

Original Article

茵陳蒿가 지질대사에 관여하는 유전자의 발현에 미치는 영향

장우석*

대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Received : Jul 18, 2011

Accepted : Aug 22, 2011

KEY WORDS:*Artemisia capillaries*;
Hyperlipidemia; Gene
expressionEffect of *Artemisia capillaries* on Gene Expression of Lipid Metabolism in Rat

Woo-Seok Jang*

Deptment of Internal Medicine, Daegu-Haany University College of Oriental Medicine, Daegu, Korea

ABSTRACT**Objectives :** The purpose of this study is to evaluate the effect of *Artemisia capillaries* on gene expression of lipid metabolism in rats.**Methods :** The author performed several experimental items to analyze the total cholesterol and triglyceride in liver tissue, the gene expressions of CYP7A1 and HMG-CoA reductase.**Results :**

1. In *Artemisia capillaries* group, the levels of total cholesterol in liver tissue were significantly decreased.
2. In *Artemisia capillaries* group, the ratios of CYP7A1, HMG-CoA reductase were as same as the normal group.

Conclusions : From the above results, *Artemisia capillaries* can be used to treat hyperlipidemia.**I. 서론**

고지혈증은 혈청지질이 정상보다 증가된 것을 말하며, 최근 식생활 및 생활방식의 변화로 발병이 계속 증가하고 있다¹⁾. 고지혈증은 죽상경화증을 일으키고, 이는 우리나라 주요 사망 원인인 심혈관과 뇌혈관 질환의 주요 위험인자가 된다²⁾.

고지혈증을 한의학적으로 보면, 《靈樞·衛氣失常論》에서 “肥人多有膏, 有肉”이라 하여 지질과의 연관성에 대해

언급하고 있고, 嗜食肥甘厚味の 外因과 肝脾腎機能失調의 內因으로 인해 濕濁, 火熱, 脾胃濕熱 등의 원인에 의해 발생하는 것으로 인식하고 있다^{1,3)}.

현대의학에서 사용하는 고지혈증 치료제는 콜레스테롤 합성 억제제, 담즙산 결합수지, 니코틴산 유도제, 피브린산 유도제 등이 있으며, 효과나 부작용 등을 고려할 때 HMG-CoA reductase 억제제인 스타틴(statin) 계열의 약물이

© 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/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Corresponding Author

Woo-Seok Jang. 165 Sang Dong, Daegu Haany University, Daegu, Korea
Tel : +82-53-770-2104
E-mail : freesoso1@naver.com

가장 많이 사용되고 있다^{3,4)}.

茵陳蒿는 국화과에 속한 다년생 초본인 사철쑥의 전초를 건조한 것으로 性은 微寒無毒하고 歸經은 肝, 脾, 胃經이며, 清熱利濕, 利膽退黃의 효능으로 濕熱黃疸, 小便不利, 濕癢瘙癢 등에 이용 된다⁵⁾. 茵陳蒿에 관련된 연구로는 주로 간질환 및 간 기능에 관련된 것들이 많으며, 비만 및 고지혈증에 관련된 연구가 이루어지고 있다^{5,6)}.

간은 지질의 대사 및 합성에 있어 중심이 되며, 茵陳蒿는 간 질환 및 간 기능 이상에 대해 우수한 효과가 있는 약제이므로, 이에 저자는 茵陳蒿의 고지혈증에 대한 작용을 알아보기 위해 고지혈증을 유발한 흰 쥐를 대상으로 茵陳蒿를 투여하여 지질대사에 중요한 역할을 하는 CYP7A1, HMG-CoA reductase 유전자 발현을 분석하여 의미 있는 결과를 얻어 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1.1 동물 및 사료

동물은 7주령의 수컷 Sprague-Dawley계 흰 쥐를 ‘(주) 대한 바이오링크’로부터 공급 받아, 일주일간의 적응기를 거친 후 실험에 사용하였다. 실험실 환경은 실내 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대 습도 $55 \pm 10\%$ 를 유지 하였고, ‘(주)삼양사’로부터 구입한 고형사료와 수돗물을 충분히 공급하였다.

1.2 약제

실험에 사용한 茵陳蒿(*Artemisia capillaries*)는 정성 약업사(대전)에서 구입하여 사용하였다.

2. 방법

2.1 약물의 제조

세척과 건조를 거친 500g의 茵陳蒿를 증류수 5 L와 함께 2시간 동안 달여 거른 후, 2000 rpm으로 20분간 원심 분리 하여 잡질을 제거하고 회전식 증발기(Buch B-480, Switzerland)를 통해 수분을 제거하였다. 수분을 제거한 후 동결건조기(Eyela FDU-540, Japan)를 이용하여 14.1g의 茵陳蒿 건조 분말을 얻은 후 실험에 사용하기까지 -70°C 에서 보관하였다.

2.2 실험동물 모델

고지혈증은 30% poloxamer-407(Sigma Chemical, USA)을 흰 쥐의 복막을 통해 주사하여 유도하였다.

2.3 실험군 분류 및 처치

흰 쥐 40마리를 8마리 씩 5개 군으로 나누고 茵陳蒿 50mg/kg 및 100mg/kg, Lipitor(Pfizer, USA) 10mg/kg, 증류수를 각각 구강 투여를 통해 7일간 선처리 하였다. 그 후, poloxamer-407 2mL를 복막을 통해 주사한 후 다시 茵陳蒿, Lipitor, 증류수를 각각 poloxamer-407 주사 후 12시간 뒤에 구강을 통해 투여하였다. Poloxamer-407를 주사한 지 24시간, 공복 상태 12시간 쯤인 시점에 실험을 종료하였다.

2.4 간 조직의 지질 수준 평가

실험 종료 후 ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취 한 다음 분리한 간 표본 200mg을 균질화를 위해 ethanol 과 ether를 3 : 1로 혼합한 용액에 담근 후 원심분리기를 통해 얻은 상층액을 90°C 로 증발시켜 건조하였다. 남은 조직을 1.5 mL의 2-propanol 용액에 용해하여 총콜레스테롤과 중성지방을 전자동생화학분석기(Chiron, USA)를 이용하여 분석하였다.

2.5 지질대사 유전자 발현 평가

총 RNA를 균질화된 흰 쥐의 간 조직에서 추출하여 TRIzol 시약(Gibco, USA)을 이용하여 분리하였으며, mRNA 수준을 분광광도계(Cary50, USA)를 이용하여 260nm에서 정량화하였다. RNA 1 μg 을 first strand cDNA로 역전사 하였는데, 2 μL 의 10 mM dNTPs mix, 1 μL 의 oligo-dT primer(20 pmol/ μL), 2 μL 의 100 mM DTT, 4 μL 의 5 \times RT buffer(250 mM Tris-Cl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂, RNase inhibitor 20 U), 1 μL 의 M-MLV RT(200 U/ μL ; Promega, USA)와 2 μL 의 2차 증류수가 혼합된 RT 혼합물을 이용하였다. RT 혼합물은 42°C 에서 60분간 배양한 후 72°C 로 10분간 가열하여 역전사 효소를 불활성 상태로 만든 후에 4°C 에서 5분간 냉각하였다. 이렇게 역전사를 통해 얻은 결과물 1 μL 를 유전자 증폭기(TaKaRa, Japan)에서 효소중합반응을 시행하였다. CYP7A1, HMG-CoA reductase의 유전자 발현을 확인하기 위해 cDNA 1 μL 를 primer를 이용하여 유전자 증폭기를 통해 증폭하였다. PCR 혼합물은 1.5 units의 Taq DNA poly-

merase(Bioneer, Korea), 10 mM의 dNTPs 3 μ L, 3 μ L의 10 \times PCR buffer, 10 pmol의 sense 및 antisense primers 1 μ L와 3차 증류수 19.7 μ L를 첨가한 cDNA 3 μ L를 통해 제작하였다. PCR 증폭은 유전자 증폭기를 사용하여 initial denaturation은 95 $^{\circ}$ C에서 10분간 시행한 후 denaturation을 위해 95 $^{\circ}$ C에서 1분간, annealing을 위해 60 $^{\circ}$ C에서 40초간 유지하고 다시 extension을 위해 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 유지하는 과정을 35회 반복하였다. 이후, 0.5 \times TBE buffer가 포함된 1% agarose gel로 고정하여 PCR 표본을 얻은 후 전기영동을 통해 유전자 발현을 확인하였다 (Table 1).

2.6 결과분석

본 실험의 결과는 각 군에서 얻은 자료를 평균 \pm 표준편차로 나타내었고, 통계분석은 SPSS version 14.0을 이용하여 t-test를 통해 유의수준을 $p < 0.05$ 에서 판정하였다. CYP7A1, HMG-CoA reductase 유전자 발현에 대해서는 정상 군과 항존 유전자인 β -actin에 대한 비율(ratio)로 표현하였다.

III. 결과

1. 간 조직의 총콜레스테롤과 중성지방

흰 쥐의 간 조직을 분리하여 총콜레스테롤과 중성지방을 분석해 보았다. Poloxamer-407 주사로 고지혈증이 유도된 군의 총콜레스테롤과 중성지방은 각각 19.20 ± 0.25 mg/g과 4.41 ± 0.37 mg/g으로 정상 군의 18.65 ± 0.29 mg/g과 3.25 ± 0.13 mg/g에 비해 유의하게 증가하였다. 총콜레스테롤의 경우 茵陳蒿 100mg/kg 처리 군에서 18.35 ± 0.41 mg/g으로 유의하게 감소하였으나, 중성지방의 경우 통계적으로 유의한 변화가 나타나지 않았다 (Table 2, Fig. 1, 2).

2. CYP7A1의 유전자 발현

흰 쥐의 간 조직에서 RT-PCR을 통해 CYP7A1의 유전자 발현을 정상 군에 대한 비율로 분석해보았다. Poloxamer-407로 고지혈증이 유도된 군에서는 71%로 발현이 현저히 감소하였고, 이에 대해 茵陳蒿 50mg/kg에서 83%, 100mg/kg에서 94%로 정상 군에 가깝게 나타났다 (Fig. 3).

Table 1. Oligonucleotide sequences of primers

Gene	Primer	Sequence	size(bp)
β -actin	Sense	5'-TGT CAC CAA CTG GGA CGA TA-3'	165
	Antisense	5'-GGG GTG TTG AAG GTC TCA AA-3'	
CYP-7A1	Sense	5'-GGG AGT GCC ATT TAC TTG GA-3'	329
	Antisense	5'-GAT CCG AAG GGC ATG TAG AA-3'	
HMG-CoA reductase	Sense	5'-CAC CTC TCC GTG GGT TAA AA-3'	264
	Antisense	5'-GAA GAA GTA GGC CCC CAA TC-3'	

Table 2. Comparison of cholesterol and triglyceride in liver tissue

Groups	Normal	Induced	<i>A. capillaris</i>		Lipitor
			50 mg/kg	100mg/kg	
Total cholesterol (mg/g tissue)	18.65 ± 0.29	$19.20 \pm 0.25^{##}$	19.96 ± 0.50	$18.35 \pm 0.41^{**}$	$18.49 \pm 0.31^*$
Triglyceride (mg/g tissue)	3.25 ± 0.13	$4.41 \pm 0.37^{##}$	4.49 ± 0.58	4.60 ± 0.62	4.34 ± 0.41

Data are expressed as mean \pm standard deviation.

: $p < 0.01$, significant differences compared with the normal group.

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, significant differences compared with the induced group.

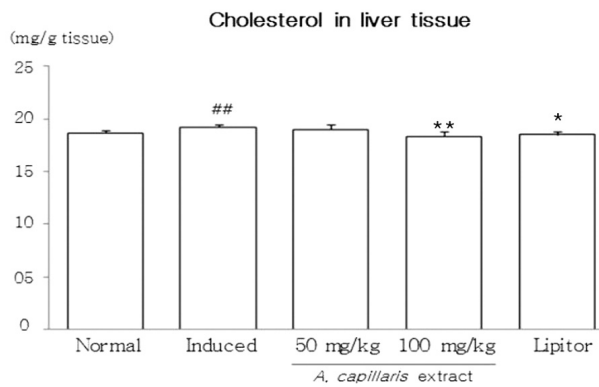


Fig 1. Total cholesterol in liver tissue

Rats were pre-treated with water, *A. capillaris*(50, 100 mg/kg) or lipitor(10 mg/kg) before poloxamer-407 injection. On the last day of experiment, hepatic total cholesterol was determined. Data are expressed as mean \pm standard deviation.

: $p < 0.01$, significant differences compared with the normal group.

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, significant differences compared with the induced group.

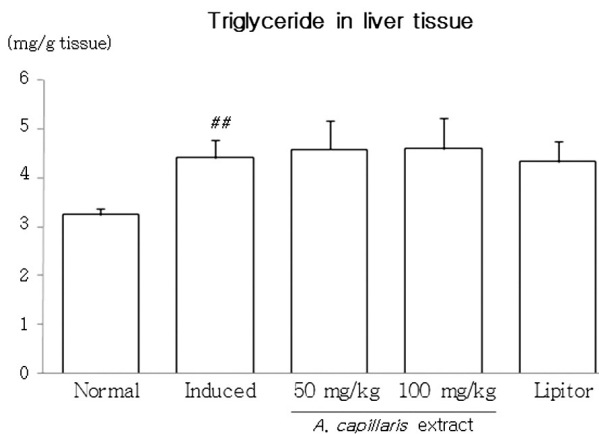


Fig 2. Triglyceride in liver tissue

Rats were pre-treated with water, *A. capillaris*(50, 100 mg/kg) or lipitor(10 mg/kg) before poloxamer-407 injection. On the last day of experiment, hepatic triglyceride was determined. Data are expressed as mean \pm standard deviation.

: $p < 0.01$, significant differences compared with the normal group.

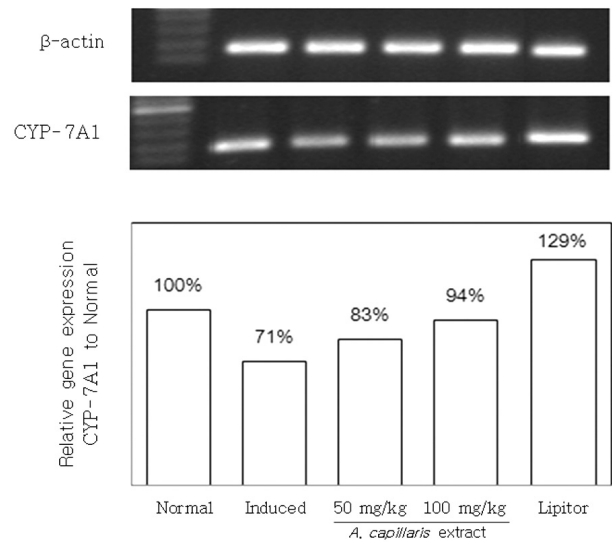


Fig 3. CYP-7A1 gene expression in liver tissue

Rats were pre-treated with water, *A. capillaris*(50, 100 mg/kg) or lipitor(10 mg/kg) before poloxamer-407 injection. On the last day of experiment, RT-PCR was performed to compare the gene expression of CYP-7A1 in liver tissue. The values were expressed as ratio of CYP-7A1 to β -actin, and then normal group.

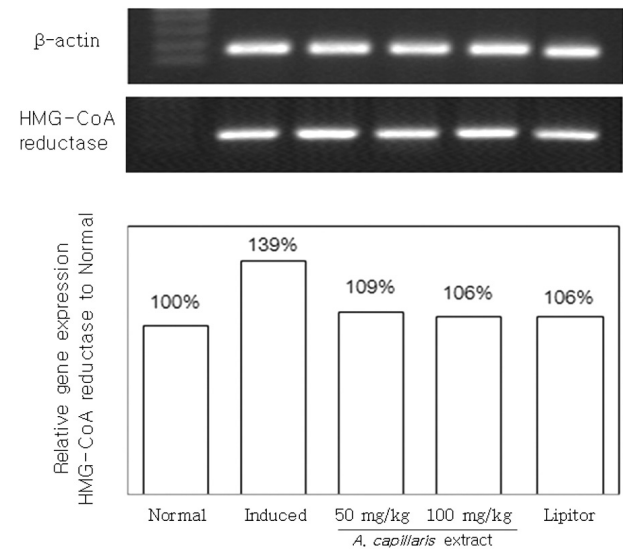


Fig 4. HMG-CoA reductase gene expression in liver tissue

Rats were pre-treated with water, *A. capillaris*(50, 100 mg/kg) or lipitor(10 mg/kg) before poloxamer-407 injection. On the last day of experiment, RT-PCR was performed to compare the gene expression of HMG-CoA reductase in liver tissue. The values were expressed as ratio of HMG-CoA reductase to β -actin, and then normal group.

3. HMG-CoA reductase의 유전자 발현

흰 쥐의 간 조직에서 RT-PCR을 통해 HMG-CoA reductase의 유전자 발현을 정상 군에 대한 비율로 분석해 보았다. Poloxamer-407로 고지혈증이 유도된 군에서는 139%로 발현이 현저히 증가하였고, 이에 대해 茵陳蒿 50mg/kg에서 109%, 100mg/kg에서 106%로 정상 군에 가깝게 나타났다 (Fig. 4).

IV. 고찰

현대사회는 고령화, 스트레스 및 식생활의 서구적 변화로 인해 높은 열량과 동물성 식품의 섭취가 증가하고 편리해진 생활로 운동량이 줄어들면서 심혈관계 질환이 증가하고 있다^{3,7,8}. 고지혈증은 동맥경화를 유발하는 위험인자로 뇌혈관질환의 중요한 원인이 되는데, 고지혈증을 교정하게 되면 고혈압, 허혈성 심장질환, 뇌혈관질환의 빈도를 낮출 수 있다⁹. 고지혈증을 유발하는 인자 중 콜레스테롤의 농도가 주요한 작용을 하며, 중성지방, 지단백, 혈장 트립토판 A의 형성 등이 지적되고 있다⁹.

콜레스테롤은 주로 간에서 합성되고 담즙으로 배설되는데, 총 콜레스테롤은 HDL, LDL, 중성지방, apolipoprotein, lipoprotein 등과 함께 고지혈증을 진단하는데 사용되는 생화학적 지표이며, 특히 고콜레스테롤 혈증은 가장 강력한 관상동맥의 유발 원인이 된다⁴.

한의학에서는 고지혈증에 대한 직접적인 언급은 없지만, 張景岳은 “痰涎皆本血氣, 若失化失其正, 則臟腑病津液敗, 而氣血則成痰涎”이라 하여 痰濁이 血脈上에 있어 脈絡을 壅塞不通하게 하여 痰濁으로 말미암아 血瘀에 이르게 되어 痰瘀互結로 인해 脈痺가 되고 中風을 일으킬 수 있다고 보았다³. 고지혈증의 원인을 보면, 痰濁, 火熱, 氣滯血瘀, 脾胃濕熱 등의 實證과 肝腎陰虛, 脾腎虧虛 등의 虛證으로 인한 것으로 보고 있고, 理氣祛痰, 利濕化痰, 活血化痰, 清熱利濕, 健脾益腎 등의 치법이 응용되고 있다⁷.

이 실험에서 흰 쥐의 고지혈증을 유도하는데 사용된 poloxamer-407은 일반적인 lipase inhibitor로 지질을 담즙으로 배설하여 제거하는 정상적인 작용을 방해하여 고지혈증을 일으킨다¹⁰.

현재 고지혈증에 사용되는 약물은 콜레스테롤 합성을 직접적으로 억제하는 HMG-CoA reductase 저해제인 statin 계열의 약물 및 혈액 내 중성지방의 농도를 낮추는

피브리산 유도체 계통의 많은 약물들이 개발되어 사용되고 있으나, 이러한 약물들을 장기간 복용할 때 지용성 비타민 결핍, 간 기능 저하, 신장 기능 저하 및 근력약화, 근육통증 등의 부작용을 동반하게 된다¹¹. 이 실험에 비교를 위해 사용한 Lipitor는 statin 계열의 약물인 atorvastatin으로 전 세계적으로 가장 많이 판매되고 있는 약물이다¹².

콜레스테롤의 대사물인 담즙산은 정상적으로 공장과 회장에서 효과적으로 재흡수 된다¹³. Cholesterol 7 alpha hydroxylase는 콜레스테롤로부터 담즙산의 생합성과정에서 속도-제한단계를 촉매하는 효소이며, cytochrome P-450 family의 원형질 효소이다⁴. 담즙산의 합성과 배설은 간 콜레스테롤 수준을 감소시키며, 소장 내에서 식이지방의 가용화를 촉진하고 콜레스테롤과 지용성 비타민의 흡수에 필요한데, Cholesterol 7 alpha hydroxylase를 암호화 하는 유전자인 CYP7A1은 분변으로 담즙산 배설을 증가시켜 혈청 콜레스테롤을 저하시킨다^{13,14}.

HMG-CoA reductase는 97KD의 당단백으로 콜레스테롤을 합성하는 모든 세포의 소포체에서 발견되며, 스테롤 생합성 과정의 첫 번째 중요한 반응에 관여 한다^{11,13}. 이 효소의 유전자는 5번 염색체에 있고 HMG-CoA를 mevalonic acid로 변환시키는 반응을 촉매하고 효소의 활성도는 반응의 마지막 산물인 콜레스테롤과 중간대사물인 26-OH-cholesterol에 의해 하향 조절을 받으며, 이 효소 활성의 조절은 체내 총콜레스테롤과 혈청콜레스테롤 수준에 큰 영향을 미치므로 이 효소는 LDL 수용체의 조절과 함께 세포에 콜레스테롤을 적절히 공급하기 위한 항상성 기전을 제공한다¹¹. 이 효소를 경쟁적으로 저해하는 약물은 내인성 콜레스테롤 합성을 억제함으로써 LDL 수용체의 활성을 촉진하고 LDL 콜레스테롤의 혈장 농도를 낮추므로 현재 가장 많이 사용되는 콜레스테롤 하강제로 lovastatin, atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, simvastatin 및 rosuvastatin 등이 이에 속한다^{11,13}.

茵陳蒿(Artemisia capillaries)는 국화과에 속하는 다년생 초본인 사철쭉과 비쭉의 전초를 건조한 것으로, 性이 微寒無毒하고 味는 苦하며, 肝, 膽, 脾, 胃經으로 入한다. 利濕退黃, 解毒療瘡의 효능이 있어 주로 濕熱黃疸, 風瘙, 癩疹 등의 질환에 사용 된다¹⁵. 茵陳蒿에 대한 실험연구를 보면, 간 질환에 미치는 영향, 비만 및 고지혈증에 미치는 영향 등에 연구가 이루어져 왔으나, 지질대사에 영향을 미치는 유전자의 발현에 대한 연구는 이루어지지 않았다¹⁶. 이에 본 연구는 茵陳蒿가 고지혈증에 대해 지질대사에 중요한 역할을 하는 유전자의 발현에 미치는 영향을 규명하기

위해 poloxamer-407로 유도된 고지혈증 흰 쥐를 대상으로茵陳蒿를 투여하고, 내인성 지방산의 합성을 포함하여 대부분의 지질대사를 담당하는 중심적인 장기인 간 조직의 총콜레스테롤, 중성지방의 수준과 CYP7A1, HMG-CoA reductase의 유전자 발현에 미치는 영향에 대해 연구하였다¹⁶⁾.

간 조직의 총콜레스테롤은 고지혈증 군에서 정상군보다 현저하게 상승하였고茵陳蒿 100mg/kg 군에서 유의성 있게 감소하였다. 반면, 중성지방의 경우 고지혈증 군에서는 현저하게 상승하였으나,茵陳蒿 및 Lipitor를 투여한 군에서는 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다. 이는茵陳蒿가 고콜레스테롤 혈증을 교정하는 효과가 있는 것으로 심혈관 질환의 가장 큰 원인이 되는 총콜레스테롤 저하시키는데 유용할 것으로 생각되며, 아울러 중성지방에 대한 교정 효과가 나타나지 않은 것에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

간 조직의 CYP7A1의 유전자 발현은 고지혈증 군에서 정상 군에 비해 발현이 30% 정도 감소한 것으로 나타났으며,茵陳蒿 100mg/kg 군에서 정상에 가까운 정도로 회복되었다. 이는茵陳蒿가 담즙산의 배설을 촉진하여 콜레스테롤의 제거를 활발하게 하는 작용을 하는 것으로 고콜레스테롤 혈증에 대한 치료제로서 유용할 것으로 생각된다.

간 조직의 HMG-CoA reductase 유전자 발현은 고지혈증 군에서 정상군보다 39% 정도 증가한 것으로 나타났는데,茵陳蒿 100mg/kg 군에서 정상에 가까운 정도로 회복되었다. 이는 인진호가 LDL 수용체의 활성을 촉진하고 콜레스테롤의 합성을 억제하는 것으로 고지혈증의 치료에 유용할 것으로 생각된다.

본 실험으로 인한 결과를 종합해보면,茵陳蒿가 고지혈증에 대해 간 조직의 총콜레스테롤을 저하시키고, 콜레스테롤에 대해 담즙산의 분비를 촉진하고 분변으로 배설하여 콜레스테롤을 저하시키는 작용이 있는 CYP7A1의 발현을 촉진하며, 콜레스테롤의 합성과 LDL 수용체의 활성을 저해하는 HMG-CoA reductase의 발현을 억제하는 것으로, 지질대사의 중심장기인 간에 작용하여 효과적인 고지혈증에 대한 치료제로서의 가능성이 있는 것으로 생각된다. 다만, 고지혈증의 다른 한 요소인 중성지방에 대한 저해 효과에 대해서는 심도 있는 연구 및 고려가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

고지혈증을 유발한 흰 쥐를 대상으로茵陳蒿 수추출물을 투여하여 간 조직의 총콜레스테롤, 중성지방 및 지질대사에 관여하는 유전자의 발현에 대한 실험을 진행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1.茵陳蒿 수추출물은 고지혈증이 유도된 흰 쥐의 간 조직에서 총콜레스테롤을 유의하게 감소시켰다.
- 2.茵陳蒿 수추출물은 고지혈증이 유도되어 지질대사에 관여하는 CYP7A1의 유전자 발현이 저하된 흰 쥐에서 정상 군에 가깝게 유전자 발현을 증가시켰다.
- 3.茵陳蒿 수추출물은 고지혈증이 유도되어 지질대사에 관여하는 HMG-CoA reductase의 유전자 발현이 항진된 흰 쥐에서 정상 군에 가깝게 유전자 발현을 감소시켰다.

이상과 같은 결과로茵陳蒿가 고지혈증에 대해 총콜레스테롤을 감소시키고 지질대사에 관여하는 CYP7A1과 HMG-CoA reductase의 발현을 정상에 가깝게 조절하는 것이 입증되었으며, 이를 이용하면 고지혈증에 대한 약물의 개발 및 약침제제를 이용한 치료에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

VI. References

1. Lee JT, Lee BR, Yang GY, Lee H, Yim YK. A Study on the Effect of Herbal-acupuncture with *Artemisiae Carpillaris Herba* at GB34 on Hyperlipidemia in Rat. *Journal of Meridian & Acupoint*. 2010;27(1):107,118.
2. Park JY, Song CH. The Effect of *Bupleuri Radix* Herbal-acupuncture at GB34(*Yangneungcheon*) on Hyperlipidemia in Rats. *Korean Journal of Acupuncture*. 2010;27(2):121,133.
3. An GH, Lee H. The Effect of *Cnidii Rhizoma* Herbal-acupuncture at GB34(*Yangneungcheon*) on Hyperlipidemia in Rats. *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion*.

- 2010;27(4):138,143.
4. Choi JS, Yim YK, Lee BR, Yang GY, Kim JK. The Effect of *Achyranthis Radix* Herbal-acupuncture on Hyperlipidemia in Rats. Korean Journal of Acupuncture. 2010;27(3):25-6.
 5. Ham IH, Jung SW, Lee KJ, Park KH, Choi HY. Effect of the aerial part of *Artemisia capillaris* and *A. iwayomogi* on the Hyperlipidemia of Rats induced by Triton WR-1339. Kor. J. Herbology. 2005;20(1):46.
 6. Youh EJ, Seo BK, Huang B, Kim JI, Kang SK. *Artemisia capillaries* Herbal Acupuncture Improves Metabolic Abnormalities in High Fat Diet-induced Obese ICR Mice. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion. 2011;28(1):1-12.
 7. Song WG, Kang JH, Lee H. The Effect of *Puerariae Radix* Herbal-acupuncture at GB34(*Yan-gneungcheon*) on Hyperlipidemia in Rats. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion. 2009;26(4):80,86.
 8. Lee SH, Lee H. A Study on the Effect of Herbal-acupuncture with *Schizandrae Fructus* Solution on Hyperlipidemia in Rats Induced by High Fat Diet. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion. 2011;28(2):149.
 9. An YS, Ahn TW, Kang HJ, Lee YH, Yim YK. The Effect of Herbal-acupuncture with Moutan Cortex Radix Extract. Journal of Meridian & Acupoint. 2009;26(1):101.
 10. Johnston TP. Poloxamer-407 as a general lipase inhibitor: its implications in lipid metabolism and atheroma formation in C57BL/6 mice. J Pharm Pharmacol. 2010;62(12):1807-12.
 11. Cheon WK, Lim KW. Effects of High-fat Diet Feeding on HMG-CoA Reductase mRNA Levels of Skeletal Muscle in Rats. The Korean Journal of Exercise Nutrition. 2010;14(3):145-6,148.
 12. Pfizer 2008 Annual Report. Pfizer. <http://media.pfizer.com/files/annualreport/2008/annualreview2008.pdf>.
 13. Bertram G. Katzung. BASIC & CLINICAL PHARMACOLOGY. Seoul:KMS. 2008:589,593.
 14. Yang JL, Lee HJ, Kim YH. Effect of Hormones and Short Chain Fatty Acids on CYP7A1 Gene Expression in HepG2 Cell. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2005;34(5):537.
 15. Kim SC, Seo BI. Bonchojibseong. Seoul:Tree and earth. 2000:368-70.
 16. Suagee JK, Corl BA, Crisman MV, Wearn JG, McCutcheon LJ, Geor RJ. De novo fatty acid synthesis and NADPH generation in equine adipose and liver tissue. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2010;155(3):322-6.