

원저

부평초약침이 지방세포 대사에 미치는 영향

- 조성언* · 김병우* · 권기록** · 임태진*** · 김동희****
 * 상지대학교 한의과대학 내과학교실
 ** 상지대학교 한의과대학 침구학교실
 *** 상지대학교 응용동물과학부
 **** 연세대학교 원주의과대학 환경의생물학교실

The effect of *Spirodelae Herba* Pharmacopuncture on Adipocyte Metabolism

Sung Eon, Cho* · Byoung Woo, Kim* · Ki Rok, Kwon** · Tae Jin Rhim*** · Dong Heui Kim****

* Department of Internal Medicine, Korean Medical College, Sangji University

** Department of Acup & Moxi, Korean Medical College, Sangji University

*** Division of Animal resources and life science, Sangji University

**** Department of Environmental Medical Biology, Wonju Medical College, Yonsei University

ABSTRACT

- Objectives** The purpose of this study is to investigate the effects of *Spirodelae Herba* pharmacopuncture(SHP) on the adipogenesis in 3T3 cells, lipolysis in rat epididymal adipocytes and histological changes in porcine adipose tissue.
- Methods** Inhibition of preadipocyte differentiation and/or stimulation of lipolysis play important roles in reducing obesity. 3T3 preadipocytes were differentiated with adipogenic reagents by incubating for 3 days in the absence or presence of SHP ranging from 0.01 to 1.0mg/ml. The effect of SHP on adipogenesis was examined by measuring glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH) activity and by Oil Red O staining. Mature adipocytes from rat epididymal fat pad was incubated with SHP ranging from 0.01 to 1.0mg/ml for 3 days. The effect of SHP on lipolysis was examined by measuring free glycerol released. Fat tissue from porcine skin was injected with SHP ranging from 0.1 to 10.0mg/ml to examine the effect of SHP on histological changes under light microscopy.
- Results** Following results were obtained from the preadipocyte proliferation and lipolysis adipocyte and histologic investigation of fat tissue
1. SHP showed the effect of decreased preadipocyte proliferation on the high dosage(1mg/ml).
 2. SHP showed the effect of decreased the activity of glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) on the high dosage(1mg/ml).
 3. Investigated the changes in lipolysis of differentiated adipocyte after treated SHP, we knew that these pharmacopuncture showed increasing the effect of lipolysis in all concentration significantly.
 4. Investigated the histological changes in porcine fat tissue after treated SHP, we knew that these pharmacopuncture showed significant activity to the lysis of extensive cell membranes on high dosage(10.0mg/ml).
- Conclusions** These results suggest that SHP efficiently induces diminishing proliferation of preadipocyte and lipolysis in adipose tissue.

key words *pirodelae Herba*, pharmacopuncture, preadipocyte, adipocytes, lipolysis.

I. 緒論

비만이란 대사 장애로 인해 체내에 지방이 과잉 축적된 상태를 말한다¹⁾.

최근 식생활 변화로 인해 고칼로리, 고지방섭취 증가, 과음, 운동부족에 따라 비만이 늘어나고 있는데²⁾, 이러한 비만이 문제가 되는 것은 당뇨병, 고지혈증, 고혈압, 관상동맥질환 및 뇌졸중 등의 만성 성인병 질환 등과 밀접한 관련성이 있기 때문이다³⁾.

최근 비만과 관련한 연구로는 단미제⁴⁻⁶⁾와 복합제^{7,8)}를 비롯한 약물요법 및 이침⁹⁾, 전침¹⁰⁾, 약침^{11,12)} 등 침에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 국소 비만과 관련하여 趙 등¹³⁾의 응담과 우황약침이 지방세포 대사에 미치는 영향에 대해 보고되어 있다.

그러나 부평초와 관련한 연구는 최근까지도 연구 성과가 미흡한 상태로 부평의 면역 및 항암 활성에 관한 연구¹⁴⁾와 부평초의 화학성분 및 항산화효과에 관한 연구¹⁵⁾가 보고되었을 뿐 비만과 관련한 연구는 보고된 바가 없다.

浮萍 *Spirodela Herba*은 개구리밥과 Lemnaceae에 속한 多年生水生漂萍草本植物인 개구리밥 *Spirodela polyrhiza*(L.) SCHLEID. 또는 좀개구리밥 *Lemna paucicostata* HEGELM. 의 全草로서, 性味는 辛寒無毒하고 肺, 膀胱經에 歸經하며 發汗解表, 透疹止痒, 利水消腫 등의 효능으로 外感風熱, 麻疹透發不暢, 風疹皮膚瘙癢, 水腫 등의 병증을 치료한다¹⁶⁾.

따라서 비만의 한의학적 원인 중 水濕停滯, 痰飲, 陽虛 등에 부평초가 효과가 있을 것으로 생각되어 3T3-L1(이하 3T3라 함) 지방전구세포를 이용하여 지방세포의 합성에 미치는 영향과 rat의 성숙지방세포를 이용하여 분화된 지방세포에 미치는 영향을 관찰하였고, 돼지의 지방세포에서 조직학적 소견을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었으므로 이에 보고하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 부평초 약침의 제조

실험에 사용한 부평초는 한약재 수급 및 유통관리규정¹⁷⁾에 의거한 규격품을 사용하였다.

100g의 부평초를 등근 플라스크에 넣고 90% 알코올

500ml에 24시간 동안 방치한 후 rotary evaporator로 감압 농축하여 10.15g의 추출물을 회수하였다. 11.7%의 수율을 얻은 부평초 extract를 0.2 μ m(Whatman, USA)로 정제한 후 100% DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹여 실험에 사용하였다.

2) 3T3-L1 지방세포 및 시약

3T3-L1 mouse embryo fibroblast는 American Type Culture Collection에서 구입하였고, Dulbecco's Modified Eagle Media(DMEM)와 bovine calf serum(BCS)은 GIBCO사(U.S.A.)로부터 구입하였다.

Fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin mixture 및 DMSO는 Cambrex사(U.S.A.)로부터 구입하였다. Insulin, isobutylmethylxanthine(IBMx), dexamethasone, amphotericin B, collagenase, bovine serum albumin(BSA) 등 세포배양에 사용된 기타 시약들과 생화학 분석에 사용된 시약들은 Sigma사(U.S.A.)로부터 구입하였다. 본 연구에 사용된 모든 화학물과 용매들은 세포 배양 또는 분석급 이상으로 사용하였다.

3) 동물

(주)오리엔트바이오로부터 구입한 6주령 수컷 Sprague-Dawley rat를 실험동물로 사용하였다. 본 실험실에서 사료와 물은 무제한 공급하였고, 사육실 온도는 20-25 $^{\circ}$ C를 유지하였으며, 명암은 12시간 주기로 조절하였다.

4) 돼지의 지방 조직

풍부한 지방층을 가지고 있는 돼지의 복부 조직을 강원도 원주시 인근의 도축장의 협조를 얻어 도살 직후 잘라내어 사용 전 최대 4시간까지 냉장 보관하여 실험에 사용하였다.

2. 方法

1) 지방세포의 배양

3T3 mouse embryo fibroblast는 Singh 등의 방법¹⁸⁾

에 따라 배양하였다. 즉, 3T3 세포들은 10% BCS를 포함한 DMEM 배지를 사용하여 8.5×10^3 cells/cm²이 되도록 60-mm culture dish에 분주한 다음 37°C CO₂ incubator에서 배양하였다. 100% confluence에 도달 (Day 0)하면, 3T3 세포들은 10% FBS, 1.7μM insulin, 0.5mM IBMX, 1μM dexamethasone을 포함한 DMEM 배지로 교체하고 3일 동안 배양하여 분화를 유도하였다. 부평초약침이 지방합성에 미치는 효과를 조사하기 위해 다양한 농도의 추출물이 포함된 분화 유도 배지로 3일 동안 3T3 세포들을 배양하였다. 분화 유도가 끝난 뒤 실험 종료시(Day 10)까지 10% FBS과 167nM insulin이 포함된 DMEM 배지로 배양하였다. 세포배양액은 2일 간격으로 교체하였다.

2) 지방세포의 분화 측정

① Oil Red O 염색

부평초약침 추출물이 전지방세포로부터 지방세포로의 분화(지방합성)에 미치는 영향은 Negrel 과 Dani의 방법¹⁹⁾에 따라 Oil Red O 염색을 실시하였다. 즉, 실험 종료시 (day 10)에 세포를 phosphate-buffered saline(PBS)으로 세척한 다음 10% formaldehyde로 10분간 고정시켰다. 증류수로 세척하고 Oil Red O 염색용액으로 10-20분간 배양하였으며, 증류수로 세척한 다음 세포내 지방 축적을 관찰하였다.

② GPDH(glycerol-3-phosphate dehydrogenase) 활성 측정

지방세포의 분화에 대한 탐침자로서 GPDH 활성을 측정하였다. 3T3 세포들이 100% confluence에 도달한 day 0에 추출물이 포함된 분화배지로 3일간 세포배양을 하였고, day 10에 culture dish로부터 세포를 분리하여 sonication 시켰고 원심분리하여 상등액을 수거하였다.

상등액 내의 전지방세포로부터 지방세포로의 분화에 미치는 영향은 지방 생성 및 GPDH 활성을 측정²⁰⁾함으로써 조사하였다. 분화 과정 동안 부평초약침 추출물을 처리하고 세포를 배양한 뒤 plate로부터 세포를 분리한 다음, sonication 시키고 원심분리하여 상등액을 수거하였다. 상등액내의 GPDH 활성은 Wise와 Green의 방법²⁰⁾에 따라 spectrophotometer (U.S.A.)를 사용하여 340nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다. GPDH 활성은 mU/min/mg protein으로 표시하며, 1mU 활성은 분당 1nmol의

NADH 산화와 동등한 값을 나타낸다(Fig. 1).

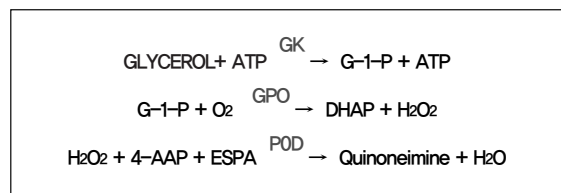
단백질 함량은 BSA를 표준시약으로 사용하여 Bradford 방법²¹⁾에 따라 측정하였다.

3) 지방세포의 분해 측정

Rodbell 방법²³⁾을 수정한 Zalatan 등의 방법²⁴⁾에 따라 실시하여 rat의 성숙 지방세포에 부평초약침 추출물을 분사하여 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향을 조사하였다.

처리시약이 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향은 McGowan 등의 방법²⁵⁾에 따라 배양액내 glycerol 함량을 측정함으로써 조사하였다.

방출된 glycerol은 ATP의 존재 하에서 glycerol kinase에 의해 glycerol-1-phosphate로 전환되며 이는 glycerol phosphate oxidase에 의해 dihydroxyacetone phosphate와 hydrogen peroxide(H₂O₂)로 산화된다. 생성된 H₂O₂는 4-aminoantipyrine과 sodium N-ethyl-N-(3-sulfopropyl)m-anisidine존재하에서 peroxidase에 의해 자주색을 띠는 quinoneimine로 전환된다. 따라서 생성된 quinoneimine에 의해 540nm에서 흡광도의 증가는 배지 내에서 glycerol 농도 증가를 나타낸다. Glycerol 함량은 free glycerol을 표준시약으로 사용한 표준곡선을 작성함으로써 측정하였다.



4) 돼지 지방조직의 비교관찰

도살직후 채취한 지방 조직을 10% 포르말린 용액에 고정시킨 것과 부평초 추출물을 녹이는데 사용한 100% DMSO 용액을 대조군으로 하여 지방 조직을 비교 관찰하였다.

부평초약침을 각각 농도별로 10.0, 1.0 그리고 0.1mg/ml로 희석하여 1.0ml, 26gauge 주사기에 준비한 후 돼지의 지방층에 주입하였다. 비늘 깊이는 표적조직의 포화를 목적으로 돼지조직의 가장자리에 육안으로 확인하면서 주입

하였다. 인산염완충액 식염수로 37°C에서 한 시간 동안 배양 후, 생검 검사물을 주입한 자리에서 추출하였다. 실험은 세 번 반복 시행하였다. 조직을 포르말데히드에 고착시키고 파라핀에 고정시킨 후 Hematoxylin-Eosin 염색(H-E staining)을 실행하였다.

과는 일원분산분석을 사용하여 조사하였으며, 평균값의 차이는 Duncan's multiple range test²⁶⁾를 사용하여 p<0.05에서 유의성을 조사하였다.

III. 실험결과

5) 통계 분석

1. 지방세포의 분화에 미치는 영향

처리시약의 농도별 지방합성 및 지방분해에 미치는 효

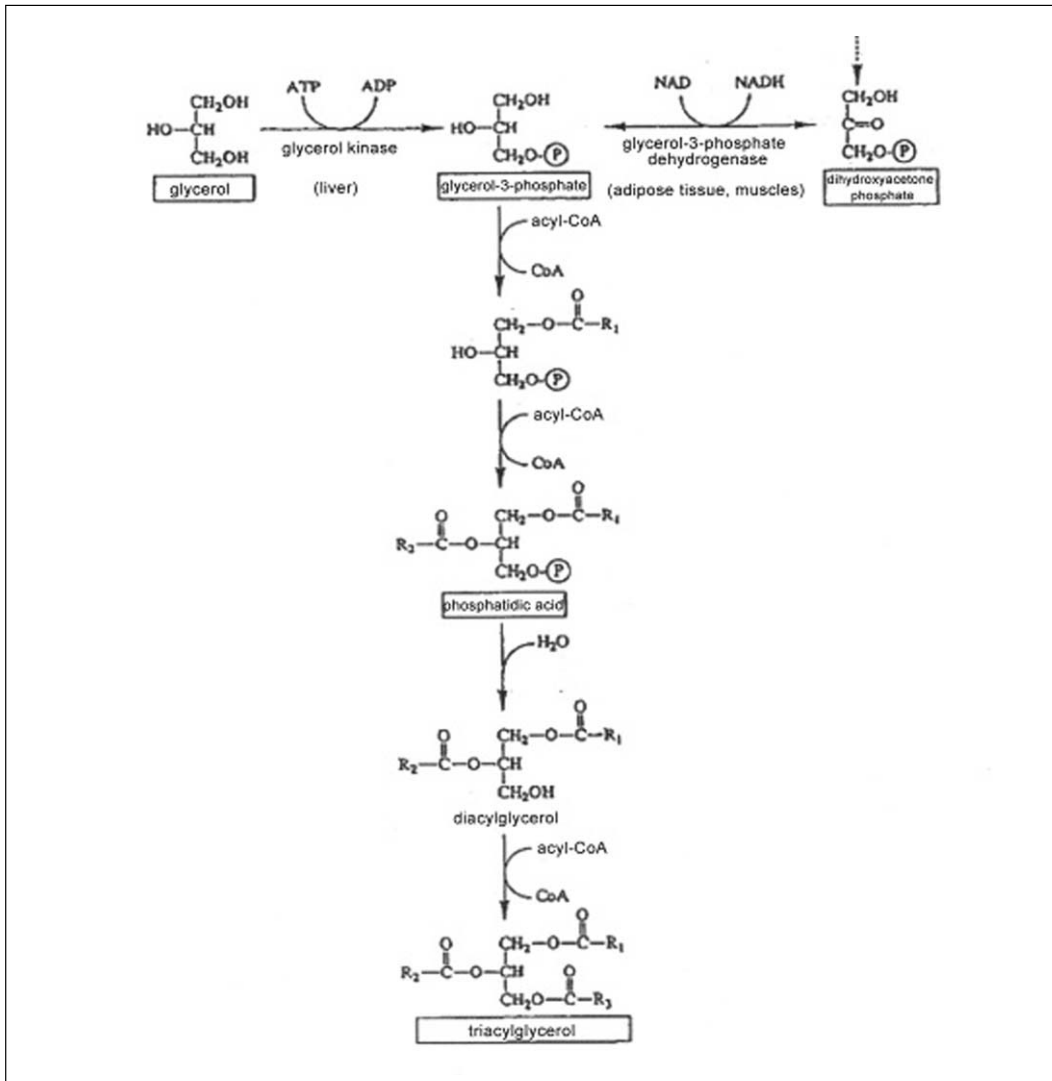


Fig. 1. The pathway for lipid biosynthesis. Lipid biosynthesis occurs through sequential binding of the fatty acids activated as acyl-CoAs to glycerol-3-phosphate. In the liver, glycerol-3-phosphate is generated from glycerol by the action of glycerol kinase. However, due to the absence of glycerol kinase in the adipose tissue and muscles, glycerol-3-phosphate is generated from glucose by the way of dihydroxyacetone phosphate.

1) 3T3 지방전구세포(preadipocyte)의 배양

3T3 미분화 지방세포(preadipocyte, Fig. 2 A)를 배양한 결과 배양 10일째에 성숙된 지방세포가 형성됨을 알 수 있었다(Fig. 2 B). 지방세포의 형성을 확인하기 위하여 세포질 내에 축적된 triglyceride(중성지방)를 염색하는 시약인 Oil Red O를 이용하여 세포 염색을 시행한 결과 성숙 지방세포의 형성이 잘 되었음을 알 수 있었다(Fig. 2 C&D).

2) 농도별 분화에 미치는 영향

0.01mg/ml와 0.1mg/ml 농도에서는 대조군에 비하여 분화의 명확한 차이를 나타내지 않았으나 1.0mg/ml 농도에서는 분화 억제제를 뚜렷하게 나타내는 것으로 관찰되었다(Fig. 3 E).

Oil Red O로 염색된 세포를 관찰한 결과 역시 대조군에 비하여 1.0mg/ml의 농도에서 지방세포의 분화를 현저히 억제하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 3 H).

이상의 결과를 바탕으로 부평초약침은 1.0mg/ml의 농도에서 지방세포의 분화 기전에 강하게 작용함을 알 수 있

었다.

3) GPDH 활성화에 미치는 영향

부평초약침이 전지방세포로부터 지방세포로의 분화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 GPDH 활성을 측정하였다.

미분화 3T3 지방세포가 성숙한 분화 지방세포로 전환됨에 따라 GPDH 효소 활성은 증가하게 된다.

그 결과 추출물이 포함되지 않은 분화배지로 분화가 유도된 3T3 지방세포(Control)에서 GPDH 활성은 78.8 mU/min/mg protein으로 나타났다.

부평초약침의 첨가 농도에 따른 GPDH 활성은 0.01, 0.1 및 1.0mg/ml 농도 첨가에 따라 각각 72.6, 72.7 및 18.6 mU/min/mg protein으로 감소하여, 1.0mg/ml 농도에서부터 지방합성을 현저히 억제하였다(Table 1. & Fig. 4).

2. 지방세포의 분해(lipolysis)에 미치는 영향

부평초약침이 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향은 glycerol 함량을 측정함으로써 조사하였다. 처리시

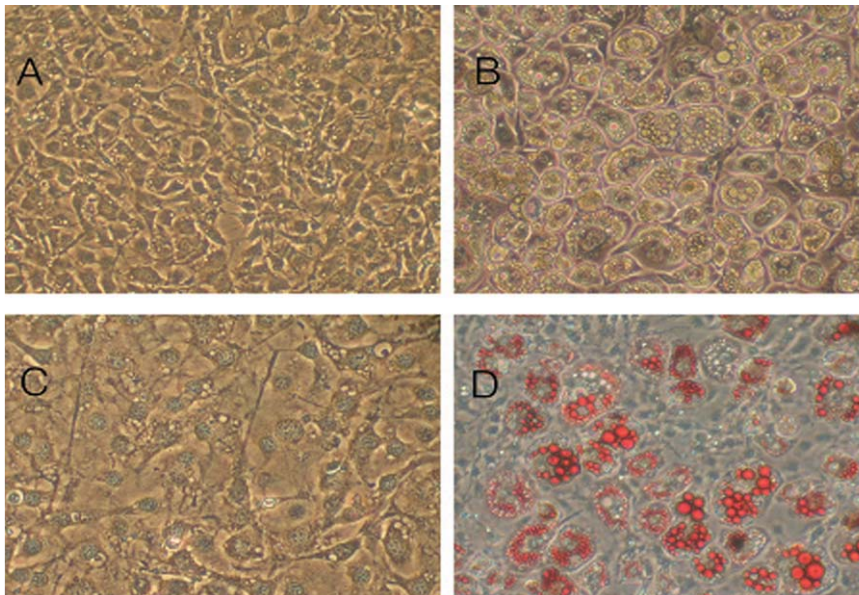


Fig. 2. Microscopic images of preadipocyte and adipocyte($\times 100$)

- A: Undifferentiated cell
- B: Adipocyte induced to differentiation
- C: Undifferentiated cell stained with Oil Red O
- D: Differentiated cell stained with Oil Red O

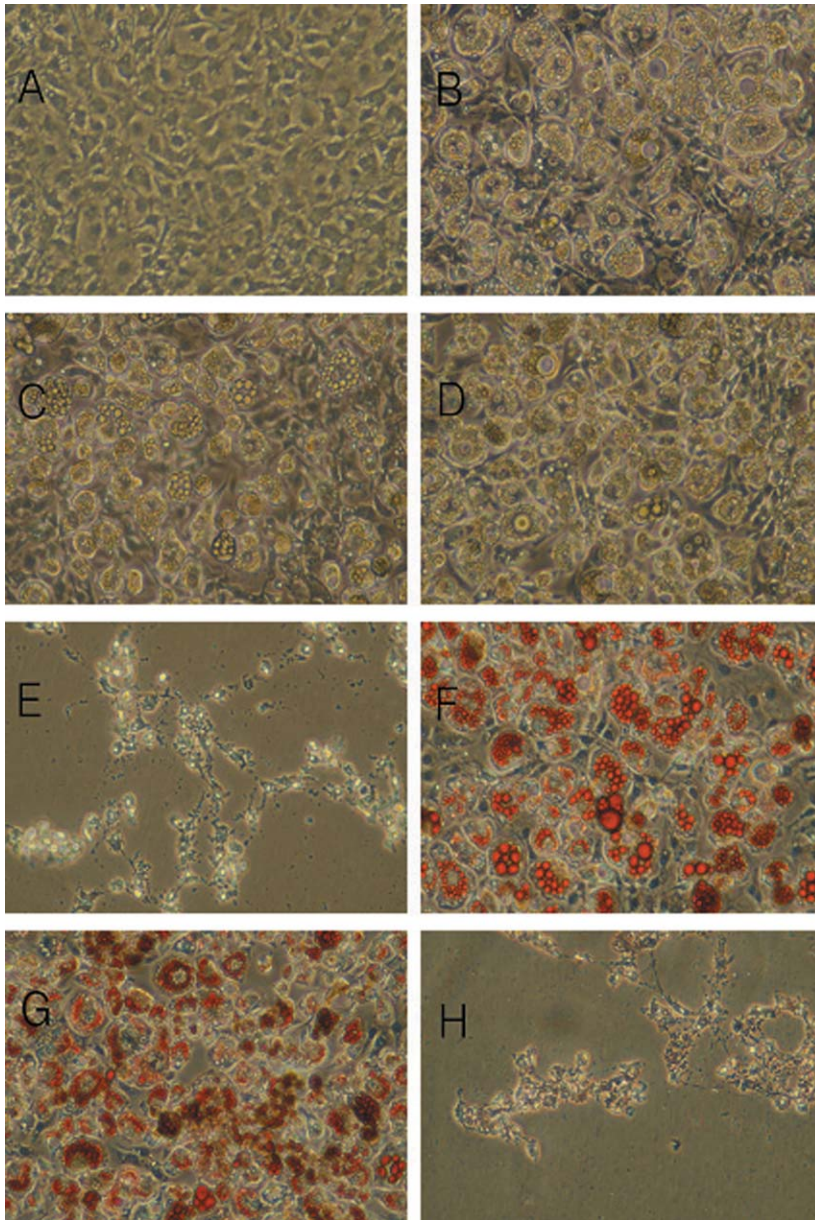


Fig. 3. The suppressed effects of *Spirodela herba* pharmacopuncture to the preadipocyte differentiation (×100).

- A: Undifferentiated cell
- B: Control was treated with 0.5% DMSO solution adipocyte induced to differentiation
- C: 0.01mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture was treated
- D: 0.1mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture was treated
- E: 1.0mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture was treated
- G: The shape of adipocyte stained with Oil Red O after treated with 0.01mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture
- G: The shape of adipocyte stained with Oil Red O after treated with 0.1mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture
- H: The shape of adipocyte stained with Oil Red O after treated with 1.0mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture

(Table 1) The effect of *Spirodela* Herba pharmacopuncture on GPDH activity in 3T3 adipocytes

Treatment	Concentration	GPDH activity ^{1,2} (mU/min/mg protein)
Control		78.8±2.9 ^a
SHP	0.01 mg/ml	72.6±7.9 ^a
SHP	0.1 mg/ml	72.7±14.4 ^a
SHP	1.0 mg/ml	18.6±6.6 ^b

¹ Values are means±SD(n=2) from two separate experiments.

² Means in a column with different superscript differ, P<0.05. SHP: *Spirodela* Herba pharmacopuncture

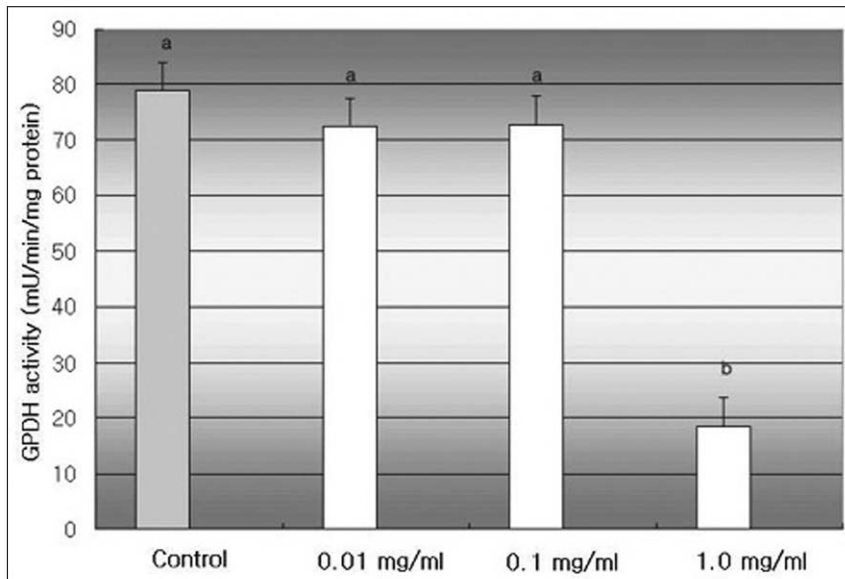


Fig. 4. The effect of *Spirodela* Herba pharmacopuncture on the inhibition of GPDH activity in 3T3 adipocytes. Cells were treated with 0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml concentration for 72hrs. Results are the mean±SD(n=2), and analyzed by Duncan's multiple range test(p<0.05).

약과 함께 세포를 배양한 뒤, 배양약을 채취하여 free glycerol determination kit(Sigma, U.S.A.)를 사용하여 측정하였다.

추출물이 포함되지 않은 배지(control)에서 성숙한 분화세포를 3시간 배양한 결과 방출된 glycerol 농도는 109.9 μ M/L이었다.

부평초약침이 지방분해에 미치는 효과는 0.01mg/ml 농도에서는 대조군에 비해 유의적인 차이가 관찰되지 않았고, 0.1 및 1.0mg/ml 농도에서는 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 0.1과 1.0mg/ml의 glycerol 농도간의 비교

에서는 0.1mg/ml에 비하여 1.0mg/ml에서 유의한 증가를 나타내었다(p<0.05)(Table 2. & Fig. 5).

3. 돼지 지방세포에 미치는 영향

추출된 부평초 약침을 각각 농도별로 10, 0, 1, 0, 그리고 0.1mg/ml로 DMSO에 희석하여 1.0ml, 26gauge 주사기에 준비한 후 돼지의 지방층에 주입하였다. 바늘 깊이는 표적 조직의 포화를 목적으로 돼지조직의 가장자리에 육안으로 확인하면서 주입하였다. 시술 부위의 관찰을 용이하게 하

(Table 1) The effect of *Spirodela* Herba pharmacopuncture on the glycerol release by rat epididymal adipocytes

Treatment	Concentration	Glycerol ² (μ mole/L)
Control		109.9 \pm 4.3 ^a
SHP	0.0mg/ml	125.0 \pm 11.2 ^a
SHP	0.0mg/ml	159.6 \pm 3.5 ^b
SHP	1.0mg/ml	236.8 \pm 5.6 ^c

¹ Values are mean \pm SD (n=2) from two separate experiments. ² Means in a column with different superscript differ, P<0.05
SHP : *Spirodela* Herba pharmacopuncture

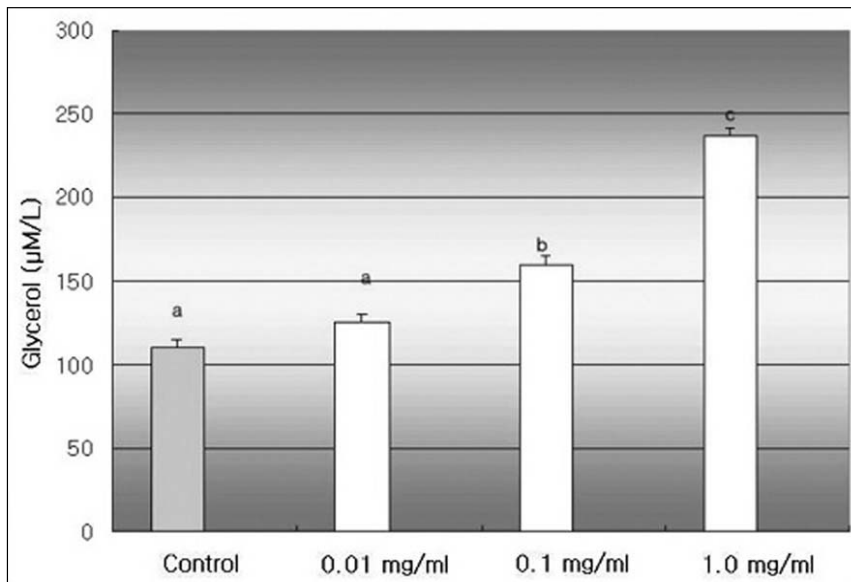


Fig. 5. Lipolysis measured by glycerol release in rat adipocytes incubated with a range of concentrations of *Spirodela* Herba pharmacopuncture. Results are the mean \pm SD(n=2), and analyzed by Duncan's multiple range test(p<0.05).

기 위하여 식용 색소를 희석하여 사용하였고, 생체와 가장 근접한 환경을 설정하기 위하여 인산염완충액 식염수로 37°C에서 한 시간 동안 배양 후, 생검 검사물을 주입한 자리에서 추출하여 H-E staining을 실행한 후 관찰하였다.

대조군으로는 100% DMSO를 지방조직에 처치하여 세포에 어떠한 영향을 주는지를 관찰하였다.

그 결과 DMSO가 지방세포의 결합부위에 약간의 영향을 주는 것이 관찰되었다(Fig. 6 B). 부평초약침은 0.1mg/ml와 1.0mg/ml 농도에서는 지방세포에 큰 영향을 주지 않았지만(Fig. 6 C-D) 10.0mg/ml의 농도에서는 광범위한 세

포사를 유발하는 것으로 관찰되었다(Fig. 6 E)

IV. 考察

비만의 원인은 크게 식습관, 활동부족, 유전적 요인, 중추신경계 이상, 호르몬 요인, 심리적 장애, 사회, 문화 경제적 요인 등 7가지로 나뉘볼 수 있다¹⁾.

고대 한의학 문헌에서는 비만이 肥, 肥胖, 肥人, 膏人, 肥貴人 등으로 표현되어 왔으며^{27,28)}, 그 원인에 대하여 《黃

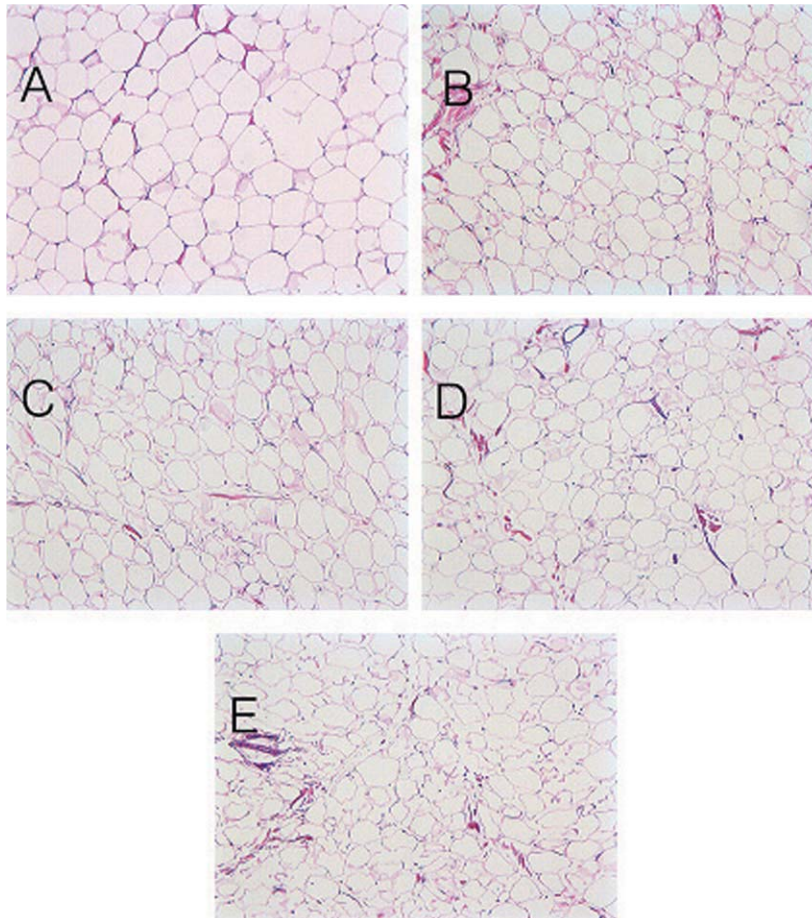


Fig. 6. Microscopic images of porcine lipocyte treated with *Spirodela herba* pharmacopuncture depend on concentration($\times 100$).

- A: Normal fat tissue of porcine
 B: Control treated with 100% dimethylsulfoxide solution
 C: Treated with 0.1mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture
 D: Treated with 1.0mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture
 E: Treated with 10.0mg/ml *Spirodela herba* pharmacopuncture

帝內經》에 過食肥甘膏粱厚味, 久臥, 久坐, 少勞, 素稟之體 및 外感濕邪 및 內傷七情 등으로 인한 氣滯, 痰濁, 水濕, 瘀血 등이 비만을 유발한다고 기록되어 있다²⁰⁾.

한의학적인 비만의 치료법을 살펴보면, 김 등³⁰⁾은 비만의 치법을 補氣健脾, 化濕利水祛痰, 通腑消導, 活血通絡 등의 治法이 있다고 밝혔다. 조 등³¹⁾은 비만의 치료법을 고찰한 결과 虛證의 경우는 健脾, 益氣, 補腎, 溫陽, 養陰하는 치법을 주로 응용하고, 實證의 경우는 祛濕(化濕), 化痰(祛痰), 利水, 消導, 活血化痰, 通腑를 위주로 치료하며, 그 외에 疏肝利膽, 昇降三焦하는 치법 등을 응용하는 것으로 밝혔으며, 그 중에서도 虛證에서는 健脾法, 實證인 경우에

는 祛濕除痰法이 주로 응용된다고 하였다.

최근 들어 방제학의 약리론과 침구학의 경락이론을 접목시킨 약침요법은 약물치료와 침구치료의 장점을 동시에 가지고 있어 동일한 변증이나 병리에 따른 일관된 치료 모델을 제시하고 있다. 비만에 응용한 약침 관련 논문을 살펴보면 이 등³²⁾은 陰水의 水腫에 사용되어 溫脾利水로 부종을 제거하는 附子를 약침액으로 정제하여 정상 체중 白鼠의 足三리에 주사한 후 현저한 체중감소를 보였다. 또한 이 등³³⁾은 防己黃芪湯 煎액을 腎俞, 志室, 天樞에 주입하여 근육량, 기초대사량을 유의하게 증가시켰다고 보고 하였다. 이 이후로 비만에 대한 약침의 응용은 활발해지고

있는 추세여서 차³⁴⁾의 氣虛肥滿 환자에 대한 약침 시술 효과, 정 등¹¹⁾의 산사약침의 비만에 대한 효과, 강 등¹²⁾의 나복자에 관련된 실험 등이 있었다.

최근에는 조 등¹³⁾의 연구와 같이 지방세포의 영향에 관한 연구가 진행되고 있다.

浮萍 *Spirodela Herba*은 개구리밥과 Lemnaceae에 속한 多年生水生漂浮草本植物인 개구리밥 *Spirodela polyrhiza*(L.) SCHLEID. 또는 좁개구리밥 *Lemna paucicostata* HEGELM. 의 全草로서¹⁶⁾, 《神農本草經》中品에 '主暴熱身痒 下水氣 勝酒 長鬚髮 止消渴'라고 기재된 이래 宣散風熱 透疹 利尿의 효능으로 癩疹不透 風疹瘙癢 水腫尿少 등의 치료에 사용되고 있는 한약재이다¹⁷⁾.

浮萍의 성분에 관한 연구로 개구리밥 *S. polyrhiza*에서 campesterol, β -sitosterol, stigmasterol 등의 sterol³⁸⁾과 apigenin-7-O- β -D-glucoside, cynaroside, hypolaetin-8-O- β -D-glucoside, vitexin, orientin 등의 flavonoid³⁹⁾ 및 anthocyanin⁴⁰⁾이 보고되어 있으며, iridoid 와 saponin 은 존재하지 않는 것으로 보고되어 있다.

부평의 효능에 관한 연구로서 안 등⁴¹⁾의 부평이 면역과 항암 활성에 대한 연구와 이 등⁴²⁾의 부평초의 화학성분 및 항산화효과에 관한 연구 등 극히 일부 외에 다른 연구는 아직 보고된 바 없다.

따라서 저자는 비만의 원인 중 水濕, 痰飲 등의 비만에는 부평초약침이 효과가 있을 것으로 생각되어 이를 알아보고자 3T3 지방전구세포와 rat의 정소상체 지방조직을 이용하여 지방세포의 분화와 분해에 미치는 영향과 돼지의 지방세포에서 조직학적 변화를 관찰하였다.

3T3 미분화 지방세포(pre-adipocyte)를 배양한 결과 성숙된 지방세포(adipocyte)가 형성됨을 알 수 있었다. 또한 지방세포의 형성을 확인하기 위하여 Oil Red O를 이용하여 염색을 시행한 결과 성숙된 지방세포의 형성이 잘 되었음을 알 수 있었다.

3T3 미분화 지방세포에서 지방세포로 분화되는 과정에서 부평초 약침을 각각 1.0mg/ml, 0.1mg/ml, 그리고 0.01 mg/ml의 농도로 나누어 3T3 지방전구세포의 분화 전 단계에서 배지에 처리한 후 농도별로 지방세포의 분화에 미치는 영향을 관찰하였다.

그 결과 1.0mg/ml 농도에서 지방세포의 분화를 현저히 억제하였고, 0.1mg/ml와 0.01mg/ml의 농도에서는 대조군에 비하여 큰 차이를 나타내지 않았다.

Oil Red O를 이용하여 세포 염색을 시행한 결과 역시

대조군에 비하여 1.0mg/ml 농도에서 지방세포의 분화를 현저히 억제하고 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과를 바탕으로 부평초 약침은 1.0mg/ml의 고농도에서 지방세포의 분화기전에 강하게 작용함을 알 수 있었다.

부평초약침이 전지방세포로부터 지방세포로의 분화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 GPDH 활성을 측정하였다.

GPDH는 지방세포의 형성에 관여하는 중요한 효소로 GPDH가 증가하였다는 것은 중성지방의 합성이 활성화되고 있음을 의미한다.

본 연구에서 부평초약침을 처리한 후 GPDH 활성을 측정한 결과 0.01mg/ml와 0.1mg/ml 농도에서는 무처리군에 비하여 GPDH 활성에 유의한 차이를 나타내지 않았으나 1.0mg/ml 농도에서는 GPDH 활성을 현저히 억제하였다.

이는 농도별 분화에 미치는 영향의 결과와 동일하게 1.0 mg/ml 농도에서 강력한 지방세포 생성억제효과를 나타낸 것으로 해석될 수 있고 따라서 부평초 약침의 지방세포 분화억제효과는 GPDH 활성의 억제로 인한 것으로 추정되었다.

부평초약침이 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향은 glycerol 함량을 측정함으로써 조사하였다. 지방은 glycerol과 fatty acid로 분해되므로 glycerol의 함량이 많아지는 것은 지방세포의 분해가 증가되었음을 의미한다.

본 연구에서 부평초 약침은 0.01mg/ml 농도에서는 대조군에 비해 유의적인 차이가 관찰되지 않았고, 0.1 및 1.0 mg/ml 농도에서는 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 0.1과 1.0mg/ml의 glycerol 농도간의 비교에서는 0.1 mg/ml에 비하여 1.0mg/ml에서 유의한 증가를 나타내었다.

생체에서 부평초약침이 지방세포에 농도별로 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 신선한 돼지의 지방조직에 처리한 후 조직학적 변화를 관찰하였다.

먼저 도살직후 채취한 지방 조직을 10% 포르말린 용액에 고정시킨 것과 100% DMSO 용액에 보관한 지방 조직을 비교 관찰하였다.

추출된 부평초 약침을 각각 농도별로 10.0, 1.0, 그리고 0.1mg/ml로 DMSO에 희석하여 돼지 지방조직에 주입한 후 H-E staining하여 관찰하였고 대조군으로는 100% DMSO를 지방조직에 처리하여 세포에 어떠한 영향을 주는지를 관찰하였다.

그 결과 DMSO가 지방세포의 결합부위에 약간의 영향

을 주는 것이 관찰되었다. 부평초 약침은 0.1mg/ml와 1.0mg/ml 농도에서는 지방세포에 큰 영향을 주지 않았지만 10.0 mg/ml 농도에서는 광범위한 세포의 손상을 유발하는 것으로 관찰되었다.

결과적으로, 부평초약침은 비만치료를 효과가 있을 것으로 생각되고, 향후 임상에 활용하기 위해서는 적절한 농도별 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

V. 結論

부평초약침이 국소 비만 치료제로서의 사용이 가능한가를 알아보고자 3T3 지방세포와 rat의 정소상체 지방조직을 이용하여 지방세포의 분화와 분해에 미치는 영향과, 돼지의 생체 지방세포에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 부평초약침은 1.0mg/ml의 고농도에서 3T3 지방세포의 분화 기전에 강하게 작용하여 분화를 억제함을 알 수 있었다.

2. 부평초약침의 지방세포 분화억제효과는 GPDH 활성의 억제로 인한 것으로 추정되었다.

3. 부평초약침이 분화된 지방세포의 지방 분해에 미치는 영향을 관찰한 결과 농도 의존적으로 지방세포를 분해하는 효과가 있었다.

4. 부평초약침의 농도에 따른 돼지의 지방세포에 미치는 영향을 조직학적으로 관찰한 결과 10.0mg/ml의 농도에서 광범위한 세포사를 유발하는 것으로 관찰되었다

이상의 결과를 바탕으로 부평초약침은 지방세포의 생성과 분해에 농도 의존적으로 작용하는 것으로 나타나 비만치료를 유효할 것으로 추정된다.

VI. 參考文獻

1. 한방재활의학과학회. 한방재활의학과학. 서울:군자출판사. 2003.
2. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 내과학. 서울:군자출판사. 1996:852.

3. 이종호. 비만증의 치료. 대한비만학회지. 1992;1(1):21-24.
4. 진철용, 변부형, 박지하, 이은숙, 최해윤, 이병욱, 서부일. 길경이 고지방식이로 유발된 비만흰쥐의 체중 및 혈청중지질성분의 변화에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2002;17(2):19-28.
5. 조기혁, 서부일, 이은숙, 박지하. 한인진이 고지방식이로 유발된 비만흰쥐에 미치는 효과. 대한본초학회지. 2003;18(3):57-67.
6. 김봉현, 서부일, 이은숙, 김미려, 신순식. 지각과 도인이 고지방식이로 유발된 비만흰쥐에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18(3):69-78.
7. 박지하, 서부일, 이은숙, 백정환, 서해경, 구덕모, 김종대. 체감대보탕이 고지방식이로 유발한 비만 흰쥐에 미치는 영향. 한약응용학회지. 2001; 1(1):110-134.
8. 이기주, 김경요, 전병훈. 태음조위탕이 백서의 비만증 및 유도비만세포에 미치는 효과. 대한동의병리학회지. 1996;10(1):89-98.
9. 박상용, 이병렬. 비만치료를 위한 침구 및 약물치료의 임상적 연구. 대전대학교 한의학연구소 한의학논문집. 1994;2(2):163-185.
10. 정선희, 남상수, 김용석, 이재동, 고형균, 안병철, 박동석, 강성길, 김창환, 이윤호. 비만환자의 전침치료 임상례. 대한침구학회지. 1999;16(3): 39-56.
11. 정영표, 윤여충, 윤대환. 위수의 산사 약침이 고지방식이로 유발된 비만백서에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007;24(4):55-68.
12. 강수우, 위통순, 윤대환. 비수에 대한 나복자 약침이 고지방 식이로 유발된 비만 백서에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007;24(5):113-125.
13. 조희철, 이시형, 신조영, 김강산, 조남근, 권기록, 임태진. 웅담과 우황약침이 지방세포 대사에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2007;24(4): 125-142.
14. 안영성, 성낙술, 함인혜, 최호영. 부평의 면역 및 항암 활성 연구. 대한본초학회지. 2004;19(3):117-127.
15. 이효은, 배성진, 김유정, 양한석, 최재수. 부평초의 화학성분 및 항산화효과에 관한 연구. 생약학회지. 1995; 26(1):97, 98.
16. 신민교. 임상본초학. 영림사. 2000:350, 351.
17. 보건복지부. 한약재 수급 및 유통관리규정, 제2조 2

- 항. 보건복지부 고시 제2006-69호. 2006.
18. Singh R, Artaza JN, Taylor WE, Braga M, Yuan X, Gonzalez-Cadavid NF and Bhasin S. Testosterone inhibits adipogenic differentiation in 3T3 cells: Nuclear translocation of androgen receptor complex with β -catenin and T-cell factor 4 may bypass canonical WNT signaling to down-regulate adipogenic transcription factors. *Endocrinology*. 2006;147:141-154.
 19. Negrel, R. and Dani, C. 2001. Culture of adipose precursor cells and cells of clonal lines from animal white adipose tissue. In *Adipose Tissue Protocols*. G. Ailhaud(ed). Humana Press, Inc., Totowa, NJ. pp 225-237.
 20. Vassault, A. Lactate dehydrogenase: UV-method with pyruvate and NADH. In Bergmeyer, H.U., J. Bergmeyer and M. Grassl (eds) *Methods of Enzymatic Analysis*. III. Enzyme 1: Oxidoreductase, Transferases. Verlag-Chemie, Weinheim. 1983:118-126.
 21. Wise, L.S. and Green, H. Participation of one isozyme of cytosolic glycerophosphate dehydrogenase in the adipose conversion of 3T3 cells. *J. Biol. Chem*. 1979;254:273-275.
 22. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*. 1976;72:248-254.
 23. Rodbell, M. 1964 Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J. Biol. Chem*. 239:375-380.
 24. Zalatan, F., Krause, J.A. and Blask, D.E. 2001. Inhibition of isoproterenol-induced lipolysis in rat inguinal adipocytes in vitro by physiological melatonin via a receptor-mediated mechanism. *Endocrinology* 142:3783-3790.
 25. McGowan, M.W., Artiss, J.D., Strandbergh, D.R. and Zak, B. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem*. 29:538-542.
 26. Steel, R.G.D. and Torre, J.H. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*, 2nd ed, McGraw-Hill, New York, pp187-188.
 27. 楊維傑, 黃帝內經靈樞譯解. 서울: 일중사. 1991;303-319, 412-417.
 28. 조금택. 中醫症狀鑑別診斷學. 서울: 고려의학. 1995;171, 378-388.
 29. 홍원식. 교정황제내경. 동양의학연구원출판부. 1991;61, 94, 219, 220, 275.
 30. 김정연, 송용선. 비만에 대한 동서의학적 고찰. *동의물리요법과학회지*. 1993;3(1):299-314.
 31. 조홍건, 김병탁. 비만증의 원인과 병기 및 치료에 관한 문헌적 고찰. *대전대논문집*. 1992;1(2):61-71.
 32. 이진목, 김경식, 장종덕, 김기영. 부자 경구투여 및 족삼리 약침이 정상백서의 체중, 혈청의 변화에 미치는 영향. *대한침구학회지*. 1999;16(1):269-282.
 33. 이종립, 정석희, 이종수, 김성수, 신현대. 방기황기탕의 혈위 주입이 비만에 미치는 영향. *한방재활의과학회지*. 2001;11(1):297-315.
 34. 차윤엽. 비기허약침이 복부비만에 미치는 효과에 관한 임상적 고찰. *대한한방비만학회지*. 2004;4(1):61-65.
 35. 주준성, 채우석, 신미숙, 나창수. 비만치료를 위한 경혈 및 약물에 관한 고찰. *대한경락경혈학회지*. 2003;20(3):148.
 36. 송미영, 김호준, 이명중. 비수술적 부분비만 치료 효과에 관한 근거 중심적 연구. *대한한방비만학회지*. 2006;6(1):1-10.
 37. 國家藥典委員會. 中華人民共和國藥典(一部). 化學工業出版社. 중국 :2000:243.
 38. Suh, S. S. and Shin, J. S.: Studies on phytosterols. *Yakhak Hoe Chi*. 1969;13:144-146.
 39. Chi. H. J.: Irridoid-containing Korean Medicinal plants(I). *Kor. J. Pharmacog*. 1981;12(1):19-22.
 40. Harborne, J. B.: The natural distribution in angiosperms of anthocyanins acylated with aliphatic dicarboxylic acids. *Phytochemistry*. 1986;25(8):1887-1894.