대한한의학 방제학회지 제20권 1호 THE KOREAN JOURNAL OF ORIENTAL MEDICAL PRESCRIPTION 20(1):67~80, 2012

고지방식이 마우스 비만모델에서 인제청금단에 의한 체중감량과 혈중 지질대사의 개선효과

양승엽, 이희영[1], 이혜림[1], 김병출[2], 박순일[3], 안예지[1], 오재호[4], 임혜숙[4], 윤미정[4], 신순식[1,*]
인제한의원, [1]동의대학교 한의과대학 방제학교실 및 한의학연구소, [2]고려한의원, [3]부산인제한의원
[4]목원대학교 테크노과학대학 바이오건강학부

ABSTRACT

Injecheonggeumdan reduces body weight gain and blood lipid profiles in high fat diet-fed mice

Seung-Yeob Yang, Hee-Young Lee[1], Hye-Rim Lee[1], Byoung-Chul Kim[2], Soon-Ill Park[3]
Ye-Ji Ahn[1], Jae-Ho Oh[4], Hye-Sook Lim[4], Mi-Chung Yoon[4], Soon-Shik Shin[1,*]
Inje Korean Medicine Clinic
[1]Dept. of Formula Science, College of Korean Medicine & Research Institute of Korean Medicine, Dong-Eui University
[2]Gorye Korean Medicine Clinic, [3]Busan Inje Korean Medicine Clinic
[4]Dept. of Life Sciences, Mok-Won University

Objectives : We investigated the effects of Ingecheonggeumdan(ICD) on body weight and examined whether blood lipid 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 6 groups: C57BL/6N normal, control, ICD-1(150㎎/㎏), ICD-2(300㎎/㎏), ICD-3(600㎎/㎏) and orlistat(10 ㎎/㎏). After mice were treated with ICD and orlistat for 8 weeks, we measured body weight

• 교신저자 : 신순식
• 부산시 부산진구 양정2동 산45-1 동의대학교 한의과대학 방제학교실
• Tel : 051-850-7414 E-mail : ssshin@deu.ac.kr
• 접수 : 2012/ 05/ 31 수정 : 2012/ 06/ 14 채택 : 2012/ 06/ 19

gain, food intake, feeding efficiency ratio, fat weight, plasma leptin and lipid levels. We also performed histological analysis for liver and fat on the mice.

Results : Compared with controls, ICD and orlistat-treated mice had lower body weight gain and adipose tissue weight, the magnitudes of which were prominent in ICD-3. Compared with controls, ICD and orlistat-treated mice had lower blood leptin levels, the magnitude of which was prominent in ICD-3. Compared with controls, ICD and orlistat-treated mice had higher blood HDL-cholesterol and lower blood plasma LDL-cholesterol, free fatty acid and triglyceride levels, the magnitudes of which were prominent in ICD-3. Blood plasma AST and ALT concentrations were not changed by ICD and orlistat, indicating ICD and orlistat do not show any toxic effects. Consistent with their effects on body weight gain, the size of adipocytes and hepatic lipid accumulation were significantly decreased by ICD and orlistat.

Conclusions : These results demonstrate that ICD and orlistat effectively reduce body weight gain, blood plasma LDL-cholesterol, free fatty acid and triglyceride levels and improves abdominal fat, the magnitudes of which were prominent in ICD-3.

Key word : injecheonggeumdan, orlistat, body weight gain, obesity, triglyceride

Ⅰ. 緖 論

인제청금단(仁濟淸金丹, Injecheonggeumdan, ICD)은 黑丑·滑石·大黃과 黃芩의 네가지 약물로 조성되어 있으며, 『東醫寶鑑』「雜病篇」 卷1에 나오는 導水丸[1]의 용량을 조정하여 만든 方劑이다.

黑丑(*Pharbitidis Semen*)은 메꽃과(旋花科)에 속한 1년생 藤性草本인 나팔꽃(裂葉牽牛) 또는 둥근잎나팔꽃(圓葉牽牛)의 성숙한 種子를 약용하는 것으로 그 氣味가 苦辛, 寒, 有毒하며 그 歸經은 肺·腎·大腸經이다[2,3]. 여기에는 pharbitin, pharbitic acid, tiglic acid, nilic acid, α-methylbutyric acid, valeric acid, ipurolic acid, D-glucose, L-rhamnose, D-quinovose, chanoclavine, elymoclavine, penniclavine, agroclavine, lysergol, 脂肪油와 기타 糖類 등이 들어 있다[2,4]. 利水通便·祛痰逐飮·消積殺蟲 효능이 있어 瀉下와 이뇨작용·평활근 흥분작용 및 기타 驅蟲작용이 있는 것으로 알려져 있다[2,3].

滑石(*Talcum*)은 규산염류 광물인 활석 광석을 분쇄하여 약용하는 것으로 그 氣味가 甘淡, 寒하고, 그 歸經은 膀胱·胃經이다[3,5,6]. 주요성분은 $Mg_3(SiO_4O_{10})\cdot(OH)_2$ 혹은 $3MgO\cdot4SiO_2\cdot H_2O$이고, 그 조성성분은 MgO, SiO_2, H_2O이며 보통은 일부 MgO는 FeO로 치환된다. 이밖에도 Al_2O_3 등의 雜質이 들어 있다[4-6]. 利水通淋·淸熱解暑·收濕斂瘡 효능이 있어 피부에 살포하면 피부건조를 개선하고 손상되거나 염증이 있는 피부에 외용하면 화학적 자극물이나 독물을 흡착하여 피부보호작용이 있

다. 그밖에 bacillus typhosus, bacillus paratyphosus A의 억제작용이 있는 것으로 알려져 있다[3,5,6].

大黃(*Rhei Rhizoma*)은 마디풀과 (蓼科)의 多年生 草本인 掌葉大黃·唐古特大黃과 藥用大黃의 뿌리줄기를 말려 약용하는 것으로, 그 氣味가 苦, 寒하고, 그 歸經은 脾·胃·大腸·肝·心包經이다[3,8]. 여기에는 rhein, aloe-emodin, emodin, physcion, chrysophanol, rheinoside A·B·C·D, palmidin A·B·C, sennidin A·B·C, reidin A·B·C, sennoside A·B·C·D, rhaponticin, catechin, epicatechin gallate, glucogallin 등이 들어 있다[7,8]. 瀉下攻積·調中化食 효능이 있어 瀉下작용과 위액분비 촉진작용이 있고, 平肝降氣·利膽退黃 효능이 있어 利膽작용과 간보호 작용이 있다. 淸熱解毒 효능이 있어 병원미생물 억제작용·항염작용과 해열작용이 있으며, 瀉火凉血·止血活血 효능이 있어 지혈작용·혈액유변학 개선작용과 지질대사 개선작용이 있고, 利水消腫 효능이 있어 利尿消腫 작용이 있다. 그밖에 정신병 개선작용과 강심작용이 있는 것으로 알려져 있다[8,9].

黃芩(*Scutellariae Radix*)은 꿀풀과(脣形科)에 속하는 다년생 草本인 黃芩(속썩은풀)·滇黃芩·粘毛黃芩과 麗江黃芩의 주피를 벗긴 뿌리를 약용하는 것으로 그 氣味가 苦, 寒하고, 그 歸經은 肺·膽·脾·大腸·小腸經이다[3,10]. 여기에는 baicalin, baicalein, chrysin, oroxylin A, oroxylin-A-glucuronide, wogonin, wogonoside, skullcapflavone Ⅰ,Ⅱ, 다수의 flavonoids와 eriodictyol, rivularin, β-sitosterol, campesterol 및 stigmasterol이 들어 있다[4,10]. 淸熱燥濕·瀉火解毒·止血安胎의 효능이 있어 항염작용·항알러지 작용·병원미생물 억제작용·해열작용·해독작용·혈압강하 작용·지질대사 개선작용·지질과산화 억제작용·간보호 작용·利膽작용·이뇨작용과 항암작용이 있는 것으로 알려져 있다[9,10].

비만은 제2형 당뇨병과 심혈관계 질환의 위험질환인 고중성지방혈증, 고혈압, HDL-cholesterol 감소, 인슐린 저항성 등이 군집되어 나타나는 대사증후군과의 관련성이 주목받고 있으며, 비만한 사람에게서 제2형 당뇨병과 관상동맥질환의 발생이 증가한다. 내장지방형 비만은 복부, 특히 복강내에 지방(장간막 지방, 대장의 지방 등 문맥계의 지방조직)이 과잉 축적된 상태이며, 내장지방의 축적은 이런 대사질환의 발생에 중요한 역할을 담당한다는 것이 밝혀져서 피하지방량보다 내장지방량이 증가된 비만환자에서 관상동맥 질환의 위험이 증가된다[11-17]. 우리나라의 2000-2010년 사망원인을 살펴보면, 사망원인 중 심장질환은 2008년에서 2009년 사이에 감소추세였으나 2010년 증가추세로 전환하는 변화를 보였다. 그러나, 10년간 줄곧 심장질환이 암과 뇌혈관질환 다음으로 높은 사망률을 보여주었으며, 특히 심근경색증과 협심증 등의 허혈성 심장질환이 심각함을 알 수 있다[18]. 따라서 이를 예방하고 치료할 수 있는 치료제의 개발이 시급함을 알 수 있다.

임상의 로컬 클리닉 수준에서 흑축, 활석, 대황과 황금의 단미를 사용하는 것보다 네 약물을 配伍한 인제청금단을 사용한 것이 체중감량과 중성지방 개선효과가 우수한 것으로 나타나 동물 실험상에서도 같은 효과가 있는지를 검증하고자 하였고, 또한 다국적 제약회사의 orlistat와 효능을 비교하였다. 본 연구에서는 8주령의 고지방식이 유발 수컷 마우스 비만모델을 이용하여 인제청금단의 투여가 체중 증가량, 식이효율, 혈중 비만조절 관련 지표와 독성지표, 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 42마리를 사용하였다. 각 군 당 7마리

를 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시하고, 이를 실험에 사용하였다.

사육환경은 온도 21±2 ℃, 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

실험물질인 인제청금단의 조성약물은 인제한의원(Daegu, Korea)에서 제공하였고, 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선한 뒤에 분말하였다(Table 1). 분쇄한 인제청금단을 멸균한 정수물에 녹여 사용하였고, 대조물질은 멸균한 정수물을 사용하였다.

3) 실험군 및 투여방법

군당 8마리 수컷을 공시하였으며, ICD는 150, 300, 600㎎/㎏의 농도로, orlistat는 10㎎/㎏의 농도로 8주간 경구 투여하였다(Table 2).

Table 1. The composition of *ICD*

한약명	Ingredient	%
黑丑	*Pharbitidis Semen*	20
滑石	*Talcum*	20
大黃	*Rhei Rhizoma*	30
黃芩	*Scutellariae Radix*	30
	Total amounts	100

Table 2. Experimental groups

Group	Treatment	Number	Sex
Normal	Low fat	7	male
	High fat (45㎉%) + ICD (㎎/㎏ BW)		
Control	water	7	male
ICD-1	150	7	male
ICD-2	300	7	male
ICD-2	600	7	male
Orlistat	10	7	male

2. 연구방법

1) 체중 증가량 측정

ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat가 체중 증가량에는 어떤 변화를 주는지 알아보기 위하여 매주 2회 8주 동안 체중을 측정하고, 이를 근거로 하여 체중 증가량을 계산하였다.

2) 식이효율 측정

ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat가 식욕과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 체중은 매주 2회, 사료섭취량은 매주 1회 8주 동안 측정하였고, 이를 근거로 하여 식이효율을 계산하였다.

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

식이효율(feeding efficiency ratio: FER%) = 체중 증가량(g)/사료섭취량(g)×100[19,20]

3) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 실험시작 8주 후 12시간 절식한 뒤 diethyl ether로 마취한 다음 개복하여 복대정맥에서 혈액 1㎖을 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 asparate aminotransferase, alanine aminotransferase, high density lipoprotein cholesterol(HDL-cholesterol), low density lipoprotein cholesterol(LDL-cholesterol), triglyceride, free fatty acid와 leptin의 혈중 농도를 각각 측정하였다.

4) 동물부검

채혈한 뒤에 부검하여 지방조직과 간장의 무게를 측정하고, 조직을 수집하였다.

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 ㎛의 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 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

대조군에 비하여 ICD-1은 45일째부터 통계적으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여 ($p<0.05$) 49일째 잠시 주춤하다가 52일째부터 다시 감소하기 시작하여 실험종료 56일째까지 체중 증가량의 감소를 유지하였다. ICD-2는 42일째부터 통계적으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여($p<0.05$) 45일째부터 감소폭이 더 늘어났으며($p<0.01$) 49일째까지 지속되다가 52일째 감소폭이 더 늘어났으며($p<0.001$) 실험종료 56일째까지 체중 증가량의 감소를 유지하였다. ICD-3은 42일째부터 통계적으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여($p<0.01$) 45일째부터 52일째까지 감소폭이 더 늘어났으며($p<0.001$) 실험종료 56일째까지 체중 증가량의 감소를 유지하였다. Orlistat는 42일째부터 통계적으로 유의하게 체중 증가량이 감소하기 시작하여($p<0.05$) 45일째까지 감소를 유지하다가 49일째부터 52일째까지 감소폭이 더 늘어났으며($p<0.01$) 실험종료 56일째까지 체중 증가량의 감소를 유지하였다. 대조군에 비하여 농도의존적으로 체중 증가량이 감소하는 것으로 나타났으며, ICD의 세농도와 Orlistat 중에서 ICD-3에서 그 정도가 큰 것으로 나타났다(Fig. 1-A).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군은 정상군에 비하여 29.64% 체중 증량효과가 있었고, 대조군에 비하여 ICD-1은 8.65%, ICD-2는 12.42%, ICD-3은 11.99%와 orlistat는 11.14%의 체중 감량효과가 있는 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, RAT, IAT와 BAT에서 정상군에 비하여 대조군은 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. EAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3와 orlistat에서 모두 통계적으로 유의하게 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으나 그 정도는 ICD-3에서 가장 현저하였다(Fig. 1-B). RAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3와 orlistat에서 모두 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으나 ICD-1을 제외한 모든 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며 그 정도는 ICD-3과 orlistat에서 큰 것으로 나타났다(Fig. 1-C). IAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3와 orlistat에서 모두 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으나 ICD-1을 제외한 모든 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며 그 정도는 ICD-3과 orlistat에서 큰 것으로 나타났다(Fig. 1-D). BAT의 경우, 대조군에 비

하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3와 orlistat에서 모두 통계적으로 유의하게 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다(Fig. 1-E).

이를 백분율로 환산하면, EAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 3.90%, ICD-2는 5.75%, ICD-3은 11.48%, orlistat는 9.43%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, RAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 0.82%로 무게가 증가되었으며, ICD-2는 0.56%, ICD-3은 7.74%, orlistat는 7.74%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, IAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 4.90%, ICD-2는 4.59%, ICD-3은 10.16%, orlistat는 13.06%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. BAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 5.11%, ICD-2는 9.79%, ICD-3은 13.50%, orlistat는 8.82%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. EAT, RAT, IAT와 BAT의 무게의 감소는 세 농도 중 ICD-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. ICD-3은 orlistat에 비하여 EAT와 IAT에서 감소 정도가 더 큰 것으로 나타났으며, RAT는 차이가 없었고, IAT는 오히려 orlistat에서 더 감소한 것으로 나타났다.

Table 3. The change of adipose tissue weights

AT \ Drug	ICD-1 (%)	ICD-2 (%)	ICD-3 (%)	orlistat (%)
EAT	(-)3.90	(-)5.75	(-)11.48	(-)9.43
RAT	(+)0.82	(-)0.56	(-)7.74	(-)7.74
IAT	(-)4.90	(-)4.59	(-)10.16	(-)13.06
BAT	(-)5.11	(-)9.79	(-)13.50	(-)8.82

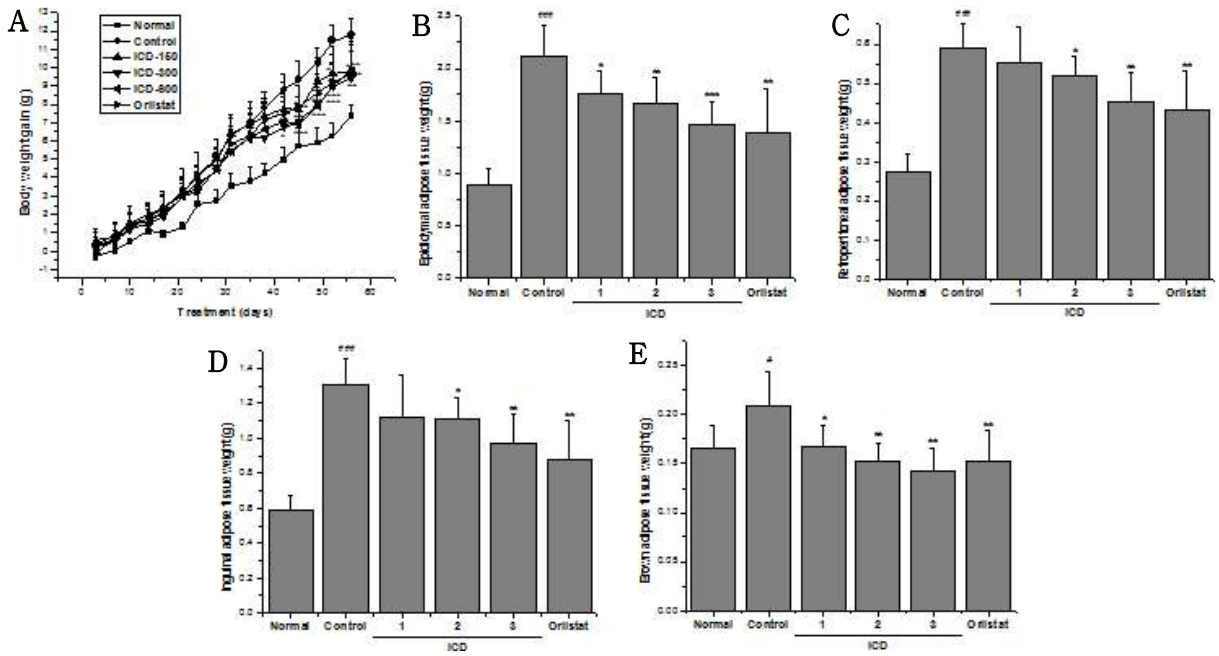

Fig. 1. Changes in body weight gain(A), epididymal adipose tissue weight(B), retroperitoneal adipose tissue weight(C), inguinal adipose tissue weight(D) and brown adipose tissue weight(E) in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean ± SD. # $p<0.05$, ### $p<0.001$ significantly different from nromal.
* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ significantly different from control. ICD = Injecheonggeumdan.

2. 식이효율과 혈중 leptin 농도

식이효율은 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat는 낮은 것으로 나타났으나 모두에서 통계적인 유의성은 없는 것으로 나타났다.

이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 식이효율이 25.21%로 높게 나타났다. 대조군에 비하여 ICD-1은 4.04%, ICD-2는 4.39%, ICD-3은 4.98%, orlistat는 6.72%로 낮게 나타났다(Fig. 2-A).

실험시작 8주 후 혈장 내 leptin의 양을 측정한 결과, 그 값이 정상군에 비하여 대조군은 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났다. 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat 모두는 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, ICD-3이 그 정도가 가장 크고, orlistat가 두 번째로 큰 것으로 나타났다(Fig. 2-B).

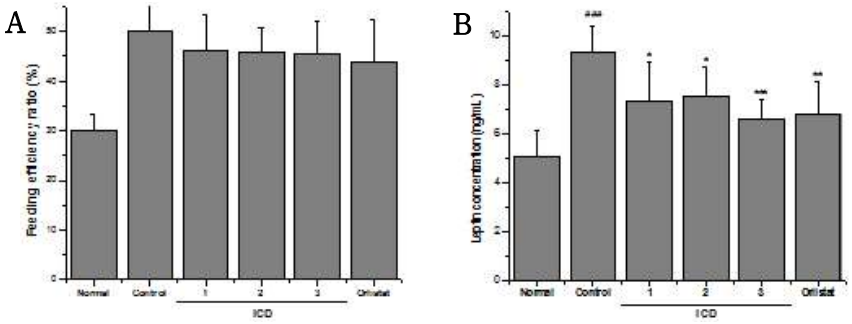

Fig. 2. Reduction of total feeding efficiency ratio(A) and fasting plasma leptin levels(B) in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean ± SD. ### $p<0.001$ significantly different from nromal.
* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ significantly different from control. ICD = Injecheonggeumdan.

3. 혈액생화학분석

1) 혈중 asparate aminotransferase와 alanine aminotransferase 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 asparate aminotransferase와 alanine aminotransferase의 양을 측정한 결과, asparate aminotransferase의 값은 ICD의 세 농도와 orlistat는 대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성이 없었으며(Fig. 3-A), Alanine aminotransferase의 값은 ICD의 세 농도와 orlistat는 대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성이 없는 것으로 나타났다(Fig. 3-B).

2) 혈중 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride와 free fatty acid 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride와 free fatty acid의 양을 측정한 결과, HDL-cholesterol의 값은 정상군에 비하여 대조군은 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat에서 증가되어 있으나 ICD-1과 ICD-3의 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Fig. 4-A). LDL-cholesterol의 값은 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며, ICD-3의 농도에서 그 정도가 큰 것으로 나타났다(Fig. 4-B). Triglyceride의 값은 정상군에 비하여 대조군은 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났다. 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat 모두는 낮은 것으로 나타났고, orlistat를 제외한 모든 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며 ICD-2와 ICD-3에서 그 정도가 큰 것으로 나타났다(Fig. 4-C). Free

fatty acid의 값은 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat 모두는 낮은 것으로 나타났고, orlistat를 제외한 모든 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Fig. 4-D).

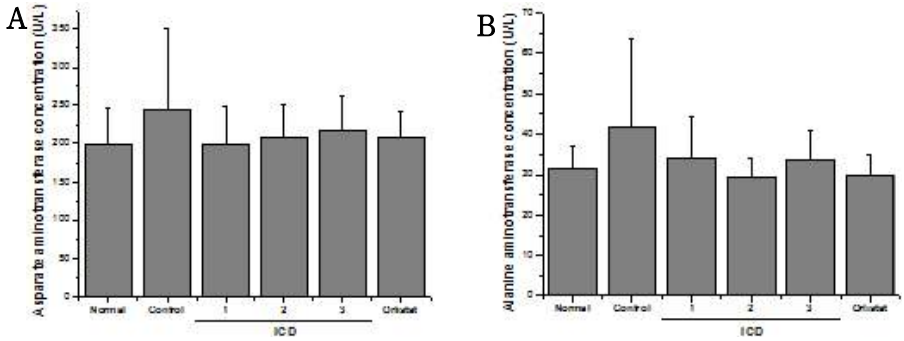

Fig. 3. Fasting plasma asparate aminotransferase(A) and alanine aminotransferase(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean ± SD. ICD = Injecheonggeumdan.

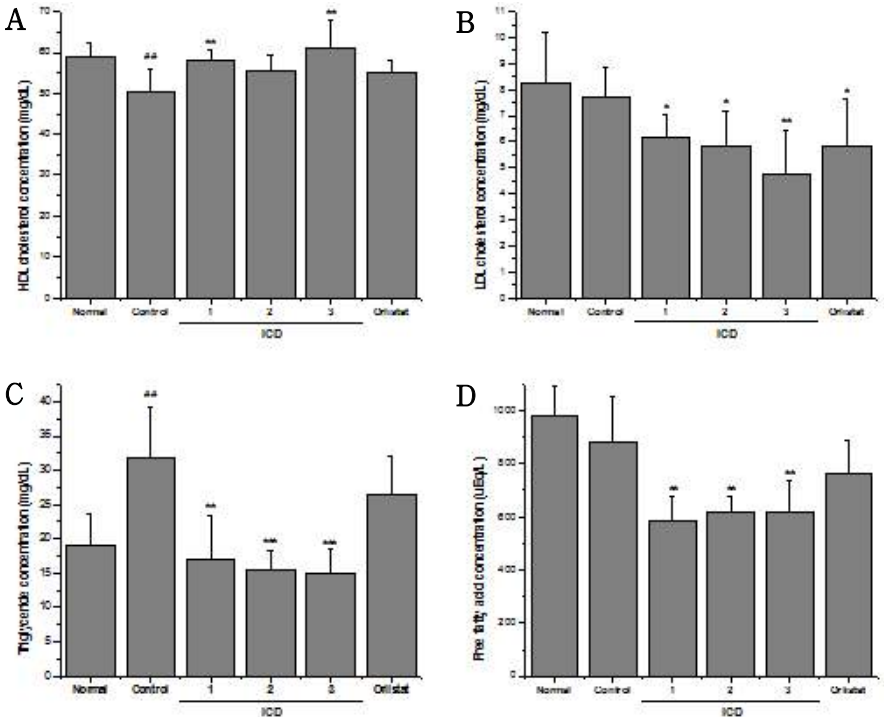

Fig. 4. Fasting plasma HDL- cholesterol(A), LDL-cholesterol(B), triglyceride(C) and free fatty acid(D) levels in high fat diet-fed obese mice.

All values are expressed as the mean ± SD. ## $p<0.01$ significantly different from nromal.
* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ significantly different from control.
HDL = high density lipoprotein; LDL = low density lipoprotein. ICD = Injecheonggeumdan.

5. ICD와 orlistat에 의한 지방조직 및 간조직의 histology와 morphology 변화

1) ICD에 의한 지방조직의 histology와 morphology 변화

ICD와 orlistat가 고지방식이 마우스 비만모델 지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 지방조직을 hematoxylin-eosin 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis system으로 관찰하였다. EAT에서 지방세포의 크기가 정상군에 비하여 대조군은 59% 증가하여 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 ICD-1의 경우 지방세포의 크기가 7% 증가하는 것으로 나타났으나, ICD-2, ICD-3과 orlistat는 각각 3.6%, 17%와 5%로 지방세포의 크기가 감소되었으며, 그중에 ICD-3에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Fig. 5).

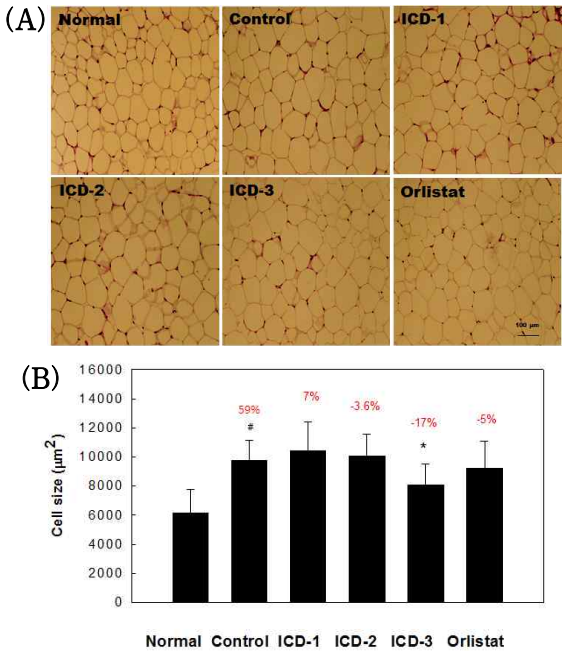

Fig. 5. Histology of epididymal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice.

(A) Representative hematoxylin and eosin sections of epididymal adipose tissue(original magnification X 50). (B) Size of epididymal adipocytes. The size of adipocytes in a fixed area(1,000,000 ㎛²) were quantified by an image analysis system. All values are expressed as the mean ± SD. # $p<0.05$ significantly different from nromal. * $p<0.05$ significantly different from control. ICD = Injecheonggeumdan.

IAT에서 지방세포의 크기가 정상군에 비하여 대조군은 71.8% 증가하여 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat는 각각 10.4%, 6.3%, 28.5%와 16.9%로 지방세포의 크기가 감소되었으며, 그중에 ICD-3과 orlistat에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Fig. 6).

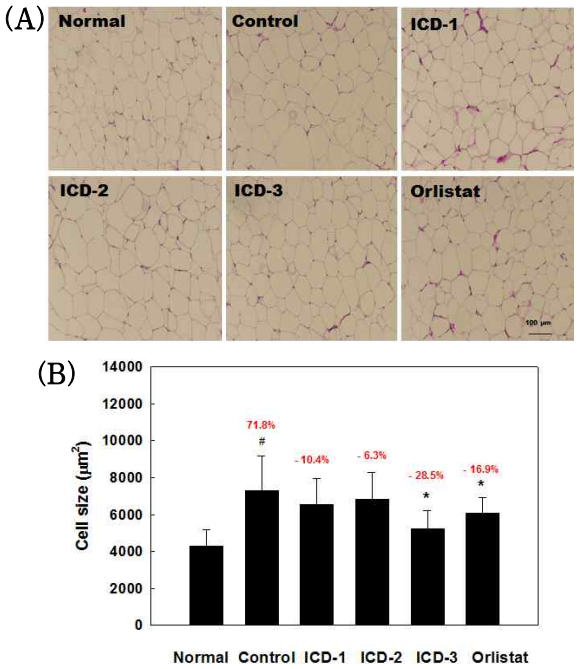

Fig. 6. Histology of inguinal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice.

(A) Representative hematoxylin and eosin sections of inguinal adipose tissue(original magnification X 50). (B) Size of inguinal adipocytes. The size of adipocytes in a fixed area(1,000,000 ㎛²) were quantified by an image analysis system. All values are expressed as the mean ± SD. # $p<0.05$ significantly different from nromal. * $p<0.05$ significantly different from control. ICD = Injecheonggeumdan.

2) ICD에 의한 간조직의 지방축적 변화

고지방식이의 비만형질을 나타내는 비만마우스는 정상 마우스와 비교하여 상당량의 지방이 축적된 지방간을 보여주었으나 이러한 비만마우스에 ICD와 orlistat를 투여하면 간의 지방축적이 감소되었다. 지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게 간세포의 지방축적은 ICD-1. ICD-2. ICD-3과 orlistat에서 대조군에 비하여 4%, 17%, 34%와 43%로 감소하였으나 ICD-3과 orlistat에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Fig. 7).

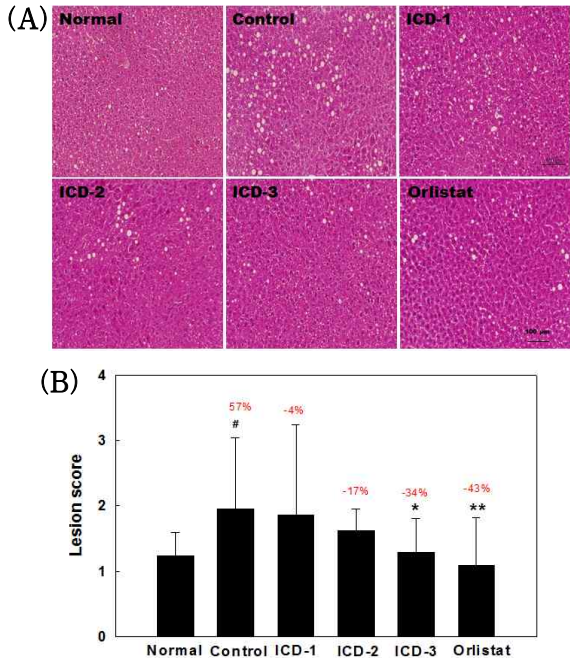

Fig. 7. Inhibition of hepatic lipid accumulation by ICD in high fat diet-fed obese mice.

(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 ± SD.
# $p<0.05$ significantly different from nromal.
* $p<0.05$ significantly different from control.
ICD = Injecheonggeumdan.

Ⅳ. 考 察

비만은 제2형 당뇨병과 심혈관계 질환의 위험질환인 고중성지방혈증, 고혈압, HDL-cholesterol 감소, 인슐린 저항성 등이 군집되어 나타나는 대사증후군과의 관련성이 주목받고 있으며(Fig. 8), 비만한 사람에게서 제2형 당뇨병과 관상동맥질환의 발생이 증가한다. 내장지방형 비만은 복부, 특히 복강 내에 지방(장간막 지방, 대장의 지방 등 문맥계의 지방조직)이 과잉 축적된 상태이며, 내장지방의 축적은 이런 대사질환의 발생에 중요한 역할을 담당한다는 것이 밝혀져서 피하지방량보다 내장지방량이 증가된 비만환자에서 관상동맥 질환의 위험이 증가된다[11-17].

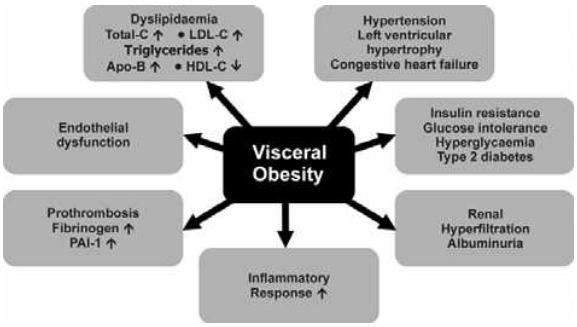

Fig. 8. Factors contributing to cardiovascular risk in patients with visceral obesity[21].

우리나라의 2009년 국민건강영양조사에 의하면, 제4기 3차년도(2009) 결과 고콜레스테롤혈증 유병률은 11.8%이었고 50대 이전에는 성별에 따른 차이가 크지 않으나 50대 이후에는 이 차이가 뚜렷하여 여자의 유병률이 7-10% 정도 높았다. 저HDL콜레스테롤혈증 유병률은 전체 28.2%, 남자 36.1%, 여자 20.6%로 남자가 15% 정도 더 높았으며 연령이 높을수록 높은 경향이었다. 고중성지방혈증 유병률은 전체 16.9%, 남자 23.9%, 여자 10.8%로 남자가 10% 이상 더 높았고, 연령별로는 40-60대 남자의 유병률이 20%이상이었고, 이 중

50대의 경우 31%로 가장 높았다[22]. 우리나라의 2000-2010년 사망원인 중 심장질환은 암과 뇌혈관 질환 다음으로 높은 사망률을 보여주었으며, 특히 심근경색증과 협심증 등의 허혈성 심장질환이 심각함을 알 수 있다[18]. 비만동물모델을 이용한 인제청금단에 대한 체중조절과 내장지방 개선에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 고지방식이 마우스 비만모델을 이용하여 인제청금단의 투여가 체중 증가량의 변화에 따라 중성지방과 지방무게 특히 내장지방에 어떤 영향을 미치는 지에 대해서 알아보았다.

체중 증가량의 경우, 대조군은 정상군에 비하여 29.64% 체중 증량효과가 있었고, 대조군에 비하여 ICD-1은 8.65%, ICD-2는 12.42%, ICD-3은 11.99%와 orlistat는 11.14%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났으며, 세 농도 중 ICD-2에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. EAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 3.90%, ICD-2는 5.75%, ICD-3은 11.48%, orlistat는 9.43%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, RAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 0.82%로 무게가 증가되었으며, ICD-2는 0.56%, ICD-3은 7.74%, orlistat는 7.74%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났으며, IAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 4.90%, ICD-2는 4.59%, ICD-3은 10.16%, orlistat는 13.06%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. BAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 5.11%, ICD-2는 9.79%, ICD-3은 13.50%, orlistat는 8.82%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다. EAT, RAT, IAT와 BAT의 무게의 감소는 세 농도 중 ICD-3에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. ICD-3은 orlistat에 비하여 EAT와 IAT에서 감소 정도가 더 큰 것으로 나타났으며, RAT는 차이가 없었고, IAT는 오히려 orlistat에서 더 감소한 것으로 나타났다. 따라서 ICD는 체중감량효과와 일치하게 지방량을 전반적으로 개선시킨다는 것을 시사한다. 특히 내장지방인 EAT와 RAT의 지방량을 줄여 내장지방의 개선효과에 ICD가 기여할 수 있음을 보여준다.

ICD의 투여가 식이효율에는 어떤 변화를 주고 혈중 leptin 농도에는 어떻게 반영되는 지에 대해서 알아보았다.

정상군에 비하여 대조군은 식이효율이 25.21%로 높게 나타났다. 대조군에 비하여 ICD-1은 4.04%, ICD-2는 4.39%, ICD-3은 4.98%, orlistat는 6.72%로 낮게 나타났으나 모두에서 통계적인 유의성은 없는 것으로 나타났다. 혈중 leptin 농도의 값은 정상군에 비하여 대조군은 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat 모두는 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, ICD-3이 그 정도가 가장 크고, orlistat가 두 번째로 큰 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 ICD와 orlistat에서 식이효율의 값이 통계적인 유의성이 없어 ICD와 orlistat는 식욕조절에는 관여하지 않는 것으로 볼 수 있고, 식욕조절과는 다른 지방세포에 중성지방의 축적을 제한하는 기전에 의하여[23] 혈중 leptin 농도를 낮추고 체중 증가량을 줄이며 이에 따라 지방무게를 줄이는 것으로 생각된다.

ICD의 투여가 혈중 간장 독성지표인 asparate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT)와 체중조절과 관련된 지질대사 지표인 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, free fatty acid의 농도를 조사하였다. 왜냐하면 ICD의 비만조절효과가 약리작용에 의한 경우도 있지만 이의 독성으로도 생길 수 있기 때문이다. Asparate aminotransferase(AST)와 Alanine aminotransferase(ALT)의 값은 ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat의

모두에서 대조군에 비하여 통계적인 유의성이 없었다. AST와 ALT의 값이 생리적인 범위안에 있어서 간장독성으로부터는 안전한 것으로 생각된다. 더 세밀한 추가 안전성 시험이 요구된다.

HDL-cholesterol의 값은 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat에서 모두 증가되어 있으나 ICD-1과 ICD-3의 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. LDL-cholesterol의 값은 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며, ICD-3의 농도에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다. Triglyceride의 값은 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat 모두에서 낮은 것으로 나타났고, orlistat를 제외한 모든 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났으며 ICD-2와 ICD-3에서 그 정도가 큰 것으로 나타났다. Free fatty acid의 값은 대조군에 비하여 ICD의 세농도와 orlistat 모두에서 낮은 것으로 나타났고, orlistat를 제외한 모든 농도에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다.

ICD는 체중감량효과와 일치하게 LDL-cholesterol, free fatty acid와 triglyceride의 농도가 통계적으로 유의하게 낮아지고, HDL-cholesterol은 통계적으로 유의하게 증가하는 것으로 나타나 ICD 투여의 실질적인 체중 증가량 감소효과가 혈중 지질대사 지표에 전반적으로 영향을 준다는 것을 입증해 주고 있음을 시사한다. 특히 복부비만에서 중요한 EAT 및 RAT의 내장지방 무게의 감소와 함께 LDL-cholesterol과 triglyceride 지표의 통계적인 유의성이 있음을 보여주므로 ICD는 복부지방 개선에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

ICD에 의하여 체중감량효과가 고지방식이 마우스 비만모델의 지방세포와 간세포의 조직학적, 형태학적 변화에 반영하는지를 조사하였다.

EAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1은 지방세포의 크기가 7% 증가하는 것으로 나타났으나, ICD-2, ICD-3과 orlistat는 각각 3.6%, 17%와 5%로 지방세포의 크기가 감소되었으며, 그중에 ICD-3에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. IAT의 경우, 대조군에 비하여 ICD-1, ICD-2, ICD-3과 orlistat는 각각 10.4%, 6.3%, 28.5%와 16.9%로 지방세포의 크기가 감소되었으며, 그중에 ICD-3과 orlistat에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다.

지방세포의 morphology에 미치는 효과와 유사하게 간세포의 지방축적은 ICD의 세 농도와 orlistat 모두에서 대조군에 비하여 lesion score를 통계적으로 유의하게 감소시켰으며, 그 감소정도는 4%, 17%, 34%와 43%였다. 따라서 체중감량효과와 일치하게 ICD에 의하여 지방세포의 크기는 감소하였으며, 간세포의 지방축적은 억제하는 것을 알 수 있다.

따라서 ICD는 leptin 농도를 낮추고 혈중 지질대사 지표들을 개선시키며 지방량 특히 내장지방량을 줄여 체중감량효과로 나타나고 지방간의 개선도 보여주고 있어 복부지방의 개선에 기여할 수 있음을 보여준다.

V. 結 論

고지방식이 유발 수컷마우스 비만모델을 이용하여 ICD의 투여가 체중 증가량과 지방조직의 무게, 식이효율과 혈중 leptin 농도, 혈중 비만관련 지표, 그리고 지방조직과 간조직의 조직학적, 형태학적 변화를 분석하고 평가하여 다음의 결론을 얻었다.

1. ICD는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 체중 증가량과 지방무게 특히 내장지방의 무게가 감소하였고, 그 효과는 ICD-3에서 더 현저하였다.
2. ICD는 대조군에 비하여 식이효율은 감소하였지만 통계적인 유의성은 없었으며, 혈중 leptin

농도는 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 나타났다.

3. ICD는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 혈중 LDL-cholesterol, free fatty acid와 triglyceride의 농도는 낮아지고, HDL-cholesterol의 농도는 증가하는 것으로 나타났다.
4. ICD는 대조군에 비하여 혈중 AST와 ALT의 농도에 이상이 없는 것으로 나타났다.
5. 체중감량효과와 일치하게 ICD에 의하여 지방세포의 크기는 감소하였으며, 간세포의 지방축적은 억제하였다.

결론적으로 ICD는 leptin 농도를 낮추고 혈중 지질대사 지표들을 개선시키며 지방량 특히 내장지방량을 줄여 체중감량효과로 나타나고 지방간의 개선도 보여주고 있어 복부지방의 개선에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

이 논문은 2012학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(2012AA121).

參考文獻

1. 허준 지음; 동의문헌연구실 옮김; 진주표 주석. 『新對譯 東醫寶鑑』. 수정증보판. 서울:법인문화사, 2009:1013-4.
2. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(6冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:518-20.
3. 全國韓醫科大學 共同敎材 編纂委員會 編著. 『本草學』. 初版發行. 서울:永林社. 2004:218-20, 285-7, 297-9, 360-1.
4. 常新全, 丁麗霞 主編. 『中藥活性成分分析手冊』(下冊). 第1版 第1次印刷. 北京:學苑出版社. 2002:1555-9, 2025-41, 2123-5.
5. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(1冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:283-5.
6. 이장천 외. 『東醫藥用鑛物學』. 초판발행. 서울:醫聖堂. 2005:177-82.
7. 常新全, 丁麗霞 主編. 『中藥活性成分分析手冊』(上冊). 第1版 第1次印刷. 北京:學苑出版社. 2002:145-71.
8. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(2冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:708-21.
9. 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. 2000:200-8, 329-39.
10. 國家中醫藥管理局『中華本草』編委會 編. 『中華本草』(7冊). 第1版 第1次印刷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:200-10.
11. Folsom AR, Eckfeldt JH, Weitzman S, Ma J, Chambless LE, Barnes RW, Cram KB, Hutchinson RG. Relation of carotid artery wall thickness to diabetes mellitus, fasting glucose and insulin, body size, and physical activity. Atherosclerosis Risk in Communities(ARIC) Study Investigators. Stroke. 1994;25(1):66-73.
12. Abate N. Obesity and cardiovascular disease. Pathogenetic role of the metabolic syndrome and therapeutic implications. J Diabetes Complications. 2000;14(3):154-74.
13. Folsom AR, Kushi LH, Anderson KE, Mink PJ, Olson JE, Hong CP, Sellers TA, Lazovich D, Prineas RJ. Associations of general and abdominal obesity with multiple health outcomes in older women: the Iowa Women's Health Study. Arch Intern Med. 2000;160(14):2117-28.
14. Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of obesity

and risk of coronary heart disease in women. N Engl J Med. 1990;322(13):882-9.
15. DeFronzo RA. Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. Diabetes. 1988;37(6):667-87.
16. Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Manson JE. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. JAMA. 1998;280(21):1843-8.
17. 이태희. 비만증과 인슐린 비의존형 당뇨병에서의 포도당 대사. 대한비만학회지 1994;3(1):1-19.
18. http://kostat.go.kr (통계청)
19. 오창호.『비만억제자인 α-MSH 유사체의 합성 및 약효분석』(신약개발연구개발사업 최종보고서). 서울:보건복지부. 2003:21.
20. 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.
21. Sharma AM. Adipose tissue: a mediator of cardiovascular risk. Int J Obes Relat Metab Disord. 2002 Suppl 4:S5-7.
22. 2009 국민건강통계 국민건강영양조사 제4기 3차년도(2009). 서울:보건복지부・질병관리본부, 2010:52-3.
23. Unger RH, Zhou YT, Orci L. Regulation of fatty acid homeostasis in cells: novel role of leptin. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96(5):2327-32.