

간헐적식에 의한 고지방식이 생쥐의 비장 갈렉틴-3단백발현에 미치는 영향

이정은¹

¹경상국립대학교 의과대학 흉부외과학교실, 경상국립대학교병원

Effects of Intermittent Fasting on Splenic Galectin-3 Protein Expression in High-fat Diet-fed Mice

Chung Eun Lee¹

¹Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Gyeongsang National University Hospital, Gyeongsang National University

Abstract : Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) causes the increase of splenic macrophages. Galectin-3 plays an important role in the phagocytosis of macrophages. However, the role of splenic galectin-3 in NAFLD remains unclear. This study determines the effects of intermittent fasting (IF) on splenic galectin-3 protein expression in high-fat diet (HFD)-fed mice. Mice were fed an HFD for 30 weeks and then either continued on the HFD or subjected to IF for the last 22 weeks. IF led to the reduction of spleen weight and attenuated NAFLD in HFD-fed mice. In particular, total splenic iron concentration was decreased in HFD-fed mice compared to ND-fed mice. However, IF reversed the total iron level. Increased splenic galectin-3 expression in HFD-fed mice was significantly attenuated by IF. HFD + IF-fed mice had fewer galectin-3-positive macrophages in the spleen than those of HFD-fed mice. These findings indicate that IF can improve galectin-3-mediated phagocytosis in mice with NAFLD.

Keywords : Intermittent fasting, NAFLD, Spleen, Galectin-3, Mouse

서 론

비알코올지방간질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 간세포에 지방이 축적되어 발생하는 질환이

저자(들)는 ‘의학논문 출판윤리 가이드라인’을 준수합니다.
저자(들)는 이 연구와 관련하여 이해관계가 없음을 밝힙니다.

Received: November 7, 2023; **Revised:** November 27, 2023;
Accepted: December 4, 2023

Correspondence to: 이정은 (경상국립대학교 의과대학 흉부외과학교실)
E-mail: ilikerem@hanmail.net

다[1]. 비알코올지방간질환은 단순지방증 (simple steatosis), 비알코올지방간염 (NASH), 간경화증 (hepatic cirrhosis)으로 진행될 수 있다[2-4]. 비알코올지방간질환은 면역 반응에 다양한 영향을 미친다[5]. 특히, 비알코올지방간질환 환자의 혈액 내에서 염증성 사이토카인 (cytokine)들이 증가하고 감염에 대해 취약하다[6]. 비알코올지방간질환은 백혈구를 생성하고, 혈액을 걸러내고, 노폐물을 제거하는 역할을 하는 비장 (spleen)에 다양한 변화를 일으킨다[7]. 비알코올지방간염 환자의 약 20%에서 비장의 크기가 증

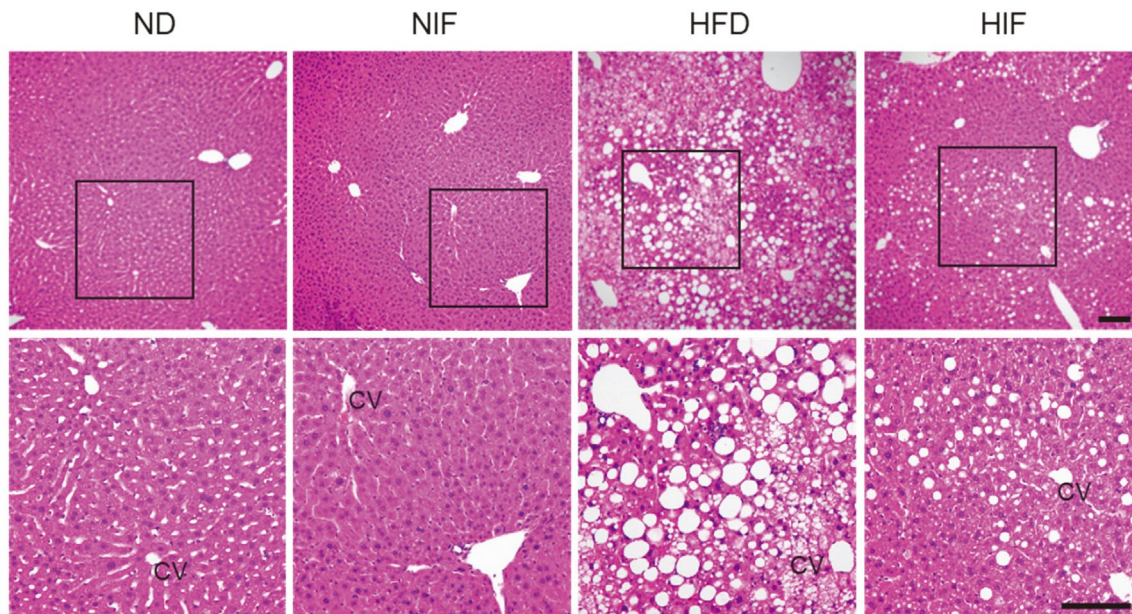


Fig. 1. Effects of intermittent fasting on NAFLD in HFD-fed mice. Representative images of H&E staining of hepatic sections. The highly magnified images in the black boxes within the upper panels are shown in the lower panels. Scale bars, 100 μ m. ND; normal diet, NIF; ND + intermittent fasting (IF), HFD; high-fat diet, HIF; HFD + IF, CV; central vein.

가하여 면역력저하, 감염에 대한 취약성 증가, 혈액응고장애 등의 증상이 나타난다[8]. 하지만 비알코올지방간질환으로 인한 비장의 병태생리학적 변화에 대한 정확한 기전은 알려져 있지 않다.

갈렉틴-3 (galectin-3)은 면역반응(immune response), 염증(inflammation), 세포사멸(apoptosis) 등의 다양한 생리과정에서 중요한 역할을 하는 단백질의 일종으로 세포표면이나 세포내에서 존재한다[9]. 또한 갈렉틴-3은 대뇌(cerebrum), 심장(heart), 이자(pancreas)에서는 낮게 발현되지만, 폐(lung), 비장(spleen), 위(stomach), 결장(colon)에서는 높게 발현된다[10]. 특히, 갈렉틴-3은 비알코올지방간질환과 관련이 있는 것으로 알려져 있다[11-13]. 비알코올지방간질환 환자의 비장에서 갈렉틴-3의 수치가 증가하고, 비알코올지방간질환의 진행을 촉진한다[14]. 따라서, 갈렉틴-3은 비알코올지방간질환의 경과 진행과 비장의 병태기전에 중요한 역할을 할 것으로 기대된다.

비만(obesity)과 제2형 당뇨병(type2 diabetes mellitus)에 대한 약물 치료 외에도 신체활동과 열량제한(caloric restriction)만으로도 체중을 감소시키고 인슐린저항성(insulin resistance)을 개선시킨다. 동물실험연구에서 열량제한은 고지방식이 투여 *ob/ob*와 *db/db* 생쥐에서 비알코올지방간질환을 감소시킨다[15,16]. 열량제한은 섭취하는 음식의 약 60~70%를 줄임으로써 체중과 인슐린저항성을 감소시킨다. 다른 열량제한 방법으로 격일로 절식을 하는

간헐적식(intermittent fasting, IF)도 비알코올지방간질환을 감소시킨다[17].

이러한 연구배경을 바탕으로 본 연구에서는 고지방식이 섭취 비알코올지방간염 생쥐 모델에서 간헐적식이 어떻게 비장의 크기변화 및 비장내 철(iron)농도와 갈렉틴-3단백 발현에 영향을 미치는지를 확인하고자 한다. 본 연구결과는 비장의 크기변화와 비장에서 발현되는 갈렉틴-3대식세포가 비알코올지방간질환의 병인기전에 중요한 역할을 할 수 있음과 더불어 식이 조절을 통한 비알코올지방간질환의 비약물적 치료효과를 시사한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

3주령 C57BL/6 수컷 생쥐를 코아텍(대한민국, 평택)에서 구입하였다. 생쥐(그룹당 n=10)를 4그룹으로 나누었다. 실험군은 60% 칼로리 고지방식이(high-fat diet, HFD, Research Diets Inc, New Brunswick, NJ, USA)를 30주 동안 섭취시켰다. 고지방식이 간헐적식(HIF)은 8주 동안 고지방식이를 섭취 후 고지방식이를 22주 동안 격일로 절식과 식이를 반복하였다. 대조군으로 정상식이(normal diet, ND) 또는 정상식이 간헐적식(NIF)을 격일로 절식과 식이를 반복하였다. 모든 생쥐는 34주령에 희생하였다. 생쥐는

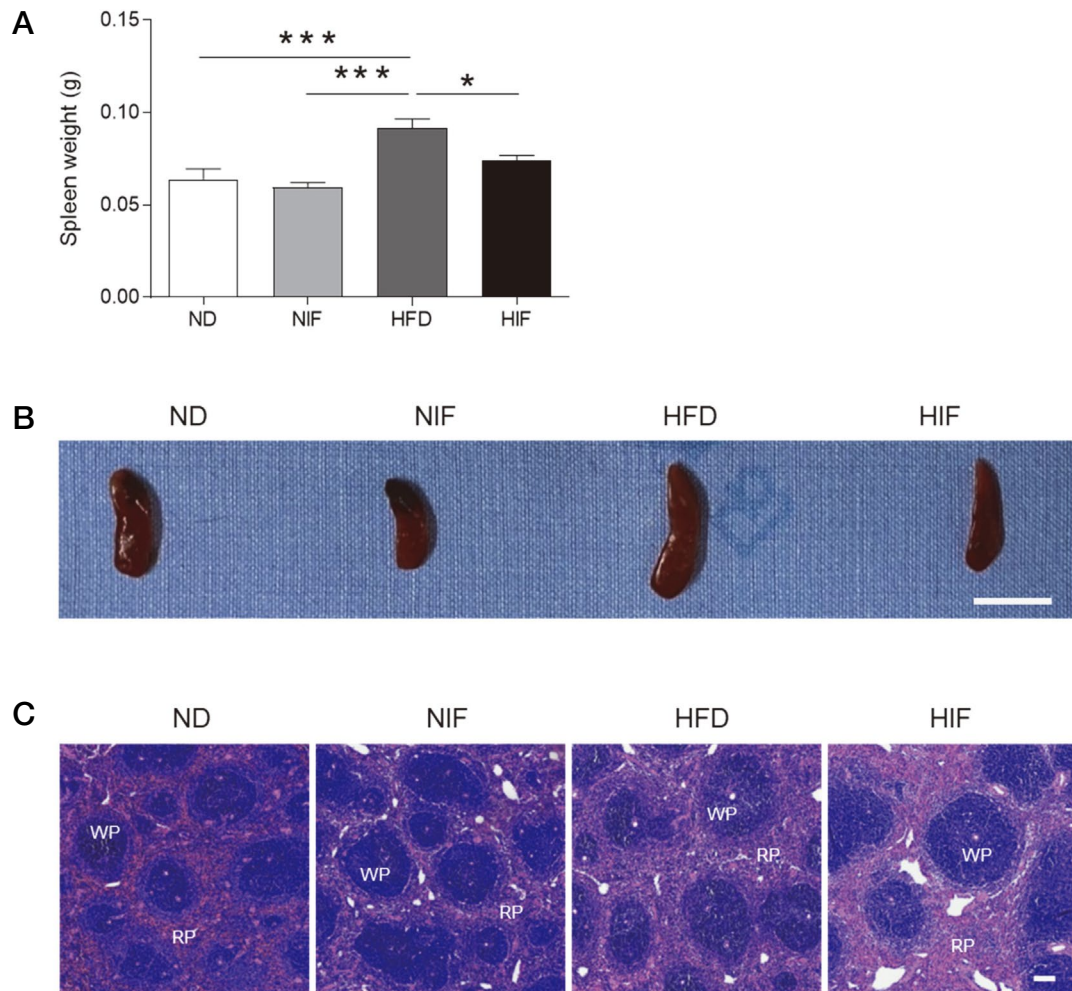


Fig. 2. Effects of intermittent fasting on the weight of the spleen in HFD-fed mice. (A) Spleen weight, (B) Representative images of spleen. Scale bar, 1 cm. (C) H&E staining of splenic sections. Scale bar, 100 μ m. Significance was determined by two-way ANOVA. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$. ND; normal diet, NIF; ND + intermittent fasting (IF), HFD; high-fat diet, HIF; HFD + IF, WP; white pulp, RP; red pulp.

교대로 12시간 동안 명암 주기를 유지하면서 사육하였다. 모든 동물실험은 경상국립대학교 동물연구위원회의 동물 관리위원회(GNU-170116-M0022)의 승인을 받았다.

2. 조직처리 및 절편 제작

생쥐를 Zoletil (20 mg/kg, Virbac Laboratories, Carros, France)과 Rompun (5 mg/kg, Bayer, Bayer Korea, Republic of Korea)으로 마취하였다. 조직학적 분석을 위해, 생쥐(그룹당 $n = 4$)에 0.1 M 인산완충생리식염수(phosphate-buffered saline, PBS)에 4% 파라포름알데히드(paraformaldehyde, PFA)를 좌심실을 통해 관류하였다. 간과 비장을 4% PFA에 4°C에서 12시간 동안 추가 고정하였다. 고정된 조직은 알코올 탈수과정과 자일렌을 거쳐 파라핀

에 포매한 후 5 μ m 단면으로 절단하였다.

3. 조직염색

파라핀을 제거한 비장절편을 헤마톡실린과 에오신(H&E, Abcam, Cambridge, MA, USA) 염색을 한 후 BX51 현미경(Olympus, Tokyo, Japan)을 사용하여 시각화하였다.

4. 철분석

파라핀이 제거된 비장절편을 Perls Prussian blue (Iron Stain Kit, Abcam)로 염색하였다. 철 염색된 슬라이드는 BX51 광학 현미경(Olympus)으로 시각화하였다. 추가로 냉동 비장의 총 철 농도는 철 분석 키트(MAK025, Sigma-

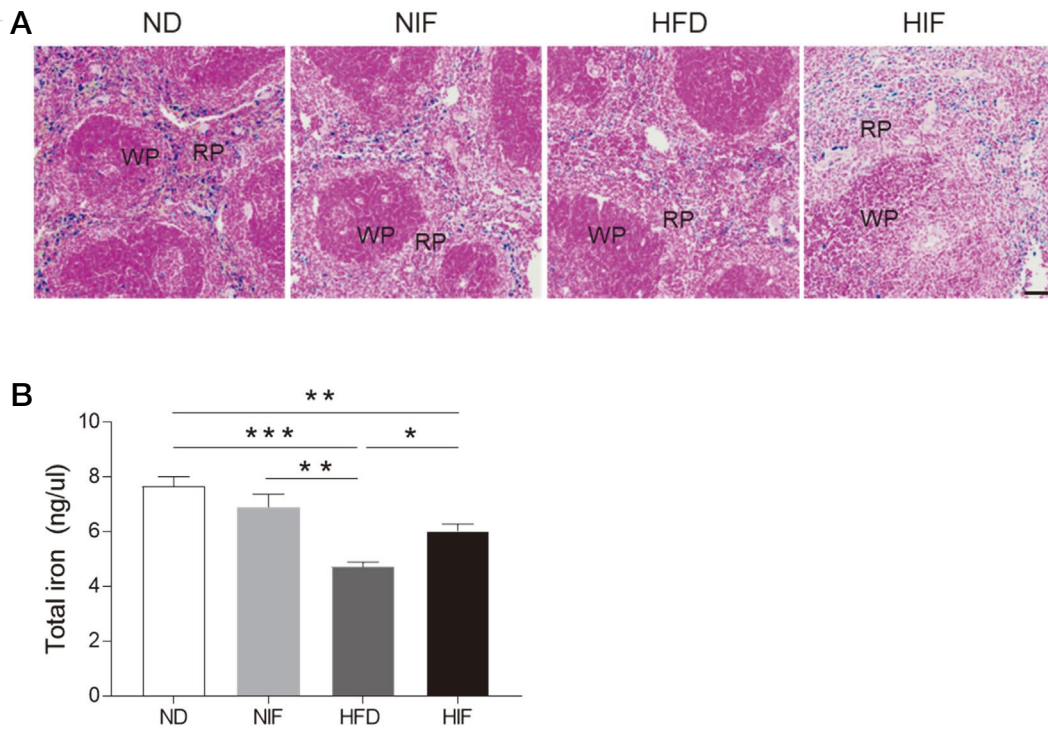


Fig. 3. Effects of intermittent fasting on total iron levels in the spleen of HFD-fed mice. (A) Representative images of Perls Prussian blue staining in splenic sections. Scale bar, 50 μ m. (B) Total iron concentration in the spleens of ND-, NIF-, HFD-, and HIF-fed mice. Significance was determined by two-way ANOVA. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$. ND; normal diet, NIF; ND + intermittent fasting (IF), HFD; high-fat diet, HIF; HFD + IF, WP; white pulp, RP; red pulp.

Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 측정하였다.

5. 웨스턴블롯분석(western blot analysis)

단백질 추출을 위해, 냉동 비장(그룹당 $n = 6$)을 프로테아제 및 포스파타제 억제제 카테일이 포함된 T-PER 용해 완충액(Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA)에서 균질화하였다. 단백질 농도는 bicinchoninic acid (BCA) 분석(Thermo Fisher Scientific)을 사용하여 측정하였다. 일차 항체는 갈렉틴-3항체(sc-23938, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)를 1 : 1,000으로 희석하여 4°C에 하룻밤 동안 반응시켰다. β -Actin은 단백질 수준을 표준화하기 위한 로딩 컨트롤로 사용하였다. 강화된 화학발광 기질(Pierce, Rockford, IL, USA)을 사용하여 단백질 밴드를 검출하고, 화학발광을 LAS-4000 장비(Fujifilm, Tokyo, Japan)를 사용하여 분석하였다. 농도계 분석에는 Multi-Gauge V 3.0 이미지 분석 프로그램(Fujifilm)을 사용하였다.

6. 면역형광분석법

파라핀이 제거된 비장절편을 실온에서 1시간 동안 5% 혈청과 함께 배양한 후 일차항체인 갈렉틴-3항체(Santa Cruz Biotechnology)와 대식세포 마커인 F4/80항체(Santa Cruz Biotechnology)를 각각 1 : 100으로 희석하여 동시에 넣어 4°C에 하룻밤 동안 반응시켰다. 이차항체는 Alexa Fluor 488- 또는 594-접합 형광 2차항체와 함께 반응하였다. 핵은 4, 6-디아미디노-2-페닐인돌(DAPI, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)로 대조 염색하였다. 슬라이드는 VectaMount (Vector Laboratories)를 사용하여 부착하였고 BX51-DSU 현미경(Olympus)을 사용하여 대표 이미지를 얻었다. 고배율에서($\times 400$)의 $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ 면적에서 갈렉틴-3와 F4/80 항체가 동시에 발현되는 대식세포의 수를 측정하여 그래프로 표시하였다.

7. 통계분석

통계분석은 PRISM 7.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)을 사용하였다. 모든 자료는 Shapiro-

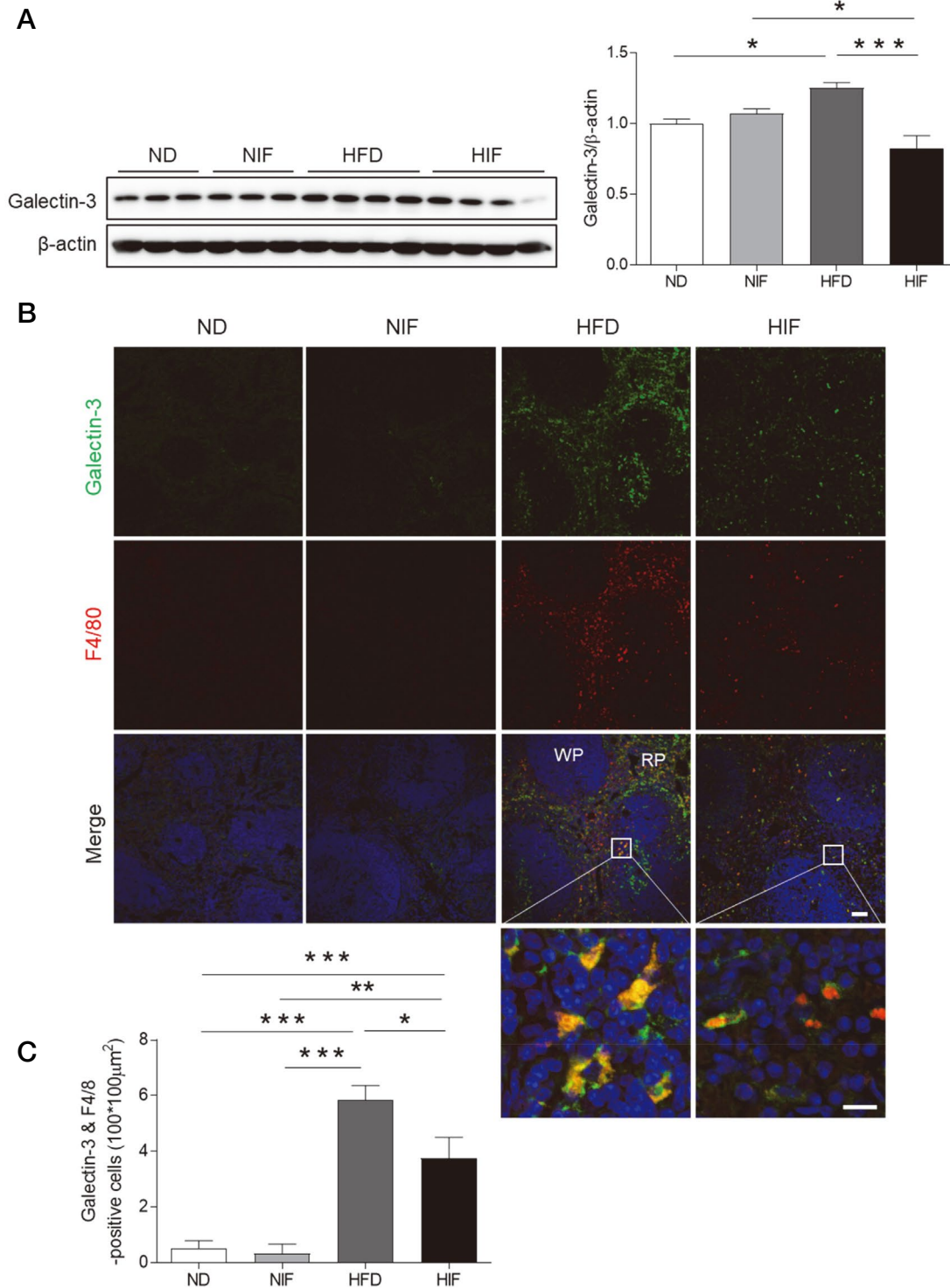


Fig. 4. Effects of intermittent fasting on splenic galectin-3 protein expression in HFD-fed mice. (A) Western blot analysis and quantification of galectin-3 protein in splenic lysates. β-Actin was used as a loading control. (B) Representative galectin-3 (green) and F4/80 (red) staining of splenic sections. Scale bars, 50 μm (10 μm in white box). (C) Co-localized galectin-3 and F4/80-positive cells were counted and analyzed in four-five fields (100 × 100 μm²). Significance was determined by two-way ANOVA. *P < 0.05, **P < 0.005, ***P < 0.0005. ND; normal diet, NIF; ND + intermittent fasting (IF), HFD; high-fat diet, HIF; HFD + IF, WP; white pulp, RP; red pulp.

Wilks 검정을 이용한 정규성(normality)을 만족하여 이원 분산분석(two-way ANOVA)을 실시하였고, 그룹간 차이는 Tukey의 사후(post hoc) 테스트를 사용하였다. 모든 값은 평균±평균의 표준오차(SEM)로 표시하였다. 유의확률(P-값)이 0.05보다 작은 경우를 유의미한 것으로 해석하였다.

결 과

1. 간헐절식에 의한 고지방식이 생쥐의 비알코올지방간 질환의 개선

먼저 간헐절식이 장기간의 고지방식이에 의해 발생된 비알코올지방간질환을 감소시키는지 확인하기 위하여 헤마톡실린과 에오진으로 염색을 하였다. 고지방식이 투여 생쥐의 간세포내에서 많은 수의 지방방울(lipid droplet)들이 중심정맥(central vein, CV) 주위에서 관찰되었고, 고지방식이 간헐절식 생쥐에서는 간세포내 지방방울의 축적이 현저히 감소한 것을 관찰하였다(Fig. 1). 정상식이 또는 정상식이 간헐절식 생쥐의 간세포내에서는 지방축적이 관찰되지 않았다.

2. 간헐절식에 의한 고지방식이 생쥐의 비장무게의 감소

간헐절식에 의한 비알코올지방간질환의 개선효과를 바탕으로 비장무게의 변화와 백색속질(white pulp, WP)과 적색속질(red pulp, RP)의 조직학적 변화를 확인하고자 하였다. 정상식이 생쥐 또는 정상식이 간헐절식 생쥐의 비장무게의 차이는 없었다(Fig. 2A). 하지만 고지방식이 생쥐의 비장무게는 정상식이 생쥐보다 현저히 많이 증가하였으며, 간헐절식에 의해 통계학적으로 감소되었다(Fig. 2A). 대표적인 비장의 육안사진에서도 비장무게의 변화와 일치하였다(Fig. 2B). 일반조직학적 염색에서는 백색속질과 적색속질이 명확하게 구분되어 관찰되었다. 하지만 고지방식이와 고지방식이 간헐절식 생쥐 모두에서 백색속질 사이공간인 적색속질의 공간이 넓어진 것을 관찰하였지만 통계적인 차이는 없었다(Fig. 2C).

3. 간헐절식에 의한 고지방식이 생쥐의 비장내 철 농도의 개선

비장은 수명이 다 된 적혈구를 제거하는 주된 기관으로 파괴된 적혈구로부터의 철(iron)의 재순환에 관여한다. Perls Prussian blue 염색에서는 정상식이 또는 정상식이 간

헐적식 생쥐 비장의 적색속질에서 다수의 파란색 철이 관찰되었다(Fig. 3A). 하지만 고지방식이 또는 고지방식이 간헐절식 비장속의 적색속질에서는 정상식이 생쥐 비장보다 적은 양의 철이 관찰되었다. 이를 확인하기 위하여 비장조직내의 전체 철의 농도를 측정하였다. 정상식이 생쥐와 비교해 볼 때 고지방식이 생쥐 비장의 철 농도가 감소하였지만 고지방식이 간헐절식에서는 통계적으로 유의하게 증가되는 것을 발견하였다(Fig. 3B).

4. 간헐절식에 의한 고지방식이 생쥐의 비장 갈렉틴-3 단백발현의 감소

갈렉틴-3는 염증, 기능저하, 면역반응조절 등에 영향을 미친다. 웨스턴블롯분석을 통해 비장내의 갈렉틴-3단백질의 정량 분석을 확인하고, 발현되는 세포를 구분하기 위하여 이중면역형광법을 사용하였다(Fig. 4). 정상식이 생쥐와 비교했을 때 고지방식이 생쥐 비장의 갈렉틴-3단백발현은 증가하였고, 간헐절식에 의해 감소됨을 확인하였다(Fig. 4A). 정상식이 간헐절식에 의한 갈렉틴-3의 변화는 관찰되지 않았다. 갈렉틴-3은 대식작용을 하는 대식세포에서 발현된다. 따라서 대식세포의 표지자인 F4/80항체와 더불어 갈렉틴-3항체를 이용하여 이중면역형광법을 수행하였다(Fig. 4B). 적색속질내에 F4/80항체 발현 대식세포들은 같은 세포에서 발현되는 갈렉틴-3항체들이 고지방식이 생쥐에서 많이 관찰되었다. 하지만 고지방식이 간헐절식 생쥐 적색속질에서는 많은 수의 갈렉틴-3 대식세포가 감소되었다(Fig. 4C). 정상식이와 정상식이 간헐절식 생쥐에서는 관찰되는 세포들이 없었다.

고 찰

본 연구에서는 비만에 의한 비알코올지방간질환을 가진 생쥐가 비장비대, 비장내 철 농도의 감소, 그리고 갈렉틴-3 발현 대식세포의 증가를 보였으나 간헐절식을 통해 이러한 비장의 형태학적 변화뿐만 아니라 갈렉틴-3 단백발현이 감소되는 것을 증명하였다. 따라서 본 연구결과는 수명이 다 된 적혈구의 파괴기관 및 면역기능을 하는 비장의 기능적 변화는 비만과 같은 대사질환의 병태생리적 변화와 밀접한 관련성을 제시해줄 뿐만 아니라 간헐절식을 통한 체중감소는 비장의 면역기능개선에 중요한 역할을 할 것을 제시한다.

비장은 전신순환계와 직접적으로 연결되어 있지 않고, 간문맥(portal vein)과 연결되어 있기 때문에 간 기능과 밀

접한 관련이 있는 면역기관이다. 따라서 간과 비장 사이의 면역, 감염 및 대사에 대해서 많은 연구들이 보고되고 있다[7]. 비알코올지방간질환이 있는 환자에서는 비장크기가 증가하여 간과 비장 비율을 비교해 볼 때 정상인에 비해 감소된다. 컴퓨터영상촬영(CT)을 통한 간과 비장크기의 비율을 활용하여 비알코올지방간질환의 진행정도를 판단하기도 한다. 동물연구에서도 생쥐에게 12주 동안 고지방과 고당을 섭취하면 비장의 무게가 크게 증가한다[18]. 이러한 비장의 부피 또는 크기의 증가는 비장내의 면역세포수 증가를 의미할 수 있고, 문맥고혈압(portal hypertension)의 증가에 따른 비장부피의 증가를 초래할 수 있다[19]. 본 연구에서는 증가된 비장의 무게가 간헐적식에 의해 감소되었으며 이것은 비알코올지방간질환의 개선에 의한 이차적 결과로 생각된다.

비장은 혈액을 여과하는 림프계의 일부이며 노화되거나 수명이 다 된 적혈구, 백혈구 및 혈소판을 제거하는 역할을 한다. 반면 적혈구의 생성을 돕는 호르몬을 생성한다. 특히 수명이 다 된 적혈구는 비장에서 파괴되어 헤모글로빈(hemoglobin)은 철(iron)과 헤모글로빈 단백질로 분해된다. 철은 재활용되어 새로운 적혈구를 만드는데 사용되며, 헤모글로빈 단백질은 빌리루빈(bilirubin)으로 전환된다. 본 연구에서는 정상식이 생쥐와 비교했을 때 고지방식이 생쥐의 비장 적색속질내의 철이 감소되었고 전체 비장의 철 농도도 감소되었다. 하지만 고지방식이 간헐적식은 정상식이군과 비교해 볼 때 완전히 개선은 되지 않지만, 고지방식이 생쥐보다 유의하게 증가됨을 알 수 있다. 장기간의 고지방식이 섭취에 의한 비만으로 비정상적인 적혈구의 수는 증가하고 이로 인한 재활용이 안 됨으로써 오히려 적색속질내 철침착의 증가가 관찰될 것으로 생각되었지만 오히려 반대의 결과가 관찰되었다. 이러한 연구결과는 고지방식이 생쥐의 비장내 대식세포에 의한 적혈구의 식균작용이 증가한다는 결과를 뒷받침한다[8]. 증가된 대식세포의 적혈구 식균작용은 잠재적으로 비장내 면역세포의 활성화와 단핵구(monocyte)의 발달을 위한 방아쇠 역할을 한다. 따라서 철 농도의 감소는 증가된 대식세포에 의한 적혈구 식균작용의 증가로 감소됨을 기대할 수 있고, 이에 따른 비장내 철분이 감소됨을 알 수 있다. 하지만 간헐적식을 통한 대식세포의 침윤 감소에 따른 적색속질내의 철이 다시 증가됨을 볼 수 있다.

갈렉틴-3은 비알코올지방간질환의 질병 진행을 초래하는 기전과 연관이 있다는 연구결과가 있다[19]. 하지만 갈렉틴-3은 상반된 연구결과로 갈렉틴-3유전자 결핍된 생쥐에서 오히려 지방간이 유발되는 반면[20,21], 다른 연구에서는 오히려 산화적 스트레스를 감소시킴으로써 지방간

과 섬유화를 억제시킨다는 보고가 있다[13]. 이러한 연구 결과들은 갈렉틴-3가 단순지방간에서 비알코올지방간염으로의 진행과정을 나타낼 수 있는 바이오마커로 활용될 수 있다는 것으로 시사한다. 최근 발표한 연구결과에서도 고지방식이에 의한 비알코올지방간염에서 증가된 갈렉틴-3가 간헐적식에 의해 감소된다는 것을 확인하였다[17]. 따라서 본 연구에서는 비장에서의 갈렉틴-3발현 변화를 확인하였다. 비장에서 관찰되는 갈렉틴-3세포는 백색속질보다는 적색속질에서 많이 관찰되며, 적색속질에서는 대식세포와 가지돌기세포(dendritic cell)에서 관찰되고, 백색속질에서는 T림프구와 B림프구에서 보인다[10]. 본 연구에서도 백색속질 사이의 적색속질내의 갈렉틴-3 대식세포가 고지방식이 생쥐 비장에서 증가하였지만, 고지방식이 간헐적식 생쥐에서는 많은 수의 갈렉틴-3세포가 감소되었다. 정상식이과 정상식이 간헐적식 생쥐에서는 관찰되지 않았다. 따라서 본 연구결과는 고지방식이에 의해 증가된 면역반응 또는 대식작용의 증가로 갈렉틴-3가 증가한다는 것을 볼 수 있으며, 이를 간헐적식을 통해 억제할 수 있다는 것을 보여준다.

결론적으로, 본 연구는 비알코올지방간질환에 의해 비장비대가 어떻게 영향을 받는지에 대한 병리기전 이해를 강화하는 새로운 발견을 보여준다. 첫째, 30주 동안 고지방식이 투여 비만 생쥐에서 비장비대가 유발된다. 둘째, 간헐적식은 비알코올지방간질환의 개선뿐만 아니라 비장의 크기와 무게를 감소시킨다. 마지막으로 간헐적식은 비장내 철 농도를 증가시키고 대식세포에서 발현되는 갈렉틴-3을 감소시킨다. 따라서 본 연구결과는 간헐적식과 같은 체중감소의 대사효과는 비알코올지방간질환의 개선뿐만 아니라 비장의 면역기능개선에 중요한 역할을 할 것으로 기대된다.

REFERENCES

1. Mashek DG. Hepatic lipid droplets: A balancing act between energy storage and metabolic dysfunction in NAFLD. *Mol Metab.* 2021;50:101115.
2. Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2010;16:5286-96.
3. Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:145-71.
4. Pierantonelli I, Svegliati-Baroni G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Basic Pathogenetic Mechanisms in the Pro-

- gression From NAFLD to NASH. *Transplantation*. 2019;103:e1-e13.
5. Xu L, Liu W, Bai F, Xu Y, Liang X, Ma C, et al. Hepatic Macrophage as a Key Player in Fatty Liver Disease. *Front Immunol*. 2021;12:708978.
 6. Asrih M, Jornayvaz FR. Inflammation as a potential link between nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *J Endocrinol*. 2013;218:R25-36.
 7. Tarantino G, Scalera A, Finelli C. Liver-spleen axis: intersection between immunity, infections and metabolism. *World J Gastroenterol*. 2013;19:3534-42.
 8. Unruh D, Srinivasan R, Benson T, Haigh S, Coyle D, Batra N, et al. Red Blood Cell Dysfunction Induced by High-Fat Diet: Potential Implications for Obesity-Related Atherosclerosis. *Circulation*. 2015;132:1898-908.
 9. Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1572:263-73.
 10. Kim H, Lee J, Hyun JW, Park JW, Joo HG, Shin T. Expression and immunohistochemical localization of galectin-3 in various mouse tissues. *Cell Biol Int*. 2007;31:655-62.
 11. Pejnovic N, Jeftic I, Jovicic N, Arsenijevic N, Lukic ML. Galectin-3 and IL-33/ST2 axis roles and interplay in diet-induced steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2016;22:9706-17.
 12. Jeftic I, Jovicic N, Pantic J, Arsenijevic N, Lukic ML, Pejnovic N. Galectin-3 Ablation Enhances Liver Steatosis, but Attenuates Inflammation and IL-33-Dependent Fibrosis in Obesogenic Mouse Model of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Mol Med*. 2015;21:453-65.
 13. Iacobini C, Menini S, Ricci C, Blasetti Fantauzzi C, Scipioni A, Salvi L, et al. Galectin-3 ablation protects mice from diet-induced NASH: a major scavenging role for galectin-3 in liver. *J Hepatol*. 2011;54:975-83.
 14. Yilmaz Y, Eren F, Kurt R, Yonal O, Polat Z, Senates E, et al. Serum galectin-3 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem*. 2011;44:955-8.
 15. Jeon BT, Heo RW, Jeong EA, Yi CO, Lee JY, Kim KE, et al. Effects of caloric restriction on O-GlcNAcylation, Ca²⁺ signaling, and learning impairment in the hippocampus of ob/ob mice. *Neurobiol. Aging* 2016;44:127-37.
 16. Kim KE, Jung Y, Min S, Nam M, Heo RW, Jeon BT, et al. Caloric restriction of db/db mice reverts hepatic steatosis and body weight with divergent hepatic metabolism. *Sci Rep*. 2016;6:30111.
 17. Kim KE, Shin HJ, Ju Y, Jung Y, An HS, Lee SJ, et al. Intermittent fasting attenuates metabolic dysfunction-associated steatohepatitis by the enhancing the hepatic autophagy-lysosome pathway. *Nutrients*. 2023;15:4574.
 18. Buchan L, St Aubin CR, Fisher AL, Hellings A, Castro M, Al-Nakkash L, et al. High-fat, high-sugar diet induces splenomegaly that is ameliorated with exercise and genistein treatment. *BMC Res Notes*. 2018;11:752.
 19. Mackinnon AC, Tonev D, Jacoby B, Pinzani M, Slack RJ. Galectin-3: therapeutic targeting in liver disease. *Expert Opin Ther Targets*. 2023;27:779-91.
 20. Nomoto K, Tsuneyama K, Abdel Aziz HO, Takahashi H, Murai Y, Cui ZG, et al. Disrupted galectin-3 causes non-alcoholic fatty liver disease in male mice. *J Pathol*. 2006;210:469-77.
 21. Nakanishi Y, Tsuneyama K, Nomoto K, Fujimoto M, Salunga TL, Nakajima T, et al. Nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma in galectin-3 knockout mice. *Hepatol Res*. 2008;38:1241-51.

간추림 : 비알코올지방간질환은 비장 대식세포의 증가를 유발한다. 갈렉틴-3은 대식세포의 식세포작용에 중요한 역할을 한다. 하지만 비알코올지방간질환에서 비장 갈렉틴-3의 역할은 아직 불분명하다. 본 연구에서는 고지방식을 먹인 생쥐의 비장 갈렉틴-3 단백질에 대한 간헐적식의 효과를 확인한다. 생쥐에게 30주 동안 고지방식을 먹인 다음 고지방식을 계속 먹거나 마지막 22주 동안 간헐적식을 실시하였다. 간헐적식은 고지방식이 생쥐의 비장 무게를 감소시키고, 비알코올지방간질환을 감소시켰다. 특히, 정상식이 생쥐에 비해 고지방식이 생쥐에서 비장내 철 농도가 감소하였다. 하지만 간헐적식은 비장내의 철분을 증가시켰다. 고지방식이 생쥐에서 증가된 비장 갈렉틴-3 단백질발현이 간헐적식에 의해 크게 감소되었다. 또한, 고지방식이 간헐적식 생쥐는 고지방식이 생쥐보다 비장 갈렉틴-3발현 대식세포가 더 적었다. 본 연구결과는 비알코올지방간질환 생쥐에서 간헐적식이 비장의 갈렉틴-3매개 대식작용에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

찾아보기 낱말 : 간헐적식, 비알코올지방간질환, 비장, 갈렉틴-3, 생쥐