

加味寒多熱少湯이 고지방식이 비만생쥐의 체지방감소에 미치는 영향

이하일 · 이종하 · 권영미* · 송용선

원광대학교 한의과대학 한방재활의학교실, 원광대학교 한의과대학 영상의학과*

Effects of Gami-Handayeolso-Tang on Body Fat Reduction in High Fat Diet-Fed Obese Mice

Ha-Il Lee, K.M.D., Jong-Ha Lee, K.M.D., Young-Mi Kwon, M.D.*, Yung-Sun Song, K.M.D.

Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Won-Kwang University,

Department of Radiology, College of Korean Meidicine, Won-Kwang University*

이 연구는 2015학년도 원광대학교 교비지원에 의하여 수행됨.

RECEIVED January 3, 2016

ACCEPTED January 22, 2016

CORRESPONDING TO

Yung-Sun Song, Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Won-Kwang University, 99 Garyeonsan-ro, Deokjin-gu, Jeonju 54887, Korea

TEL (063) 270-1070

FAX (063) 270-1594

E-mail yssong@wku.ac.kr

Copyright © 2016 The Society of Korean Medicine Rehabilitation

Objectives In this study, it was investigated whether *Gami-Handayeolso-Tang* (HDYST) medication has anti-obesity effects in high fat diet (HFD)-fed obese mice.

Methods The experimental animals were divided into five groups—normal diet-fed (ND), high fat diet-fed control (HFD), HFD+HDYST 150, HFD+HDYST 300, and HFD+orlistat as a positive drug. The obese markers such as body weight, diet efficiency ratio, serum levels of total cholesterol, triglyceride, lipid contents, leptin, adiponectin, and GOT/GPT were measured. Also, white adipose tissue, liver weight, abdominal fat mass, hepatic lipid contents, and mRNA expression of obese-associated genes were examined in obese mice.

Results In high fat diet-fed mice, HDYST administration significantly decreased body weight, diet efficiency ratio, serum levels of total cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol, as well as leptin and GOT/GPT, compared to the HFD group in a dose-dependent manner. HDYST increased significantly the serum levels of HDL-cholesterol and adiponectin. It also reduced the accumulation of lipids, such as total lipid and triglycerides, in organs such as liver and abdominal adipose tissue. Moreover, HDYST administration significantly decreased the expression levels of fatty acid synthetic genes, such as sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c), FAS and Stearoyl-Coenzyme A desaturase 1 (SCD-1), in the liver tissues, while it increased the messenger RAN (mRNA) levels of fatty acid catalytic genes, such as Peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR- α), acyl-CoA oxidase (ACO), and Carnitine palmitoyltransferase-1a (CPT-1a).

Conclusions Based on the results above, HDYST reveals anti-obesity effects declining body fat accumulation through the regulation of fatty acid metabolism and leptin/adiponectin serum levels. It therefore suggests that HDYST can be clinically useful for the treatment of obesity. (*J Korean Med Rehab* 2016;26(1):13-31)

Key words *Gami-Handayeolso-Tang* (HDYST), Obesity, High fat diet, Lipid accumulation

서론»»»»

최근 비만의 약물에 대한 연구 동향은 식욕을 억제하거나 지질 및 탄수화물의 흡수를 저해하는 작용 및 체내 에너지 대사를 촉진하는 작용에 주안점을 두고 있다¹⁾. 여러 작용기전에 따라 비만치료제가 개발되고 있지만 위장장애, 복부팽만, 입마름, 변비, 혈압상승 등의 부작용을 야기하므로 체중조절에 효과적이면서 부작용이 적은 천연물에서 찾아내고자 건강식품 및 한약재에서 연구가 활발히 진행되고 있다²⁾.

비만에 대한 한약 처방으로 體減薏苡仁湯, 體感行血薏苡仁湯, 防風通聖散, 實脾飲, 薏苡仁湯 및 減肥湯 등이 있으며, 사상처방으로는 太陰調胃湯, 調胃升清湯, 清心蓮子湯 등의 太陰人 처방, 藿香正氣散, 十二味官中湯 등의 少陰人 처방, 荊防瀉白散의 少陽人 처방에 대한 실험적 효과가 보고되었다³⁾. 국내 비만임상에서 적용되는 한약처방 중 四象處方이 가장 많이 사용되고 있으며, 그 중에서 太陰人의 太陰調胃湯과 調胃升清湯이, 단미로는 麻黃이 빈도가 가장 많았다고 보고되었다⁴⁾. 이에 저자는 사상처방 중 太陰人 胃脘受寒證에 쓰이는 寒多熱少湯에 임상적으로 많이 쓰이며, 지방산 산화와 관련된 PPAR α 를 증가시키는 麻黃을 배방한 加味寒多熱少湯을 본 실험에 이용하였다⁵⁾.

寒多熱少湯은 『東醫壽世保元』의 <太陰人 胃脘受寒表寒病論>에 기재되어 있으며, 太陰調胃湯에 비해 五味子, 石菖蒲가 없고 黃芩, 杏仁이 加味되어 있고 太陰人 胃脘寒證 寒厥, 重症이나 長感病에 사용한다⁶⁾. 寒多熱少湯에 대한 약리 작용기전에 대한 연구는 매우 미흡한 상태이다. 국내에 寒多熱少湯과 관련된 실험 연구로는 김 등⁷⁾의 항알러지 및 항염증 효과, 박 등⁸⁾의 解熱, 鎮痛, 消炎, 鎮靜 및 鎮痙작용 등에 관한 연구가 보고되었고, 비만과 관련된 실험 연구로는 김 등⁹⁾의 연구가 있지만 유의성 있는 감소를 보인 것은 혈청 내 total cholesterol과 triglyceride 함량에서만 보였다.

따라서 저자는 본 연구에서 加味寒多熱少湯의 비만에 대한 활용여부를 확인하고자 고지방식이로 유도된 비만 생쥐 모델에 7주간 투여하고 마우스의 체중, 혈중지질 농도 및 체내 지방축적 등에 미치는 영향을 분석하였으며, 이에 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법»»»»

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용한 약재는 OO대학교 OO한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였다. 加味寒多熱少湯은 『東醫壽世保元』⁶⁾을 기준으로 麻黃을 배방하였으며 加味寒多熱少湯(Gami-Handayeolso-Tang, 이하 HDYST)에 들어가는 약재는 Table I과 같다.

2) 시약

비만을 유도하기 위한 고지방식은 45%의 지방을 함유하는 Research diets사의 D12451사료와 실험동물의 정상식이군의 사료는 10%의 지방을 함유하는 D12450B사료를 중앙실험동물에서 구입하였으며, 혈청, 간 조직, 백색지방 조직 내의 지질을 분석하기 위한 시약은 (주)아산제약(서울, 한국)에서 구입하였다. 또한 실험동물의 혈청 내 leptin 함량을 정량하는 ELISA kit는 ENZO사(Farmingdale, NY, USA)에서, Aidiponectin을 분석하기 위한 용도의 ELISA kit는 ALPCO사(Salem, NH, USA)에서 제조한 제품을 사용하였다. 조직 내 total RNA를 추출하기 위하여 사용한 Trizol용액 및 mRNA 분석을 위한 cDNA합성 kit는 invitrogen (Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한 본 실험에 사용된 기타 시약들은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다. 정상식이군 사료, 고지방식이 사료의 kg당 조성의 내용과 분량은 다음과 같다(Table II).

Table I. Prescription of HDYST

Herbal name	Pharmacognostic name	Weight (g)
薏苡仁	<i>Coicis Semen</i>	12
蘿菔子	<i>Raphani Semen</i>	8
麥門冬	<i>Ophiopogonis Radix</i>	4
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4
黃芩	<i>Scutellariae Baikalensis Radix</i>	4
杏仁	<i>Armeniaca Semen</i>	4
麻黃	<i>Ephedrae Radix</i>	8
乾栗	<i>Castanea Semen</i>	12
Total amounts		56

Table II. The Components of Normal & High Fat Diet

Product	D12450B*		D12451 [†]	
	gm%	Kcal%	gm%	Kcal%
Protein	19.2	20	24	20
Carbohydrate	67.3	70	41	35
Fat	4.3	10	24	45
Total		100		100
kcal/gm	3.85		4.73	

Ingredients	D12450B*		D12451 [†]	
	gm	Kcal*	gm	Kcal*
Casein, 80 Mesh	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12
Corn starch	315	1,260	72.8	291
Maltodextrin 10	35	140	100	400
Sucrose	350	1,400	172.8	691
Cellulose, BW200	50	0	50	0
Soybean Oil	25	225	25	225
Lard [‡]	20	180	177.5	1,598
Mineral Mix S10026	10	0	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H2O	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0
FD&C Yellow Dye #5	0.05	0		
FD&C RedDye #40			0.05	0
total	1,055.05	4,057	858.15	4,057

*D12450B—Cholesterol (mg)/4057 kcal=19, Cholesterol (mg)/kg=18.

[†]D12451—Cholesterol (mg)/4057 kcal=168.6, Cholesterol (mg)/kg=196.5.

[‡]Typical analysis of cholesterol in lard=0.95 mg/gram.

3) 검체 조제

加味寒多熱少湯 두척 분량(112 g)을 취하여 약 16배 부피의 증류수 1,800 ml을 가하여 100°C에서 2시간씩 2회 환류 추출한 후, 그 열수 추출물을 Whatmann paper filter로 여과하였다. 여과물을 rotary evaporator (EYELA 사)로 감압 하에 농축하고 동결 건조하여 加味寒多熱少湯 추출물 32.88 g을 얻었다. 加味寒多熱少湯 추출물은 실험 동물에게 투여하기 위해 성인 표준체중에 준하여 마우스 체중당 적정 1일 투여량을 산출하였다. 추출물의 저농도에서 고농도까지 농도별 투여를 위하여 加味寒多熱少湯 추출물을 마우스 체중당 150 및 300 mg/kg을 투여하기 위하여 사용 직전 검체를 조제하였다.

4) 실험 동물

C57BL/6 계 수컷 6주령을 (주)샘타코(오산, 경기도)에서 구입하여 1주간 동물사육실 환경에 충분히 적응 및 순화 시킨 후 실험에 사용하였다. 실험 당일까지 고품사료와 음수를 자유롭게 섭취하도록 하고, 온도는 20±2°C와 습도 50±10%를 유지하였다. 점등 및 소등은 12시간을 주기로 반복하였다. 본 동물실험은 동물실험 윤리준칙(승인번호 CBNU 2015-0010)을 준수하며 수행되었다.

2. 방법

1) 비만 실험 동물 모델

C57BL/6 수컷 마우스의 적응기간이 끝난 후, 22 g내외의 마우스를 그룹당 5마리로 난괴법에 준하여 총 5개군의

로 나누어 실험을 수행하였다. 마우스의 비만 및 지방간증을 유도하기 위하여 45%의 지방을 함유하는 고지방식이를 사용하였다. 그룹은 일반 식이를 섭취시키는 정상식이군(ND)과 고지방식이군(HFD) 및 고지방식이+加味寒多熱少湯 150 mg/kg 투여군(HDYST 150), 고지방식이+加味寒多熱少湯 300 mg/kg 투여군(HDYST 300)과 양성대조군인 고지방식이+Orlistat 20 mg/kg 투여군(Orlistat)으로 분리하였다. 검체는 실험시작일로부터 7주간 1% carboxymethyl cellulose (CMC)가 포함된 정수에 용해하여 하루 1회 동일한 시각에 경구투여 하였고, 실험이 종료된 후에 실험동물을 희생하여 비만 관련 지표들을 분석하였다.

2) 체중 및 식이 섭취량 측정

실험동물의 체중은 1주에 1회, 식이섭취량은 주 2회 같은 시각에 저울을 이용하여 측정하였다. 식이이용효율은 다음과 같은 계산식에 의하여 산출하였다.

$$\text{식이이용효율(Diet efficiency ratio)(\%)} = \frac{\text{체중 증가량(g)}}{\text{식이섭취량(g)}} \times 100$$

3) 혈액 및 조직 채취

혈액 및 조직을 채취하기 위해서 실험이 종료된 후 실험동물을 diethyl ether로 마취하여 경추 탈골법으로 희생시켰다. 그 다음 개복하여 간 조직 및 백색지방 조직을 생리식염수로 세척한 후 페이퍼타올에 잔여물을 제거하고 무게를 측정하였다. 간조직 지질 함량 및 유전자 분석 시료로써 액체질소에 급속 동결하여 실험하기 전까지 -80°C 에 보관하였다. 혈액은 마우스를 개복한 상태에서 23 gauge needle의 주사기를 이용하여 복부대정맥으로부터 혈액을 채취하였다.

4) 혈청 분리와 조직 중의 지질 추출

실험동물로부터 채취한 혈액을 상온에서 30분 동안 방치하고 3,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 간 조직 및 백색지방에서의 지질 추출은 Folch 법¹⁰⁾에 준하여 30 mg의 간조직 및 지방조직을 일정한량의 phosphate buffered saline용액에 균질화한 후 클로로포름과 메탄올을 2 : 1의 비율로 첨가하고 상온에서 방치 한 후 원심분리 하여 분리된 용액의 용매를 증발시키고, 1 ml의 isopropanol로 녹여 지질분석을 위한 검체로 사용하였다.

5) 혈청과 간 조직 및 백색지방의 지질 함량 분석

혈청 중성지방(triglyceride), 총 콜레스테롤(Total-cholesterol), HDL 콜레스테롤(HDL-cholesterol), LDL 콜레스테롤(LDL-cholesterol)의 함량은 아산제약에서 제공하는 아산셋트를 사용하여 측정하였다. 5 ml tube에 효소시액을 300 μl 분주하고 혈청시료 2 μl 를 분주하여 37°C 에서 5분간 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정 하여 함량을 계산하였다.

간 조직으로부터 추출한 지질의 총 지질 함량은 Frings와 Dunn의 방법¹¹⁾을 이용하여 540 nm의 흡광도를 측정하였으며, 간 조직 및 백색지방에서의 중성지방 함량은 혈청과 같은 방법으로 측정하였다.

6) 혈청 내 GOT 및 GPT 분석

간 손상에서의 지표를 나타내는 GOT 및 GPT를 측정하기 위하여 아산제약의 지오티·지피티(GOT·GPT) 측정용시액을 이용하였다. GOT 측정용 기질액과 GPT 측정용 기질액 100 μl 를 37°C 에서 5분간 방치한 후 혈청 20 μl 과 각각 혼합하여 GOT는 37°C 에서 60분, GPT는 30분을 다시 방치하였다. 그 후 정색시액 100 μl 와 혼합

Table III. The Control group & Experimental Group

Group name	Experimental method	
ND	Normal diet-fed	Normal group
HFD	High fat diet-fed	Negative control group
HDYST 150	HFD+HDYST 150 mg/kg	Experimental group
HDYST 300	HFD+HDYST 300 mg/kg	Experimental group
Orlistat	HFD+orlistat 20 mg/kg	Positive control group

하고 실온에 20분 방치한 후 0.4 N NaOH용액 1ml을 섞어주고 실온에서 10분간 방치한 후 505 nm에서 흡광도를 측정하여 GOT 및 GPT의 양을 산출하였다.

7) 혈청 내 leptin 함량 측정

혈청 내 leptin 함량을 측정하고자 mouse leptin ELISA kit (ENZO)를 사용하였다. 혈청을 1 : 32의 비율로 assay buffer로 희석한 후에 plate의 각 well에 100 μ l씩 분주하여 1시간 동안 반응시킨 후에 wash buffer를 이용하여 plate를 3번 세척하였다. 세척 후에 남아 있는 잔여물은 완전히 털어내고, blank를 제외한 모든 well에 antibody를 100 μ l씩 분주하고 상온에서 다시 1시간동안 반응시켰다. Wash buffer를 이용하여 3번 세척한 뒤 blank를 제외하고 blue conjugate를 100 μ l를 첨가하고 상온에서 다시 30분 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 plate를 wash buffer로 3번 세척해주고 substrate 용액을 각 well에 100 μ l씩 분주 한 뒤, 30분 동안 방치시킨 후 stop solution을 100 μ l 넣고 microplate reader를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

8) 혈청 내 adiponectin 함량 측정

혈청 중의 adiponectin 함량을 측정하고자 HMW and total adiponectin ELISA kit (ALPCO)를 이용하였다. 먼저 혈청 10 μ l를 protease buffer 100 μ l와 sample pre-treatment Buffer와 강하게 혼합하였다. 혼합액 10 μ l를 dilution buffer 1ml에 첨가하여 시료를 준비하였다. 시료 50 μ l를 plate의 각 well에 분주 한 후, 1시간 동안 상온에서 반응시켰다. 반응이 끝난 후 wash buffer를 사용하여 3번 세척하고, biotin이 표지된 monoclonal Ab를 각 well에 50 μ l씩 분주하였다. 1시간 동안 상온에서 반응시킨 후, wash buffer로 3번 세척하고 50 μ l의 enzyme이 표지된 streptavidin을 각 well에 분주하고 30분 동안 상온에서 반응시켰다. Wash buffer로 3번 세척 한 후 substrate solution을 50 μ l씩 넣어주고, 빛을 차단한 상태로 10분 동안 방치하고 최종적으로 50 μ l의 stop solution을 분주 후, microplate reader (Zenyth 200rt, Anthos, Austria)를 사용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였다.

9) 전산화 단층촬영(micro-CT) 복부 지방 분석

실험이 종료된 후 실험동물의 전산화 단층 촬영(micro-computerized axial tomography, micro-CT)을 위하여 8 시간 동안 식이와 음수의 공급을 중단하고 마우스를 선정하여 졸레틸(zoletil) 2 mg/kg을 복강주사를 통하여 마취하였다. 마우스가 안정화 된 후 보정 장치에 고정하여 실험동물용 전산화 단층 촬영장치 Skyscan-1076 micro-CT scanner (Skyscan, Aartselaar, Belgium)을 이용하여 마우스의 복부를 촬영하였다. 18 μ m pixel size 와 48 kV/200 μ A의 조건에서 0.5 mm 의 알루미늄 필터를 이용하여 각 슬라이드당 0.46초의 시간동안 조사하였으며, 복부 촬영 후에 CTA 프로그램을 이용하여 threshold 값을 전체복부 255/50 지방은 60/50을 지정하여 부피를 계산하고 전체복부 중의 지방이 차지하는 비율을 산출하였다.

10) 간 조직에서 total RNA 추출

-80°C에 보관된 간조직을 trizol 용액 1 ml을 넣고 homogenizer를 사용하여 잘 분쇄하여 혼합하였다. 혼합된 total RNA 용액을 상온에 10분간 방치한 뒤, 200 μ l의 chloroform을 넣어주고 흔들어 준 후에 3분간 상온에 반응시켰다. 그 후 12,000 rpm, 4°C조건에서 원심분리하고, 중간막 하얀 막 윗부분에 형성된 투명한 상층액을 취하여 새 1.5 ml tube에 옮긴 후, 500 μ l의 isopropanol을 첨가해 RNA를 침전시켰다. 10분 동안 다시 상온에 방치한 후 12,000 rpm, 4°C, 10분간 원심 분리하여 pellet을 제외한 나머지 용액을 제거하였다. 75% ethanol로 pellet을 세척하고 공기 중에서 두어 에탄올을 제거하였다. 건조된 RNA pellet을 20 μ l의 DEPC-treated water에 녹인 뒤, 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 260 nm와 280 nm에서 흡광도를 측정하여 RNA양을 정량하였다.

11) Real time RT-PCR

간 조직으로부터 추출한 총 2 μ g의 total RNA로부터 cDNA를 합성하기 위해 super script III first synthesis system kit (Invitrogen, Grand Island, NY, USA)를 이용하였다. RNA 2 μ g을 Oligo (dT)₂₀ 및 dNTP와 1.5 ml tube에 넣고 65°C에서 5분 동안 반응시킨 후에 얼음에 1분간 방치하였다. 10x buffer와 MgCl₂, DTT, RNase 저해제 및 RTase가 혼합된 용액을 각 RNA mixture에 분주하

Table IV. Sequences and Product Size of Primers for Real-time PCR

Gene	Foward (5'-3')	Reverse(5'-3')	Product Size (bp)
SREBP-1c	CTTCTGGAGACATCGCAAAC	GGTAGACAACAGCCGCATC	278
SCD-1	TCGCCCTACGACAAGAACA	CCGGTCGTA AGCCAGGCCCA	190
FAS	GCGGTGTGAAAACGAACCTT	CTGTCTGGGCATAACGGTCT	119
PPAR- α	GCAGTGGGAAGAATCGGACCT	CAACCCGCCTTTTGTGCATAC	121
ACO	TCCAGACTTCCAACATGAGGA	CTGGGCGTAGGTGCCAATTA	286
CPT-1a	GATGTTCTTCGTCTGGCTTGA	CTTATCGTGGTGGTGGGTGT	126
GAPDH	CATGGCCTTCCGTGTTT	CCTGGTCTCAGTGTAGC	152

고, 50°C에서 50분간 반응하였다. 그 후 85°C의 water bath에서 5분 동안 반응시킨 후 cDNA 합성을 종결하였다. 마지막으로 1 μ l의 RNase H를 넣고 37°C에서 20분 동안 반응시켜 불필요한 RNA를 제거하였다. 합성된 cDNA로부터 지방산 합성 및 β -산화와 관련된 유전자의 발현을 확인하기 위해, 각 유전자 특이적인 primer를 제작하였다. SYBR green PCR master mix (Applied Biosystems, Warrington, UK) 및 ABI real-time PCR system from applied biosystem Inc (Forster City, CA)을 사용하여 real-time PCR을 수행하였다. PCR은 95°C에서 10분 동안 초기 변성을 한 후, 95°C에서 15초, 60°C에서 1분, 40 cycles 조건으로 PCR 하였으며, housekeeping gene인 GAPDH mRNA 발현량으로 표준화하였다. 본 실험에서 사용된 primer의 염기서열들은 Table IV에 나타내었다.

12) 통계분석

실험을 통해 얻은 모든 수치들은 Mean \pm S.D 값으로 표시하였으며, 통계분석을 위해 GraphPad Prism software (version 5.0)프로그램을 사용하였다. 대조군과 실험군의 차이를 검증하고자 t-test를 실시하였고, p-value는 0.05이하인 값을 기준으로 유의성을 판정하였다.

결과»»»»

1. 체중 증가량에 미치는 영향

고지방식이로 유도된 실험동물의 체중 증가에 대하여 加味寒多熱少湯이 미치는 영향을 알아보았다. 실험동물 그룹은 일반 식이를 섭취시키는 정상식이군(ND)과 고지방식이군(HFD) 및 고지방식이+加味寒多熱少湯 150

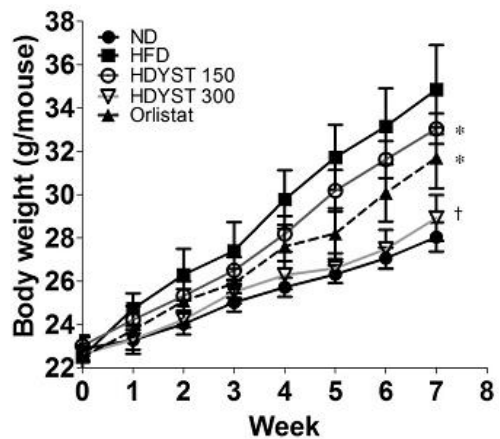


Fig. 1. Effect of HDYST on body weight gain in high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean \pm S.D (n=5 per group). *p<0.05, †p<0.01 compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

mg/kg 투여군(HDYST 150), 고지방식이+加味寒多熱少湯 300 mg/kg 투여군(HDYST 300)과 양성대조군인 고지방식이+Orlistat 20 mg/kg 투여군(Orlistat)으로 분리하였다. 7주간의 실험기간 동안 加味寒多熱少湯 추출물을 투여한 군 중 HDYST 150군에서는 고지방식이군과 비교하였을 때, 체중 증가량이 19% 감소하였고, HDYST 300군에서는 49% 감소하여 加味寒多熱少湯 추출물 농도 의존적으로 체중 증가량이 감소하였다. Orlistat군에서는 25%가 감소하여 유의하게 체중 증가를 억제하였으며(p<0.05), HDYST 300군은 Orlistat군보다 더 유의한(p<0.01) 체중 증가량 감소효과를 보였다(Fig. 1).

2. 식이섭취량 및 식이이용효율에 미치는 영향

加味寒多熱少湯이 고지방식이 유도 마우스의 식이섭취량 및 식이이용효율에 미치는 영향을 알아보았다. 식이섭취량은 고지방식이군과 비교하여 HDYST 150군이 16% ($p < 0.05$), HDYST 300군이 24% 감소하여($p < 0.01$) 농도의존적으로 유의하게 감소하였으며, Orlistat군에서는 12% 유의하게 감소하였다($p < 0.05$).

식이이용효율은 식이섭취량 대비 체중증가량을 나타낸 것으로 정상식이군에 비하여 고지방식이군에서 현저하게 증가하였다. 加味寒多熱少湯 투여군에서는 고지방식이군과

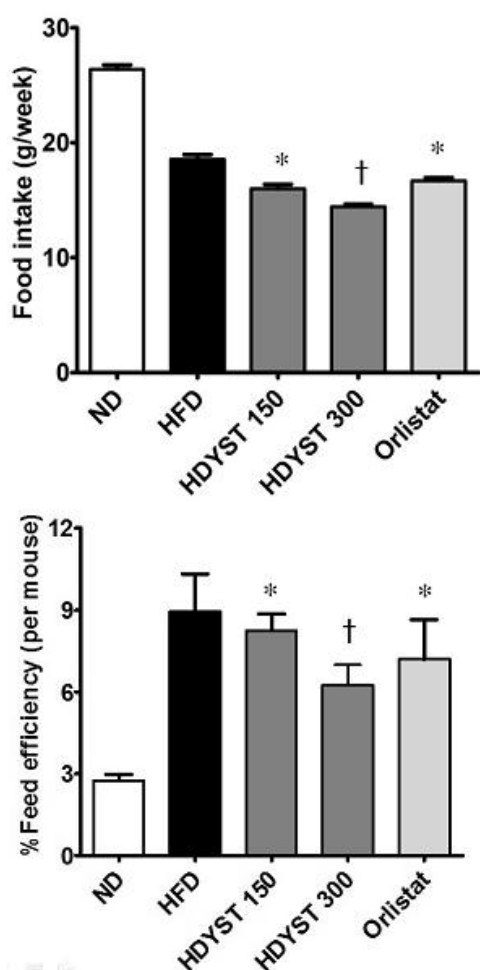


Fig. 2. Effect of HDYST on food intake and food efficiency in high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group).

* $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group.

ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

비교하여 식이이용효율이 HDYST 150군이 8% ($p < 0.05$), HDYST 300군이 30% 감소하여($p < 0.01$) 농도의존적으로 유의하게 감소하였고, Orlistat군은 20%의 감소를 나타내었다($p < 0.05$).

加味寒多熱少湯 추출물 투여군에서는 식이섭취량 및 식이이용효율을 감소시켰으며, 고농도로 투여한 HDYST 300군에서는 Orlistat군보다 더 효과적인 감소효과를 확인하였다(Fig. 2).

3. 간 조직의 무게에 미치는 영향

고지방식으로 유도된 비만 마우스에서 간 조직 무게에 加味寒多熱少湯(HDYST)이 미치는 영향을 분석하였다. 간 조직의 무게를 측정된 결과, 고지방식이군에서 정상식이군과 비교하였을 때 20% 증가된 1.154 ± 0.095 g을 나

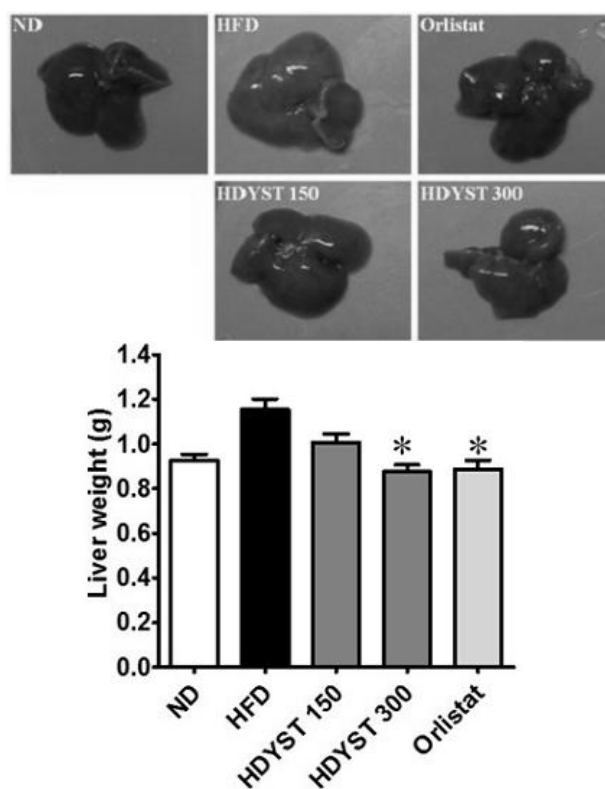


Fig. 3. Effect of HDYST on Liver weight in high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group).

* $p < 0.05$ compared with HFD group.

ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

타내 현저하게 증가하였다. 加味寒多熱少湯 투여군에서는 고지방식이군에 비해 HDYST 150군이 13% 감소한 수치인 1.005 ± 0.090 g을 나타내었다. HDYST 300군은 24% 감소한 0.875 ± 0.070 g을 나타내어 유의한 감소효과를 보여주어 23% 감소한 양성대조군과 비슷한 감소효과를 나타내었다($p < 0.05$) (Fig. 3).

4. 간 조직 내 총 지질(total lipid)에 미치는 영향

고지방식으로 야기된 간조직의 총 지질 변화에 대하여 加味寒多熱少湯(HDYST)의 효과를 알아보기 위해, 실험동물의 간 조직에서 지질을 추출하여 분석하였다. 고지방식이군의 간 조직 내 총 지질은 136.17 ± 6.48 mg/g으로 정상식이군의 57.77 ± 6.70 mg/g에 비하여 현저하게 증가하였다. 加味寒多熱少湯 추출물 투여군에서는 고지방식이군과 비교하여 HDYST 150군에서 25% 감소한 101.37 ± 10.05 mg/g을 나타내었고($p < 0.05$), HDYST 300군에서는 45% 감소한 75.33 mg/g으로 나타나 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). HDYST 300군은 Orlistat군의 간 조직 총 지질 함량 96.97 ± 8.11 mg/g 보다 더 유의한 감소효과를 나타내었다(Fig. 4).

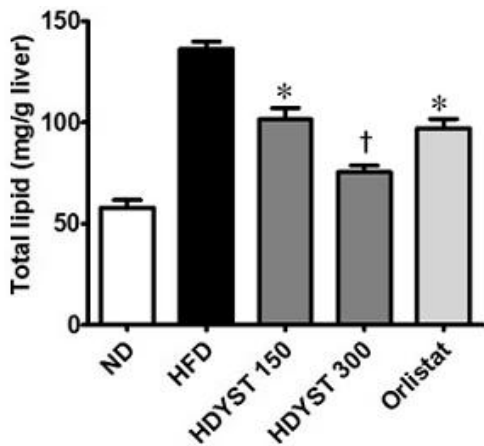


Fig. 4. Effect of HDYST on hepatic total lipid content in high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group).

* $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group.

ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

5. 간 조직 내 중성지방(triglyceride)에 미치는 영향

고지방식으로 인한 간조직의 중성지방(triglyceride)의 변화에 대하여 加味寒多熱少湯(HDYST)의 효과를 알아보기 위해, 실험동물의 간 조직에서 중성지방 함량을 분석하였다. 고지방식이군의 간 조직에서 중성지방의 함량은 65.10 ± 5.88 mg/g으로 정상식이군 25.17 ± 1.52 mg/g 과 비교하여 현저하게 증가하였다. 加味寒多熱少湯 투여군에서는 고지방식이군과 비교하여 HDYST 150군에서 24% 감소한 49.13 ± 3.53 mg/g을 나타내었고($p < 0.05$), HDYST 300군에서 47% 감소한 34.27 ± 3.96 mg/g을 나타내 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). HDYST 300군은 Orlistat군의 간 조직 중성지방 함량 40.70 ± 3.85 mg/g보다 더 유의적인 감소효과를 나타내었다(Fig. 5).

6. 백색지방 조직의 무게에 미치는 영향

고지방식으로 유도된 비만 마우스에서 백색지방 조직 무게에 加味寒多熱少湯(HDYST)이 미치는 영향을 분석하였다. 백색지방 조직의 무게를 측정된 결과, 정상식이군과 비교하여 75%가 증가한 1.919 ± 0.407 g을 나타내어 현저하게 무게가 증가하였다. 加味寒多熱少湯 투여군에서

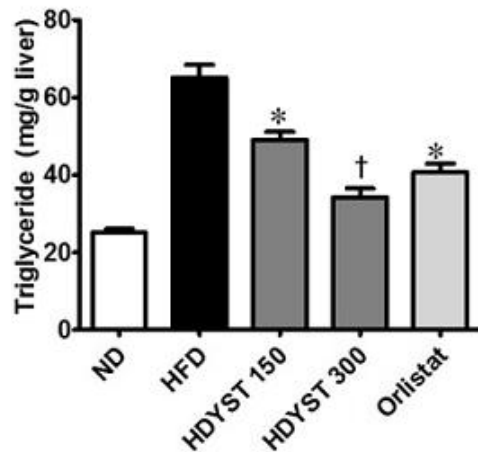


Fig. 5. Effect of HDYST on hepatic triglyceride content in liver of high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group).

* $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group.

ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

는 HDYST 150군은 고지방식이군에 비해 19%가 감소한 1.559 ± 0.227 g ($p < 0.05$), HDYST 300군은 45%가 감소한 1.056 ± 0.474 g을 나타내어 유의하게 加味寒多熱少湯 농도의존적으로 백색지방 조직의 무게가 감소하였다($p < 0.01$). HDYST 300군은 Orlistat군의 감소된 31%보다 더 현저하게 감소시킨 것으로 나타났다(Fig. 6).

7. 백색지방 내 중성지방(triglyceride) 함량에 미치는 영향

고지방식으로 인한 백색지방조직 내의 중성지방(triglyceride)의 변화에 대하여 加味寒多熱少湯(HDYST)의 효과를 알아보기 위해, 실험동물의 백색지방 조직에서 중성지방 함량을 분석하였다. 고지방식이군에서 백색지방 조직 내의 중성지방 함량은 250.63 ± 18.63 mg/g으로 정상식이군의 227.48 ± 10.93 mg/g과 비교해 유의적으로 증가하였다. 그러나 HDYST 150군 및 HDYST 300군에서 중성지방

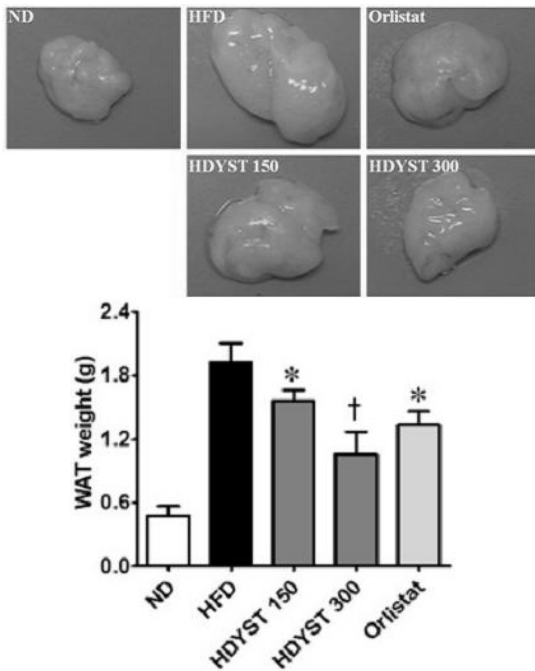


Fig. 6. Effect of HDYST on white adipose tissue (WAT) weight in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

함량은 각각 244.55 ± 18.46 mg/g, 238.80 ± 15.95 mg/g으로 수치는 감소하였으나, 통계적으로 유의하지 않았다. 또한 Orlistat군도 백색지방 조직 내의 중성지방 함량에 대하여 고지방식이군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 7).

8. 혈청 내 중성지방(triglyceride)에 미치는 영향

고지방식으로 인한 혈청 내 중성지방 함량 변화에 대하여 加味寒多熱少湯이 미치는 영향을 분석하였다. 실험

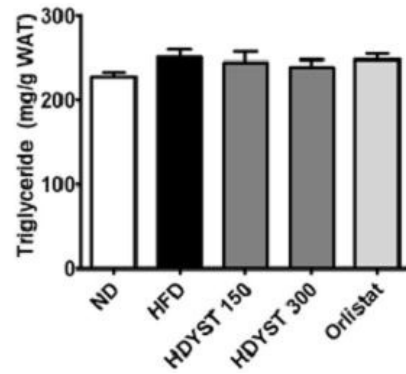


Fig. 7. Effect of HDYST on WAT triglyceride content in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

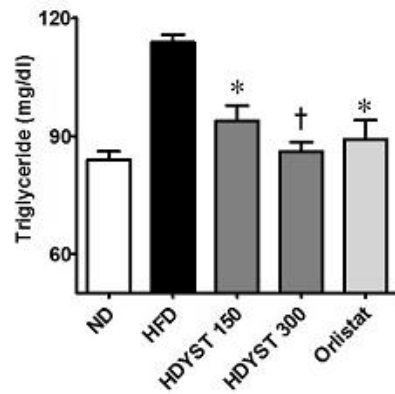


Fig. 8. Effect of HDYST on serum triglyceride levels in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

동물의 혈청에서 중성지방 함량을 분석한 결과, 고지방식이군에서는 정상식이군보다 26%가 증가된 113.83 ± 4.32 mg/dl로 나타나 현저하게 증가하였다. HDYST 150군에서는 고지방식이군과 비교하여 18%가 감소한 93.85 ± 8.88 mg/dl을 나타내었으며($p < 0.05$), HDYST 300군은 24%가 감소된 86.06 ± 5.46 mg/dl로 나타나 加味寒多熱少湯 농도의존적으로 혈청 내 중성지방이 정상식이군과 비슷한 수준으로 유의하게 감소되는 것을 확인하였다($p < 0.01$). 특히 HDYST 300군은 Orlistat군보다 더 현저한 억제효과를 나타내었다(Fig. 8).

9. 혈청 내 총 콜레스테롤(total-cholesterol)에 미치는 영향

고지방식으로 인한 혈청 내 총 콜레스테롤 함량 변화에 대하여 加味寒多熱少湯이 미치는 영향을 분석하였다. 고지방식이군의 혈청 내 총 콜레스테롤은 141.13 ± 13.21 mg/dl로 정상식이군의 90.57 ± 4.02 mg/dl보다 36%가 상승해 현저하게 증가되었다. 加味寒多熱少湯 투여군인 HDYST 150군은 고지방식이군과 유의한 차이가 없었으며, HDYST 300군에서 26%가 감소된 104.52 ± 17.60 mg/dl로 나타나 유의하게 감소되었다($p < 0.01$). Orlistat군은 16%가 감소한 118.06 ± 12.43 mg/dl로 측정되어 HDYST 300군이 더 유의한 억제효과를 나타내었다(Fig. 9).

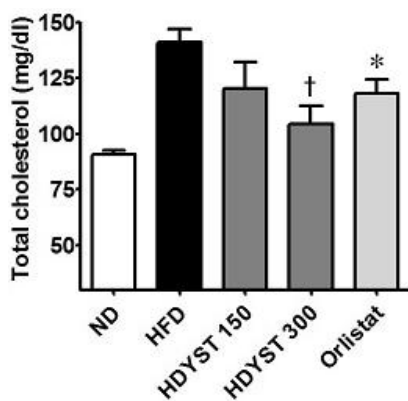


Fig. 9. Effect of HDYST on serum total cholesterol levels in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

10. 혈청 내 HDL-cholesterol에 미치는 영향

고지방식으로 인한 혈청 내 HDL 콜레스테롤 함량 변화에 대하여 加味寒多熱少湯이 미치는 영향을 분석하였다. 고지방식이군의 혈청 내 HDL 콜레스테롤 함량은 64.48 ± 2.22 mg/dl을 나타내어 정상식이군 71.04 ± 2.63 mg/dl 보다 10% 감소한 수치를 나타내었다. HDYST 150군은 67.43 ± 2.69 mg/dl로 고지방식이군과 비교하여 5%가 증가하였으며, HDYST 300군은 8% 증가된 70.22 ± 5.11 mg/dl로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). Orlistat군은 69.4 ± 3.19 mg/dl로 고지방식이군보다 7% 증가하여 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 이로써 加味寒多熱少湯이 고지방식으로 감소된 HDL 콜레스테롤에 대하여 유의한 상승효과가 있는 것으로 나타났다(Fig. 10).

11. 혈청 내 LDL-cholesterol에 미치는 영향

고지방식으로 인한 혈청 내 LDL 콜레스테롤 함량 변화에 대하여 加味寒多熱少湯이 미치는 영향을 분석하였다. 고지방식이군의 혈청 내 LDL 콜레스테롤은 53.89 ± 8.26 mg/dl로 정상식이군 7.37 ± 2.0 mg/dl과 비교하여 86%가 상승하여 현저하게 증가되었다. 加味寒多熱少湯 투여군에서는 고지방식이군과 비교하여 HDYST 150군에서 28%가 감소된 38.89 ± 7.69 mg/dl을 나타내었고($p < 0.05$), HDYST

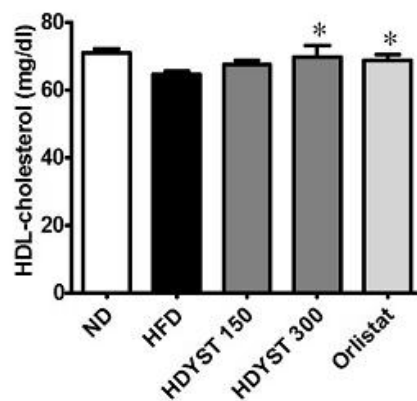


Fig. 10. Effect of HDYST on serum HDL-cholesterol levels in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

300군에서 71%가 감소된 15.69 ± 3.64 mg/dl을 나타내어($p < 0.01$) 加味寒多熱少湯 추출물 농도의존적으로 LDL 콜레스테롤 억제효과를 나타내었다. Orlistat군은 43%가 감소한 30.84 ± 8.45 mg/dl로 측정되어 HDYST 300군이 더 현저한 LDL 콜레스테롤 억제효과를 나타내었다(Fig. 11).

12. 혈청 내 leptin에 미치는 영향

고지방식으로 유도된 비만 마우스에서 加味寒多熱少湯이 혈청 내 leptin 수준에 미치는 영향을 분석하였다. 고지방식이군의 혈청에서 leptin 수준은 정상식이군의 혈청 내 leptin 함량 82.09 ± 6.26 pg/ml과 비교하여 41% 상승한 139.10 ± 19.83 pg/ml로 현저하게 증가하였다. HDYST 150군에서는 고지방식이군과 비교하여 17%가 감소한 115.30 ± 6.11 pg/ml를 나타내었고($p < 0.05$), HDYST 300군에서는 25% 감소된 103.82 ± 8.74 pg/ml를 나타내어($p < 0.01$) 加味寒多熱少湯 추출물 농도 의존적으로 유의하게 감소되었다. Orlistat군은 고지방식이군에 비해 16%가 감소한 117.29 ± 4.51 pg/ml로 HDYST 300군이 더 유의한 감소효과를 나타내었다(Fig. 12).

13. 혈청 내 adiponectin에 미치는 영향

고지방식으로 유도된 비만 마우스에서 加味寒多熱少湯이 혈청 내 adiponectin 수준에 미치는 영향을 분석하였

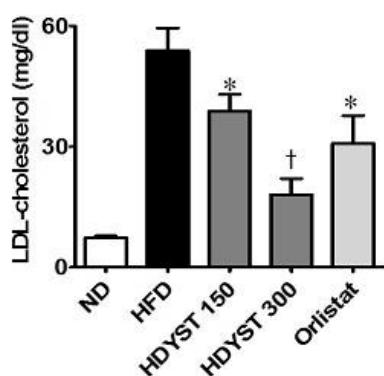


Fig. 11. Effect of HDYST on serum LDL-cholesterol levels in high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean \pm S.D (n=5 per group).

* $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group.

ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

다. 고지방식이군의 혈청에서 adiponectin의 수준은 정상식이군 95.05 ± 5.60 μ g/ml과 비교하여 40% 감소된 68.08 ± 3.69 μ g/ml로 나타나 현저하게 감소되었다. HDYST 150군에서는 고지방식이군과 비교하여 22% 상승한 82.92 ± 15.75 μ g/ml을 나타내었고($p < 0.05$), HDYST 300군에서는 39% 상승하여 94.86 ± 10.52 μ g/ml을 나타내($p < 0.01$) 加味寒多熱少湯 추출물 농도의존적으로 혈청 내 adiponectin 함량이 증가하였다. Orlistat군은 25% 증가된 85.04 ± 4.33 μ g/ml로 나타나($p < 0.05$) HDYST 300군이 더 현저한

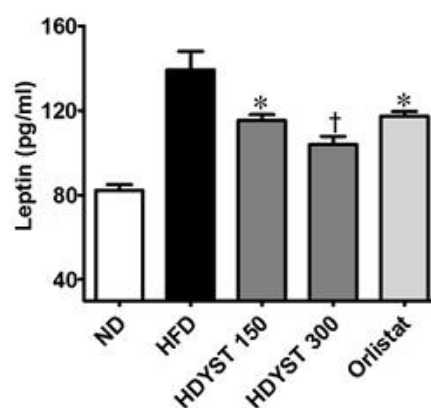


Fig. 12. Effect of HDYST on serum leptin levels in high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean \pm S.D (n=5 per group).

* $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group.

ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

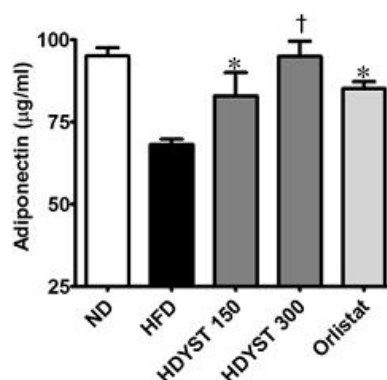


Fig. 13. Effect of HDYST on serum adiponectin levels in high fat diet-fed mice.

Data are presented as Mean \pm S.D (n=5 per group).

* $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group.

ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

adiponectin 상승 효과를 나타내었다(Fig. 13).

14. 혈청 내 GOT 및 GPT에 미치는 영향

고지방식이로 유도되는 간손상에 대하여 加味寒多熱少湯이 미치는 영향을 알아보기로 혈청 내 GOT와 GPT 수치를 분석하였다. 고지방식이군의 혈청에서 GOT는 정상식이군 20.77 ± 1.11 IU/L와 비교하여 51% 증가된 42.64 ± 3.06 IU/L로 나타나 현저하게 증가하였다. HDYST 150 및 300군이 고지방식이군과 비교하여 각각 24, 35% 감소하여 32.23 ± 3.40 IU/L, 27.87 ± 2.92 IU/L로 加味寒多熱少

湯 추출물 농도의존적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$, $p < 0.01$).

또한 고지방식이군의 혈청에서 GPT는 25% 증가된 26.80 ± 1.31 IU/L로 정상식이군 20.01 ± 2.53 IU/L와 비교하여 현저하게 증가하였다. 加味寒多熱少湯 투여군은 고지방식이군과 비교하여 HDYST 150군은 7% 감소한 24.91 ± 1.09 IU/L를 나타내었고 HDYST 300군은 18% 감소한 21.94 ± 1.52 IU/L로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). 또한 Orlistat군도 고지방식이로 인한 GOT 및 GPT의 상승을 유의하게 억제하였다($p < 0.05$) (Fig. 14).

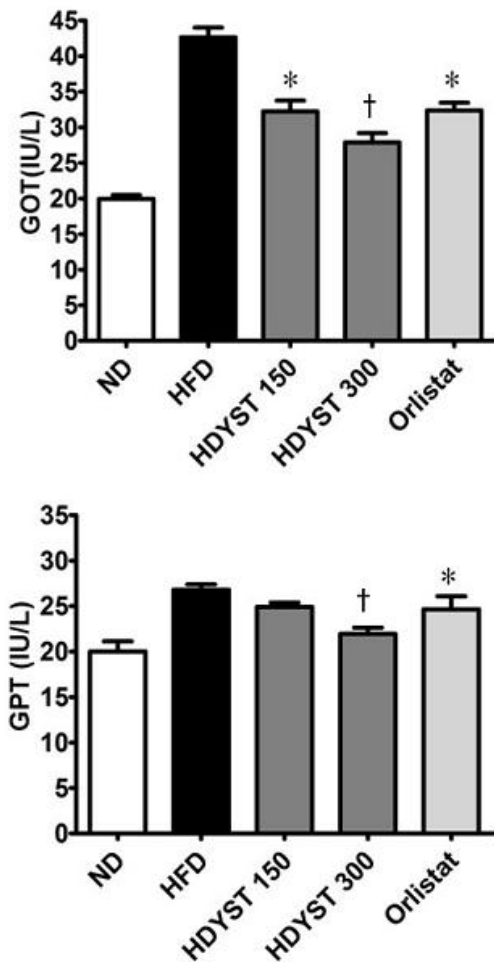


Fig. 14. Effect of HDYST on serum GOT and GPT levels in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

15. 복부지방 축적에 미치는 영향

고지방식이로 인한 실험동물의 복부 지방 축적에 대하여 加味寒多熱少湯의 영향을 알아보기로 전산화 단층촬영(micro-CT)하였다. 정상식이군과 비교하여 고지방식이

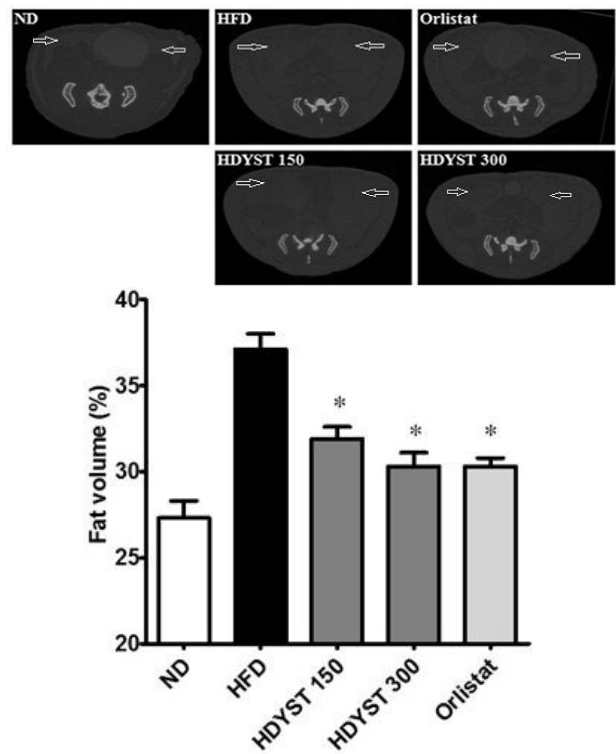


Fig. 15. Effect of HDYST on fat mass in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

군의 복부 지방 부피는 약 10% 증가하여 현저하게 지방의 축적이 증가하였다. HDYST 150 및 300군에서는 각각 5, 7% 감소하여 유의하게 실험동물의 복부지방 축적을 감소시켰다($p < 0.05$) (Fig. 15).

16. 간 조직 내 지방산 합성 관련 유전자의 발현에 미치는 영향

고지방식으로 인한 간 조직내의 지방산 합성 관련 유전자 발현 변화에 대하여 加味寒多熱少湯의 효과를 알아보았다. 고지방식이군의 간 조직 내에서 정상식이군의 간

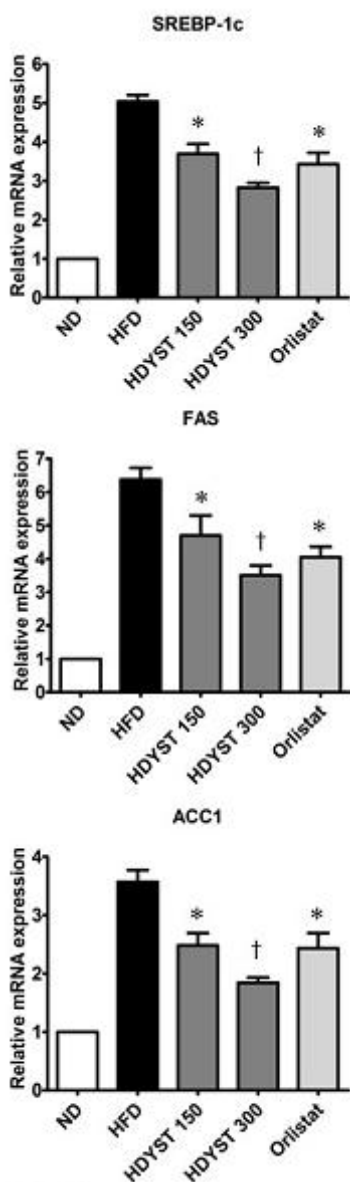


Fig. 16. Effect of HDYST on hepatic mRNA expression of lipogenesis-related genes in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

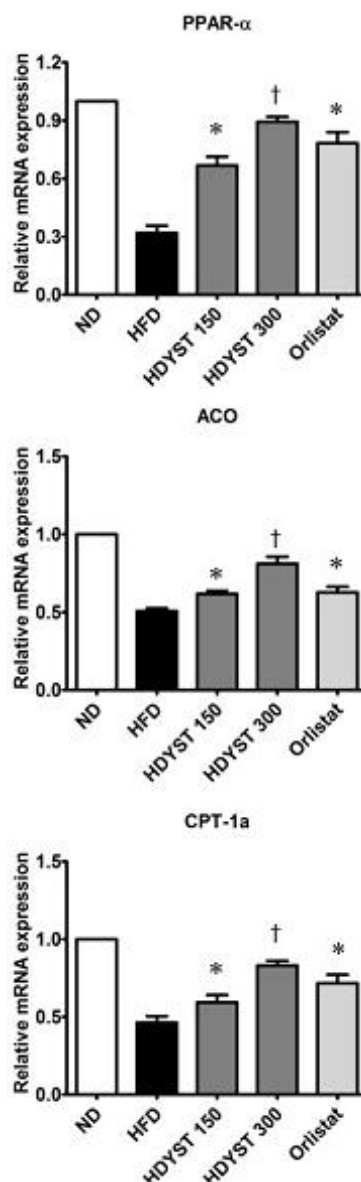


Fig. 17. Effect of HDYST on hepatic mRNA expression of fatty acid oxidation-related genes in high fat diet-fed mice. Data are presented as Mean±S.D (n=5 per group). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$ compared with HFD group. ND: Normal Diet-fed group, HFD: High Fat Diet-fed control group, HDYST 150: HFD+HDYST 150, HDYST 300: HFD+HDYST 300, Orlistat: HFD+orlistat.

조직에 비하여 SREBP-1c, FAS, ACC1의 mRNA 발현이 현저하게 증가하였다. 加味寒多熱少湯 추출물 투여군에서 SREBP-1c의 mRNA 발현은 HDYST 150 및 300군이 고지방식이군과 비교하여 각각 31, 48% 감소하였으며, FAS는 26, 45%, ACC1은 27, 44% 감소하여 농도의존적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$, $p < 0.01$) (Fig. 16).

17. 간 조직 내 지방산 산화 관련 유전자의 발현에 미치는 영향

고지방식으로 인한 간 조직내의 지방산 산화 관련 유전자 발현 변화에 대하여 加味寒多熱少湯의 효과를 알아보았다. 고지방식이군의 간 조직 내에서 정상식이군의 간 조직에 비하여 PPAR- α , ACO, CPT-1a의 mRNA 발현이 현저하게 감소되었다. 加味寒多熱少湯 추출물 투여군에서는 HDYST 150 및 300군이 고지방식이군과 비교하여 PPAR- α 는 각각 35, 57% 증가하였으며, ACO는 21, 59%, CPT-1a는 29, 80% 증가하여 농도의존적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, $p < 0.01$) (Fig. 17).

고찰»»»»

2013년도 국민건강영양조사에 따르면 성인남성이 37.6% 성인여성 25.1%로, 2009년 이래로 전체 인구의 비만유병율이 31~32%의 수준을 유지하고 있어 국내에서도 비만이 사회적인 문제로 대두되고 있다¹²⁾. 비만인 경우 비만으로 인해 추가로 부담하는 관련 의료비가 약 9.5~11.9%를 차지하고 있으며, 건강손실과 의료비용 지출의 주요 요인으로 부각되었던 흡연, 빈곤, 음주보다도 이제는 비만이 더 많은 의료비용을 지불하도록 하는 것으로 밝혀지고 있어, 우리나라에서도 국가 차원에서 비만을 예방하고 관리하기 위한 체계적인 노력이 필요한 시점이다^{13,14)}.

일반적으로 과체중, 비만 환자들은 최대한 신체활동을 높이고 칼로리 섭취를 줄이는 것을 권장하지만 이상적인 체중에 도달하기에는 비만환자들의 행동을 변화시키기는 어려워서 약물요법이 필요하게 되었다^{15,16)}. 하지만 약물요법은 상당히 많은 사람들에게 장기간 투여되기 때문에, 흔한 부작용 뿐만 아니라 드물게 일어나는 심각한 부작용도 간과해서는 안된다. 우리나라에서 장기간 사용이 가능

한 비만 치료제에는 orlistat과 lorcaserine이 있다. 하지만 orlistat는 간 손상, 급성신증, 췌장염, lorcaserine은 심장 판막증을 유발할 가능성이 있으므로, 사용 시 주의를 기울여야 한다¹⁷⁾. 따라서 이러한 약물요법의 한계로 비만을 관리하고 치료하는데 새로운 방법이 필요하게 되었고¹⁸⁻²⁰⁾, 비만을 관리하는 방법으로 전인적 치료로서 환자의 전신 균형을 조절하면서 보다 안전하고 효율적인 한의학적 치료법이 쓰이게 되었다²¹⁻²³⁾.

사상의학에서 太陰人은 가장 체격이 크고 肌肉이 풍부하며, 肝大肺小한 성질로 吸聚之氣가 크고 呼散之氣가 부족하여 쉽게 비만해질 수 있고, 실제로 비만과 관계있는 체지방량, 체지방률, 복부지방률, BMI 등의 항목에서 사상체질 중 太陰人이 가장 유의성 있게 높게 나타나 太陰人이 비만체형과 가장 상관성이 있다고 보고되고 있다²⁴⁾. 太陰人의 氣液代謝의 불균형은 胃脘에 氣液 陽溫之氣의 呼함이 부족하며, 小腸의 氣液 陰涼之氣의 吸함은 성하기 마련이다. 胃脘受寒表寒病은 太陰人이 肺小한 특징을 지니므로 그의 脾胃의 상승하는 힘이 부족하고 肺의 呼散之氣가 부족하여 表出하는 기운이 적으므로 생기는 병증이다. 그 중 長感病으로 대표되는 寒厥證은 太陰人이 노심초사한 끝에 胃脘이 쇠약해지고 그에 따라 表局이 虛薄해져서 寒氣를 이기지 못하고 마침내 寒邪가 신체의 외면을 둘러 막아버린 형국의 병증으로 重症에 해당하는 것으로⁶⁾, 과체중 및 비만인 太陰人 환자군은 체질간 素症비교를 통해서 살펴보면 太陰人에 있어 식욕의 증가가 가장 뚜렷하게 나타나며, 손발이 따뜻하거나 뜨거워지는 厥證 증상, 땀의 증가를 발견할 수 있다²⁵⁾. 이러한 素症들로 보아 ‘寒包熱’이라는 병리기전에 따라 비만을 유발하는 冷積의 형성과, 正氣와 邪氣가 대치되는 상황에서 생성된 痰飲 및 汗出로 보는 寒厥의 진행양상은 太陰人의 비만 병리와 유사하다고 추측하여 太陰人 寒厥證에 쓰이는 寒多熱少湯을 본 연구에 사용하게 되었다.

加味寒多熱少湯을 구성하는 약제의 항비만 효과의 연구로는 薏苡仁이 섭취행동과 신경내분비계 활동의 조절과²⁶⁾, PPAR γ 2, C/EBP α 의 활성을 저해하여 항비만 효과가 있다는 보고가 있었고²⁷⁾, 蘿藦子는 TNF- α 유전자 발현, Adipose tissue macrophage 비율을 유의하게 감소시켜 비만유도 동물 모델의 지질 및 당대사에 영향을 미쳤다는 보고가 있으며⁸⁾, 麥門冬은 탄수화물 소화와 glucose의 장관흡수 억제와 췌장의 섬세포(islets cell) 보호

를 통해 항당뇨 효과를 보고가 있었고²⁹⁾, 桔梗은 C2C12 골격근 세포에서 AMPK를 활성화시키고 3T3-L1 지방세포 분화 실험에서 지방 합성을 억제하여 항비만효과를 나타냈다는 보고가 있었고³⁰⁾, 黃芩은 insulin 민감도와 AMPK의 활성을 개선하여 db/db mice의 체중, 고지질혈증, 인슐린 저항도를 개선했다는 보고가 있으며³¹⁾, 杏仁과 乾栗은 아직까지 항비만효과, 대사증후군과 관련된 연구는 보고되지 않았으며, 배방으로 처방한 麻黃은 in vitro, 동물 실험, RCT 연구가 모두 이루어진 약물로, PPAR γ mRNA를 가장 많이 억제시키는 것으로 연구되었으며, 골격근 내에서 지방산 산화와 관련된 PPAR α , fatty acid binding protein c의 유전자발현을 증가시키는 것으로 나타나 지방산 산화를 증가시켜 골격근 내 지방산 산화 증가를 통한 인슐린 감수성 증가에 영향을 줄 것으로 예상되며, 마황의 주성분인 ephedrine은 α -, β 1-, β 2-agonism에 의해서 교감신경을 자극하여서 열발생 효과를 내는 것으로 알려졌다³²⁾. 단일약제로써 이와 같은 항비만효과를 지닌 寒多熱少湯은 복합제제로써의 항비만 효과에 in vitro 연구는 아직 밝혀지지 않았으며, in vivo 연구로는 김 등⁹⁾의 肥滿誘導白鼠의 체중 및 체질대사에 미치는 영향을 조사하였지만 유의성 있는 감소를 보인 것은 혈청 내 total cholesterol과 triglyceride 함량에서만 보였고, 체중 및 total lipid와 free fatty acid에서는 유의적인 효과를 보여주지 못하였다. 이에 저지는 寒多熱少湯에 麻黃을 배방한 加味寒多熱少湯을 본 실험에 이용하였다.

따라서 본 연구에서는 加味寒多熱少湯이 비만증의 예방 및 치료를 위한 약제로써 유용성을 조사하고자 고지방 식이로 유도된 비만 마우스 동물 모델에서 7주간 매일 일정량을 투여하고 비만관련 지표에 해당하는 체중, 식이이용효율, 복부 체지방률, 체내 지질함량, leptin, adiponectin 호르몬의 수치 및 지방산 합성 및 산화 관련 유전자의 발현에 대하여 분석하였다.

사람 뿐 아니라 동물에 있어서도 지방 섭취는 비만의 위험성을 높이는 중요한 요인이며, 실험동물에게 비만을 유도하기 위한 식이 중의 지방의 함량은 반 정제된 40%의 동물 지방을 함유하는 식이가 효과적이라는 연구결과가 보고되었다³³⁾. 본 실험에서도 45%의 지방을 함유한 고지방식을 실험동물에 제공한바 현저하게 체중 및 체지방량이 증가하였다. 이와 같이 설계된 비만 마우스 유도 실험조건에서 加味寒多熱少湯을 투여할 경우 고지방

식이 대조군과 비교해서 加味寒多熱少湯 투여군에서 농도의존적으로 유의하게 체중 증가량이 감소되는 것을 확인하였다(Fig. 1). 또한 식이섭취량 및 식이이용효율을 분석하였을 때(Fig. 2), 加味寒多熱少湯 투여군에서 식이섭취량과 식이이용효율이 감소되었으며, 특히 HDYST 300군에서 Orlistat군보다 더 유의한 감소효과를 나타내었다 ($p < 0.01$).

비만과 같은 대사성질환의 경우 혈중 중성지방, 총콜레스테롤 및 저밀도 지질단백질(low density lipoprotein, LDL)-콜레스테롤 농도가 증가하는 반면 고밀도 지질단백질(high density lipoprotein, HDL)-콜레스테롤 혈중농도는 감소하는 경향을 보이게 되며³⁴⁾, 본 실험에서 비만으로 유도되는 이러한 혈중 지질 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 加味寒多熱少湯을 투여한 결과 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 혈청 내 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL의 혈청 내 함량이 현저하게 증가되었으며, HDL의 농도는 감소하였다(Fig. 8~11). 加味寒多熱少湯 투여군에서는 고지방식으로 인한 혈청 내 중성지방, LDL 농도의 증가를 농도의존적으로 유의하게 감소시켰다. 혈청 내 총 콜레스테롤은 HDYST 300군에서만 유의하게 감소하였으며($p < 0.01$), HDL의 농도도 고농도 투여군에서 유의하게 상승시켜 加味寒多熱少湯이 혈액 내 지질 수준을 개선시키는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

고지방식으로 인해 간에 지질이 침착되면 간의 무게가 증가하고 비대해지며³⁵⁾, 간 손상으로 인해 아미노기 전이 효소(amino transferase)인 GOT와 GPT의 혈청 내 수준이 상승한다고 알려져 있다³⁶⁾. 본 실험 결과에서 고지방식이군의 간무게 및 GOT, GPT의 혈청 내 수준이 정상식이군에 비하여 현저히 증가되었고, 간 조직 내 총 지질 및 중성지방의 함량도 증가되었다(Fig. 3, 14). 加味寒多熱少湯 추출물 투여군에서는 고지방식이군과 비교해 HDYST 300군에서 간 무게가 유의하게 감소하였고($p < 0.05$), 혈청 내 GOT, GPT 수준이 감소되었다($p < 0.05$). 간 조직 총 지질 및 중성지방 함량도 加味寒多熱少湯 추출물 농도의존적으로 감소된 결과를 보여주어 加味寒多熱少湯이 간조직 내에서 지질 축적을 억제해 간기능 손상을 방지하는 것으로 생각된다.

백색지방은 주로 에너지 저장을 위해 생성되며, 특히 복강 내의 백색지방의 양이 증가함으로써 비만 관련 질환인 지방간과 인슐린 저항성의 위험성이 증가된다고 알려

저 있다³⁷⁻³⁹). 7주간의 고지방식이로 비만이 유도된 고지방식이군의 백색지방 조직을 실험이 종료된 후 채취하여 무게를 측정된 결과, 정상식이군보다 크기 및 무게가 현저히 증가하였다(Fig. 6). 또한 실험동물용 전산화 단층촬영(micro-CT)를 분석하였을 때, 복부에 존재하는 체지방의 부피가 정상식이군과 비교해 고지방식이군에서 월등히 증가하였다(Fig. 15). 加味寒多熱少湯 투여군에서는 백색지방의 무게 및 크기가 고지방식이군과 비교하여 농도의존적으로 유의하게 감소하였으며, 전산화 단층 촬영을 통하여 복부의 체지방 부피를 측정하였을 때도 유의하게 복부 지방이 감소해 加味寒多熱少湯이 백색지방 감소 및 체지방 축적 억제효과가 있음을 확인하였다.

아디포넥틴(adiponectin)은 지방세포에서 분비되는 아디포카인(adipokine)의 일종이며, 혈중 adiponectin의 농도는 체질량지수와 음의 상관관계를 갖고, 비만 및 제2형 당뇨병의 질환에서 감소한다고 알려져 있다^{40,41}). 반면 ob 유전자에서 전사되어지는 leptin은 지방세포에서 분비되는 호르몬으로써 식욕을 조절하여 식이섭취를 억제하는 역할을 통하여 체지방량과 직접적인 관계가 있으므로 adiponectin과는 반대로 비만환경에서 leptin의 농도가 증가된다고 알려져 있다⁴²⁻⁴⁴). 본 실험에서도 실험동물에게 고지방식이를 투여한 실험군에서 혈청 내 adiponectin의 농도는 감소하고, leptin의 농도는 현저히 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 12, 13). 반면에 비만 마우스에게 加味寒多熱少湯을 투여한 실험군에서는 농도의존적으로 비만으로 야기된 혈중 adiponectin 농도저하를 유의하게 증가시켰으며, 증가된 leptin농도는 유의하게 감소시키는 효과를 나타내었다. 인체에서 adiponectin에 대한 작용기전은 정확히 규명되지 않았지만, leptin의 경우 농도가 높아질수록 leptin의 저항성은 증가되고 신체는 비만해지며, leptin의 농도가 낮을수록 지방세포의 지질저장을 저하시키는 효과가 밝혀지면서 치료제 표적으로서 많은 관심을 끌고 있다⁴⁵). 이와 같이 加味寒多熱少湯역시 비만으로 인한 혈중 adiponectin 및 leptin 농도를 개선함으로써 항비만작용을 나타낸다고 판단된다.

지질합성에 있어 주요 전사인자로 Sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) 및 Fatty acid synthase (FAS), Acetyl-CoA carboxylase1 (ACC1)의 과발현은 비만증 및 만성적인 지방간의 발달과 연관되어있다⁴⁶). 본 실험에서 지방산 합성 관련 유전자들 SREBP-1c, FAS,

ACC1의 발현양상을 간 조직에서 분석하였다. 이들 유전자 발현정도는 정상식이군과 비교하여 고지방식이군에서 현저하게 증가하였고, 加味寒多熱少湯 투여군에서는 농도의존적으로 지방산 합성 관련 유전자들의 발현 수준이 감소하는 경향을 보였다(Fig. 16). 이 결과는 加味寒多熱少湯이 간 조직에서 지방산 합성 억제 유전자를 저해함으로써 비만억제 효과가 있음을 나타내었다.

지방산 합성에 작용하는 유전자들의 발현외에 지방산 산화에 관련된 유전자들의 변화에 대해서도 분석하였다. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)은 발현되는 조직 및 부위에 따라서 α , γ , δ 의 세가지 isoform으로 분류된다. 그 중에서 PPAR- α 는 주로 간에 많이 분포되어 있으며, 핵수용체로써 활성화되면 미토콘드리아 내로 지방산의 흡수를 도우며, 지방산 산화에 필요한 핵 내 유전자 발현을 증가시킨다⁴⁷). ACO는 포옥시좀의 지방산 β -산화의 첫 단계 효소이고, CPT-1은 장내 지방산을 미토콘드리아 내부로 유입시키는 속도 제한단계 효소에 해당하며, isoform 중에서 간에서는 CPT-1a가 발현한다⁴⁸).

본 연구 결과에서 고지방식이군의 간조직에서 정상식이군과 비교하여 PPAR- α , ACO, CPT-1a와 같은 지방산 산화에 관여하는 유전자들의 발현이 저해되었으며, 加味寒多熱少湯의 투여군에서 이들 유전자의 발현이 농도의존적으로 증가되었다(Fig. 17). 이 결과는 加味寒多熱少湯이 간 조직 내 지방산 산화를 촉진시키는 효과를 통하여 체지방증가를 억제하는 것으로 사료된다.

결과를 종합하면, 加味寒多熱少湯 추출물을 투여한 고지방식이 마우스에서 비만관련 지표들을 분석한 결과, 고지방식이군에서 증가된 체중증가량, 식이섭취량, 식이이용효율을 감소시켰으며, 체지방 축적을 효과적으로 억제하였다. 간 조직 무게, 간 조직 내 지질 및 간 손상 지표인 GOT 및 GPT의 수준도 감소시켰으며, 혈중 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤을 감소시키고, HDL 콜레스테롤을 증가시켜 혈중 지질농도를 개선하였다. leptin 감소 및 adiponectin 증가를 유도하여 비만 관련 호르몬을 조절하였으며, 간 조직 내 지방산 합성 관련 유전자인 SREBP-1c, FAS, ACC1의 발현을 증가시키고, 지방산 산화 관련 유전자 PPAR- α , ACO, CPT-1a를 촉진시키는 효과를 나타내었다. 따라서 加味寒多熱少湯은 체지방 축적을 억제하여 비만을 예방 및 개선하는데 활용 가치가 높다고 생각되며, 비만 외에도 비만으로 인한 지방간과 고지혈증

및 동맥경화와 같은 심혈관질환에도 응용할 수 있으며, 향후 지속적인 임상연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론»»»»

加味寒多熱少湯의 비만, 지방간증 및 고지혈증 억제효과를 실험적으로 입증하기 위하여 고지방식이로 유도한 비만 마우스에서 비만관련 지표에 해당하는 체중, 식이이용효율, 복부 체지방률, 체내 지질함량, leptin, adiponectin 호르몬의 수치 및 지방산 합성 및 산화 관련 유전자의 발현에 대하여 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 加味寒多熱少湯은 고지방식이로 인한 체중의 증가를 유의하게 억제하였다.
2. 加味寒多熱少湯은 식이섭취량과 식이이용효율을 모두 유의하게 감소시켰다.
3. 加味寒多熱少湯은 고지방식이로 인한 간조직의 무게 증가와 간조직 내의 총 지질 및 중성지방 축적을 유의하게 억제하였다.
4. 加味寒多熱少湯은 고지방식이로 인한 백색지방의 축적은 현저히 억제하였으나 조직 무게당 중성지방의 함량에는 고지방식이군과 유의한 차이가 없었다.
5. 加味寒多熱少湯은 고지방식이로 증가된 실험동물의 혈청 내 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 leptin의 수준을 유의하게 감소시켰다.
6. 加味寒多熱少湯은 고지방식이로 감소된 혈청 내 HDL 콜레스테롤 및 adiponectin의 함량을 유의하게 증가시켰다.
7. 加味寒多熱少湯은 고지방식이로 인하여 증가된 혈청 내 GOT, GPT의 수치 증가를 유의하게 억제하였다.
8. 加味寒多熱少湯은 전산화단층 촬영 분석 결과, 고지방식이로 인한 복부의 체지방 축적을 유의하게 억제하였다.
9. 加味寒多熱少湯은 간 조직에서 비만으로 인해 증가된 지방산 합성관련 유전자 SREBP-1c, FAS, ACC1의 발현을 유의하게 감소시키고, 감소된 지방산 산화관련 유전자 PPAR- α , ACO, CPT-1a의 발현을 유의하게 증가시켰다.

이로써 加味寒多熱少湯은 비만을 비롯한 고지혈증, 지방간과 같은 비만 관련 질환의 예방과 치유에 대하여 효과적인 처방으로 사용될 수 있으며 향후 지속적인 임상연구가 필요할 것으로 사료된다.

References»»»»

1. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11(8):327-32.
2. Bray GA, Tartaglia LA. Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature.* 2000;404(6778):672-7.
3. Hwang MJ, Shin HD, Song MY. Review of literature on herbal medicines for the treatment of obesity in Korea : mainly papers since 2000. *J Korean Med Rehab.* 2006; 16(3):65-81.
4. Hwang MJ, Shin HD, Song MY. Literature Review of Herbal Medicines on Treatment of Obesity Since 2000 - Mainly about *Ephedra Herba*. *J Korean Med Res.* 2007;7(1):39-54.
5. Lee YJ, Lee MJ. The efficiency of Ephedrae herba on the obese zucker rats' lipid of blood serum and fatty acid metabolism of skeletal muscles. *J Oriental Rehab Med.* 2005;15(3):99-111.
6. Song YB. *Gejeongjungbo Sasangeuihak*. Seoul:Jipmoondang. 2008:201, 421, 705-8.
7. Kim JW, Shin SW, Lee YS, Lee GH, Park JH. Anti-Allergic Effect of *Handayeolso-Tang*. *Korean J Oriental Physiology & Pathology.* 2008;22(4):307-14.
8. Park SS. An Experimental Studies on the Efficacy of *Taeumin Handayolsotang and Gamihandayolsoti*. *J Const Med.* 1992;4(1):231-40.
9. Kim JJ, Lim HH. Effects of *Hadayulso-tang* for *Taeum-in* on the Body Weigth and Lipid Metabolism of Induced Obesity Rats. *J Korean Med Res.* 2002;2(1):95-104.
10. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957;226(1): 497-509.
11. Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phosphovanillin reaction. *Am J Clin Pathol.* 1970;53(1): 89-91.
12. Yang BG. 2013 Health behaviour and chronic disease stats. Korea Centers for Disease Control and Prevention. 2014;12:22-3.
13. Yoon NH, Kwon SM. Impact of Obesity on Health Care Utilization and Expenditure. *The Korean Journal of Health Economics and Policy.* 2013;19(2):61-80.
14. Moriarty JP, Branda ME, Olsen KD, Shah ND, Borah BJ, Wagie AE, Egginton JS, Naessens JM. The effects of incremental costs of smoking and obesity on health care costs among adults: a 7-year longitudinal study. *J Occup Environ Med.* 2012;54(3):286-91.
15. Lefèbvre PJ, Scheen AJ. Obesity: Causes and new treatments. *Exp. Clin. Endocrinol Diabetes.* 2001;109(Suppl 2):S215-S224.
16. Lee M, Aronne LJ. Weight management for type 2 diabetes mellitus: global cardiovascular risk reduction. *Am J Cardiol.* 2007;99(4A):68B-79B.

17. Kim KK. Safety of Anti-Obesity Drugs Approved for Long-Term Use. *Korean J Obes*. 2015;24(1):17-27.
18. Cufman GD, Morrissey S, Drazen JM. Sibutramine — another flawed diet pill. *N Engl J Med*. 2010;363(10):972-4.
19. Gong M, Wang X, Mao Z, Shao Q, Xiang X, Xu B. Effect of electroacupuncture on leptin resistance in rats with diet-induced obesity. *Am J Chin Med*. 2012;40(3):511-20.
20. Hsieh CH, Su TJ, Fang YW, Chou PH, Chou. Efficacy of two different materials used in auricular acupressure on weight reduction and abdominal obesity. *Am J Chin Med*. 2012;40(4):713-20.
21. Ohnishi R, Matsui-Yuasa I, Deguchi Y, Yaku K, Tabuchi M, Munakata H, Akahoshi Y, Kojima-Yuasa A. 1-acetoxychavicol acetate inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and in high fat-fed rats. *Am J Chin Med*. 2012;40(6):1189-204.
22. Wang Q, Li WH, Zhou QH, Tang XD, Zhang XX, Shu S. Weight reduction effects of acupuncture for obese women with or without perimenopausal syndrome: A pilot observational study. *Am J Chin Med*. 2012;40(6):1157-66.
23. Zhou Q, Chang B, Chen XY, Zhou SP, Zhen Z, Zhang LL, Sun X, Zhou Y, Xie WQ, Liu HF, Xu Y, Kong Y, Zhou LB, Lian FM, Tong XL. Chinese Herbal Medicine for Obesity: A Randomized, Double-Blinded, Multicenter, Prospective Trial. *Am J Chin Med*. 2014;42(6):1345-56.
24. Moon SH, Sin SH, Kim HJ, Kim JY. A relationship of the obesity and body composition analysis by Sasang constitution. *J Oriental Rehab Med*. 2002;12(4):1-10.
25. Shin SW, Lee Jh. Study on the Characteristics of Ordinary Symptoms in Overweight, and Obesity Patients according to Sasang Constitution. *J Korean Med Obes Res*. 2013;13(1):33-45.
26. Kim SO, Yun SJ, Lee EH. The Water Extract of Adlay Seed(*Coix lachrymajobi var. mayuen*) Exhibits Anti-Obesity Effects Through Neuroendocrine Modulation. *Am J Chin Med*. 2007;35(2):297-308.
27. Cho YJ. *Coix lacryma-jobi L. var. ma-yuen* Stapf reduces weight gain in high-fat diet-induced C57BL/6J mice by decreasing expression of C/EBP α and PPAR γ 2. Kyunghee University. Seoul, Korea. 2013.
28. Kim JY. The Effects of *Raphani Semen* on Experimental Mouse Model of Obese diabetes. Dongshin University. Naju, Korea. 2012.
29. Ding L, Li P, Lau CB, Chan YW, Xu D, Fung KP, Su W. Mechanistic Studies on the Antidiabetic Activity of a Polysaccharide-rich Extract of *Radix Ophiopogonis*. *Phytother Res*. 2012;26(1):101-5.
30. Lee CE, Hur HJ, Hwang JT, Sung MJ, Yang HJ, Kim HJ, Park JH, Kwon DY, Kim MS. Long-term consumption of *Platycodi radix* ameliorates obesity and Insulin Resistance via the Activation of AMPK Pathways. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012;2012:759143.
31. Song KH, Lee SH, Kim BY, Park AY, Kim JY. Extracts of *Scutellaria baicalensis* Reduced Body Weight and Blood Triglyceride in db/db Mice. *Phytother Res*. 2013;27(2):244-50.
32. Song MY, Kim HJ. Analysis of Main Single Medicinal Herbs for Anti-Obesity. *J Korean Med Obes Res*. 2013;13(2):51-7.
33. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*. 2010;23(2):270-99.
34. Tomkin GH. Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2010;8(7):1015-29.
35. Lee JJ, Park MR, Kim AR, Lee MY. Effects of ramie leaves on improvement of lipid metabolism and anti-obesity effect in rats fed a high fat/high cholesterol diet. *Korean J Food Sci Technol*. 2011;43(1):83-90.
36. Jeong WG. Food and nutrition dictionary book. Korea Dictionary Research Publishing. 1997:896.
37. Saely CH, Geiger K, Drexel H. Brown versus White Adipose Tissue: A Mini-Review. *Gerontology*. 2012;58(1):15-23.
38. Satoh N, Naruse M, Usui T, Tagami T, Suganami T, Yamada K, Kuzuya H, Shimatsu A, Ogawa Y. Leptin-to-adiponectin ratio as a potential atherogenic index in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2004; 27(10):2488-90.
39. Szczygielska A1, Widomska S, Jaraszkievicz M, Knera P, Muc K. Blood lipids profile in obese or overweight patients. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med*. 2003; 58(2):343-9.
40. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(5):1930-5.
41. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoaka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(1):79-83.
42. Auwerx J, Staels B. Leptin. *THE LANCET*. 1998;351:737-42.
43. Tartaglia L. The leptin receptor. *J Biol Chem*. 1997;272:6093-6.
44. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, Nishimura H, Yoshimasa Y, Tanaka I, Mori T, Nakao K. Nonadipose tissue production of leptin: lep-

- tin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997;3(9):1029-33.
45. van Aggel-Leijssen DP, van Baak MA, Tenenbaum R, Campfield LA, Saris WH. Regulation of average 24h human plasma leptin level; the influence of exercise and physiological changes in energy balance. *Int J of Obesity.* 1999;23(2):151-58.
46. Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest.* 2008;118(3):829-38.
47. Lapsys NM, Kriketos AD, Lim-Fraser M, Poynten AM, Lowy A, Furler SM, Chisholm DJ, Cooney GJ. Expression of genes involved in lipid metabolism correlate with peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in human skeletal muscle. *Metab.* 2000;85(11):4293-7.
48. Jogl G, Hsiao YS, Tong L. "Structure and function of carnitine acyltransferases". *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2000;1033(1):17-29.