

비파엽약침이 고지방식이 유발 비만 생쥐의 국소부위지방에 미치는 영향[※]

노성수¹, 김재수², 임성철^{2,*}

¹대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실

²대구한의대학교 한의과대학 침구의학교실



[Abstract]

The Efficacy of *Eriobotryae Folium* Pharmacopuncture on Local Fat of High Fat Diet Induced Obesity Mice[※]

Sung Soo Roh¹, Jae Soo Kim² and Sung Cheol Yim^{2,*}

¹Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

²Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Objectives : This study was designed to investigate the anti-obesity effects in local area adipose tissue using by pharmacopuncture of *Eriobotryae Folium* on mice fed high fat diet.

Methods : Male ICR mouse were divided into three groups. Normal diet group (N), High-fat diet (HFD) group, HFD+E(pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group for 8 weeks. HFD+E group was injected in the concentration of 50 mg/kg once a day for 4 weeks and every other day during the next 4 weeks. We measured body weight, food intake, absolute weight and relative weight in the liver and adipose tissue. Also, we analyzed hematological levels and histopathological changes on adipose tissue.

Results : 1. We observed no difference in food intake among three groups.

2. HFD+E group significantly decreased body weight gain and absolute weight and relative weight in the liver and adipose tissue compared with HFD group.

3. Blood AST and ALT were no differences among the experiment groups. However, HFD group was significantly increased higher TG, TC, HDL and LDL than in N group and HDL/LDL ratio was remarkably decreased. On the other hand, HFD+E group was significantly decreased in obesity markers and HDL/LDL ratio was remarkably increased.

4. Levels of adiponectin in serum of HFD+E group was remarkably increased compared with those of HFD group.

5. HFD group was significantly decreased compared with N group in adipocyte number. Compared with the HFD group, HFD+E group was displayed a significant increase by adipocyte number.

Conclusions : We suggest that pharmacopuncture of the Leaves of *Eriobotrya japonica* can play the anti-obesity effects in local area adipose tissue.

Key words :

Eriobotryae Folium
 pharmacopuncture,
 Local fat,
 Adiponectine,
 Triglyceride,
 Cholesterol, Obesity

Received : 2013. 04. 15.

Revised : 2013. 05. 21.

Accepted : 2013. 05. 21.

On-line : 2013. 06. 20.

※ This research was supported by a grant from Daegu Haany University Kylin Foundation in 2011

* Corresponding author : Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, Pohang Oriental Medical Hospital of Daegu Haany University, 411, Saecheonneon-daero, Nam-gu, Pohang-si, Gyeongsangbuk-do, 790-826, Republic of Korea
 Tel : 82-54-271-8009 E-mail : now123@dreamwiz.com

© 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.

The Acupuncture is the Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. (<http://www.TheAcupuncture.or.kr>)
 Copyright © 2013 KAMMS, Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. All rights reserved.

I. 서 론

비만은 섭취에너지가 소비에너지보다 많아 체내의 지방 조직이 과도하게 축적된 에너지 대사의 불균형 상태를 의미하며 WHO¹⁾가 정의한 body mass index(이하 BMI) 지수가 25 이상이면 과체중, 30 이상이면 비만으로 분류한다. 비만은 당뇨병, 심혈관계 질환, 고지혈증, 지방간, 근 골격계 장애와 같은 대사성 질병과 같은 개인적인 건강장애는 물론이고 사회·경제적으로 심각한 문제를 유발한다. 2010년 멕시코의 비만발생률의 증가에 따른 경제적 비용을 조사해본결과 2010년 대비 BMI 지수를 1% 감소시킴에 따라 2030년 4,300만 달러, 2050년 8,500만 달러를 절약할 수 있다는 보고가 있다. 2030년 인구의 절반이 비만으로 분류될 가능성이 있는 미국에서는 특히 간과할 수 없는 문제이다. 또한 보건복지부(2012)의 발표에 의하면, 2010년을 기준으로 한 우리나라의 비만율은 국민건강영양조사 결과, 체질량 기준으로 볼 때, 남성은 1998년 26.2%에서 2010년 36.3%로, 여성은 26.2%에서 24.8%로 여성에 비해 남성이 더 높은 비만 양상이다¹⁻⁶⁾.

현재 비만을 치료하기 위한 방법으로 식습관 개선, 운동 요법, 약물치료, 약침요법, 지방흡입술, 위 절제술과 같은 수술요법이 있으나 주로 행해지는 약물치료법은 현재 사용 가능한 비만치료 약물이 fluoxetine, orlistat, sibutramine, rimonabant 등 소수에 불과하고 장기 사용에 따른 약물의 부작용이 발생한다. 따라서 본 연구자는 부작용이 없고 효과적이면서 안전한 천연 한약재로 비만치료법 중 하나인 약침요법을 통해 국소부위 지방 조직을 유의성 있게 경감시킬 수 있는 연구를 수행하였다⁷⁻⁹⁾.

비파엽(leaves of *Eriobotrya japonica* Lindley)는 장미과(rosaceae)에 속하는 상록 교목인 비파나무의 잎으로 냄새가 거의 없고 맛은 약간 쓴 것이 특징으로 연중 채취가 가능하며 우리나라는 제주도 및 남해안지방을 중심으로 재배되고 있다. 비파엽은 폐의 열을 내려주어 기침을 멈추고 가래를 없애주는 작용을 한다. 또한 위의 열을 내려주고 위기를 안정시켜 구토, 딸국질, 입마름 등에 효과가 있고 습진이나 버짐에도 효능이 있다. 그 주요 성분은 nerolidol, ferulic acid이며, 그 외에 ursolic acid, oleanolic acid, β -carotene, kaempferol, amygdalin, malic acid, citric acid, tannin 등이 함유되어 있으며 항당뇨, 항산화, 항염증, 항암, 항균 효과, 항바이러스 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 비파엽에 함유된 polyphenol, flavonoid 등의 생리활성 물질은 체지방형성을 억제하고, 체내 지질대사 개선과 심혈관계 질환 예방에 효과가 있다는 보고가 있다¹⁰⁻²¹⁾.

그러나 아직까지 국소비만에 미치는 비파엽약침에 대한 연구보고가 없어, 이에 본 연구자는 고지방식으로 유도된 비만 생쥐에서 비파엽을 이용하여 약침을 제조하였으며 이를 고지방식으로 유발된 비만 생쥐를 이용하여 *in vivo* 약리효능을 연구하여 국소부위 항비만 효과를 연구하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 비파엽약침 제조

본 연구에서 사용한 비파엽(leaves of *Eriobotrya japonica* Lindley)은 옴니허브(Youngchun, Korea)에서 구입한 것을 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실에서 관능검사상 약전에 합격한 것만을 정선하여 사용하였다. 枇杷葉 200 g에 증류수 1 L를 첨가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 추출 여과액을 감압농축(45 °C)한 후 동결건조기를 이용하여 얻은 분말가루를 deep freezer(-84 °C)에 보관하였다. 약침액 제조는 밀리포어 0.24 μ m syringe filter를 사용하여, 여과한 것을 사용하였으며 약물 투입 농도는 50 mg/kg이었다.

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(12 h/12 h)의 조건하에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 1주일 후 고지방식이(high fat diet)로 식이를 대체하였으며, 식이 1주일 후 체중을 측정하여 비만이 유발된 마우스만을 선별하여 변량인자의 수준을 선택한 후 모수인자를 무작위로 택하여 실험하는 방법인 난괴법을 사용하여 3그룹으로 분리하였다. 8주 동안 실험하였으며 물과 식이는 자유급식하였다.

2. 실험방법

1) 고지방식이 조성 및 약침 주입부위

본 실험에 사용한 고지방식은 피드랩(Guri, Korea)에



Fig. 1. Injection of *Eriobotryae Folium* pharmacopuncture in the abdominal area (subcutaneous injection and intraperitoneal injection)

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

HFD : high fat diet.

서 공급받았으며 정상식이 (AIN-93G)와 고지방식이(high fat 45% diet)의 조성은 Table 1과 같다. 체중은 주 1회, 사료섭취량(food intake)은 주 3회 측정하였다. 4주 동안은 하루에 1회, 후반 4주 동안은 2일에 1회 복강 및 피하로 약 침 주입을 시행하였다(Fig. 1).

2) 혈액생화학적 지표분석

혈액지표분석을 위한 혈액채취는 12시간 절식 후 실시하였다. Ethyl ether로 마취시킨 후 복강정맥에서 혈액을 채

취한 후 상온에서 약 1시간 정치하였다. 그 후 혈액을 3,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 혈청을 분석에 사용하였다. 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), 중성지방(triglyceride, TG), 고밀도지단백(high density lipoprotein, HDL-cholesterol), 저밀도지단백(low density lipoprotein, LDL-cholesterol), alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST)를 시판 시약(Sentron GmbH, Dresden, Germany)을 구입하여 생화학분석기(METROLAB 1600DR, Argentina)를 이용하여 측정하였다.

3) 간 및 지방 무게측정

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

상대중량(%) 산출 공식

$$= \text{장기의 절대 중량(mg)} / \text{체중(g)} \times 100$$

4) 지방조직의 형태적인 관찰

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

5) ELISA assay

시판 중인 ELISA kit(영인프론티어, Korea)를 구입하여 adiponectin 및 leptin 을 측정하였다. 혈청을 분리한 후 완충용액으로 1 : 9로 희석(10 μl 혈청에 90 μl sample diluent buffer를 섞어 희석하여 sample을 제작)하여 총 용량을 100 μl로 맞추어 둔다.

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/ml 농도의 mouse adiponectin standard solutions을 96 well에 넣는다.

Control(zero well)로 mouse adiponectin standard solutions에 sample diluent buffer를 100 μl의 빈 well에

넣는다. 마우스에서 분리한 혈청을 적당한 농도로 희석된 샘플을 각각 빈 well에 100 μ 씩 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 0.01 M 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, 0.01 M TBS로 5회 세척(각 회당 1~2분간 세척액 방치)하고 세척액을 털어 내어 제거한다. TMB color developing agent를 각 well에 90 μ 를 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 OD값을 ELISA reader(TECAN, Infinite M200 pro, Austria)로 측정하였다.

6) 자료분석 및 통계처리

모든 실험 결과는 SPSS for windows(Release 14.0K, SPSS Inc, USA)를 이용하여 분석하였으며, 분석결과는 평균±표준편차로 나타내었다. 각 군의 결과값에 대해 one-way ANOVA 분석 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 p -value가 $p < 0.05$ 이하인 경우 통계적인 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III 결과

1. 사료섭취량 및 체중변화

비파엽약침 처치가 고지방식으로 유발된 비만 생쥐에서 사료섭취량 및 체중 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 normal군(이하 N군), HFD군 및 HFD+E군 간의 사료 섭취량은 유의적 차이가 없었다(Fig. 2).

고지방식으로 비만이 유발된 생쥐에서의 비파엽약침이 체중증가에 미치는 영향을 조사해본 결과, N군에 비해 HFD군의 체중이 증가하였으며, 이는 실험 종료 시 8주까지 체중이 증가하였음을 알 수 있었다. 반면에 비파엽약침을 50 mg/kg 농도로 각각 복강 주입한 HFD+E군의 체중

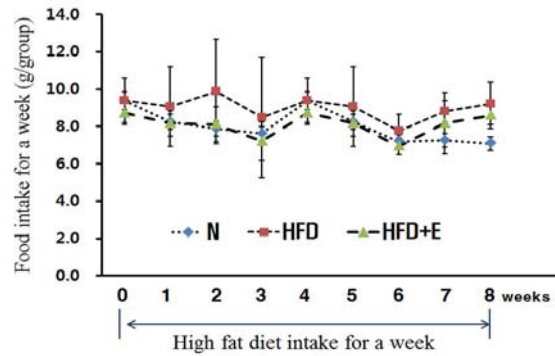


Fig. 2. Effect of the E injection on food intake in mice fed high-fat diet

The values are mean±SE of 10 mice per group.
 HFD : fed high-fat diet group.
 HFD+E : fed high-fat diet with 50 mg/kg E injection group.
 N : normal diet group.
 HFD : high-fat diet group.
 HFD+E : (pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group.

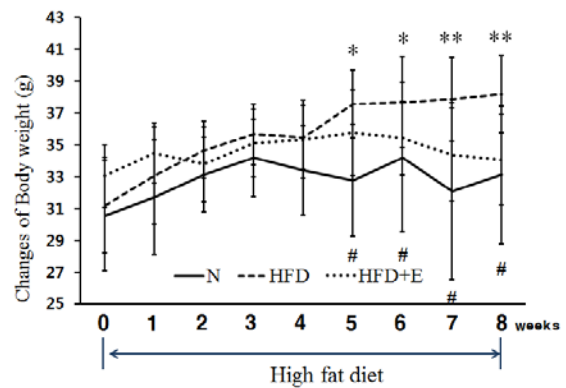


Fig. 3. The effect of body weight for eight weeks on AIN normal mice and HFD mice

The values are mean±SE of 10 mice per group.
 HFD : fed high-fat diet group.
 HFD+E : fed high-fat diet with 50 mg/kg E injection group.
 *, ** : significantly different from normal group($p < 0.05$, $p < 0.01$).
 # : significantly different from HFD group($p < 0.05$)
 N : normal diet group.
 HFD : high-fat diet group.
 HFD+E : (pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group.

은 4주부터 8주까지 HFD군에 비해 유의성 있게 체중이 감소하였다(Fig. 3).

2. 간 및 지방조직의 무게변화

실험 종료 후, 장기 적출을 통해 간과 지방을 분리하였으며, 간과 지방조직의 절대 중량을 측정한 결과, N군보다

HFD군의 간 및 지방조직 무게가 유의성 있게 증가하였음을 알 수 있었으며(* $p < 0.05$), HFD+E군의 간 및 지방조직 무게는 1.45 ± 0.27 g, 0.37 ± 0.16 g로 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(# $p < 0.05$).

간의 상대 중량을 측정된 결과, N군, HFD군 및 HFD+E군 사이의 상대 중량은 유의성이 없었다. 그러나 지방조직 상대 중량을 분석한 결과, HFD군 지방무게가 1.88 ± 0.40 %로 N군의 지방무게 1.15 ± 0.14 %에 비해 유의성 있게 증가하였고(* $p < 0.05$), HFD+E군의 지방 상대중량은 1.0 ± 0.39 %로 HFD군에 비해 유의성 있게 감소하였다(# $p < 0.05$) (Fig. 4).

복벽 피하지방, 부신 주위 지방과 부고환 주위 지방을 각각 적출하여 육안으로 관찰한 결과 N군에 비해 HFD군의 지방 크기가 증가되었음을 볼 수 있었으며, HFD+E군의 지방 조직은 HFD군에 비해 크기가 감소하였음을 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

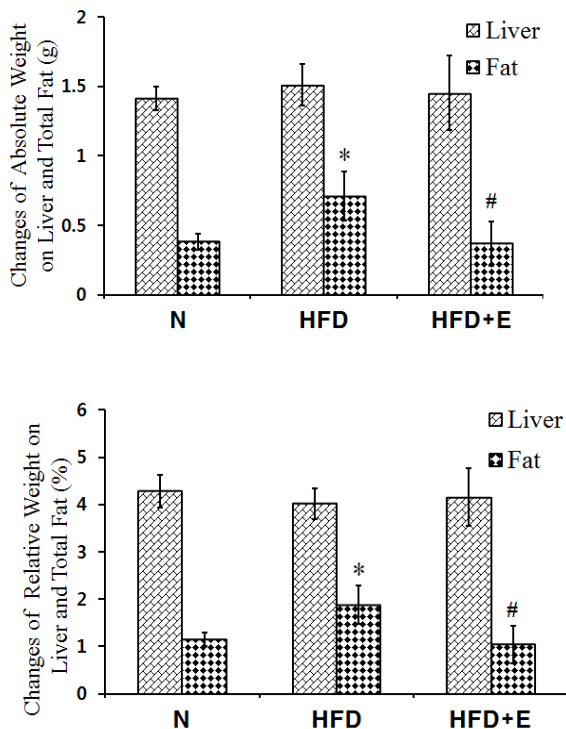
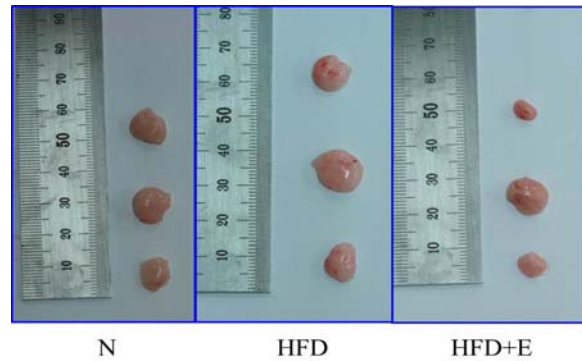


Fig. 4. The change of absolute and relative weight of liver and adipose tissue in mice fed high-fat diet

The values are mean \pm SE of 10 mice per group.
 HFD+E : fed high-fat diet with 50 mg/kg E injection group.
 * : significantly different from normal group($p < 0.05$).
 # : significantly different from HFD group($p < 0.05$).
 N : normal diet group.
 HFD : high-fat diet group.
 HFD+E : (pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group.



Abdominal subcutaneous fat (upper part), epididymis fat (middle part) and adrenal fat (lower part)

Fig. 5. Optical examination to fat mass of abdominal area

We dissected normal mice and high fat diet mice and collected abdominal subcutaneous fat(upper part), epididymis fat(middle part) and adrenal fat (lower part).
 N : normal diet group.
 HFD : high-fat diet group.
 HFD+E : (pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group.

3. 혈액생화학 분석

혈액생화학적 분석결과, 대조군의 간 손상 지표인 AST, ALT는 91.2 ± 16.4 U/L, 62.4 ± 14.7 U/L로 정상군의 AST, ALT보다 유의성 있게 증가하였으며, HFD+E군의 혈청 내 AST, ALT 함량은 각각 43.4 ± 5.5 U/L, 18.5 ± 1.7 U/L로 유의성 있게 감소하였다.

총 콜레스테롤 함량은 HFD+E군에서 170.7 ± 16.4 mg/dl로 측정되어 HFD군의 210.4 ± 15.4 mg/dl보다 유의적으로 감소하였다.

중성지방 농도는 HFD+E 군은 142.75 ± 10.0 mg/dl로 HFD군의 179.9 ± 11.1 mg/dl에 비해 유의성 있게 감소하였다. 또한 이는 N군의 138.2 ± 9.9 mg/dl과 유사적 통계는 없었다.

혈청 HDL-C은 HFD군의 67.56 ± 6.53 mg/dl에 비해 HFD+E군의 107.11 ± 18.25 mg/dl에서 증가하였으며(# $p < 0.05$), HFD군(67.6 ± 6.5 mg/dl)은 N군(103.97 ± 12.81 mg/dl)에 비해 유의하게 감소하였다.

반면 LDL-C는 HFD+E군(34.3 ± 3.53 mg/dl)으로 HFD군(63.64 ± 7.26 mg/dl)보다 유의성 있게 감소하였으며(# $p < 0.05$), N군(40.19 ± 8.02 mg/dl) 보다 더 감소한 결과를 보여주었다(Fig. 6). HDL-C/LDL-C를 분석해본 결과, HFD+E군(3.19)이 HFD군(1.07)에 비해 약 3배가량 증가하였으나 유의성은 보이지 않았다(Fig. 6).

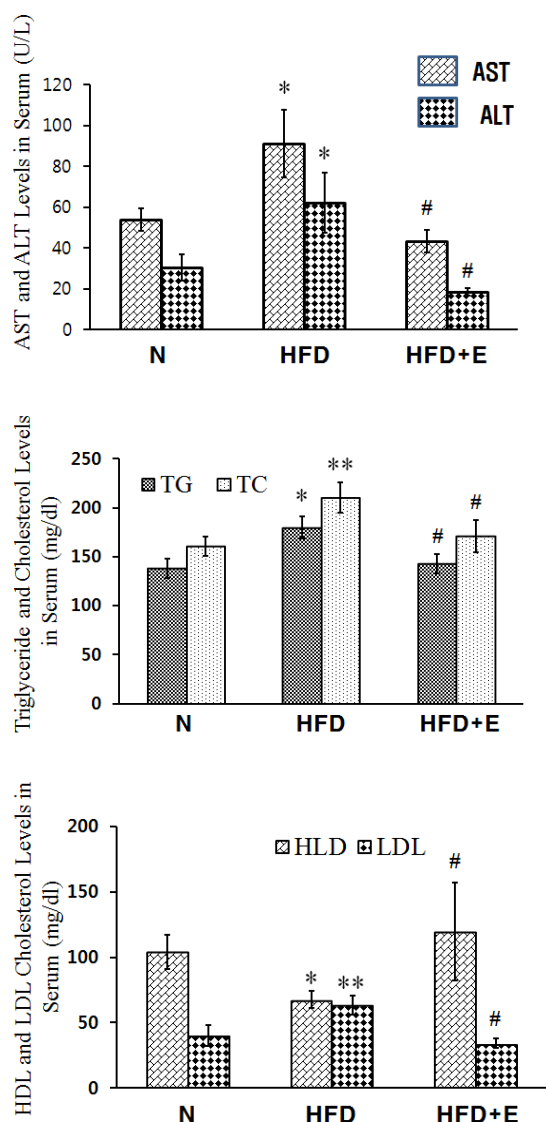


Fig. 6. Effects of the E injection on serum lipid profiles in mice fed high-fat diet

TC : total cholesterol,
 TG : triglyceride,
 HDL-C : high density lipoprotein cholesterol,
 LDL-C : low density lipoprotein cholesterol,
 The values are mean±SE of 10 mice per group,
 HFD+E : fed high-fat diet with 50 mg/kg E injection group,
 *, ** : significantly different from normal group($p < 0.05$, $p < 0.01$),
 # : significantly different from HFD group($p < 0.05$),
 N : normal diet group,
 HFD : high-fat diet group,
 HFD+E : (pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group.

4. Adiponectin과 leptin의 변화

혈청 내 adiponectin 함량 분석 결과, HFD 군은 2.06 ± 1.48 ng/ml로 N군의 4.51 ± 2.04 ng/ml에 비해 현저하게

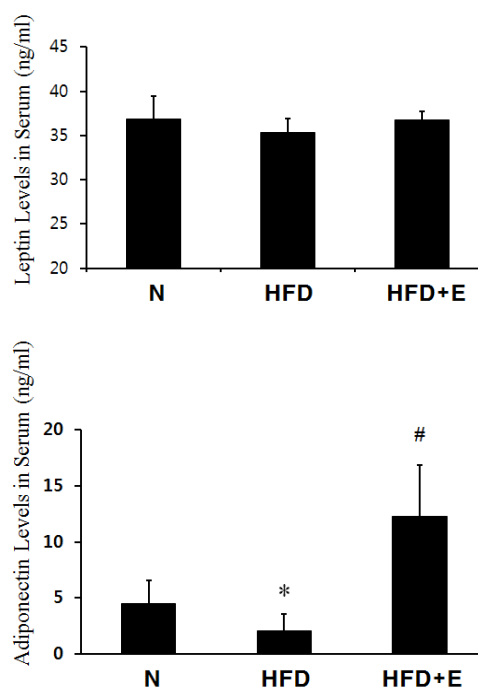


Fig. 7. The effect of leptin and adiponectin levels in serum

The values are mean±SE of 10 mice per group,
 HFD+E : fed high-fat diet with 50 mg/kg E injection group,
 * : significantly different from normal group($p < 0.05$),
 # : significantly different from HFD group($p < 0.05$),
 N : normal diet group,
 HFD : high-fat diet group,
 HFD+E : (pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group.

adiponectin 함량이 감소하였고($p < 0.05$), HFD+E군의 adiponectin 함량은 12.30 ± 4.53 ng/ml로 HFD군보다 유의성 있게 증가하였다($p < 0.05$).

혈청 내 leptin 함량 분석결과, N군과 HFD군, 그리고 HFD+E군 간의 leptin 함량은 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 7).

adiponectin 함량은 12.30 ± 4.53 ng/ml로 HFD군보다 유의성 있게 증가하였다.

혈청 내 leptin 함량 분석 결과 N군, HFD군 그리고 HFD+E군 간의 leptin 함량은 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 7).

5. 지방조직의 현미경적 소견

조직학적 분석결과, 대조군에서 간 손상이 진행된 것을 확인할 수 있었으며, 정상군과 HFD+E의 간 조직 손상은 보이지 않았다. 단위면적당 지방세포 수를 비교한 결과,

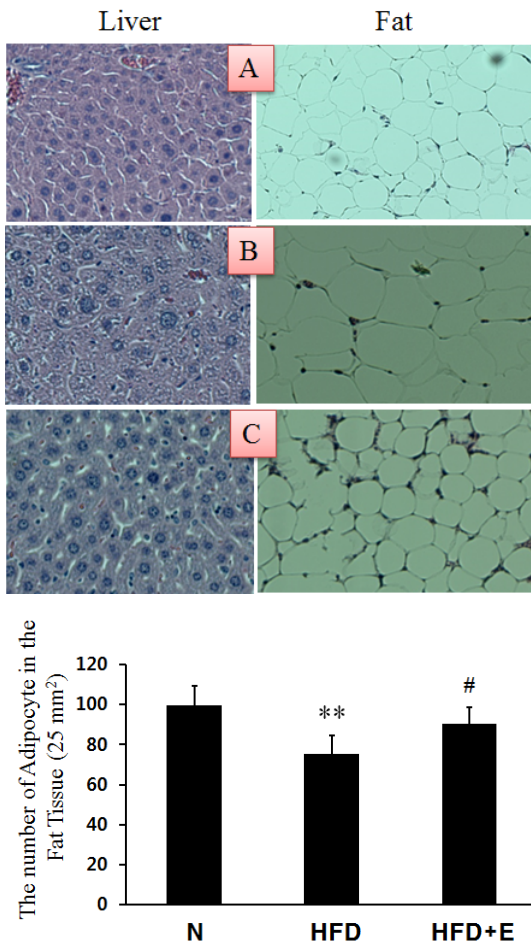


Fig. 8. The effect of adipocyte number in the fat tissue and the histological analysis in liver and fat tissue

A : Normal mice group,
 B : High fat diet obesity mice group.
 C : High fat diet obesity mice group treated with *Eriobotryae Folium*.
 The values are mean±SE of 10 mice per group.
 HFD+E : fed high-fat diet with 50 mg/kg E injection group.
 * : significantly different from normal group(p<0.05).
 # : significantly different from HFD group(p<0.05).
 N : normal diet group.
 HFD : high-fat diet group.
 HFD+E : (pharmacopuncture of the *Eriobotryae Folium*) group.

HFD군 (75.3±9.1 cells/25 μm²)은 N군(99.9±9.7 cells/25 μm²)에 비해 유의성 있게 지방세포 수가 감소하였고, HFD+E군의 단위면적당 지방세포 수(90.5±8.4 cells/25 μm²)는 HFD군보다 유의성 있게 증가하였다(Fig. 8).

IV 결론 및 고찰

비만은 건강에 손상을 줄 수 있는 비정상적인 또는 과도한 지방이 축적된 것으로 정의내릴 수 있다. 이는 에너지 섭취와 에너지 소비의 불균형으로 인한 체지방 축적이 주된 요인으로 알려져 있다. 특히 우리나라는 경제수준의 향상, 서구적인 식습관, 과도한 스트레스, 운동 부족, 음주 등으로 인해 비만도가 급격하게 증가하고 있다. 우리나라의 비만율은 2010년 보건복지부 국민건강영양조사 결과 체질량지수 25 이상인 남성은 1998년 26.2 %에서 2010년 36.3 %로, 여성은 26.2 %에서 24.8 %로 여성에 비해 남성이 더 비만 양상을 보이고 있다. 또 다른 비만지표인 허리둘레기준(남자 90 cm 이상, 여자 85 cm 이상)으로 보면 남성은 1998년 20.1 %에서 2010년 24.0 %로, 여성은 22.7 %에서 20.5 %로 역시 남성이 더 비만 양상을 보인다. 그러나 최근 심각하게 대두되는 문제로 정상몸무게이면서 체지방이 높아 비만인 normal-weight obesity(NWO)이다. 과도한 체지방은 심혈관질환에 취약할 뿐만 아니라 고혈압, 고지혈증, 제2형 당뇨, 동맥경화, 암과 같은 성인병 질환을 유도하는 가장 중요한 위험인자로 작용한다. 그러므로 이러한 질병의 예방과 치료를 위해서 비만의 효율적 관리가 요구된다^{22,23)}.

비만을 해소하기 위해서는 무엇보다 적당한 식사량과 적절한 운동이 필요하다. 그러나 이는 시간과 노력이 많이 들어서 보조식품이나 약물요법이 대중적인 각광을 받고 있다. 이중 약물요법은 빠른 시간 내에 효과를 볼 수 있다는 장점이 있으나 약물 부작용이란 추가적인 고통이 따른다. 따라서 본 연구자는 비만 약물요법으로 부작용이 거의 없는 천연 한약재를 이용하여 치료법 중 하나인 약침요법을 통해 국소부위 지방 조직을 유의성 있게 경감시킬 수 있는 항비만 효과를 연구하였다.

비파엽의 성미는 微寒하고, 苦하여 肺·胃經에 歸經하여 清肺止咳, 降逆止嘔의 효능으로 肺熱咳嗽, 氣逆喘急, 胃熱口逆, 煩熱口渴 등의 증상에 응용하여 枇杷清肺飲 처방이 사용되고 있다. 약리적으로 알레르기성 천식에 유효성을 연구 발표하였으며, Kim²⁴⁾은 당뇨 흰쥐의 췌장내분비 세포에 미치는 영향을 연구 보고하였고, Park²⁵⁾은 피부각질세포 유전자 발현에 관한 비파엽의 영향을 연구하였다. Shih et al²⁶⁾은 비파엽이 고지방식이 생쥐에서 고지혈증과 인슐린 저항성 개선 효능을 보고하였다. 또한 Oh et al²⁷⁾은 비파엽의 80 % 메탄올 추출물, 50 % 에탄올 추출물 및 물 추출물이 3T3-L1 adipocyte에서 adipogenic transcription factors, 즉 peroxisome proliferator-activated receptor

(PPAR) γ and CCAAT/enhancer-binding protein(C/EBP) α 의 발현과 지질 침착을 효과적으로 억제시켰고, 50 % 에탄올 추출물을 200 or 400 mg/kg 농도로 12주간 구강 투여한 ob/ob 생쥐에서 체중감량 효능과 혈장 내 중성지방이 유의성 있게 감소하였고, 특히 물추출물의 경우 사료효율이 유의성 있게 감소하였고, 50 % 에탄올을 400 mg/kg으로 구강 투여한 실험군의 adiponectin의 함량이 혈장에서 유의성 있게 증가하였음을 보고하였다^{28,29)}.

그러나 아직까지 비파엽약침에 대한 항비만 효능은 연구되지 않았으며, 비파엽약침의 비만 예방 효과를 조사하기 위하여 8주 동안 45 % (W/W)의 지방이 함유된 고지방식을 실험대조군(HFD군)으로 공급하면서 실험군에 비파엽약침(50 mg/kg)을 복부 주입하였다. 정상대조군은 16 % 지방을 포함하고 있는 식이를 8주간 공급한 후 체중증가율, 사료섭취량, 사료효율을 조사하였다. 분석 결과, 고지방식이 비만유도 대조군과 정상군 및 비파엽약침액 투여군의 사료섭취율 간에는 유의적인 차이가 보이지 않았다. 이는 사료 효율면에서 차이가 없다는 의미이며, 식욕과 관련된 중추신경계에 미치는 영향은 없는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 식욕억제 호르몬인 leptin 분석 결과와 일치된다. 체중 측정 결과 비만유도 대조군은 정상군에 비해 5주부터 유의성 있는 증가를 보였고, 비파엽약침액 투여군 생쥐의 체중은 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 체중 감소 결과는 간조직과 지방 조직의 무게 측정 결과와 일치하는 결과로 비파엽약침 주입군에서의 간 및 지방조직의 절대 중량과 상대 중량이 대조군에 비해 유의성 있게 감소된 것을 볼 수 있다. 사료를 섭취하는 양이 많아짐에도 불구하고 체중증가가 작다는 것은 비만조절효과가 있다는 것으로 판단되기에 사료효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 생각할 수 있고 사료효율 수치가 적을수록 비만조절효과가 더 크다고 볼 수 있다. 비만은 체중의 증가보다 체지방의 증가, 특히 복강 내에 위치한 지방조직의 증가가 더 위험요인으로 작용한다는 보고가 있다. 그런데 비파엽약침액을 복부 피하 주입한 실험군은 내부 장기 무게 및 내장지방의 크기와 무게가 감소하였음을 확인하였다(Fig. 4, 5, 7)³⁰⁾.

AST, ALT 효소는 간세포 내에 존재하는 효소로 세포가 파괴되거나 사멸하면 혈액 속으로 분비되어 혈액 내에서도 일정량이 검출될 수 있다. 약물의 독성, 지방간, 알코올의 섭취, 고지방섭취로 인한 지방대사 이상 등의 이유로 간에 염증이거나 세포의 파괴가 일어나면 정상적인 양보다 더 많은 AST, ALT가 혈액 속으로 분비된다. 비파엽약침액의 간독성 및 지방간에 의한 세포 독성에 미치는 영향을 알아본 결과, 정상군에 비해 비만유도 대조군의 AST, ALT 함량이 혈청 내에서 유의성 있게 증가한 반면에 비파엽약침액 투

여군의 AST, ALT 함량은 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 이는 비파엽약침에 간독성이 없다는 의미이며, 아울러 지방대사 이상으로 인한 간세포 파괴를 억제했다는 것을 시사한다(Fig. 6)³¹⁾.

중성지방은 전신 지방조직의 주성분으로서 생체의 에너지 저장에 관여한다. 비만지수가 높으면 혈청 중 중성지방의 변화를 보이기에 비만의 한 지표로 사용되며 비만인 사람에게서 중성지방의 감소는 심혈관계 질환 예방에 중요한 의미가 있다. Cholesterol은 대부분 체내에서 부신피질과 스테로이드호르몬과 비타민 D, 그리고 간에서 생성되는 담즙산의 전구체로 아세틸-CoA로부터 합성이 되고, 10 %만이 동물성 식품을 통해 섭취한다. Cholesterol은 소수성으로 cholesterol 자체로는 혈장 내에서 존재할 수 없으므로 혈액 내에서 apoprotein과 결합하여 lipoprotein 상태로 운반된다. 고밀도지단백(HDL), 저밀도지단백(LDL)와 초저밀도지단백(very low density lipoprotein, VLDL)으로 분류하며, cholesterol은 LDL 및 HDL에 주로 함유되어 있고, TG는 주로 VLDL에 함유되어 있다. 총 cholesterol의 약 80 % 정도가 LDL-cholesterol이 차지하며 이 두 인자는 관상동맥질환의 주요 위험인자로 볼 수 있다. 중성지방 농도는 HFD+E군은 142.75±10.01 ug/ml로 HFD군(179.88±11.10 ug/ml)에 비해 유의성 있게 감소하였다(Fig. 6).

HDL-C는 동맥으로부터 콜레스테롤을 간으로 운반해주는 지질단백질로서 혈액 HDL-C의 증가는 혈액 및 조직으로부터 간에 이르는 콜레스테롤 운반능력을 높여 좁은 콜레스테롤의 역수송에 의하여 혈액 콜레스테롤을 제거하여 동맥경화와 혈관 장애 개선에 효과가 있다. 이외 HDL-C는 혈관 내피의 adhesive molecule 발현을 낮추고 혈소판 응집을 억제하여 항염증, 항혈전 효과가 있다. 반면 LDL-C는 동맥 내 콜레스테롤 축적에 관계하는 가장 주요한 지질 운반체로서 cholesterol ester를 간에서 혈액 및 신체 내 여러 부위의 말초 조직 세포 속으로 수송해 준다. 체내 항상성에 의해 균형을 이루고 있는 체내 지질 균형이 깨지면 LDL-C는 증가하고, HDL-C는 감소하여 동맥경화증, 고혈압 및 심혈관계 질환을 유발한다. 혈청 HDL-C는 HFD군에 비해 HFD+E군에서 유의성 있게 증가하였으며, HFD군은 정상군에 비해 유의하게 감소하였다. 반면 LDL-C는 HFD+E군의 혈청 내 함량이 34.28±3.53 ug/ml로 HFD군의 함량보다 유의성 있게 감소하였으며 정상군(40.19±8.02 ug/ml)보다 더 감소한 결과를 보여주었다(Fig. 6)^{32,33)}.

따라서 비만 약침액은 국소부위의 지방 크기 및 무게 감소뿐만 아니라, 내장의 지방 축적을 감소시키고 전신 혈액

학적으로 총콜레스테롤, 중성지방 및 저밀도지질단백질의 혈청 내 함량을 유의성 있게 감소시켰으며, 반대로 고밀도 지질단백질의 함량은 유의성 있게 증가시켰다. 이러한 결과는 Fig. 8의 복벽 피하지방 조직학적 소견과 단위 면적당 지방세포 수를 분석한 결과와 일치하는 것으로 비파엽약침액이 국소부위 지방세포의 분화 억제 및 지방 침착을 억제하는 때문인 것으로 판단된다.

지방세포는 adipokine이라는 신호전달물질을 분비하여 지방산산화와 당대사, 식욕조절을 포함한 체내 에너지 대사를 총체적으로 조절한다. 비만과 관련된 대표적 adipokine에는 adiponectin과 leptin을 들 수 있다. Adiponectin은 혈중 유리지방산(free fatty acid)을 줄여주고, 인슐린의 작용을 도와주며, 포도당의 이용을 자극하고, 간의 지방산 산화를 증가시키며, 간의 지방산 합성을 감소시키는 작용을 통하여 인슐린 민감도를 개선시켜 체중을 감소시키는 역할을 한다. 혈중 adiponectin 농도는 전신 인슐린 저항성, 인슐린 농도, 체질량지수, 혈장 포도당 농도, 중성지방 농도와 음의 상관관계가 있다. Adiponectin은 지질 수치, 혈당 조절에 도움을 주고 염증을 줄여준다. Adiponectin은 특히 HDL-C 수치를 높이고 TG의 수치를 낮춘다. Adiponectin 농도가 높을수록 coronary heart disease events(CHD event)를 겪을 확률이 감소한다. Leptin은 일반적으로 음식을 섭취하면 증가하고 그 신호를 뇌에 전달하여 더 이상 음식을 섭취하지 않도록 조절하는 역할을 한다. 지방세포에서 분비되면 시상하부에 있는 leptin receptor에 결합하여 신경계로 자극을 전달한다. 혈액 내 leptin의 양은 체지방 양과 매우 밀접한 상관관계가 있으며, 비만 조치가 증가할수록 leptin 양도 증가한다. 만약 체내 leptin 농도가 적절하게 유지하지 못하면 비만과 같은 질병이 유발될 수 있다. 즉 leptin은 식욕조절과 지방대사를 총체적으로 조절한다고 할 수 있다. 그러나 혈청 내 leptin 분비량은 실험군 간에 유의성 있는 변화가 없었고, adiponectin의 농도는 비파엽 약침군에서 유의성 있는 증가를 보였다. 이러한 adiponectin의 증가는 HLD의 증가, LDL의 감소 결과와 일치한다³⁴⁻³⁷.

요컨대 비파엽은 지방세포 분화를 억제한다는 연구결과가 있으며, 이와 관련하여 비파엽 약침액을 제조하여 고지방식으로 비만을 유도시킨 생쥐의 국소지방에 미치는 영향을 관찰하였다. 비파엽약침액은 간독성이 없고, 국소부위 지방세포 증식 및 크기를 억제하여 지방 축적을 유의성 있게 줄였고, adiponectin 발현 증가를 통해 HDL의 수치를 유의성 있게 높이고 내장지방의 무게를 유의성 있게 감소시켰다. 이에 대해 향후 약침액의 분획을 통한 유효성분 및 약리활성 rich fraction에 대한 심도 있는 연구가 필요하다

고 판단된다.

V References

1. Son Y, Nam JS, Jang MK, Jung IA, Cho SI, Jung MH. Antiobesity Activity of *Vigna nakashimae* Extract in High-Fat Diet-Induced Obesity. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013 ; 77(2) : 332-8.
2. WHO. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en>
3. Parsi MA. Obesity and cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2013 ; 19(4) : 457-62.
4. Rtveladze K, Marsh T, Barquera S et al. Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutr*. 2013 ; Feb 1 : 1-7.
5. Fantasia HC. New developments in the pharmacologic treatment of obesity. *Nurs Womens Health*. 2013 ; 17(1) : 53-62.
6. Ministry of Health and welfare. Obesity rate of South Korea, 2012.
7. Padwal RS, Majumdar SR. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet*. 2007 ; 369(9555) : 71-7.
8. Filippatos TD, Derdemezis CS, Gazi IF, Nakou ES, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Orlistat-associated adverse effects and drug interactions : a critical review. *Drug Saf*. 2008 ; 31(1) : 53-65.
9. Feng XM, Xiong J, Qin H et al. Fluoxetine induces hepatic lipid accumulation via both promotion of the SREBP1c-related lipogenesis and reduction of lipolysis in primary mouse hepatocytes. *CNS Neurosci Ther*. 2012 ; 18(12) : 974-80.
10. <http://www.kfda.go.kr/herbmed/index.do?nMenuCode=7&code=KHP-050&includeUrl=/herbmed/view.jsp> [Ministry of Food and Drug Safety/ Intergrated services of Herb medicine/ Information of Herb medicine/DB searching of Herb medicine]
11. Herbal Pharmacology Text Compilation Committee.

- Herbal Pharmacology, Shin-il Books, 2010 : 295-6.
12. Lee SI. Herbal medicine, Seoul : Su-seo-won, 1981 : 340-1, 513-4.
 13. Yook CS, Kim SM, Jung JM, Jung MS, Kim JH, Kim SB. Pharmacological action · Component · Clinical Application of Herbal Medicine, Seoul : Gye-Chuk company, 1992 : 885-6.
 14. Chen J, Li WJ, Wu JL, Ren BR, Zhang HQ. Hypoglycemic effects of a sesquiterpene glycoside isolated from leaves of loquat (*Eriobotrya japonica*(THUNB.) indl.), *Phytomedicine*, 2008 ; 15(1-2) : 98-102.
 15. Hong Y, Lin S, Jing Y, Ashraf M. Variation in contents of total phenolics and flavonoids and antioxidant activities in the leaves of 11 *Eriobotrya* species, *Plant Foods Hum Nutr*, 2008 ; 63(4) : 200-4.
 16. Ito H, Kobayashi E, Li SH et al. Antitumor activity of compounds isolated from leaves of *Eriobotrya japonica*, *J Agric Food Chem*, 2002 ; 50(8) : 2400-3.
 17. Banno N, Akihisa T, Tokuda H et al. Anti-inflammatory and antitumor-promoting effect of the triterpene acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*, *Biol Pharm Bull*, 2005 ; 28(10) : 1995-9.
 18. Park CG, Bang KH, Lee SE. Antibacterial Activity from Medicinal plant extracts on the *Staphylococcus aureus*, *Korean journal of medicinal crop science*, 2001 ; 9(4) : 251-8.
 19. Bae YI, Chung YC, Shim KH. Antimicrobial and antioxidant activities of various solvent extract from different parts of loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl.), *Korean J Food Preservation*, 2002 ; 9(1) : 97-101.
 20. Jeong YS, Jung HK, Youn KS, Kim MS, Hong JS. Hysiological Activities of the Hot Water Extract from *Eriobotrya japonica* Lindl, *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2009 ; 38(8) : 977-82.
 21. Kim AR, Hwang YK, Lee JJ, Jung HO, Lee MR. Effects of *Eriobotrya japonica* Lindl. (Loquat) Leaf Ethanol Extract on Cholesterol and Antioxidative Activity in Rats Fed a High-Fat/ High-Cholesterol Diet, *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2011 ; 40(5) : 673-81.
 22. Kim MK, Han K, Kwon HS et al. Normal-weight obesity in Korean adults, *Clin Endocrinol Oxf*, 2013 ; 10.1111/cen.12162.
 23. Mi Jung Park. Recent Advances in Regulating Energy Homeostasis and Obesity, *Korean Journal of Pediatrics*, 2005 ; 48(2) : 126-37.
 24. Kim HC. Studies on the effects *eribotrya japonica* on the pancreatic endocrine cells in the diabetic rats[dissertation], Seoul: Dongkuk University, 1993. Korean.
 25. Park HS. Effects of *Eriobotryae Folium*(EF) on Gene Expression in Human HaCaT keratinocyte, 2009 : 1, 40.
 26. Shih CC, Lin CH, Wu JB. *Eriobotrya japonica* improves hyperlipidemia and reverses insulin resistance in high-fat-fed mice, *Phytotherapy Research*, 2010 ; 24(12) : 1769-80.
 27. Oh J, Min OJ, Kim HA, Kim YJ, Baek HY, Rhyu DY. Effect of *Eriobotrya japonica* on Adipogenesis and Body Weight, *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 2011 ; 54(3) : 382-7.
 28. Herbal medicine compilation committee of College of Oriental medicine, *Herbal medicine*, Seoul : Yong-lim company, 2004 : 509-10.
 29. Cha JT. Anti-asthmatic activities of leaces of *Eriobotrya japonica* lindley in a mouse model of allergic asthma, 2012 : 37-8.
 30. Bjorntorp P. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease, *Acta Med Scand*, 1988 ; 723 : 121-34.
 31. Plaa GL, Charbonneau M. Detection and evaluation of chemically induced liver injury, In *Principles and Methods of Toxicology*, New York : Hayes AW ed, Raven Press, 1994 ; 839-70.
 32. Park BS. Effect of the Feeding Belly Fat on Plasma Lipids Levels in Rats, *Korean J Food Sci Ani Resour*, 2004 ; 24(2) : 189-97.
 33. Rosenfeld L. Lipoprotein analysis, *Arch pathol Lab*, 1989 ; 113 : 1101-10.
 34. Schulze MB, Rimm EB, Shai I, Rifai N, Hu FB.

- Relationship Between Adiponectin and Glycemic Control, Blood Lipids, and Inflammatory Markers in Men With Type 2 Diabetes, *Diabetes Care*, 2004 ; 27(7) : 1680-7.
35. Schulze MB, Shai I, Rimm EB, Li T, Rifai N, Hu FB. Adiponectin and Future Coronary Heart Disease Events Among Men With Type 2 Diabetes, *Diabetes Februrary*, 2005 ; 54(2) : 534-9.
36. David J Mela. Food, diet and abecity. *Hanmi medicine*, 2007 : 13-25.
37. Jiyoung Park, Jae Bum Kim. Molecular Insights into Fat Cell Differentiation and Functional Roles of Adipocytokines. *Journal of Korean society of endocrinology*, 2002 ; 17(1) : 1-9.