

고지방식이 마우스 비만모델에서 減肥輕身丸(2)에 의한 혈중 중성지방 농도와 내장지방의 변화

신순식, 이희영, 이혜림, 윤미정¹, 이용태²

동의대학교 한의과대학 방제학교실, ²생리학교실 및 한의학연구소, ¹목원대학교 바이오건강학부

ABSTRACT

Gambigyeongsinhwan(2) Reduces Blood Triglyceride Levels and Improves Visceral Fat in High Fat Diet-Fed Obese Male C57BL/6N Mice

Soon-Shik Shin, Hee-Young Lee, Hye-Rim Lee, Mi-Chung Yoon¹, Yong-Tae Lee²

Dept. of Formula Science and ²Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine & Research Institute of Oriental Medicine, Dong-Eui University

¹Dept. of Life Sciences, Mok-Won University

Objectives : We investigated the effects of gambigyeongsinhwan2(GGH(2)) on body weight and examined whether blood triglyceride levels and visceral fat are inhibited by it in high fat diet-fed obese male mice.

Methods : 8 weeks old, high fat diet-fed obese male mice were divided into 5 groups: C57BL/6N normal, control, GGH(2)-1, GGH(2)-2 and GGH(2)-3. After mice were treated with GGH(2) for 8 weeks, we measured body weight gain, food intake, feeding efficiency ratio, fat weight,

-
- 교신저자 : 이용태
 - 부산시 부산진구 양정2동 산45-1 동의대학교 한의과대학 생리학교실
 - Tel : 051-850-8635 E-mail : ytle@deu.ac.kr
 - 접수 : 2011/ 11/ 18 수정 : 2011/ 12/ 12 채택 : 2011/ 12/ 19

plasma leptin and lipid levels. We also did histological analysis for liver and fat on the mice.

Results :

1. Compared with controls, GGH(2)-treated mice had lower body weight gain and adipose tissue weight, the magnitudes of which were prominent in GGH(2)-3.

2. Compared with controls, GGH(2)-treated mice had lower feeding efficiency ratio, the magnitude of which was prominent in GGH(2)-3.

3. Compared with controls, GGH(2)-treated mice had lower blood plasma triglyceride level.

4. Blood plasma AST and ALT concentrations were not changed by GGH(2), indicating GGH(2) do not show any toxic effects.

5. Consistent with their effects on body weight gain, the size of adipocytes were significantly decreased by GGH(2), whereas the adipocyte number per unit area was significantly increased, suggesting that GGH(2) decreased the number of large adipocytes. Hepatic lipid accumulation was decreased by GGH(2).

Conclusions : These results demonstrate that GGH(2) effectively reduces body weight gain, feeding efficiency ratio, blood plasma triglyceride level and improves abdominal fat.

Key word : gambigyeongsinhwan(2), GGH(2), body weight gain, triglyceride

1. 緒 論

鬱金(*Curcuma longa* L.)은 그 氣味가辛苦, 寒하며 그 歸經은 肝, 心, 肺, 膽이다¹⁾. 여기에는 curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, cineole, terpinene, caryophyllene, curcumene, zingiberene, crucumol, curcoline C, turmerone, ar-turmerone, germacrone, curdione 등이 들어 있다²⁾. 清心解鬱의 효능이 있어 심허혈을 예방하고 혈관확장과 혈전형성의 예방에 관여하며, 行氣, 活血, 化瘀 효능이 있어 지질대사를 개선하고 위산분비를 촉진하고 진통작용이 있으며, 利膽退黃 효능이 있어 간

보호, 항염작용, 면역억제작용, 항산화작용을 하고, 그밖에 항알러지작용이 있는 것으로 알려져 있다¹⁾.

決明子(*Cassia obtusifolia* L.)는 그 氣味가 苦甘鹹, 微寒하고, 그 歸經은 肝, 腎, 大腸經이다. 여기에는 emodin, physcion, aloe emodin, chrysophanol, obtusifolin, obtusin, chryso-obtusin, aurantio-obtusin, rhein, emodin-6-glucoside, emodin anthrone, chrysophanol-1-β-gentiobiside, chrysophanic acid-9-anthrone, chrysophanol-1-β-gentiobiside, cassiaside A, nor-rubrofusarin-6-β-glucoside, rubrofusarin-6-O-gentiobiside, rubrofusarin, nor-rubrofusarin, rubrofusarin-6-β-gentiobiside, toralactone, torachryson 등이 들어 있다. 清肝明

目, 利水通便 효능이 있어 항균작용, 항진균작용, 혈압 강하작용, 지질대사 개선작용, 항혈소판 응집작용, 면역기능 증강작용, 간보호작용, 사하작용과 위액분비 촉진작용이 있는 것으로 알려져 있다³⁾.

魔芋(*Amorphophallus rivieri* Durieu[*A. Konjac* K. Koch])는 그 氣味가 辛苦, 寒하다. 여기에는 glucomannan, mannan, glycerol, citric acid, ferulic acid, cinnamic acid, methyl palmitic acid, heneicosene, β -sitosterol, 3,4-dihydroxybenzaldehyde D-glucoside 등이 들어 있다¹⁾. 化痰消積, 解毒散結, 行瘀止痛의 효능이 있어 항암작용, 항염작용, 항균작용, 通便작용, 지질대사 개선작용, 혈당강하작용이 있는 것으로 알려져 있다⁴⁾.

비만인 경우 지방의 분포에 따라 그 위험이 달라지는데, 복부비만인 경우 심혈관 질환의 이환율 및 그에 의한 사망률이 높다고 알려져 있다⁵⁾. 같은 정도의 복부비만 상태에서도 내장지방 축적이 많을수록 인슐린 저항성 및 동맥경화의 위험이 높아지게 된다⁶⁾. 아시아인의 경우 비만의 정도가 같다고 하더라도 내장지방 축적이 심하며⁷⁾, 한국인의 경우 서구인에 비해 비만의 정도가 심하지 않더라도 그와 관련된 심혈관 질환 및 대사증후군의 유병률이 높은 상태이다⁸⁾.

내장지방의 축적이 심할 때 고혈압, 제2형 당뇨병, 고지혈증 등이 단독, 혹은 복합적으로 존재하게 되며^{9,10)}, 이러한 질환들은 일단 발병이 되면 일생동안 이어지면서 완치가 어려우므로 그 예방대책을 세우는 것이 필요하다.

임상에서 울금, 결명자와 마우의 단미를 사용하는 것보다 세 약물을 배제한 감비경신환(2)를 사용한 것이 내장지방 개선효과가 더 있는 것으로 나타나 동물 실험상에서도 같은 효과가 있는지를 검증하고자 본실험을 수행하게 되었다. 본 연구에서는 8주령의 고지방식이 유발 수컷 마우스 비만 모델을 이용하여 감비경신환(2)의 투여가 체중 증가량, 식이효율, 혈중 비만조절 관련 지표와 독성 지표, 지방조직의 무게는 어떻게 변화하는지, 특히

내장지방의 개선에는 어떤 영향을 주는 지에 대해서 조사하였다.

II. 실험재료 및 연구방법

1. 실험재료

1) 실험동물

공시동물로서는 KOATECH(Gyeonggi province, South Korea)에서 공급한 8주령의 C57BL/6N 수컷 마우스 40마리를 사용하였다. 각 군 당 8마리를 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시하고, 이를 실험에 사용하였다.

사육환경은 온도 21 ± 2 °C, 습도 55 ± 5 %, 환기 횟수 15~17 회/hour, 조도 150~300 lux, 그리고 조명은 12시간 명암(점등: 06:00, 소등: 18:00)으로 조정하여 실험 기간동안 일정하게 SPF(specific pathogen free) 상태로 유지하였다. 고형사료(Harlan, USA)와 물은 자유 급이와 급수를 시켰다.

2) 실험물질

실험물질은 減肥輕身丸(2)의 95% 에탄올 추출물을 사용하여 다음과 같이 제조하였다(Table 1).

(1) 감비경신환(2)의 조성약물은 화림제약(Busan, South Korea)에서 구입하고, 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선한 뒤 분말하였다.

(2) 분쇄한 감비경신환(2)(1 kg)을 95% 에탄올로 70°C에서 180분간 초음파 추출하고 No2 필터로 여과하여 농축하였다.

(3) 농축하여 52.13%의 수율을 얻었다.

대조물질은 autoclaved water(멸균수)를 사용하였다.

3) 실험군 및 투여방법

군당 8마리 수컷을 공시하였으며, GGH(2)를 125, 250, 500mg/kg의 농도별로 8주간 경구 투여하였다(Table 2).

Table 1. The composition of GGH(2)

한약명	Ingredient	%
鬱金	<i>Curcuma longa L.</i>	60
決明子	<i>Cassia obtusifolia L.</i>	20
魔芋	<i>Amorphophallus rivieri Durieu</i> [<i>A. Konjac K. Koch</i>]	20
Total amounts		100

Table 2. Experimental groups

Group	Treatment	Number	Sex
Normal	Low fat	7	male
	High fat(45kcal%) + GGH(2)(mg/kg BW)		
Control	water	7	male
GGH(2)-1	125	7	male
GGH(2)-2	250	7	male
GGH(2)-3	500	7	male

2. 연구방법

1) 체중 증가량 측정

GGH(2)-1, GGH(2)-2와 GGH(2)-3이 체중 증가량에는 어떤 변화를 주는지 알아보기 위하여 매주 2회 9주 동안 체중을 측정하고, 이를 근거로 하여 체중 증가량을 계산하였다.

2) 식이효율 측정

GGH(2)-1, GGH(2)-2와 GGH(2)-3이 식욕과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 체중은 매주 2회, 사료섭취량은 매주 1회 9주 동안 측정하였고, 이를 근거로 하여 식이효율을 계산하였다.

3) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 실험시작 9주 후 12시간 절식한 뒤 diethyl ether로 마취한 다음 개복하여 복대정맥에서 혈액 1ml을 채취하였으며, 고속원심분리기(Micro 12, Hanil, Korea)를 이용하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 분리된 혈장은 냉동고(-20℃)에 보관하고 혈액생화학분석기(Selectra 2, Vitalab, Netherlands)를 사용하여 aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, triglyceride, total cholesterol,

high density lipoprotein cholesterol(HDL-cholesterol), low density lipoprotein cholesterol(LDL-cholesterol), free fatty acid, glucose, insulin과 leptin의 혈중 농도를 각각 측정하였다.

4) 동물부검

채혈한 뒤에 부검하여 지방조직, 간장, 췌장, 비장, 심장과 신장의 무게를 측정하고, 이들의 크기와 색깔을 관찰하였다.

5) 조직의 형태학적 분석

마우스에서 분리한 조직은 10% phosphate-buffered formalin에서 하루 이상 고정하며 12시간 이상 흐르는 물에서 formalin을 세척한 후 60% ethanol에서 1시간, 70% ethanol에서 1시간, 80% ethanol에서 1시간, 90% ethanol에서 1시간, 95% ethanol에서 1시간, 100% ethanol에서 1시간 씩 단계적으로 탈수시켰다. Xylen에 1시간씩 3번의 투명과정 후 paraffin에 1시간 씩 2번 침투과정을 실시한다. 포매과정(embedding)을 거쳐 약 3 μm의 두께로 박절(paraffin-section)하여 slide 위에 조직을 얹고 건조시킨 후 hematoxylin-eosin 염색을 하였다. Slide의 물기를 없애고 mounting medium(Sigma, MO, USA)을 떨어뜨린 후 조직과 cover glass 주위에 공기가 생기지 않도록 주의하면서 cover glass를 덮어 영구보존 할 수 있도록 하였다. 조직의 사진촬영과 지방세포의 수 및 크기분석은 image analysis system(Image Pro-Plus, MD, USA)을 이용하였다.

3. 통계분석

모든 값은 mean ± standard deviation(SD)으로 표시하며, OriginLab Version 7.5(OriginLab Corporation, MA, USA)의 one way ANOVA를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

III. 實驗 結果

1. 체중 증가량과 지방무게

GGH(2)-1은 대조군에 비하여 체중 증가량에 대한 통계적인 유의성이 없었다. GGH(2)-2는 대조군에 비하여 체중 증가량이 감소하는 경향을 보일뿐 통계적인 유의성이 없다가 마지막날인 56일째에 통계적인 유의성을 보였다. GGH(2)-3는 31일째부터 통계적으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여(P<0.01) 44일째까지 계속되었고, 다시 45일째부터 감소폭이 주춤하다가(P<0.05), 그 이후 마지막날인 56일째까지 체중 증가량의 감소가 지속되었다(P<0.01, Fig. 1-A).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 1.04%, GGH(2)-2는 8.18%, GGH(2)-3은 12.96%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났으며, 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

8주 동안 약물을 투여한 뒤에 부검하여 생식기 주변 백색지방조직(epididymal adipose tissue, EAT), 후복벽 주변 백색지방조직(retroperitoneal adipose tissue, RAT), 사타구니 주변 피하지방조직(inguinal adipose tissue, IAT)과 갈색지방조직(brown adipose tissue, BAT)의 무게를 측정하였다.

EAT, RAT와 IAT의 무게는 GGH(2)-1과 GGH(2)-2에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없는 것으로 나타났으며 GGH(2)-3에서는 통계적으로 유의하게 적은 것으로 나타났다. BAT의 무게는 GGH(2)-1에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없는 것으로 나타났으며 GGH(2)-2와 GGH(2)-3에서 통계적으로 유의하게 적은 것으로 나타났다(Fig. 1-B).

이를 백분율로 환산하면, EAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 0.18%, GGH(2)-2는 4.18%, GGH(2)-3은 13.36%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, RAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 0.92%, GGH(2)-2는 2.62%, GGH(2)-3은 10.46%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, IAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 2.00%, GGH(2)-2는 1.56%, GGH(2)-3은 10.34%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다.

BAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 1.96%, GGH(2)-2는 6.58%, GGH(2)-3은 16.04%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. EAT, RAT, IAT와 BAT의 무게의 감소는 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

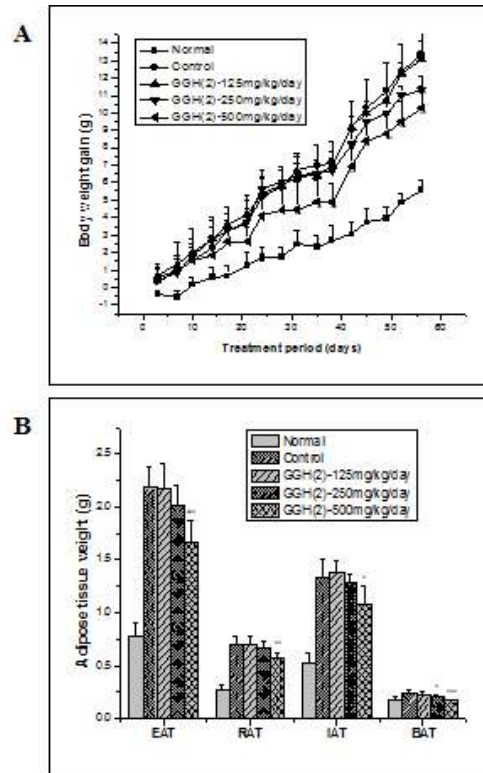


Fig. 1. Changes in body weight gain(A) and Adipose tissue weights(B) in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean ± SD. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 significantly different from control. FSOB = fermented soybean; EAT = epididymal adipose tissue; RAT = retroperitoneal adipose tissue; IAT = inguinal adipose tissue; BAT = brown adipose tissue.

2. 식이효율과 혈중 leptin 농도

식이효율은 아래의 공식에 대입시켜 최종 체중 증가량을 총 사료섭취량으로 나누어 산출하고 통계분석하였다.

식이효율(feeding efficiency ratio: FER%) =
 체중 증가량(g)/사료섭취량(g)×100^{11,12)}

식이효율은 GGH(2)-2와 GGH(2)-3에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다(P<0.05, Fig. 2-A).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 1.04%, GGH(2)-2는 8.18%, GGH(2)-3

은 12.96%의 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

실험시작 8주 후 혈장 내 leptin의 양을 측정된 결과, 그 값이 GGH(2)의 모든 농도에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없는 것으로 나타났으나 GGH(2)-3에서만 대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났다(Fig. 2-B).

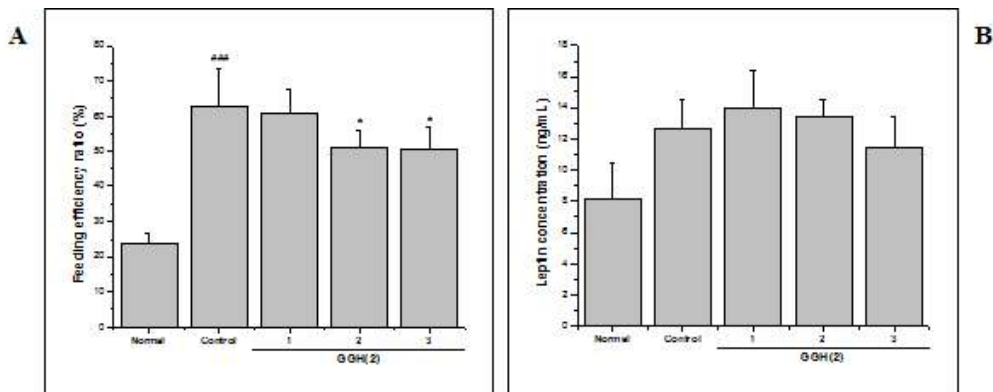


Fig. 2. Reduction of total feeding efficiency ratio(A) and fasting plasma leptin levels(B) in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. * p<0.05 significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

3. 혈액생화학분석

1) 혈중 aspartate aminotransferase와 alanine aminotransferase 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 aspartate aminotransferase와 alanine aminotransferase의 양을 측정된 결과, aspartate aminotransferase의 값은 GGH(2)의 세 농도는 대조군에 비하여 높게 나타났으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 3-A). Alanine aminotransferase의 값은 GGH(2)-1은 대조군에 비하여 약간 높게 나타났고, GGH(2)-2와 GGH(2)-3에서 대조군에 비하여 낮게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다(Fig. 3-B).

2) 혈중 total cholesterol, HDL-cholesterol과 LDL-cholesterol 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 total cholesterol, HDL-cholesterol과 LDL-cholesterol의 양을 측정된 결과, total cholesterol의 값은 GGH(2)의 세 농도 모두에서 대조군에 비하여 낮게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었으며 농도 의존적으로 낮아지는 경향을 보였다(Fig. 4-A). HDL-cholesterol의 값은 GGH(2)의 세 농도 모두에서 대조군에 비하여 약간 높거나 비슷하게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 4-B). LDL-cholesterol의 값은 GGH(2)의 세 농도 모두에서 대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었으며 농도 의존적으로 낮아지는 경향을 보였다(Fig. 4-C).

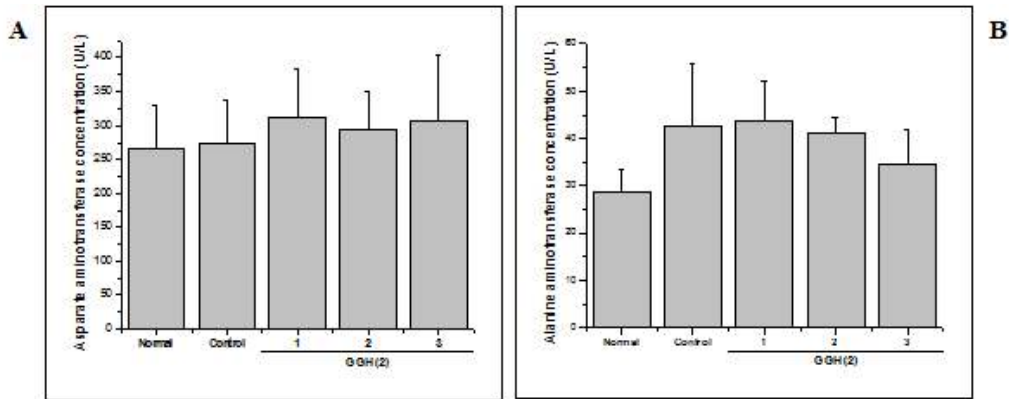


Fig. 3. Fasting plasma aspartate aminotransferase(A) and alanine aminotransferase(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean ± SD. Abbreviations as in Fig. 1.

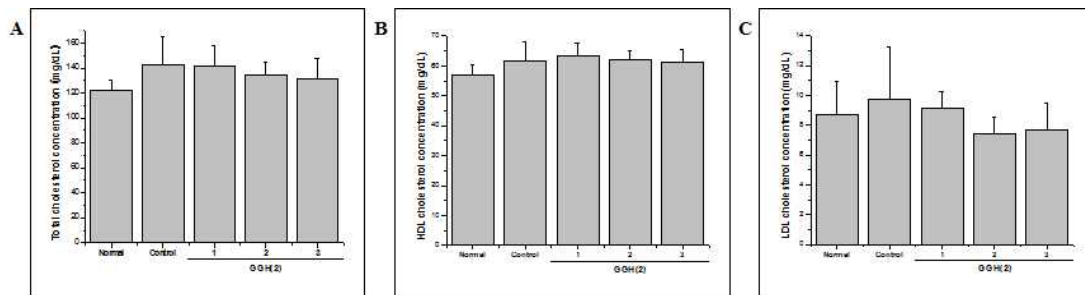


Fig. 4. Fasting plasma total cholesterol(A), HDL-cholesterol(B) and LDL-cholesterol(C) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean ± SD. Abbreviations as in Fig. 1. HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein.

3) 혈중 free fatty acid와 triglyceride 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 free fatty acid와 triglyceride의 양을 측정된 결과, free fatty acid의 값은 GGH(2)의 세 농도 모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의한 차이는 없는 것으로 나타났으며, GGH(2)-1에서 대조군에 비하여 높게 나타났고, GGH(2)-2에서 대조군과 비슷하였으며, GGH(2)-3에서 대조군에 비하여 낮은 경향을 보여주었다(Fig. 5-A). Triglyceride의 값은 GGH(2)-1에서 대조군에 비하여 통계적인 유의한 차이는 없는 것으로 나타났으며, GGH(2)-2와 GGH(2)-3의 모두에서

대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났(Fig. 5-B).

4) 혈중 glucose와 insulin 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 glucose와 insulin의 양을 측정된 결과, glucose의 값은 GGH(2)의 세 농도 모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의한 차이는 없었으며, GGH(2)-2는 대조군보다 약간 높게 나타났고, GGH(2)-1과 GGH(2)-3에서 대조군 보다 낮게 나타났(Fig. 6-A). Insulin의 값은 GGH(2)의 세 농도 모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의한 차이는 없었으나 농도 의존적으로 낮아지는

경향을 보여주었다(Fig. 6-B).

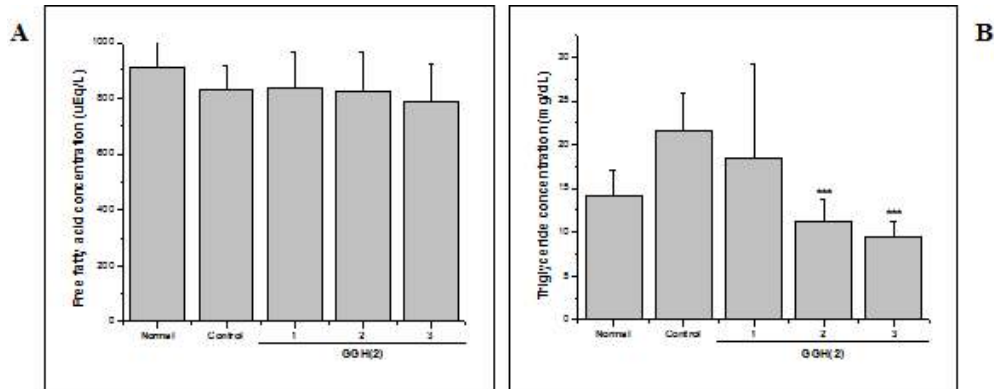


Fig. 5. Fasting plasma free fatty acid(A) and triglyceride(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. *** $p < 0.001$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

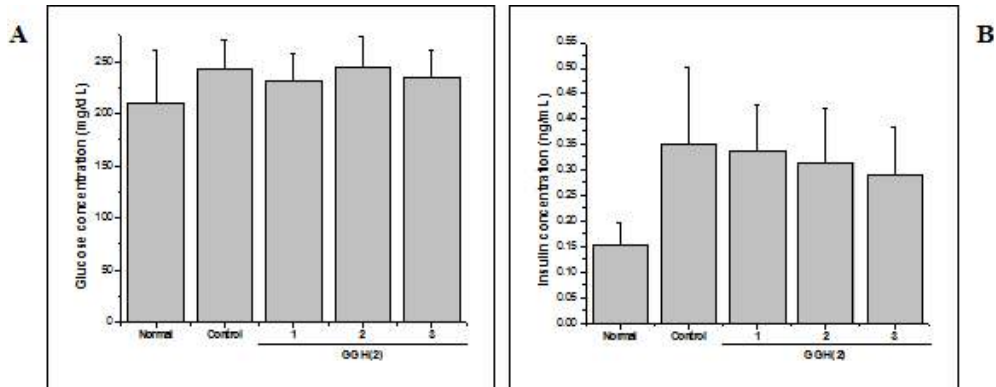


Fig. 6. Fasting plasma glucose(A) and insulin(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean \pm SD. Abbreviations as in Fig. 1.

5. GGH(2)에 의한 지방조직 및 간조직의 histology와 morphology 변화

1) GGH(2)에 의한 지방조직의 histology와 morphology 변화

GGH(2)가 고지방식이 마우스 비만모델 지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 지방조직을 hematoxylin-eosin 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis

system으로 관찰하였다. 정상군과 비교하여 대조군에서 지방세포의 크기가 크게 증가되었다(normal, $2745.89 \pm 225.89 \mu\text{m}^2$; control, $7163.01 \pm 407.40 \mu\text{m}^2$). 그러나 고지방식이 마우스에 GGH(2)를 투여하면 지방세포의 크기가 감소하였다. 지방세포의 크기는 GGH(2)-1, GGH(2)-2와 GGH(2)-3의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소되었으며, 그 감소율은 15.20%, 17.68%와 30.40%로

나타났다(control, $7163.01 \pm 407.40 \mu\text{m}^2$; GGH(2)-1, $5273.26 \pm 128.24 \mu\text{m}^2$; GGH(2)-2, $5011.7 \pm 298.32 \mu\text{m}^2$; GGH(2)-3, $3822.82 \pm 107.95 \mu\text{m}^2$, Fig. 7-A and B). 반면, 대조군과 비교하여 GGH(2)-1, GGH(2)-2와 GGH(2)-3의 모두에서 통계적으로 유의하게 단위 면적당 지방세포의 수를 증가시켰으며, 그 증가정도

는 15.10%, 17.68%와 30.32%였다(control, 37.78 ± 2.22 개; GGH(2)-1, 51.22 ± 1.26 개; GGH(2)-2, 54 ± 3.18 개; GGH(2)-3, 70.67 ± 2.03 개, Fig. 7-A and C). 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

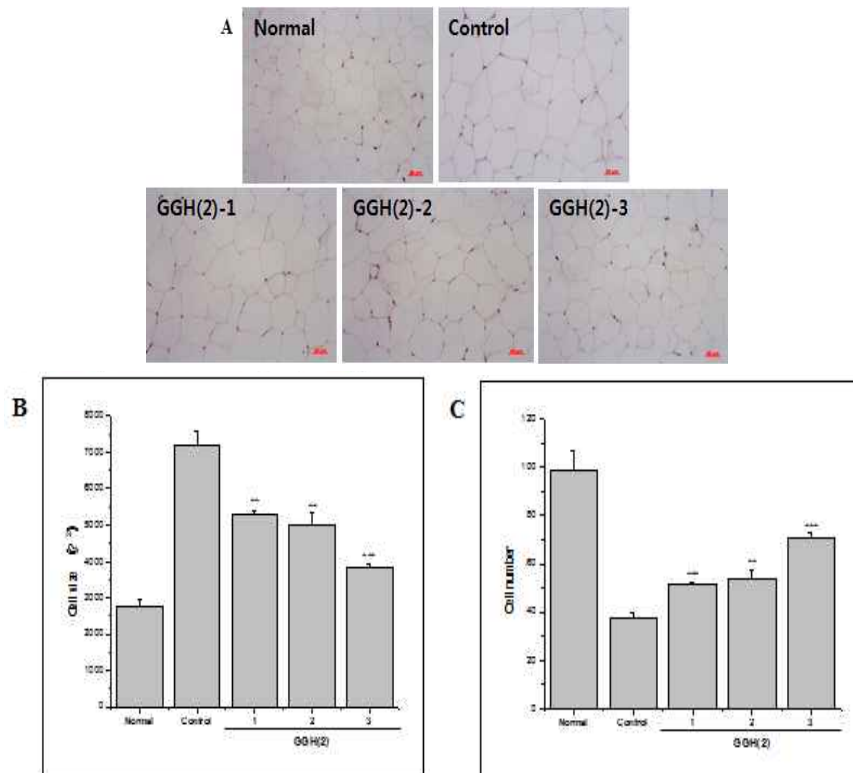


Fig. 7. Histology of epididymal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice.

(A) Representative hematoxylin and eosin sections of epididymal adipose tissue(original magnification X 50). (B) Size of epididymal adipocytes. (C) Number of epididymal adipocytes. The size and number of adipocytes in a fixed area ($1,000,000 \mu\text{m}^2$) were quantified by an image analysis system. All values are expressed as the mean \pm SD. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

2) GGH(2)에 의한 간조직의 지방축적 변화
고지방식이의 비만형질을 나타내는 비만마우스는 정상 마우스와 비교하여 상당량의 지방이 축적된 지방간을 보여주었으나 이러한 비만마우스에 GGH(2)

를 투여하면 간의 지방축적이 감소되었다. 지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게 간세포의 지방축적은 세농도 모두에서 농도 의존적으로 대조군에 비하여 lesion score를 감소시켰으나

GGH(2)-3에서만 통계적으로 유의한 차이를 보여 주었으며, 그 감소정도는 6.54%, 13.80%와 40.34%였다. 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다(Fig. 8).

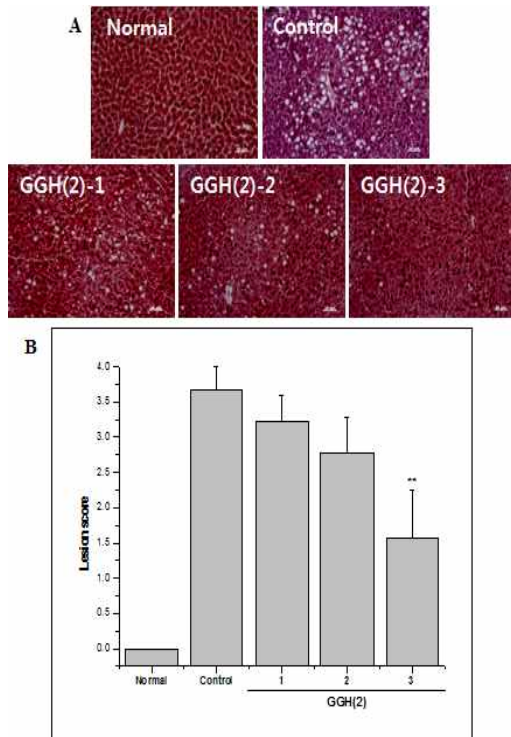


Fig. 8. Inhibition of hepatic lipid accumulation by GGH(2) in high fat diet-fed obese mice.

(A) Representative hematoxylin- and eosin-stained sections of livers are shown (original magnification X 50). (B) Histological analysis of hepatic lipid accumulation in high fat diet-fed obese mice. Pathological scores of hepatic accumulation are as follows: 0, no lesion; 1, mild; 2, moderate; 3, severe; 4, very severe. All values are expressed as the mean \pm SD. ** $p < 0.01$ significantly different from control. Abbreviations as in Fig. 1.

IV. 考 察

내장에 축적된 지방은 피하지방 보다 대사적으로 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 복강

내 지방조직 또는 내장 지방조직의 증가는 지방조직으로부터 유래한 과량의 지방산이 내장 순환계를 통해 간으로 유입되는 반면, 피하지방은 지방분해 산물이 전신 순환계로 유입됨으로써 간 대사에 직접적인 영향, 즉 포도당 생성, 지질 합성, 혈전성 단백질인 fibrinogen과 plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)의 생성을 피하게 된다. 내장지방은 인슐린저항성을 유발하고 고중성지방혈증, 고혈압 등과 밀접한 관련이 있으며 이로 인해 죽상동맥경화증을 촉진시킨다¹³⁾. 비만동물모델을 이용한 감비경신환(2)에 대한 체중조절과 내장지방 개선에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 고지방식이 마우스 비만모델을 이용하여 감비경신환(2)(GGH(2))의 투여가 체중 증가량의 변화에 따라 중성지방과 지방무게 특히 내장지방에 어떤 영향을 미치는 지에 대해서 알아보았다.

체중 증가량의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 1.04%, GGH(2)-2는 8.18%, GGH(2)-3은 12.96%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났으며, 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. EAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 0.18%, GGH(2)-2는 4.18%, GGH(2)-3은 13.36%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, RAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 0.92%, GGH(2)-2는 2.62%, GGH(2)-3은 10.46%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, IAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 2.00%, GGH(2)-2는 1.56%, GGH(2)-3은 10.34%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. BAT의 경우, 대조군에 비하여 GGH(2)-1은 1.96%, GGH(2)-2는 6.58%, GGH(2)-3은 16.04%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. EAT, RAT, IAT와 BAT의 무게의 감소는 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. 따라서 GGH(2)는 체중감량효과와 일치하게 지방량을 전반적으로 개선시킨다는 것을 시사한다. 특히 내장지방인 EAT와

RAT의 지방량을 줄여 내장지방의 개선효과에 GGH(2)가 기여할 수 있음을 보여준다.

GGH(2)의 투여가 식이효율에는 어떤 변화를 주고 혈중 leptin 농도에는 어떻게 반영되는 지에 대해서 알아보았다.

대조군에 비하여 GGH(2)-1은 1.04%, GGH(2)-2는 8.18%, GGH(2)-3은 12.96%으로 그 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. 혈중 leptin 농도의 값은 GGH(2)의 세농도 모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없는 것으로 나타났으나 GGH(2)-3에서만 대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났다. 식이효율의 공식에서 의미하는 바와 같이 사료를 섭취하는 양이 많음에도 불구하고 체중의 증가가 적다는 것은 비만조절효과가 있는 것으로 생각할 수 있다. 식이효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 사용할 수 있고, 식이효율의 값이 적을수록 비만조절효과가 있다고 할 수 있다. 따라서 GGH(2)는 식이효율의 값에 따라 혈중 leptin 농도에도 반영되어 식이효율을 낮추고 혈중 leptin 농도도 낮추어 체중 증가량을 줄이며 이에 따라 지방무게를 줄이는 것으로 생각된다.

GGH(2)의 투여가 혈중 간장 독성지표인 aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT)와 체중조절과 관련된 지표인 total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, free fatty acid, triglyceride, glucose, insulin의 농도를 조사하였다. 왜냐하면 GGH(2)의 비만조절효과가 약리작용에 의한 경우도 있지만 이의 독성으로도 생길 수 있기 때문이다. Aspartate aminotransferase(AST)와 Alanine aminotransferase(ALT)의 값은 GGH(2)-1, GGH(2)-2와 GGH(2)-3의 모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없었다. AST와 ALT의 값이 생리적인 범위안에 있어서 간장독성으로부터는 안전한 것으로 생각된다. 더 세밀한 추가 안전성 시험이 요구된다.

GGH(2)-1은 대조군에 비하여 혈중 free fatty

acid의 농도 값은 약간 높았고, triglyceride의 농도 값은 낮았으며, total cholesterol의 농도 값은 비슷하고, HDL-cholesterol의 농도 값은 약간 높았으며, LDL-cholesterol, glucose와 insulin의 농도값은 낮은 것으로 나타났으며, 모든 지표에서 통계적으로 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다. GGH(2)-2는 대조군에 비하여 혈중 free fatty acid, triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol과 insulin의 농도 값은 낮은 것으로 나타났으며, HDL-cholesterol, glucose의 농도 값은 약간 높은 것으로 나타났으나 triglyceride 지표에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. GGH(2)-3은 대조군에 비하여 혈중 free fatty acid, triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, glucose와 insulin의 농도 값은 낮았으며, HDL-cholesterol의 농도값은 비슷한 것으로 나타났으나, triglyceride 지표에서만 통계적인 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. GGH(2)는 체중감량효과와 일치하게 total cholesterol, LDL-cholesterol, free fatty acid, glucose와 insulin의 농도값이 통계적으로 유의한 차이를 보여주지는 못하지만 낮아지는 경향을 보여주고 있어 GGH(2) 투여의 실질적인 체중 증가량 감소효과가 혈중 체중감량지표에 전반적으로 미미하지만 영향을 준다는 것을 입증해 주고 있음을 시사한다. 특히 내장지방에서 중요한 triglyceride 지표는 통계적인 유의성이 있음을 보여주므로 GGH(2)는 복부지방 개선에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

GGH(2)에 의하여 체중감량효과가 고지방식이 마우스 비만모델의 지방세포와 간세포의 조직학적, 형태학적 변화에 반영하는지를 조사하였다.

지방세포의 크기는 GGH(2)-1, GGH(2)-2와 GGH(2)-3의 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소되었으며, 그 감소율은 15.20%, 17.68%와 30.40%로 나타났다. 반면에, 대조군과 비교하여 GGH(2)-1, GGH(2)-2와 GGH(2)-3의 모두에서 통계적으로 유의하게 단위면적당 지방세포의 수를 증가시켰으며, 그 증가정도는 15.10%, 17.68%

와 30.32%였다. 지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게 간세포의 지방축적은 세농도 모두에서 농도 의존적으로 대조군에 비하여 lesion score를 감소시켰으나 GGH(2)-3에서만 통계적으로 유의한 차이를 보여주었으며, 그 감소정도는 6.54%, 13.80%와 40.34%였다. 세 농도 중 GGH(2)-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. 따라서 체중감량효과와 일치하게 GGH(2)에 의하여 지방세포의 수는 증가하였고 그 크기는 감소하였으며, 간세포의 지방축적은 억제하는 것을 알 수 있다.

따라서 GGH(2)는 식이효율과 leptin 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량 특히 내장지방량을 줄여 체중감량효과로 나타나고 지방간의 개선도 보여주며, 특히 내장지방에서 중요한 지표인 triglyceride의 개선을 통하여 복부지방의 개선에 기여할 수 있음을 보여준다.

V. 結 論

고지방식이 유발 수컷마우스 비만모델을 이용하여 GGH(2)의 투여가 체중 증가량과 지방조직의 무게, 식이효율과 혈중 leptin 농도, 혈중 비만 관련 지표, 그리고 지방조직과 간조직의 조직학적, 형태학적 변화를 분석하고 평가하여 다음의 결론을 얻었다.

1. GGH(2)는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 체중 증가량과 지방무게 특히 내장지방의 무게가 감소하였고, 그 효과는 GGH(2)-3에서 더 현저하였다.
2. GGH(2)는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 식이효율을 감소하였고, 그 효과는 GGH(2)-3에서 더 현저하였다.
3. GGH(2)는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 혈중 triglyceride의 농도가 낮은 것으로 나타났다.

4. GGH(2)는 대조군에 비하여 혈중 AST와 ALT의 농도에 이상이 없는 것으로 나타났다.
5. 체중감량효과와 일치하게 GGH(2)에 의하여 지방세포의 수는 증가하였고 그 크기는 감소하였으며, 간세포의 지방축적은 억제하였다.

결론적으로 GGH(2)는 식이효율과 leptin 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량 특히 내장지방량을 줄여 체중감량효과로 나타나고 지방간의 개선도 보여주며, 특히 내장지방에서 중요한 지표인 triglyceride의 개선을 통하여 복부지방의 개선에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

이 논문은 2011학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(2011AA115).

參考文獻

1. 沈映君 主編. 『中藥藥理學』. 第1版 第1次印刷. 北京:人民衛生出版社. 2000:645-6.
2. 常新全, 丁麗霞 主編. 『中藥活性成分分析手冊』 (上, 下冊). 第1版 第1次印刷. 北京:學苑出版社. 2002:1354-60.
3. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(4冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:407-8.
4. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(8冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:483-4.
5. Larsson B, Svärdsudd K, Welin L, Wilhelmsen L, Björntorp P, Tibblin G. Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913. Br Med J(Clin

- Res Ed). 1984;288(6428):1401-4.
6. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. Arch Intern Med. 1989;149(7):1514-20.
 7. McKeigue PM, Shah B, Marmot MG. Relation of central obesity and insulin resistance with high diabetes prevalence and cardiovascular risk in South Asians. Lancet. 1991;337(8738):382-6.
 8. 박혜순. 한국인에서의 대사증후군의 역할. 대한비만학회지. 2002;11:203-11.
 9. Björntorp P. Abdominal obesity and the metabolic syndrome. Ann Med. 1992;24(6):465-8.
 10. Després JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. Arteriosclerosis. 1990;10(4):497-511.
 11. 오창호. 『비만억제자인 α -MSH 유사체의 합성 및 약효분석』(신약개발연구개발사업 최종보고서). 서울:보건복지부. 2003:21.
 12. Garrido-Polonio C, Garcia-Linares MC, Garcia-Arias MT, Lopez-Varela S, Garcia-Fernandez MC, Terpstra AH, Sanchez-Muniz FJ. Thermally oxidised sunflower-seed oil increases liver and serum peroxidation and modifies lipoprotein composition in rats. Br J Nutr. 2004;92(2):257-65.
 13. Miranda PJ, DeFronzo RA, Califf RM, Guyton JR. Metabolic syndrome: definition, pathophysiology, and mechanisms. Am Heart J. 2005;149(1):33-45.