

원저

## 고지방 식이로 유도된 비만 생쥐에서 창출약침의 항비만 효과

유은주 · 서병관 · 남상수 · 강성길

경희대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

#### Anti-obesity Effect of *Rhizoma Atractylodis* Herbal Acupuncture in High Fat Diet-induced Obese ICR Mouse

Youh Eun-joo, Seo Byung-kwan, Nam Sang-soo and Kang Sung-keel

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

**Objectives** : The aim of this study was to investigate the anti-obesity potential and mechanisms of action of *Rhizoma Atractylodis*(RA) herbal acupuncture in high fat diet- induced obese ICR mice.

**Methods** : Sample solutions for herbal acupuncture were prepared from the *Rhizoma Atractylodis* water extract powder at concentration of 150mg/kg and 300mg/kg with distilled water. Five week-old ICR mice acclimatized to the laboratory environment for 1 week were allocated into four groups: regular diet group (RD), high fat diet group(HFD), groups fed HFD with 150mg/kg RA herbal acupuncture treatment (RAE 150) and with 300mg/kg RA herbal acupuncture treatment(RAE 300). Herbal acupuncture groups were injected with either 150mg/kg or 300mg/kg of *Rhizoma Atractylodis*(RA) subcutaneously onto both *Sinsu* (BL<sub>23</sub>) alternately on the same time everyday for 30days. Body weight, gross appearance of epididymal fat area, blood glucose, insulin, insulin resistance(HOMA-IR), non-esterified fatty acid, cholesterol, triglyceride, AST, ALT, histological analysis of white adipose tissue, gene expression responsible for adipocyte differentiation and AMPK activation were analyzed.

**Results** : RA herbal acupuncture inhibited the development of weight gain, hyperglycemia, hyperinsulinemia, hyperlipidemia, increases of AST and ALT, and the enlargement of fat cell size induced by HFD. Also, RA herbal acupuncture inhibited the expression of PPAR- $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , aP2, LPL, FAS, SCD-1 and enhanced the activation of AMP-activated protein kinase.

**Conclusions** : The results of this study demonstrate that RA herbal acupuncture can exert the anti-obesity effect and it is partially mediated by activation of AMPK and inhibition of the gene expressions responsible for adipocyte differentiation. Further studies will be required to ascertain the anti-obesity effect and mechanisms of action of RA herbal acupuncture in animal models and human for

· 접수 : 2010. 10. 19. · 수정 : 2010. 11. 30. · 채택 : 2010. 11. 30.  
· 교신저자 : 강성길. 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 한의과대학 침구학교실  
Tel. 02-958-9200 E-mail : kskacu@hanmail.net

aclinical application.

**Key words** : *Rhizoma Atractylodis*, herbal acupuncture, high fat diet, obesity, hyperglycemia, hyperlipidemia, adipocyte differentiation, AMPK

## I. 서론

비만은 에너지 불균형에 의하여 과도하게 지방이 침착되는 만성질환으로<sup>1)</sup>, 유전적·영양적·환경적 및 사회적 요인 등 다양한 원인들이 관여하는 복잡한 증후군이다<sup>2)</sup>. 비만환자에서 제2형 당뇨병, 고혈압, 심혈관질환, 고관절 및 슬관절 등 체중지지관절의 골관절염, 악성종양, 폐쇄성 수면무호흡증, 당뇨병 등 동반질환의 발생률이 높으며, 체질량 지수가 30kg/m<sup>2</sup>를 초과하는 경우 사망률의 증가와 관련된다<sup>3,4)</sup>. 우리나라 성인 비만 인구는 계속 증가하고 있어 30.6%에 이르며<sup>5)</sup>, 복부비만(허리둘레 90cm(남성), 85cm(여성) 이상) 비율은 23.4%와 23.1%이며, 분류기준에 따라 다르나 한국인 대사증후군 유병률은 15~30%로 보고되고 있는데<sup>6)</sup>, 동맥경화성 이상지질혈증, 고혈압, 인슐린 저항성과 포도당 불내인성, 전혈전상태(prothrombotic state), 전염증상태(proinflammatory state) 등 다양한 대사 이상을 포괄한다<sup>7,8)</sup>. 현재 비만의 치료를 위하여 식이요법, 운동요법, 행동요법 등 생활습관을 교정하는 방법과 약물치료 및 수술적 치료법 등이 시행되고 있으나, 식욕억제제(Reductil, 성분명 Sibutramine)와 지방 소화 억제제(Xenical, 성분명 Orlistat) 등의 약물은 다양한 부작용과 사용상의 금기로 인한 단점이 존재한다<sup>9)</sup>. 현재 한방 임상에서는 한약치료, 침요법, 구요법, 이침요법, 대장세척 등 복합요법을 통하여 효과적으로 비만을 치료하고 있는데<sup>10)</sup>, 특정 약물을 활용한 치료방법의 평가와 그 기전에 대한 연구가 이루어지고 있지 못한 실정이다.

창출은 한의학 임상에서 널리 사용되는 약재 중 하나로, 《동의보감》에 수록된 처방만 232종이 된다<sup>11)</sup>. 창출은 국화과(Compositae)의 삼주속(*Atractylodes*)의 근경으로서<sup>12)</sup>, 주피가 붙어 있고 불규칙하게 구부러진 원주형 또는 덩어리로 바깥 면이 갈색의 약재로 그 효능에 있어 芳香化濕藥으로 분류되며<sup>13)</sup>, 性溫, 味苦辛, 無毒하여 上中下焦의 濕疾을 다스려서 조습건

비, 거풍습의 효능이 있어<sup>14)</sup>, 다양한 복합 탕약에서 효과적으로 비만을 개선시킴이 보고되고 있다<sup>15-18)</sup>. 창출은 위장관의 움직임을 개선시키는 효능 이외에<sup>19,20)</sup>, platelet aggregation 억제 효과가 있으며<sup>21)</sup>, 면역력을 강화시키고<sup>22)</sup>, 안태작용이 있으며<sup>23,24)</sup>, 무산소성 손상을 억제하는 효과가 있으며<sup>25)</sup>, 특히 이뇨효과<sup>26)</sup>와 혈압강압효과<sup>27)</sup>, 혈청 중 cholesterol 감소효과<sup>28)</sup>가 보고되었고, 창출약침을 豐隆·陽陵泉 穴位에 시행하여 체중, 식이섭취량, HDL, TG, free fatty acid, AST, ALT의 감소를 보고한 연구가 있으나<sup>29)</sup>, 腎俞(BL<sub>23</sub>)에 시행한 창출약침의 항비만, 항고지혈, 항고혈당 효과에 대한 기전 연구는 현재까지 보고되지 않았다.

이에 본 연구에서는 고지방식이로 유도된 비만 생쥐에서 蒼朮藥鍼을 腎俞(BL<sub>23</sub>)에 시행한 후, 체중변화, 혈청학적 지표, 지방조직의 형태학적 소견, 지방분화 관련 유전자 및 AMPK 활성을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고한다.

## II. 대상 및 방법

### 1. 실험재료

본 연구에서 사용한 창출(*Rhizoma Atractylodis*)은 경희한약(서울, 한국)에서 구입하였고 창출 100g에 물 1L를 첨가하여 열수 추출하고 추출 여과액을 감압농축(60℃)한 다음 동결 건조하여 얻은 분말가루를 각각 150mg/kg, 300mg/kg의 농도로 distilled water에 약침액으로 준비하여 사용하였다. 약침주입기는 1.0ml의 약침주입기(주사침 26gauge, 녹십자의료공업사, 한국)를 사용하였다.

### 2. 실험동물

실험에 사용한 마우스는 5주령의 웅성 ICR 마우스

를 (주) 오리엔트(Sungnam, Korea)에서 구입하였다. 실험동물은 plastic mouse cage에 보관하여 동물실험실에서 23±2°C, 상대 습도 50±10%, light/dark cycle (12/12hr)의 조건하에서 사육하였으며, 물과 사료는 자유로이 섭취하도록 하여 실험시작 전 일주일 동안 환경에 적응시켰고, 경희대학교 Institutional Animal Ethics Committee의 규정을 따랐다. 실험 동물은 RD군(regular diet군), HFD군(high fat diet군), RAE 150군(HFD + 150mg/kg 약침군), RAE 300군(HFD + 300mg/kg 약침군)으로 나누었으며 30일 동안 매일 腎俞(BL<sub>23</sub>) 상응혈위에 하루 한 번씩 일정시간에 좌우 교대로 창출약침을 피하에 시침하였다. 각 실험군

은 8마리씩 나누었고 체중과 혈당은 주 2회 측정하였다. 본 실험에 사용한 정상식이와 고지방식이(Lab-diet, USA)의 조성은 Table 1과 같다.

### 3. 혈액지표분석

혈액지표분석을 위한 혈액채취는 12시간 절식 후 실시하였다. 채혈한 혈액은 5,000rpm에서 5분간 원심 분리한 후 혈청을 분석에 사용하였다. 혈중 포도당, 중성지방, 총 콜레스테롤, 유리지방산(non-esterified fatty acid, NEFA), sAST, sALT 측정을 위해서 시판 kit (Stanbio, Boerne, Texas, USA)를 구입하여 생화학 분석기기(SMARTLAB, USA)를 사용하여 측정하였고 혈중 인슐린 농도는 마우스 insulin ELISA kit (Shibayagi, Japan)를 구입하여 ELISA reader(Lab-systems, Finland)로 측정하였다. 인슐린 저항성지수(HOMA-IR)는  $\text{glucose(mM)} \times \text{insulin}(\mu\text{U/ml}) / 22.5$ 로 계산하였다<sup>30)</sup>.

### 4. 지방의 형태학적 관찰

실험동물에서 적출한 부고환 조직(epididymal adipose tissue)을 10% neutral buffered formalin을 사용하여 고정하고 탈수 및 포매 과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하여 두께 5 $\mu\text{m}$ 의 관상 절편으로 제작하였다. 이후 xylene을 사용하여 파라핀을 제거시키고, 100, 95, 90, 80, 70% 알코올로 친수화시킨 다음, hematoxylin & eosin으로 염색하고 다시 탈수과정을 거쳐 Canada balsam으로 봉입하고 광학현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

### 5. RNA 추출 및 RT-PCR

부고환 지방조직에서 total RNA는 guanidine thiocyanate-water saturated phenol/chloroform 분리 방법을 이용하여 분리하였다. 물 층에 있는 total RNA는 isopropyl alcohol을 이용하여 침전시키고 분리한 RNA는 260nm와 280nm 파장에서 흡광도를 측정하여 정량하였으며 총 RNA 1 $\mu\text{g}$ 을 Moloney murine leukemia virus transcriptase와 Oligo(dT)15 primer를 이용하여 역전사하였다. Primer 종류 및 서열은 Table 2에 표시한 바와 같다. Primer는 20mM Tris-HCl(pH 8.4), 50mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5mM dNTP, 5 $\mu\text{l}$  cDNA 그리고 2.5unit의 Taq DNA polymerase가 포

Table 1. Composition of the Experimental Diets

	RD 10% kcal		HFD 45% kcal	
	gm%	kcal%	gm%	kcal%
Protein	19.2	20	24	20
Carbohydrate	67.3	70	41	35
Fat	4.3	10	24	45
Total		100		100
kcal/gm	3.85		4.73	
Ingredient	gm	kcal	gm	kcal
Casein, 80 mesh	200	800	200	800
L-cystine	3	12	3	12
Corn starch	315	1,260	72.8	291
Maltodextrin 10	35	140	100	400
Sucrose	350	1,400	172.8	691
Cellulose, BW 200	50	0	50	0
Soybean Oil	25	225	25	225
Lard	20	180	177.5	1,598
Mineral mix S10026	10	0	10	0
Dicalcium phosphate	13	0	13	0
Calcium carbonate	5.5	0	5.5	0
Potassium citrate	16.5	0	16.5	0
Vitamin mix V10001	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0
FD&C yellow dye #5(RD), red dye #40(HFD)	0.05	0	0.05	0
Total	1,055.05	4,057	858.15	4,057

RD : regular diet. HFD : high fat diet.

Table 2. Characteristics of Specific Primers Used for RT-PCR Analysis

Gene	Forward primer(from 5' to 3')	Reverse primer(from 5' to 3')	Annealing temperature(°C)
PPAR- $\gamma$	GCGCTACCGGTCTTCTATCA	TGCTGCCAAAAGACAAGCG	57
C/EBP $\alpha$	GATCCTGGAACGAGAACAC	AGACTCGTGGAACACGGTGGT	57
aP2	CGAGGGTTGGTTGTTGATCTGT	ATAGCACTGTTGGCCCTGGA	57
LPL	GGTAGTGGATACTCTGTCTGTC	CATCAGCAACATCATTCCGGT	66
FAS	CCCTGAACATCGAGTGTCTGA	CTTGCCCAGAGATTTGAGGTCCT	57
SCD-1	TCCTCTGACATTTGCAGGTCTATC	GTGAATCCAGTTATGGGTCCAC	51
$\beta$ -actin	GTCGTACCACTGGCATTGTG	GCCATCTCCTGCTCAAAGTC	57

함되어 있는 25 $\mu$ l의 반응 용액에 각각의 최종 농도가 0.5 $\mu$ M이 되도록 첨가하였다. PCR 조건은 95°C에서 1분 동안 변성, 30초 동안 붙임(상응한 붙임 온도는 Table 2에 표시), 72°C에서 1분 동안 연장을 하여 총 30 cycle 하였다. 이후 반응 생성물을 0.5 $\mu$ g/ml ethidium bromide로 염색된 1% agarose gel을 이용하여 100V에서 전기영동 하였다.  $\beta$ -actin은 증폭된 유전자들의 대조군으로 사용되었다.

### 6. 단백질 추출 및 Western blot

부고환 지방조직을 lysis buffer(50mM Tris-HCl pH 7.5, 1mM EDTA, 0.25% sucrose, 0.4mg/ml digitonin, 1.5mM PMSF)와 함께 균질화시킨 후 단백질을 4°C에서 20분간 12,000rpm 속도로 원심 분리하였다. 단백질 정량은 Bio-Rad assay reagent(Bio-Rad, USA)를 이용하여 측정하였고 분석한 단백질 30 $\mu$ g을 SDS-PAGE로 분리한 후 gel membrane에 transfer하고 5% skim milk로 상온에서 1시간 blocking한 후 1:1,000 비율로 희석시킨 primary antibody와 4°C에서 overnight 반응하였다. 다음 Tris-buffered saline tween-20(TBST)로 3번 washing한 후 1:2,000 비율로 희석시킨 secondary antibody와 상온에서 1시간 반응시켰다. 이후 TBST로 3번 washing하고 ECL solution(Amersham, Sweden)을 이용하여 X-ray 필름에 developing하였다.

### 7. 자료분석 및 통계처리

모든 실험 결과는 Sigma Plot(Ver. 8.0, SPSS Inc, USA)을 이용하여 분석하였으며, 분석결과는 mean $\pm$ SE로 나타내었다. 각 군의 결과값에 대해 one-way ANOVA 분석 후 Duncan's multiple range test를 이

용하여  $p < 0.05$  이하인 경우 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

## III. 결 과

### 1. 체중변화

고지방식이로 비만을 유도 하면서 실험기간 동안의 체중변화를 측정된 결과 고지방식이 대조군(HFD군)은 정상식이군(RD군)에 비하여 체중증가가 현저하였고 회복하였을 때 현저하게 많은 내장지방의 분포를 나타내었다. 반면 창출약침군(RAE 150군 및 RAE 300군)은 HFD군에 비하여 낫났고 내장지방도 적게 나타났(Fig. 1-A). 실험기간 동안의 체중변화에서 비만 유도 전에는 각 군 간의 체중이 차이가 없었으나, 실험 10일 후부터 HFD군이 RD군보다 체중이 유의하게 증가하기 시작하였으며 시간이 지날수록 차이가 더 크게 벌어졌다(Fig. 1-B). 시료투여 종료 후

Table 3. Effects of RA Herbal Acupuncture on Body Weight and Weight Gain

Group	Body weight(g)		Weight gain(g)
	Initial	Final	
RD	31.8 $\pm$ 0.9	35.9 $\pm$ 1.1	4.1 $\pm$ 0.8
HFD	31.9 $\pm$ 0.9	43.7 $\pm$ 2.5 <sup>†††</sup>	10.8 $\pm$ 1.7 <sup>††</sup>
HFD+RAE 150	31.7 $\pm$ 2.3	39.7 $\pm$ 0.4 <sup>*</sup>	7.0 $\pm$ 2.6 <sup>**</sup>
HFD+RAE 300	31.6 $\pm$ 1.4	38.2 $\pm$ 0.4 <sup>**</sup>	5.6 $\pm$ 1.2 <sup>***</sup>

RD : regular diet group. HFD : high fat diet group.  
 RAE : RA(150mg/kg, 300mg/kg) herbal acupuncture groups.  
 Values represent the mean $\pm$ S.E.(n=8).  
<sup>††</sup> :  $p < 0.01$ , <sup>†††</sup> :  $p < 0.001$  vs. RD, \* :  $p < 0.05$ . \*\* :  $p < 0.01$ .  
 \*\*\* :  $p < 0.001$  vs. HFD

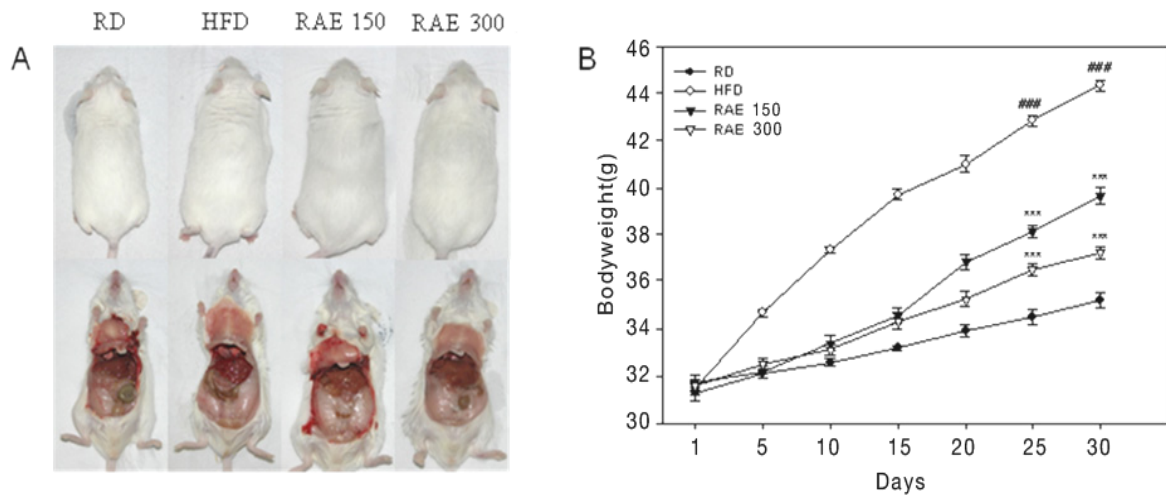


Fig. 1. Gross appearance of whole body and abdomen A, and comparison of body weight during 30-day administration of *Rhizoma Atractylodis*(RA) herbal acupuncture B

RD : regular diet group. HFD : high fat diet group. RAE : RA(150mg/kg, 300mg/kg) herbal acupuncture groups. Animals were subcutaneously injected into both *Sinsu*(BL<sub>23</sub>) everyday alternately with either distilled water or RA herbal acupuncture(150mg/kg, 300mg/kg) respectively for 30days. Values represent the mean±SE(n=8). \*\*\* :  $p < 0.001$  vs. HFD. ### :  $p < 0.001$  vs. RD.

각 군 간의 체중 및 체중증가를 관찰한 결과, HFD군은 RD군에 비해 체중이 263% 증가하였으나, RAE 150군 및 RAE 300군은 HFD군에 비해 각각 35.2% ( $p < 0.01$ ) 및 49.2% ( $p < 0.001$ ) 체중 증가가 억제되었다 (Table 3).

## 2. 혈당, 인슐린 및 인슐린 저항성 지수

30일 동안 시료를 투여하고 12시간 fasting 후의 혈당변화에서 HFD군은 RD군에 비하여 255% 증가하였으나 RAE 150군 및 RAE 300군은 HFD군에 비해 각각 13.6% 및 38.4%씩 유의하게 감소하였다. 인슐린도 HFD군은 RD군에 비하여 209% 증가한 반면 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군에 비하여 각각 11.1%, 33.5%씩 약침 농도의존적으로 감소하였다. 인슐린 저항성 지수(HOMA-IR)도 HFD군이 RD군에 비해 5.4배나 증가하였고 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군에 비해 약침 농도의존적으로 각각 22.3%, 62.8%씩 감소하였다(Table 4).

## 3. 혈중 지질 지표

30일 동안 시료를 투여한 후 12시간 절식 후 공복 상태의 실험동물의 혈액에서 유리지방산(NEFA), 총 콜레스테롤(TC), 중성지방(TG), 간 기능을 나타내는

Table 4. Effects of RA Herbal Acupuncture on Plasma Glucose, Insulin and Homeostasis Model Assessment Values for Insulin Resistance(HOMA-IR)

Group	Glucose (mmol/l)	Insulin ( $\mu$ U/ml)	HOMA-IR
RD	4.9±2.0	48.3±3.2	10.5±1.6
HFD	12.5±3.2 <sup>***</sup>	101.2±11.7 <sup>***</sup>	56.2±2.8 <sup>***</sup>
HFD+ RAE 150	10.8±0.3*	90.0±8.4*	43.7±3.5*
HFD+ RAE 300	7.7±0.2**	67.3±3.2 <sup>***</sup>	21.4±0.8 <sup>***</sup>

RD : regular diet group. HFD : high fat diet group. RAE : RA(150mg/kg, 300mg/kg) herbal acupuncture groups. Plasma glucose and insulin levels were analyzed in plasma samples obtained from blood of 12h-fasted mice. Homeostasis model assessment was used to calculate an index of insulin resistance as  $\text{insulin}(\mu\text{U/ml}) \times \text{glucose}(\text{mM}) / 22.5$ .

Values represent the mean±S.E.(n=8).

<sup>\*\*\*</sup> :  $p < 0.001$  vs. RD, \* :  $p < 0.05$ . \*\* :  $p < 0.01$ .

<sup>\*\*\*</sup> :  $p < 0.001$  vs. HFD.

효소(AST, ALT)를 측정하였다. 혈중 NEFA의 경우 HFD군은 RD군에 비해 204% 증가하였고 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군보다 각각 60.6%, 60.5% 감소하였다. 총 콜레스테롤의 경우 HFD군은 RD군에 비하여 26% 유의하게 증가하였으나 RAE 150군 및 RAE 300군은 HFD군에 비하여 차이를 나타내지 않았다. 중성지방의 경우 HFD군은 RD군에 비해 233%

Table 5. Effects of RA Herbal Acupuncture on Plasma Lipid Levels

Group	RD	HFD	HFD + RAE 150	HFD + RAE 300
NEFA	1,285.3±44.7	2,628.6±200.0 <sup>†††</sup>	1,040.7±71.3 <sup>***</sup>	1,036.0±153.5 <sup>***</sup>
TC(mg/dL)	151.5±12.7	191.8±4.1 <sup>††</sup>	202.7±12.1	181.0±38.5
TG(mg/dL)	78.7±11.7	183.7±11.0 <sup>†††</sup>	112.7±20.5 <sup>**</sup>	101.9±5.3 <sup>***</sup>
AST(U/L)	10.2±12.3	60.4±14.9 <sup>†††</sup>	90.2±8.1	69.4±8.6
ALT(U/L)	20.6±12.6	82.1±7.2 <sup>†††</sup>	29.0±13.9 <sup>**</sup>	26.7±2.8 <sup>***</sup>

RD : regular diet group. HFD : high fat diet group. RAE : RA(150mg/kg, 300mg/kg) herbal acupuncture groups. Non-esterified fatty acid(NEFA). Total cholesterol(TC).Triglyceride(TG). AST and ALT were analyzed in plasma samples obtained from blood of 12h-fasted mice. Values represent the mean±S.E.(n=8). †† :  $p < 0.01$ . ††† :  $p < 0.001$  vs. RD. \*\* :  $p < 0.01$ . \*\*\* :  $p < 0.001$  vs. HFD.

현저한 증가를 보였고 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군과 비교 시 각각 38.7%, 44.6% 감소하여 약침 농도의존적으로 감소하는 경향을 보였다. AST의 경우 HFD군이 RD군에 비해 5.9배로 증가하였지만 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군과 차이를 보이지 않았다. 반면 ALT의 경우 HFD군에 비해 RAE 150군 및 RAE 300군에서 각각 64.7%, 67.5%씩 유의하게 감소하여 RD군과 거의 비슷한 수치를 나타내었다(Table 5).

#### 4. 지방조직의 형태학 관찰

H & E 염색을 통하여 white adipose tissue에 속

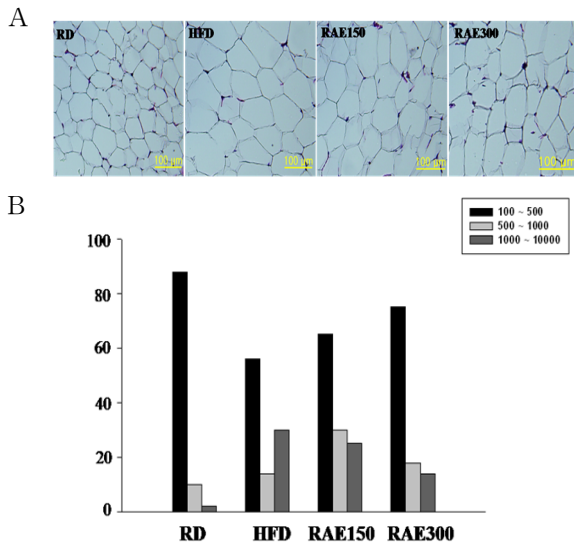


Fig. 2. Effect of RA herbal acupuncture on morphology of the epididymal adipose tissues A, and numbers of adipocytes between different ranges of size were shown using an image analysis program B

RD : regular diet group. HFD : high fat diet group. RAE : RA(150mg/kg, 300mg/kg) herbal acupuncture groups.

하는 부고환지방의 형태를 관찰한 결과 HFD군은 RD군에 비하여 지방세포의 크기가 커진 반면 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군보다 약침 농도의존적으로 작아졌다(Fig. 2-A). 면적별 지방세포 수도 HFD군에서는 RD군에 비하여 면적이 큰 지방세포 수가 많았지만 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군보다 수가 적게 나타났다(Fig. 2-B).

#### 5. 지방분화관련 유전자 발현

지방분화에 관계된 전사인자인 peroxisome proliferator-

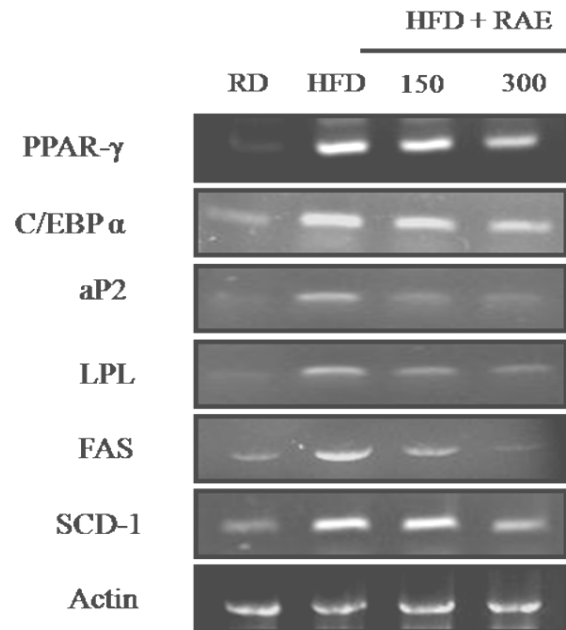


Fig. 3. Effects of RA herbal acupuncture on transcriptional factors for adipocyte differentiation in epididymal tissues

RD : regular diet group. HFD : high fat diet group. RAE : RA(150mg/kg, 300mg/kg) herbal acupuncture groups.

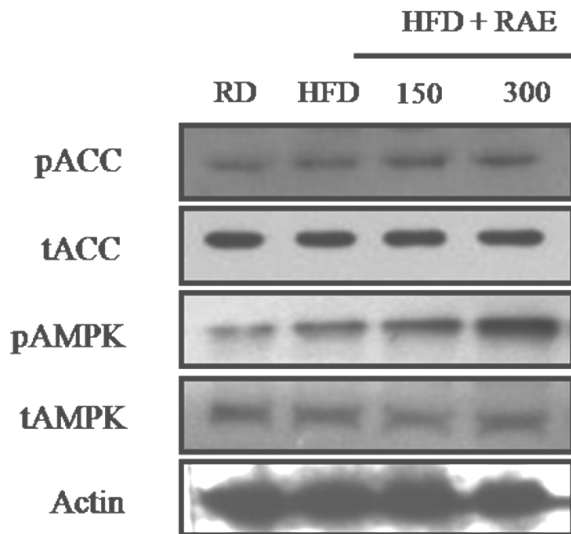


Fig. 4. Effects of RA herbal acupuncture on AMPK and ACC phosphorylation in epididymal tissue  
RD : regular diet group. HFD : high fat diet group.  
RAE : RA(150mg/kg, 300mg/kg) herbal acupuncture groups.

activated receptor- $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ ), CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ )와 표적 유전자인 fatty acid binding protein(ap2), lipoprotein lipase(LPL), fatty acid syntase(FAS), stearoyl-CoA desaturase-1(SCD-1)에 대하여 RT-PCR 분석 결과, HFD군에서 RD군에 비하여 두 전사인자 PPAR- $\gamma$ 와 C/EBP $\alpha$ 의 발현 및 표적 유전자 ap2, LPL, FAS, SCD-1의 발현이 큰 폭으로 증가되었으며, RAE 150군 및 RAE 300군에서는 HFD군에 비하여 전사인자 및 유전자들의 발현이 모두 유의하게 약침 농도의존적으로 억제되었다(Fig. 3).

## 6. AMPK 경로

AMP-activated protein kinase(AMPK)와 acetyl-CoA carboxylase(ACC)에 대한 western blot analysis 결과, RD군 및 HFD군에서 pAMPK, pACC 단백질은 거의 발현되지 않았지만 RAE 150군 및 RAE 300군에서는 약침 농도의존적으로 단백질들의 발현이 증가되었다(Fig. 4).

## IV. 고 찰

비만으로 인한 만성질환과 그로 인한 사회경제적 비

용으로 인한 부담이 증가되고 있다. 전 세계적으로 10억명 이상의 인구가 과체중 상태이고, 3억 명 이상이 임상적으로 비만한 상태이며<sup>31)</sup>, 우리나라 성인의 30.6%가 비만이며(남성 32.4% 여성 29.4%), hormonal transition 시기의 중년 그룹과 임신준비 등으로 인한 영양 불균형 및 육체적 활동이 감소된 청소년기 그룹을 중심으로 지속적으로 증가되고 있다<sup>5)</sup>. 비만은 미용적 손상과 더불어 동맥경화성 이상지질혈증, 고혈압, 인슐린 저항성(insulin resistance) 및 포도당 불내인성(impaired glucose tolerance), 혈액 내 피브리노겐 등이 증가되어 있는 전혈전 상태(prothrombotic state), 혈액 내 CRP가 상승되어 있는 전염증 상태(proinflammatory state) 등 심혈관질환 관련 위험도의 증가를 동반한다<sup>8)</sup>. 비만의 치료에 사용되는 약물요법은, 혈압상승, 구강건조, 배변습관의 변화, 두통, 불면 등 다양한 부작용이 상존하며 비용이 많이 들고, 환자가 거부감을 느끼는 한계로 인해<sup>32,33)</sup>, 한약치료, 침요법, 구요법, 이침요법, 대장세척 등 복합적인 한방치료를 통한 비만진료의 수요는 지속적으로 증가되고 있다<sup>10)</sup>.

창출은 국화과의 다년생 초목인 가는잎삼주 *Atractylodes lancea* DC. 또는 만주삼주 *A. Chinensis* Koidzumi 의 근경으로, 燥濕建脾, 去風散寒, 脘腹脹滿, 泄瀉, 水腫, 脚氣, 風濕痺痛, 風寒感冒 등을 치료하여<sup>13)</sup> 임상에서 다용되는 약제이다. 위장관 활동성 개선효과<sup>19,20)</sup>, 항혈전효과<sup>21)</sup>, 면역력 강화 효과<sup>22)</sup>, 안대작용<sup>23,24)</sup>뿐 아니라, 이뇨효과<sup>26)</sup>와 혈압 강압효과<sup>27)</sup> 및 콜레스테롤 저하효과<sup>28)</sup>가 보고되고 있어서 비만 및 그 합병증 치료에 효과적일 것으로 사료된다. 현재 한의학 임상에서는 복합처방으로 체중감소, 총 지방무게 감소 등 항비만, 대사 이상 개선 효과가 있어서 비만의 치료를 위하여 널리 활용되고 있다<sup>18)</sup>. 채 등<sup>17)</sup>은 창출 함유 복합당약(항비산) 경구투여가 C57BL/6J ob/ob mice에서 체중, 간조직, 혈액 지질 조성을 개선 시킴을 보고하였으며, 공 등<sup>16)</sup>은 창출 함유 복합처방(오정환)의 경구투여가 혈청 중 glucose와 total cholesterol, triglyceride, free fatty acid의 유의한 감소와, HDL-cholesterol 함량 증가 효과가 있으며, 이는 polyol pathway에 관여하는 효소들의 활성을 조절하며 아울러 활성산소를 소거시켜 oxidative stress를 감소시킴과 관련있음을 보고하였다. 또 최 등<sup>15)</sup>은 창출 포함 복합제제(소평탕) 경구 투여가 streptozotocin 유발 당뇨 쥐에서 혈당강하 효과를 발휘하며, 간과 신장 무게의 증가를 억제하고 XOD 활성 감소 효과를 발휘하여, 당뇨 및 그 합병증 치료뿐 아니라 산화 스

트레스의 감소에도 유효함을 보고하였다. 창출 함유 복합 약물의 항비만, 항대사 이상 효과뿐 아니라, 창출 단일 약물의 항비만, 항대사 이상 효과에 대한 다양한 보고가 있는데, 주 등<sup>29)</sup>은 고지방식이로 유발된 비만 흰쥐에 풍릉·음릉천에 창출약침을 시행하여 체중 증가와 식이효율이 유의하게 억제되었으며, total cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride, free fatty acid, AST, ALT 수치가 유의하게 감소되었으며, HDL cholesterol을 증가시켜서 비만과 그에 동반된 혈당과 혈중지질의 대사 이상에 대한 개선 효과가 있음을 보고하였다. 금 등<sup>34)</sup>은 창출 경구투여를 통하여 체중은 감소되었으나, 부고환 지방세포의 평균 면적, 간소엽 내 지방면적 비율 변화, Langerhans 소도 내 insulin 면적 비율의 변화에는 모두 유의한 변화가 없었음을 보고하였고, 한 등<sup>28)</sup>은 streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐에게 창출 경구투여를 통하여 평균 식이섭취량을 감소시키고, 혈당감소, 간장과 신장의 비대 억제, 총 콜레스테롤, 중성지방 및 유리지방산 함량의 유의한 감소효과를 보고하여 당뇨상황에서 혈당조절과 동반된 고지혈증 개선에 유효함을 보고하였다.

약침요법은 경락학설에 의거하여 질병과 유관한 혈위, 압통점 혹은 체표의 양성반응점 등에 약물을 직접 주입하여 자극과 약물작용을 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜 질병을 치료하는 鍼療法<sup>35)</sup>로 침자자극, 혈위선정, 약물에 따라 그 효과가 다르게 나타나며, 편리성과 유효성 및 재현성의 장점이 있어 임상과 연구에서 활용이 확대되고 있다<sup>36,37)</sup>.

腎俞(BL<sub>23</sub>)는 第2腰椎棘突起 兩方 1.5寸에 있는 腎의 背俞穴로 滋補腎水, 振氣化, 益水壯火, 培元固本, 利水滲濕하는 효능이 있어<sup>38)</sup>, 신장질환, 방광질환, 생식기능 관련 질환, 虛勞, 頭痛, 耳鳴, 眩暈, 腰痛, 浮腫, 消渴 등 다양한 질환에 응용된다<sup>39)</sup>.

위와 같은 보고를 바탕으로 창출약침이 비만 및 그 합병증에 미치는 효과를 알아보기 위하여, ICR mouse에 고지방식이를 투여하며 비만을 유발하면서 양측 腎俞(BL<sub>23</sub>)의 상응 부위를 취혈하여 좌우 교대로 매일 농도별로 창출약침을 시술하면서 체중의 변화, 전반적 체구의 변화, 혈중 glucose, insulin, TG, TC, NEFA, AST, ALT level 및 insulin resistance를 측정하고 epididymis의 조직학적 분석, PPAR- $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  및 AMPK, ACC의 발현을 관찰하였다.

체중이 증가할수록 당뇨의 발병 위험은 비례하는데<sup>40)</sup>, 고지방식은 과체중을 유발시키며, insulin sensitivity의 손상과 그로 인한 대사성 손상을 유발하여

type II DM, dyslipidemia, hypertension, adipose tissue를 증가시키며<sup>41)</sup>, 총 열량에서 지방이 차지하는 비율에 비례하여 위험도가 높아진다<sup>42)</sup>. 총 열량 중 30% 이상을 지방으로 공급할 경우 다양한 동물에서 비만이 유발되며, 특히 설치류의 경우 insulin resistance의 악화가 두드러진다<sup>43)</sup>. 비만의 유발에는 energy balance가 밀접한 연관이 있는데<sup>44)</sup>, 동물모델에게 섭취열량을 일정하게 고정하고, 지방함량을 늘린 식이를 공급하여 체중의 증가와 함께 insulin resistance, dyslipidemia, fat tissue 침착 및 심혈관계 위험인자가 증가되며<sup>45)</sup>, 체내 지방의 비율이 높은 경우 insulin resistance가 증가하는 경향을 나타내며, 단순히 체중이 증가하는 경우에도 역시 insulin resistance가 증가되는 경향을 보이며, 더불어 심혈관 질환 위험인자 역시 증가하는 경향을 나타낸다<sup>46)</sup>.

본 연구에서는 ICR mouse에 고지방식이를 투여하여, 정상대조군에 비하여 현저한 체중증가, 전반적인 체격의 비만, 복강 내 지방의 분포 증가, 혈청 중 glucose, insulin, insulin resistance(HOMA-IR), lipid profile, LFT 및 white adipose tissue의 크기 증가가 관찰되었다. 이는 고지방식이의 투여로 인한 비만 유도와 더불어 glucose 및 lipid homeostasis의 손상이 유발되어 비만 동물모델이 성공적으로 확립된 것으로 사료된다.

각 실험군별 체중의 증가를 비교하면, 창출약침을 시행하여 고지방식이의 급여에 의한 실험동물의 체중 증가는 농도의존적으로 유의하게 억제되었고, 전체적으로 보아 낫아졌으며, 회복했을 때 내장지방 분포의 증가 역시 현저하게 억제됨이 관찰되었다. 이는 창출약침이 고지방식이 유도에 의한 체중 증가와 지방 조직의 증식을 유의하게 감소시키는 효과가 있는 것으로 볼 수 있다.

또한 white adipose tissue에 속하는 부고환조직을 H & E 염색하여 관찰한 결과, 고지방식이군은 정상대조군에 비하여 지방세포의 크기가 현저하게 커진 반면 창출약침 치료군에서는 고지방식이 대조군보다 지방세포가 농도의존적으로 작아졌으며, 면적별 지방세포 수를 비교한 결과, 창출약침 치료를 시행하여 고지방식이 투여로 인한 면적이 넓은 지방세포 수의 증가가 현저하게 억제된 것이 관찰되었다. 이는 창출약침은 흰색 지방인 부고환지방의 사이즈를 줄여주어 체중 증가를 예방하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈중 glucose의 경우 창출약침 치료를 통하여 고지방식이 투여로 인한 혈중 glucose 수치의 상승을 통계



적으로 유의하게 농도의존적으로 억제함을 관찰하였다. 혈중 insulin level 역시 창출약침 치료를 통하여 고지방식이 투여로 인한 insulin level의 증가를 농도의존적으로 유의하게 억제하였으며, insulin resistance index(HOMA-IR) 역시 창출약침 치료군에서 고지방식이 급여로 인한 HOMA-IR의 상승을 농도 의존적으로 유의하게 억제함을 관찰하였다. 이는 고지방식이 급여로 인해 급격하게 증가되는 인슐린 저항성이 창출약침 치료군에서는 매우 효과적으로 차단되는 것으로 볼 수 있다.

Lipid profile의 경우 정상식이 대조군에 비하여 혈중 NEFA, total cholesterol, triglyceride 농도가 고지방식이 투여를 통하여 유의하게 증가되는데, 창출약침 시행을 통하여 혈중 NEFA, triglyceride의 증가는 통계적으로 유의하게 억제되지만, total cholesterol은 창출약침 300mg/kg 치료군에서는 감소하는 경향을 나타내지만 통계적으로 유의하지는 않았다.

간기능 지표의 경우 창출약침 치료를 통하여 고지방식이 투여로 인한 AST의 증가를 억제하지 못하는 것으로 나타났다. 반면 창출약침 치료군에서는 고지방식이 투여로 인한 ALT의 증가를 유의하게 감소시키며, 정상식이 대조군과 비슷한 수준을 나타내었다. 이전 연구에서 한 등<sup>28)</sup>은 창출의 경구투여를 통해서 AST, ALT 수치의 유의한 감소를 관찰하지 못하였다고 보고하였고, 장 등<sup>47)</sup>은 창출 엑스를 경구투여하여 CCl<sub>4</sub> 유발 간독성에 대한 보호효과가 없으며 오히려 BuOH 분획의 경우 오히려 약간의 독성이 있음을 보고하였지만, 허 등<sup>48)</sup>은 한방 비만 치료 후 비알코올성 지방간 질환과 동반된 AST, ALT, ALP, rGT 등 간기능 검사 수치의 이상을 개선시킴을 보고하였다. 이전의 연구와 본 연구 결과를 종합하면, 본 연구에서의 ALT 감소는 창출약침의 비만 및 dyslipidemia의 개선을 통한 간기능 개선효과에 의한 것으로 볼 수 있으나, 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

지방세포가 분화 될 때 많은 유전자들이 관여한다고 알려져 있는데, 그 중 대표적인 전사인자로는 peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ ), CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ ) 등이 있고 이들의 표적 유전자들로 fatty acid binding protein(aP2), lipoprotein lipase(LPL), fatty acid syntase(FAS), stearoyl-CoA desaturase-1(SCD-1) 등이 알려져 있다<sup>49)</sup>. 지방분화에 관계된 전사인자인 PPAR- $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ 와 표적 유전자인 aP2, LPL, FAS, SCD-1에

대하여 RT-PCR로 분석하였다. 고지방식이 투여로 두 가지 전사인자 PPAR- $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ 의 발현 및 그 표적 유전자 aP2, LPL, FAS, SCD-1의 발현이 큰 폭으로 증가되었는데, 창출약침 치료군에서는 고지방식이 투여군과 비교하여 전사인자 및 표적 유전자들의 발현이 모두 유의하게 농도의존적으로 억제되는 것이 관찰되었다. 따라서 창출약침은 지방분화에 관계된 전사인자와 그 표적유전자의 발현을 억제하여 지방조직의 분화를 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

AMP-activated protein kinase(AMPK)는 세포 내 에너지 센서 단백질로서, 활성화 되었을 때 지방분화 과정의 단백질 합성 신호전달경로를 억제하는 것으로 보고되고 있다. 한편 AMPK의 기질인 acetyl-CoA carboxylase(ACC)는 지방산 합성의 주요 효소이며 AMPK에 의해 인산화되면 활성이 억제된다. ACC는 미토콘드리아에서 지방산 산화를 억제하는 중요한 역할을 하는 malonyl-CoA 합성을 조절하는 율속단계 효소로, AMPK 활성화는 ACC를 억제하고 그 결과 줄어든 malonyl-CoA에 의해 지방산 산화가 촉진된다<sup>50,51)</sup>. 따라서 본 연구에서는 창출약침이 AMPK 인산화를 촉진하여 지방분화과정과 지방산 산화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Western blot으로 AMPK, ACC 단백질의 인산화 정도를 그룹간 비교해 보았다. pAMPK, pACC 단백질은 창출약침 비치료군인 정상식이 대조군과 고지방식이 대조군에서는 거의 발현하지 않았지만 창출약침 치료를 시행한 결과 농도의존적으로 이 단백질들의 발현이 증가함이 관찰되었다. 따라서 창출약침은 지방세포에서 AMPK 인산화를 촉진하여 지방분화과정을 억제하고 지방산 산화를 촉진하여 지방세포의 크기를 줄여주는 효과가 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하면, 고지방식이 급여로 비만을 유도한 ICR mouse의 腎俞(BL<sub>23</sub>) 상응 혈위에 창출약침을 시행하여 지방분화 관련 유전자의 발현을 억제하고 지방산 산화를 촉진하여 체중 증가, 혈중 glucose, insulin 농도, insulin resistance, white adipose tissue의 증식, 혈중 NEFA, cholesterol, triglyceride, ALT 농도의 상승을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 비만과 그 합병증의 예방과 치료를 위하여 창출약침의 시행 조건, 제제화 및 임상에 관한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

창출약침이 비만에 미치는 효과를 알아보기 위하여 ICR mouse에 고지방식이로 비만과 고혈당, 고지혈을 유도하면서 腎俞(BL<sub>23</sub>) 상응 혈위에 일정한 방법으로 창출(150mg/kg, 300mg/kg)약침을 시행하여 체중, insulin resistance, 혈중 glucose, insulin, NEFA, cholesterol, triglyceride, AST, ALT 농도를 평가하고 epididymis의 조직학적 관찰과 지방분화 유전자를 관찰하여 유의한 결과를 얻었다.

1. 창출약침은 고지방식이 투여로 인한 체중의 증가를 억제하였다.
2. 창출약침은 고지방식이 투여로 인한 혈중 glucose, insulin level 및 insulin resistance의 상승을 억제하였다.
3. 창출약침은 고지방식이 투여로 인한 혈중 NEFA, cholesterol, TG, ALT의 상승을 억제하였다.
4. 창출약침은 고지방식이 투여로 인한 지방조직의 증식을 억제하였으며, 지방조직 크기의 분포를 정상화하였다.
5. 창출약침은 고지방식이 투여로 인한 PPAR- $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , aP2, LPL, FAS, SCD-1의 발현 증가를 억제하였다.
6. 창출약침은 AMPK, ACC를 활성화시켰다.

## VI. 참고문헌

1. 박혜순. 비만의 발생 기전과 그 치료를 위한 에너지 조절. 가정의학회지. 2000 ; 22(8) : 1287-95.
2. Peebles R. Adolescent obesity : etiology, office evaluation, and treatment. Adolesc Med State Art Rev. 2008 ; 19(3) : 380-405.
3. 홍은경. 당뇨병 Statement : 성인 비만의 병인 및 관련질환. 임상당뇨병. 2008 ; 9(3) : 148-52.
4. Sullivan PW, Ghushchyan VH, Ben-Joseph R. The impact of obesity on diabetes, hyperlipidemia and hypertension in the United States. Qual Life Res. 2008 ; 17(8) : 1063-71.
5. Kim DM, Ahn CW, Nam SY. Prevalence of obesity in Korea. Obes Rev. 2005 ; 6(2) : 117-21.
6. Park HS, Park CY, Oh SW, Yoo HJ. Prevalence of obesity and metabolic syndrome in Korean adults. Obes Rev. 2008 ; 9(2) : 104-7.
7. Seidell JC. Obesity, insulin resistance and diabetes—a worldwide epidemic. Br J Nutr. 2000 ; 83(Suppl 1) : S5-8.
8. Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, Van Pelt RE, Wang H, Eckel RH. The metabolic syndrome. Endocr Rev. 2008 ; 29(7) : 777-822.
9. 김철희. 비만의 약물치료. 임상당뇨병. 2008 ; 9(3) : 173-7.
10. 이재성, 이성현. 한방치료의 체지방 및 복부비만 감소효과. 대한한방비만학회지. 2001 ; 1(0) : 33-42.
11. 허준. 동의보감. 서울 : 남산당. 2000.
12. 대한약학대학협의회 약전분과학회 편. 대한약전 제7개정해설서. 서울 : 문성사. 2001 : 1093-4.
13. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울 : 영림사. 2004 : 334-6.
14. 허준. 동의보감. 서울 : 남산당. 2000 : 1180.
15. 최정식, 장선규, 조충식, 김철중, 한동운. 소평당이 Streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐의 혈당 및 항산화 효소활성에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2008 ; 29(1) : 90-103.
16. 공태현, 정지천. ob/ob mouse에서 오정환이 혈당, 고지혈증, polyol pathway 및 항산화작용에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2007 ; 28(3) : 57-69.
17. 채명희, 노진구, 전덕영. 유전성 비만 마우스에 대한 항비산의 혈중 콜레스테롤 저하 효과. 한국식품영양과학회지. 2007 ; 36(1) : 27-31.
18. 이윤재, 류은경. 과체중 비만 소아에 대한 한방비만 치료프로그램 효과. 대한한방비만학회지. 2009 ; 9(1) : 45-51.
19. Nakai Y, Kido T, Hashimoto K, Kase Y, Sakakibara I, Higuchi M, Sasaki H. Effect of the rhizomes of *Atractylodes lancea* and its constituents on the delay of gastric emptying. J Ethnopharmacol. 2003 ; 84(1) : 51-5.
20. Yamahara J, Matsuda H, Huang Q, Li Y, Fujimura H. Intestinal motility enhancing effect of *Atractylodes lancea* rhizome. J Ethnopharmacol. 1990 ; 29(3) : 341-4.

21. Nasu Y, Iwashita M, Saito M, Fushiya S, Nakahata N. Inhibitory effects of *Atractylodis lanceae* rhizoma and *Poria* on collagen- or thromboxane A<sub>2</sub>-induced aggregation in rabbit platelets. *Biol Pharm Bull.* 2009 ; 32(5) : 856-60.
22. Li R, Sakwiwatkul K, Yutao L, Hu S. Enhancement of the immune responses to vaccination against foot-and-mouth disease in mice by oral administration of an extract made from *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*(RAM). *Vaccine.* 2009 ; 27(15) : 2094-8.
23. Zhong XH, Shi WY, Ma AT, Gong XC, Zhai XH, Zhang T, Wang XD. Effects of *Radix scutellariae* and *Rhizoma atractylodis* on LPS-induced abortion and the uterine IL-10 contents in mice. *Am J Chin Med.* 2008 ; 36(1) : 141-8.
24. Zhong XH, Zhou ZX, Li TS, Wang EQ, Shi WY, Chu SM. Anti-abortive effect of *Radix scutellariae* and *Rhizoma atractylodis* in mice. *Am J Chin Med.* 2002 ; 30(1) : 109-17.
25. Yamahara J, Matsuda H, Naitoh Y, Fujimura H, Tamai Y. Antianoxic action and active constituents of *atractylodis lanceae* rhizoma. *Tokyo : Chem Pharm Bull.* 1990 ; 38(7) : 2033-4.
26. Satoh K, Yasuda I, Nagai F, Ushiyama K, Akiyama K, Kano I. The effects of crude drugs using diuretic on horse kidney(Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup>)-adenosine triphosphatase. *Yakugaku Zasshi.* 1991 ; 111(2) : 138-45.
27. 고석태, 문영희, 김성오. 창출이 가토의 혈압에 미치는 영향. *대한약학회지.* 1973 ; 17(2) : 103-10.
28. 한혜경, 윤수진, 김건희. 국화과 식물의 섭취가 Streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐의 혈당과 지질 수준에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지.* 2009 ; 38(6) : 674-82.
29. 주준성, 윤대환, 나창수, 조명래, 채우석. 풍릉음릉천에 대한 약침(창출, 의이인)이 고지방식이로 유도된 비만백서에 미치는 영향. *대한침구학회지.* 2004 ; 21(2) : 131-54.
30. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment : insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985 ; 28(7) : 412-9.
31. WHO. Obesity and overweight. 2009.
32. Karamadoukis L, Shivashankar GH, Ludeman L, Williams AJ. An unusual complication of treatment with orlistat. *Clin Nephrol.* 2009 ; 71(4) : 430-2.
33. Thurairajah PH, Syn WK, Neil DA, Stell D, Haydon G. Orlistat(Xenical)-induced subacute liver failure. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005 ; 17(12) : 1437-8.
34. 금연섭, 변성희, 금상찬, 국만, 조용행. 비만 치료 및 예방에 대한 한약의 효능 연구 IV. *대한본초학회지.* 2000 ; 15(2) : 37-43.
35. 강성길. 수침혈위에 관한 연구. *동양의학.* 1985 ; 11(1) : 34-48.
36. 대한침구학회 교재편찬위원회 편저. *침구학(중).* 서울 : 집문당. 2008 : 408-35.
37. 이문호, 손인철. 약침요법의 소개 및 문제점 고찰. *대한침구학회지.* 1998 ; 15(2) : 511-8.
38. 안영기. *경혈학총서.* 서울 : 정보사. 1995 : 362-3.
39. 대한침구학회 교재편찬위원회 편저. *침구학(상).* 서울 : 집문당. 2008 : 136-7.
40. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH, Arky RA, Speizer FE. Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. *Am J Epidemiol.* 1990 ; 132(3) : 501-13.
41. Riccardi G, Giacco R, Rivellesse AA. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin Nutr.* 2004 ; 23(4) : 447-56.
42. Grundy MS, Abate N, Chandalia M. Diet composition and the metabolic syndrome : What is the optimal fat intake? *Am J Med.* 2002 ; 113(9) : 25-9.
43. Storlien LH, Pan DA, Kriketos AD, Baur LA. High fat diet induced insulin resistance. Lessons and implications from animal studies. *Ann NY Acad Sci.* 1993 ; 683 : 82-90.
44. Woods CS, Seeley JS, Rushing AP, D'alessio D, Tso P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J Nutr.* 2003 ; 133 : 1081-7.
45. Axen VK, Dkeakos A, Sclafani A. High dietary fat promotes syndrome X in nonobese rats. *J Nutr.* 2003 ; 133 : 2244-9.

46. Abbasi F, Brown BW, Lamendola C. Relationship between obesity, insulin resistance, and coronary heart disease risk. *J Am Coll Cardiol.* 2003 ; 40 : 937-43.
47. 장일무, 마응천, 김제훈, 염정록, Michio Takido. 출류에 관한 연구(II) : 한국산 창출과 백출의 사염화탄소 간독성에 대한 보간효과 비교. *생약학회지.* 1989 ; 20(2) : 96-100.
48. 허자경, 황덕상, 이창훈, 이경섭. 한방 비만 치료 후 간기능 개선을 보인 비알코올성 지방간 환자 1례 보고. *한방비만학회지.* 2007 ; 7(2) : 85-94.
49. Koppen A, Kalkhoven E. Brown vs white adipocytes : the PPARgamma coregulator story. *FEBS Lett.* 2010 ; 584(15) : 3250-9.
50. Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, Hebrard S, Amouyal C, Mounier R, Foretz M, Andreelli F. Targeting the AMPK pathway for the treatment of Type 2 diabetes. *Front Biosci.* 2009 ; 14 : 3380-400.
51. Steinberg GR, Kemp BE. AMPK in Health and Disease. *Physiol Rev.* 2009 ; 89(3) : 1025-78.