



Original Article / 원저

고지방식이 비만마우스 모델에서 파키스탄산 및 중국산 마황으로 조성된 降脂丸의 체중감량 효과 비교

김병출¹ · 석화준² · 유재상³ · 구자룡⁴ · 윤기현⁵ · 조주흠⁶ · 장두현⁷ · 정양삼⁸ · 김종훈⁹ ·
안예지⁵ · 우상이¹⁰ · 윤미소¹⁰ · 신순식^{5*}

¹고려한의원 · ²수정한의원 · ³봉황한의원 · ⁴소리청한의원 · ⁶우심한의원 ·
⁷청남한의원 · ⁸정양삼한의원 · ⁹능인한의원 · ¹⁰목원대학교
의생명 · 보건학부 · ⁵동의대학교 한의과대학 방제학교실 및
한방당뇨비만연구소

Comparison of Pakistani Ephedra Herba and Chinese Ephedra Herba Containing *Gangjihwan* in the Improvement Effects of Weight Loss in a High Fat Diet-Fed Obese Mice

Byeong Chul Kim¹ · Hoa Jun Seok² · Jae Sang Yoo³ · Ja Ryong Ku⁴ · Ki Hyeon Yoon⁵ ·
Ju Heum Jo⁶ · Du Hyon Jang⁷ · Yang Sam Jung⁸ · Jong Hoon Kim⁹ · Ye Ji Ahn⁵ ·
Sangee Woo¹⁰ · Miso Yoon¹⁰ · Soon Shik Shin^{5*}

¹Goryo · ²Soojung · ³Bonghwang · ⁴Soricheong Luck · ⁶Woosim ·
⁷Chungnam · ⁸Jungyangsam and ⁹Neungin Korean Medicine Clinic ·
¹⁰Division of Medical Engineering and Health Management, Mok-Won
University · ⁵Dept. of Formula Sciences and Research Center of Korean
Medicine for Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui
University, Busan, 614-851, South Korea

ABSTRACT

Objectives : This study investigated the improvement effects of Pakistani (DF-a) and Chinese Ephedra herba-containing Gangjihwan (DF-b) on obesity in a high fat diet-fed obese mouse model.

Methods : Eight-week-old C57BL/6N mice were divided into four groups: a normal lean group given a standard diet, an obese control group given a high fat diet, and DF-a and DF-b groups given a high fat diet with DF-a (80 mg/kg), and DF-b (80 mg/kg), respectively. After 8 weeks of treatment, body weight gain, feeding efficiency ratio, blood lipid markers, fat weight and histology were examined.

Results : 1. Body weight gain and fat mass were significantly decreased in DF-a and DF-b groups compared with control. The extent of decreases was eminent in DF-a group.

2. Feeding efficiency ratio and circulating leptin concentration were significantly decreased in DF-a and DF-b groups compared with control, whereas circulating adiponectin concentration was increased in DF-a and DF-b groups compared with control.

3. Consistent with their effects on body weight gain and fat mass, circulating concentrations of triglyceride, glucose and insulin were decreased in DF-a and DF-b groups compared with control.

4. The size of adipocytes were decreased by DF-a and DF-b compared with control, whereas the adipocyte number per unit area was increased by them, suggesting that DF-a and DF-b decreased the number of large adipocytes.

5. Consistent with their effects on body weight gain, liver fibrosis was reduced in DF-a and DF-b groups compared with control.

Conclusions : In conclusion, these results suggest that DF-a and DF-b not only decrease feeding efficiency ratio, plasma leptin concentration, and blood anti-obesity biomarkers, but also reduce fat mass, contributing to the improvement of obesity. DF-a and DF-b also inhibit liver fibrosis. In addition, these effects were similar between Pakistani Ephedra herba and Chinese Ephedra herba-containing Gangjihwan.

Keyword : Gangjihwan, Pakistani ephedra herba, Chinese ephedra herba, obesity, triglyceride

I. 緒 論

降脂丸(Di-fatty, DF)는 麻黃, 大黃과 紫草로 조성된 방제로 현재 J 한의원에서 비만과 비알콜성 지방간질환(Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)의 치료에 사용되고 있으며, NAFLD의 치료 효과를 실험적으로 입증하여 학술논문으로 발표한 바 있다¹⁾. 비만은 일반적으로 지질대사 장애와 식욕 증진을 쉽게 동반한다는 임상적 특성을 고려하여 마황이 가지는 지질대사 개선 및 식욕억제²⁻⁴⁾, 대황과 자초가 가지는 지질대사 개선, 식욕억제 및 항염증 개선효과^{5,6)}가 추가될 경우의 이점까지도 고려하여 배합한 마황, 대황과 자초의 방제는 비만조절 및 개선제로서 적용 가능성에 의하여 체중

감량에 사용될 수 있을 것으로 생각되고, 현재 임상에서도 사용되고 있는 바 이를 실험적으로 검증하고자 본 연구를 진행하였다.

마황은 중국 내몽고 지역에서 대부분 생산되고 있는 약재이다. 내몽고 지역의 사막화가 점차 빨라지자 중국 정부는 사막화를 막기 위한 조치로 감초 등과 함께 허가를 받지 않고는 국외로 마황을 수출하지 못하도록 하는 제도를 실시하고 있고 가격이 상승함으로써 최근들어 우리나라는 중국산 마황의 수입이 어렵게 되었다⁷⁾. 그 대안으로 파키스탄산 마황의 수입이 많아져 대부분 일반 한의원에서는 파키스탄산 마황의 사용이 점차로 늘어나는 추세이다. 전세계 마황속 식물은 42종이고 그 중에 9종이 파키스탄에 분포되어 있다. 9종은

* Corresponding author : Soon Shik Shin, PhD, Professor, Department of Formula Sciences and Research Center of Korean Medicine for Diabetes and Obesity, College of Korean Medicine, Dong-Eui University, 52-57 Yangjeong-ro, Busanjin-gu, Busan, 614-851, South Korea.

· Tel : 82-51-850-7414, Fax : 82-51-853-4036

· E-mail : ssshin@deu.ac.kr

• Received : November 10, 2014 / Revised : November 17, 2014 / Accepted : December 02, 2014

E. ciliate, E. regeliana, E. pachyclada, E. wallichii, E. gerardiana Syns E. distachya, E. przewalskyi, E. procera Syn E. Nebrodensis, E. sarcocarpa, E. monosperma이다⁸⁾. 시중에 유통되는 식용가능한 파키스탄산 마황은 *Ephedra intermedia* Schrenk et C. A.Meyer⁹⁾로 中麻黃이 대부분이며, 중국산 草麻黃(*Ephedra sinica* Stapf.)에 비하여 총알칼로이드 함량이 2.5배 많은 것으로 알려져 있다⁷⁾.

본 연구에서는 강지환의 조성약물 중에서 마황을 같은 용량의 파키스탄산 마황과 중국산 마황을 사용하여 체중감량에 대한 개선효과의 차이를 비교하였다. 이를 위해 고지방식이 유발 수컷 비만 마우스 모델을 이용하여 파키스탄산 마황으로 조성된 강지환과 중국산 마황으로 조성된 강지환의 경구 투여가 체중 감량효과에 미치는 영향을 체중 증가량과 혈중 비만 관련 지표, 지방 조직 및 간 조직의 조직학적 분석 등으로 조사하였다.

II. 실험재료 및 연구방법

1. 실험재료

1) 실험동물

(주)샘타코(샘타코바이오키아 Inc., Korea)에서 공급한 7주령의 C57BL/6N 수컷 마우스를 구입하여 1주 간 실험실 환경에 적응하도록 한 후 사용하였다. 실험 기간 동안 온도 21±2 °C, 습도 55±5 %, 환기 횟수 15~17 회/hour, 조도 150~300 lux, 그리고 12시간의 명암(점등: 06:00, 소등: 18:00) 주기가 있는 실험실 환경에서 고품사료(Harlan, USA)와 물을 자유롭게 공급 받았다. 본 실험은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (승인번호: R2013-009)을 받아 동물윤리 준칙에 의거하여 실험을 진행하였다.

2) 실험물질

실험물질인 DF의 조성약물은 화림제약(Busan, South Korea)에서 구입한 후 동의대학교 한의과대학 방제학교실에서 정선하여 ultrafine particle

Table 1. The composition of DF.

韓藥名	Ingredient	%
麻黃	<i>Ephedra intermedia</i> Schrenk et C. A. Meyer*	40
	<i>Ephedra sinica</i> Stapf.**	
大黃	<i>Rheum palmatum</i> L.	20
紫草	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold et Zuccarini	40
Total amounts		100

* Pakistani ephedra herba (DF-a)

** Chinese ephedra herba (DF-b)

Table 2. Experimental groups.

Group	Diet	Treatment	Number	Sex
Normal	10Kcal% fat	water	9	male
Control		water	9	male
DF-a	45Kcal% fat	80mg/kg	9	male
DF-b		80mg/kg	9	male

crusher (Korea Patent R&D Institution, Busan, South Korea)에 300mesh로 초미립 분쇄하여 냉장보관하고 실험에 사용하였다. 조성약물은 마황, 대황과 자초의 3종이고(Table 1), 이중 마황은 파키스탄산과 중국산을 사용하였다.

3) 실험군 및 투여방법

각 군당 9마리를 체중에 따라 무작위로 분류하였다. 8주 동안 normal 그룹은 10Kcal% fat의 일반 식이를 공급하고, control과 약물 그룹은 45Kcal% fat의 고지방식이를 공급하여 비만을 유발하였다. 그 후 DF-a와 DF-b는 모두 80mg/kg의 농도로 8주간 경구 투여하였다(Table 2).

2. 연구방법

1) 체중 증가량 측정

DF-a와 DF-b가 체중 증가량에 미치는 영향을 알아보기 위해 약물을 투여하는 8주 동안 매주 2회씩 체중을 측정하고 체중 증가량을 계산하였다.

2) 식이효율 측정

DF-a와 DF-b가 식욕과 관련이 있는지를 알아보기 위하여 체중은 매주 2회, 사료섭취량은 매주 1회 8주 동안 측정하였고, 이를 근거로 하여 식이

효율을 계산하였다.

3) 혈액생화학 분석

혈액 채취는 경구 투여 시작 8주 후 12시간 절식한 뒤 diethyl ether로 마취한 다음 심장에서 혈액 1 ml을 채취하였다. Blood clotting을 위해 30분 이상 실온에서 방치한 후 고속원심분리기(Micro12, Hanil, Korea)를 이용하여 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 분리된 혈장은 냉동고(-20°C)에 보관하고 혈액생화학분석기(Modular analytics, Roche, Germany)를 사용하여 triglyceride와 glucose의 혈중 농도를 각각 측정하였다. 혈중 free fatty acid의 농도는 혈액생화학분석기(Modular analytics, Hitachi, Japan)를, 혈중 insulin 농도는 혈액생화학분석기(Microplate reader, Molecular device, USA)를 사용하여 각각 측정하였다.

4) 동물부검

채혈한 뒤에 부검하여 장간막 백색지방조직(mesenteric adipose tissue, MAT), 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)을 수집하고 이들의 무게를 측정하였다.

5) 조직의 형태학적 분석

지방세포의 크기와 수를 조사하기 위하여 검체에서 분리한 지방조직을 10% formaldehyde에서 하루 이상 고정한 후 표준방식으로 4 μ m 파라핀 절편을 준비하였다. 파라핀 절편을 hematoxylin과 eosin (HE)으로 염색하였으며 광학현미경으로 관찰하였다. 조직의 사진촬영과 지방세포의 크기 분석은 image analysis system (Infinity analyze, Lumenera, Canada)을 이용하였다.

간 섬유화를 조사하기 위하여 검체에서 분리한 간조직을 10% formaldehyde에서 하루 이상 고정한 후 4 μ m 파라핀 절편을 준비하였다. 파라핀

절편을 Masson's trichrome으로 염색하여 collagen 수준을 광학현미경으로 관찰하였다. 조직의 사진 촬영은 image analysis system 을 이용하였다.

3. 통계분석

모든 값은 mean \pm standard deviation(SD)으로 표시하며, OriginLab Version 9.1(OriginLab Corporation, MA, USA)의 one way ANOVA를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

III. 實驗 結果

1. 체중 증가량과 지방무게

정상군에 비해 대조군은 체중 증가량이 40일째부터 유의하게 증가하였고(P<0.05), 48일째부터 증가폭이 더욱 커져(P<0.01) 56일째를 제외하고 실험 종료 시까지 증가폭이 유지되었다. 대조군에 비하여 DF-a는 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고(P<0.05), 8일째 감소폭이 증가하다가(P<0.001) 16일째까지 감소폭이 주춤하였다(P<0.01). 24일부터 28일까지 감소폭이 낮아졌다(P<0.05) 그 이후 44일째까지는 감소폭이 늘었다가 줄었다가를 반복하였다. 48일째부터 60일까지는 감소폭을 일정하게 유지하다가 64일째에는 감소폭이 더 확대되었다(P<0.001). DF-b 역시 투여 후 4일째부터 유의하게 체중 증가량이 감소하였고(P<0.05), 그 감소폭이 12일째까지 증가하다가(P<0.001) 16일째부터 다시 감소폭이 줄어들었고, 20일째부터는 더 줄어들어 28일째까지 지속되었다(P<0.05). 32일째부터 다시 체중 증가량 감소폭이 증가하였고(P<0.01), 그 양상이 60일까지 유지되다가 64일째에 가장 현저하였다(P<0.001) (Table 3, Fig. 1).

이를 백분율로 환산할 경우, 대조군에 비해 DF-a는 65.25%, DF-b는 43.94%의 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다. 모두에서 통계적으로 매우 현저한 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다(P<0.001).

Table 3. Changes in body weight gain by DF-a and DF-b in high fat diet-fed obese mice.

	Normal	Control	DF-a	DF-b
4	-0.9±0.515	-0.607±0.785	-1.521±1.042*	-1.748±0.849**
8	-0.553±0.648	0.477±1.403	-2.459±0.835***	-2.598±1.024***
11	-0.409±0.852	-0.608±1.12	-2.521±1.090**	-2.778±0.900***
15	0.054±0.792	0.138±1.824	-2.592±0.884**	-2.376±1.107**
18	0.203±1.077	-0.884±1.767	-2.517±0.995*	-2.638±1.327†
22	0.149±1.462	-0.692±1.525	-1.934±.801†	-2.206±1.137†
25	-0.173±1.213	-0.826±1.411	-2.059±0.864*	-2.301±0.948†
29	-0.071±1.246	0.766±1.512	-1.360±0.830**	-1.179±0.807**
32	0.109±1.609	1.273±1.551	-1.241±0.988***	-1.240±1.264**
36	0.326±1.828	2.223±1.659†	-0.440±1.313**	-0.073±1.110**
39	0.757±1.676	2.922±1.877†	-0.202±1.175***	0.280±0.964**
43	0.921±1.773	3.634±2.08††	0.451±1.325**	0.813±1.217**
46	1.008±1.467	3.782±2.009††	0.939±1.295**	1.339±1.317**
50	1.531±1.637	4.124±2.123†	1.500±1.076**	1.722±0.902**
53	1.798±1.563	4.832±2.23††	1.712±1.200**	2.242±1.218**
57	2.196±1.879	5.554±2.406††	1.168±1.372***	2.163±1.097***

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01. * Value significantly different from control, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.

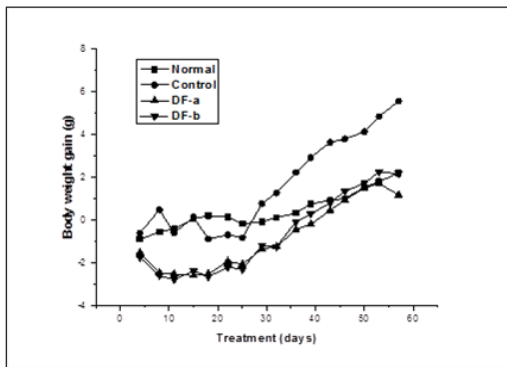


Fig. 1. Changes in body weight gain in high fat diet-fed obese mice.

8주 동안 약물을 투여한 뒤에 부검하여 장간막 백색지방조직 (mesenteric adipose tissue, MAT), 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.

MAT, EAT, RAT, IAT와 BAT의 무게는 정상군에 비하여 대조군에서 통계적으로 증가하였고, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 감소하였으나 DF-b의 MAT에서만 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Table 4, Fig. 2).

이를 백분율로 환산하면, MAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 14.68%, DF-b는 13.90%로 그 무게가 감소되는 것으로 나타났고, EAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 4.00%로 그 무게가 감소되었으나, DF-b는 반대로 5.44%로 그 무게가 증가되는 것으로 나타났다. RAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 5.16%로 그 무게가 감소되었으나, DF-b는 반대로 2.58%로 그 무게가 증가되는 것으로 나타났다. IAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 6.22%, DF-b는 2.62%로 그 무게가 감소되는 것으로 나타났고, BAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 10.10%, DF-b는 6.26%로 그 무게가 감소되는 것으로 나타났다. MAT, EAT, RAT, IAT와 BAT에서 그 무게의 감소는 DF-b 보다는 DF-a에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

Table 4. Adipose tissue weights in high fat diet-fed obese mice.

	Normal	Control	DF-a	DF-b
Mesenteric adipose tissue	0.638±0.137	1.692±0.219 ^{†††}	1.259±0.598	1.279±0.339 ^{**}
Epididymal adipose tissue	1.431±0.278	1.875±0.527 [†]	1.731±0.304	2.091±0.457
Retroperitoneal adipose tissue	0.477±0.081	0.753±0.12 ^{††}	0.679±0.14	0.793±0.057
Inguinal adipose tissue	1.05±0.305	1.992±0.243 ^{†††}	1.759±0.262	1.89±0.24
Brown adipose tissue	0.345±0.064	0.458±0.078 ^{††}	0.374±0.157	0.404±0.146

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01, ††† p<0.001. * Value significantly different from control, ** p<0.01.

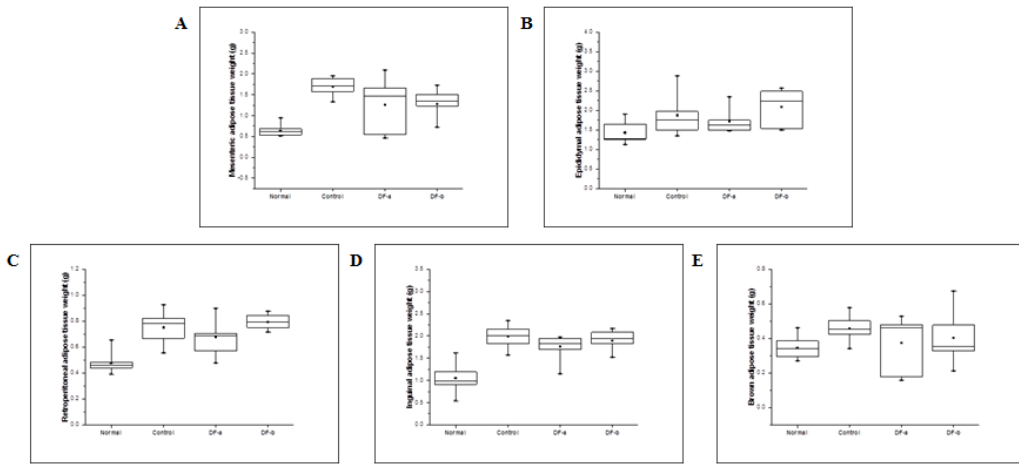


Fig. 2. Adipose tissue weights in high fat diet-fed obese mice.

2. 식이효율과 혈중 leptin 및 adiponectin 농도

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

식이효율(feeding efficiency ratio: FER%) = 체중 증가량(g)/사료섭취량(g)×100^{10,11)}

식이효율은 정상군에 비하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났으며, DF-a와 DF-b 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다(P<0.001, Table 5, Fig. 3A).

이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 47.80%의 식이효율이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF-a는 66.68%, DF-b는 46.72%로 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, DF-a에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

실험시작 8주 후 혈장 내 leptin의 양을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비하여 통계적으로 유의하게 그 농도값이 높은 것으로 나타났고, DF-a와 DF-b 모두에서 대조군에 비하여 그 농도값이 낮은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없는 것으로 나타났다(Table 5, Fig. 3B). 이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 61.62%의 혈중 leptin 농도값이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF-a는 15.02%, DF-b는 11.80%로 혈중 leptin 농도값이 낮은 것으로 나타났으며, DF-a에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

실험시작 8주 후 혈장 내 adiponectin의 양을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비하여 그 농도값이 높은 것으로 나타났고, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF-a는 낮은 것으로, DF-b는 높은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없는 것으로

Table 5. Feeding efficiency ratio, fasting plasma leptin and adiponectin levels in high fat diet-fed obese mice.

	Normal	Control	DF-a	DF-b
Feeding efficiency ratio	8.792±7.413	24.89±10.004 ^{††}	4.976±5.805 ^{***}	9.038±4.752 ^{***}
Leptin	12.839±3.851	54.07±17.329 ^{†††}	39.942±25.89	42.659±8.225
Adiponectin	12368.822±3270.36	12378.3±2970.616	11108.144±2526.271	14011.889±5594.66

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, †† p<0.01, ††† p<0.001. * Value significantly different from control, *** p<0.001.

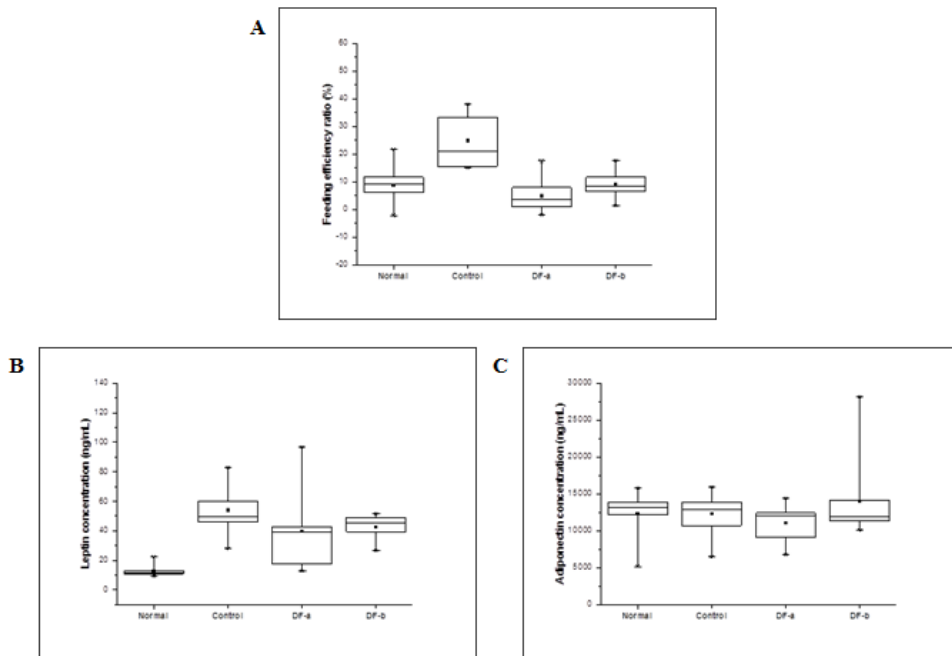


Fig. 3. Feeding efficiency ratio(A), fasting plasma leptin(B) and adiponectin levels(C) in high fat diet-fed obese mice.

나타났다(Table 5, Fig. 3C). 이를 백분율로 환산할 경우, 정상군에 비하여 대조군은 0.04%의 혈중 adiponectin 농도값이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF-a는 5.40%로 낮은 것으로, DF-b는 6.20%로 높은 것으로 나타났으며, DF-b에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다.

3. 혈액의 free fatty acid, triglyceride, insulin 및 glucose 농도

실험시작 8주 후 혈장 내 triglyceride와 free fatty acid의 양을 측정된 결과, 혈중 triglyceride의 농도값은 대조군에서 정상군에 비하여 높게

나타났으며, DF-a와 DF-b 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다 (P<0.05, Table 6, Fig. 4A). 혈중 free fatty acid의 농도값은 대조군에서 정상군에 비하여 낮게 나타났으며, DF-a와 DF-b 모두에서 대조군에 비하여 높은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없는 것으로 나타났다 (Table 6, Fig. 4B). 이를 백분율로 환산하면, 혈중 triglyceride의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 6.90%의 혈중 농도값이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF-a는 10.32%, DF-b는 10.24%로 낮은 것으로 나타났다. 혈중 free fatty acid의 경우, 정

Table 6. Fasting plasma triglyceride, free fatty acid, glucose and insulin levels in high fat diet-fed obese mice.

	unit	Normal	Control	DF-a	DF-b
Triglyceride	mg/dℓ	78.667±13.153	90.333±17.944	73.444±5.548*	73.556±15.273*
Free fatty acid	mg/dℓ	977.889±163.584	879±109.021	965.778±122.74	973.778±137.383
Glucose	μEq/L	177.222±20.266	213.667±44.396†	172.444±31.627*	170±28.085*
Insulin	mg/dℓ	0.813±0.468	2.233±0.87†††	1.551±1.094	1.649±1.14

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05, †† p<0.01, ††† p<0.001. * Value significantly different from control, * p<0.05.

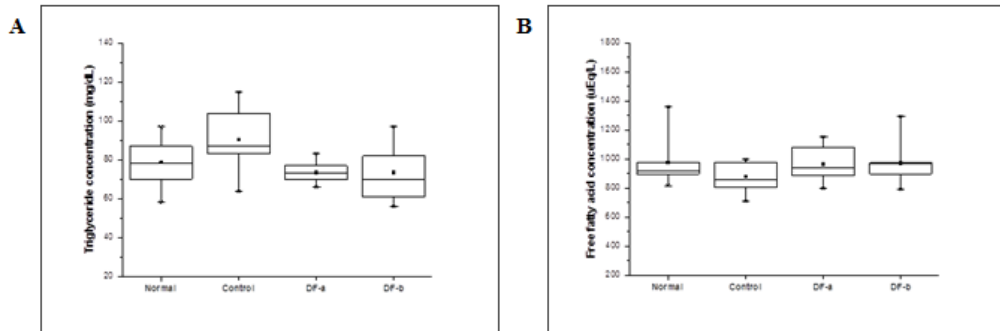


Fig. 4. Fasting plasma triglyceride(A) and free fatty acid(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

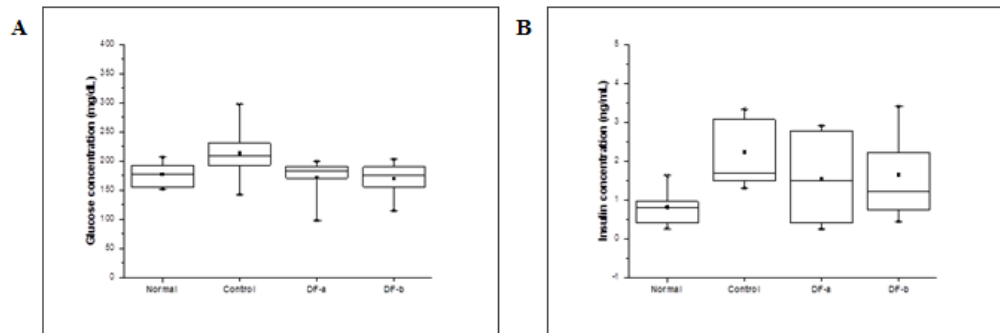


Fig. 5. Fasting plasma glucose(A) and insulin(B) levels in high fat diet-fed obese mice.

상군에 비하여 대조군은 5.32%의 혈중 농도값이 낮은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF-a는 4.70%, DF-b는 5.12%로 높은 것으로 나타났다.

실험시작 8주 후 혈장 내 glucose와 insulin의 양을 측정한 결과, 혈중 glucose의 농도값은 대조군에서 정상군에 비하여 높게 나타났으며, DF-a와 DF-b 모두에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다(P<0.05, Table 6,

Fig. 5A). 혈중 insulin의 농도값은 대조군에서 정상군에 비하여 높게 나타났으며, DF-a와 DF-b 모두에서 대조군에 비하여 낮은 것으로 나타났으나 통계적인 유의성은 없는 것으로 나타났다 (Table 6, Fig. 5B). 이를 백분율로 환산하면, 혈중 glucose의 경우, 정상군에 비하여 대조군은 45.34%의 혈중 농도값이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF-a는 10.68%, DF-b는 11.38%로 낮은 것으로 나타났다. 혈중 insulin의

경우, 정상군에 비하여 대조군은 46.62%의 혈중 농도값이 높은 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 그 농도값이 DF-a는 18.02%, DF-b는 15.04%로 낮은 것으로 나타났다.

4. 지방세포의 크기와 수

DF가 고지방식이 마우스 비만모델 피하지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 IAT 지방조직을 HE 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis system으로 관찰하였다. 단위면적당 지방세포의 수는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 증가하였으나 DF-b에서 통계적인 유의성을 나타냈다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 정상군에 비하여 대조군에서 22.44%로 감소하는 것

으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 7.76%와 10.68%로 증가하는 것으로 나타났다(P<0.05, Table 7, Figs. 6-7). 반면, 지방세포의 크기는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 증가되었으며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었다. 지방세포 크기의 증감율은 정상군에 비하여 대조군에서 21.74%로 증가하는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 8.18%와 11.28%로 감소하는 것으로 나타났다(Table 7, Figs. 6-7).

DF가 고지방식이 마우스 비만모델 복부지방세포의 조직학적, 형태학적 변화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 EAT 지방조직을 HE 염색법으로 염색한 후 현미경 및 image analysis system으로 관찰하였다. 단위면적당 지방세포의 수는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하

Table 7. Cell number and size of inguinal adipose tissue in high fat diet-fed obese mice.

Inguinal adipose tissue	Normal	Control	DF-a	DF-b
Cell number	101.222±21.096	64.111±9.021 [†]	74.889±5.929	79.444±2.715 [*]
Cell size(μm ²)	2742.454±543.232	4265.462±577.337 [†]	3620.143±280.683	3401.299±118.42

Data are expressed as the mean±SD. † Value significantly different from normal, † p<0.05. * Value significantly different from control, * p<0.05.

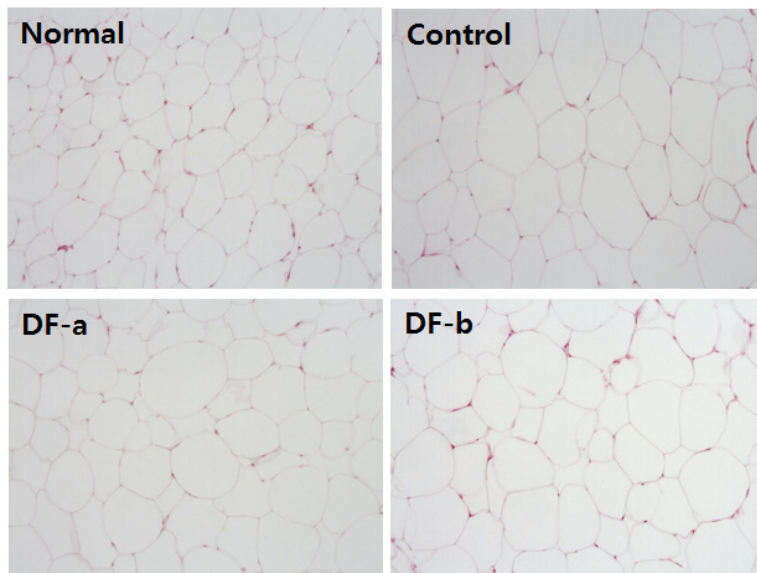


Fig. 6. Histology of inguinal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice. Representative hematoxylin and eosin sections of inguinal adipose tissue(original magnification X 100).

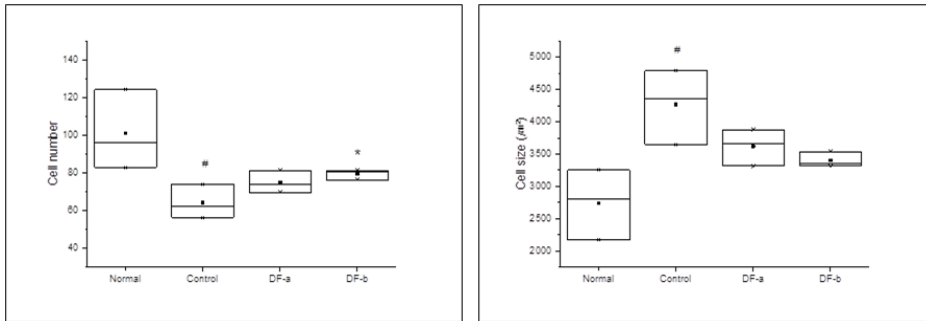


Fig. 7. Number and size of inguinal adipocytes in high fat diet-fed obese mice. The size and number of adipocytes in a fixed area (1,000,000 μm^2) were quantified by an image analysis system.

게 감소하였으며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b 모두에서 증가하는 것으로 나타났으나 DF-b에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 정상군에 비하여 대조군에서 20.04%로 감소하는 것으로 나타났으

며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 7.66%와 8.22%로 증가하는 것으로 나타났다($P < 0.05$, Table 8, Figs. 8-9). 반면, 지방세포의 크기는 정상군과 비교하여 대조군에서 통계적으로 유의하게 증가되었으며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b 모두에

Table 8. Cell number and size of epididymal adipose tissue in high fat diet-fed obese mice.

Epididymal adipose tissue	Normal	Control	DF-a	DF-b
Cell number	87.556±4.857	58.333±4.256 ^{††}	68±9.838	68.778±2.009*
Cell size(μm^2)	3089.951±167.53	4644.68±331.414 ^{††}	4022.485±538.175	3927.933±115.346*

Data are expressed as the mean±SD. [†] Value significantly different from normal, ^{††} $p < 0.01$. * Value significantly different from control, * $p < 0.05$.

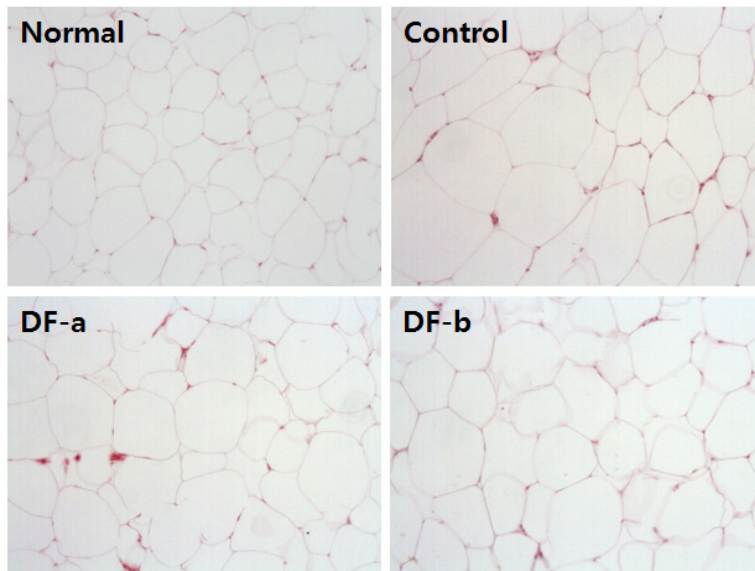


Fig. 8. Histology of epididymal white adipose tissues in high fat diet-fed obese mice. Representative hematoxylin and eosin sections of epididymal adipose tissue(original magnification X 100).

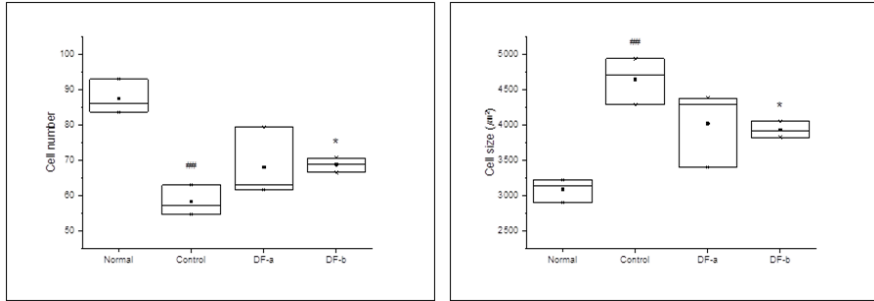


Fig. 9. Number and size of epididymal adipocytes in high fat diet-fed obese mice. The size and number of adipocytes in a fixed area ($1,000,000 \mu\text{m}^2$) were quantified by an image analysis system.

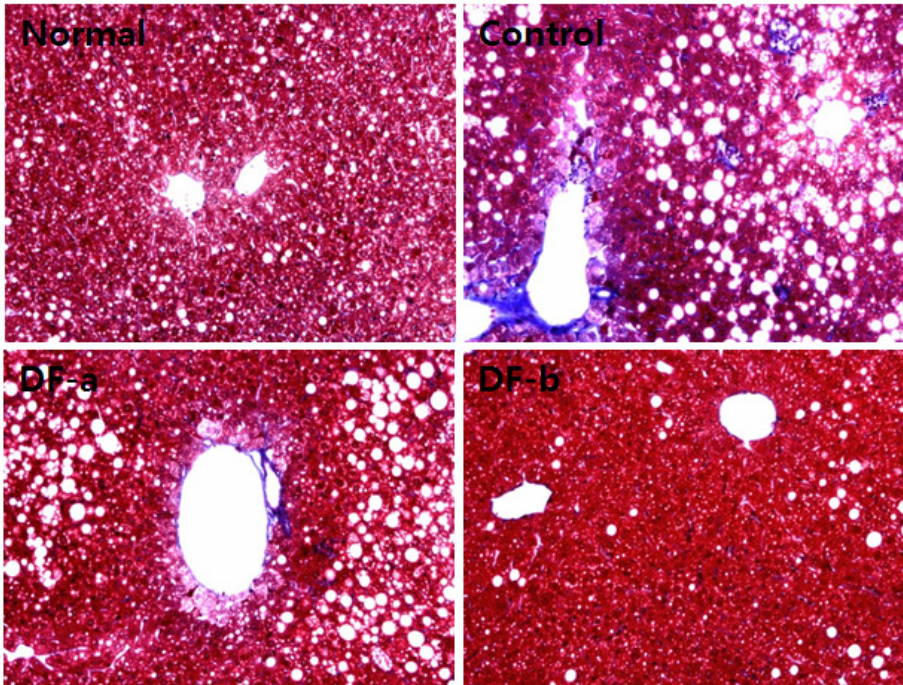


Fig. 10. Histological analysis of liver fibrosis. Male C57BL/6N mice were fed a low fat diet, a high fat diet, or the same high fat diet supplemented with DF-a and DF-b for 8 weeks. Representative Masson's trichrome stained sections of livers are shown in blue color. Original magnification X 400.

서 감소하는 것으로 나타났으나 DF-b에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. 지방세포 크기의 증감율은 정상군에 비하여 대조군은 20.10%로 증가하는 것으로 나타났으며, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b는 7.18%와 8.36%로 감소하는 것으로 나타났다($P < 0.05$, Table 8, Figs. 8-9).

5. 간섬유화

고지방식으로 비만이 유발된 대조군은 정상군에 비하여 상당량의 간섬유화 소견을 보였으나, 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b 모두에서 간섬유화가 줄어든 양상을 보였다 (Fig. 10).

IV. 考 察

DF가 체중감량에 효과가 있는지와 체중감량 효과가 있다면 DF의 조성약물 중 마황의 경우 파키스탄산 마황과 중국산 마황을 사용할 때 항비만 효과에 차이가 있는지를 알아보려고 하였으며, 고지방식이 마우스 비만모델을 이용하여 체중 변화, 식이효율, 혈중 leptin과 지질대사의 농도, 지방조직의 형태학적 조직학적 변화, 간세포의 섬유화를 조사하였다.

먼저 고지방식이 마우스 비만모델을 이용하여 DF의 투여가 체중 증가량의 변화와 지방무게에 어떤 영향을 미치는 지에 대해서 알아보았다.

체중 증가량의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 65.25%, DF-b는 43.94%의 체중 감량효과가 나타났으며, 모두에서 통계적으로 매우 현저한 체중 감량효과가 있는 것으로 나타났다($P < 0.001$). 특히, DF-a에서 그 효과가 더 큰 것으로 나타났다(Fig. 1).

MAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 14.68%, DF-b는 13.90%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, EAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 4.00%로 그 무게가 감소되었으나, DF-b는 반대로 5.44%로 그 무게가 증가되는 것으로 나타났다. RAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 5.16%로 그 무게가 감소되었으나, DF-b는 반대로 2.58%로 그 무게가 증가되는 것으로 나타났다. IAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 6.22%, DF-b는 2.62%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났고, BAT의 경우, 대조군에 비하여 DF-a는 10.10%, DF-b는 6.26%로 그 무게가 감소되어 있는 것으로 나타났다(Fig. 2). 따라서 DF는 체중감량효과와 일치하게 지방량을 전반적으로 개선시키고 그 감량의 정도가 DF-a에서 더 크다는 것을 시사한다.

DF의 투여가 식이효율에는 어떤 변화를 주고 혈중 leptin과 adiponectin 농도에는 어떻게 반영되는 지에 대해서도 조사하였다.

대조군에 비하여 DF-a는 66.68%, DF-b는 46.72%로 식이효율이 낮은 것으로 나타났으며, DF-a에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다(Fig. 3A).

대조군에 비하여 DF-a는 15.02%, DF-b는 11.80%로 혈중 leptin 농도값이 낮은 것으로 나타났으며, DF-a에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다(Fig. 3B). 대조군에 비하여 혈중 adiponectin의 농도값이 DF-a는 5.40%로 낮은 것으로, DF-b는 6.20%로 높은 것으로 나타났으며, DF-b에서 그 정도가 더 큰 것으로 나타났다(Fig. 3C). 식이효율의 공식에서 의미하는 바와 같이 사료를 섭취하는 양이 많음에도 불구하고 체중의 증가가 적다는 것은 비만조절효과가 있는 것으로 볼 수 있다. 식이효율은 비만을 나타내는 하나의 척도로 사용할 수 있고, 식이효율의 값이 적을수록 비만조절효과가 있다고 할 수 있다. Leptin은 백색지방세포에서 분비되는 adipokine으로서 시상하부에서 작용하여 체중, 음식물섭취와 지방축적을 줄이는 작용을 한다¹²⁾. Adiponectin도 백색지방세포에서 분비되는 adipokine으로서 항염작용, 항당뇨작용, 동맥경화 개선작용과 간보호작용이 있으며¹³⁾, 비만한 환자, 돼지와 설치류에서 adiponectin의 혈중 농도가 낮아지는 것으로^{14,15)} 알려져 있고, leptin과 adiponectin의 혈중 농도는 반대의 양상을 나타낸다. 따라서 DF는 식이효율의 값에 따라 혈중 leptin과 adiponectin 농도에도 반영되어 식이효율을 낮추고 혈중 leptin 농도는 낮추고 혈중 adiponectin 농도는 높여 체중 증가량을 줄이며 이에 따라 지방무게를 줄이는 것으로 생각된다.

DF의 투여가 체중조절 및 지질대사와 관련된 지표인 triglyceride, free fatty acid, glucose와 insulin의 농도에 미치는 영향을 조사하였다. Triglyceride의 값은 대조군에 비하여 DF-a는 10.32%, DF-b는 10.24%로 낮았으며 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Fig. 4A). Free fatty acid의 값은 대조군에 비하여 DF-a는 4.70%, DF-b는 5.12%로 높았으나 통계적인 유의성은 없는 것으로 나타났다(Fig. 4B). Glucose의 값은 대조군에 비하여 DF-a는 10.68%, DF-b는 11.38%로 낮았으며 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다(Fig. 5A). Insulin의 값은 대조군에 비하여 DF-a는 18.02%, DF-b는 15.04%로 낮았으나 통계적인 유의성은 없는 것으로 나타났다(Fig. 5B). 따라서 DF는 체



증감량과 지방량의 감소효과와 일치하게 triglyceride, glucose와 insulin의 농도값이 감소하는 것을 보여주고 있어 DF 투여에 의한 실질적인 체중 증가량 감소효과와 지방량 감소효과가 혈중 체중감량지표와 지질대사에 전반적으로 영향을 미친다는 것을 시사한다.

DF에 의한 체중감량효과가 고지방식이 마우스 비만모델의 지방세포(IAT, EAT)와 간세포의 조직학적, 형태학적 변화에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다.

IAT의 경우, 단위면적당 지방세포의 수는 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 증가하였으나 DF-b에서 통계적인 유의성을 나타냈다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 7.76%와 10.68%로 증가하는 것으로 나타났다($P < 0.05$, Table 7, Fig. 6-7). 반면, 지방세포의 크기는 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 감소하였으나 통계적인 유의성은 없었다. 지방세포 크기의 증감율은 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 8.18%와 11.28%로 감소하는 것으로 나타났다(Table 7, Fig. 6-7).

EAT의 경우, 단위면적당 지방세포의 수는 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b 모두에서 증가하는 것으로 나타났으나 DF-b에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. 단위면적당 지방세포 수의 증감율은 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b에서 7.66%와 8.22%로 증가하는 것으로 나타났다($P < 0.05$, Table 8, Fig. 8-9). 반면, 지방세포의 크기는 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b 모두에서 감소하는 것으로 나타났으나 DF-b에서 통계적인 유의성이 있는 것으로 나타났다. 지방세포 크기의 증감율은 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b는 7.18%와 8.36%로 감소하는 것으로 나타났다($P < 0.05$, Table 8, Fig. 8-9).

간세포의 섬유화는 대조군에 비하여 DF-a와 DF-b 모두에서 감소하는 양상을 보였다 (Fig. 10).

따라서 체중감량효과와 일치하게 DF에 의하여 지방세포의 수는 증가하였고 그 크기는 감소하였으며, 간세포의 간섬유화는 억제하는 것을 알 수 있다.

그러므로 DF는 식이효율과 혈중 leptin 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량을 줄여 체중감량효과를 나타내며, 간세포의 섬유화를 억제하는데도 기여할 수 있음을 보여준다.

V. 結 論

고지방 식이로 유발된 비만 마우스 모델을 이용하여 파키스탄산 마황의 降脂丸(DF-a)과 중국산 마황으로 조성된 降脂丸(DF-b)의 투여에 따른 체중증가량, 혈중 지질대사 관련 지표와 간조직의 변화를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DF-a와 DF-b는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 체중증가량을 감소시켰으며, 체중증가량의 변화와 일치하게 지방량도 감소하였고, 그 감소폭은 DF-a에서 더욱 현저하였다.

2. DF-a와 DF-b는 대조군에 비하여 식이효율과 혈중 leptin 농도를 낮추고 adiponectin 농도를 높이는 것으로 나타났다.

3. DF-a와 DF-b는 대조군에 비하여 체중감량 및 지방량의 감소와 일치하게 혈중 triglyceride, glucose와 insulin의 농도값을 감소시키는 것으로 나타났다.

4. DF-a와 DF-b는 대조군에 비하여 체중감량 효과와 일치하게 지방세포의 수를 증가시키고 지방세포의 크기를 감소시키는 것으로 나타났다.

5. DF-a와 DF-b는 대조군에 비하여 체중감량 효과와 일치하게 간세포의 섬유화도 억제하는 것으로 나타났다.

결론적으로 DF-a와 DF-b는 식이효율과 혈중 leptin 농도를 낮추고 혈중 비만지표들을 개선시키며 지방량을 줄여 체중감량효과를 나타내고, 간세포의 섬유화를 억제하는데도 기여할 수 있을 것으로 생각된다. 또한, 파키스탄산 마황을 사용했을 때와 중국산 마황을 사용했을 때의 효과의 차이는 통계적인 범위 안에 있어 크게 다르지 않은 것으로 보인다.

Acknowledgement

This work was supported by the National Research Foundation of Korea(NRF) grant funded by the Korea government(MEST) (No. 2012R1A2A2A01004508).

參 考 文 獻

1. Ye Ji Ahn, Ki Hyeon Yoon, Ju Heum Jo, Du Hyon Jang, Yang Sam Jung, Jong Hoon Kim, Byeong Chul Kim, Hoa Jun Seok, Jae Sang Yoo, Ja Ryong Ku, Michung Yoon, Soon Shik Shin. Gangjihwan Improves Nonalcoholic Fatty Liver Disease in High Fat Diet-Fed C57BL/6N Mice. *Kor. J. Herbology*. 2014; 29(2): 47-54.
2. Compiled by Wang Yu Sheng, Deng Wen Long, Xue Chun Sheng. *The application and pharmacology of traditional Chinese Medicine*. Second edition. Beijing: People's Medical Publishing House. 2000: 1105-19.
3. Shekelle PG, Hardy ML, Morton SC, Maglione M, Mojica WA, Suttorp MJ, Rhodes SL, Jungvig L, Gagné J. Efficacy and safety of ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance: a meta-analysis. *JAMA*. 2003; 289(12): 1537-45.
4. Vukovich MD, Schoorman R, Heilman C, Jacob P 3rd, Benowitz NL. Caffeine-herbal ephedra combination increases resting energy expenditure, heart rate and blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2005; 32(1-2): 47-53.
5. Compiled by Shen Ying Jun. *Pharmacology of traditional Chinese Medicine*. First edition. Beijing: People's Medical Publishing House. 2000: 111-5.
6. Tian JY, Chen L, Zhang XL, Li J, Han J, Fu JY, Yang XM, Zhang PC, Ye F. Investigation of a compound, compatibility of *Rhodiola crenulata*, *Cordyceps militaris*, and *Rheum palmatum*, on metabolic syndrome treatment II - improving obesity. *Chin j of Chin materia medica*. 2013; 38(9): 1415-19.
7. Retrieved Oct. 26, 2012, from <http://humanherb.co.kr/bbs/view.php?id=news&no=319>.
8. Ghafoor S, Shah MM, Ahmad H, Swati ZA, Shah SH, Pervez A, Farooq U. Molecular characterization of Ephedra species found in Pakistan. *Genet Mol Res*. 2007; 6(4): 1123-1130.
9. Zabta Khan Shinwari, Syed Shahinshah Gilani. Sustainable harvest of medicinal plants at Bulashbar Nullah, Astore (Northern Pakistan). *J Ethnopharmacol*. 2003; 84(2-3): 289-298.
10. Oh JS, Lee SR, Hwang KT, Ji GE. The Anti-Obesity Effects of the Dietary Combination of Fermented Red Ginseng with Levan in High Fat Diet Mouse Model. *Phytother Res*. 2013 ; 19 : 1-6.
11. 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.
12. Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrere B. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr* 2000; 130: 3127S-3131S.
13. Brochu-Gaudreau K, Rehfeldt C, Blouin R, Bordinon V, Murphy BD, Palin MF. Adiponectin action from head to toe. *Endocrine* 2010; 37: 11-32.
14. A. Daniele, R. Cammarata, M. Masullo et al., Analysis of adiponectin gene and comparison of its expression in two different pig breeds. *Obesity* 2008; 16(8): 1869-1874.
15. A. de Rosa, M. Ludovica Monaco, M. Capasso et al., Adiponectin oligomers as potential indicators of adipose tissue improvement in obese subjects. *European Journal of Endocrinology* 2013; 169(1): 37-43.