

원 저

고지방 식이를 섭취한 흰쥐에서 마황의 메탄올 추출물이 체지방조직 세포에 미치는 영향

임경아, 박용구¹⁾, 조여원

경희대학교 동서의학대학원 임상영양전공, 경희대학교 의과대학 해부병리학교실¹⁾

Effects of Methanol Extract of *Ma-huang* on Adipocyte of Epididymal Fat in Rat Fed High Fat Diet

Kyung-Ah Lim, Yong-Koo Park¹⁾, Ryo-won Choue

Department of Medical Nutrition, Graduate School of East-West Medicine, Kyung Hee University,
Department of Pathology, College of Medicine, Kyung Hee University¹⁾

Objectives : *Ma-huang* is a traditional Chinese medicinal herb, derived from *Ephedra sinica Stapf* and other *Ephedra* species, used to treat asthma, nose and lung congestion, and fever with anhidrosis. It contains 0.5-2.5% by weight of total alkaloids, of which ephedrine accounts for 30 to 90%. Recently, *Ma-huang* has been used as a source of ephedrine in many dietary supplements formulated for the treatment of obesity, since ephedrine has been found to be effective in inducing weight loss in the obese. In this study the effects of the methanol extract of *Ma-huang* on the adipocyte of epididymal and brown fat pads in rats fed a high fat diet for six weeks were studied.

Methods : Male Sprague Dawley rats weighing an average 94g (4 weeks old) were fed either a regular diet (RE) or a high fat diet (HF), and the HF group was subdivided into a *Ma-huang* methanol extract (30mg/100g body weight) group (HF+MH). The weight of epididymal fat pad and brown adipose tissue were measured. The cell size and cell number per unit area of epididymal fat pad were investigated.

Results : The yield weight of methanol extract of *Ma-huang* was 3.63mg per 100g of *Ma-huang*. The body weight gain of the HF group was similar with that of the HF+MH but higher than that of the RE. The weights of the epididymal fat pads and brown adipose tissue of the RE group were lower than those of HF and HF+MH groups. The cell sizes and numbers per unit area of epididymal fat pads of the RE and HF+MH groups were larger than those of HF group. The cell numbers per unit area size of epididymal fat pads were the smallest in the RE group.

Conclusions : It could be concluded that the *Ma-huang* extract has no effect on the epididymal fat pads in rats fed a high fat diet and the clinical application of *Ma-huang* for the treatment of obesity should be re-considered. (*J Korean Oriental Med* 2001;22(3):74-80)

Key Words: *Ma-huang*, ephedrine, high fat diet, epididymal fat pads, cell size

· 접수 : 2001년 5월 25일 · 채택 : 7월 4일
· 교신저자 : 조여원, 경희대학교, 서울시 동대문구 회기동 1
번지
(Tel. 02-961-0769, Fax. 02-965-8904, E-mail:
rwcho@khu.ac.kr)

· This work was supported by Grant No. 2000-0-220-012-2 from the Basic Research Program of the Korea Science & Engineering Foundation.

서 론

마황은 *Ephedra sinica Stapf*(마황과 *Ephedraceae*)의 지상부를 건조한 생약으로, 한의학에서는 발한, 해

열, 진해, 항염, 순환기 질환에 적용하여 왔다. 마황의 약리작용에 관하여는 많은 보고가 있으며 대부분은 ephedrine계 알칼로이드에 의한 것으로 중추흥분작용, 교감신경작용, 항염증작용 및 혈압 상승작용 등이 보고되었다^{1,2)}. 마황 전초에는 ephedrine, pseudoephedrine, *l*-N-methylephedrine, *d*-N-pseudomethylephedrine, *l*-norephedrine, *d*-methylpseudo ephedrine 등이 함유되어 있으며³⁾, 그 외에도 정유성분으로 1- α -terpineol, nonacosanol, nonacosane, triacntanol 등도 포함되어 있다. Nawwar 등⁴⁾에 의해 *p*-coumaric acid, (\pm)-syringaresinol, nilocitrin도 확인되었으며, Konno 등⁵⁾은 마황 중에서 hypoglycemic activity를 가지는 ephedrine A, B, C, D, E의 존재를 보고한 바 있다.

동양의학에서는 비만에 관한 기록이 많지 않으나 비만은 “年質壯大하고 血氣充盈하고 膚革堅固 한 것이 肥人”이라고 최초로 內經에 기재된 이후 현대에는 비만증 혹은 비방이라고 칭하고 있다. 비만의 원인에 대해서는 氣虛, 多濕, 多痰 등으로 알려져 있으며, 동의보감에서는 습과 담이 熱에 의하여 발생되며 또한 유발할 수 있는 매개체가 되므로 습담과 열은 상호 원인과 결과라는 관계를 갖는 병리적 기전을 갖는다고 하였다.

동양의학에서의 熱이라는 개념이 서양의학의 열생산(thermogenesis) 원리와 유사점을 가진다는 것에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다. 특히, 동양의학에서 비만 치료제로 쓰이고 있는 본초 중에 땀을 내어 치료하는(發汗解表) 대표적인 본초인 마황에 대한 효과를 검증한 바가 없다.

한의학에서 마황(麻黃)은 감기증후군의 초기 오한을 개선하는 주요한 생약이다. 마황에는 각종 경험적 효능(약능)이 상정되어 있는데, 기본적으로는 그 약성(藥性)이 『온(溫)』하므로 표한증을 『산한(散寒)』시키는 데 사용되어온 약물이다. 이 약능은 마황당과 갈근당을 시초로하는 『신온해표제』에 관련된 것이고 그 일부는 마황에 함유된 ephedrine의 adrenaline 양작용(교감신경흥분작용)으로 뒷받침할 수 있다. 또한 마황은 마황당, 마황감석탕(가상백피·오호탕), 소청룡탕, 신비탕 등 해수(咳嗽)를 목적으로 사용하는 처방

에 배제(配劑)되어 있는 점에서 선편평천(宣肺平喘)이라는 약능이 상정되어 있다. 이것이 일본한방에서 있어서 상한론 처방의 임상경험에서 배제생약의 효능으로 도출된 『마황주지천해수기야 (麻黃主治喘咳嗽氣也)』라는 약징(藥徵)의 약능론에 해당한다. 이 약능은 ephedrine의 기관지평활근(氣管支平滑筋)에 대한 β -작용과 항 알레르기작용으로 설명할 수 있다.

Buermann 등⁶⁾은 비만 환자들의 체중감량을 위하여 ephedrine과 caffeine을 혼합하여 복용시킨 결과 beta-adrenergic 수용체의 활성상승에 의한 식욕감퇴와 지방조직에서의 에너지 소비증가를 보고하였다. 조 등⁷⁾은 마황의 에탄올 추출물이 체장의 cholesteryl esterase 활성을 저해하고 고 콜레스테롤혈증이 유도된 쥐의 소장에서 콜레스테롤의 흡수를 저해함으로써 고지혈증 또는 동맥경화증을 예방할 수 있는 가능성을 보고하였다. 한편, 미국 식품의약국(FDA)에서 ephedrine이 함유된 건강 보조제의 부작용 사례를 보고한 후 체중 감소를 목적으로 ephedrine을 함유한 건강보조 식품의 안정성에 대한 논란이 제기되고 있다.

본 연구에서는 고지방 식이를 섭취시킨 쥐에서 마황의 메탄올 추출물의 투여가 지방조직의 세포에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험동물은 체중이 80-85g 정도 되는 Sprague-Dawley종 수컷을 Charles River Japan (C&H Korea, Japan)으로부터 구입하여 사용하였다. 실험쥐들을 일주일 동안 동물 사육실에서 배합사료로 적응시킨 후 난괴법에 의해 그룹 당 8마리씩 나누었으며 실험기간 동안 개별 cage에서 사육하였다. 사육장 온도는 22±2℃, 습도는 40-60%로 유지하였고 명암은 12시간(08:00-20:00)을 주기로 조명하였다.

2) 식이조성

일반식이 군은 Purina 고행 쥐사료(USA)를 공급하였고, 고지방 식이 군은 고지방 사료(Harlen, TD

94095, USA)로 6 주간 공급하였다. 일반식이와 고지방식이의 kg당 구성의 내용과 분량은 표 1과 같다 (Table 1).

2. 방법

1) 검액의 조제

본 실험에 사용된 마황은 2000년도 7월에 한약 건재상(경도물산, 서울)에서 구입하여 사용하였다. 마황 100g을 세절하여 85% 메탄올을 가한 후 1시간 동안 ultrasonic bath에서 1시간동안 처리한 후 메탄올 추출액을 얻었다. 이 과정을 4회 반복하고 여기서 얻은 메탄올 추출액을 rotary evaporator를 이용하여 농축한 후 동결건조 하였다.

2) 실험 군에서의 검액 투여

일반식이군은 사료 무게의 10%(열량의 21.2%)를 지방(옥수수유)으로 공급하였다. 고지방식이 군은 사료 무게의 30%(열량의 51.2%)를 지방으로 공급하였다. 고지방식이군을 두 군으로 나누어 마황이 지방세포에 미치는 영향을 알아보고자 한 군에 마황의 메탄올 추출물을 공급하였다. 따라서 실험동물 8 마리씩을 일반식이 군(RE 군), 고지방식이 군(HF 군), 고

지방식이+마황추출물 군(HF+MH 군)으로 나누었다. 마황의 메탄올 추출물은 체중 100g당 30mg을 2.0ml의 식염수에 용해하여 1일 1회 6주간 경구 투여하였다.

3) 식이 섭취량 및 체중 증가량

식이 섭취량은 매일 같은 시각에 측정하였고 전날 채워 두었던 사료통의 무게에서 그날의 무게를 뺀 값으로 섭취량을 계산하였다. 체중은 일주일에 한번 씩 같은 시각에 측정하였고 식이 섭취로 인한 갑작스러운 체중의 변화를 막기 위하여 체중측정 2시간 전에 사료통을 제거하였다.

4) 부고환지방 세포의 염색

실험개시 6주 후에 각 군의 실험동물 중 6 마리씩을 무작위로 선정하여 chloroform으로 가볍게 마취한 후 부고환지방을 적출하여 Bouin's solution에 8시간 고정하고 에탄올로 충분히 세척한 후 paraffin으로 고정하여 6µm 두께의 조직절편을 만들어 2% aqueous aniline blue 염색을 시행하였다.

5) 지방세포 평균면적 및 크기별 개수의 측정

염색된 부고환 지방 조직을 광학 현미경(100배)과 컴퓨터 영상분석기(Image Analysis System, µFG

Table 1. Composition of Experimental Diets

(g/kg diet)

Ingredients	Regular diet	High fat diet
Cascin	260.0	260.0
DL-Methionine	3.9	3.9
Sucrose	261.7	161.7
Corn starch	260.0	160.0
Beef Tallow	-	300.0
Corn oil	100.0	-
Cellulose	50.0	50.0
Mineral mixture, AIN-76 ¹⁾	45.5	45.5
Calcium Carbonate	3.9	3.9
Vitamin mixture, Teklad ²⁾	13.0	13.0
Choline Dihydrogen citrate	2.0	2.0
Total amount (g)	1000.0	1000.0
Gross energy content (kcal/kg)	4239.6	5242.4

¹⁾ Mineral mixture : The mixture provides per kg of diet calcium phosphate · dibasic, 500.0g; Sodium chloride, 74g; Potassium citrate · monohydrate, 220.0g; Potassium sulfate, 52.0g; Magnesium oxide, 24.0g; Manganous carbonate, 3.5g; Ferric citrate 6.0g; Zinc Carbonate, 1.6g; Cupric carbonate, 0.3g; Potassium iodate, 0.01g; Sodium selenite, 0.01g; Chromium potassium sulfate, 0.55g; Sucrose, finely powdered to make 1,000

²⁾ Vitamin mixture : The mixture provides per kg of diet Thiamin · HCl, 600mg; Riboflavin, 600mg; Pyridoxine · HCl, 700mg; Nicotinic acid, 3g; D-Calcium pantothenate, 1.6g; Folic acid, 200mg; D-Biotin, 20mg; Cyanocobalamin, 1mg; Retinyl acetate, 400,000 I.U.; dl-α-Tocopherol 5,000 I.U.; Cholecalciferol, 2.5mg; Menquinone, 5mg; Sucrose, finely powdered to make 1,000g

window BioQuant®, U.S.A)을 이용하여 세포면적이 1,000 μm^2 이하인 것과 6,000 μm^2 사이를 7단계로 구분하여 크기별 개수를 측정하고 각 그룹간의 차이를 구하였다.

6) 통계 분석

본 실험의 모든 실험 값은 Statistical Analysis System(SAS, Co, 1998)을 이용하여 one way analysis of variance로 분산 분석하였으며, 각 평균간의 유의성은 Duncan's multiple range test로 실시하였고, 모든 유의성 검정은 $P < 0.05$ 수준에서 비교하였다.

실험결과 및 고찰

1. 식이 섭취량, 체중 및 식이효율

고지방 식이를 이용하여 체지방 축적의 증가를 유도하였으며 고지방 식이의 지방 함량은 무게 비율로 30%, 열량 비율로는 52%이었다. 이 정도의 고지방 식이는 많은 연구에서 비만을 유도하기 위하여 사용한 바 있다¹⁰⁻¹⁴. 6주 동안 사육한 실험 군의 식이 섭취량, 체중 및 식이효율은 Table 2와 같다. 일일 식이섭취량은 20.9~22.2g으로 각 군간의 차이가 관찰되지 않았다(Table 2).

체중은 실험 시작 시 94.5g으로 각 군간의 차이가 없었으나 실험 6주 후 HF 군에서 314.7 \pm 23.2g으로 RE 군에 비하여 체중이 유의성 있게 높게 나타났다. 식이효율은 HF 군에서 3.3 \pm 0.1로 HF+MH 군과 유사하였으나 RE 군에 비해서는 유의적으로 높았다.

2. 부고환 지방의 변화

부고환 지방 중량을 체중 100g당으로 환산하여 실험 전, 실험 3주 후 및 6주 후에 비교하였다(Fig. 1). 실험 시작 시 부고환 지방의 중량은 0.58 \pm 0.07g/100g body weight로 각 군간의 차이를 나타내지 않았으나, 3주 후부터 HF 군과 HF+MH 군에서 RE 군에 비해 부고환 지방 함량이 현저히 높았다. 6주 후에도 3주 후와 유사한 경향을 나타냈다(Fig. 1).

3. 갈색지방 조직의 변화

갈색지방 조직 중량을 체중 100g당으로 환산하여 시험 전, 실험 3주 후와 6주 후에 비교하였다(Fig. 2). 갈색지방조직 중량은 실험 시작 시 0.12 \pm 0.01g/100g body weight로 각 군간에 차이를 나타내지 않았다. RE 군에서는 3주 후, 6주 후에 점차적으로 갈색지방 조직이 감소하는 경향을 나타냈으나, HF 군과 HF+MH 군에서는 변화가 관찰되지 않았다.

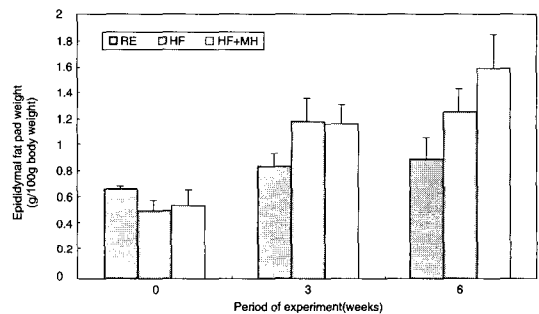


Fig. 1. Effect of Ma-huang on the Epididymal fat pad weight of rats.

Table 2. Food Intake, Body Weight, and Food Efficiency of the Experimental Groups

Experimental groups	Food intake g/day	Body weight			Food efficiency
		Initial g	Final g	Weight gain g/day	
RE	22.2 ± 3.5 ^a	94.5 ± 9.9 ^a	284.1 ± 19.0 ^b	5.6 ± 0.3 ^b	4.0 ± 0.1 ^b
HF	21.6 ± 4.1 ^a	94.8 ± 7.9 ^a	314.7 ± 23.2 ^a	6.5 ± 0.5 ^a	3.3 ± 0.1 ^a
HF+MH	20.9 ± 3.8 ^a	94.5 ± 6.8 ^a	298.1 ± 33.0 ^{ab}	6.0 ± 0.8 ^{ab}	3.5 ± 0.2 ^{ab}

1) Mean ± S.D.

2) RE; Regular chow diet group. HF; High fat diet group.

HF + MH; High fat diet with Ma-huang extract(30mg/100gbody weight).

3) The different letters in the same column are significantly different at p<0.05.

4) Food efficiency = Food intake(g/day) / Weight gain(g/day)

갈색지방 조직의 무게는 쥐에서 체중의 1% 정도 밖에 안 되는 작은 조직이지만 열발생에 있어서 매우 중요한 역할을 한다⁸⁾. 갈색지방조직에는 다른 조직에 비해 많은 양의 혈액이 공급되고 aerobic capacity는 동일무게의 근육조직에 비해 무려 10배나 높은 것으로 보고되었다¹⁵⁾. 본 연구결과에서 일반식이 군에서는 갈색지방조직이 감소하는 경향을 보였으나 고지방식을 하는 군에서는 변화가 관찰되지 않았다. 그러나 마황을 투여한 고지방식이 군에서 갈색지방 조직의 무게를 증가시키는 경향을 나타냈는데 이는 마황의 ephedrine 성분이 갈색지방 조직에서 단백질 합량을 증가시켜 나타나는 결과로 사료된다. 이러한 연구결과는 주 등¹⁶⁾의 결과에서도 보고된 바 있다. 즉, 고지방 식이를 섭취한 쥐에서 체지방 축적량과 체중이 증가되었으나 갈색지방 조직과 단백질 합량은 변화되지 않는 것으로 본 연구결과와 유사하게 관찰되었다. 갈색지방 조직은 에너지 소비량 증가 이전에 관여하여 이러한 효과는 갈색지방 조직 세포수의 증가보다는 미토콘드리아 수의 증가에 의해 갈색지방조직의 활성이 높아지는 것에 의한 것으로 사려 된다.

4. 부고환 지방세포의 면적 및 수

각 실험 군에서 부고환 지방세포 면적을 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 실험 6주 후 지방세포의 크기는 각 군간에 유의적인 차이를 나타냈다. 각 군의 세포 분포를 비교하여 보면 RE 군에서는 지방 세포의

직경이 평균 2798.17±1766.80μm로, 76.5% 정도가 1000-4000μm의 크기에 분포하여 비교적 크기가 적은 세포가 분포되어 있었다. HF 군은 세포의 직경이 평균 2280.3±1306.9μm로 91% 이상이 1000-4000μm의 크기에 분포하여 비교적 크기가 적은 세포가 분포되어 있었다. HF+MH 군에서 세포의 직경이 평균 2768.82±1733.37μm로 76%가 1000-4000μm의 크기에 분포하였으며, 비교적 다양한 크기의 세포가 골고루 분포되었다. 단일 면적에 대한 세포의 수는 RE 군에서 213개, HF 군에서 274개, HF+MH 군에서 224개가 관찰되었다(Table 3, Fig. 3).

결론

본 연구에서는 마황 메탄올 추출물의 ephedrine 함량을 조사하여, 고지방 식이와 함께 섭취시켜 지방조직 세포에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결

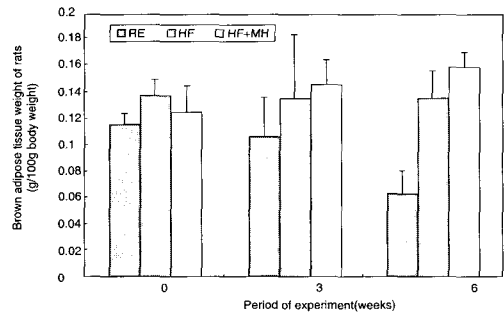


Fig. 2. Effect of *Ma-huang* on the brown adipose tissue weight of rats.

Table 3. The Epididymal Fat Cell Size and Total Numbers

Groups	Fat cell size (μm ²)							Total cell number	Unit area(mm ²) Mean ± S.D. ¹⁾
	< 1000	1000-2000	2000-3000	3000-4000	4000-5000	5000-6000	> 6000		
RE ²⁾	28	53	50	32	33	8	9	213 ³⁾	2798.2±1766.8 ^{a)}
(%)	(13.1)	(24.9)	(23.5)	(15.0)	(15.5)	(3.8)	(4.2)		
HF	42	89	77	41	11	9	5	274 ^{b)}	2280.3±1306.9 ^{b)}
(%)	(15.3)	(32.5)	(28.1)	(15.0)	(4.0)	(3.3)	(1.8)		
HF+MH	35	51	50	34	30	14	10	224 ^{c)}	2768.8±1733.4 ^{c)}
(%)	(15.6)	(22.8)	(22.3)	(15.2)	(13.4)	(6.3)	(4.5)		

1) Mean ± S.D.

2) RE : Regular chow diet group. HF : High fat diet group. HF + MH : High fat diet with *Ma-huang* extract(30mg/100g body weight).

3) The different letters in the same column are significantly different at p<0.05.

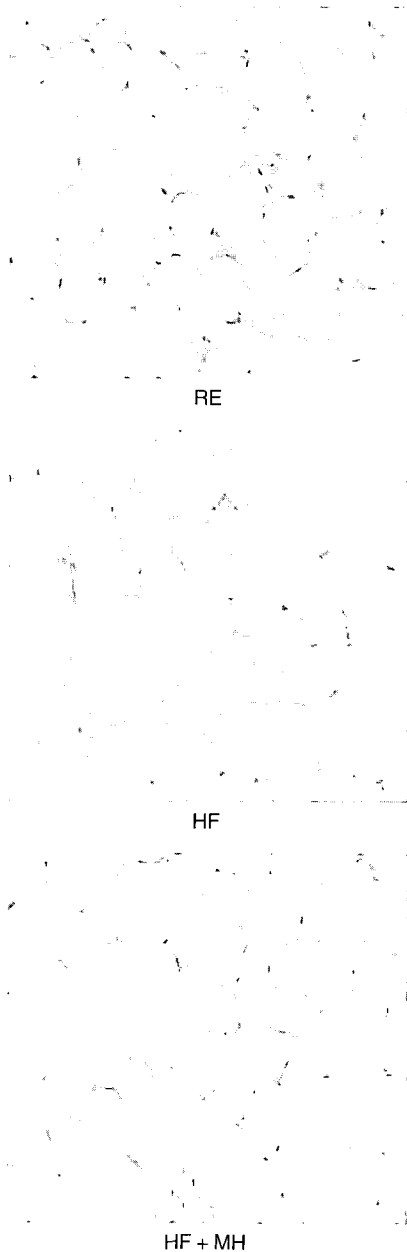


Fig. 3. Epididymal fat cells of experimental groups after 6 weeks.
(All sections were stained with Hematoxyline × 200)
RE : Regular chow diet group.
HF : High fat diet group.
HF+MH : High fat diet with *Ma-huang* extract.

과를 얻었다.

1. 마황의 메탄올 추출물의 ephedrine 함량은 마황 100g당 3.63mg이었다.

2. 고지방 식이와 마황의 메탄올 추출물을 투여한 HF+MH 군과 고지방 식이만을 섭취한 HF 군에서 식이섭취량, 체중, 식이효율은 유사하였으며 일반 식이를 섭취한 RE 군에 비해 HF 군에서 유의적으로 높았다.

3. HF 군과 HF+MH 군에서 부고환지방 및 갈색지방은 유사하였고, RE 군에 비해 높았다.

4. 단일 면적에 대한 지방세포의 면적은 HF+MH 군에서 높았고 세포 수는 적게 관찰되었다.

결론적으로 본 연구에서는 고지방 식사와 함께 마황의 메탄올 추출물을 투여한 결과 쥐의 부고환지방 및 갈색지방 조직의 체중과 부고환 지방의 세포 면적 및 수에 긍정적인 영향을 미치지 못하였다. 앞으로의 연구에서는 일반식이 군에도 마황 추출물을 투여하고, 마황 추출물의 농도에 따른 효과도 분석하여 마황이 지방 조직에 미치는 심도있는 연구가 요구된다.

감사의 말씀

본 논문은 2000년도 한국과학재단 목적기초연구사업의 우수여성과학자도약 지원연구비로 이루어진 연구결과임을 밝힙니다.

참고문헌

1. ヒキノヒロシ : 麻黄. 治療學, 14, 1985;265-271.
2. Benezra SA, McRae JW : Pseudoephedrine hydrochloride. In "Analytical profiles of drug substance" Academic Press, Inc. 1979;8:489-507.
3. 漢藥의 藥理, 成分, 臨床應用. 登丑文化社. 1982;99:306-309.
4. Nawwar MAM, Barakat HH, Buddrus J and Linscheid. Phytochem 24: 1985. 878-879.
5. Konno C, Mizuno T and Hikino H : Planta Medica 1985;162.

6. Buemann B, Mareckmann P, Christensen N. J. and Astrup A. The effect of ephedrine plus caffeine on plasma lipid and lipoproteins during a 4.2 MJ/day diet. *International J. Obesity*. 1994;18:329-332.
7. 조은정, 류병호, 송병권, 이태훈, 서판길, 류성호, 김희숙. 마황으로부터 채장 Cholesterol Esterase 저해물질 분리 및 규명. *한국식품영양과학회지*. 1999;28(4): 816-821.
8. Himms-Hagen J, Ricquier D, Bray GA, Bouchard C, James WPT, ed. *Hand Book of Obesity*. Brown adipose tissue. Marcel Dekker. New York. 1997;415-442.
9. 주중재, 신현주. 고지방 식이를 섭취한 흰쥐에서 β -adrenergic 활성 증가에 의한 Capsaicin의 체지방 감소 효과. *한국영양학회지*. 1999;32(5):533-539.
10. Lin L, Martin R, Schaffhauser AO, York DA. Acute changes in the response to peripheral leptin with alteration in the diet composition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001 Feb;280(2):R504-9
11. Cha MC, Johnson JA, Hsu CY, Boozer CN. High-fat hypocaloric diet modifies carbohydrate utilization of obese rats during weight loss. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001 May;280(5):E797-803.
12. Iossa S, Lionetti L, Mollica MP, Crescenzo R, Barletta A, Liverini G. Effect of cold exposure on energy balance and liver respiratory capacity in post-weaning rats fed a high-fat diet. *Br J Nutr* 2001 Jan;85(1):89-96
13. Margareto J, Gomez-Ambrosi J, Marti A, Martinez JA. Time-dependent effects of a high-energy-yielding diet on the regulation of specific white adipose tissue genes. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 Apr 27;283(1):6-11.
14. Samec S, Seydoux J, Dulloo AG. Post-starvation gene expression of skeletal muscle uncoupling protein 2 and uncoupling protein 3 in response to dietary fat levels and fatty acid composition: a link with insulin resistance. *Diabetes*. 1999 Feb;48(2):436-441.
15. Aherne W, Hull D. Brown adipose tissue and heat production I the newborn infant. *J Pathol Bacteriol* 1966;91:223.
16. Arch JRS. The Brown adipocyte β -adrenoreceptor. *Proc Nutr Soc* 1989;48:215.
17. Matsuda J, Hosoda K, Itoh H, Son C, Doi K, Tanaka T, Fukunaga Y, Inoue G, Nishimura H, Yoshimasa Y, Yamori Y, Nakao K. Cloning of rat uncoupling protein-3 and uncoupling protein-2 cDNAs: their gene expression in rats fed high-fat diet. *FEBS Lett* 1997 Nov 24;418(1-2):200-204.
18. Corbalan MS, Margareto J, Martinez JA, Marti A. High-fat feeding reduced muscle uncoupling protein 3 expression in rats. *J Physiol Biochem* 1999 Jun;55(2):67-72.
19. Allars J, Holt SJ, York DA. Energetic efficiency and brown adipose tissue uncoupling protein of obese Zucker rats fed high-carbohydrate and high-fat diets: the effects of adrenalectomy. *Int J Obes* 1987; 11(6):591-601.