR에서만 신장

근육 손상 등이 예상되었다.

3. WKY와 SHR에서 blood biochemistry 확인을 위하여 중성지방 (TG), 총 콜레스테롤(TC), 공복혈당(FBS), 인슐린, 인슐린 저항성 (HOMA-IR)을 확인하였다. 나트륨 섭취량에 관계없이 WKY군에서는 유의적인 혈청수치의 변화가 없었다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 SHR에서 TG감소와 FBS 증가가 관찰되어서 고나트륨 섭취가 본태성 고혈압쥐에서만 혈당증가를 보였다.
4. WKY와 SHR의 간 기능손상을 확인하기 위해서 조직손상인자로 혈청 (AST)와 (ALT)를, 산화 스트레스인자로 (MDA), Glucose 6-P Dehydrogenase(G6PD), NADPH oxidase(NOX-2)를 확인하였다. 고나트륨 WKY군에서 NOX-2만 유의적으로 증가하였다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 SHR에서 혈청 AST(75%) 및 ALT(50%)가 증가하였고 G6PD(14%)는 감소하였다. 나트륨섭취량과 관계없이 SHR이 WKY보다 간 무게, MDA가 유의적으로 증가하였고, G6PD는 50% 감소하였다. 결론적으로 고나트륨섭취는 간독성(AST/ALT 증가)을 야기하는데, SHR의 경우 지질과산화 및 산화스트레스 증가가 원인으로 보인다.
5. WKY와 SHR의 간 지질대사를 확인하기 위해서 간의 TG 및 TC, 지방산 합성인자인 Acetyl-CoA carboxylase (ACC), fatty acid synthase complex(FAS), Sterol regulatory element-binding transcription factor 1c(SREBP-1c), 지방분해인자인 AMP-activated protein kinase (AMPK) 등을 확인하였다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 WKY에서 간 TC(25%)와 FAS(11%)가 감소하였다. SHR의 경우 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 TG, TC는 변화가 없었으나 FAS, ACC/p-ACC,

SREBP-1c가 유의적으로 증가하였다. 따라서 고나트륨 섭취는 간의 지방산 합성인자의 발현을 증가시켰다.

6. WKY와 SHR의 간 염증 정도를 확인하기 위해서 pro-inflammatory cytokine인 Interleukin-6(IL-6), Cyclooxygenase-2(COX2), Monocyte chemo attractant protein-1(MCP-1)와 anti-inflammatory cytokine인 Interleukin-10 (IL-10) 을 확인하였다. WKY의 경우 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 IL-6, MCP-1, COX-2의 발현이 각각 40%, 50%, 48% 증가하였다. SHR은 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 COX-2의 발현이 47% 증가하였지만 MCP-1, COX-2는 유의적인 변화가 없었다. WKY와 SHR 모두 IL-10은 유의적인 변화가 없었다. 따라서 고나트륨 섭취는 WKY와 SHR에서 염증인자를 증가시켰다.

7. WKY와 SHR의 간 염증 정도를 확인하기 위해서 Transforming growth factor beta 1(TGF- $\beta$ 1),  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)을 확인하였다. 저나트륨군에 비해 고나트륨군 WKY에서 간 TGF- $\beta$ 1(40%)와  $\alpha$ -SMA(40%)가 감소하였다. SHR의 경우 저나트륨군에 비해 고나트륨군에서 TGF- $\beta$ 1(56%) 유의적으로 감소하였다. 고나트륨 섭취는 정상 혈압일 경우에 간의 Fibrosis를 증가시켰다.

NASH 병태 생리의 기반인 2 hit hypothesis 중에 1<sup>st</sup> hit을 확인하기 위해 혈청 및 간 지질, 인슐린 저항성, 간 손상, 지질과산화, 지방생성, 그리고 2<sup>nd</sup> hit을 확인하기 위해 염증을 분석하였다 그 결과 고나트륨 섭취 시 SHR은 1<sup>st</sup> hit에서 간 손상, 지질과산화, 지방생성이 증가하였고, 2<sup>nd</sup> hit에서 염증이 증가하였다. WKY는 2<sup>nd</sup> hit인 염증만이 증가

하였다. 따라서 SHR은 고나트륨 섭취가 ‘2 hit hypothesis’ 을 기반으로 NASH가 발생하는 기전과 상관성이 있었다. WKY는 지방간 없이 산화스트레스 및 염증현상이 나타났다. 즉 정상 혈압시 고나트륨 섭취는 지방간 단계 없이 NASH 현상을 간 섬유화까지 나타낸 반면 고혈압 시 고나트륨 섭취는 1<sup>st</sup> hit- 2<sup>nd</sup> hit 등의 단계를 거치면서 지방간, 염증, 산화스트레스 등을 나타냈지만 간경화 및 섬유화 단계까지 가지 못하였다. 이는 고혈압 환자보다는 정상인에서 고나트륨 섭취가 급성 간경화 증세를 보일수 있다고 생각된다. 따라서 본 연구는 본태성 고혈압 환자와 정상인이 고혈압 섭취를 할 경우 나타나는 기전에 따라 식이 치료의 지침이 될 수 있을 것으로 사료되어 향후 인체 임상 연구의 기초 자료가 될 것으로 기대한다.

## 참고 문헌

[1]Kim YM (2009) A Scientific Consideration on Salt. Bulletin of Food Technology 22(4): 664-690.

[2]Jo YJ, Jeong YJ (2015) Development Trend of Sodium Reduction Material. Food Industry and Nutrition 20(2): 8-12.

[3]Jung JH, Lee MS (2017) Effects of interaction between SLC12A3 polymorphism, salt-sensitive gene, and sodium intake on risk of child obesity. J Nutr Health 50(1): 32-40.

[4]Kim YM (2009) A Scientific Consideration on Salt. Bulletin of Food Technology 22(4):664-690.

[5]Son SM, Huh GY, Lee HS (2005) Development and evaluation of validity of dish frequency questionnaire (DFQ) and short DFQ using Na Index for estimation of habitual sodium intake. Korean J Community Nutr 10(5): 677-692.

[6]Fregly MJ (1983) Estimates of sodium and potassium intake. Ann Intern Med 98(5 Pt 2): 792-799.

[7]Kim YS, Paik HY (1987) Measurement of Na intake in Korean adult females. Korean J Nutr 20(5): 341-349.

[8]Son SM, Huh GY, Lee HS (2005) Development and evaluation of validity of dish frequency questionnaire (DFQ) and short DFQ using Na Index for estimation of habitual sodium intake. Korean J Community Nutr 10(5): 677-692.

[9]Lim HJ. Sodium and Nutrition Problem : Background Information on Dietary Reference Intakes and Intake Status for Sodium and Potassium of Korean. J Korea Soc Food Sci Nutr 10: 179-183.

[10]the korean nutrition society, Dietary reference intakes for koreans, seoul 2005

[11]Lim HJ. Sodium and Nutrition Problem : Background Information on Dietary Reference Intakes and Intake Status for Sodium and Potassium of Korean. J Korea Soc Food Sci Nutr 10: 179-183.

[12]Yon MY, Lee YN, Kim DH, LeeJY Koh EM, Nam EJ, Shin HH, Kang BW, Kim HW, Heo S, Cho HY, Kim CI (2011) Major Sources of Sodium Intake of the Korean Population at Prepared Dish Level -Based on the KNHANES 2008 & 2009. Korean Journal of Community Nutrition 16(4): 473-487.

[13]Cheon SY, Wang HW, Lee HJ, Hwang KM, Yoon HS, Kang

YJ (2017) Relationship of sodium consumption with obesity in Korean adults based on Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010~2014. *Journal of Nutrition and Health* 50(1): 64-73.

[14]Ministry of Health & Welfare/Korea Health Industry Development Institute: The Third Korean National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES III) 2005. *Nutrition Survey*. MHW publ., Seoul. p1

[15]Lee EJ (2011) Salt sensitivity characteristics and the effect of DASH diet in hypertensive Korean subjects. Catholic University, Seoul. pp 20-21.

[16]Cambien F, Chretien JM, Ducimentiere P, Guize L, Richard JL (1985) Is the relationship between blood pressure and cardiovascular risk dependent on body mass index?. *Am J Epidemiol* 122(3): 434-442.

[17]Song DY, Park JE, Shim JE, Lee JE (2013) Trends in the major dish groups and food groups contributing to sodium intake in the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 1998-2010. *Korean J Nutr* 46(1): 72-85.

[18]Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea

Health Statistics 2014 : Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VI-2) [Internet]. Korean Ministry of Health and Welfare; 2014 [cited 2016 Dec 08]. Available from: <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/index.do>.

[19]한국인의 성별, 연령별, 지역별, 나트륨과 칼륨 섭취현황 및 기여 음식, 박양희\_Statistics Korea. Causes of Death Statistics [Internet]. 2014 [cited 2015 Dec 02]. Available from: <http://kostat.go.kr/portal/eng/index.action>.

[20]설안나. (1999). 소금과 인체 건강. 동아시아식생활학회지, 9(2), 224-229.

[21]Strazzullo P, D' Elia L, Kandala NB, Cappuccio FP (2009) Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. *BMJ* 339: b4567

[22]김철환, 한정순 (2006) 고혈압과 소금 섭취. *J Korean Acad Fam Med* 27: 517-522.

[23]Kim SY (2009) (The) study of correlation on sodium intakes and obesity degree according to ACE I/D polymorphism in male and female children. Sungshin Women's University, Seoul. pp 3.

[24]Kawasaki T, Delea CS, Bartter FC, Smith H (1978) The effect of high sodium and low sodium intakes on blood pressure and other related variables in human subjects with idiopathic hypertension. Am J Med. 64(2): 193-198.

[25]Choi HY, Park HC, Ha SK (2015) Salt Sensitivity and Hypertension: A Paradigm Shift from Kidney Malfunction to Vascular Endothelial Dysfunction. Electrolyte Blood Press 13: 7-16.

[26]Kim HG (2011) Salt sensitivity characteristics and the effect of DASH diet in hypertensive Korean subjects. Catholic University, Seoul.

[22]김철환, 한정순 (2006) 고혈압과 소금 섭취. J Korean Acad Fam Med 27: 517-522.

[22]김철환, 한정순 (2006) 고혈압과 소금 섭취. J Korean Acad Fam Med 27: 517-522.

[29]Lee YJ (1999) Salt and Hypertension. J East Asian Soc Diet Life 9:379-385.

[30]Rhee MY, Yang SJ, Oh SW, Park YS, Kim CI, Park HK,

Park SW, Park CY. Novel genetic variations associated with salt sensitivity in the Korean population. *Hypertension Research* 34: 606-611.

[29]Lee YJ (1999) Salt and Hypertension. *J East Asian Soc Diet Life* 9:379-385.

[29]Lee YJ (1999) Salt and Hypertension. *J East Asian Soc Diet Life* 9:379-385.

[33]Tuomilehto J, Jousilahti P, Rastenyte D, Moltchanov V, Tanskanen A, Pietinen P, Nissinen A (2001) Urinary sodium excretion and cardiovascular mortality in Finland: a prospective study. *Lancet* 357: 848-851.

[34]Nagata C, Takatsuka N, Shimizu N, Shimizu H (2004) Sodium intake and risk of death from stroke in Japanese men and women. *Stroke* 35: 1543-1547.

[35]Cohen HW, Hailpern SM, Fang J, Alderman MH (2006) Sodium intake and mortality in the NHANES II follow-up study. *Am J Med* 119: 275 e7-14.

[36]Geleijnse JM, Witteman JC, Stijnen T, Kloos MW, Hofman A, Grobbee DE (2007) Sodium and potassium intake and risk of

cardiovascular events and all-cause mortality: the Rotterdam study. *Eur J Epidemiol* 22: 763-770.

[37]Cohen HW, Hailpern SM, Alderman MH (2008) Sodium intake and mortality follow-up in the third national health and nutrition examination survey (NHANES III). *J Gen Intern Med* 23: 1297-1302.

[38]Arthur C. Guyton, M.D., Thomas G. Coleman, M.D., David G. Young, M.D., Thomas E. Lohmeier, M.D., and James W. Declue, M.D. Salt balance and long-term blood pressure control. *Annual Review of Medicine*. 1980;31,15-27.

[39]Arthur C. Guyton, M.D., Thomas G. Coleman, M.D., David G. Young, M.D., Thomas E. Lohmeier, M.D., and James W. Declue, M.D. Salt balance and long-term blood pressure control. *Annual Review of Medicine*. 1980;31,15-27.

[40]Yun ES, Park YH, Choi KH (2007) Risk Factors of Non-alcoholic Steatohepatitis in Childhood Obesity. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 10(2) 179-184.

[41]Song HJ, Cho YG, Lee HJ. Dietary sodium intake and prevalence of overweight in adults. *Metabolism* 2013;62(5):703-8.

[42]Lim SY, Yang SJ (2014) Association between Dietary Sodium Intake and Abdominal Obesity in Pre-diabetes Korean Adults. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(5): 763-771.

[43]Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Nishikai K, Saruta T. Adiponectin, an adipocyte-derived protein, predicts future insulin resistance: two-year follow-up study in Japanese population. J Clin Endocrinol Metab 2004;89(1):87-90.

[42]Lim SY, Yang SJ (2014) Association between Dietary Sodium Intake and Abdominal Obesity in Pre-diabetes Korean Adults. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(5): 763-771.

[45]Lee YG, Sung CJ, Choi MG, Lee YS (2002) Effects of Sodium Intakes on Blood Pressure and Blood Parameters in Korean Normal Adult Women. The Korean Journal of Nutrition 9:754-762.

[46]Kwon HS, Kim YH, LeeDY, Park SE (2013) Current Status and Need for a Korean Diabetes Prevention Study. PUBLIC HEALTH WEEKLY REPORT, KCDC, Seoul.

[42]Lim SY, Yang SJ (2014) Association between Dietary Sodium Intake and Abdominal Obesity in Pre-diabetes Korean Adults. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43(5): 763-771.

[42]Lim SY, Yang SJ (2014) Association between Dietary Sodium Intake and Abdominal Obesity in Pre-diabetes Korean Adults. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43(5): 763-771.

[49]Choi J, Moon HK (2010) Nutrients and dish intake by fasting blood glucose level. *Korean J Nutr* 43(5): 463-74.

[50]Lim SY, Yoo HJ, Kim AL, Oh JA, Kim HS, Choi YH, Cho JH, Lee JH, Yoon KH (2013) Nutritional intake of pregnant women with gestational diabetes or type 2 diabetes mellitus. *Clin Nutr Res* 2(2): 81-90.

[51]Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Andreotti S, de Campos TB, Campana AB, Borges-Silva CN, Lima FB (2008) High sodium intake enhances insulin-stimulated glucose uptake in rat epididymal adipose tissue. *Obesity* 16(6): 1186-92.

[52]Baudrand R, Campino C, Carvajal CA, Olivieri O, Guidi G,

Faccini G, Vohringer PA, Cerda J, Owen G, Kalergis AM, Fardella CE (013) High sodium intake is associated with increased glucocorticoid production, insulin resistance and metabolic syndrome. Clin Endocrinol 80(5): 677-84.

[53]Lim JH (2012) Salt intake and diabetes. J Korean Diabetes 13(4): 211-4.

[54]Kim JH (2014) Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Korean J Fam Pract 4:109-115.

[40]Yun ES, Park YH, Choi KH (2007) Risk Factors of Non-alcoholic Steatohepatitis in Childhood Obesity. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr 10(2) 179-184.

[56]Park JS, Yoo BW, Cho YJ, Oh JE, Hong SH, Cho SY (2009) The Factors Related to the Incidence of Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease (NAFLD) in Obese Patients. Journal of Soonchunhyang Medical Science 15(1): 75-82.

[57]Park DB. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. J Korean Soc Pediatr Endocrinol 15(2): 77-84.

[58]Lee JW, Choi CW, Jeon SY, Han CW, Ha YJ (2016) Effect

of Jungmanbunso-hwan Extract on HepG2 Cell Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Caused by Palmitate. *J Int Korean Med* 37(3): 442-452.

[58]Lee JW, Choi CW, Jeon SY, Han CW, Ha YJ (2016) Effect of Jungmanbunso-hwan Extract on HepG2 Cell Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Caused by Palmitate. *J Int Korean Med* 37(3): 442-452.

[60]Yu G (2002) Nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Mol Hepatol* 8(s1):22-72.

[61]Sohn JH, Kim TY (2010) Recent update on pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J Intern Med.* 79(5): 461-474

[62]Park JS, Yoo BW, Cho YJ, Oh JE, Hong SH, Cho SY (2009) The Factors Related to the Incidence of Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease (NAFLD) in Obese Patients. *Journal of Soonchunhyang Medical Science* 15(1): 75-82.

[63]Chio MY (2009) Effects of Gamisaenggan-tang on high fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease. Kyunghee university, Seoul.

[63]Chio MY (2009) Effects of Gamisaenggan-tang on high fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease. Kyunghee university, Seoul.

[56]Park JS, Yoo BW, Cho YJ, Oh JE, Hong SH, Cho SY (2009) The Factors Related to the Incidence of Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease (NAFLD) in Obese Patients. Journal of Soonchunhyang Medical Science 15(1): 75-82.

[56]Park JS, Yoo BW, Cho YJ, Oh JE, Hong SH, Cho SY (2009) The Factors Related to the Incidence of Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease (NAFLD) in Obese Patients. Journal of Soonchunhyang Medical Science 15(1): 75-82.

[56]Park JS, Yoo BW, Cho YJ, Oh JE, Hong SH, Cho SY (2009) The Factors Related to the Incidence of Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease (NAFLD) in Obese Patients. Journal of Soonchunhyang Medical Science 15(1): 75-82.

[61]Sohn JH, Kim TY (2010) Recent update on pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. Korean J Intern Med. 79(5): 461-474

[69]Park DB. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *J Korean Soc Pediatr Endocrinol* 15(2): 77-84.

[70]Hillgartner FB, Salati LM, Goodridge AG (1995) Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthase. *Physiol Rev* 75: 47-76.

[71]Horton JD, Bashmakov Y, Shimomura I, Shimano H (1998) Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refeed mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 5987-5992.

[72]Foretz M, Pacot C, Dugail I, Lemarchand P, Guichard C, Lie`pvre XL, Berthelie`r-Lubrano C, Spiegelman B, Kim JB, Ferre P, Foufelle F (1999) ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Mol Cell Biol* 19: 3760-3768.

[73]Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD (1999) Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus. *J Biol Chem* 274: 30028-30032.

[74]Foretz M, Guichard C, Ferre P, Foufelle F (1999) Sterol

regulatory element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes. Proc Natl Acad Sci USA 96: 12737-12742.

[75]Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, Fag $\ddot{u}$  E, Silli B, Pagano G. (2003) Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology 37: 909-916.

[76]Toshimitsu K, Matsuura B, Ohkubo I, Niiya T, Furukawa S, Hiasa Y, Kawamura M, Ebihara K, Onji M. (2007) Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis. Nutrition 23: 46-52

[77]Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, Fag $\ddot{u}$  E, Silli B, Pagano G. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology 37:909-916, 2003

[78]Mohamadkhani A, Sayemiri K, Ghanbari R, Elahi E, Poustchi H, Montazeri G (2010) The inverse association of serum HBV DNA level with HDL and adiponectin in chronic hepatitis B infection. Virol J 7: 228.

[79]Farrell GC, Larter CZ (2006) Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 43(2 Suppl 1): S99-S112.

[80]Arima S, Uto H, Ibusuki R, Kumamoto R, Tanoue S, Mawatari S, Oda K, Numata M, Fujita H, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H (2013) Hypertension exacerbates liver injury and hepatic fibrosis induced by a choline-deficient L-amino acid-defined diet in rats. *Int J Mol Med* 33(1): 68-76.

[81]Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, Neuschwander-Tetri BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 295:G987-G995, 2008

[61]Sohn JH, Kim TY (2010) Recent update on pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J Intern Med.* 79(5): 461-474

[83]Protective Effects of Curcumin on CCl4-Induced Hepatic Fibrosis with High Fat Diet in C57BL/6 Mice\_Charlton M, Krishnan A, Viker K, Sanderson S, Cazanave S, McConico A, et al. Fast food diet mouse: novel small animal model of NASH

with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011, 301:825-834.

[84]Protective Effects of Curcumin on CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatic Fibrosis with High Fat Diet in C57BL/6 Mice\_Chhedra TK, Shivakumar P, Sadasivan SK, Chandrasekharan H, Moolemath Y, Oommen AM, et al. Fast food diet with CCl<sub>4</sub> micro-dose induced hepatic fibrosis -a novel animal model. *BMC Gastroenterol.* 2014, 14:89-97.

[85]Protective Effects of Curcumin on CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatic Fibrosis with High Fat Diet in C57BL/6 Mice\_Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol.* 2003, 33:105-136.

[86]Protective Effects of Curcumin on CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatic Fibrosis with High Fat Diet in C57BL/6 Mice\_Park EJ, Jeon CH, Ko G, Kim J, Sohn DH. Protective effect of curcumin in rat liver injury induced by carbon tetrachloride. *J Pharm Pharmacol.* 2000, 2:437-440.

[87]비알코올성 지방간염 마우스 모델의 혈청과 소변의 proteomics 분석 \_AK T, Gulcin I (2008) Antioxidant and radical scavenging

properties. *Chem Biol Interact* 174(1):27-37.

[88]비알코올성 지방간염 마우스 모델의 혈청과 소변의 proteomics 분석  
\_Nanji AA, Jokelainen K, Tipoe GL, Rahemtulla A, Thomas P, Dannenberg AJ (2006) Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF-kappa B-dependent genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284(2):G321-7.

[89]비알코올성 지방간염 마우스 모델의 혈청과 소변의 proteomics 분석  
\_Singh R, Sharma P (2011) Hepatoprotective effect of curcumin on lindane-induced oxidative stress in male wistar rats. *Toxicol Int* 18(2):124-9.

[90]비알코올성 지방간염 마우스 모델의 혈청과 소변의 proteomics 분석  
\_Kaur G, Tirkey N, Bharrhan S, Chanana V, Rishi P, Chopra K (2006) Inhibition of oxidative stress and cytokine activity by curcumin in amelioration of endotoxin-induced experimental hepatotoxicity in rodents. *Clin Exp Immunol* 145(2):313-21.

[91]Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, Newman RA, Bueso-Ramos CE, Price JE (2005) Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res* 11(20):7490-8.

[92]Ziegler J, Facchini PJ. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* 2008;59:735-69.

[93]Yin J, Gao Z, Liu D, Liu Z, Ye J. Berberine improves glucose metabolism through induction of glycolysis. *Am J Physiol-Endocrinol Metab.* 2008;294:E148-56.

[94]Ragab SM, Abd Elghaffar SKh, El-Metwally TH, Badr G, Mahmoud MH, Omar HM (2015) Effect of a high fat, high sucrose diet on the promotion of non-alcoholic fatty liver disease in male rats: the ameliorative role of three natural compounds. *Lipids Health Dis* 14:83.

[95]Kong SY (2003) Cellular kinetics of the growth plate of avascular necrosis-induced femoral head in SHR model. Yonsei University. Seoul.

[80]Arima S, Uto H, Ibusuki R, Kumamoto R, Tanoue S, Mawatari S, Oda K, Numata M, Fujita H, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H (2013) Hypertension exacerbates liver injury and hepatic fibrosis induced by a choline-deficient L-amino acid-defined diet in rats. *Int J Mol Med* 33(1): 68-76.

[97]최기철 , 정택균 , 정권 , 이성철 , 김수완 , 문경협 , 김남호 , 강대길 , 이종은 , 강영준 (1998) 고혈압 흰쥐에서 신장과 혈관 산화질소 합성 동위효

소 발현 변화. Abstract No C30 presented at 대한신장학회 춘계학술대회 초록집 of 대한신장학회, Seoul, Korea

[98]Han HS (1992) Angiotensin 전환효소 억제제가 Spontaneously Hypertensive Rat 및 Wister-Kyoto Rat의 적출대동맥에서 내피세포의 존적 이완에 미치는 영향. Kyungpook National University, Deagu.

[99]Jang TW (1989) 장기간 고염 섭취한 SHR 고혈압 쥐에서 Nifedipine이 Norepinephrine과 Angiotensin II의 승압반응에 미치는 영향. Kyungpook National University, Deagu.

[100][http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr/strainsx/blood\\_d.aspx?BMP\\_BLOOD\\_ID=3](http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr/strainsx/blood_d.aspx?BMP_BLOOD_ID=3). Accessed June 5, 2017

[101]Coelho MS, Passadore MD, Gasparetti AL, Bibancos T, Prada PO, Furukawa LL, Furukawa LN, Fukui RT, Casarini DE, Saad MJ, Luz J, Chiavegatto S, Dolnikoff MS, Heimann JC (2006) High- or low-salt diet from weaning to adulthood: effect on body weight, food intake and energy balance in rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16(2): 148-155.

[102]Arima S, Uto H, Ibusuki R, Kumamoto R, Tanoue S, Mawatari S, Oda K, Numata M, Fujita H, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H (2014) Hypertension exacerbates liver injury and hepatic fibrosis induced by a choline-deficient L-amino

acid-defined diet in rats. *Int J Mol Med* 33(1): 68-76.

[103]Ogihara T1, Asano T, Ando K, Sakoda H, Anai M, Shojima N, Ono H, Onishi Y, Fujishiro M, Abe M, Fukushima Y, Kikuchi M, Fujita T (2002) High-salt diet enhances insulin signaling and induces insulin resistance in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension* 40(1): 83-89.

[104]John SW, Krege JH, Oliver PM, Hagan JR, Hodgin JB, Pang SC, Flynn TG, Smithies O (1995) Genetic decreases in atrial natriuretic peptide and salt-sensitive hypertension. *Science* 267(5198): 679-681.

[105]Lúrio LM, Forechi L, Zanardo TC, Batista HM, Meira EF, Nogueira BV, Mill JG, Baldo MP (2016) Chronic fructose intake accelerates non-alcoholic fatty liver disease in the presence of essential hypertension. *J Diabetes Complications* 30(1): 85-92.

[106]Koga Y, Hirooka Y, Araki S, Nozoe M, Kishi T, Sunagawa K (2008) High salt intake enhances blood pressure increase during development of hypertension via oxidative stress in rostral ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 31(11): 2075-2083.

[107]Ogihara T1, Asano T, Ando K, Sakoda H, Anai M, Shojima

N, Ono H, Onishi Y, Fujishiro M, Abe M, Fukushima Y, Kikuchi M, Fujita T (2002) High-salt diet enhances insulin signaling and induces insulin resistance in Dahl salt-sensitive rats. Hypertension 40(1): 83-89.

[108]Park MN (2008) The effects of rosiglitazone on hypertensive nephropathy in Dahl salt-sensitive rat model. Kyunghee university, Seoul.

[109]Yu HC, Burrell LM, Black MJ, Wu LL, Dilley RJ, Cooper ME, Johnston CI (1999) Salt induces myocardial and renal fibrosis in normotensive and hypertensive rats. Circulation 98(23): 2621-2628.

[110]Rapp JP, Dene H (1985) Development and characteristics of inbred strains of Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats. Hypertension 7(3 Pt 1): 340-349.

[111]Kwon GJ (2014) 혈액투석 환자의 췌담에 의한 혈중요소질소와 크레아티닌의 변화 고찰. Sunnon university, Asan.

[109]Yu HC, Burrell LM, Black MJ, Wu LL, Dilley RJ, Cooper ME, Johnston CI (1999) Salt induces myocardial and renal fibrosis in normotensive and hypertensive rats. Circulation 98(23): 2621-2628.

[108]Park MN (2008) The effects of rosiglitazone on hypertensive nephropathy in Dahl salt-sensitive rat model. Kyunghee university, Seoul.

[108]Park MN (2008) The effects of rosiglitazone on hypertensive nephropathy in Dahl salt-sensitive rat model. Kyunghee university, Seoul.

[115]Hajri T, Ibrahim A, Coburn CT, Knapp FF Jr, Kurtz T, Pravenec M, Abumrad NA (2001) Defective fatty acid uptake in the spontaneously hypertensive rat is a primary determinant of altered glucose metabolism, hyperinsulinemia, and myocardial hypertrophy. *J Biol Chem* 276(26): 23661-23666.

[116]Ogihara T, Asano T, Ando K, Chiba Y, Sekine N, Sakoda H, Anai M, Onishi Y, Fujishiro M, Ono H, Shojima N, Inukai K, Fukushima Y, Kikuchi M, Fujita T.(2001) Insulin resistance with enhanced insulin signaling in high salt diet fed rats. *Hypertension* 40(1): 83-89.

[117]Ahmad F ud Din, Sattar MA, Rathore HA, Akhter S, Jin O Hui, Johns EJ (2014) Diuretic action of exogenous hydrogen sulfide in spontaneously hypertensive diabetic rats. *Trop J Pharm Res* 13(11): 1867-1876

[118]Ogihara T, Asano T, Ando K, Chiba Y, Sekine N, Sakoda H, Anai M, Onishi Y, Fujishiro M, Ono H, Shojima N, Inukai K, Fukushima Y, Kikuchi M, Fujita T.(2001) Insulin resistance with enhanced insulin signaling in high salt diet fed rats. Hypertension 40(1): 83-89.

[119]Giner V, Coca A, de la Sierra A (2001) Increased insulin resistance in salt sensitive essential hypertension. J Hum Hypertens 15(7): 481-485.

[120]Yoon SH, Park EJ, Oh KH, Chung YG, Kwon OJ (1993) The effect of lithospermi radix on benzo(a)pyrene-induced hepatotoxicity. J Korean Soc Food Sci Nutr 22(2): 144-148.

[56]Park JS, Yoo BW, Cho YJ, Oh JE, Hong SH, Cho SY (2009) The Factors Related to the Incidence of Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease (NAFLD) in Obese Patients. Journal of Soonchunhyang Medical Science 15(1): 75-82.

[122]Kim KY, Cho SE, Yu BS (2009) Intragastrically Applied CCl<sub>4</sub>-Thiopental Sodium Enhanced Lipid Peroxidation and Liver Fibrosis (Cirrhosis) in Rat: Malonaldehyde as a Parameter of Lipid Peroxidation Correlated with Hydroxyproline as a Parameter of Collagen

Synthesis (Deposition). *Toxicol. Res* 25(2):71-78.

[123]Mattace Raso G, Simeoli R, Russo R, Iacono A, Santoro A, Paciello O, Ferrante MC, Canani RB, Calignano A, Meli R (2013) Effects of sodium butyrate and its synthetic amide derivative on liver inflammation and glucose tolerance in an animal model of steatosis induced by high fat diet. *PLoS One* 8(7): e68626.

[124]Yang ZR, Wang HF<sup>1</sup>, Zuo TC<sup>1</sup>, Guan LL<sup>2</sup>, Dai N (2016) Salidroside alleviates oxidative stress in the liver with non-alcoholic steatohepatitis in rats. *BMC Pharmacol Toxicol* 17:16.

[125]Noeman SA, Hamooda HE, Baalash AA (2011) Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetol Metab Syndr* 3(1): 17.

[126]Park J, Rho HK, Kim KH, Choe SS, Lee YS, Kim JB (2005) Overexpression of glucose-6-phosphate dehydrogenase is associated with lipid dysregulation and insulin resistance in obesity. *Mol Cell Biol* 25(12): 5146-5157.

[94]Ragab SM, Abd Elghaffar SKh, El-Metwally TH, Badr G, Mahmoud MH, Omar HM (2015) Effect of a high fat, high

sucrose diet on the promotion of non-alcoholic fatty liver disease in male rats: the ameliorative role of three natural compounds. *Lipids Health Dis* 14:83.

[128]Kim KY, Cho SE, Yu BS (2009) Intragastrically Applied CC14-Thiopental Sodium Enhanced Lipid Peroxidation and Liver Fibrosis (Cirrhosis) in Rat: Malonaldehyde as a Parameter of Lipid Peroxidation Correlated with Hydroxyproline as a Parameter of Collagen Synthesis (Deposition). *Toxicol. Res* 25(2):71-78.

[129]Yang ZR, Wang HF, Zuo TC, Guan LL, Dai N (2016) Salidroside alleviates oxidative stress in the liver with non-alcoholic steatohepatitis in rats. *BMC Pharmacol Toxicol* 17:16.

[130]Sinha M, Manna P, Sil PC (2009) Induction of necrosis in cadmium-induced hepatic oxidative stress and its prevention by the prophylactic properties of taurine. *Toxicology* 23(4): 300-313.

[131]Mattace Raso G, Simeoli R, Russo R, Iacono A, Santoro A, Paciello O, Ferrante MC, Canani RB, Calignano A, Meli R (2013) Effects of sodium butyrate and its synthetic amide derivative on liver inflammation and glucose tolerance in an animal model of steatosis induced by high fat diet. *PLoS One*

8(7): e68626.

[132]Hardie DG: Minireview. The AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. *Endocrinology* 144:5179-5183, 2003

[133]Park JY (2016) Inhibitory Effects on Obesity and Colon Cancer by Solar Salt and Bamboo Salt in C57BL/6J Mice. Busan university, Busan.

[134]Gathercole LL1, Morgan SA, Tomlinson JW (2013) Hormonal regulation of lipogenesis. *Vitam Horm* 91: 1-27.

[135]Yun WK, Bae HJ, Kim YJ, Kwon OJ, Im MH, Cho HD, Kim TW (2014) Effect of the supplementation of *Coconopsis lanceolata* extract on lipid metabolism amelioration in type 2 diabetes mouse model induced by high fat diet. *Korean J Food Preserv* 21(1): 107-113.

[136]Tilg H, Moschen AR (2008) Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol Metab* 19(10): 371-379.

[137]Vansaun MN, Mendonsa AM, Lee Gordon D (2013) Hepatocellular proliferation correlates with inflammatory cell

and cytokine changes in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease. PLoS One 8(9):e73054.

[138]Park EJ, Lee JH, Yu G-Y, He G, Ali SR, et al. (2010) Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression. Cell 140: 197-208

[139]Mas E, Danjoux M, Garcia V, Carpentier S, Seckl JR, et al. (2009) IL-6 deficiency attenuates murine diet-induced non-alcoholic steatohepatitis. PloS one 4: e7929.

[140]Yamaguchi K, Itoh Y, Yokomizo C, Nishimura T, Niimi T, et al. (2010) Blockade of interleukin-6 signaling enhances hepatic steatosis but improves liver injury in methionine choline-deficient diet-fed mice. Laboratory Investigation 90: 1169-1178.

[141]Baeck C, Wehr A, Karlmark KR, Heymann F, Vucur M, Gassler N, Huss S, Klussmann S, Eulberg D, Luedde T, Trautwein C, Tacke F (2012) Pharmacological inhibition of the chemokine CCL2 (MCP-1) diminishes liver macrophage infiltration and steatohepatitis in chronic hepatic injury. Gut 61(3): 416-426.

[142]Haukeland JW, Damås JK, Konopski Z, Løberg EM, Haaland T, Goverud I, Torjesen PA, Birkeland K, Bjøro K, Aukrust P (2006) systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2. *J Hepatol* 44(6):1167-1174.

[143]Cheng Q, Li N, Chen M, Zheng J, Qian Z, Wang X, Huang C, Xu S, Shi G (2013) Cyclooxygenase-2 Promotes Hepatocellular Apoptosis by Interacting with TNF- $\alpha$  and IL-6 in the Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis in Rats. *Dig Dis Sci* 58(10): 2895-2902.

[108]Park MN (2008) The effects of rosiglitazone on hypertensive nephropathy in Dahl salt-sensitive rat model. Kyunghee university, Seoul.

[145]Kim BY, Ahn HJ, Oh SW, Jeong OM, Choi YJ, Kook JH, Kim KC, Hong SP, Hwang, SG, Park PW, Rim KS (1998) The Degree of TGF- $\beta$ 1 and  $\alpha$ -SMA Expression in Liver Tissues with its Prognostic Value for the Therapeutic Efficacy of Interferon in Chronic Hepatitis B. *Clin Mol Hepatol* 4(4): 317-329.

[146]Kim BY, Ahn HJ, Oh SW, Jeong OM, Choi YJ, Kook JH, Kim KC, Hong SP, Hwang, SG, Park PW, Rim KS (1998) The

Degree of TGF- $\beta$ 1 and  $\alpha$ -SMA Expression in Liver Tissues with its Prognostic Value for the Therapeutic Efficacy of Interferon in Chronic Hepatitis B. Clin Mol Hepatol 4(4): 317-329.

[147]Yoo BM, Park SS, Lee DH, Lee JD (1997) Distinct expressions of TGF- $\alpha$  among chronic hepatitis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Clin Mol Hepatol 3(4): 316-328.

[148]McClain C.J, Song Z, Barve SS, Hill DB, Deaciuc I (2004) Recent advances in alcoholic liver disease: dysregulated cytokine metabolism in alcoholic liver disease. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 287(3): G497-502.

[149]McGee J, Patrick R (1972) The role of perisinusoidal cells in hepatic fibrogenesis. Lab. Invest 26: 429-440.

# ABSTRACT

## Spontaneously Hypertensive Rats(SHR)에서 고나트륨 섭취가 비알코올성 지방간염 발생에 미치는 영향

Bak, Su Joeng  
Department of Food & Nutrition  
Graduated School of  
Sungshin University

Numerous studies have shown that excessive sodium intake is associated with obesity, increased insulin resistance, and increased incidence of type 2 diabetes and cardiovascular disease. Triglyceride accumulation, inflammatory cytokines, and oxidative stress that cause NASH progress are similar to those of chronic inflammatory diseases caused by high sodium. However, there is a lack of research on the correlation between sodium and NASH. We will investigate whether high sodium intake affects the onset of NASH based on '2-hit hypothesis'. In this study, to investigate of corelationship between high sodium intake and NASH, Spontaneously Hypertensive Rats(SHR) and Wistar Kyoto Rats(WKY) were fed low sodium(0.8%) and high sodium(8%) for 4weeks. Both WKY and SHR consumed high sodium resulted in weight loss and

increased dietary and water intake. High sodium affects the heart with both cardiac hypertrophy and hypertension in both WKY and SHR, and kidney muscle damage and dysfunction in the kidney. High sodium intake did not cause changes in serum lipids and insulin resistance. High sodium intake resulted in liver toxicity in both WKY and SHR, Lipid peroxidation and oxidative stress increased in SHR more than WKY. pro-inflammatory cytokine were increased by high sodium in both WKY and SHR. Serum and hepatic lipids, insulin resistance, liver damage, lipid peroxidation, and fat production were analyzed to identify the first hit and inflammation was analyzed to identify the second hit in 2 hit hypothesis, the basis of NASH pathology As a result of SHR, high sodium intake increased liver damage, lipid peroxidation and lipogenesis in 1st hit and increased inflammation in 2nd hit. WKY increased only the 2nd hit inflammation. Therefore, SHR correlated with the mechanism by which high sodium intake was based on '2 hit hypothesis'. WKY only progressed to liver inflammation during NASH pathogenesis. Therefore, we found that high sodium intake in NASH and hypertensive rats cause NASH differently. This study suggests guideline for dietary therapy to essential hypertension patients and normaltensive people according to different mechanism between them. and It is expected that it will become the basic data of human clinical studies in the future.