

고지방식으로 유발된 비만에 대한 택사의 항비만 효과

정향숙*

대구한의대학교 대학원 노인의료복지학과 노인의료복지전공

Efficacy of *Alismatis Orientale Rhizoma* on Obesity induced by High Fat Diet

Hyang Sook, Jeong*

Department of Health and Welfare for the Elderly
Graduate School of Daegu Haany University

ABSTRACT

Objectives : The researcher investigated the anti-obesity effect of *Alismatis Orientale Rhizoma*(AP) water extract in mice fed a high fat diet and focused on the analysis of local area adipose tissue.

Methods : Male ICR mice were divided into three groups, which were fed either a normal AIN diet, a 45% high fat diet (CT group), or a high fat diet and orally administration with a concentrations of 100 mg/kg (AP100 group) and 300 mg/kg body weight (AP300 group) for eight weeks.

Results : As compared with CT group, AP100 group showed significant reductions in absolute weight of liver. As compared with CT group, AP100 group and AP300 group showed significant reductions in weight gain and relative weight of total fat. AST, triglyceride, total-cholesterol levels from the AP 100 group and 300 group were significantly lower than those of the CT, and ALT, LDL-cholesterol levels from the AP 100 group was significantly lower than those of the CT. But serum HDL-cholesterol levels from the AP 100 group and 300 group were significantly higher than those of the CT. And serum adiponectin levels from the AP 100 group was significantly higher than those of the CT. In result of real time PCR, all mRNA expression(PEPCK, G6Pase, PGC-1 α and ERR γ) of two experimental groups were significantly decreased compared to those of CT group. The treatment with AP on local abdominal area made a fat cell size lessen on the fat tissue in the abdominal cavity and subcutaneous area.

Conclusions : These results suggest that AP has an anti-obesity effect and the effect is mediated by inhibition of fat gain.

Key words : *Alismatis Orientale Rhizoma*(AP), anti-obesity, obesity, PEPCK, G6Pase, PGC-1 α , ERR γ

서론

WHO¹⁾에 의하면, 비만이나 과체중은 건강을 손상할 수 있을 정도로 비정상적이거나 과도하게 지방이 축적된 상태를 의미한다. 비만은 에너지 섭취가 소비보다 큰 에너지 대사의 불균형으로 발생한다²⁾.

전세계적으로 2008년 기준으로 보았을 때 14억명 이상이 과체중 상태에 있으며¹⁾, 우리나라의 경우에는 체질량기준으로 볼 때 2010년의 경우 남성은 36.3%, 여성은 24.8%에 이를 만큼 비만 유병률은 매우 높은 상태이다³⁾. 또한 연령대별 체

지방률 분포에서는, 연령이 높아질수록 체지방률이 증가하여 60-70대에서 가장 높은 것으로 나타나, 노인의 경우에 더욱 더 문제가 된다⁴⁾. 그런데, 비만은 전 세계적으로 다섯 번째로 죽음에 이르게 하는 위험요소가 되며¹⁾, 또한 비만은 당뇨, 심혈관질환, 허혈성심질환, 암, 고혈압, 수면 호흡 장애 등을 유발시키는 위험인자로 간주되고 있으며, 체형의 변화를 가져와서 미용에도 부담을 주고 있다^{1,2,5)}.

따라서 비만에 대해서 많은 관심을 가지고, 그 문제점을 파악하고 극복하기 위한 노력이 매우 필요하다고 생각하며, 이에 논자는 국민복지의 증진차원에서 비만을 예방하고 치료

*교신저자 : 정향숙, 대구한의대학교 대학원 노인의료복지학과 노인의료복지전공, 김해대학교 피부미용과
· Tel : 055-320-1702 · E-mail : estjung@naver.com
· 접수 : 2013년 4월 12일 · 수정 : 2013년 5월 22일 · 채택 : 2013년 5월 27일

할 수 있는 연구를 시도해보고자 하였다.

비만을 치료하는 방법으로는 서양의학에서는 행동수정요법, 운동요법, 식이요법, 수술요법, 약물치료요법 등의 방법을 실시하고 있다^{6,7,8)}. 반면에 한의학에서는 주로 化濕利水祛痰, 活血通絡, 補氣健脾, 通腑消導 등의 치료 원칙에 입각하여⁹⁾, 행동수정요법, 식이요법, 약물요법, 침구요법, 부항요법 등의 다양한 방법을 실시하고 있다. 그러나, 한의학과 서양의학의 임상에서 다양한 비만 치료방법을 실시하고 있는 중에서 특히 약물치료방법이 많이 활용되고 있지만, 서양의학 비만 치료제의 경우 여러 가지 부작용이 보고되고 있으므로, 최근에는 천연물질을 포함한 한약재 치료제에 대한 관심이 급증하고 있다^{8,10)}. 현재까지 한약재나 한약처방을 활용한 연구를 통하여 비만에 관하여 많은 연구들이 발표되고 있지만, 아직까지 澤瀉를 이용한 생쥐의 비만 연구는 없었다. 이에 논자는 여러 가지 한방의 비만 치료법 중에서 독성이 비교적 적은 택사를 이용하여 滲濕利水消腫하는 처방을 활용하여 비만에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

택사는 택사과(Alismataceae)에 속하는 여러 해 살이 沼澤 식물인 질경이택사 *Alisma plantago-aquatica* var. *orientale* Samuels, 혹은 택사 *A. canaliculatum* All. Br. et Bouche, 의 덩이줄기를 건조한 것으로, 주로 한방 임상에서 利水滲濕, 泄熱하는 효능으로 이용되고 있다^{11,12)}. 그런데, 택사에 관한 실험연구로는, 항 당뇨 효과¹³⁾, 항산화 효과¹⁴⁾, 항균과 항진균 작용¹⁵⁾, 간 보호 작용¹⁶⁾, 고지혈증 개선¹⁷⁾, 항보체 작용¹⁸⁾, 항암제의 상승효과¹⁹⁾, 항알리지 작용²⁰⁾ 등의 약리작용이 있음이 보고되어져 있으나, 비만 생쥐를 대상으로 한 실험연구는 아직까지 보고되지 않았다.

이에 본 연구자는 서양의학과 한의학에서 비만을 치료하는 한 가지 방법으로 각각 활용되고 있는 이노작용이 있고, 부작용이 거의 없는 천연 약물인 택사의 물 추출물을 고지방식이로 유도된 비만 생쥐에 경구투여한 후, 체중변화, 혈청학적 지표, 지방조직의 형태학적 소견 등 항비만 효과를 연구하여 유의한 결과를 얻었기에 이를 보고한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에서 사용한 질경이택사(*Alisma plantago-aquatica* var. *orientale*; AP)는 휴먼허브(Kyungsan, Korea) 제약회사에서 구입한 것을 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실에서 관능검사상 약전에 합격한 것만을 정선하여 사용하였다. 택사 200 g에 증류수 1 L를 첨가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 추출 여과액을 감압농축(45°C)을 한 후 동결 건조기를 이용하여 얻은 분말가루(37.3 g; 수율 18.65%)를 Deep freezer(-84°C)에 보관하였으며, 보관시료 number는 2012012이다. 각 100 mg/kg, 300 mg/kg의 농도로 distilled water에 희석하여 실험에 사용하였다.

2. 실험동물

실험에 사용한 마우스는 4주령의 웅성 ICR 마우스를 (주

오리엔트(Sungnam, Korea)에서 구입하였다. 실험동물은 Plastic mouse cage에 보관하여 동물실험실에서 온도 22±2°C, 상대 습도 50±5%, light/dark cycle(12h/12h)의 조건하에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 1주일 후 고지방식이(high fat diet)로 식이를 대체하였으며, 식이 1주일 후 체중을 측정하여 고지방식이에 잘 적응한 마우스만을 선별하여 그룹을 분리하였다. 실험 시작 시 한 그룹 당 마우스는 15수로 분리하였으며, 사료 적응기 후 무게 측정을 통해 각 군당 2마리씩 제거하여 최종 13수의 마우스로 각 군으로 분류하였다.

실험동물은 정상식이를 투여한 정상군(N group), 비만대조군(CT group), 택사 저농도군(고지방 + 택사 100 mg/kg; AP 100 group), 택사 고농도군(고지방 + 택사 300 mg/kg; AP 300 group)으로 나누었으며, 8주 동안 하루에 한 번씩 일정시간에 존데(feeding needle)를 이용하여 정상군(N group)과 비만대조군(CT group)은 증류수를, 약물투여군은 농도에 맞는 약물을 강제로 구강투여하였다. 체중은 주 1회, 사료섭취량(Food intake)은 주 3회 측정하였으며 사료 효율(Food Efficiency Ratio)은 체중증가량(g)을 사료섭취량으로 나누어 8주 동안 매주 기록하였다. 본 실험에 사용한 식이는 피드랩(Guri-city, Korea)에서 공급받았으며 정상식이(AIN-93G)와 고지방식이(High Fat 45% Diet)의 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of the experimental diets

Formulation	AIN-93G		HFD 45% cal	
	gm%	kcal%	gm%	kcal%
Protein	20	20	24	20
Carbohydrate	64	64	41	35
Fat	7	16	24	45
kcal/kg	4,000		4,776	
Ingredient	g	kcal	g	kcal
Casein(from milk)	200	800	200	800
Corn Starch	397,486	1,590	155,036	620
Sucrose	100	400	50	200
Dextrose	132	528	132	528
Cellulose	50	0	50	0
Soybean Oil	70	630	25	225
Lard	0	0	175	1,575
Mineral Mixture	35	0	35	0
Vitamin Mixture	10	40	10	40
TBHQ	0,014	0	0,014	0
L-Cystine	3	12	3	12
Choline Bitartrate	2,5	0	2,5	0
Total	1,000	4,000	837,6	4,000

3. 간 및 지방 무게 측정

지방은 일률적으로 마우스 기준 왼쪽부위를 분리하였으며 부고환주위지방, 신장주위지방, 복부피하지방을 합하여 총 지방 무게를 정밀저울(Mettler toledo EL202, Greifensee, Switzerland)을 이용하여 측정하였다. 이를 절대 중량으로 기록하여 분석하였다. 또한 절대 중량을 체중으로 나눈 상대 중량을 측정하였다.

상대중량(%) 산출 공식

= 장기(지방조직)의 절대 중량(mg)/체중(g) × 100

4. 혈액생화학적 지표분석

혈액지표분석을 위한 혈액채취는 12시간 절식 후 실시하였다. Ethyl Ether로 마취시킨 후 복대정맥에서 혈액을 채취한 후 상온에서 약 1시간 정치시켰다. 그 후 혈액을 고속 냉장원심분리기(Mega 17R, Hanil, Korea)로 3,000rpm 20분간 원심분리하여 혈청을 분석에 사용하였다. 혈중 포도당(Glucose), 총 콜레스테롤(TC), 중성지방(TG), 고밀도지단백(HDL-cholesterol), 저밀도지단백(LDL-cholesterol), ALT, AST를 시판 시약(Sentron GmbH, Dresden, Germany)을 구입하여 생화학분석기(METROLAB 1600DR, USA)를 이용하여 측정하였다.

5. ELISA assay

시판 중인 ELISA KIT(영인프론티어, 한국)를 구입하여 adiponectin(인슐린 감수성을 조절하는 호르몬) 및 Leptin(식욕억제호르몬)을 측정하였다. 혈청 중 adiponectin 발현량 측정방법을 설명하면, 우선 혈액으로부터 혈청을 원심분리기로 이용하여 분리한다. 분리된 혈청은 완충용액으로 1:9로 희석(10 μ l 혈청에 90 μ l sample diluent buffer를 섞어 희석하여 sample을 제작)하여 총 용량을 100 μ l로 맞추어 둔다. 그리고 ABC working solution 과 TMB color developing agent는 사용하기 전에 37° C에서 30분 동안 가열한다.

adiponectin standard 대조군 설정을 위해 4,000 pg/ml, 2,000 pg/ml, 1,000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml의 농도의 mouse adiponectin standard solutions을 96 well에 넣는다.

Control(zero well)로 mouse adiponectin standard solutions에 sample diluent buffer를 100 μ l의 빈 well에 넣는다. 마우스에서 분리한 혈청을 적당한 농도로 희석된 샘플을 각각 빈 well에 100 μ l씩 넣는다. 분주된 plate에는 seal로 커버로 덮고 37° C에서 90분 동안 배양한다.

30분 후 cover를 제거하고 plate의 내용물을 제거한다. 그 다음 secondary Antibody와 Antibody diluent buffer를 1:100 비율로 희석한 anti-mouse adiponectin antibody working solution을 각 well에 0.1 ml 넣고 37° C에서 60분간 방치한다. 60분 후 0.01M TBS or 0.01M PBS로 3회 세척(각 회당 1분간 세척액 방치)하고 세척액을 털어 내어 제거한다.

각 well에 Avidin-Biotin-Peroxidase Complex와 ABC diluent buffer를 1:100 비율로 희석한 ABC working solution을 0.1 ml씩 넣고 37° C에서 30분간 방치한 후, 0.01M TBS로 5회 세척(각 회당 1~2분간 세척액 방치)하고 세척액을 털어 내어 제거한다. TMB color developing agent를 각 well에 90 μ l를 넣고 25° C에서 20~25분간 방치한다. TMB stop solution을 각 well에 0.1 ml 넣으면 색상이 바로 노란색으로 변한다. TMB stop solution을 넣고 30분 후에 450 nm로 O.D. 값을 ELISA reader(TECAN, Infinite M200 pro, Austria)로 측정하였다.

6. RNA 추출 및 Real-Time PCR

간조직에서 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 정량하였다.

고지방식이군과 고지방식이에 *texa*를 처리한 간조직에서 total RNA를 분리하여 real-time PCR analysis를 수행하였다. Real-time PCR은 ABI Prism 7900HT (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용해서 수행하였다. 각각의 PCR은 동일한 sample을 GAPDH를 통해 normalized을 했다. 간조직에서 phosphoenolpyruvate carboxykinase(PEPCK), glucose-6-phosphatase(G6Pase), PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptors gamma) coactivator-1 α (PGC-1 α), estrogen-related receptor gamma(ERR γ)의 유전자 발현을 확인하였으며, primer sequence는 다음과 같다.

PEPCK forward primer 5'-AAGAGACACAGTGCCCA TCC-3', PEPCK reverse primer 5'-ACGTAGGGTGAA TCCGTCAG-3', G6Pase forward primer 5'-GAGACTGG CTCAACCTCGTC-3', G6Pase reverse primer 5'-CCTG GTCCAGTCTCACAGGT-3', PGC-1 α forward primer 5' -TGTTCCCCGATCACCATATTCC-3' , PGC-1 α reverse primer 5' -GGTGTCTGTAGTGGCTTGATTC-3' ; ERR gamma forward primer 5' -TCAAAGCCCTCACCACA CTCT-3' , ERR gamma reverse primer 5' -GCCAG GGACAGTGTGGAGAA-3' ; GAPDH forward primer 5' -GTATGACTCCACTCACGGCAAA-3' , GAPDH reverse primer 5' -GGTCTCGTCTCCTGGAAGATG-3' 였다.

7. 지방조직의 형태적인 관찰

실험동물에서 적출한 간 조직 및 지방조직을 10% neutral buffered formalin을 사용하여 고정하고 탈수 및 포매 과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀 블록을 두께 5 μ m의 관찰 절편으로 제작한 후 xylene을 이용하여 파라핀을 제거시키고, 100, 95, 90, 80, 70% alcohol로 친수화시킨 후 H&E(Hematoxylin & Eosin)염색을 한 후, 다시 과정을 거쳐 Canada balsam으로 봉입하고 광학현미경(Olympus optical microscope BX51, Japan)으로 관찰하였다.

8. 통계분석

모든 실험 결과는 SPSS for windows(Release 14.0K, SPSS Inc, USA)를 이용하여 분석하였으며, 분석결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 군의 결과 값에 대해 one-way ANOVA test(일원분산분석)를 이용하여 P-value가 p<0.05 이하인 경우 통계적인 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 사료섭취효율 및 체중변화

AIN사료를 섭취한 정상군과 고지방식이를 섭취한 대조군, 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg 농도로 각각 투여한 실험군 모두 사료 섭취량이 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

고지방사료 투여 4주후, 정상군에 비해 대조군의 체중이 유의성 있게 증가된 것을 확인할 수 있었으며, 실험 종료시 8주까지

체중이 증가되었음을 알 수 있었다. 반면에 텍사 열수 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg의 농도로 각각 구강투여한 실험군의 체중은 5주부터 유의성을 볼 수 있었으며, 8주까지 분석 결과 대조군에 비해 유의성 있게 체중이 감소되었다(Table 2).

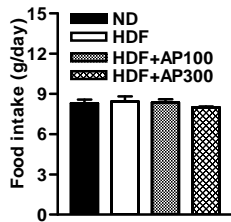


Fig. 1. Changes of AIN feed intake in normal mice group and high fat diet intake in control mice group and experiment mice group treated with AP

The researcher examined feed intakes of all mice groups each two days. And feed intakes were calculated the average. The researcher examined for eight weeks intakes and first week was a period of adaptation to laboratory room(pellet feed for experimental animal) and second week was a period of adaptation to AIN feed. Data are mean±S.D. values for 13 mice per group.

N : Normal mice group fed with AIN diet for 9 weeks
 CT : Control mice group fed with high fat diet for 8 weeks
 AP100 : Experiment mice group fed with high fat diet for 8 weeks and orally administrated with 100 mg/kg of AP aqueous extract per day
 AP300 : Experiment mice group fed with high fat diet for 8 weeks and orally administrated with 300 mg/kg of AP aqueous extract per day

Table 2. The effect on body weight change in the obese mice

Group	Weight(g)								
	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week	6 week	7 week	8 week
N	30.6±3.1	31.9±3.2	33.4±2.3	34.5±2.5	33.8±3.1	33.3±4.1	34.3±5.2	31.6±6.5	33.1±4.4
C	28.0±2.2	30.5±3.1	35±2	35.4±2.1	35.7±2.4 ^a	38.0±2.3 ^a	39.1±2.9 ^a	39.2±3.0 ^a	39.2±2.9 ^a
AP100	32.7±1.7	33.8±2	33.9±2.2	34±2.3	33.8±2.0	34.5±2.4 ^a	34.7±2.3 ^a	34.4±2.4 ^a	34.2±2.4 ^a
AP300	32.6±1.5	33.5±2.3	32.7±2.9	33.7±2.8	33.3±3.2	34.6±3.3 ^a	34.2±3.6 ^a	34.3±3.2 ^a	34±3 ^{ab}

Comparisons between normal mice group and control mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(*p<0.05). Comparisons between control mice groups and test mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(##p<0.05 ; ###p<0.01).

2. 간 및 지방 무게 분석

1) 간 및 지방 절대중량 및 상대 중량 분석

실험 종료 후, 장기 적출을 통해 간과 지방을 분리하였으며 간의 절대 중량을 측정한 결과, 정상군의 간 무게 보다 대조군의 간 무게가 유의성 있게 증가되었음을 알 수 있었으며 (p<0.05), 텍사 추출물을 100 mg/kg으로 구강투여한 AP100 실험군의 간 무게는 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었으나 (p<0.01), 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군은 유의성 있는 변화가 없었다 (Fig. 2).

복벽 피하지방, 신장주위 지방과 부고환 주위 지방을 적출하여 함께 무게를 측정된 결과, 정상군, 대조군 및 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg으로 각각 구강 투여한 AP100과 AP300 실험군의 지방 절대중량은 유의적 차이를 보이지 않았다(Fig. 2).

실험 종료 후, 장기 적출을 통해 간과 지방을 분리하였으며 간의 절대 중량과 지방 무게를 측정하였다. 이를 체중으로 나누어 상대중량을 측정된 결과, 정상군의 상대 간 중량, 대조군의 상대 간 중량 및 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300

mg/kg으로 각각 구강투여한 AP100과 AP300 실험군의 상대 간 중량간의 유의적 차이점이 없었다(Fig. 3).

반면에 복벽 피하지방, 신장 주위 지방과 부고환 주위 지방을 적출하여 합산한 지방총무게를 측정된 값을 체중으로 나누어 총지방 상대 중량 분석 결과, 정상군보다 대조군의 총지방 상대 중량이 유의성 있게 증가되었으며(p<0.01), 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강 투여한 AP100 실험군의 총지방 상대 중량은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었으며 (p<0.01), 텍사추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 총지방 상대중량은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다(p<0.05)(Fig. 3).

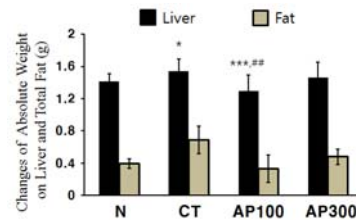


Fig. 2. Changes of absolute weight of liver and total fat on AIN normal mice and HFD mice

The researcher examined changes of absolute weight of liver and total fat in all mice groups and weights were calculated the average. Data are mean±S.D. values for 13 mice per group. Comparisons between normal mice group and control mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(*p<0.05 ; ***p<0.001). Comparisons between control mice groups and test mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(##p<0.01).

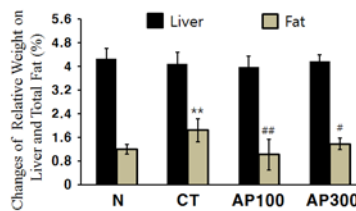


Fig. 3. Changes of relative weight of liver and total fat on AIN normal mice and HFD mice

The researcher dissected normal mice and high fat diet mice and collected liver organs and adipose tissue. We examined changes of absolute weight of liver and total fat in all mice groups and weights were calculated the relative weight [absolute weight of liver and total fat(mg)/body weight(g)×100]. Data are mean±S.D. values for 13 mice per group. Comparisons between normal mice group and control mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(**p<0.01). Comparisons between control mice groups and test mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(##p<0.05 ; ###p<0.01).

4. 혈액 생화학적 분석

혈청 중 AST 함량을 분석한 결과, 정상군 혈청 내 AST 발현량에 비해 대조군의 혈청 내 AST 발현량이 유의성 (p<0.05) 있게 증가되었다(Fig. 4). 반면에 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군과 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 혈청 내 AST 발현량은 대조군의 혈청 내 AST 발현량에 비해 유의성 있게 감소되었다(p<0.01, p<0.001)(Fig. 4).

혈청 중 ALT 함량을 분석한 결과, 정상군 혈청 내 ALT

발현량에 비해 대조군의 혈청 내 ALT 발현량이 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$)(Fig. 4). 반면에 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군의 혈청 내 ALT 함량은 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었으나($p < 0.05$), 텍사추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 혈청 내 AST 발현량은 정상군과 대조군의 혈청 내 ALT 발현량에 비해 유의성 있는 변화는 보이지 않았다(Fig. 4).

혈청 중 중성지방 함량을 분석한 결과, 정상군 혈청 내 중성지방 함량에 비해 대조군의 혈청 내 중성지방 함량이 유의성 있게 증가되었다($p < 0.001$)(Fig. 4). 또한 정상군에 비해 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg 농도로 각각 구강투여한 AP100 실험군과 AP300 실험군의 혈청 내 중성지방 함량도 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$, $p < 0.05$)(Fig. 4). 반면에 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군의 혈청 내 중성지방 함량은 대조군의 혈청 내 중성지방 함량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.001$)(Fig. 4). 또한 텍사추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 혈청 내 중성지방 함량도 대조군의 혈청 내 중성지방 함량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.001$)(Fig. 4).

혈청 중 총 콜레스테롤 함량을 분석한 결과, 정상군 혈청 내 함량에 비해 대조군의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량이 유의성 있게 증가되었다($p < 0.001$)(Fig. 4). 또한 정상군에 비해 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg 농도로 각각 구강투여한 AP100 실험군과 AP300 실험군의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량도 유의성 있게 증가되었다($p < 0.01$, $p < 0.01$)(Fig. 4). 반면에 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량은 대조군의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.01$)(Fig. 4). 또한 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량도 대조군의 혈청 내 총 콜레스테롤 함량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.001$)(Fig. 4).

혈청 중 high density lipoprotein(HDL)-cholesterol 함량을 분석한 결과, 정상군 혈청 내 HDL-cholesterol 함량에 비해 대조군의 혈청 내 HDL-cholesterol 함량이 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$)(Fig. 4). 또한 정상군에 비해 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg 농도로 각각 구강투여한 AP100 실험군과 AP300 실험군의 혈청 내 HDL-cholesterol 함량도 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$, $p < 0.05$)(Fig. 4). 반면에 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군의 혈청 내 HDL-cholesterol 함량은 대조군의 혈청 내 HDL-cholesterol 함량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$)(Fig. 4). 또한 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 혈청 내 HDL-cholesterol 함량도 대조군의 혈청 내 HDL-cholesterol 함량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$)(Fig. 4).

혈청 중 low density lipoprotein(LDL)-cholesterol 함량을 분석한 결과, 정상군 혈청 내 LDL-cholesterol 함량에 비해 대조군의 혈청 내 LDL-cholesterol 함량이 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$)(Fig. 4). 그러나, 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군의 혈청 내 LDL-cholesterol 함량은 대조군의 혈청 내

LDL-cholesterol 함량에 비해 유의성 있게 감소된 반면($p < 0.05$)(Fig. 4), 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 혈청 내 LDL-cholesterol 함량은 대조군의 혈청 내 LDL-cholesterol 함량에 비해 유의성 있는 차이가 없었다(Fig. 4).

혈청 중 HDL/LDL ratio를 분석한 결과, 정상군 혈청 내 HDL/LDL ratio에 비해 대조군의 혈청 내 HDL/LDL ratio가 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$)(Fig. 4). 또한 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg 농도로 각각 구강투여한 AP100 실험군과 AP300 실험군의 혈청 내 HDL/LDL ratio는 정상군의 혈청 내 HDL/LDL ratio 보다 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$)(Fig. 4). 반면에 대조군의 혈청 내 HDL/LDL ratio에 비해 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 및 AP300 실험군의 혈청 내 HDL/LDL ratio는 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$, $p < 0.05$)(Fig. 4).

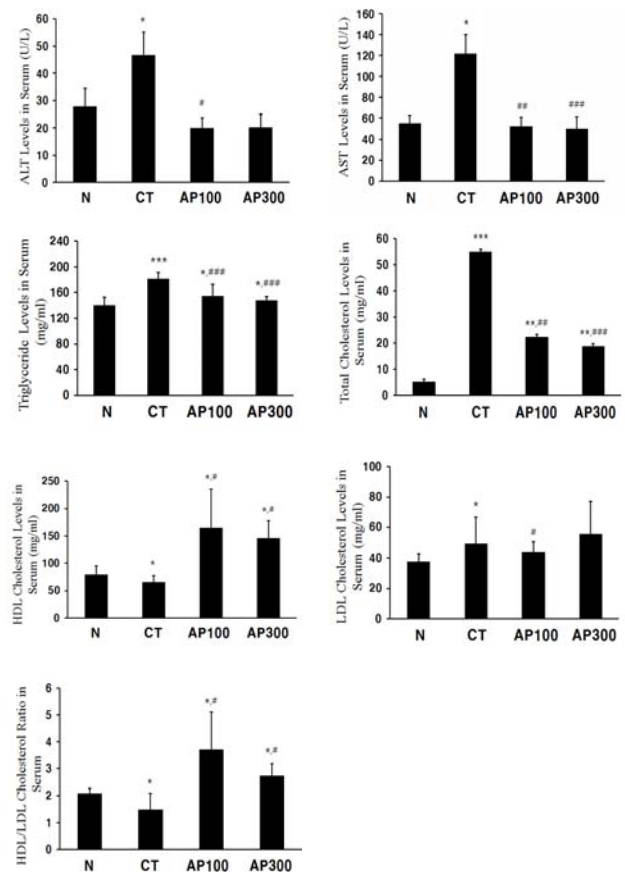


Fig. 4. Changes of AST, ALT, total cholesterol, triglyceride, HDL, LDL levels in serum and HDL/LDL ratio on AIN normal mice and HFD mice

The researcher had collected a whole blood and extracted a serum with centrifuge 3,000 rpm for 20 min. Then serum was stored in the deep freezer to analyze AST level with blood biochemistry analyzer. Data are mean \pm S.D. values for 13 mice per group. Comparisons between normal mice group and control mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Comparisons between control mice groups and test mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(# $p < 0.05$; ## $p < 0.01$; ### $p < 0.001$).

5. ELISA assay

1) 혈청 내 adiponectin 함량 분석

혈청 중 adiponectin 함량을 분석한 결과, 정상군 혈청 내 adiponectin 함량은 4.5 ± 2.1 pg/ml이며, 대조군의 혈청 내 adiponectin 함량은 2.0 ± 1.5 pg/ml로 정상군에 비해 55% 감소된 경향성을 확인할 수 있었다. 반면에 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군의 혈청 내 adiponectin 함량은 8.1 ± 0.8 pg/ml로 대조군의 혈청 내 adiponectin 함량보다 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$)(Fig. 5). 또한 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군의 혈청 내 adiponectin 함량은 5.28 ± 2.8 pg/ml로 260% 증가된 것을 확인할 수 있었으나 유의성은 보이지 않았다(Fig. 5).

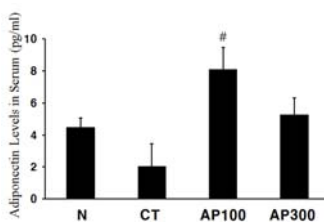


Fig. 5. Changes of adiponectin levels in serum on AIN normal mice and HFD mice

The researcher had collected a whole blood and extracted a serum with centrifuge 3,000 rpm for 20 min. Then serum was stored in the deep freezer to analyze adiponectin level with commercial ELISA adiponectin kit. Data are mean \pm S.D. values for 5 mice per group. Comparisons between control mice groups and test mice groups were analyzed using oneway ANOVA test($\#p < 0.05$).

6. 유전자 발현 분석

1) PEPCK, G6Pase, PGC-1 α 및 ERR γ mRNA 유전자 발현 분석

간 조직을 적출한 후, 비만 유관 mRNA를 발현량을 분석한 결과, 비만유도 대조군의 PEPCK mRNA 발현량은 4.8 ± 0.6 로 정상군의 PEPCK mRNA 발현량에 비해 유의성 ($p < 0.001$) 있게 증가된 반면에, 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 2.5 ± 0.3 , 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 1.8 ± 0.1 로 대조군의 PEPCK mRNA 발현량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$, $P < 0.01$)(Fig. 6).

간 조직을 적출한 후, 비만 유관 mRNA를 발현량을 분석한 결과, 비만유도 대조군의 G6Pase mRNA 발현량은 3.9 ± 0.5 로 정상군의 G6Pase mRNA 발현량에 비해 유의성($p < 0.01$) 있게 증가된 반면에, 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 2.6 ± 0.1 , 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 1.9 ± 0.1 로 대조군의 G6Pase mRNA 발현량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$, $P < 0.01$)(Fig. 6).

간 조직을 적출한 후, 비만 유관 mRNA를 발현량을 분석한 결과, 비만유도 대조군의 PGC-1 α mRNA 발현량은 4.4 ± 0.4 로 정상군의 PGC-1 α mRNA 발현량에 비해 유의성($p < 0.001$) 있게 증가된 반면에, 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 2.7 ± 0.2 , 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 1.9 ± 0.1 로 대

조군의 PGC-1 α mRNA 발현량에 비해 유의성 있게 감소되었다($p < 0.05$, $P < 0.01$)(Fig. 6).

간 조직을 적출한 후, 비만 유관 mRNA를 발현량을 분석한 결과, 비만유도 대조군의 ERR γ mRNA 발현량은 4.0 ± 0.17 로 정상군의 ERR γ mRNA 발현량에 비해 유의성 ($p < 0.01$) 있게 증가된 반면에, 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 2.6 ± 0.06 , 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 실험군은 1.8 ± 0.05 로 대조군의 ERR γ mRNA 발현량에 비해 유의성($p < 0.01$, $P < 0.001$) 있게 감소되었다(Fig. 6).

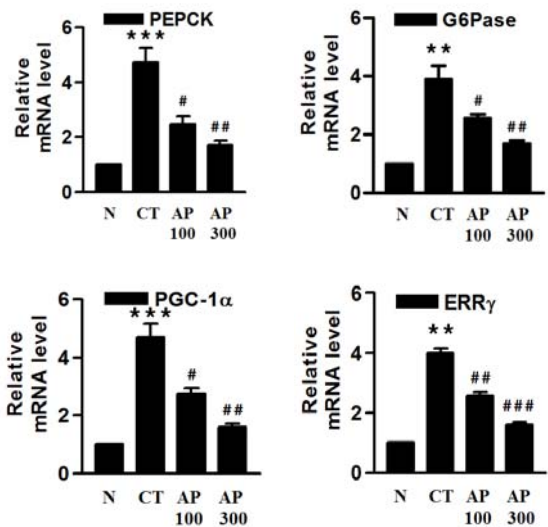


Fig. 6. Changes of PEPCK, G6Pase, PGC-1 α 및 ERR γ mRNA in liver tissue on AIN normal mice and HFD mice

The researcher had collected a liver and extracted RNA with TRizol, extracted RNA was synthesized a cDNA and the cDNA was analyzed real-time PCR. Data are mean \pm S.D. values for 13 mice per group. Comparisons between normal mice group and control mice groups were analyzed using oneway ANOVA test($***p < 0.001$). Comparisons between control mice groups and test mice groups were analyzed using oneway ANOVA test($\#p < 0.05$, $##p < 0.01$).

7. 지방 조직의 조직학적 분석

비만조직 분석 결과, 정상군에 비해 고지방식이를 섭취한 대조군의 지방세포가 커진 것을 확인할 수 있었으며, 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군 및 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군은 대조군에 비해 세포의 크기가 감소되었다(Fig. 7).

현미경을 이용하여 0.25 mm^2 단위 면적당 지방세포 숫자를 분석한 결과, 정상군의 단위 면적당 지방세포수는 105.2 ± 14.3 개 이었으며, 비만이 유발된 대조군의 단위 면적당 지방세포수는 75.6 ± 13.5 개로 감소되었다($p < 0.01$). 반면에 텍사 추출물을 100 mg/kg 농도로 구강투여한 AP100 실험군은 140.9 ± 59.3 개로 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었으며 ($p < 0.05$), 텍사 추출물을 300 mg/kg 농도로 구강투여한 AP300 실험군은 92.2 ± 5.1 개로 대조군에 비해 세포의 수가 유의성 있게 증가되었다($p < 0.05$)(Fig. 7).

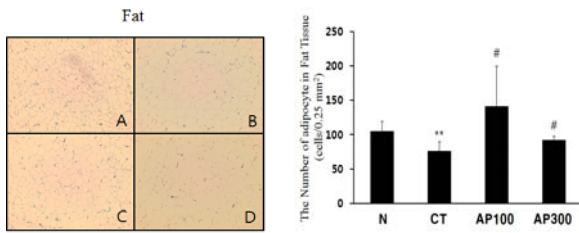


Fig. 7. Changes of adipocyte number in the fat tissue on AIN normal mice and HFD mice

The researcher had dissected adipose tissues in all mice. Then fat tissues were fixed in 10% neutral buffered formalin. Data are mean±S.D. values for 8 mice per group. Fixed tissue were made by paraffin block, cut 5 μm with microtome and stained by H&E. No significant results were not shown in the all mice groups in liver. The researcher had dissected a liver organ and adipose tissue in all mice. Then liver and fat tissue were fixed in 10% neutral buffered formalin. Data are mean±S.D. values for 8 mice per group. Fixed tissue were made by paraffin block, cut 5 μm with microtome and stained by H&E. With image analyzing program, we counted a number of adipocyte per 0.25 mm² in the fat tissue.

Comparisons between normal mice group and control mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(**p<0.01). Comparisons between control mice groups and test mice groups were analyzed using oneway ANOVA test(#p<0.05).

- A : Normal mice group fed with AIN diet for 8 weeks
- B : Control mice group fed with high fat diet for 8 weeks
- C : Experiment mice group fed with high fat diet for 8 weeks and orally administrated with 100 mg/kg of AP aqueous extract per day
- D : Experiment mice group fed with high fat diet for 8 weeks and orally administrated with 300 mg/kg of AP aqueous extract per day

고찰

비만은 외형상으로 문제를 일으킬 뿐만 아니라 건강상으로 심각한 문제를 야기시키며, 사회경제적인 건강관리 비용의 증가로 인하여 국가 부담이 증가하고 있다. 2008년 기준으로 전 세계적으로 성인 중 14억 명 이상의 인구가 과체중 상태이고, 이 중에서 300만명 정도의 여성들이 비만한 상태이다. 2010년 기준으로는 전 세계적으로 최근 5살 이하 소아 비만도 4천만 이상이 될 정도로, 비만은 전 세계적으로도 큰 문제가 되고 있다¹⁾.

그런데, 비만은 우리나라의 경우에도 전세계적인 경향성을 보이고 있다. 2010년 기준 우리나라의 비만율은 국민건강영양조사 결과, 체질량기준으로 볼 때, 남성은 1998년 26.2%에서 2010년 36.3%로, 여성은 26.2%에서 24.8%로³⁾, 여성에 비해 남성이 더 비만 양상을 보여주고 있다.

그런데, 비만과 과체중은 단순한 외형적으로 불편함을 지니는 것에서 벗어나서, 전 세계적으로 사망에 이르게 하는 위험요소 중에서 다섯 번째를 차지할만큼 매우 중요한 요소가 되었으며¹⁾, 비만 그 자체도 질병이지만 다시 다양한 질병들을 일으킬 수 있는 위험 유발 요인으로도 널리 알려지고 있다. 비만과 과체중은 동맥경화, 고혈압 같은 심혈관계 질환, 허혈성 질환과 당뇨, 고지혈증, 수면 중 호흡장애 등의 호흡기계의 질환, 골관절염과 같은 근골격계 계통의 질환 뿐만 아니라, 다양한 형태의 암의 발생율을 증가시켜 사망률을 높이는 위험인자가 되었다^{1,2,5,21-23)}.

비만의 원인으로서는 지방, 소금, 설탕의 비중이 높아지고, 비타민, 미네랄, 미량 영양소의 비중이 낮아진 에너지 밀도가 높은 음식 섭취의 증가, 교통수단의 변화, 도시화 촉진 등으로 인한 환경이나 사회적 변화에 따른 육체활동의 감소가 주된 것으로 파악되고 있다¹⁾. 서양의학에서는 비만을 치료하기 위해서는 식이요법, 행동요법, 운동요법, 약물치료 및 수술치료법 등이 시행되고 있으며²⁴⁾, 이 중에서도 약물치료법이 대중적으로 이용되고 있으나, 약물의 부작용으로 인해 문제가 되고 있다⁸⁾. 예를 들면, 식욕억제제로 비만 치료에 사용되는 약물인 Reductil(성분명 Sibutramine)은 심혈관계에 부작용을 유발하여 우리나라에서 판매가 중단되었고^{25,26)}, 지방 소화억제제인 Xenical(성분명 Orlistat)는 여러 가지 부작용을 일으키고 있는 것으로 밝혀지고 있기 때문에^{27,28)}, 최근 천연물을 소재로 한 항비만물질에 대한 연구가 활발해지고 있다^{8,10)}.

한의학에서는 비만의 원인을 주로痰, 濕, 氣滯, 瘀血 등의 원인으로 발생한다고 판단하며, 치료 방법으로는 약물요법, 식욕억제, 행동요법 등을 시행하고 있으며, 이 중에서 약물요법의 치료법으로는 氣血을 운행시키고, 痰을 없애며, 活血祛瘀하는 등의 치료법을 실시하고 있다⁵⁾.

택사는 택사과(Alismataceae)에 속하는 여러 해 살이沼澤 식물인 질경이택사 *Alisma plantago-aquatica* var. *orientale* Samuels, 혹은 택사 *A. canaliculatum* All. Br. et Bouche,의 덩이줄기를 건조한 것으로, 약성은 차고, 독이 없으며, 맛은 달고 습습하다. 주로 신, 방광경으로 들어가서 효능을 발휘하며, 利水滲濕, 泄熱하는 효능이 있어서, 주로 小便不利, 水腫脹滿, 실사, 痰飲, 대하, 淋症, 遺精, 尿濁 등의 증상을 치료한다^{11,12)}.

택사의 성분에 관한 연구로는, Murata 등²⁹⁾은 alisol A, B, A 24-acetate, B 24-acetate, C 23-acetate를 분리하였으며, Fukuyama 등³⁰⁾은 질경이택사에서 11-deoxyalisol C와 alisol D를 분리하였으며, Yoshikawa 등³¹⁾은 한약재 택사에서 alismol, alismoxide, orientalols A, B, C를 분리하여 구조를 확인하였다. 박종철 등³²⁾은 질경이택사에서 Alisol B 23-acetate를 분리하고 함량을 측정하였다.

택사의 약리에 관한 연구로는, 이상명 등³³⁾은 한약재 택사로부터 분리한 4종의 alisol계 화합물과 alisol B 23-acetate로부터 구조 변환된 13종의 화합물이 farnesylprotein transferase(FPTase)에 대한 억제효과가 있음을 밝혔다. 임숙자 등¹³⁾은 택사 분획물의 투여가 Streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐의 혈당수준과 지질수준을 감소하는 효과를 밝혔으며, 이상천 등¹⁴⁾은 한약재 택사의 추출물이 고지방식이에 대한 간 보호작용과 혈청 중의 TBARS의 양을 감소시키는 작용이 커 항산화능이 높게 나타났음을 밝혔다. 도정애¹⁵⁾는 택사가 항균, 항진균 작용이 있음을 밝혔다. 장일무 등¹⁶⁾은 alisol 성분이 CCl₄로 유도된 간독성에 대한 간 보호 작용이 있음을 밝혔으며, 최장선 등¹⁷⁾은 백서에 대한 고지혈증 개선효과가 있음을 밝혔다. 이 외에도 항보체작용¹⁸⁾, 항암제의 상승효과¹⁹⁾, 항알러지작용²⁰⁾ 등의 약리작용이 있음이 보고되어져 있다.

따라서, 논자는 한방과 양방의 전통적인 비만 약물치료 방법의 하나인 利水消腫의 효능을 지니고 있는 한약재인 택사를 이용하여 비만에 미치는 효과를 검증해보고자 하였으며, 천연 약물의 비만 치료예방과 치료제제를 개발하는데 기초 연구 자료로 활용될 수 있기를 희망하였다.

텍사의 비만 예방 효과를 조사하기 위하여 8주 동안 45%(W/W)의 지방이 함유된 고지방식을 실험대조군(CT군)으로 공급하면서, 실험군에는 텍사 저농도(100 mg/kg)(AP100군)와 텍사 고농도(300 mg/kg)(AP300군)를 존데를 이용하여 경구 투여하였다. 정상대조군은 16% 지방을 포함하고 있는 식이를 공급하였다.

먼저, 사료섭취량을 살펴본 결과, AIN사료를 섭취한 정상군과 고지방식을 섭취한 대조군, 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg 농도로 각각 투여한 실험군 모두 사료 섭취량이 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

비만 시 체중의 증가는 조직 내의 지방 무게의 증가와 축적과 관련이 있는 것으로 알려져 있으므로³⁴⁾, 체중은 비만을 치료하고 측정하는데, 가장 중요한 항목으로 평가되고 있다¹⁰⁾. 고지방 식이를 투여하면 체중은 증가하기 마련이다¹⁰⁾. 8주 사육 후 ICR mouse의 체중을 확인한 결과, 약물 투여 직전 체중은 정상군은 30.6±3.1(g), 고지방식이 섭취 대조군은 28.0±2.0(g), AP100 실험군은 32.7±1.7(g), AP300 실험군은 32.6±1.5(g)으로 그룹 간에는 유의성 있는 차이는 없었으나, 8주 간 고지방 식이를 섭취한 뒤 최종 체중은 정상군은 33.1±4.4(g), 고지방식이 섭취 대조군은 39±2.9(g), AP100 실험군은 34.2±2.4(g), AP300 실험군은 34±3(g)으로 4군 모두 체중이 증가한 것으로 나타났다. 그러나 대조군과 약물투여군 사이에 사료 섭취율에 유의성이 없는 것으로 보아, 이는 약물의 약리 효능에 따라 체중 감소 변화가 나타난 것으로 판단되며, 텍사 열수 추출물을 100 mg/kg 농도와 300 mg/kg으로 구강투여한 실험군의 체중이 대조군에 비해 5주부터 유의성 있게 감소되었다($p<0.05$, $p<0.01$).

ICR mouse에 8주간의 고지방식을 급여한 후, 간 장기 무게와 부고환 주위지방, 신장주위지방, 복부피하지방을 합한 총 지방 무게를 조사하였다. 간 무게의 경우 체중 변화와 마찬가지로, 고지방식으로 인하여 무게가 느는 경향성을 보인다¹⁰⁾. 간 장기 무게의 경우, 절대 중량은 CT군이 1.54±0.15(g)으로 나타나 정상군에 비하여 유의성($p<0.05$) 있게 증가하였고, 반면에 AP100군은 1.3±0.19(g), AP300군은 1.46±0.19(g)로 나타나 CT군에 비하여 감소하였으며, 그 중에서 AP100군에서 실험대조군 CT군에 비하여 유의성($p<0.01$) 있는 감소를 보였다. 그런데, 간의 상대중량은 CT군은 4.10±0.37(%)로 나타났고, AP100군은 3.99±0.34(%), AP300군은 4.20±0.19(%)로 나타나, 모두 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화를 보이지 않았다. 한편, 총 지방조직의 절대 무게는 CT군 0.69±0.17(g)로 나타나 정상군에 비하여 증가하였으나, 유의성은 없었다. 반면에 AP100군은 0.33±0.17(g), AP300군은 0.48±0.10(g)으로 나타나, 실험대조군에 비해 감소하였으나, 유의성은 인정되지 않았다. 그런데, 총 지방조직의 상대 무게는 CT군 1.83±0.39(%)로 나타나 정상군에 비하여 유의성($p<0.01$) 있게 증가하였다. 반면에 AP100군은 1.01±0.52(%), AP300군은 1.38±0.20(%)으로 나타나, 실험대조군 CT군에 비해서 유의성($p<0.01$, $p<0.05$) 있게 감소하였다. 또한, 복벽 피하지방, 신장 주위 지방과 부고환 주위 지방을 각각 적출하여 육안적으로 관찰한 결과, 정상군에 비해 CT군의 지방 크기가 증가되었으나, 텍사 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg으로 각각 구강투여한 AP100과 AP300 실험군의 지방 조직은 대조군에 비해 크기가 감소되었다. 이러한 결과를 볼 때, 고지방식으로

비만을 유도한 생쥐에서 텍사 추출물의 투여는 체지방 축적을 억제하는 효과가 있음을 나타내는 것으로 생각된다.

혈 중의 AST, ALT 활성치가 현저하게 상승한다는 것은 간 손상 여부를 판단하는 중요한 지표가 되며, 간의 실질세포에 장애가 발생하여 혈중으로 이들의 방출이 빨라졌다는 것을 의미한다³⁵⁾. 혈중 AST 농도는 45% 고지방식을 공급한 CT군에서 122.1±18.1(U/L)으로 정상군의 55.1±7.6(U/L)에 비하여 유의성($p<0.05$) 있는 증가를 보였으나, AP100과 AP300군은 각각 52.0±8.8(U/L), 49.9±11.7(U/L)로 CT군에 비해서 유의성 있게 감소되었다($p<0.01$, $P<0.001$)(Fig. 5). 혈중 ALT 농도는 45% 고지방식을 공급한 CT군에서 46.8±8.4(U/L)로 정상군에 비하여 유의성 있게 증가되었으나($p<0.05$), AP100과 AP300군은 각각 20.1±3.6(U/L), 20.3±4.8(U/L)로 나타났으며, 이 중에서 AP100 실험군이 CT군에 비해서 유의성 있게 혈중 ALT 농도가 감소되었다($p<0.05$)(Fig. 6). 또한 혈청 내 AST/ALT 비율에서는 텍사 투여군 모두에서 대조군과 유의성 있는 차이점은 보이지 않았으며, 다만 고지방식으로 비만을 유도한 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 혈청 내 AST/ALT 비율이 증가되었다($p<0.05$). 따라서, AST 함량에서 텍사를 급여한 AP100군과 AP300군은 CT군과는 유의적인 차이를 보였고, ALT 함량에서 텍사를 급여한 AP100군 있어서 CT군과 유의적인 차이를 보였으므로, 간에는 독성이 없고 지방침착으로 인한 염증도 없는 것으로 생각된다.

혈중에서 중성지방이 증가하면 HDL-콜레스테롤 농도는 낮추어주고, 관상동맥 심혈관 질환의 일으킬 수 있는 주요한 원인이 될 수 있다³⁶⁾. 고지방사료를 급여했을 경우에 혈청 내 중성지방은 정상사료군에 비해 증가한다³⁷⁾. 혈중 중성지방 함량은 CT군이 182.0±9.2(mg/ml)로 나타나 정상군에 비해 유의성($p<0.001$) 있게 증가하였다. 반면에 AP100군은 154.3±18.2(mg/ml), AP300군은 148.2±5.6(mg/ml)로 나타나, 텍사 약물투여군이 대조군에 비하여 모두 유의성($p<0.001$, $P<0.001$) 있게 감소한 것으로 나타났다. 그러나, 정상군에 비해서는 두 약물투여군 모두 유의성 있게 증가한 것으로 나타났다($p<0.05$, $P<0.05$). 중성지방의 수준은 고지혈증의 판단에 매우 중요한 지표가 되므로, 텍사의 투여로 인하여 중성지방이 대조군에 비하여 유의성 있게 감소된 것은 고중성지방혈증을 개선하는데 효과가 있는 것으로 생각된다.

혈청 중 총 콜레스테롤의 함량이 증가하면 비만지수도 높기 때문에, 혈청 중 총 콜레스테롤의 함량은 비만의 수준과 밀접한 관련이 있다³⁸⁾. 혈청 중 총콜레스테롤 함량을 측정된 결과, CT군의 총콜레스테롤 함량은 55.1±12.1(mg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 유의성($p<0.001$) 있게 증가하였으나, 반면에 AP100군은 22.4±3.8(mg/ml), AP300군은 18.8±2.1(mg/ml)으로 나타나, 두 약물투여군 모두가 대조군에 비하여 유의성($p<0.01$, $p<0.001$) 있게 감소하였으며, 정상군에 비해서는 유의성($p<0.01$, $p<0.01$) 있게 증가하였다.

HDL(High-Density lipoprotein)-cholesterol은 콜레스테롤을 콜레스테롤 에스테르로 변화하여 간으로 운반하고 담즙산으로 배설함으로써, 혈액 속의 콜레스테롤의 농도를 낮추어 준다³⁹⁾. HDL-cholesterol의 함량을 살펴보면, CT군이 65.8±11.5(mg/ml)이어서 정상군에 비하여 유의성 있게 감소되었다($p<0.05$). 반면에, AP100군은 164.5±71.9(mg/ml),

AP300군은 145.9 ± 32 (mg/ml)로 나타나, 두 가지 약물투여군 모두 대조군에 비하여 유의성($p < 0.05$, $p < 0.05$) 있게 높았으며, 정상군에 비해서도 유의성($p < 0.05$, $p < 0.05$) 있게 높게 나타났다.

비만도가 높아지면 LDL(low density lipoprotein)-cholesterol 농도도 높아지게 되고⁴⁰⁾, 고지방식이의 투여는 특히 LDL-cholesterol 농도를 뚜렷하게 높인다²⁴⁾. LDL-cholesterol의 변화를 관찰한 결과, CT군은 49.3 ± 17.3 (mg/ml)이어서 정상군에 비하여 유의성($p < 0.05$) 있게 증가하였고, 반면에 AP100군에서는 44.0 ± 6.3 (mg/ml), AP300군에서는 55.7 ± 21.2 (mg/ml)로 나타났으며, 이 중에서 대조군에 비하여 AP100군의 값이 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다. 또한 HDL/LDL ratio를 분석한 결과, AP100과 AP300군에서 모두 대조군인 CT군에 비하여 유의성($p < 0.05$, $p < 0.05$) 있게 증가하였다.

고지방식으로 비만은 유발되었으나, 혈당치가 변화가 없다는 것은 아직 2형 당뇨병으로 발전되지는 않았음을 의미한다. 혈당에 미치는 영향을 살펴보면, 혈당은 CT군이 176.7 ± 32.5 (mg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 증가는 되었으나 유의성은 보이지 않았으며, 또한 AP100군이 148 ± 24 (mg/ml), AP300군이 162.1 ± 28.6 (mg/ml)로 텍사 투여군이 대조군에 비하여 감소하였으나, 유의성 있는 변화를 보이지는 않았다. 따라서, 텍사는 고지방식이 섭취에 따라 고혈당을 보이는 ICR mouse의 혈당을 감소시키는 경향을 볼 수 있었으나, 유의성 있는 변화를 보이지 않았다. 이는 부검시 절식을 한 후 혈액 소요시간까지 걸린 시간이 12시간으로 공복시 혈당에 해당되기 때문에 실험군간의 유의성 있는 차이점이 없다고 판단된다. 또한 인슐린 민감도를 호전시키는 adiponectin의 혈청 내 함량을 분석한 결과와 관련하여 텍사 추출물은 혈청 내 glucose 함량을 대조군에 비하여 유의성 있게 낮출 수 있다고 판단된다. 따라서 glucose tolerance test 연구를 통해 혈청 내 포도당 함량 변화에 대한 시간별 분석을 한다면 텍사 추출물이 대조군에 비해 유의성 있는 혈당 강하 효능이 있다는 결론을 얻을 수 있다고 판단된다.

비만을 일으키는 중요한 병인이 되는 지방세포는 중성지방을 합성하고, 저장하며, 필요시에 공급하는 일 외에도, 체내 에너지의 항상성을 유지하기 위하여 신호 전달에 관여하는 cytokine이나 호르몬 즉 adipocytokine을 분비하는데, Adipocytokine에는 TNF- α , IL-6, resistin, adiponectin, leptin 등이 있다⁴¹⁾. 이 중에서 adiponectin은 근육과 간장 조직에서 insulin의 민감성을 높이고, 지방의 산화를 높여서 체중을 줄이는 역할을 수행한다. 따라서, adiponectin은 비만하게 될 경우에는 정상군에 비해 농도가 감소한다⁴²⁻⁴⁴⁾. 혈청 내 adiponectin 함량을 ELISA assay로 분석한 결과, 정상군의 adiponectin 혈청 내 발현량은 4.5 ± 2.1 (pg/ml)이었으며, 고지방식이 대조군은 2.0 ± 1.5 (pg/ml)로 55% 감소되었으나 유의성은 없었다. 반면에 텍사 추출물 투여군인 AP100 실험군의 adiponectin 함량은 8.1 ± 1.8 (pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성($p < 0.05$) 있게 증가하였고, AP300 실험군의 adiponectin 함량은 5.3 ± 2.8 (pg/ml)로 대조군에 비해 현저히 증가되었으나 유의성은 없었다.

혈중의 leptin은 지방축적량과 직접적으로 관련이 있으며, 최근에는 동맥경화증의 발생에 leptin의 역할이 밝혀지면서 심

장혈관질환의 위험인자로 인정되고 있다^{44,45)}. 혈청 내 leptin 함량을 ELISA assay로 분석한 결과, 혈청 내 leptin의 발현량은 고지방식이 대조군은 34.7 ± 1.6 (pg/ml)로 정상군에 비하여 감소되었으나 유의성은 없었다. 반면에 텍사 추출물 투여군인 AP100 실험군의 leptin 함량은 34.7 ± 1.9 (pg/ml), AP300 실험군의 함량은 31.5 ± 2.5 (pg/ml)로 대조군에 비해 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

포도당 신합성에 관여하는 주요 효소로는 PGC-1 α , G6Pase와 PEPCK가 있다⁴⁶⁻⁴⁹⁾. 이 중에서 PGC-1 α 는 열 발생, 미토콘드리아 생합성, 포도당 섭취와 대사를 조절하는 것으로 알려져 있음에도 불구하고⁵⁰⁾, PGC-1 α 는 포도당 신합성 동안에 포도당 합성을 조절하는 것으로 밝혀졌다⁵¹⁻⁵²⁾. Estrogen-related receptor gamma(ER γ) 또한 간에서 포도당 신합성에 주요하게 관여하는 orphan nuclear receptor로서 잘 알려져 있다⁵³⁾. 실험 종료 후 부검을 통해 얻은 간 조직을 채취하여 RNA 분리 후 당신합성에 중요한 효소 PEPCK, G6Pase와 전사조절인자인 PGC-1 α , ER γ 의 mRNA 발현정도를 확인하였다. 그 결과, 고지방식을 통해서 증가된 PEPCK, G6Pase, PGC-1 α , ER γ mRNA 발현도가 텍사를 구강으로 투여한 실험군에서 용량 의존적으로 유의성 있게 감소됨을 확인하였다.

비만 마우스는 일반 마우스에 비하여 지방세포의 크기가 크게 증가되어 있다⁵⁴⁾. 간 조직을 분석한 경우, 정상군과 고지방식을 투여한 CT군, 고지방식을 섭취하면서 텍사 추출물을 투여한 AP100 실험군, AP300 실험군 간의 별다른 차이점은 보이지 않았다. 그런데, 비만조직을 분석한 결과, 정상군에 비해서 고지방식을 섭취한 CT군의 지방세포가 커진 것을 확인할 수 있었으며, 텍사 추출물을 투여한 AP100 실험군, AP300 실험군에서는 대조군에 비해 세포의 크기가 감소되었다. 현미경을 이용하여 0.25 mm² 단위 면적당 지방세포 숫자를 분석한 결과, 비만이 유발된 CT군의 단위 면적당 지방세포수는 75.6 ± 13.5 개로 정상군에 비하여 유의성($p < 0.01$) 있게 감소되었으며, CT군의 지방세포에서는 크기가 큰 세포들의 분포가 많은 것으로 나타났다. 반면에 텍사 추출물을 투여한 AP100 실험군은 140.9 ± 59.3 개, AP300 실험군은 92.2 ± 5.1 개로 대조군에 비해 모두 세포의 수가 유의성($p < 0.05$, $p < 0.05$) 있게 증가되었으며, 크기가 작은 것부터 큰 것까지 분산되어 분포되어 있는 것이 관찰되었다. 이상의 결과를 살펴볼 때, 텍사를 투여한 실험군이 정상군의 지방세포 크기 정도로 정상화된 것은 아니지만, CT군에 비하여 지방세포의 크기가 감소됨은 확인할 수 있었다. 따라서 텍사의 투여는 고지방식을 급여한 생쥐의 지방세포 크기에 영향을 미치는 것으로 판단되며 이는 지방세포 크기가 증가하여 생기는 비대형 비만을 예방하는 효과가 있을 것으로 생각된다.

결론

텍사의 물 추출물을 고지방식이로 유도된 비만 생쥐에 경구투여한 후, 항비만 효과를 연구한 결과는 다음과 같다.

1. 체중의 변화에서는 텍사 열수 추출물을 투여한 AP100군과 AP300군에서는 체중이 대조군에 비해 5주부터 유의성

있게 감소되었다.

2. 간 장기 무게의 경우, 절대 중량은 AP100군에서 유의성 있게 CT군에 비하여 감소를 보였으나, 간의 상대중량은 약물 투여군에서 대조군과 비교하여 모두 유의성 있는 변화를 보이지 않았다. 한편, 총 지방조직의 절대 무게는 약물 투여군이 대조군에 비해 감소하였으나, 유의성은 인정되지 않았다. 총 지방조직의 상대 무게는 AP100군과 AP300군에서 모두 대조군 CT군에 비해서 유의성 있게 감소하였다. 또한, 복벽 피하지방, 신장 주위 지방과 부고환 주위 지방을 각각 적출하여 육안적으로 관찰한 결과, AP100과 AP300 실험군의 지방 조직은 대조군에 비해 크기가 감소되었다.
3. 혈중 AST 농도는 AP100과 AP300군은 CT군에 비해서 유의성 있게 감소되었고, ALT 농도는 AP100군이 CT군에 비해서 유의성 있게 감소되었다.
4. 혈중 중성지방 함량은 AP100군과 AP300군은 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 감소한 것으로 나타났다. 그러나, 정상군에 비해서는 두 약물투여군 모두 유의성 있게 증가한 것으로 나타났다. 혈중 총콜레스테롤 함량을 측정 한 결과, AP100군과 AP300군은 모두가 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였으며, 정상군에 비해서는 유의성 있게 증가하였다. HDL-cholesterol의 함량을 살펴보면, AP100군과 AP300군은 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 높았으며, 정상군에 비해서도 유의성 있게 높게 나타났다. LDL-cholesterol의 변화를 관찰한 결과, AP100군의 값이 유의성 있게 감소하였다. 또한 HDL/LDL ratio를 분석한 결과, AP100과 AP300군에서 모두 대조군인 CT군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.
5. 혈청 내 adiponectin 함량을 ELISA assay로 분석한 결과, AP100군의 adiponectin 함량은 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다. 혈청 내 leptin 함량을 ELISA assay로 분석한 결과, 혈청 내 leptin의 발현량은 AP100과 AP300군에서 모두 대조군에 비해 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.
6. 간조직 내 PEPCK, G6Pase, PGC-1 α 및 ERR γ mRNA 발현량을 분석한 결과, 정상군에 비해 대조군의 간조직 내 PEPCK, G6Pase, PGC-1 α 및 ERR γ mRNA 발현량이 유의성 있게 증가되었으며, AP100 실험군과 AP300 실험군의 간조직내 mRNA 발현량은 농도 의존적으로 유의성 있게 감소되었다.
7. 간 조직을 분석한 결과, AP100군과 AP300군은 CT군이나 정상군에 비하여 별다른 차이점은 보이지 않았다. 그런데, 비만조직을 분석 결과, AP100 군과 AP300군에서는 대조군에 비해 세포의 크기가 감소되었다. 현미경을 이용하여 0.25 mm² 단위 면적당 지방세포 숫자를 분석한 결과, AP100군과 AP300군은 대조군에 비해 모두 세포의 수가 유의성 있게 증가되었으며, 크기가 작은 것부터 큰

것까지 분산되어 분포되어 있는 것이 관찰되었다.

이상으로 텍사 열수 추출물이 고지방사료로 비만을 유도한 생쥐에 미치는 영향을 알아본 결과, 체중 감량, 혈중 고지혈증 관련 인자 및 지방조직 감소를 통해 항비만 효능이 있다고 생각된다.

References

1. WHO. Obesity and overweight. Retrieved Oct. 19, 2012, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en>
2. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000 ; 404(6778) : 635-43.
3. Korea Centers for Disease Control & Prevention of Ministry of health and welfare. Retrieved Oct. 15, 2012, from http://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/sub01/sub01_05.jsp#s5_01_10
4. Lee CW, Lee DH, Yoon JH. The Effects of Circuit Exercise Programs on Body Composition, Blood Lipid and Liver Function Variables in Elderly People with Obesity. *Journal of Sport and Leisure Studies*. 2011 ; 45(2) : 913-22.
5. Lee HY, Yoon KH, Seo BI, Park GR, Yoon MC, Shen ZB, Cui HH, Shin SS. Molecular biologic mechanism of obesity by GGEx18. *Kor J Herbology*. 2011 ; 26(1) : 65-74.
6. Kurt J, Isselbacher. *Harrison's Principles of internal medicine*. New York : McGraw-Hill. 1994 : 446-52.
7. Department of Internal medicine, medical college of Seoul national university. *Internal medicine(내과학)*. Seoul : Gunja publishing. 1996 : 852-62.
8. Woo HC, Shin BK, Cho IJ, Kim MH, Han JH. Bioactive Materials : Anti-obesity Effect of Carbon Dioxide Supercritical Fluid Extracts of Panax Ginseng C. A. Meyer. *J Korean Soc Appl Biol Chem*. 2011 ; 54(5) : 738-43.
9. Kim JY, Song YS. A bibliographic Study about comparison of Eastern-Western medicine on obesity. *Journal of Oriental Rehabilitation Medicine*. 1993 ; 3(1) : 299-314.
10. Shin IS, Choi HM, Ku SK, Kim MR. The effect of natural mixture supplementation on histopathological and histomorphometrical aspects in high fat diet-induced obese mice. *Kor J Herbology*. 2012 ; 27(4) : 53-8.
11. The textbook compilation committee of Korean herbology. *Korean herbology*. Seoul : Younglimsa. 2011 : 348-9.
12. Seo BI, Jeong GY. *The easily understanding herbology*. Kyungsan : publishing department of Dagu Haany university. 2012 : 185-6.

13. Lim SJ, Kim SH. The Effect of Each Fraction of Methanol Extract of *Alisma canaliculatum* on Blood Glucose Levels and Lipid Metabolism in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Korean J Nutr.* 2001 ; 34(6) : 619-25.
14. Lee JC, Lee E, Lee YC. Effects of Rhizoma *Alismatis* on Lipid Composition and TBARS Concentration in Rat Fed High Fat Diet. *Kor J Herbology* 2008 ; 23(3) : 113-7.
15. Chung Ae Toh. Original Articles : Antimicrobial and Antifungal Studies on *Alismae* Rhizoma. *Kor J Pharmacogn.* 1996 ; 27(4) : 378-82.
16. Chang IM, Kim YS, Yun HS, Kim SO. Liver-protective Activities of Alisol Compounds against CCl₄ Intoxication. *Kor J Pharmacogn.* 1982 ; 13(3) : 112-5.
17. Choi JS, Park SD, Byun JS. Experimental Study on the Effects of *Alismatis* Rhizoma on Hyperlipidemia. *K.I.M.S.* 1998 ; 19(2) : 392-410.
18. Lee SM, Kim JH, Zhang Y, An RB, Min BS, Joung H, Lee HY. Anticomplementary activity of protostane-type triterpenes from *Alismatis* rhizoma. *Arch Pharm Res.* 2003 ; 26 : 463-5.
19. Fong WF, Wang C, Zhu GY, Leung CH, Yang MS, Cheung HY. Reversal of multidrug resistance in cancer cells by Rhizoma *Alismatis* extract. *Phytomedicine.* 2007 ; 14(2-3) : 160-5.
20. Kubo M, Matsuda H, Tomohiro N and Yoshikawa M. Studies on *Alismatis* rhizoma. I. Anti-allergic effects of methanol extract and six terpene components from *Alismatis* rhizoma (dried rhizome of *Alisma orientale*). *Biol Pharm Bull.* 1997 ; 20(5) : 511-6.
21. Nasr SZ, Drury D. Appetite stimulants use n cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2008 ; 43(3) : 209-19.
22. Naderali EK, Williams G. Prolonged endothelial-dependent and independent arterial dysfunction induced in the rat by short-term feeding with a high-fat, high-sucrose diet. *Atherosclerosis.* 2003 ; 166(2) : 253-9.
23. Yilmaz A, Suleyman H, Umudum Z, Sahin Y.N. The effect of adrenalectomy on leptin levels and some metabolic parameters in rats with diet-induced obesity. *Biol Pharm Bull.* 2002 ; 25(5) : 580-3.
24. Kim BH, Seo BI, Lee ES, Kim MR, Shin SS. The effects of *Aurantii Fructus Immaturus* and *Persicae Semen* on an obesity of rats fed high fat diet. *Kor J Herbology.* 2003 ; 18(3) : 69-78.
25. Han SC, Cha SW, Suh JE, Suh KH. Original Articles : Single Oral Dose Toxicity of a New Salt of Sibutramine, Sibutramine Mesilate Hemihydrate, in Rats and Beagle Dogs. *The Korean J Lab Anim Sci.* 2004 ; 20(4) : 409-18.
26. Ha YJ, Han YJ, Won Choi YW, Myung KB, Choi HY. Sibutramine (Reductil(R))-Induced Cutaneous Leukocytoclastic Vasculitis : A Case Report. *Annals of Dermatology.* 2011 ; 23(4) : 544-7.
27. Karamadoukis L, Shivashankar GH, Ludeman L, Williams AJ. An unusual complication of treatment with orlistat. *Clin Nephrol.* 2009 ; 71(4) : 430-2.
28. 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.
29. Murata T, Imai Y, Hirata T, Miyamoto M. Biological-active trieterpenes of *Alismatis* rhizoma. I. Isolation of the alisols. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1970 ; 18(7) : 1347-53.
30. Fukuyama Y, Pei-Wu G, Rei W, Yamada T, Nakagawa K. 11-deoxyalisol C and alisol D : new protostane-type triterpenoids from *Alisma plantago-aquatica*. *Planta Med.* 1988 ; 54(5) : 445-7.
31. Yoshikawa M, Yamaguchi S, Matsuda H, Kohda Y, Ishikawa H, Tanaka N, Yamahara J, Murakami N. Crude drugs from aquatic plants. IV. On the constituents of *alismatis* rhizoma. (2). Stereostructures of bioactive sesquiterpenes, alismol, alismoxide, orientalols A, B, and C, from Chinese *alismatis* rhizoma. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1994 ; 42(9) : 1813-6.
32. Park JC, Hur JM, Kim SE. Isolation and Quantitative Analysis of Alisol B 23-Acetate from the Rhizome of *Alisma orientale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2005 ; 34(2) : 243-6.
33. Lee SM, Kwon BM, Min BS. FPTase Inhibition Effect of Protostanes from *Alismatis* Rhizoma and Derivatives from Alisol B 23-acetate. *Kor J Pharmacogn.* 2011 ; 42(3) : 218-22.
34. DiGirolamo M, Fine JB, Tagra K, Rossmanith R. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum. *Am J Physiol.* 1998 ; 274 : 1460-7.
35. Lee JM, Seo BI, Park JH, Roh SS. Effects of water extracts from *Phyllostachys Folium* on hyperlipidemia and liver damage induced by alcohol. *Kor J Herbology.* 2011 ; 26(3) : 31-6.
36. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis : central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res.* 1996 ; 37(4) : 693-707.
37. Morishita S, Saito T, Mishima Y, Mizutani A, Hirai Y, Koyama S, Kawakami M. Strains and species differences in experimental hyperlipidemia. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* 1986 ; 87(3) : 259-64.
38. Yang DH, Kim CH, Jung JG, Jung HW, Choi CH. The Effects of *Taeyeumjowee-tang* and *Taeyeumjoweebaemahwang-tang* on Obese rats. *Kor J Herbology.* 2010 ; 25(3) : 103-9.
39. Castelli WP, Garrison RJ, Willson PW, Abott RD,

- Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein -cholesterol levels. *JAMA*. 1986 ; 256 : 2835-8.
40. Park HS, Kang YJ, Shin ES. Serum Lipid Profiles and Diet Patterns in Obese Children in Seoul. *The Korean J Obes*. 1994 ; 3(1) : 47-54.
41. Kim S, Moustaid-Moussa N. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. *J Nutr*. 2000 ; 130(12) : 3110S-5S.
42. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese mans. *N Engl J Med*. 1996 ; 334(5) : 292-5.
43. Hwang KH, Ahn JY, Kim SA, Ha TY. Anti-obesity Effect of Berberine in Mice Fed a High Fat Diet. *J Food Sci Nutr*. 2009 ; 14(4) : 298-302.
44. Lang K, Ratke J. Leptin and Adiponectin : new players in the field of tumor cell and leukocyte migration. *Cell Commun Signal*. 2009 ; 23(7) : 27.
45. Cooke JP, Oka RK. Does leptin cause vascular disease? *Circulation*. 2002 ; 106(15) : 1904-5.
46. Rhee J, Inoue Y, Yoon JC, Puigserver P, Fan M, Gonzalez FJ, Spiegelman BM. Regulation of hepatic fasting response by PPAR γ coactivator-1 α (PGC-1) : requirement for hepatocyte nuclear factor 4 α in gluconeogenesis. *Proc Nati Acad Sci U S A*. 2003 ; 100(7) : 4012-7.
47. Boustead JN, Stadelmaier BT, Eeds AM, Wiebe PO, Svitek CA, Oeser JK, O'Brien RM. Hepatocyte nuclear factor-4 α mediates the stimulatory effect of peroxisome proliferator-activated receptor γ co-activator-1 α (PGC-1 α) on glucose-6-phosphatase catalytic subunit gene transcription in H4IIE cells. *Biochem J*. 2003 ; 369(1) : 17-22.
48. Hofmann CA, Edwards CW 3rd, Hillman RM, Colca JR. Treatment of insulin-resistant mice with the oral antidiabetic agent pioglitazone : evaluation of liver GLUT2 and phosphoenolpyruvate carboxykinase expression. *Endocrinology*. 1992 ; 130(2) : 735-40.
49. Noguchi T, Matsuda T, Tomari Y, Yamada K, Imai E, Wang Z, Ikeda H, Tanaka T. The regulation of gene expression by insulin is differentially impaired in the liver of the genetically obese-hyperglycemic Wistar fatty rat. *FEBS Lett*. 1993 ; 328(1-2) : 145-8.
50. Handschin C, Lin J, Rhee J, Peyer AK, Chin S, Wu PH, Meyer UA, Spiegelman BM. Nutritional regulation of hepatic heme biosynthesis and porphyria through PGC-1 α . *Cell*. 2005 ; 122(4) : 505-15.
51. Yoon JC, Puigserver P, Chen G, Donovan J, Wu Z, Rhee J, Adelmant G, Stafford J, Kahn CR, Granner DK, Newgard CB, Spiegelman BM. Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature*. 2001 ; 413(6852) : 131-8.
52. Herzig S, Long F, Jhala US, Hedrick S, Quinn R, Bauer A, Rudolph D, Schutz G, Yoon C, Puigserver P, Spiegelman B, Montminy M. CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1. *Nature*. 2001 ; 413(6852) : 179-83.
53. Kim DK, Ryu DR, Koh MS, Lee MW, Lim DH, Kim MJ, Kim YH, Cho WJ, Lee CH, Park SB, Koo SH, Choi HS. Orphan nuclear receptor estrogen-related receptor γ (ERR γ) is key regulator of hepatic gluconeogenesis. *J Biol Chem*. 2012 ; 287(26) : 21628-39.
54. Yoon KH, Lee HY, Jung YS, Seo BI, Park GR, Yoon MC, Shin SS. Modulation of obesity by Gyeongshingangjeehwan18 in ob/ob mice. *Kor J Herbology*. 2010 ; 25(3) : 1-9.