

고지방식이로 유도된 비만 생쥐모델에서 열다한소탕의 항비만효과

고가연¹ · 박정환² · 곽진영² · 안택원^{2*}

¹대전대학교 한의과대학 사상체질의학교실, ²대전대학교 천안한방병원 사상체질의학교실

Abstract

Anti-obesity Effect of Yeoldahanso-tang on Obesity Mice

Ga-Yeon Go¹ · Jung-hwan Park² · Jin-Young Kwak² · Taek-Won Ahn^{2*}

¹Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine,

²Dept. of Sasang Constitutional Medicine, Cheonan Oriental Hospital of Daejeon University

Objectives

This study was conducted to evaluate the effects of Yeoldahanso-tang on obesity in rats induced by high fat diet experimentally.

Methods

The experiment was conducted with rats divided into 5 groups. Rats were evaluated for change of weight, hematologic and serum biochemical parameters.

Results

Yeoldahanso-tang group showed significant reductions in FER, body weight, adipose tissue weight and size. The level of Creatinine, glucose, ALP, T-cholesterol, Triglyceride, LDL-cholesterol, Leptin and IGF-1 of Yeoldahanso-tang group was significantly lower than those in HFD-CTL group. The level of HDL-cholesterol, free fatty acid and Adiponectin in Yeoldahanso-tang group was significantly higher than those in HFD-CTL group. As compared with HFD-CTL group, AMPK- α 1, UCP2 and adiponectin mRNA in liver of Yeoldahanso-tang group were significantly increased and AP2/FABP4, AMPK- α 2 and PPAR- γ mRNA in liver of Yeoldahanso-tang group was significantly decreased.

Conclusion

These results suggest that Yeoldahanso-tang has inhibitory effects on obesity in high fat diet induced obese mice.

Key Words: Yeoldahanso-tang, anti-obesity, High fat diet, anti-hyperlipidemia

Received May 18, 2017 Revised May 24, 2017 Accepted June 14, 2017

Corresponding author Taek-Won Ahn

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, Cheonan Oriental Hospital of Daejeon University
Doojeong-dong 621, Seobuk-gu, Cheonan city, Chungcheongnamdo, 331-958, Korea
Tel: +82-41-521-7535 Fax: +82-41-521-7007 E-mail: twahn@dju.kr

© The Society of Sasang Constitutional Medicine.
All rights reserved. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons attribution Non-commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>)

I. 緒論

비만은 과도한 에너지 섭취로 체내에 필요 이상의 에너지원이 중성 지방의 형태로 축적되어 있는 상태로 임상적으로 체질량 지수 25이상일 때를 의미하거나 체중이 표준체중(신장(cm)-100*0.9)보다 20%이상 증가된 경우를 말한다¹.

최근 생활습관과 식습관이 서구화되고 소득 수준의 증가로 섭취 열량은 늘어나나 활동량은 오히려 감소하여 비만 인구가 증가하고 있다. 2014년 국민건강영양조사 결과에 따르면 19세 이상 전체 성인 인구 중 체질량지수(Body Mass Index; BMI)가 25 이상인 인구의 비율은 1998년 약 26.0% 이었던 데 비해 2014년에는 30.9%까지 증가하였다².

비만은 몸의 열량 불균형을 일으켜 대사 장애를 유발시키는 질병³으로 그 자체로도 심각한 질병일뿐 아니라 심혈관질환, 당뇨병, 이상지질혈증, 고혈압 등 성인병과 관련된 많은 질환의 위험 요인을 높이며 직접적인 사망률을 높이는 것으로 알려져 있다⁴. 이러한 비만을 치료하기 위해 식이요법, 운동요법, 약물요법, 행동수정요법, 수술요법 등의 다양한 방법이 시도되고 있고 있다. 그러나 서양의학의 상업용 비만 억제제는 그 효과 이면에 여러 가지 부작용이 보고되고 있으므로 최근에는 상대적으로 부작용을 줄일 수 있는 한약 처방에 대한 관심이 급증하고 있다.

최근 비만에 관한 연구로는 夜關淸血湯이 고지방식이로 유도된 흰쥐의 비만 억제에 미치는 영향과 구기자 추출물의 항비만 및 혈당강하 효과⁶ 등과 같이 한약 및 천연물질을 이용한 비만 치료제 연구가 활발히 이루어지고 있다.

사상체질증 태음인은 전체 인구의 40% 정도가 속하는 체질로 태음인의 70%가 비만인이라는 기존 연구가 있다⁷. 또한 이⁸ 등의 연구에 의하면 태음인이다 체질에 비해 총콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤의 농도가 현저하게 높음을 확인할 수 있었다.

『東醫壽世保元 辛丑本』⁹에 기재된 열다한소탕(熱多寒少湯)은 태음인(太陰人) 간수열리열병(肝

受熱裏熱病)을 치료하도록 만들어진 처방으로, 임상에서는 태음인의 대사증후군을 비롯한 성인병에 유효한 처방으로 활용되고 있다¹⁰. 열다한소탕에 관한 실험 연구로는 파킨슨병¹¹과 대상포진¹² 등의 질환을 치료한 임상 케이스에 관련된 연구와 열다한소탕 추출물이 지방세포로의 3T3-L1 지방전구세포 분화에 미치는 항비만 효과¹³를 연구한 실험이 있었지만 비만 관련 호르몬 단백질 및 유전자 발현, 조직 검사 등에 관한 연구는 접하지 못하였다.

이에 저자는 비만에 대한 열다한소탕의 항비만 효과를 알아보기 위하여 비만 동물모델을 통해 체중증가량 및 식이효율, 혈청 생화학적 검사, 지질검사, 혈중 호르몬 분석, 신장, 부고환, 장간막 주변, 복부피하지방 중량과 간, 신장, 비장의 중량 변화를 측정하였다. 또 간과 부고환 주변 지방조직에서 비만과 관련된 유전자 발현을 분석하였고 간과 부고환 주변 지방세포를 병리조직학적으로 분석하여 adipocytes area 값을 확인하였다. 이를 통해 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용한 처방은 『東醫壽世保元 辛丑本』⁹의 처방 구성 및 제조법을 따른 것으로(주)함소아제약으로 의뢰받은 (주)보라사(화성, Korea)가 제조한 열다한소탕 과립제제로 갈색의 건조엑스를 사용하였다(Table 1).

Table 1. Plant Constituents of Yeoldahanso-tang.

NO.	Scientific name	Contents(g)
1	<i>Puerarialobata</i> (Willd.) Obwi	5
2	<i>Angelica tenuissima</i> Nakai	2.5
3	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	2.5
4	<i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq)	1.25
5	<i>Angelicae Dahurica</i>	1.25
6	<i>Cimicifuga beracleifolia</i> Kom	1.25
7	<i>Raphanus sativa</i> L	1.25
total		15

2) 시약 및 기기

(1) 시약

본 실험에 사용된 시약은 Diethylpyrocarbonate (DEPC), chloroform, trichloroacetic acid, isopropanol, Tri-HCl, KCl, MgCl₂, 적혈구 용혈액 (ACK lysis solution), DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) 배양액, dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS), sulfo-rhodamin B (SRB), 2-isopropanol, sodium dodecyl sulfate (SDS), Streptomycin (Gibco, USA)을 사용하였다. 우태 아혈청(fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone사(Logan, USA) 제품, Taqman master mix와 SYBR master mix는 ABi (USA)사 제품과 Leptin, IGF-1, Adiponectin ELISA kit는 R&D system(USA)을 사용하였고 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

(2) 기기

본 실험에 사용한 기기는 열탕추출기 (DWT-1800T, 대응, Korea), 감압 증류장치(rotary vacuum evaporator, BUCHI B-480, Switzerland), 동결 건조기 (freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan), 원심분리기 (한일과학, Korea), plate shaker (Lab-Line, USA), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), Bio-freezer (Sanyo, Japan), Quantitative Real-Time PCR (Applied Biosystems, USA), ELISA reader (Molecular Devices, USA), HPLC (High performance liquid chromatography ; Waters Co. USA) 등이다.

3) 동물

수컷 C57BL/6J 마우스를 대한바이오링크 (음성, Korea)로부터 분양하여 사용하였다. 분양 받은 실험동물은 실험당일까지 기본사료 (AIN-76A diet, 삼양사료 Co., Korea)와 물을 자유롭게 공급하면서 실험실 환경에 적응시킨 후, 건강상태가 양호한 9주령의 마우스를 사용하였다. 온도 22±2°C, 습도 55±15% 환경에서 12시간의 light-dark cycle이 유지되는 동물 사육실 환경에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 식수는 여과된 정제수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 본 실험

은 대전대학교 동물실험윤리규정을 준수하여 시행하였고 동물실험의 윤리적, 과학적 타당성 검토 및 효율적인 관리를 위하여 대전대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받았다(승인번호: DJUAR2016-038).

2. 방법

1) 비만 유발 동물모델 및 실험설계

각 군을 정상식이를 투여한 Normal군(이하 정상군 (C57BL/6J_Nr)), 고지방식이 (high fat diet; HFD)를 투여한 control군(이하 대조군(HFD-CTL)), HFD에 열다한소탕 200mg/kg 엑스과립제를 투여한군(이하 HFD-YDHST 200), HFD에 열다한소탕 400mg/kg 엑스과립제를 투여한군(이하 HFD-YDHST 400), HFD에 열다한소탕 800mg/kg 엑스과립제를 투여한 군(이하 HFD-YDHST 800)으로 나누었다. 실험군은 C57BL/6J 마우스를 2주간 기본사료(AIN-76A diet)로 적응시킨 후 1주간 high fat diet(Diet Induced Obesity(DIO) Diet Formulas, D12492, 60kcal% fat)(이하 HFD) 섭취로 평균체중이 28g~29g 사이에 도달하면 9주령부터 열다한소탕 과립제를 투여하였다. 열다한소탕 과립제를 0.25% CMC (carboxy methyl cellulose)에 혼탁시켜 0.2ml/마우스/day 용량으로 경구투여 하였다.

Table 2. Diet Induced Obesity Diet Formulas (D12492) 60kcal% fat.

Ingredient	gm	kcal
casein, 80 Mesb	200	800
L-Cystine	3	12
corn Starch	0	0
Maltodextrin 10	125	500
Sucrose	68.8	275.2
Cellulose, BW200	50	0
Soybean Oil	25	225
Lard	245	2205
Mineral Mix, S10026	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H2O	16.5	0
Vitamin Mix, V10001	10	400
Choline Bitartrate	2	0
FD&C Blue Dye#1	0.05	0
total	773.85	4057

2) 체중, 식이섭취량 및 식이효율의 측정

6주간 매주 수요일 9시에 체중과 식이섭취량을 측정하였다.

3) 혈청 생화학적 검사

YDHST을 6주간 투여 후 실험이 끝난 마우스는 희생 전 16시간 동안 절식시키고 심장천자법으로 채혈한 후 30분 이내에 3,000rpm, 4°C에서 15분간 원심분리하여 혈청 (serum)을 분리하고 70°C에 보관한 후 분석하였다. 얻은 혈청에 대해서 creatinine, ALT (alanine transaminase), AST (aspartate transaminase), ALP (alkaline phosphatase), LDH (Lactate dehydrogenase), uric acid, glucose, free fatty acid 등의 생화학적 검사와 혈청 및 간의 지질함량의 지표인 총콜레스테롤 (total cholesterol), 중성지방(triglyceride)과 HDL (High-density lipoprotein), LDL (Low-density lipoprotein)의 함량을 생화학자동 분석기 (Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 측정하였다. 혈청 Leptin, IGF-1, adiponectin 분석 YDHST을 7주간 투여 후 각 실험동물로부터 분리한 혈청중에서 Leptin, IGF-1, adiponectin의 수준을 ELISA 방법으로 측정하였다. 모든 실험과정과 검사법은 진단 검사의학적 가이드라인에 준하여 수행하였다.

4) 장기 및 부위별 지방 중량 측정

YDHST을 6주간 투여 후 복부 피하지방 (abdominal subcutaneous fat), 부고환주변 지방조직 (epididymal adipose tissue), 신장주변 지방조직 (kidney adipose tissue), 창자주변 지방조직 (intestine adipose tissue)의 중량을 산출하였다. 또한 간, 신장, 비장을 적출한 후 조직의 중량을 산출하였고 g 단위를 사용하였다.

5) 간, 부고환 지방세포 유전자 발현 분석

YDHST을 6주간 투여 후 각 실험동물로부터 적출한 간과 지방조직들의 유전자 발현 양상을 real-time PCR 증폭법을 사용하여 알아보았다. 부고환 주변 지방조직 (epididymis adipose tissue) 및 간 (liver)등 조직은

RNAso1B (Tel-Test) 용액을 사용하여 각 조직으로부터 RNA를 추출한 뒤 One-step SYBR Green PCR kit (Ab science)를 사용하여 cDNA 및 real-time PCR 분석을 하였다. Real time quantitative PCR은 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행하였다. 유전자 발현은 TaqMan probe (FAM dye-labeled, ABI, USA), internal standard는 마우스 GAPDH probe set; Endogenous Control (VIC® / MGB Probe, Probe limited) from Applied Biosystems (4352339E)를 사용하였고, primer의 최종 농도가 200 nM이 되게 반응시켰다. Real time quantitative PCR의 조건은 pre-denaturation은 2min at 50°C, 10min 94°C, 그리고 40cycles을 0.15min at 95°C, 1min at 45°C에서 수행하였다. 실험군과 대조군(HFD-CIL)은 internal standard로 G3PDH를 사용하여 target group의 Quantitative PCR $y = x(1+e)^n$, $x =$ starting quantity, $y =$ yield, $n =$ number of cycles, $e =$ efficiency, 계산하여 RQ (relative quantitative)을 측정하였다.

6) 병리조직학적 분석

YDHST을 6주간 투여 후 주요 장기들에 대한 조직 병리학적 관찰을 수행하기 위해 간과 지방조직 등을 절취하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4 μ m 두께의 조직절편을 제작하여 hematoxylin & eosin (H&E) 염색 및 오일-레드 O를 시행한 뒤 xylene clearing을 거쳐 permount로 처리한 후 광학현미경 (NIKON, Japan)위에서 100x배율로 관찰하였고, 조직 또는 장기별 특이 병변의 유무를 관찰하였다. 지방세포 크기는 부고환 지방조직을 H&E 염색을 시행한 후 광학현미경 Nikon ACT-1 version 2.51 (Nikon, Japan)를 사용하여 50 μ m 단위로 설정하여 지방세포 크기를 측정하였다.

3. 통계 처리

각 실험군 결과 값은 Student's T-test 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며, $p < 0.05$ 이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다. (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$)

Table 3. Mouse Probe & Oligonucleotide.

Gene	Probe & Primer	Sequence
Leptin	sence	5'-AACCCCTTACTGAACCTCAGATTGTTAG-3'
	antisence	5'-TAAGTCAGITTTAAATGCTTAGGG-3'
UCP-2	sence	5'-TTCAAATGAGATTGTGGGAAAAT-3'
	antisence	5'-ACCGATACAGTACAGTACAGTA-3'
Adiponectin	sence	5'-TTCAAATGAGATTGTGGGAAAAT-3'
	antisence	5'-ACCGATACAGTACAGTACAGTA-3'
PPAR- γ	FAM	5'-TCGGAATCAGCTCTGTGGACCTCTCC-3'
	β 3AR	5'-CCCTCCTTGTGTATGCTCT-3'
GAPDH	VIC	5'-TGCATCCTGCACCACCAACTGCTTAG-3'

III. 結果

1. 체중증가량 및 식이효율에 미치는 영향

대조군 (HFD-CTL)의 체중이 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 49.9% 높은 수준의 유의한 체중 증가를 나타내었다($p < 0.001$). 대조군(HFD-CTL)에 비하여 HFD- YDHST (200,400,800mg/kg) ($p < 0.001$)군 모두에서 유의성 있게 체중이 감소되었다. 일일 평균 식이 섭취량과 일일 평균 체중 증가량을 통해 식이 효율을 구하였다. 대조군(HFD-CTL)의 식이효율이 정상군(C57BL/ 6J_Nr)과 비교하여 약 4배의 유의한 증가를 보였다 ($p < 0.001$). 대조군(HFD-CTL)에 비해 HFD-YDHST 400군 ($p < 0.01$)과 HFD-YDHST 800군 ($p < 0.001$)은 식이 효율이 유의하게 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table 4).

Table 4. Food Intake, Body Weight Gain, and Food Efficiency Ratio.

Group	Food intakes (g/day)	Bodyweight gain (g/day)	Food Efficiency ratio(FER,%)
C57BL/6J_Nr	2.85	0.122±0.01	4.28±0.47
HFD-CTL	2.53	0.433±0.02	17.10±0.79
HFD-YDHST 200	2.14	0.334±0.02***	15.10±0.80
HFD-YDHST 400	2.16	0.265±0.02***	12.29±1.01**
HFD-YDHST 800	2.25	0.255±0.02***	11.33±1.00***

ND, normal diet group; HFD+CTL, high fat diet contains CTL-fed group; HFD+YDHST, high fat diet contains cereal bar containing Yeoldahanso-tang extracts (200, 400, 800 mg/kg). Values are expressed as mean±SEM(n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ (compared with HFD-control) express significant differences as determined by Student t-test.

2. 혈청 생화학적 변화에 미치는 영향

1) 독성 검사

(1) 신장독성에 미치는 영향

혈청 중 creatinine의 함량을 분석한 결과, 대조군 (HFD-CTL)에 비하여 유의하게 감소 ($p < 0.001$)하였으며, HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군은 유의성을 보이지 않았다. 대조군(HFD-CTL)과 YDHST 군 간의 혈청 내 creatinine 수준이 큰 차이가 없으므로 신장 독성은 나타나지 않은 것을 확인할 수 있었다 (Table 5).

(2) 간독성에 미치는 영향

혈청 중 AST, ALT, ALP의 함량을 분석한 결과, AST는 대조군(HFD-CTL)에 비해 열다한소탕 투여한 군 모두 소폭 상승하였으나 유의성이 없었고 ALT는 대조군(HFD-CTL)에 비해 열다한소탕 투여한 군 모두 감소하였지만 유의성을 보이지 않았다. HFD-YDHST 200군의 ALP 함량이 대조군(HFD-CTL)에 비하여 유의하게 감소($p < 0.01$)하였으며, HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군은 감소하였으나 유의성을 보이지 않았다. 그러므로 YDHST는 간 독성이 없는 것을 확인할 수 있었다(Table 5).

Table 5. The Effect of Yeoldahanso-tang on Blood Biochemistry Parameters in HFD-fed Obese Mice.

	ND	HFD-CTL	HFD-YDHST 200	HFD-YDHST 400	HFD-YDHST 800
Creatinine	0.34±0.025	0.4±0	0.32±0.02	0.36±0.025	0.36±0.025
AST	75.38±4.59	105.8±10.69	150.6±23.87	122±27.5	107.8±7.83
ALT	22.6±1.33	71.8±17.63	36.2±12.14	43.6±12.18	26.8±6.94
ALP	73±6.22	58±2.08	43.4±3.84	51.6±4.9	55.6±2.07
Glucose	112±3.83	265.6±13.41	215.4±9.29	229.4±13.41	220.4±15.78
Free fatty acid	2.5±0.07	2.9±0.03	2.8±0.13	2.9±0.13	3.3±0.09
Total cholesterol	145.8±4.77	245±6.76	209.8±12.13	222.4±4.32	192.8±10.15
Triglyceride	103±4.8	168.6±21.28	118.2±5.98	116.4±6.52	135.2±3.78
HDL-cholesterol	70.6±2.21	94±1.79	86.2±3.08	88.4±3.42	92.4±2.02
LDL-cholesterol	11.5±0.58	19.1±1.45	13.3±1.19	16.6±0.74	14.5±0.48
Leptin	72301.36± 95648.64909	10110770.24± 1626406.918	4667344.25± 1879415.243	5117624.42± 1364412.425	9213720.43± 1508439.187
IGF-1	167939.18± 25079.21895	139693.49± 19551.71406	38622.32± 8017.009149	34909.57± 10684.34464	104481.36± 5568.632835
Adiponectin	217493.92± 34357.97005	126262.54± 27619.08662	187119.50± 61017.53776	212334.69± 49281.78061	228303.16± 42640.94903

AST: Aspartate Transaminase, ALT: Alanine Transferase, ALP: Alkaline Phosphatase

ND, normal diet group; HFD+CTL, high fat diet contains CTL-fed group; HFD+YDHST, high fat diet contains cereal bar containing Yeoldahanso-tang extracts (200, 400, 800 mg/kg). Values are expressed as mean±SEM(n=6). *p<0.05, **p<0.01, and ***p<0.001 (compared with HFD-control) express significant differences as determined by Student t-test.

3. 혈청 포도당 (glucose) 량에 미치는 영향

혈청 중 glucose의 함량을 분석한 결과, 정상군 (C57BL/6J_Nr)은 112 mg/dL, 대조군(HFD-CTL)은 265.6 mg/dL, HFD-YDHST 200군은 215.4 mg/dL, HFD-YDHST 400군은 229.4mg/dL, HFD-YDHST 800군은 220.4 mg/dL으로 HFD-YDHST 200군의 glucose 함량이 대조군(HFD-CTL)에 비하여 유의하게 감소 ($p<0.01$)하였으며, HFD-YDHST 400군과 HFD-열다 YDHST 800군은 유의성을 보이지 않았다(Table 5).

4. 혈청 유리지방산 (free fatty acid) 량에 미치는 영향

혈청 중 free fatty acid의 함량을 분석한 결과, 정상군 (C57BL/6J_Nr)은 2.5 mg/dL, 대조군(HFD-CTL)은 2.9 mg/dL, HFD-YDHST 200군은 2.8 mg/dL, HFD-YDHST 400군은 2.9 mg/dL, HFD-YDHST 800군은 3.3 mg/dL으로 대조군 (HFD-CTL)의 free fatty acid는 정상군 (C57BL/6J_Nr)에 비하여 약 56.0%의 유의한 증가를 나타내었다 ($p<0.001$). HFD-YDHST 800군의 free fatty

acid 함량이 대조군(HFD-CTL)에 비하여 유의하게 증가 ($p<0.001$)하였다(Table 5).

5. 혈중 지질학적 변화에 미치는 영향

1) 혈중 총콜레스테롤 (T-cholesterol) 량에 미치는 영향

혈중 T-cholesterol의 함량을 분석한 결과, 대조군 (HFD-CTL)의 혈중 T-cholesterol은 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 약 68.0%의 유의한 증가를 나타내었다 ($p<0.001$). HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군의 T-cholesterol 함량이 대조군(HFD-CTL)에 비하여 유의하게 감소 ($p<0.01$)하였으며 HFD-YDHST 800군 역시 T-cholesterol 함량이 유의하게 감소 ($p<0.001$)하였다(Table 5).

2) 혈중 중성지방 (Triglyceride) 량에 미치는 영향

혈중 Triglyceride의 함량을 분석한 결과, 대조군 (HFD-CTL)의 혈중 Triglyceride는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 약 63.7%의 유의한 증가를 나타내었다 ($p<0.01$). HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군이 유의하게 감소 ($p<0.05$)하였다(Table 5).

3) 혈중 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol량에 미치는 영향

혈청 중 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol의 함량을 분석한 결과, 대조군(HFD-CTL)의 HDL-cholesterol은 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 약 33.1%의 유의한 증가를 나타내었다 ($p<0.001$). 또한 대조군(HFD-CTL)의 LDL-cholesterol은 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 약 66.1%의 유의한 증가를 나타내었다 ($p<0.001$). HFD-YDHST 200군의 HDL-cholesterol ($p<0.05$), LDL-cholesterol ($p<0.01$)과 HFD-YDHST 800군의 LDL-cholesterol 함량이 유의하게 감소 ($p<0.01$)하였다(Table 5).

6. 혈중 호르몬 단백질량 변화에 미치는 영향

1) 혈중 Leptin 단백질량에 미치는 영향

혈중 Leptin의 단백질량을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 혈중 leptin은 $10.11 \pm 0.16 \mu\text{g/dL}$ 으로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 $0.07 \pm 0.10 \mu\text{g/dL}$ 에 비하여 144배 이상 증가를 나타내었다 ($p<0.001$). 열다한소탕 투여한 군은 모두 대조군(HFD-CTL)에 비하여 Leptin의 단백질량이 감소하였고, 그 중 HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군이 유의하게 감소 ($p<0.05$)하였다 (Table 5).

2) 혈중 IGF-1 단백질량에 미치는 영향

혈중 IGF-1의 단백질량을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 열다한소탕 투여한 군은 모두 대조군(HFD-CTL)에 비하여 IGF-1의 단백질량이 감소하였고, 그 중 HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군이 유의하게 감소 ($p<0.001$)하였다(Table 5).

3) 혈중 Adiponectin 단백질량에 미치는 영향

혈중 Adiponectin의 단백질량을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 adiponectin은 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 약 42.0%의 유의한 감소를 나타내었다 ($p<0.05$). 열다한소탕 투여한 군은 모두 대조군(HFD-

CTL)에 비하여 Adiponectin의 단백질량이 증가하였고, 그 중 HFD-YDHST 800군이 유의하게 증가 ($p<0.05$)하였다(Table 5).

7. 장기 및 부위별 지방 중량 변화에 미치는 영향

1) 복부피하지방, 부고환, 신장, 창자주변 중량 변화에 미치는 영향

대조군(HFD-CTL)의 복부 피하지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 복부 피하지방량에 비하여 5.29배 이상 유의하게 증가하였고 ($p<0.001$) 부고환주변 지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 부고환지방량에 비하여 3.17배 유의하게 증가하였다 ($p<0.001$). 대조군(HFD-CTL)의 신장주변 지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 신장주변 지방량에 비하여 3.76배 유의하게 증가하였고 ($p<0.001$) 창자주변 지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 창자주변 지방량에 비하여 5.59배 이상 유의하게 증가하였다. 대조군(HFD-CTL)에 비해 열다한소탕 투여군에서 지방조직이 감소하는 것을 확인할 수 있었으며 HFD-YDHST 200군의 복부 피하지방 ($p<0.001$), 신장 ($p<0.001$), 창자주변 ($p<0.01$) 지방의 감소가 유의성을 보였으며 HFD-YDHST 400군은 복부 피하지방 ($p<0.01$)이 유의하게 감소하였다. HFD-YDHST 800군은 복부 피하지방 ($p<0.01$), 부고환 ($p<0.01$), 신장 ($p<0.001$), 창자주변 ($p<0.01$)의 지방 중량이 모두 유의하게 감소하였다(Figure 1a).

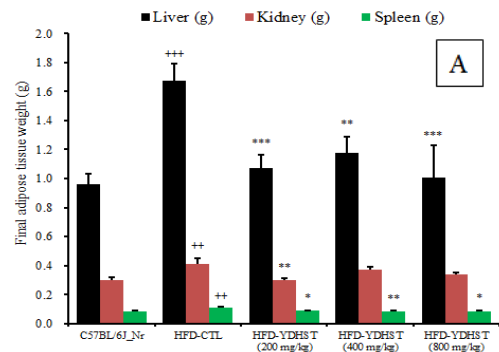


Figure 1a. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on adipose weight in obesity mice fed with high fat diet.

2) 간, 신장, 비장 중량변화에 미치는 영향

대조군(HFD-CTL)의 간 무게 (liver weight)는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 74.0% 유의하게 증가하였고 ($p<0.001$) 신장 무게 (kidney weight)는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 36.4% 유의하게 증가하였다 ($p<0.01$). 또한 비장 무게 (spleen weight)는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 25.6% 유의하게 증가하였다 ($p<0.01$). 대조군(HFD-CTL)에 비해 열다한소탕 투여군에서 간, 신장, 비장의 중량이 모두 감소하는 것을 확인할 수 있었다. HFD-YDHST 200군의 간 ($p<0.001$), 신장 ($p<0.01$), 비장 ($p<0.05$)의 중량감소가 유의성을 보였으며 HFD-YDHST 400군은 간 ($p<0.01$), 비장 ($p<0.01$)이 유의하게 감소하였다. HFD-YDHST 800군은 간 ($p<0.001$), 비장 ($p<0.05$)의 지방 중량이 유의하게 감소하였다(Figure 1b)

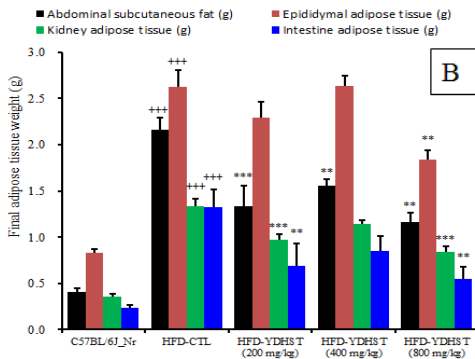


Figure 1b. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on organ weight in obesity mice fed with high fat diet.

8. 비만관련 유전자 발현에 미치는 영향

1) Liver 유전자 발현 분석

(1) AP2/FABP4 mRNA 유전자 발현 분석

간의 AP2/FABP4 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대조군 (HFD-CTL)의 유전자 발현이 2.97 ± 0.93 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 0.78 ± 0.24 에 비하여 약 3.8배 유의한 증가를 나타내었다 ($p<0.05$). HFD-YDHST 200군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 AP2/FABP4 mRNA의 발

현량이 증가하였으며 HFD-YDHST 400군, HFD-YDHST 800군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 SREBP1c/ADD1 mRNA의 발현량이 감소하였다. 그 중 HFD-YDHST 400군은 유의하게 감소 ($p<0.05$)하였다(Figure 2).

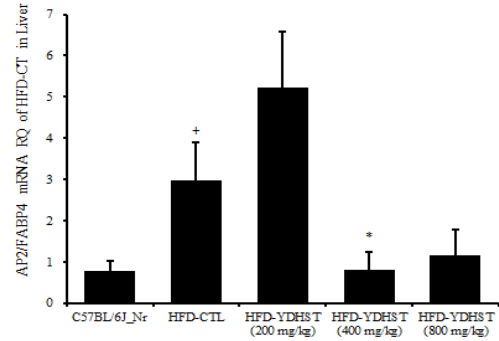


Figure 2. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on AP2/FABP4 mRNA expression in liver in obesity mice fed with high fat diet.

(2) AMPK-α1 mRNA 유전자 발현 분석

열다한소탕 투여한 군 모두 대조군(HFD-CTL)에 비해 AMPK-α1 mRNA의 발현량이 증가하였다. HFD-YDHST 200군 ($p<0.05$), HFD-YDHST 400군 ($p<0.001$), HFD-YDHST 800군 ($p<0.05$)의 값을 각각 가지며 유의하게 증가하였다(Figure 3a).

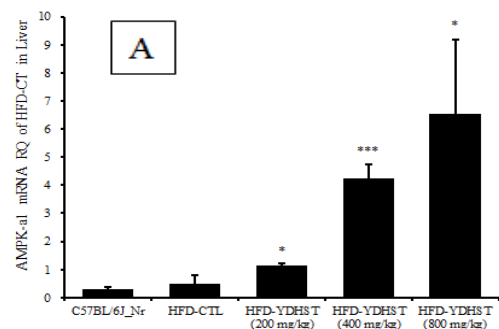


Figure 3a. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on AMPK-α1 mRNA expression in liver in obesity mice fed with high fat diet.

(3) AMPK-α2 mRNA 유전자 발현 분석

간의 AMPK-α2 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 HFD-YDHST 200군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 AMPK-

$\alpha 2$ mRNA의 발현량이 증가하였으나 HFD-YDHST 400 ($p < 0.05$)군과 HFD-YDHST 800 ($p < 0.01$)군은 대조군 (HFD-CTL)에 비해 AMPK- $\alpha 2$ mRNA의 발현량이 유의하게 감소하였다(Figure 3b).

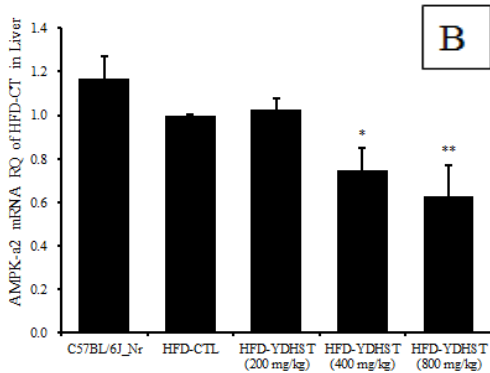


Figure 3b. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on AMPK- $\alpha 2$ mRNA expression in liver in obesity mice fed with high fat diet.

(4) UCP2 mRNA 유전자 발현 분석

간의 UCP2 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 열다한소탕 투여한 군 모두 대조군(HFD-CTL)에 비해 UCP2 mRNA의 발현량이 증가하였으며 그 중 HFD-YDHST 200 ($p < 0.05$)군과 HFD-YDHST 800 ($p < 0.001$)군이 유의하게 증가하였다(Figure 4).

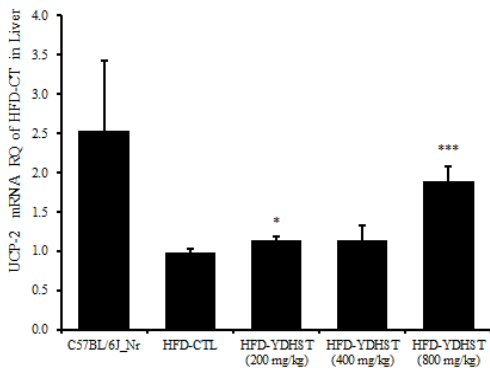


Figure 4. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on UCP2 mRNA expression in liver in obesity mice fed with high fat diet.

(5) Adiponectin mRNA 유전자 발현 분석

간의 Adiponectin mRNA 유전자 발현을 분석한 결

과 열다한소탕을 투여한 군 모두 대조군에 비해 Adiponectin mRNA의 발현량이 증가하였으며 그 중 HFD-YDHST 200군이 유의하게 증가 ($p < 0.05$)하였다 (Figure 5).

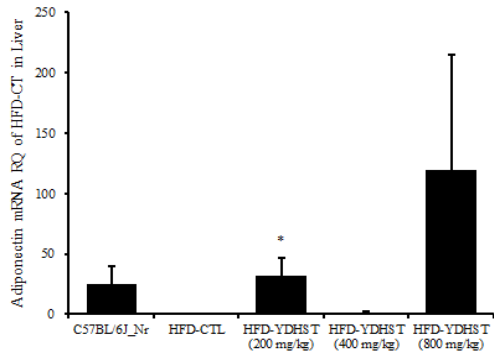


Figure 5. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on Adiponectin mRNA expression in liver in obesity mice fed with high fat diet.

(6) PPAR- γ mRNA 유전자 발현 분석

간의 PPAR- γ mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 유전자 발현이 4.69 ± 1.85 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 0.67 ± 0.26 에 비하여 7배 이상의 증가를 나타내었다 ($p < 0.05$). HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군이 대조군(HFD-CTL)에 비해 PPAR mRNA의 발현량이 유의하게 감소 ($p < 0.05$)하였다(Figure 6).

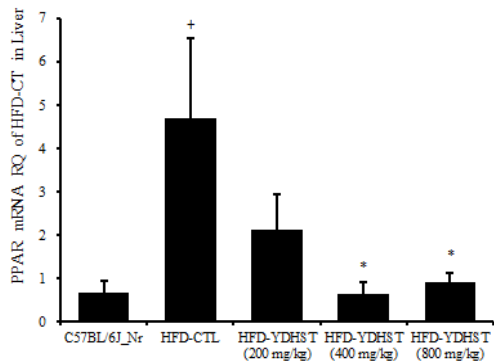


Figure 6. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on PPAR mRNA expression in liver in obesity mice fed with high fat diet.

2) Epididymis adipose tissue 유전자 발현 분석

(1) UCP2 mRNA 유전자 발현 분석

부고환 지방세포의 UCP2 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 HFD-YDHST 200군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 UCP2 mRNA의 발현량이 감소하였으나 HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 UCP2 mRNA의 발현량이 유의하게 증가하였으며 그 중 HFD-YDHST 800군이 유의하게 증가 (* $p < 0.01$)하였다(Figure 7).

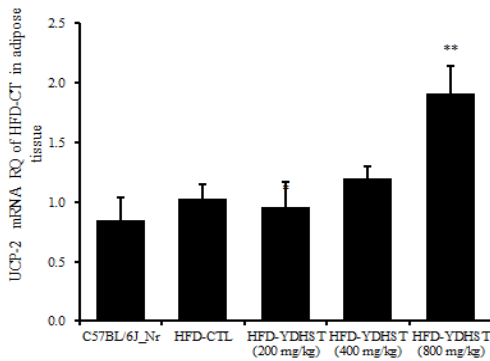


Figure 7. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on UCP2 mRNA expression in liver in obesity mice fed with high fat diet.

9. 병리조직학적 분석

1) 간의 병리조직학적 분석

비만 병태 모델에서 시험물질에 따른 간 조직검사(H&E 염색)를 나타낸 조직 사진이다. 대조군(HFD-CTL)에서 보듯이 비만이 유발된 간 조직에서는 마이크로 지방구가 간세포질에 축적되어 마이크로 지방구들이 거대세포성 (macrovesicular) 지방증으로 진행되어 조직상에 큰 지방구들이 나타나며, 또한 H&E 염색으로 염색시 지방의 축적으로 회색지방축적세포들이 넓게 분포하는 지방간이 나타난다. 즉, 정상군(C57BL/6J_Nr)과 비교하여, 고지방식이 섭취에 의해 비만이 유발된 대조군(HFD-CTL)에서 강하게 회색지방축적세포들이 전체에 존재하고, 거대세포성 (macrovesicular) 지방증도 많이 존재함을 관찰하였다. 대조군(HFD-CTL)과 비교하여 열다한소탕 투여군에서 회색지방축적세포들과 거대세포성 (macrovesicular) 지방증이 현저하게 개선되었다(Figure 8).

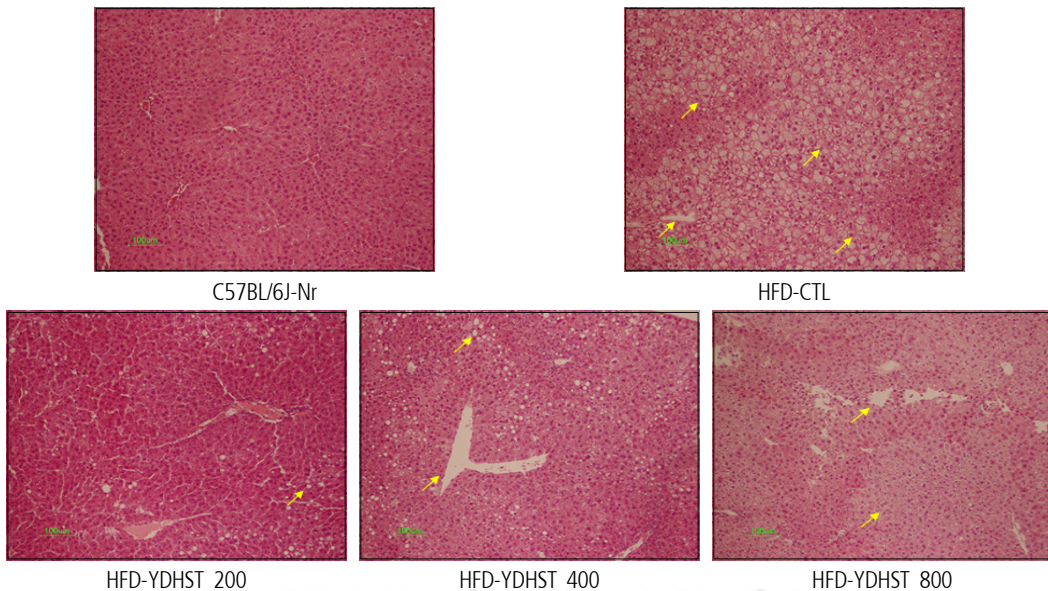


Figure 8. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on histological profiles of liver in obesity mice fed with high fat diet.

2) 부고환 지방 세포의 병리조직학적 분석

Figure 9는 비만 병태 모델에서 시험물질에 따른 부고환주변 지방조직 형태를 나타내는 사진이다. 대조군(HFD-CTL)은 고지방식이 섭취로 인해 비만이 유발되면 지방세포의 크기가 현저히 증가하게 된다. 대조군(HFD-CTL)과 비교하여 열다한소탕 투여군에서 부고환주변 지방조직 내 지방세포 크기 증가가 억제되었다(Figure 9).

3) 지방세포 크기 변화에 미치는 영향

지방세포 크기는 Nikon ACT-1 version 2.51 (Nikon, Japan)를 사용하여 50 μm 단위로 측정하였다. Fig 39는 비만 병태 모델에서 시험물질에 따른 부고환주변 지방조직 형태에 대한 효과를 나타내는 그래프이다. 고지방식이 섭취로 인해 비만이 유발되면 지방세포의 크기가 현저히 증가하게 된다. 대조군(HFD-CTL)의 지방세포 크기는 136.8±1.49 μm로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 52.5±1.04 μm에 비하여 지방세포 크기가 2.61배 유의하게 증가했다 ($p < 0.001$). HFD-YDHST 200은

104.0±2.04 μm, HFD-YDHST 400은 98.8±4.02 μm, HFD-YDHST 800은 98.8±1.25 μm 로 대조군(HFD-CTL)에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.001$).

IV. 考察

비만은 에너지 섭취와 소비의 불균형, 운동부족, 부적절한 식습관, 정신적 문제, 내분비계 장애 및 유전적인 원인 등 다양한 원인으로 인해 지방조직이 과잉 축적되어 있는 상태를 의미한다¹.

전세계적으로 2008년 기준으로 보았을 때 14억명 이상이 과체중 상태에 있으며¹⁴, 우리나라의 경우에는 체질량기준으로 볼 때 2013년의 경우 남성은 37.6%, 여성은 25.1%에 이를만큼 비만 유병률은 매우 높은 상태이다.

비만은 단순히 외형적으로 아름답지 못한 것에서 벗어나 고혈압, 심혈관계 질환, 당뇨, 호흡장애, 고지혈증 같은 질환뿐 아니라 관절염과 같은 근골격계 질

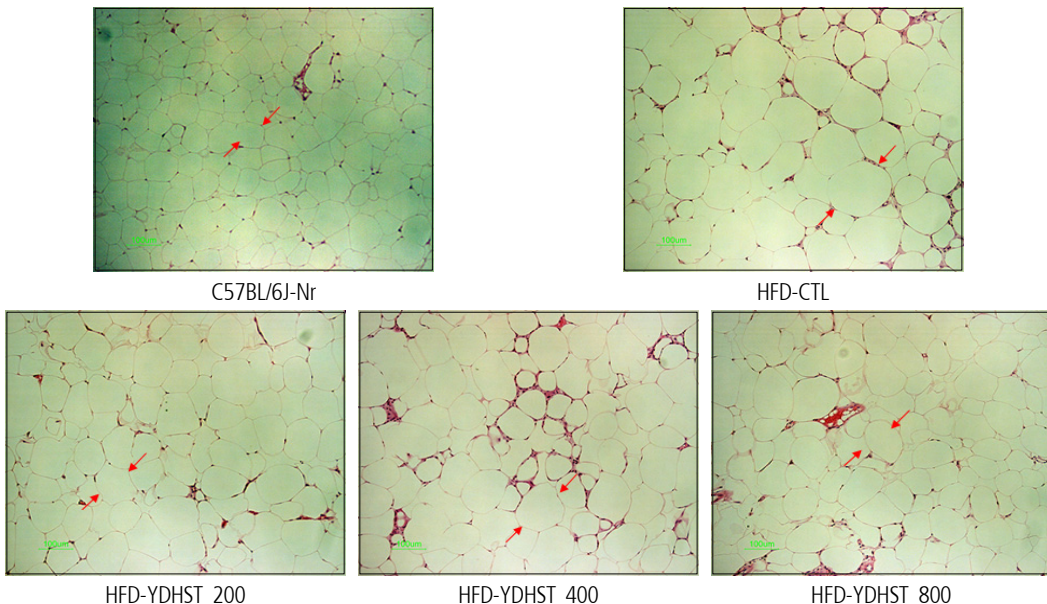


Figure 9. Effect of YDHST (200, 400, 800 mg/kg) extracts on histological profiles of epididymal adipose tissue in obese mice fed high fat diet.

환과 각종 다양한 암을 유발시키는 위험 인자이다¹⁴.

이러한 비만 치료를 위해 약물요법이 가장 대중적으로 많이 사용되고 있다. 대부분의 약물 요법은 중추성 식욕억제와 함께 위장에서 선택적으로 지방의 흡수를 막는 말초 작용과 선택적으로 내인성 카나비노이드를 억제하는 원리를 이용한다. 그러나 이러한 약물들은 심혈관계와 소화기계등에 부작용¹⁵이 있는 것으로 밝혀졌으므로 안전하고 유효성이 보장된 이를 대체할만한 한약재 및 천연물에 대한 연구가 활발해지고 있다.

한의학에서는 비만을 肥, 肥人, 肥貴人, 肥滿人 등으로 표현하였으며, 그 원인을 痰濁, 濕熱, 水毒, 食毒, 瘀血, 過食, 氣滯 등으로 보았고, 병리적 특징을 令人內熱, 腠理鬱滯, 血黑以濁, 氣滯而遲 등으로 보았다¹⁶. 그중에서 가장 주요한 원인은 痰飲으로 중의학에는 “肥人多脂”, “肥人多痰”¹⁷의 이론이 있다. 이 이론이 설명하듯이 비만은 痰飲과 서로 밀접한 연관이 있다. 이러한 痰飲은 비만 뿐 아니라 고지혈증의 병리기전과도 연관되어 있는데, 고지혈증의 병리는 脾, 肝, 腎과 연관되어 있다¹⁸. 기름진 음식을 과다 섭취하여 脾胃 運化가 실조되거나 肝氣鬱結이 발생하거나 腎陰부족으로 虛火內動하거나 腎陽부족으로 膏脂가 布化되지 않으면 痰飲이 생긴다¹⁸. 따라서 한의학에서의 비만의 치료는 痰飲을 없애고 기혈 순환을 도와 活血祛瘀하는 약물을 사용하는 방법이 주가 되며 그 외 행동요법이나 식이요법 등의 방법을 시행하고 있다¹⁶.

사상체질의 측면에서 비만을 살펴보면 『靈樞·陰陽二十五人』¹⁹에 ‘土形之人, 其爲人, 黃色, 圓面, 大頭, 美肩背, 大腹, 美股脛, 小手足, 多肉’ 이라 하여 비만이 쉽게 발생하는 체형을 土形之人이라고 표현하였다. 土形之人은 사상의학에서의 태음인과 흡사하며 태음인은 吸聚之氣가 과하여 흡수하는 성향을 가지므로 다른 체질에 비해 비만이 되기 쉬운 체질이다. 비만의 발생 유무와 비만으로 인한 성인병 발생 가능성을 판단할 수 있는 지표가 될 수 있는 것으로 혈청 내 중성지방과 총콜레스테롤, LDL 콜레스테

롤 등이 있는데 기존 연구들에 의하면 태음인이 타 체질에 비해 혈중 총콜레스테롤과 중성지방, LDL 콜레스테롤 등이 유의하게 높다고 밝혀져 있다²⁰. 이처럼 비만이 될 가능성이 높은 태음인 체질 처방 중 지금까지 비만 치료와 예방에 많이 사용되는 처방으로 태음인 태음조위탕과 조위승청탕 등이 있고 그 외에 감비제습탕, 도담탕 등이 많이 사용되고 있다²¹. 실제로 비만에 관한 선행연구로 최²²의 『비만동물모델의 phenotype과 transcriptome profile에 근거한 태음조위탕의 항비만 효능 규명』, 조²³ 등의 『太陰調胃湯이 비만 유발 흰쥐의 체중감량, 혈청지질 및 UCP1 발현에 미치는 영향』 등이 있다. 이를 통해 태음조위탕이 고지방 식이를 섭취한 마우스의 체중과 복부지방의 지방 축적을 나타내는 mesenteric fat과 retroperitoneal fat 양을 감소시키며 식이섭취량을 감소시키는 효능이 있음을 알 수 있었고 또한 마우스의 insulin, Triglyceride, Total-cholesterol, total-lipid, UCP1 발현에 유의한 효과가 있음을 확인하였다.

본 실험에 사용된 열다한소탕은 태음인의 간수열리열병(肝受熱裏熱病)에 사용하는 처방으로 갈근, 황금, 고본, 나복자, 길경, 승마 및 백지의 7가지로 구성된다. 『東醫壽世保元 辛丑本』⁹에 의하면 肝熱熱證(간열열증), 燥熱病(조열병), 癰病(은병), 虛勞夢泄(허로몽설), 手指焦黑斑瘡病(수지초흑반창병) 등의 증상에 다용한다. 열다한소탕과 관련한 최신 연구로는 김²⁴ 등의 『열다한소탕(熱多寒少湯)이 저산소성(低酸素性) 대뇌신경세포(大腦神經細胞) 손상에 미치는 영향(影響)』, 박²⁵ 등의 『열다한소탕(熱多寒少湯) 전탕액(煎湯液)이 Hydrogen Peroxide에 의해 손상(損傷)된 배양(培養) 해마신경세포(海馬神經細胞)에 미치는 영향』 등이 있다. 이를 통해 알 수 있듯이 지금까지의 열다한소탕 연구는 체질에 따른 질환별 증례 보고이거나 대뇌신경세포, 해마와 같은 뇌 기능과 관련된 연구가 주를 이루었고 항비만에 관한 연구는 유¹³ 등의 열다한소탕 추출물이 지방세포로의 3T3-L1 지방전구세포 분화에 미치는 항비만 효과 등이 있다. 열다한소탕은 태음인의 고혈압이나

당뇨병성 질환과 같은 비만 관련 질환의 치료에 널리 사용되어 왔음에도 불구하고 비만 치료에 대한 기전을 연구한 과학적 증거가 충분치 않았다. 이에 저자는 다른 체질에 비해 비만이 될 가능성이 가장 높은 태음인의 간수열리열병(肝受熱裏熱病) 대표 처방인 열다한소탕을 이용하여 고지방 식이로 비만을 유도한 마우스의 체중변화, 식이 효율, 혈청 생화학 검사, 호르몬 단백질량, 간·신장·비장 및 부위별 지방 중량, 간과 부고환 지방세포의 비만관련 유전자 발현, 병리조직학적 분석을 시행하여 열다한소탕의 항비만 효능을 실험을 통해 규명하고자 하였다.

본 연구에서는 정상군(C57BL/6J_Nr) 외 고지방식을 투여한 대조군(HFD-CIL), 고지방식이 투여 후 열다한소탕을 용량별로 각각 200mg/kg (HFD-YDHST 200), 400mg/kg (HFD-YDHST 400), 800mg/kg (HFD-YDHST 800)을 투여한 군으로 나뉘었으며 각 실험군당 마우스는 5마리씩 사용하였고 실험은 6주동안 진행하였다.

먼저 일일 평균 식이 섭취량과 일일 평균 체중 증가량을 통해 식이효율을 구하였다. 대조군(HFD-CIL)에 비해 HFD-HFD-YDHST 200군은 유의성 있는 차이를 보이지 않았고, HFD-YDHST 400 ($p<0.01$)군과 HFD-YDHST 800 ($p<0.001$)군은 식이 효율이 유의하게 감소한 것을 확인할 수 있었다. 식이효율이 낮다는 것은 사료를 섭취하는 양에 비해 체중의 증가가 크지 않다는 것을 뜻하며 이는 비만 조절 효과가 있는 것으로 판단할 수 있기 때문에 식이효율 값을 체중 관리 및 조절의 척도로 사용할 수 있다. 따라서 HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군은 대조군(HFD-CIL)에 비해 식이효율이 낮으므로 이를 통해 열다한소탕이 체중 감량 효과를 가지고 있는 것을 확인할 수 있었다 (Table 4).

실험 시작일과 종료일의 체중을 측정하여 체중 변화를 살펴보았다. 정상군(C57BL/6J_Nr)에서는 시작일 대비 약 25% 증가하였으며, 대조군(HFD-CIL)에서는 약 90%가 증가하였고, HFD-YDHST 200군에서는 약 70% 증가, HFD-YDHST 400군에서는 약 60%가 증가하였으며, HFD-YDHST 800군에서는 약 58%의

증가율을 보였다. 또한 HFD-YDHST 200,400,800 군 모두에서 통계적으로 유의하게 체중 감소 ($p<0.001$)를 보였다. 비만 시 체중의 증가는 지방의 증가, 축적과 관련이 있으므로 체중은 비만을 측정하고 치료하는데 가장 중요한 항목으로 평가되고 있다. 체중 증가에 있어 일반적으로 고지방식이의 섭취는 비만을 유발시킬 수 있는 요인에 영향을 미치며 이는 결국 고지방식이 섭취시 일반 사료섭취시보다 지방 조직의 무게가 증가된다²⁶. 따라서 고지방식이 섭취 후 열다한소탕 투여한 군 모두 체중 감소를 보였다는 것은 열다한소탕이 비만 치료에 효과가 있음을 뜻한다(Table 4).

다음은 혈청 생화학적 검사를 통해 creatinine, ALT, AST, ALP, LDH, glucose, Free fatty acid와 혈장 및 간의 지질함량의 지표인 T-cholesterol, triglyceride, HDL, LDL 값의 변화를 알아보았다. HFD-YDHST 200군의 creatinine 함량이 대조군(HFD-CIL)에 비하여 유의하게 감소($p<0.001$)하였으며, HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군은 유의성을 보이지 않았지만 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 그 수치가 크게 높지 않았다. Creatinine은 근육의 creatine phosphate에서 생성된 대사산물로, 신장에서 배설 후 세뇨관에서 재흡수가 거의 이루어지지 않아 개체 내 일간 변동이 거의 없고 뇨중으로 배설되는 점에서 혈중 creatinine 상승은 신장 기능을 진단하는데 중요한 지표가 된다. 따라서 신장의 배설 기능에 장애가 발생시 혈중 creatinine이 대량으로 늘어나게 된다²⁷. 열다한소탕 투여군 모두 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 creatinine 수치가 크게 늘지 않았으므로 열다한소탕은 마우스에 신장 독성을 일으키지 않는다는 것을 확인할 수 있었다(Table 5).

혈청 중 AST, ALT, ALP의 함량을 분석하여 간독성이 있는지 알아보았다. AST는 대조군(HFD-CIL)에 비해 열다한소탕 투여한 군 모두 상승하였으며 ALT는 대조군(HFD-CIL)에 비해 열다한소탕 투여한 군 모두 감소하였지만 유의성을 보이지 않았다. ALP 함량은 HFD-YDHST 200군이 대조군(HFD-CIL)에 비하여 유의하게 감소 ($p<0.01$)하였으며, HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군은 유의성을 보이지 않았지만 대

조군(HFD-CIL)보다 감소되었다. 혈청 AST, ALT, ALP 효소의 활성도 변화는 간세포의 변성과 괴사가 진행되어 transaminase가 혈중 유리되어 높아짐에 따라 증가하는 것으로 간 조직 손상의 지표가 되며, 그 값이 상승하는 것은 간의 실질세포에 장애가 발생하여 혈중으로 방출이 빨라졌다는 것을 의미한다²⁸. 정상 흰 쥐의 AST, ALT 효소의 활성도는 고지방식이, 간염, 지방간, 간암에서 간 실질 세포의 장애로 증가하는 것으로 보고되어있다²⁹. 따라서 AST, ALT, ALP의 함량이 대조군(HFD-CIL)에 비해 유의하게 감소하거나 증가 폭이 크지 않은 것으로 보아 열다한소당은 간에 독성을 일으키지 않음을 확인할 수 있었다(Table 5).

혈청 내 당대사에 미치는 영향에 대해 알아보기 위해 glucose 함량을 측정하였다. glucose는 혈액 중 당의 공급과 소비로 조절되는 효소로 insulin의 분비가 늘면 glucose의 세포막 투과나 효소계를 촉진하여 glucose를 감소시킨다²⁹. HFD-YDHST 200군의 glucose 함량이 대조군(HFD-CIL)에 비하여 유의하게 감소($p<0.01$)되어 열다한소당이 혈당 강하 효능이 있음을 밝혀내었다(Table 5).

Free fatty acid 함량을 측정한 결과, HFD-YDHST 800군의 free fatty acid 함량이 대조군(HFD-CIL)에 비하여 유의하게 증가($p<0.001$)하였다. 지방 세포에 저장되어 있는 중성지방이 운동을 하면 free fatty acid가 되는데 free fatty acid는 insulin의 작용과 밀접한 관련이 있다. free fatty acid의 수치가 높아짐에 따라 간의 insulin 배출이 감소되고 당신생이 증가하게 되고 고농도의 free fatty acid 일 경우 간세포의 인슐린 작용을 손상시키기도 한다. 또한 free fatty acid의 수치가 높다는 것은 당을 에너지원으로 쓰기보다는 지방을 에너지로 더 많이 쓴다는 것을 의미한다³¹. 따라서 열다한소당 투여함으로써 free fatty acid가 증가하여 체중 감소의 효능이 있음을 확인할 수 있었다(Table 5).

혈청 내 지질대사 효소에 미치는 영향을 알아보기 위해 T-cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 함량을 측정하였다. cholesterol은 동맥경화 등 혈관질환, 갑상선등 내분비질환, 담관폐색, 담즙울

체 등의 간담도계질환 등에서 상승하며, 특히 심·혈관계질환에서 cholesterol 농도가 높을수록 질환 발생률이 상승한다³⁰. 혈청 내 T-cholesterol 함량을 측정한 결과 HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군이 대조군(HFD-CIL)에 비하여 유의하게 감소($p<0.01$)하였으며 HFD-YDHST 800군 역시 T-cholesterol 함량이 유의하게 감소($p<0.001$)하였다(Table 5).

Triglyceride 역시 cholesterol 과 마찬가지로 관상동맥, 심혈관 질환을 일으킬 수 있는 주요한 원인이 되며 비만이 심할수록 그 값이 증가된다²⁹. 또한 Triglyceride 함량이 증가하면 HDL-cholesterol 농도는 낮아진다³⁰. 본 실험에서 열다한소당 투여한 군 모두에서 Triglyceride 함량이 감소하였으며 그 중 HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군이 유의하게 감소($p<0.05$)하였다(Table 5).

HDL-cholesterol은 혈액속의 cholesterol 값을 낮추며 고불포화지방산식이나 고당질식을 섭취할 때와 비만, 고지혈증, 당뇨병 등이 있을 때 저하되며 HDL-cholesterol의 감소는 말초 조직으로부터 cholesterol을 운반하는 능력을 감소시키므로 죽상경화병변을 쉽게 일으킨다²⁸.

LDL-cholesterol은 혈청 cholesterol의 약 60~75%가 LDL-cholesterol로 이동되기 때문에 LDL-cholesterol은 cholesterol의 농도와 직접 관련되어 있다. 따라서 고농도의 LDL-cholesterol은 관상동맥성 심장병을 일으킬 위험 요인이 된다. 비만도와 LDL-cholesterol 농도는 양의 상관관계이며, 특히 고지방식이의 투여는 LDL-cholesterol 농도를 뚜렷하게 높인다³¹. 혈청 내 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 함량을 측정한 결과, HFD-YDHST 200군의 HDL-cholesterol ($p<0.05$), LDL-cholesterol ($p<0.01$)과 HFD-YDHST 800군의 LDL-cholesterol 함량이 대조군(HFD-CIL)에 비해 유의하게 감소($p<0.01$)하였다. HDL-cholesterol은 열다한소당의 투여 용량이 클수록 증가하는 경향을 보인 반면 LDL-cholesterol은 용량과의 상관관계를 찾을 수 없었다. T-cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 은 고지혈증을 진단하는데 중요한 지표가 되며, 위의 결과를 통해 열다한소

탕은 고지혈증의 치료 및 예방에 효과가 있음을 확인할 수 있었다(Table 5).

Leptin은 식욕을 조절하는 단백질로서 에너지가 과잉 축적될 경우 영양 상태에 비례하여 지방 세포에서 분비되며 비만의 지표로 사용될 수 있다. 비만한 사람들은 대부분 leptin의 농도가 증가되어 있다고 보고되고 있다. Leptin의 혈청 농도는 지방 세포량과 밀접한 관련이 있으며 뇌의 시상하부에 있는 수용체와 결합하여 식이섭취를 감소시켜 체중과 체지방을 감소시키는 역할을 한다³². 혈중 leptin의 발현량을 분석한 결과 열다한소탕 투여한 군은 모두 대조군(HFD-CTL)에 비하여 leptin의 발현량이 감소하였고, 그 중 HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군이 유의하게 감소 ($p<0.05$)하였다. 따라서 열다한소탕의 투여로 혈청 leptin 농도가 감소한 것은 비만 유발 마우스의 지방 조직량 및 체중의 감소에 기인한 것으로 판단된다(Table 5).

IGF-1은 성장 호르몬 의존성으로 간, 중추신경, 근육 등 여러조직에서 합성되며 혈액중의 IGF-1는 그 유래가 간에서 생산된 것으로 IGF-1 결합 단백질에 결합된 형태로 존재하며 비만인 경우 내장지방에서의 Adiponectin 생산이 감소하고 높아진 insulin에 의해 IGF-1 활성이 높아진다³³. 혈중 IGF-1의 발현량을 분석한 결과 열다한소탕 투여한 군은 모두 대조군(HFD-CTL)에 비하여 IGF-1의 발현량이 감소하였고, 그 중 HFD-YDHST 200군과 HFD-YDHST 400군이 유의하게 감소 ($p<0.001$)하였다. 이는 열다한소탕의 투여로 비만 지수가 감소하여 혈중 IGF-1의 발현량이 감소한 것으로 사료된다(Table 5).

Adiponectin은 지방조직에서 생성되어 비만을 억제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 근육과 간장 조직에서 insulin의 민감성을 높이며, Leptin과 insulin 민감도에 있어 상반되는 역할을 한다. 지방의 산화를 높여서 체중을 줄이는 역할을 수행한다. 따라서, 비만할 경우 Adiponectin은 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 농도가 감소한다³⁴. 혈중 Adiponectin의 발현량을 분석한 결과 열다한소탕 투여한 군은 모두 대조군(HFD-CTL)에 비하여 Adiponectin의 발현량이 증가하였고, 그 중

HFD-YDHST 800군이 유의하게 증가 ($p<0.05$)하였다 (Table 5).

HFD-YDHST 200군의 복부피하지방 ($p<0.001$), 신장 ($p<0.001$), 창자주변 ($p<0.01$) 지방의 감소가 유의성을 보였으며 HFD-YDHST 400군은 복부피하지방 ($p<0.01$)이 유의하게 감소하였다. HFD-YDHST 800군은 복부피하지방 ($p<0.01$), 부고환($p<0.01$), 신장 ($p<0.001$), 창자주변 ($p<0.01$)의 지방 중량이 모두 유의하게 감소하였다(Figure 1a). 장기 무게의 변화에 대해 알아보기 위해 간, 신장, 비장의 중량을 산출하였다. 본 실험에서는 HFD-YDHST 200군의 간($p<0.001$), 신장 ($p<0.01$), 비장 ($p<0.05$)의 중량 감소가 유의성을 보였으며 HFD-YDHST 400군은 간 ($p<0.01$), 비장 ($p<0.01$)이 유의하게 감소하였다. HFD-YDHST 800군은 간 ($p<0.001$), 비장 ($p<0.05$)의 지방 중량이 유의하게 감소하였다. 이러한 결과로 볼 때 열다한소탕은 비만 마우스의 체지방을 감소시키는 것으로 사료된다(Figure 1b).

간 조직내 유전자 발현 검사를 통해 AP2/FABP4, AMPK- α 1, UCP2, Adiponectin, AMPK- α 2, PPAR- γ mRNA 발현량을 분석하였다. 그 결과, HFD-YDHST 200군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 AMPK- α 1 ($p<0.05$), UCP2 ($p<0.05$), Adiponectin mRNA ($p<0.05$) 값이 유의하게 증가하였으며 HFD-YDHST 400군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 AMPK- α 1 mRNA ($p<0.001$) 값이 유의하게 증가하였고, AP2/FABP4 ($p<0.05$), AMPK- α 2 ($p<0.05$), PPAR- γ mRNA ($p<0.05$) 값이 유의하게 감소하였다. 또한 HFD-YDHST 800군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 AMPK- α 1 ($p<0.05$), UCP2 mRNA ($p<0.001$) 값이 유의하게 증가하였고, AMPK- α 2 ($p<0.01$), PPAR- γ mRNA ($p<0.05$) 값이 유의하게 감소하였다. 지방세포 유전자 조절부위에 전사 활성 인자가 활성화 되어야 지방전구 세포에서 성숙한 지방세포로의 분화가 이루어진다. 지방세포의 분화를 조절하는 전사인자에는 AP2/FABP4, PPARs mRNA 등이 있다. 분화 초기과정의 대표적인 발현 유전자는 C/EBP β , 중기에는 PPAR γ , CEBP α , 후기 유전자는 FABP4, AP2 등의 유전자가 있다³⁵.

대표적 비만 전사 인자인 AP2/FABP4 mRNA는 HFD-YDHST 400군이 대조군(HFD-CTL)에서 유의하게 감소 ($p < 0.05$)하였다(Figure 2).

AMPK mRNA는 인슐린 저항성을 개선하는 인자로서 주목받고 있으며 활성화된 AMPK는 지방과 콜레스테롤 합성과 같은 ATP 소비경로를 차단하면서, 당분해나 지방산 산화와 같은 ATP 생성경로를 활성화시키는 것으로 알려져 있다. 특히 지질 대사와 관련하여 단백질 인산화를 통해 ACC 효소 활성을 억제함으로써 지방산 산화 증가에 따른 체지방 감소에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다³⁶. AMPK- $\alpha 1$ mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 열다한소탕 투여한 군 모두 대조군(HFD-CTL)에 비해 그 발현량이 증가하였으며 HFD-YDHST 200 ($p < 0.05$)군, HFD-YDHST 400 ($p < 0.001$)군, HFD-YDHST 800 ($p < 0.05$)군의 값을 각각 가지며 유의하게 증가하였다. AMPK- $\alpha 2$ mRNA 유전자 발현의 경우, HFD-YDHST 200군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 AMPK- $\alpha 2$ mRNA의 발현량이 증가하였으나 HFD-YDHST 400 ($p < 0.05$)군과 HFD-YDHST 800 ($p < 0.01$)군은 대조군(HFD-CTL)에 비해 AMPK- $\alpha 2$ mRNA의 발현량이 유의하게 감소하였다(Figure 3a,3b).

미토콘드리아 내막에 존재하는 UCP mRNA는 미토콘드리아에서 산화적 인산화과정에 의해 발생된 proton을 ATP 대신 열로 발생시켜 에너지 소비율을 증가시키는 단백질로, UCP mRNA의 발현은 체지방 생성을 억제하고 비만을 조절하는 역할을 하는 것으로 확인되었다³⁶. UCP2 mRNA는 주로 백색지방조직에서 발견된다³⁶. 열다한소탕 투여한 군 모두 대조군(HFD-CTL)에 비해 UCP2 mRNA의 발현량이 증가하였으며 그 중 HFD-YDHST 200 ($p < 0.05$)군과 HFD-YDHST 800 ($p < 0.001$)군이 유의하게 증가하였다(Figure 4).

지방세포에서만 특이적으로 분비되는 adipocytokine 중 가장 대표적인 Adiponectin, leptin mRNA는 서로 상반되는 역할을 한다. Adiponectin mRNA는 포도당의 세포내 유입을 촉진하며 Insulin 민감도를 증가시키는 것으로 알려져 있다³⁷. 간의 Adiponectin mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 열다한소탕 투여한 군 모

두 대조군(HFD-CTL)에 비해 Adiponectin mRNA의 발현량이 증가하였으며 그 중 HFD-YDHST 200군이 유의하게 증가 ($p < 0.05$)하였다(Figure 5).

지방세포 분화의 핵심 조절인자인 PPARs mRNA는 주로 백색지방 조직에 존재하며 지방세포의 대사와 분화에 중요한 조절을 하는 nuclear hormone receptor superfamily이다. PPARs mRNA는 Leptin mRNA의 발현을 감소시켜 지방분해와 지방산 산화를 제한하고 지방조직의 생성을 촉진한다³⁸. 간의 PPAR- γ mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 HFD-YDHST 400군과 HFD-YDHST 800군이 대조군(HFD-CTL)에 비해 PPAR- γ mRNA의 발현량이 유의하게 감소 ($p < 0.05$)하였다(Figure 6).

부고환 지방세포의 유전자 발현 분석을 통해 AP2/FABP4, UCP2, Leptin, PPAR mRNA 발현량을 측정하였다. 그 중 UCP2 mRNA가 HFD-YDHST 800군에서 대조군(HFD-CTL)에 비해 발현량이 유의하게 증가 (** $p < 0.01$)하였다. 이상의 결과를 통해 열다한소탕 투여가 간과 부고환 지방 세포에서의 비만관련 유전자 발현에 유의한 결과를 끼친다는 사실을 확인하였다(Figure 7).

간과 부고환 지방세포의 병리조직학적 분석 결과, 정상군(C 57BL/6J_Nr)에 비해 대조군(HFD-CTL)의 거대세포성 지방세포와 회색지방축적세포들이 눈에 띄게 보였다. 열다한소탕 투여군은 모두 대조군(HFD-CTL)에 비해 거대세포성 지방세포와 회색지방축적세포들의 현저한 개선이 보였다. Adipocytes area는 부고환의 지방을 이용하여 측정하였으며 그 결과 열다한소탕 투여한 군 모두 대조군(HFD-CTL)에 비해 Adipocytes area 크기가 유의하게 감소 ($p < 0.001$)하였다. 고지방식이를 투여한 비만 마우스는 거대세포성 지방세포 크기가 커졌으며 열다한소탕은 커진 지방세포 크기를 감소시키는데 효과를 나타내었다. 이 결과를 통해 지방세포의 크기가 커지는 비대형 비만에 열다한소탕을 치료제로 사용할 수 있음을 확인할 수 있었다(Figure 8,9).

이상의 연구를 통해 열다한소탕의 체중증가 억제

효과. 식이효율 감소 효과와 함께 creatinine, glucose, ALP, Free fatty acid, T-cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 등의 혈청 검사에서 유의한 결과를 얻었다. 또한 혈중 호르몬 단백질 검사를 통해 Leptin, IGF-1, Adiponectin 값의 유의한 변화를 알게 되었고 복부피하지방, 부고환, 신장, 창자주변의 체지방이 감소하는 것과 간, 신장, 비장의 무게가 감소하는 것을 확인하였다. 간과 부고환 지방세포의 비만 관련 유전자 발현 검사를 통해 몇몇 유전자의 유의한 변화에 대해 알 수 있었고 마지막으로 간과 부고환 지방세포의 조직검사를 통해 지방 세포 크기의 감소를 확인하였다. 지금까지 비만의 치료제로 사용된 양방 약은 효과가 좋은 반면 다양한 부작용을 가지고 있었다. 그러나 이번 실험을 통해 밝혀진 열다한소탕의 효능은 AP2/FABP4, AMPK- α 1, UCP2, Adiponectin, AMPK- α 2, PPAR- γ mRNA 등의 유전자 발현을 조절하고 Leptin, IGF-1, Adiponectin 등의 혈중 호르몬 단백질 양에 영향을 줌으로써 항비만 작용을 조절하였다. 열다한소탕을 투여한 모든 군에서 유의한 결과를 보였던 AMPK- α 1 mRNA는 대사 스트레스 및 ATP 결핍에 반응하는 대사 경로를 조절하여 지방산 및 콜레스테롤의 합성과 같은 에너지 고갈 과정을 차단하는 역할³⁶⁾을 하며 UCP2 mRNA는 에너지 균형을 조절하는 역할을 하는 등 열다한소탕이 에너지 소모 기전에 관여하여 체중을 조절하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 열다한소탕은 비만 관련 호르몬인 Leptin과 Adiponectin, IGF-1 등을 유의하게 변화시켰는데 이는 체내 에너지 대사를 능동적으로 조절하여 음식 섭취의 감소 및 에너지 소비를 증가시킴으로써 항비만 작용을 조절하는 역할³⁹⁾을 하는 것으로 사료된다. 또한 비만은 간 기능과 관련이 깊는데 간대폐소의 특징을 가진 태음인의 특성상 간이 기능적으로 발달되어 있다. 앞서 살펴본 바와 같이 UCP2 mRNA는 간에 존재하며 조직내에 축적된 중성지방을 지방산으로 분해한다⁴⁰⁾. AMPK mRNA는 간에서의 지방산 산화를 돕고 인슐린 감수성을 증가시켜 항비만 작용을 하는 Adiponectin mRNA의 작용을 나타낸다³⁶⁾. 인슐린 민감도를 조절하여 지

방의 산화를 높여 체중을 조절하는 혈청 Adiponectin 역시 간에서 역할을 수행한다³⁷⁾. 또한 열다한소탕은 비만으로 인해 증가된 간 무게를 감소시키고 지방세포의 분화를 억제하고, 중성지방의 분해를 촉진하여 고지방식이로 인해 지방간으로 진행되는 것을 억제하였다. 이에 열다한소탕은 태음인 간수열리열병(肝受熱裏熱病)에 사용하여 태음인 간대폐소의 생리적 기능을 도와 항비만 작용을 하는 것으로 사료된다. 따라서 양방약의 부작용을 최소화할 수 있는 대체 치료제로서 태음인 체질을 가진 비만 환자에게 적극적으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

하지만 본 연구에서는 실험을 진행한 개체수가 한정되어 있으므로 비만인을 대상으로 한 임상 시험으로의 연계가 추가적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다. 또한 기전 연구 및 양성 대조군(HFD-CITL)인 양방 비만 치료제와의 비교 등에 관해 향후 지속적이고 다양한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

고지방 식이로 비만을 유도한 후 YDHST를 용량별(200,400,800mg/kg)로 투여한 마우스에서 체중변화, 식이효율, 혈청 생화학적 검사, 혈중 단백질 검사, 부위별 지방 중량, 장기별 중량, 간과 지방조직의 유전자 발현 검사, 병리조직학적 검사 등을 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. YDHST군은 대조군(HFD-CITL)에 비해 식이 효율이 유의하게 감소하였다.
2. YDHST군은 대조군(HFD-CITL)에 비해 체중 증가를 유의하게 억제하였다.
3. YDHST군은 대조군(HFD-CITL)에 비해 creatinine, glucose, ALP, T-cholesterol, Triglyceride, 4. LDL-cholesterol 값이 유의하게 감소하였고, Free fatty acid, HDL-cholesterol 값은 유의하게 증가하였다.
5. YDHST군은 대조군(HFD-CITL)에 비해 Leptin,

IGF-1 값이 유의하게 감소하였고 Adiponectin 값이 유의하게 증가하였다.

6. YDHST군은 대조군(HFD-CIL)에 비해 복부피하 지방, 부고환, 신장, 창자주변의 지방이 유의하게 감소하였으며 간, 신장, 비장의 지방이 유의하게 감소하였다.
7. 간의 유전자 발현 검사 결과 YDHST군은 대조군(HFD-CIL)에 비해 AMPK- α 1, UCP2, Adiponectin mRNA 값이 유의하게 증가하였으며 AP2/FABP4, AMPK- α 2, PPAR- γ mRNA 값이 유의하게 감소하였다.
8. 부고환 지방 세포내 유전자 발현 검사 결과 YDHST군은 대조군(HFD-CIL)에 비해 UCP2 mRNA 값이 유의하게 증가하였다.
9. 병리조직 분석 결과 YDHST군의 간 조직과 부고환 주변 지방조직의 지방세포 크기 증가가 억제되었다.

이상의 결과는 YDHST이 고지방사료로 비만을 유도한 마우스의 항비만 작용에 효과가 있음을 나타내며 향후 비만의 예방과 치료에 유용하게 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

VI. Acknowledgement

상기 연구는 미래창조과학부 ‘체질 특성에 따른 대사성 질환의 치료 약물 및 기기 임상 연구’(과제번호:2015M3A9B6028311)의 지원을 받아 수행되었음.

VII. References

1. Seoul National University. endocrinology. Seoul: Seoul national university press. 2006:425-445, 491-495.(Korea)
2. Yoon NH, Kwon SM. Impact of Obesity on Health Care Utilization and Expenditure. The Korean Journal of Health Economics and Policy. 2013;19(2):62.(korea)
3. Min HK. Clinial endocrinology. Seoul: KOMB. 1990:476-477, 479, 482-486.(Korea)
4. Eugenia E, Micahel J, Jennifer M, Carmenrodrigue Z. Body mass index and mortality in a prospective cohort of US adults. N Engl J Med. 1994;341(51):1097-105.
5. Park SW, Cho CS, Kim CJ. Effect of Yagwan-cheunghyeoltang on Obesity in Rats Induced by High Fat Diet. Korean J. Orient. Int. Med. 2011;32(2):170-187. (Korean)
6. Whang EY, Hong JH, Choi JH et all. Study on Anti-obesity and Hypoglycemic Effects of Lycium chinense Mill Extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2009; 38(11):1528-1534.(Korean)
7. Kim DR. A study on 4 type constitution and sife character of obese patients. J of Sasang Constitutional Medicine.1997;9(1):303-13.(Korea)
8. Lee HS, Ahn TW. Anti-aging and anti-oxidative effect of Gongjinhugwon-dan in early stages of aging rats. J Sasang Constitut Med. 2007;19(3):242-256.(Korea)
9. Lee JM. Dongeuisoosebowonsasangbonchokwon. Seoul: Eulyumoonhwasa. 2002:27-278.(Korea)
10. Bas NY. Neuroprotective effect of modified Yeoldahanso-tang via autophagy enhancement on Parkinsonian model. Graduate School of Daejeon University Master's thesis. 2011:1-110.(Korea)
11. Choi JW, Jang MH, Ahn TW. A Case Study of Parkinson's Disease Patient Treated with Yuldahanso-tang gagam. J Sasang Constitut Med 2012;24(3): 104-113.(Korea)
12. Kim ST, Choi AR, Koo DM. A Case Report of Herpes Zoster in Tae-eumin Improved with Yeoldahanso-tang. J of Sasang Constitutional Medicine. 2012;24(2):71-77. (Korea)
13. You SR, Jung SJ, Shin HK. Effects of Yeoldahanso-tang, a Sasang Constitutional Herbal Prescription for

- Taeumin, on the Adipogenesis in 3T3-L1 Cells. *J Sasang Constitut Med.* 2012;24(3): 75-80.(Korean)
14. WHO. Obesity and overweight. Retrieved Oct. 19, 2012, from [http : //www.who.int/mediacentre/factsheets/ fs311/en](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en).
 15. Han SC, Cha SW, Suh JE, Suh KH. Original Article s : Single Oral Dose Toxicity of a New Salt of Sibutramine, Sibutramine Mesilate Hemihydrate, in Rats and Beagle Dogs. *The Korean J Lab Anim Sci.* 2004;20(4):409-18.(Korea)
 16. Doo HK. *oriental nephrology.* Seoul: Seungbosa. 2003: 1265-1281.(Korea)
 17. Oeng YY, Cho DH. *Practical chinse medicine of obesity epidemic.* Beijing :Hakwonpublisher. 1997:6-7, 34-39, 142-143.(Korea)
 18. Jin MG, Jin GW. *Chinse medicine of hyperlipidemia.* 北京:中醫古籍出版社. 1988:9-20.(Korea)
 19. Kim DH. *Huang Di Nei Jing Yeongchu.* Seoul: Uiseongdang. 2002:1120.(Korea)
 20. Lee GJ. *Effects of Taeyeumjowee-tang on the obesity of mouse and induced adipocyte 3T3- L1.* Graduate School of WON KWANG University Master's thesis. 1996.(Korea)
 21. Park SM, An IS, Kim DS et all. *Anti-obesity Effects of Tae-Um-Jo-Wee-Tang and Do-Dam-Tang in Female Rats with Diet-induced Obesity.* *J. Appl. Biol. Chem.* 2010;53(1):44-50.(Korea)
 22. Choi JY. *Elucidation of antiobesity function of an oriental herb medicine "Taeumjowuitang" in an obesity animal model.* Graduate School of Daejeon University Master's thesis. 2015:1-125.(Korea)
 23. Cho SW, Bang SS. *Effects of Taeyeumjowee-tang on Loss in Body Weight, Plasma Lipids and UCP I Revelation of Fated White Rats.* *J Korean Oriental Med.* 2004;25(2):87-97.(Korea)
 24. Kim YS, Bae YC, Lee SM et all. *Influence of Yeoldahanso-tang on the Hypoxic Damage of Cultured Cerebral Neurons from Mouse and SK-N-MC cells.* *Journal of Sasang Constitutional Medicine.* 2003;15(1):72-89. (Korea)
 25. Park HS, Kim KY, Ko GD. *Effects of Yuldahansotang water extract on Cultured Primary Hippocampal Cell Culture Damaged by Hydrogen Peroxide.* *Journal of Sasang Constitutional Medicine.* 2002;14(1):77-89. (Korea)
 26. DiGirolamo M, Fine JB, Tagra K, Rossmanith R. *Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum.* *Am J Physiol.* 1998;274:1460-1467.
 27. *Seoul Clinical Laboratory. SCL inspection manual (2007).* (Korea)
 28. Lee KN, Kwon OH. *clinical pathology file.* Seoul: the cultural history of medicine. 2003: 155-160, 334-337, 345-347.(Korea)
 29. Shin W, Lee KR. *The effect of aerobic exercise on insulin resistance and free fatty acids of impaired fasting glucose in middle aged women.* *The Journal of Korea Society for Wellness.* 2013;(8)4:337-345.(Korea)
 30. Goldberg IJ. *Lipoprotein lipase and lipolysis : central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis.* *J Lipid Res.* 1996;37(4):693-707.
 31. Lee WJ, Hong SS, Joe KC, Kim WJ, Hong KH, You KJ, et all. *Lee woojoo's pharmacology lecture.* 3edition. Seoul: the cultural history of medicine. 1993: 411-416.(Korea)
 32. Havel PJ. *Role of adipose tissue in body-weight regulation:mechanism regulating leptin production and energy nalance.* *proc Nutr Soc.* 2000; 59(3):359-371.
 33. Kim JS, Park JH, Cho HS et all. *Effect of YGF251 on Secretion of IGF-1 in Human Blood.* *Korean J. Biotechol. bioENG.* 2002;17(4):403-408.(Korea)
 34. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. *Serum immunor-*

- ective-leptin concentrations in normal-weight and obese mans. *N Engl J Med.* 1996 ; 334(5) : 292-295.
35. Seo EY. Effects of (6)-gingerol, ginger component on adipocyte development and differentiation in 3T3-L1. *Journal of Nutrition and Health.* 2015; 48(4): 327-334. (Korea)
36. Jin NS. Effects of treadmill exercise on plasma leptin levels and uncoupling protein mRNA expression in skeletal muscle and adipose tissue in obese rats. Graduate School of Hannam University Master's thesis. 2009:1-58.(Korea)
37. Lee YH. Correlation of Gene Expression between Adiponectin and Glucose Transporter 4 in mouse Adipose Tissue. *Journal of Life Science.* 2014;24(8): 930-933.(Korea)
38. Nakagami H, Morishita R. Obesity and gastrointestinal hormones-dual effect of angiotensin II receptor blockade and a partial agonist of PPAR- γ . *Curr Vasc Pharmacol.* 2011;9(2):162-166.
39. Ahina, R.S.& Flier,J.S. Leptin. *Annu Rev Physiology.* 2000;62:413-437.
40. Jin NS. Effects of treadmill exercise on plasma leptin levels and uncoupling protein mRNA expression in skeletal muscle and adipose tissue in obese rats. Graduate School of Hannam University Master's thesis. 2009:1-58.(Korea)