

태음인 청폐사간탕이 lipase 활성저해 및 db/db mouse의 체중감량, 혈장지질, UCP 1, 2 발현에 미치는 영향

김은영 · 설유경 · 최재중 · 전수형 · 김 훈* · 김종원

동의대학교 한의과대학 사상체질과

*동의대학교 한의과대학 의사학교실

Abstract

Effect of Cheongpesagan-tang on the Change of Inhibitory Effect against Lipase Activity and Weight Loss, Plasma and UCP1, 2 mRNA Expression in db/db Mouse

Eun Young Kim, Yu kyung Sul, Jae Jung Choi, Soo Hyung Jeon, Hoon Kim*, Jong Won Kim

Dept. of Sasang Constitution Medicine, College of Oriental Medicine, Dongeui University

*Dept. of Oriental Medical History, Dongeui University

1. Objectives

This experimental study was designed to investigate the effect of cheongpesagan-tang extract on the obstruction of the lipase activity and weight, plasma, UCP1, 2 mRNA in db/db mouse. Material and Methods: The body weight loss, food intake, feeding efficiency ratio, weight of the internal organs (liver, kidney, epididymal fat, brown adipose tissue), plasma glucose, triglyceride, total cholesterol, white adipose tissue, adipocyte size distribution, expression of UCP1, 2 mRNA were measured in db/db mouse administered Cheongpesagan-tang extract for 6 weeks. These were then compared with those of control groups administered the diet.

2. Results

- 1) Inhibitory effect against lipase activity was Kilgyung(81.7%), Nabokja (73.1%), Seungma(73.0%), Daewhang (68.4%), Kalgeun (55.3%), Kobon(34.5%), Hwanggeum(4.2%).
- 2) In the sample group, the body weight was significantly decrease than that of control group.
- 3) In the sample group, the weight of epididymal fat showed significantly decrease than that of control group.
- 4) In the sample group, triglyceride showed significantly decrease than that of control group.
- 5) In the sample group, distribution of adipose tissue showed significantly larger than that of control group.
- 6) In the sample group, UCP1, 2 mRNA in BAT showed significantly increase than that of control group.

3. Conclusions

These results show that cheongpesagan-tang has an effect on the treatment of obesity.

Key Words : Cheongpesagan-tang, Obesity, Lipase, UCP1, 2

I. 緒 論

비만은 1996년부터 세계 각국에서 치료해야 할 질병으로 인식된 이래로 우리나라에서도 심각한 사회문제로 대두되고 있다. 비만은 용모손상 뿐만 아니라 대사장애로 인한 합병증으로 고혈압, 당뇨, 뇌졸중, 동맥경화, 심장병, 호흡기질환, 간경련 등 사망으로 이어질 수 있는 각종 질병의 이환율을 높이고 환자 자신의 신체에 대한 부정적인 편견을 갖게 하고 거식증, 폭식증, 우울증, 정서불안 등 심리적 장애도 동반하게 된다. 따라서 최근에 비만치료에 대한 중요성이 심각하게 대두되고 있다^{1,4}.

한의학에서는 전통적으로 비만치료 한약재 및 처방이 있으나, 한약재의 항비만 효과를 체계적으로 규명하고 치료물질의 분리 및 치료 메카니즘에 대한 연구는 부족한 실정이며, 식물 추출물이 lipase 저해제로서 작용하여 비만, 지방간, 고지혈증 등을 예방 및 개선하는 효과가 있음이 보도되었으나^{7,8} 한약재의 lipase 저해 활성효과를 체계적으로 규명한 연구는 미비한 실정이다.

최근 비만에 관한 많은 연구들이 비만의 기전을 설명할 수 있는 비만유전자에 초점을 두고 있으며, 그 중에서도 특히 지방조직에서 에너지 발생에 관여하는 유전자인 uncoupling protein(UCP)에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. UCP는 세포막에서 산화적 인산화과정에서 의해 발생된 proton을 미토콘드리아에서 ATP를 합성하는데 사용하는 대신 열을 생산하는데 이용되도록 하여 에너지를 열로 쓰이게 함으로써 발열반응을 일으키고 동시에 에너지 소비율을 증가시키는 역할을 하는 단백질로¹³ UCP 유전자의 발현은 체지방 생성을 억제하고 비만을 조절하는 역할을 하는 것으로 보고되고 있다¹⁴.

한편 사상의학에서 비만은 네 체질 중 태음인에게 가장 많이 나타난다고 하였고^{9,10}, 또한 태음인이 다른 체질보다 혈중의 지질이 높다는 보고와^{11,12}, 비만환자에 대한 임상에서 태음

인처방을 많이 활용하고 있는 실정이다. 태음인의 비만은 吸聚之氣가 강하고 呼散之氣가 약한 太陰人의 肝大肺小한 裏病症의 肝燥熱 증상으로 볼 수 있으며, 이의 조절에 淸肺瀉肝湯을 활용할 수 있다고 생각된다.

이에 저자는 비만치료 메카니즘에 대한 연구의 하나로 태음인 비만에 효과적인 淸肺瀉肝湯의 lipase 저해활성을 조사하였고, 아울러 db/db mouse의 체중감량, 혈장지질, UCP 1, 2 발현에 미치는 영향을 비교 분석하여 다음과 같은 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

생후 3주령 된 수컷 C57BLKsJ db/db 마우스(n=14)를 한국생명공학연구원(대전)으로부터 분양받아 1주일간 고형사료(Purina rodent chow 5057, Purina)로 적응시켰다. 그 후 동물을 체중에 따라 난괴법에 의해 각각 7마리씩 두 군으로 나누어 6주간 사육하였다. 실험동물은 플라 스틱 cage에 한 마리씩 사육하였고, 실험식기와 물은 *ad libitum*으로 공급하였다. 사육실의 온도는 23±2℃로 실온을 유지하였고, 습도는 55±5%로 유지하였으며, 명암은 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 실험동물의 체중은 주 2회 측정하였고, 식이섭취량은 주 3회 측정하였다. 식이 섭취효율(feed efficiency ratio, FER)은 실험기간 동안의 체중 증가량을 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

2) 약재

실험에 사용된 약재는 동의대학교 부속한방병원에서 구입 정선하여 사용하였으며 청폐사간탕(Cheongpesagan-tang)¹⁶의 내용과 1첩 분량은 다음과 같다.

3) 검액의 조제 및 투여와 식이조성

청폐사간탕 5첩분량인 260g을 증류수 3,000 ml와 함께 round flask에 담고 냉각기를 부착한 전탕기에서 2시간동안 전탕한 다음 1차 여과한 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후 완전 동결건조시켜 물추출 엑기스 60g을 얻었다. 대조군의 식이는 AIN-93G를 기본으로 하였고, 청폐사간탕군의 식이는 동결건조한 청폐사간탕을 1% 수준으로 첨가하였다. 식이와 증류수를 10 : 3의 비율로 혼합하여 열풍건조기 60°C에서 24시간 건조한 후 평균 1.8%의 수분을 함유하는 pellet 형태로 공급하였다.

2. 방법

1) in vitro에서 지방산화효소 활성 저해효과 측정

(1) 한약재 메탄올 추출물의 제조

메탄올 추출물로 제조하여 사용된 시료는 청폐사간탕의 갈근, 황금, 고본, 나복자, 길경, 승마, 백지, 대황 등이었다. 시료의 메탄올 추출물은 다음과 같이 제조 하였다. 시료를 동결 건조한 후 마쇄하고, 중량의 10배에 해당하는 100% 메탄올을 첨가하여 12시간 magnetic stirrer를 이용하여 추출한 후, 감압여과하여 추출액과 잔사를 분리하였다. 잔사에 시료 중량의 5배에 해당하는 100% 메탄올을 첨가하여 6시간 magnetic stirrer를 이용하여 추출하여 감압여과한 후 잔사에 3배에 해당하는 100% 메탄올을 첨가하여 3시간 magnetic stirrer를 이용하여 추출한 후 감압여과하고, rotary evaporator를 사용하여 감압농축하여 이것들을 섞어 최종 추출액을 얻었다.

(2) 지방산화효소 저해활성 측정

시료의 pancreatic lipase 활성 저해도를 in vitro에서 Arai 등의 방법¹⁵⁾을 사용하여 측정하였다. McIlvane buffer (pH 7.4)에 0.05U pancreatic lipase, 시료 (5mg/mL), 기질 0.1mM 4-MU

oleate을 차례로 가하고 37°C에서 20분간 반응시킨 후, 0.1N HCL 1mL 및 sodium citrate 2mL을 가하여 반응을 종료시킨 후 spectrofluorophotometer를 사용하여 320/450nm에서 흡광도를 측정하였다. Xenical을 표준물질로 사용하였다.

2) 시료수집

실험동물에게 6주간 실험시료를 공급한 후 16시간 절식시키고, dry ice로 질식시킨 후 EDTA(ethylene diamine tetraacetic acid) 10mg을 가한 주사기로 심장에서 채혈하였다. 혈액은 3,000rpm에서 15분간 원심 분리한 후 혈장을 수집하여 -70°C에서 보관하였다. 부고환 백색 지방조직(White adipose tissue, WAT) 및 갈색 지방조직(Brown adipose tissue, BAT)은 즉시 적출하여 무게를 측정한 후 0.9% 생리식염수로 헹구어 물기를 제거하였다. WAT의 일부는 조직 고정액에 담구어 둔 후, 지방세포의 크기 및 수를 분석하고 UCP-1 gene expression을 측정하기 위해 사용되었으며, BAT 일부는 UCP-1 gene expression 발현수준을 측정하기 위해 사용되었으며, 액체질소에서 급냉시킨 후 -70°C에서 보관하였다.

3) 생화학적 분석(혈장분석)

(1) 중성지방 함량

혈장의 중성지방 함량 측정은 효소법에 의한 정량용 kit시약(영동제약)으로 측정하였다. 각 시료 0.02mL에 효소액과 희석완충용액 100 mL을 혼합한 시약 3mL씩 첨가하여 vortex mixture로 혼합한 후 37°C의 수조에서 5분간 발색시키고, 이 반응액을 분광광도계 546nm에서 흡광도를 측정하였다. 중성지방의 표준용액(300mg/dL)을 이용하여 위의 방법과 동일하게 발색시켜 흡광도를 측정한 후, 시료의 흡광도 값을 다음 식에 대입하여 혈장의 중성지방 함량을 산출하였다.

Serum Triglyceride(mg/dL) =

$$\frac{A_{Test}}{A_{Calibration}} \times 300 \text{ mg/dL}$$

(2) 총 콜레스테롤 함량

혈장의 총 콜레스테롤 함량은 효소법에 의한 정량용 kit(영동제약)로 측정하였다. 각 시료 0.02mL에 효소액과 희석완충용액 100mL을 혼합한 시약 3mL씩 첨가하여 vortex mixture로 혼합한 후 37°C의 수조에서 5분간 발색시키고, 이 반응액을 분광광도계 505nm에서 흡광도를 측정하였다. 콜레스테롤 기준액(300mg/dL)을 이용하여 위의 방법과 동일하게 발색시켜 흡광도를 측정한 후 시료의 흡광도 값을 다음 식에 대입하여 콜레스테롤 함량을 산출하였다.

Serum Cholesterol(mg/dL)=

$$\frac{A_{Test}}{A_{Calibration}} \times 300 \text{ mg/dL}$$

(3) HDL-콜레스테롤 함량

혈장의 HDL-콜레스테롤 함량은 효소법에 의한 정량용 kit(영동제약)로 측정하였다. 30 μ L 혈장에 침전시약 3 μ L를 가한 후 실온에서 5분간 방치시켰다. 이것을 4000rpm(1300 \times g)에서 10분간 원심분리 시킨 후 상층액을 5 μ L를 취하여 효소용액 750 μ L와 반응시키고, 37°C에서 5분간 발색시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. HDL-콜레스테롤 표준용액(300mg/dL)을 이용하여 위의 방법과 동일하게 발색시켜 흡광도를 측정한 후 시료의 흡광도 값을 다음 식에 대입하여 혈장의 HDL-콜레스테롤 함량을 산출하였다.

Serum HDL-cholesterol(mg/dL) =

$$\frac{A_{Test}}{A_{Calibration}} \times 300 \text{ mg/dL} \times 1.1$$

4) 지방세포의 크기 및 수 분석

지방세포의 크기 및 수를 분석하기 위해 부

고환 백색지방 조직을 채취하여 Bouin solution에 넣어 고정한 후 파라핀 블록으로 만들어 4 μ m의 크기로 절단하였다. 절편된 조직을 aniline blue로 염색한 후 슬라이드로 제작하고, 현미경에 장착된 digital camera(Olympus, Japan)를 이용해 40배 확대하여 슬라이드의 영상을 찍은 다음 영상분석 프로그램(Sigma Image Scan pro)을 이용하여 지방세포의 지름과 수를 측정하였다. 슬라이드의 영상을 분석하는 과정에서 발생하는 오차는 haemocytometer를 이용하여 보정하였다. 지방세포는 지름이 10 μ m 이상인 것만 측정하여 지방세포의 크기 및 수를 분석하였다.

5) 지방조직의 유전자 발현수준 측정

(1) 방사능 표지 probe의 준비

마우스의 UCP-1 gene 및 UCP-2 gene을 확인하여¹⁷ RT-PCR을 통해 mouse UCP-2 유전자를 증폭시킨 후 TA cloning을 통해서 probe로 사용할 cDNA를 제작하였다.

a. PCR

UCP-1 유전자를 증폭하기 위해서 forward primer는 5'-ATCAGGCAA -CAGTGCCACTG-3' reverse primer는 5'-AGCATAGAAGCCCAATGATG-3' 를 이용하여 PCR을 수행하였으며, 예상되는 PCR product size는 471bp였다. UCP-2 유전자를 증폭하기 위해서 forward primer는 5'-AACA-GTTCTAC-ACCAAGGGC-3' reverse primer는 5'-AGCATGGTAAGGG -CACAGTG -3'를 이용하여 PCR을 수행하였으며, 예상되는 PCR product size는 1,050bp였다. PCR의 조건은 mouse 조직에서 추출한 total RNA에서 역전사 반응을 통해 합성한 cDNA 1 μ g, 10 \times buffer (Mg-free) 5 μ L, 25mM MgCl₂ 3 μ L, 각각 1.25mM dNTPs mixture 8 μ L, 각각 200pM primer mix 5 μ L에 Taq DNA polymerase 0.5 μ L(2.5 U)을 넣은 후 DW로 50 μ L의 최종 부피가 되도록 조정된 다음 thermocycler (Perkin Elmer GeneAmp PCR System)로 PCR을 수행하였다. Amplification profile로서는 92°C에서 1분간 denaturation, 60°C에서 2분

간 annealing, 72°C에서 3분간 polymerization의 30 cycle을 수행하고 최종 cycle에서는 72°C에서 10분간 더 연장한 후 soaking step으로 4°C에서 보관 하였다.

b. PCR product의 cloning

PCR product를 PCR purification kit(QIAGEN)으로 purification한 다음 전기영동을 통해 PCR product와 eluted product가 일치하는지를 확인 하였다. 그 후 pGEM-TeasyVecto system(Promega)을 이용한 TA cloning을 다음과 같이 수행하였다. 2 × ligation buffer 5 μ l, vector(50ng/ μ l) 1 μ l, purified PCR product 2 μ l, ligase(3U/ μ l) 1 μ l를 넣어 total 10 μ l의 mixture을 만들어 4°C에서 overnight하여 반응시켰다. 제조된 recombination DNA를 *E. coli* JM109(Promega)를 component cell로 준비하여 transformation 시켰다, LacZ를 target으로 하는 X-gal을 이용한 blue-whit selection 방법으로 transformant 중 white colony를 따서 broth culture 후 plasmid를 분리하였으며, 제한효소를 이용한 characterization 에서 올바른 recombination DNA임과 동시에 insert의 방향성을 확인하였고, 회수한 plasmid를 probe로 사용하였다.

c. 방사능 표지

준비된 probe DNA는 Random Priming Labeling Kit(TAKARA)를 이용하여 labeling 시켰다. 먼저 micro tube에 template DNA 25ng, random primer (9 mer) 2 μ l, 증류수(distilled water, DW)로 최종 volume이 10 μ l가 되도록 맞추어 mixture를 제조하고, 95°C에서 3분간 가열하여 denaturation 시킨 후 즉시 얼음에 3분간 두어 식혔다. 여기에 10 × Klenow buffer 2.5 μ l, dNTPs mixture(각각 0.2mM의 dGTP, dATP, dTTP) 2.5 μ l, [α -³²P]dCTP 5 μ l(6,000 Ci/mmol, 50 μ Ci)을 각각 넣어준 후 DW로 total volume 이 24 μ l가 되도록 하였다. 그 후 Exo-free Klenow fragment를 1 μ l(2U) 첨가하여 최종 부피를 25 μ l로 만들고, 37°C에서 최소 30분 이상 incubation 하였다. 여기에 EDTA 1.5 μ l를 첨가하여 반응을 정지시킨

후 Sephadex G-50 spin column(Roche, Germany)을 이용하여 unincorporated dNTPs를 제거하였다. Purified probe solution의 전체 volume이 100 μ l가 되도록 취하고, 그 중 2 μ l를 취하여 scintillation counter (Packard)를 이용하여 방사능을 측정한다. 후 labeled probe의 specific activity를 계산하였다. 준비된 labeled probe를 95°C에서 5분간 가열하여 denaturation 시킨 후 hybridization에 사용하였다. Hybridization에 사용할 probe의 specific activity와 total CPM은 각각 DNA 당 2×10⁸ cpm/ μ g, 10⁷ cpm이상이 되도록 하였다.

(2) RNA 추출

Total RNA는 TRI reagent(Sigma)를 이용하여 제조사의 manual에 따라 분리하였다. 실험동물로부터 취한 지방조직 150-200mg에 2mL의 TRI reagent를 첨가하고, homogenizer을 이용해 균질화 하였다. 균질화된 액을 tube로 옮기고, 실온에서 5분간 정치한 후 원심분리하여 지방을 제거하였다. 지방을 제외한 나머지 균질액의 0.2배에 해당하는 양의 chloroform(Sigma)를 첨가한 후 15초간 강하게 혼합해 주고, 실온에서 10분간 incubation하였다. 12000 × g, 4°C에서 15분간 원심분리하여 상층액을 조심스럽게 취해 새로운 tube로 옮기고, 상층액의 0.5배에 해당하는 양 isopropanol(Sigma)를 첨가한 후 잘 섞어주었다. 그 후 실온에서 10분간 incubation하고, 원심분리하여 RNA 침전물을 얻고 상층액을 버린 후 차가운 70% ethanol 1mL로 침전물을 씻어주었다. 다시 원심분리하여 상층액을 버리고, 공기 중에 10분간 방치하여 침전물을 건조시킨 후 RNase-free water에 녹여주었고, RNase에 의한 RNA degradation을 막기 위해 RNase inhibitor (TAKARA) 0.5 μ l를 첨가하였다. RNA의 함량과 총량, 그리고 순도는 분광광도계를 이용하여 측정하였다.

(3) Northern blot analysis

실험동물의 갈색지방조직(BAT)으로부터 분리한 RNA sample을 전기영동한 후 blotting하고

mouse UCP-1 cDNA와 control로 mouse β -actin cDNA를 probe로 사용하였고, 백색지방조직(WAT)으로부터 분리한 RNA sample을 전기영동한 후 blotting 하고 mouse UCP-2 cDNA와 control로 mouse β -actin cDNA를 probe로 사용하였으며, Northern blot analysis를 수행하였다.

a. Blot의 준비

전기영동은 formaldehyde(sigma)를 포함하는 gel을 사용하여 수행하였다. Gel은 DEPC(diethylpyrocarbonate, Sigma)-DW 72mL에 agarose 1.2g을 넣고 microwave oven에서 녹인 후 60°C 정도로 냉각시키고, 10 × MOPS 10ml과 37% formaldehyde 18 mL을 첨가하여 잘 혼합 후 gel caster에 분주하여 굳혀서 준비하였다. Sample은 RNA 4.5 μ l(10 μ g), 10 × MOPS 2 μ l, formaldehyde 4 μ l, formamide 10 μ l을 잘 섞은 후 65°C에서 15분간 incubation 하고, 얼음에 두었다가 원침시켜 준비하였다. 100배 희석한 EtBr 1 μ l와, DEPC-treated formaldehyde gel-loading dye(50% glycerol, 1mM EDTA, pH 8.0, 0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF) 2 μ l를 첨가하였다. 1 × MOPS gel-running buffer를 부어 gel을 먼저 80V/cm에서 5분간 pre-running 한 후, 80V/cm에서 3시간 정도 전기영동 하였다. 전기영동이 끝난 gel은 사진촬영 후 DEPC- DW에서 washing 하고 blotting 하였다.

Membrane은 Hybond-N⁺(Amersham Pharmacia)을 사용하였다. Membrane을 먼저 100% methanol에 띄워 15분간 방치한 후, transfer buffer(0.01 N NaOH, 3 M NaCl)에 다시 띄워 완전히 가라앉을 때까지 두었다.

Vacuum blotter(BIO-RAD, Model 795)위에 transfer buffer에 미리 적셔두었던 2장의 3MM paper를 깔고, 그 위에 준비한 nylon membrane을 놓았다. 마지막으로 gel을 올려놓고 transfer buffer를 gel위에 부은 후 vacuum(4 in. Hg)을 4시간 동안 걸어주었다. Blotting이 끝나면 연필로 membrane에 well 부분을 표시하고 3MM paper에 올려놓고 건조한 후 membrane을 UV

cross-linker(UVP)를 이용하여 auto mode에서 고정하였다. 준비한 membrane을 곧바로 hybridization에 사용하거나 plastic bag에 넣어서 sealing한 후 사용할 때까지 4°C에 보관하였다.

b. Hybridization

Hybridization을 하기 전에 60°C에서 1시간 동안 pre-hybridization을 수행하였다. Pre-hybridization buffer는 1% non-fat dry milk, 1 mM EDTA (pH 8.0), 0.5 M NaH₂PO₄, 7% SDS (sodium dodecyl sulfate)로 구성되어 사용하였다. Pre-hybridization이 끝나면 pre-hybridization buffer를 버리고 가열하여 denaturation시킨 labeled UCP-1 또는 UCP-2 cDNA probe를 첨가한 새로운 hybridization buffer를 넣어주었다. Hybridization은 hybridization oven에서 회전시키면서 60°C에서 overnight하여 수행하였다. Hybridization이 끝난 membrane은 60°C에서 washing solution I(0.2 × SSC, 0.1% SDS)로 20분간 2회 세척한 후, 같은 온도에서 solution II(0.1 × SSC, 0.1% SDS)로 다시 20분간 1회 세척하였다. 그 후 membrane을 3MM paper에 말린 후 saran wrap에 싸서 sealing한 다음 erasing한 cassette에 넣어 고정하여 실온에서 2시간 혹은 overnight 하였다. 발광된 결과는 PhosphoImager(Cyclone, Packard)에서 Image Analysis Software(OptiQuant)를 이용하여 확인하였다. Deprobing을 위해 끓인 0.1% SDS를 membrane에 부은 후 실온으로 식을 때까지 두었다가(약 1시간) 3MM paper에서 membrane을 말린 후 deprobing이 잘되었는지 확인하고, 다음 실험에 사용하였다. 먼저 60°C에서 1시간 동안 pre-hybridization을 수행한 후 solution을 버리고 준비한 mouse GAPDH cDNA probe를 첨가한 hybridization solution을 넣어주었다. Hybridization은 앞서 기술한 방법과 동일한 방법으로 60°C에서 overnight으로 수행되었다. Hybridization이 끝난 membrane 역시 같은 방법으로 washing하고 3MM paper에서 말린 후 saran wrap으로 싸서 erasing한 cassette에 넣고 고정한 후에 overnight하였다. 결과도 앞에서 언급한 방법과

동일한 방법으로 확인하였다.

6) 통계처리

실험의 결과는 Mean ± SD로 나타내었으며, 대조군과 실험군 간의 유의성은 Student's t-test를 사용하여 P < 0.05 수준에서 검증하였다.

Ⅲ. 結 果

1. in vitro에서 지방소화효소 활성 저해효과

태음인 청폐사간탕을 구성하는 한약재의 lipase 저해활성은 갈근(55.3%), 황금(4.2%), 고본(34.5%), 나복자(73.1%), 길경(81.7%), 승마(73.0%), 백지(45.1%), 대황(68.4%)이었다. 표준품으로 사용한 xenical의 저해활성은 93.3%로 나타났다(Table 1).

2. 청폐사간탕의 비만억제효과

1) 체중 증가량, 식이섭취량 및 식이효율 실험식이를 6주간 섭취시킨 동물의 체중 증가량

과 식이섭취량 및 식이효율을 Table 4에 제시하였다. 6주간의 식이섭취동안 체중증가는 청폐사간탕군이 14.50±2.10이었고, 대조군은 17.00 ± 1.20g으로 대조군에 비해 유의하게 적은 것으로 나타났다(P < 0.05). 청폐사간탕군의 최종 체중은 36.80 ± 2.50g으로 대조군의 체중 39.50 ± 1.5g보다 유의하게 적었다(P<0.05). 식이섭취량은 청폐사간탕 섭취군이 3.06 ± 0.24g/day, 대조군이 3.14 ± 0.32g/day로 유의한 차이가 없었고, 식이효율 또한 청폐사간탕 섭취군이 0.11 ± 0.02%로 대조군의 0.13 ± 0.02%과 유의한 차이가 없었다(Table 2).

2) 장기 무게

동물을 희생시킨 후 적출한 간, 신장, 갈색 지방조직(brown adipose tissue, BAT)와 서혜부 지방조직(epididymal fat)의 무게는 Table 5에 나타났다. 청폐사간탕군의 서혜부 지방조직의 무게는 2.32 ± 0.12 g으로 대조군의 2.56 ± 0.24 g에 비해 유의하게 적었으며(P<0.05), 간, 신장, 갈색지방조직의 무게는 대조군과 청폐사간탕군의 유의한 차이가 없었다(Table 3).

3) 혈당

실험식이를 6주간 공급한 후에 공복 혈당을 측정하였고, 그 결과는 Table 6 에 나타내었다.

Table 1. Inhibitory Effect against Lipase Activity of Cheongpesagan-tang

시료명	학명 및 영문명	저해도 (%)
나복자	Raphani Semen (Raphanus Sativus)	73.1
대황	Rhei Undulati rhizoma (Rheum undulatum)	68.4
백지	Angelicae Radix (Angelica dahurica)	45.1
갈근	Puerariae Radix (Pueraria thunbergiana)	55.3
고본	Angelicae Tenuissimae Radix(Angelica tinuissima MAKAI)	34.5
황금	Scutellariae Radix (Scutellaria baicalensis)	4.2
길경	Platycody Radix (Platycodon Glaucum)	81.7
승마	Cimicifugae Rhizoma (Cimiciruga heracleifolia)	73.0
Xenical		93.3

Table 2. Body Weight, Food Intake and Feeding Efficiency Ratio in db/db Mouse Fed Control and Cheongpesagan-tang Diets

	Control	Cheongpesagantang
Initial Body weight (g)	22.1 ± 1.2	22.4 ± 1.6
Final body weight (g)	39.5 ± 1.5	36.8 ± 2.5*
Body weight gain (g)	17.00 ± 1.20	14.50 ± 2.10 *
Food intake (g)	3.14 ± 0.32	3.06 ± 0.24
Feed efficiency ratio (%)	0.13 ± 0.02	0.11 ± 0.02

Feed efficiency ratio(%) = (body weight gain (g)/food intake (g)) × 100

Values are Mean ± SD

* significantly different at p < 0.05

Table 3. Organ Weights of db/db Mouse Fed Control and Cheongpesagan-tang Diets

Group	Control	Cheongpesagan-tang
Liver weight(g)	2.26 ± 0.30	1.95 ± 0.30
Kidney weight(g)	0.44 ± 0.04	0.40 ± 0.03
Epididymal fat pad weight (g)	2.56 ± 0.24	2.32 ± 0.12*
Brown adipose tissue weight(g)	0.52 ± 0.12	0.45 ± 0.14

Values are Mean ± SD

* significantly different at p < 0.05

Table 4. Effect of Cheongpesagan-tang on the Levels of Plasma Glucose of db/db Mice

	Control	Cheongpesagantang
Glucose (mg/dL)	450.3 ± 48.1	434.9 ± 29.4

Values are Mean ± SD

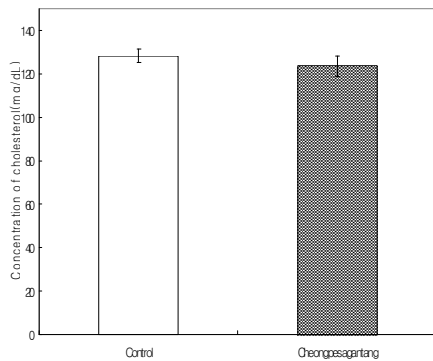


Fig. 1. Fasting Plasma Triglyceride Levels in db/db Mouse Fed Control and Cheongpesagan-tang Diets

* significantly different at p < 0.05

청폐사간탕 섭취군의 포도당 함량은 450.3 ± 48.1 mg/dL이고, 대조군은 434.9 ± 29.4 mg/dL로 두 군 간의 유의한 차이는 없었다(Table 4).

4) 혈장의 lipid profile

본 연구에서 혈장 중성지방 농도는 청폐사간탕군이 134.8 ± 15.0 mg/dL로 대조군의 161.5 ± 26.8 mg/dL에 비해 유의하게 낮게 나타났고

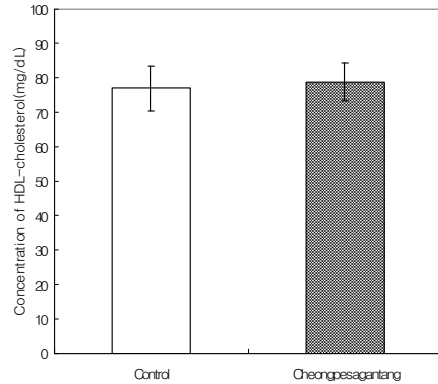


Fig. 2. Fasting Plasma Cholesterol Levels in db/db Mouse Fed Control and Cheongpesagan-tang Diet

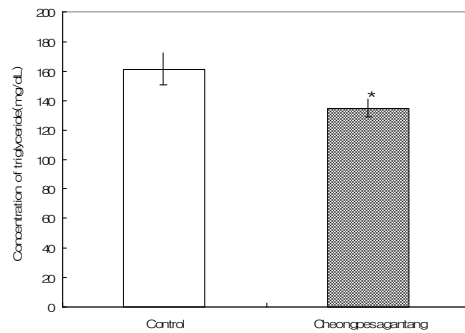


Fig. 3. Fasting Plasma HDL-cholesterol Levels in db/db Mouse Fed Control and Cheongpesagan-tang Diets

(P < 0.05, Fig. 1), 혈장 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량은 두 군간의 유의한 차이가 없었다(Fig. 2, Fig. 3). 따라서 청폐사간탕 투여는 비만증 환자에게 있어서 나타나기 쉬운 고중성지방혈증의 예방 및 치료에 도움이 될 것으로 사료된다.

3. 지방세포의 크기 및 분포

6주간 실험식이를 섭취한 동물의 부고환 지방조직의 지방세포를 현미경으로 관찰한 결과와 지방세포의 크기 및 분포를 Fig. 4와 Fig. 5에 제시하였다, 지방세포의 크기 및 분포를 분

석한 결과 청폐사간탕 섭취군에서 지방세포의 지름이 11-70 μ m인 것의 분포는 $82.4 \pm 2.5\%$ 로 대조군($60.4 \pm 1.7\%$)에 비해 유의하게 컸으며,

71-130 μ m인 지방세포의 분포는 청폐사간탕 섭취군이 $26.6 \pm 0.9\%$ 로 대조군의 $37.7 \pm 1.3\%$ 에 비해 유의하게 적은 것으로 나타났다. 즉 대조

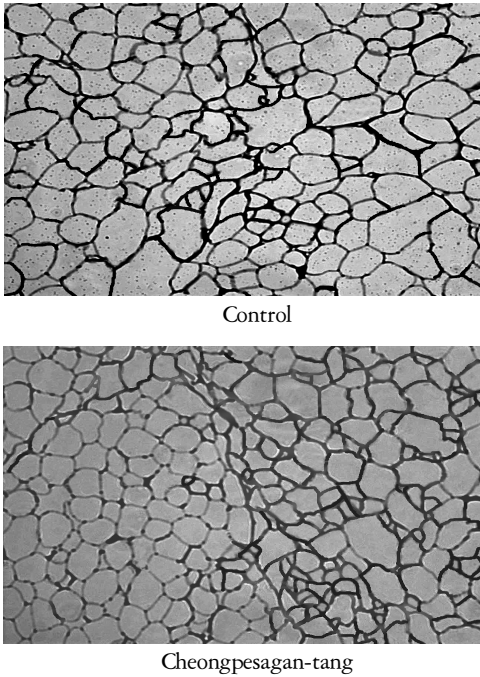


Fig. 4. Photograph of Adipocytes of White Adipose Tissue from db/db Mice

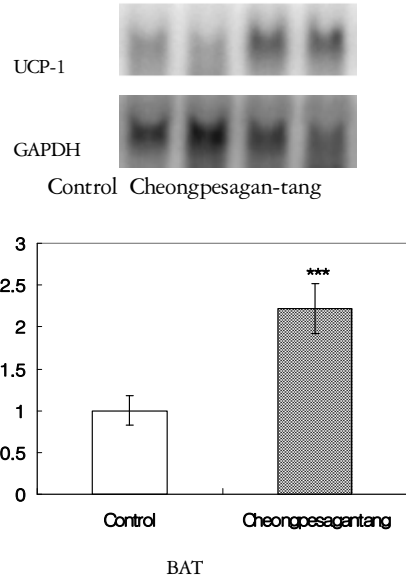


Fig. 6. Effect of Cheongpesagan-tang on the Expression of UCP-1 mRNA in Brown Adipose Tissue from db/db Mice

Values are Mean \pm SD
*** significantly different at $p < 0.001$

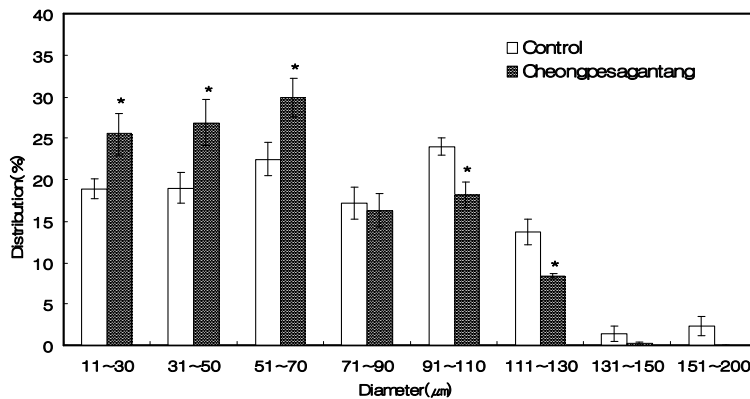


Fig. 5. Effect of Cheongpesagan-tang on Adipocyte Size Distribution in Epididymal Fat Pad of db/db Mice

Values are Mean \pm SD
* significantly different at $p < 0.05$

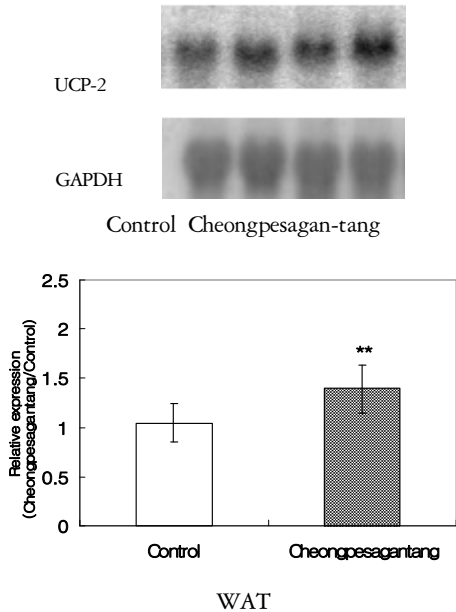


Fig. 7. Effect of Cheongpesagan-tang on the Expression of UCP-2 mRNA in White Adipose Tissue from db/db Mice
 Values are Mean \pm SD
 ** significantly different at $p < 0.01$

군의 지방조직에는 지름이 큰 세포가 많이 분포한 반면, 청폐사간탕 섭취군의 지방조직에는 크기가 작은 지방세포가 많이 분포한 것으로 나타났다(Fig. 4, Fig. 5).

4. UCP-1 mRNA 및 UCP-2 mRNA 발현수준

본 연구에서 측정된 BAT에서 UCP-1 mRNA 발현수준과 WAT에서 UCP-2 mRNA 발현수준을 Fig. 6, 7에 나타내었다. 청폐사간탕 섭취군 BAT에서의 UCP-1 mRNA 발현수준은 대조군에 비해 약 2.1배 증가하였다($P < 0.001$). 또한 청폐사간탕의 섭취는 WAT의 UCP-2 mRNA의 발현을 대조군에 비해 약 1.3배 증가시키는 것으로 나타났다($P < 0.01$)(Fig. 6, Fig. 7).

IV. 考 察

현재 비만의 치료법으로는 식이요법, 운동요법, 약물요법, 행동수정요법, 수술요법, 지방세포분해법, 대체식이요법 등이 시행되고 있으나 가장 바람직한 비만치료법은 에너지섭취를 감소시키고 에너지소비를 활성화시키는 것이다. 그러나 사람에 따라 에너지 섭취량을 감소시키고 활동량을 증가시키는 생활습관요법에 한계가 있는 경우 때문에 약물요법이 시도되고 있다.

비만치료제의 연구개발은 분자생물학과 내분비적 연구의 발전에 따라 열량대사 조절로 집중되어지고 있다. 따라서 일반적인 비만치료 약물의 연구경향은 크게 3가지 방법으로 접근하고 있다⁵. 즉 식욕억제제 (Sibutramine-성분명(Reductil-제품명)), 지방 소화 및 흡수를 저해하는 췌장 lipase 저해제(Orlistat-성분명(Xenical-제품명)), 열발생증가제(ephedrine) 등이 있다⁶. 이 중에서 식욕억제제는 습관성중독과 신경과민을 유발하고, 에피네프린과 같은 열생성촉진제는 혈관 긴장성을 증가시켜 혈압을 상승시키고 심근을 자극하며 심박수를 증가시키고 심박량을 증대시키는 등 심장과 혈관에 주는 작용이 강하여 불균형을 초래할 수 있다고 보고되고 있다¹⁹. 지방흡수 억제제인 제니칼은 복부 팽만감, 복통 등의 부작용을 가지고 있으며, 체지방은 분해하지는 못하기 때문에 체내 축적된 지방세포에는 작용하지 않는 단점을 가지고 있다^{20,21}. 이처럼 약물요법들의 많은 부작용이 발견되고 있어 그 사용이 제한적일 수 있다. 이에 부작용없이 비만을 예방하고 치료할 수 있는 물질에 대한 연구가 활발히 진행 중이며 그 중에서도 부작용이 없이 비만치료효과를 가지는 기능성 천연약물에 대한 관심이 집중되고 있다. 한의학에서는 전통적으로 비만치료 한약재 및 처방이 있으나, 한약재의 항비만효과를 체계적으로 규명 하고 치료물질의 분리 및 치료 메카니즘에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 한약재의 비만치료 메카니즘의

연구의 하나로 태음인 청폐사간탕의 lipase 저해활성을 시판 중인 지방흡수 억제제인 Xenical을 대조하여 비교분석하였다(Table 2). 사상의학에서는 비만에 대해서 특별한 언급은 없었으나, 『東醫壽世保元』 「四象人辨證論」¹⁶에 “太陰人 體形長大, 肌肉堅實”이라고 하여, 사상체질 중 태음인이 가장 체격이 크고 기육이 풍부한 편이라고 하였다. 사상체질과 비만에 관한 연구를 살펴보면 김 등¹⁰은 비만환자의 70.2%가 태음인이라는 임상연구보고를 하였고, 조 등²²도 태음인>소양인>소음인 순서로 비만경향이 있었다고 하였다. 김²³은 비만인 중 태음인>소양인>소음인 순서로 비만환자가 있었다고 하였다. 신 등²⁴의 체질과 비만의 상관성에 관한 연구에 의하면 태음인은 비만환자의 비율이 높았고 (66.9~90%), 肝大肺小로 呼散之氣가 부족하고 吸聚之氣가 강하여 식욕이 왕성하며 다른 체질보다 혈청지질 수치가 상대적으로 높았으며, 비만으로 오는 합병증 발생률도 높게 나타났다고 보고 하였다. 이러한 내용을 볼 때 사상체질중 태음인이 비만의 발생률이 가장 높다고 볼 수 있겠다.

태음인과 비만에 관한 연구내용을 살펴보면, 김²⁵은 태음인의 太陰調胃湯의 비만에 대한 효과를 보고하였고, 이²⁶는 太陰調胃湯이 중성지질의 지방축적을 억제하는 효과가 있다고 보고하였고, 조²⁷는 太陰調胃湯이 비만유발흰쥐의 체중 및 혈청지질의 감소 및 UCP1 발현을 억제한다고 보고하였다. 이는 비만에 태음인 처방 중 太陰調胃湯에 대한 연구가 많았다고 볼 수 있다. 실제로 저자는 임상에서 태음인 비만환자 102명중 61명(59.8%)에게 太陰調胃湯, 調胃升清湯과 같은 表病처방을 다용하였는데²⁸, 이는 임상적으로 볼 때 태음인 비만환자에게 表症 처방을 비교적 많이 사용한다고 볼 수가 있겠다.

그리고 비만에 태음인 청폐사간탕을 이용한 연구를 살펴보면 송 등³⁰은 절식요법 시행 후 태음인 비만에 청폐사간탕과 태음조위탕을 투여하여 체지방률을 감소시키고, 근육량과 기초

대사량을 유의하게 증가시켰다는 임상적 보고가 있었고, 배 등³¹은 청폐사간탕이 비만유도 흰쥐의 체중변화, 장기 및 지방조직의 중량변화, 혈청지질의 변화, 랩틴, 인슐린, Glucose의 유의있는 감소와 UCP 2를 유의하게 증가시켰다는 보고를 하였다, 실제로 청폐사간탕은 각종 문헌이나 논문을 통하여 보면 주로 중풍 및 뇌경색, 고혈압, 항암효과, 당뇨병, 항알레르기 효과, 관절염 등에 관한 실험적 연구가 많은 편이며, 비만에 관한 연구는 상대적으로 적은 편이라고 볼 수가 있겠다. 그러나 실제로 임상에서는 청폐사간탕을 효과적으로 이용하고 있는 실정이며³¹, 본 저자는 임상에서 태음인 비만환자 102명 중 28명(27.5%)에게 갈근해기탕, 청폐사간탕과 같은 裏病처방을 다용하였으며²⁸, 이는 임상적으로 볼 때 태음인 비만환자에게 裏病처방의 효과가 비교적 좋은 편이라고 볼 수가 있겠다.

in vitro에서 청폐사간탕을 구성하는 약제의 lipase 저해활성은 갈근(55.3%), 황금(4.2%), 고본(34.5%), 나복자(73.1%), 길경(81.7%), 승마(73.0%), 백지(45.1%), 대황(68.4%)로 나타났다. 표준품으로 사용한 xenical의 저해활성은 93.3%로 나타났다. lipase는 체내 중성지방대사에서 중요한 역할을 하는 효소로 지방세포에서 지방산의 대사를 조절함으로써 비만의 발생과 유지에 관여하게 된다³². 표준품으로 사용한 xenical의 활성저해도와 비교하였을 때 길경, 나복자, 승마, 대황, 갈근 등은 lipase 활성 저해가 효과가 있을 것으로 생각된다.

db/db mouse에서 청폐사간탕의 비만억제효과중에서 체중 증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 살펴 본 결과, 6주간의 식이섭취동안 체중증가는 청폐사간탕군이 $14.50 \pm 2.10g$ 으로 대조군의 $17.00 \pm 1.20g$ 에 비해 유의하게 적은 것으로 나타났다($P < 0.05$). 청폐사간탕군의 최종 체중은 $36.80 \pm 2.50g$ 으로 대조군의 $39.50 \pm 1.5g$ 보다 유의하게 적었다($P < 0.05$). 식이섭취량은 청폐사간탕 섭취군이 $3.06 \pm 0.24g/day$ 로 대조군의 $3.14 \pm 0.32g/day$ 와 유의한 차이가 없

었고, 식이효율 또한 청폐사간탕 섭취군이 $0.11 \pm 0.02\%$ 로 대조군의 $0.13 \pm 0.02\%$ 와 유의한 차이가 없었다(Table 4). 이는 청폐사간탕을 가미한 식이를 한 경우 체중의 증가가 유의하게 억제되었으나, 식이섭취량이나 식이효율은 유의한 차이가 없으므로 직접적인 식욕억제의 효과는 나타나지 않았다고 볼 수 있다. 즉 식이에 다른 것을 첨가하는 경우 첨가식이 맛이 없어서 섭취량을 낮추어서 체중의 감소가 나타나는 경우가 있는데, 본 경우에는 첨가 식이에 의한 기호성의 감소가 아닌 영양학적 대사작용에 기인한다고 볼 수 있다.

동물을 희생시킨 후 적출한 간, 신장, 갈색 지방조직(brown adipose tissue, BAT)과 서혜부 지방조직(epididymal fat)의 무게는 Table 5에 나타내었다. 청폐사간탕군의 서혜부 지방조직의 무게는 2.32 ± 0.12 g으로 대조군의 2.56 ± 0.24 g에 비해 유의하게 적었으며($P < 0.05$), 간, 신장, 갈색지방조직의 무게는 대조군과 청폐사간탕군의 유의한 차이가 없었다. 청폐사간탕군의 서혜부지방조직의 무게가 대조군에 비하여 유의하게 적었다는 것은 비만한 동물에 있어 체지방 축적을 억제하는 효과가 있음을 나타내는 것이라 볼 수 있다. 체지방의 축적이 당뇨병과 심순환기계 만성퇴행성질환의 유발률을 높이는데 있어 큰 위험요인임을 고려해 볼 때 본 연구에서 청폐사간탕군에 의한 서혜부지방조직량의 감소는 비만억제의 가능성을 제시하는 것으로 사료된다. 실험식이를 6주간 공급한 후에 공복 혈당을 측정하였고, 그 결과는 Table 6에 나타내었다. 청폐사간탕 섭취군의 포도당 함량은 450.3 ± 48.1 mg/dL로 대조군의 434.9 ± 29.4 mg/dL와 유의한 차이는 없었다. 본 연구에 사용된 db/db마우스는 다식, 점진적인 비만, 인슐린저항성, 고렙틴혈증, 고혈당등 제2형 당뇨병환자와 유사한 임상적 특징을 가지는 유전적인 동물모델로 생후 4주 이후에는 공복시 혈액 중 인슐린의 양이 점진적으로 감소하는 경향을 나타내고, 이 시기 이후 공복시 혈당이 점진적으로 증가하는 것으로 보고되었다³³. 이

러한 특성을 가지는 db/db mouse에 있어 청폐사간탕군의 효과가 비만유전인자에 의한 고혈당증세를 완화시키기에는 부족하기 때문으로 추측된다.

본 연구에서 혈장 중성지방 농도는 청폐사간탕군이 134.8 ± 15.0 mg/dL로 대조군의 161.5 ± 26.8 mg/dL에 비해 유의하게 낮게 나타났고($P < 0.05$, Fig. 1), 혈장 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량은 두 군간의 유의한 차이가 없었다(Fig. 2, Fig. 3). 중성지방은 자연계에 존재하는 지질의 대부분(98-99%)을 차지하는 가장 흔한 지질로서 전신에 걸쳐있는 지방세포와 골격근 내에 저장되어 있으며 체내에서 유산소 대사에 의해 ATP를 생산할 수 있는 에너지원으로 사용된다. 그러나 과다한 지방의 섭취로 인한 혈액내 중성지방의 높은 수준은 관상동맥질환과 같은 심혈관계에 장애를 주는 것으로 알려져 있다³⁴. Sohn³⁵은 고지혈증 판정에 있어 중성지방의 함량이 매우 중요한 지표가 된다고 하였으며, 한국인의 고지혈증 판정에 있어서 콜레스테롤보다 중성지방의 역할이 더욱 두드러진다고 보고하였다. 따라서 청폐사간탕의 투여는 비만증 환자에게 있어서 나타나기 쉬운 고중성지방혈증의 예방 및 치료에 도움이 될 것으로 사료된다.

6주간 실험식이를 섭취한 동물의 부고환 지방조직의 지방세포를 현미경으로 관찰한 결과와 지방세포의 크기 및 분포를 Fig. 4와 Fig. 5에 제시하였다. 지방세포의 크기 및 분포를 분석한 결과 청폐사간탕 섭취군에서 지방세포의 지름이 $11-70\mu\text{m}$ 인 것의 분포는 $82.4 \pm 2.5\%$ 로 대조군의 $60.4 \pm 1.7\%$ 에 비해 유의하게 컸으며, $71-130\mu\text{m}$ 인 지방세포의 분포는 청폐사간탕 섭취군이 $26.6 \pm 0.9\%$ 로 대조군의 $37.7 \pm 1.3\%$ 에 비해 유의하게 적은 것으로 나타났다. 즉 대조군의 지방조직에는 지름이 큰 세포가 많이 분포한 반면, 청폐사간탕 섭취군의 지방조직에는 크기가 작은 지방세포가 많이 분포한 것으로 나타났다. 여러 동물 실험에서 유아기 때는 지방세포 수와 크기가 모두 증가하지만, 성인이

되면 지방세포의 수에는 변화가 거의 없으며 체중이 증가하거나 비만하게 되면 지방세포의 크기만 증가한다고 알려져 있다. Hirsch 등³⁶은 지방세포의 증식은 생후 5주까지 가장 활발하고, 그 후에는 지방세포의 수가 증가하기보다 이미 만들어진 지방세포의 크기가 커진다고 보고하였다. 그러나 청폐사간탕이 지방세포에 정확히 어떠한 기전으로 작용하는지에 관한 연구는 추후에 계속되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서 측정된 BAT에서 UCP 1 mRNA 발현수준과 WAT에서 UCP 2 mRNA 발현수준을 Fig. 6, 7에 나타내었다. 청폐사간탕 섭취군 BAT에서의 UCP 1 mRNA 발현수준은 대조군에 비해 약 2.1배 증가하였다($P < 0.001$). 또한 청폐사간탕의 섭취는 WAT의 UCP 2 mRNA의 발현을 대조군에 비해 약 1.3배 증가시키는 것으로 나타났다($P < 0.01$). 따라서 본 연구에서 지방조직의 UCP 1, 2 mRNA 발현수준 증가와 함께 지방세포 크기가 감소하고 체지방량이 감소한 결과를 고려해 볼 때 청폐사간탕의 투여가 UCP 1, 2 mRNA 발현수준 증가를 매개로 하여 에너지 소비를 증가시켜 체지방의 축적을 억제하는 효과가 있는 것으로 생각된다. 본 실험에서 *in vitro* 실험에서는 메탄올 추출을 하였는데 이는 메탄올 추출물에는 대부분의 생리활성 물질이 모두 추출되므로 물추출보다 생리활성 물질이 추출될 확률이 더 높기 때문이며 차후에 이에 대한 논의가 더 있어야 한다고 사료된다. lipase 저해활성은 각 개별 약물에 대한 결과만 보았을 뿐 청폐사간탕의 결과는 보지 못하였는데 추후에 이에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

비만치료 메커니즘에 대한 연구의 하나로 태음인 청폐사간탕의 lipase 저해활성과 db/db mouse의 체중감량, 혈장지질, UCP 1, 2 발현에 미치는 영향을 비교 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 태음인 청폐사간탕을 구성하는 약재의 *in vitro*에서 lipase 저해활성 효과는 길경(81.7%), 나복자(73.1%), 승마(73.0%), 대황(68.4%), 갈근(55.3%), 백지(45.1%), 고본(34.5%), 황금(4.2%)의 순으로 높게 나타났다.

2. 6주간의 식이섭취동안 체중증가는 청폐사간탕군이 대조군에 비해 유의하게 적은 것으로 나타났다. 식이섭취량과 식이효율은 두 군간의 유의한 차이가 없었다.

3. 청폐사간탕군의 서혜부 지방조직의 무게는 대조군에 비해 유의하게 적었다.

4. 혈장 중성지방 농도는 청폐사간탕군이 대조군에 비해 유의하게 낮게 나타났고, 혈장 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량은 두 군간의 유의한 차이가 없었다.

5. 청폐사간탕 섭취군에서 지방세포의 지름이 11-70 μ m인 것의 분포는 대조군에 비해 유의하게 컸으며, 71-130 μ m인 지방세포의 분포는 청폐사간탕 섭취군이 대조군에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났다.

6. 청폐사간탕 섭취군은 BAT에서의 UCP 1 mRNA 발현수준이 대조군에 비해 약 2.1배 증가하였고, WAT의 UCP 2 mRNA 발현수준은 대조군에 비해 약 1.3배 증가하는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 고려해 볼 때 청폐사간탕의 투여가 UCP 1, 2 mRNA 발현수준 증가를 매개로 하여 에너지 소비를 증가시켜 체지방의 축적을 억제하는 효과가 있는 것으로 생각된다.

VI. 參 考 文 獻

1. 김경남, 임형호. 비만관련 논문에 대한 조사 연구. 한방재활의학회지. 1999;9(2):13.
2. 심경원, 이상화, 이홍수. 체질지수와 질병 이환의 관련성. 대한비만학회지. 2001;10:147-155.
3. 대한비만학회. 임상비만학. 고려의학, 서울, 1995:16-17,93-111,121-148,184-189,191-199,

- 205-206,287,341,395,417-422.
4. 권영달, 송용선. 비만증 환자의 생활형태 및 체질에 관한 조사보고. 대한한의학회지. 1995; 16(2):79-99.
 5. Hackman,R.M., 체중조절용 식품의 기능성소재. 한국식품과학회. 건강보조 식품심포지움. 1997:21-39.
 6. Wickelgren I., Obesity:How Big a Problem? Science280. 2000:1364-1367.
 7. Yamamoto M., Shimura S., Itoh Y., Ohsaka T., Egawa M. and Inoue S. Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, Nomame Herba, on rats fed a high-fat diet. Int J Obes Relat Metab Disord 24. 2000:758-764.
 8. Yamamoto M., Jia D.M., Fukumitsu K.I., Imoto I., Kihara Y., Hirohata Y and Otsuki M., Mitabolic abnormalities in the genetically obese and diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat can be prevented and reversed by alpha-glucosidase inhibitor. Metabolism 48. 2000: 347-354.
 9. 배정환, 신현대. 비만환자에서 태소음양인의 분포. 한방재활의학회지. 1997;7(2):142-153.
 10. 김달래, 백태현. 사상체질과 비만의 상관성에 관한 임상적 연구. 사상의학회지. 1996; 8(1):34-56.
 11. 김경요, 한종현, 홍순용. 태음인 남학생의 혈액변화에 대한 연구. 사상의학회지. 1991; 3(1):151-172.
 12. 김경준, 김달래. 체질별 혈청지질성분의 분석에 관한 실험적 고찰. 사상의학회지. 1993; 5(1):139-146.
 13. Hochachka P.W. The metabolic implications of intra cellular circulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999;96:12233-12239.
 14. Rippe C., Berger K., Boeirs C., Ricquier D., Erlanson A.C. Effect of high fat diet, surrounding temperature, and enterostatin on uncoupling protein gene expression. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2000;279:E293-E300.
 15. Arai, I., Amagaya, S., Komatsu, Y. and Okada, M.: Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. J, Ethnopharmacol. 1999; 68:301-314.
 16. 전국한의과대학 사상의학교실. 사상의학. 집문당, 서울, 2004:495-496,419-420.
 17. Cabrero A., et al. Uncoupling protein-3 mRNA up-regulation in C2C -12 yotubes after etomoxir treatment. *Biobimica et Biophysica Acta*, 2001;1532:195-202.
 18. Vidal-puig A., Solanes G., Grujie D., et al. UCP3 : An coupling protein homologue expression preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997;235:79-82.
 19. 문헌기. 임상내분비학. 고려의학, 서울, 1990: 475-487.
 20. L. Arthur Campfield, Francoise J. Smith, Paul Burn. Strategies and potential molecular targets for obesity treatment. Science. 1998;280(29): 1383-1387.
 21. Michael J. Devlin, Susan Z. Yanovski, Wilson G. Terence. Obesity:What mental health professionals need to know. The American Journal of Psychiatry. 2000;157(6):854-866.
 22. 조민상, 고병희, 송일병. 비만환자의 체질적 특징에 대한 임상적 고찰. 사상체질의학회지. 1998;10(2):485-511.
 23. 김달래. 비만인의 생활특성과 사상체질에 관한 연구. 사상체질의학회지. 1997;9(1):303-313.
 24. 신동준, 김달래, 김선행. 태음조위탕과 마황이 비만 백서의 Leptin에 미치는 영향. 사상체질의학회지. 2001;13(1):79-87.
 25. 김경요. 태·소음인·소양인의 처방이 Gold thioglucose로 유발된 백서의 비만증에 미치는 효과. 사상체질의학회지. 1996;8(1):295-

- 317.
26. 이기주, 전병훈, 김경요. 태음조위탕이 백서의 비만증 유도 및 유도비만 세포에 미치는 영향. 사상체질의학회지. 1996;8(2): 219-235.
 27. 조세왕. 태음조위탕이 비만유발 흰쥐의 체중감량 혈청지질 및 UCP1발현에 미치는 영향. 동국대학교 박사학위논문. 2003.
 28. 김은영, 김종원. 사상체질과 비만에 관한 임상적 연구. 사상체질의학회지. 2004; 16(1):105.
 29. 김수범, 고병희, 송일병. 태양인 태음인의 처방과 약재가 지방세포(3T3-L1)의 증식 분화억제에 미치는 영향. 사상의학회지. 1998; 10(2):556.
 30. 송미연, 이종수, 김성수, 신현대. 절식요법 시행후 태음인 비만에 대한 청 폐사간탕과 태음조위탕의 임상적 연구. 한방재활의학 과학회지. 1998;8(1):34-56.
 31. 배정환, 이종수, 정석희, 김성수, 신현대. 청 폐사간탕이 비만유도 흰쥐의 체중 혈액 및 UCP2 발현에 미치는 영향, 한방재활의학 과학회지. 2002;12(1):133-156.
 32. 박진식, 성지동, 채인호, 김효수, 주재란, 손대원, 오병희, 이명묵, 박영배, 최윤식, 이영우. 건강한 한국성인에서 lipoprotein lipase 유전자의 유전적 다형성이 혈중지질농도와 체질량지수에 미치는 영향. 대한내과학회지. 2000;58(1):57-66.
 33. Igel M., Kainulainen H., Brauers A., Beckrr W., Herberg L., Joost H.G. Long-term and rapid regulation of mRNA levels in adipose tissue from normal (Sprague Dawley rats) and obese (db/db mice and fa/fa rats) odents. *Diabetolia*. 1996;39:758-765.
 34. 김의수, 이형국, 임완기, 최승권. 운동과 성인병. 태근문화사, 서울, 1991.
 35. Sohn I.S. Studies on the hypercholestrolemia of koreans. *Kor. J. Med.* 1975;18:354-357.
 36. Hirsch J., Han P.W. Cellularity of rat adipose tissue effects of growth, starvation and obesity. *J. Lipid Research*. 1969;10:77-82.