

Original Article

Acetaminophen(AAP)으로 유발한 간기능 저하 동물 모델에서의 비만 및 지질대사에 대한 영향 평가

박정환¹, 김윤하¹, 광진영¹, 홍서진³, 박정미², 안택원¹
¹대전대학교 한의과대학 사상체질의학교실, ²대전대학교 한의학과
³대전대학교 한의과대학 침구과교실

A study on the effect on obesity and lipid metabolism in liver hypofunction animal-experimental model induced by Acetaminophen(AAP) injection

Junghwan Park¹, Yoonha Kim¹, Jinyoung Kwak¹, Seojin Hong³, Jungmi Park², Taekwon Ahn¹

¹Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon Univ.

²Daejeon University

³Dep. of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon Univ.

Objectives: The objective of this research is to develop new animal-experimental model for Sasang Constitutional Medicine, especially for partial Taeyangin(one of four constitution which has good pulmonary function and poor hepatic function) by AAP intraperitoneal injection, and to estimate from the viewpoint of obesity and lipid metabolism.

Methods: The C57bl/6J mice was divided into 4 groups ; Normal group, AAP group, High-Fat-Diet(HFD) group, and HFD+AAP group. 200mg AAP was injected intraperitoneally to the AAP group twice a week for six weeks, and HFD group was fed with 60%-High-fat Diet for six weeks. HFD+AAP group got both AAP injection and 60%-High-fat Diet at the same time for the same period. In this period, We measured the weight and Food Efficiency Ratio(FER, %) once a week. After six weeks, We conducted the blood chemical test from the groups, and extracted the fat tissue to measure weight.

Results & conclusion: In the liver function test, two AAP groups had higher AST and ALP, and normal LDH. The blood level of creatinine from all groups were normal. The rate in weight was lesser by 7.8% in HFD+AAP group, and had lesser FER than HFD group. Also They had lesser Total cholesterol and LDL cholesterol, and had more HDL cholesterol than HFD group. HFD+AAP group had more glucose in serum and lesser Insulin-like Growth Factor 1(IGF-1) than HFD group.

Key Words : Taeyangin, High-fat Diet, Obesity, Hyperlipidemia

서론

비만(obesity)은 체지방이 과잉축적된 상태로, 1997년 세계보건기구(WHO)의 기준에 따르면 체질량지수(BMI) 30kg/m² 이상으로 정의되어 통용되고 있는 질환으로 보통 에너지 소모보다 섭취가 증가하는 불

균형이 장기간에 걸쳐 지속되어 발생하는 경우가 대부분이다. 비만은 고혈압·제 2형 당뇨병·이상지질혈증 등 다른 대사증후군을 유발시키고 담석증·관상동맥심질환·수면무호흡증 등 여러 가지 질병의 위험도 및 사망률을 증가시키는 것으로 알려져 있다¹. 전세계적으로 비만의 유병률은 빠르게 증가하고 있으며,

· Received : 1 June 2016

· Revised : 21 September 2016

· Accepted : 28 September 2016

· Correspondence to : 안택원(Taekwon Ahn)

충청남도 천안시 서북구 노태산로 4 대전대학교 천안한방병원 사상체질과

Tel : +82-41-521-7535, Fax : +8241-521-7007, E-mail : twahn@dju.kr

성인뿐 아니라 청소년에서도 빠른 속도로 늘고 있다. 최근 국내 조사에서도 체질량 지수 기준으로 성인 남성의 경우 37.6%, 여성의 경우 25.1%의 유병률을 나타내어 성인 4명 중 1명이 비만이었으며, 앞으로 지속적으로 상승할 것으로 보인다².

한의학에서는 비만을 주로 ‘肥’, ‘肥人’이라고 표현하였으며, <東醫寶鑑>에서는 비만의 원인을 七情, 脾氣虛, 痰飲, 華食 등으로 진단하고 그에 맞게 치료하였다³. <東醫壽世保元>에서 비만을 직접적으로 언급하지는 않았으나, 체질에 따른 선천적인 장부의 강약의 차이가 비만을 유발시킨다고 보았다. 연구에 따르면 사상체질 중 보통 肝黨의 흡취지기가 높은 태음인의 비만 유병률이 다른 체질에 의해 높은 편이며^{4,5}, 이상지질혈증을 유발하는 TG, Total cholesterol, LDL-cholesterol 또한 태음인이 높다는 연구 결과가 있다⁶. 또한 이외에도 체질별 비만요인 따른 위험도 및 위험인자에 대한 환자-대조군 연구⁷, 체질별 비만의 증상 및 처방에

따른 감량효과 및 체지방울 감소 정도에 대한 연구⁸, 체질에 따른 비만 환자의 소증 차이 등의 연구가 진행되어 있다⁹. 그러나 코호트 연구 혹은 증례를 바탕으로 한 연구가 대부분을 차지하였고, 모두 태양인이 제외된 3개의 체질로 진행된 경우가 많아 비만과 태양인 간의 관계 및 특성에 대해서는 알려진 게 없는 상태이다.

태양인은 폐대간소(肺大肝小)하며, 호산지기(呼散之氣)가 강하여 간대폐소(肝大肺小)의 태음인과 정반대의 장부편차를 가진다. 따라서 태양인은 이론적으로는 태음인과는 반대로 肺黨의 呼散之氣가 강하고 肝黨의 吸聚之氣는 약하여 잘 肥滿하지 않는 체질이라고 볼 수 있으며, 이에 대하여 『東醫壽世保元』에서는 태양인의 건강지표를 설명하면서 ‘肌肉 宜瘦 不宜肥¹⁰’라고 하여 吸聚之氣가 건강한 태양인이 잘 비만하지 않는다는 것을 간접적으로 설명하고 있다. 그러나 <東醫壽世保元>에서도 만명중 십여명에 그친다고 할 정도로 수가 적어¹⁰ 상기 서술된 바와 같이 현대 체질의학에 대한 연구 혹은 임상실험에서도 잘 고려되지 않았고 그에 따

라 비만 및 지질대사에 대해서도 연구가 이루어지지 않은 상태이다.

동물모델 실험의 경우, 주로 태음조위탕, 조위승청탕¹¹, 양격산화탕¹² 등 체질처방이 비만이 유발된 실험쥐에 미치는 영향에 대한 연구들이 많이 이루어졌으며 특히 태음인 처방인 태음조위탕이 대상이 된 연구가 많았다^{12,13,14}. 그러나 지금까지의 동물모델 실험의 경우 체질 처방을 사용했음에도 임상 실험과 달리 인간의 체질에 따른 선천적인 장부대소와 편차를 구현하지 못하는 한계를 가지고 있다고 볼 수 있으며, 이 경우 체질이 적용된 인체에 동물실험이 의미있는 관련성을 보여줄 수 있는 지에 대한 의문점이 따른다.

이에 본 실험에서는 C57bl/6J 실험쥐에 대해 *Acetaminophen(AAP)*을 복강 내에 주사하여 간손상을 시켜 간약(肝弱)의 부분적 태양인 가정 동물 모델을 시도하여 체질적 동물 모델 개발에 대해 새로운 접근을 시도하고 비만과의 상관성이 높은 흡취지기의 태음인과 반대되는 태양인 환경에서의 비만 및 지질대사변화를 알아보기 위해, C57bl/6J 실험쥐에 대해 *Acetaminophen(AAP)*을 복강 내에 주사하여 간손상을 시켜 간약(肝弱)의 부분적 태양인 가정 동물 모델을 시도하여 비만 및 지질대사에 대한 영향을 평가하고, 사상의학에서의 肺肝의 氣液代謝가 비만·지질대사 및 서양의학에서의 간기능계(hepatic system)와의 연관성을 갖고 있는지 확인하고자 한다.

실험 설계 및 수행

1. AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 실험쥐 동물모델 제작

(1) 실험동물

본 실험을 위하여 사용된 mouse는 6주령 C57bl/6J(♂)로, 대한바이오링크 (Korea)에서 분양받았다. 분양 받은 실험동물은 2주간 기본사료(AIN-76A diet)와 물을 자유롭게 공급하면서 실험실 환경에

적응시킨 후, 건강상태가 양호한 8주령의 C57bl/6J mouse(♂)를 실험에 사용하였다. 사육실의 환경은 항온(25±2℃), 항습(50±5%) 및 12시간 간격의 광주기(light on 07:00 ~ 19:00)로 명암으로 조절되는 SPF 환경에서 유지하였다. 동물실험의 윤리적, 과학적 타당성 검토 및 효율적인 관리를 위하여 대전대학교 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee : IACUC)의 승인을 받았다.

(2) 간손상 유발을 위한 Acetaminophen의 투여
간손상을 유발하여 간기능 저하를 일으키도록 하는 물질로 Acetaminophen(AAP)을 선정하였다.

mouse에 AAP 200mg을 6주간 매주 2회(월, 목) 복강에 주사하여 급성 간괴사 및 염증작용을 일으키지 않으면서 간기능 저하를 유도하였으며, 사람으로 치면 고지혈증 상태가 지속적으로 비슷하게 유지되도록 하였다. 실험에 사용된 AAP의 양과 방법은 Chen의 연구¹⁵를 참고하였다.

(3) 실험군 분류

2주간 기본사료(AIN-76A diet) 및 실험실 환경에 적응된 8주령의 C57bl/6J(♂) 중, 평균체중이 23g 전후면서 건강상태가 양호한 mouse 35마리를 실험에 사용하였다. mouse를 각각 5마리, 10마리, 10마리, 10마리의 4 group으로 나누어 분리하였다.

AAP의 양과 복강 내 투여 방법은 기본사료(AIN-76A diet, Dyets Inc. USA.)를 6주간 유지한 5마리의 군을 정상대조군(ND), AAP (200mg/kg)를 복강에 주사하여 간손상을 유발하도록 하면서 기본사료를 6주간 유지한 군을 AAP군, Diet Induced Obesity Diet Formulas (D12492, Research Diets, USA) 60kcal%의 High-Fat Diet 사료를 6주간 유지한 군을 HFD-CTL군, HFD사료와 함께 복강에 주 2회 AAP를 주사한 군을 HFD+AAP군으로 하여 6주간 실험을 진행하였다. 식이와 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 실험동물모델에서의 비만 및 지질대사변수 측정

(1) 식이섭취량 및 체중 측정

식이섭취량 및 체중은 매주 일정한 시간에 측정하여 기록하였으며, 그 방법은 다음과 같다.

- ① 체중변화 : 매주 1회(목요일) 10시에 측정/기록
- ② 총 체중 증가량 : Final body weight - initial body weight
- ③ 1일 평균 체중 증가량 = Total body weight gain / days
- ④ 1일 평균 식이 섭취량(food intake) = Total food intake / days
- ⑤ 식이효율 (food efficiency ratio, FER) = [Total weight gain / Total food intake] x 100

(2) 혈청 및 조직검사

최종 실험 종료 후 심장천자법으로 채혈하여 혈액생화학적 검사를 실시하기 위하여 채혈 후 30분 이내에 3,000rpm, 4℃에서 15분간 원심분리하여 혈장(plasma)을 분리하여 -70℃에 보관한 후 분석하였다. 실험동물은 희생 전 16시간 동안 절식시킨 후 혈액을 채취하였으며, 각 실험동물의 장기조직(간, 지방조직)은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 무게를 측정하였다.

각 실험동물로부터 분리한 혈장 (plasma)에서 간 기능의 지표인 ALT, AST 및 ALP를, 신장기능 지표인 creatinine을, 체내 지질함량의 지표인 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방(triglyceride), 그 외 glucose, 유리지방산(NEFA), LDH를 측정하였다. 측정에는 생화학 자동 분석기(Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하였다.

(3) 혈중 렙틴과 인슐린(IGF-1) 분석 비교

실험 종료 후 각 실험동물로부터 분리한 혈청에서 혈중 렙틴과 인슐린양 성장인자 (IGF-1)을 분석하였다. 이를 위하여, 각 실험동물의 혈청을 코팅 완충용액에 희석(10배 희석)하여 마이크로웰에 코

팅한 후 4°C에서 밤새 방치했다. 각 웰을 3회 세척 완충용액으로 세척한 후, 혈청을 100 μ l씩 분주하고, 1시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 세척 완충용액으로 세척했다. 이후, 항체 아비딘-HRP 접합체 100 μ l를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척했다. TMB 기질을 100 μ l씩 분주하여 암소에서 30분간 방치한 후 50 μ l의 스톱 용액을 처리하고, ELISA 판독기로 450nm 파장에서 흡광도를 측정했다.

(4) 지방조직 중량 측정 및 병리조직 분석

실험 종료 후 각 실험동물을 피하지방 (abdominal subcutaneous fat), 부고환주변 복부지방량(epididymal adipose tissue), 그리고 신장부위 주변 복부지방량 (kidney adipose tissue), 내장지방량 (visceral fat amount)으로 구분하여 적출 후 지방조직의 중량을 산출한다.

3. 통계 처리

각 실험군 결과 값은 unpaired student's T-test 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며, $p < 0.05$ 이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

연구결과

1. AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 (HFD) 동물모델 체중변화 및 식이효율 비교

(1) AAP 주사와 고지방식이에 의해 비만이 유도된 간기능 저하 비만 병태모델을 구축하고 정상대조군(ND), AAP군, HFD-CTL군, 그리고 HFD+AAP군 각각의 체중변화를 비교 검증하였다. HFD와 AAP 투여가 시작된 8주령과 6주 뒤 최종 14주령에서 HFD군에 비하여 HFD-AAP군이 최종 14주에서 통계학적으로 유의성 있게 약 7.8% 체중 증가율이 감소한 추이를 보였다(Fig. 1)($p < 0.001$).

(2) 식이효율(FER)은 최종 체중증가량을 총 사료섭취량으로 나누어 산출하고 통계처리 하였다.

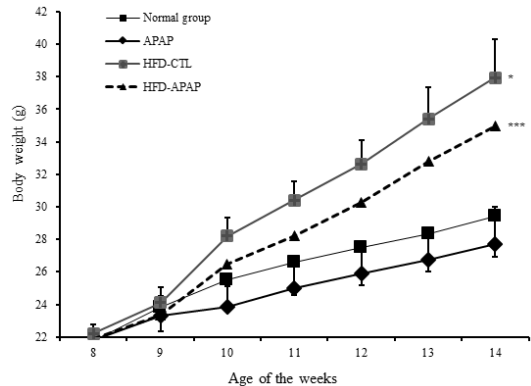


Fig. 1. Body weight change in AAP & HFD-induced obese mice

- ① Normal group (n=10)
- ② APAP : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

FER의 경우 실험 시작 후 6주 뒤 HFD-CTL군에 비하여 HFD+AAP군이 식이효율의 감소경향을 나타내었다(Fig. 2). 각각의 group의 식이섭취량과 체중증가량, 식이효율은 Table 1.과 같다.

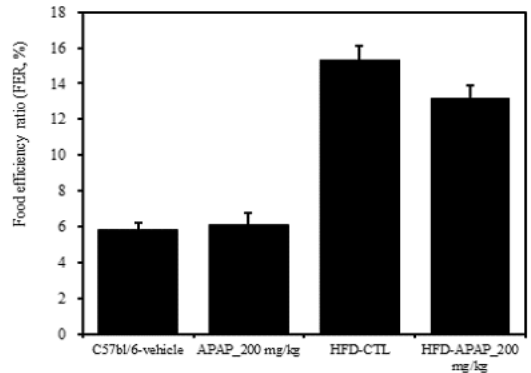


Fig. 2. Food Efficiency Ratio (FER, %) of AAP & HFD-induced obese mice

- ① C57bl/6j-vehicle : Normal group (n=10)
- ② APAP 200mg/kg : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP 200mg/kg : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

Table 1. Food Intake, Body Weight gain, and Food Efficiency Ratio of 60% High Fat diet Fed C57bl/6 Mice with AAP.

Group	Food intakes (g/day)	Body weight gain (g/day)	Food Efficiency Ratio (%)
ND	2.68	0.157±0.010	5.86±0.355
AAP	2.36	0.145±0.014	6.14±0.607
HFD-CTL	2.44	0.374±0.020	15.3±0.825
HFD+AAP	2.36	0.312±0.016	13.2±0.681

2. 혈청 검사 결과

(1) 간기능 수치

AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 (HFD) 동물모델에서 6주 실험 뒤 측정된 혈청내 AST (A), ALT (B), ALP(C) 수치는 다음과 같다. AST의 경우 HFD-CTL에 비하여 HFD-AAP군이 유의성있게 수치가 증가하였다($p<0.001$). ALT의 경우 HFD-CTL는 정상대조군과 큰 차이가 없었으며, HFD-AAP군

이 증가 경향을 보였으나 유의성은 없었다. ALP의 경우 또한 HFD-CTL는 정상대조군과 큰 차이가 없었으나, HFD-AAP군의 경우 HFD-CTL에 비하여 유의성 있게 증가하였다($p<0.01$)(Fig. 3)(Table 2).

(2) 지질대사 수치

Fig. 4는 AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 (HFD) 동물모델에서 6주 실험 뒤 측정된 혈청내

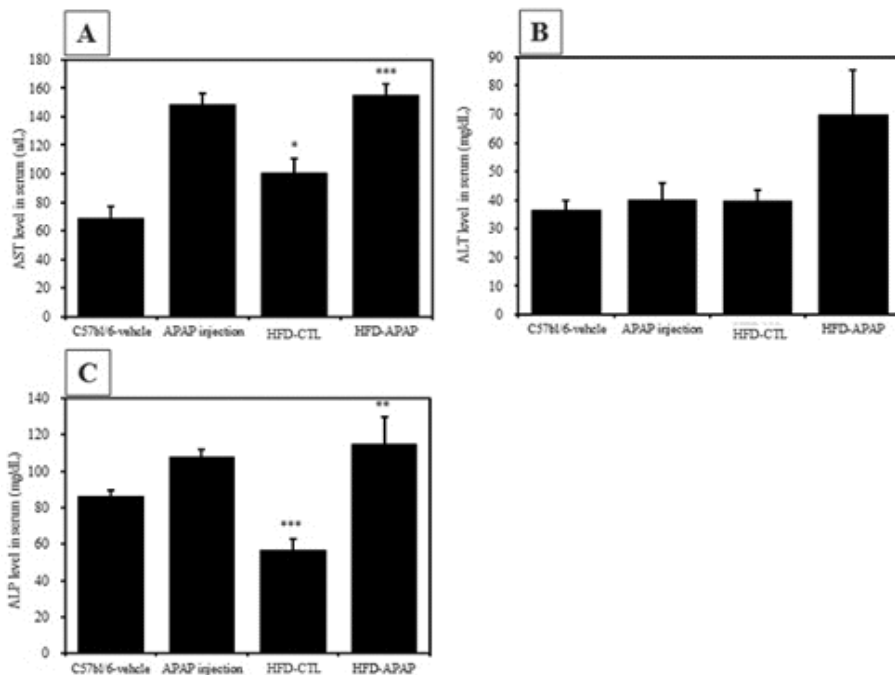


Fig. 3. AST, ALT, and ALP level in serum of AAP & HFD-induced obese mice.

- ① C57bl/6j-vehicle : Normal group (n=10)
- ② APAP 200mg/kg : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP 200mg/kg : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

총 콜레스테롤(Total Cholesterol, A), 중성지방 (Triglyceride, 이하 TG, B), 저밀도 콜레스테롤 (LDL-cholesterol, 이하 LDL, C), 그리고 고밀도 콜레스테롤 (HDL-cholesterol, 이하 HDL, D) 수준을 나타내는 그래프이다. HFD-CTL의 경우 Total Cholesterol은 정상대조군(ND)에 대하여 유의하게 증가하였고($p<0.01$) TG, LDL, HDL 또한 정상대조군(ND)에 대하여 유의하게 증가하였다($p<0.001$). HFD-AAP의 경우 Total Cholesterol 및 LDL에서 HFD-CTL에 비해 유의하게 감소 경향을 보였으며 ($p<0.001$), HDL의 경우 HFD-CTL에 비해 유의하게 높은 수치를 보였다. ($p<0.001$). HFD-AAP군에서 TG의 경우 HFD-CTL에 비해 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Fig. 4)(Table 2).

(3) 혈당, 유리지방산 및 LDH

AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 (HFD) 동물모델에서 6주 실험 뒤 혈청내 혈당(Glucose, A), 유리지방산 (NEFA, B), 그리고 LDH (C) 수치를 측정하였으며 그 결과는 다음과 같다. 혈청 내 Glucose의 경우 HFD-AAP군은 HFD-CTL의 혈청내 혈당수준에 비하여 유의성 있게 증가를 나타내었고($p<0.01$), 자유지방산(NEFA)의 경우 HFD-CTL이 정상대조군보다 높은 수치의 경향성을, HFD-AAP의 경우 HFD-CTL보다 낮고 정상대조군과 비슷한 수치를 보였으나 유의성은 없었다. LDH 수치의 경우 AAP를 주입한 group들이 주입하지 않은 group들에 비해 낮은 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Fig. 5)(Table 2).

(4) 혈청 내 Creatinine 및 uric acid

AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 (HFD) 동

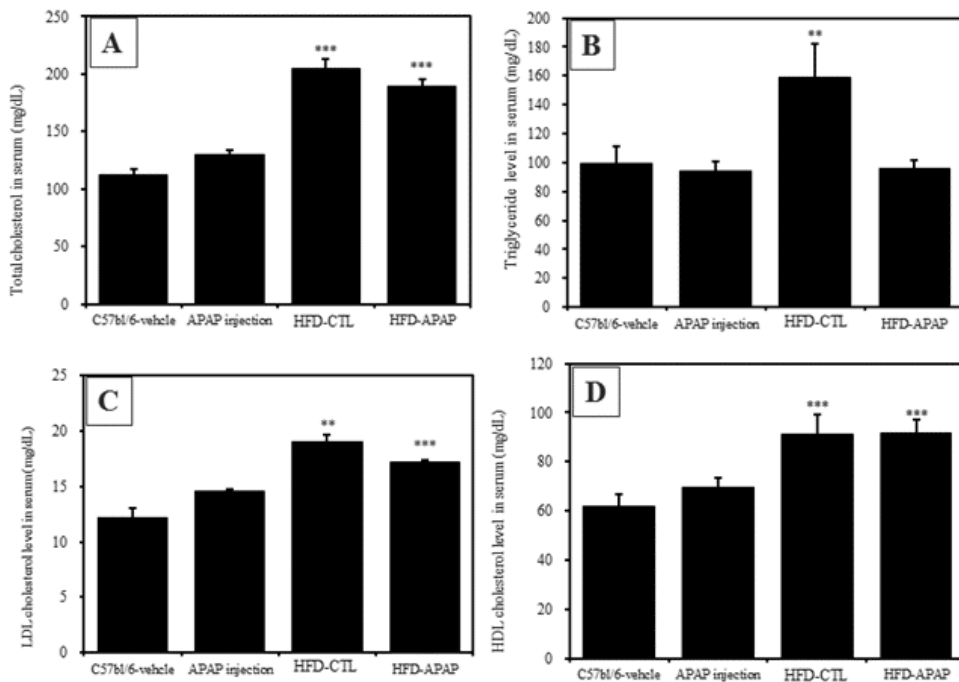


Fig. 4. Total cholesterol, triglyceride, LDL cholesterol, HDL cholesterol level in serum of AAP & HFD-induced obese mice

- ① C57bl/6j-vehicle : Normal group (n=10)
- ② APAP 200mg/kg : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP 200mg/kg : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

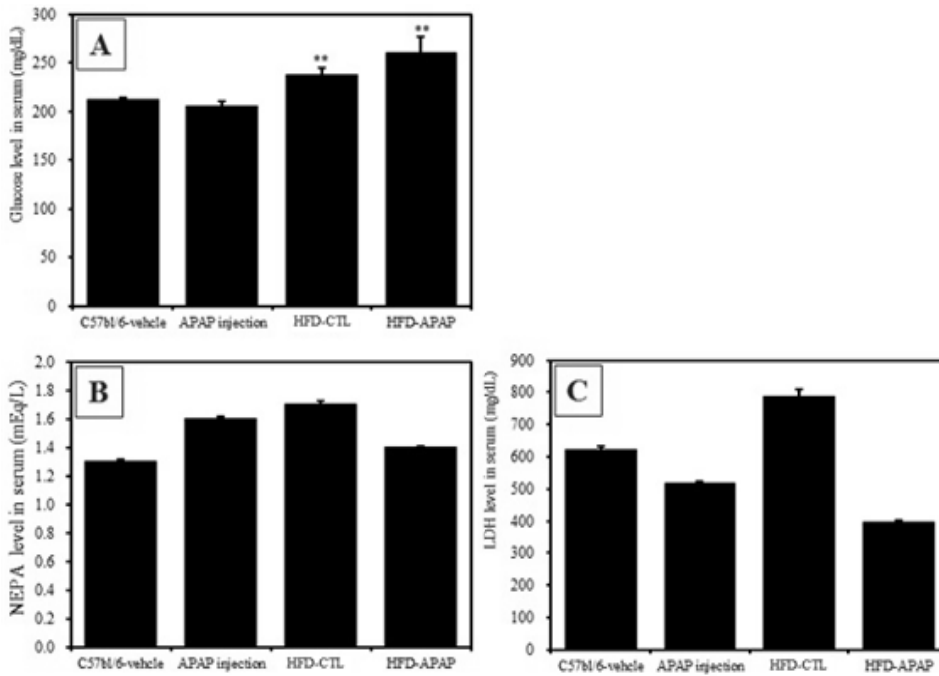


Fig. 5. Glucose, NEFA, LDH level in serum of AAP & HFD-induced obese mice

- ① C57bl/6j-vehicle : Normal group (n=10)
- ② APAP 200mg/kg : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP 200mg/kg : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

Table 2. Blood Biochemistry Parameters in AAP & HFD-fed Obese Mice.

	Normal	AAP	HFD-CTL	HFD+AAP
T-cholesterol (mg/dL)	112.2±4.9	130.2±4.1	204.9±7.8	189.7±5.7
HDL-cholesterol (mg/dL)	61.9±1.6	69.6±1.7	91.4±1.3	91.7±1.6
LDL-cholesterol (mg/dL)	12.2±0.6	14.6±0.3	19.0±1.3	17.2±0.4
Triglyceride (mg/dL)	99.6±11.4	94.2±6.7	159.2±23.2	95.7±6.0
LDH (U/L)	621.2±107.9	516.4±78.5	786.0±177.8	397.0±55.8
Glucose (mg/dL)	212.8±2.1	205.8±4.8	237.3±7.8	260.7±16.9
AST (U/L)	68.4±8.8	148.4±7.6	100.8±10.0	155.2±7.5
ALT (U/L)	36.3±3.7	59.9±12.7	39.6±4.1	69.9±15.5
ALP (U/L)	86.2±3.5	107.5±4.5	56.4±6.1	114.8±14.9
Uric acid (mg/dL)	4.0±0.8	2.8±0.2	4.3±0.7	3.1±0.2
Creatine (mg/dL)	0.4	0.4	0.3	0.4
NEFA (mEq/L)	1.3	1.6±0.1	1.7±0.1	1.4±0.1
IGF-1 (pg/ml)	9101.0±647.0	8427.0±571.0	9851.0±461.0	8142.8±422.0
Leptin (pg/ml)	4252.0±978.5	2843.9±285.5	61791.5±5548.8	47805.8±5956.2

물모델에서 6주 실험 뒤 혈청 내 Creatinine 및 uric acid 수치를 측정하였다. 측정 결과 네 군 모

두에서 Creatinine이 유의성있게 상승하지 않았다. HFD-CTL의 경우 유의하게 감소한 수치를 보였으

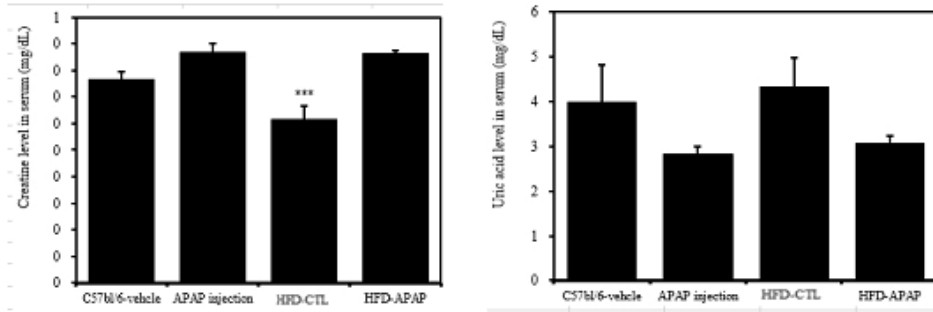


Fig. 6. Creatinine and uric acid level in serum of AAP & HFD-induced obese mice

- ① C57bl/6j-vehicle : Normal group (n=10)
- ② APAP 200mg/kg : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP 200mg/kg : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

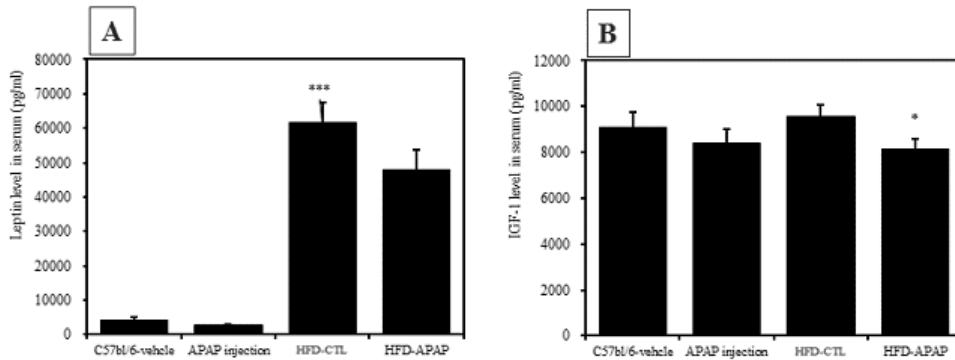


Fig. 7. Leptin and IGF-1 production level in serum of AAP & HFD-induced obese mice

- ① C57bl/6j-vehicle : Normal group (n=10)
- ② APAP 200mg/kg : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP 200mg/kg : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

며, HFD-AAP의 경우 비만대조군과 유의한 차이가 없었다. uric acid의 경우 HFD-AAP군이 HFD-CTL에 비해 낮은 경향성을 보였으나 유의성은 없었다 (Fig. 6)(Table 2).

(5) 혈청 내 Leptin과 IGF-1

AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 (HFD) 동물모델에서 6주 실험 뒤 Leptin과 IGF-1의 수치를 측정하였다. HFD-CTL은 정상대조군의 혈청내 Leptin수준에 비하여 유의하게 증가를 나타내었으

나 ($p < 0.001$), HFD-AAP군은 HFD-CTL군에 비해 감소의 경향만 보일 뿐 통계적으로 유의성은 없었다. IGF-1의 경우 HFD-CTL에 비하여 HFD-AAP군이 유의성 있게 감소하는 값을 나타내었다 ($p < 0.05$) (Fig. 7).

3. 지방량 및 장기 무게 분석

(1) 피하지방 및 백색지방

AAP 유도 간약(肝弱) 비만/고지혈증 (HFD) 동물모델에서 6주 실험 뒤 시험군간에 따른 피하지

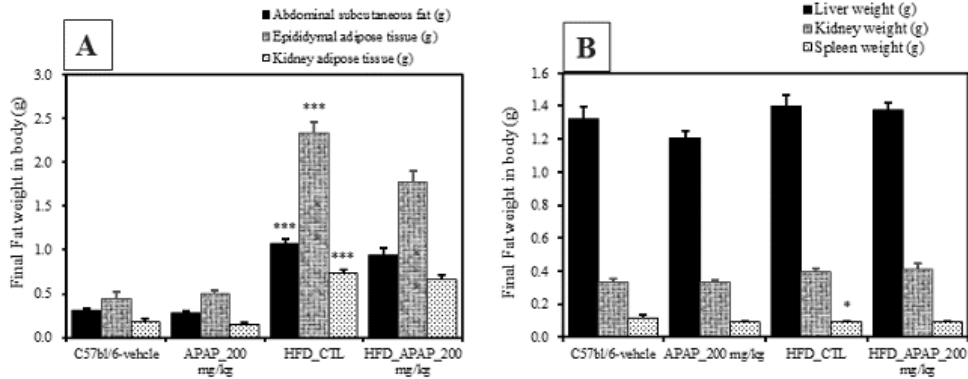


Fig. 8. Fat and organ weight in body of AAP & HFD-induced obese mice

- ① C57bl/6j-vehicle : Normal group (n=10)
- ② APAP 200mg/kg : AAP군, acetaminophen (200mg/kg i.p, 2times/week) (n=10)
- ③ HFD-CTL : HFD-CTL군, 60%HFD control (n=10)
- ④ HFD-APAP 200mg/kg : HFD-AAP군, 60%HFD+AAP (200mg/kg i.p, 2times/week)(n=10)

지방 (Abdominal subcutaneous fat), 부고환주변 백색지방 (Epididymal adipose tissue), 그리고 신장주변 백색지방 (Kidney adipose tissue)을 측정하였다. HFD-CTL의 각각 백색지방량은 정상대조군의 백색지방량에 비하여 현저하게 유의성 있게 증가를 나타내었다 ($p < 0.001$). HFD-CTL에 비하여 HFD-AAP 투여군이 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. 실험 후 간, 신장, 비장 무게를 측정 한 결과, HFD-CTL 수준은 정상대조군과 크게 차이가 없었고, 그리고 HFD-AAP 또한 HFD-CTL과 비교하여 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 8).

고찰

일반적으로 비만은 비정상적으로 많은 양의 지방조직이 체내에 존재함을 의미하기에 지질대사와 연관이 클 수밖에 없다. 특히 체중의 증가는 고밀도콜레스테롤을 현저히 감소시키며, 중성지방 또한 체질량 지수와 함께 증가하게 된다. 또한 비만한 사람은 지방조직이 증가하면서 지방조직에서의 지단백 분해 효소 활성도가 증가하여 많은 양의 자유지방산(FFA)이 간으로 이동하게 되는데, 이 결과 간에서 중성지방의 합성이 증가하여 지방간을

유발하고 인슐린 저항성의 증가를 초래하게 된다. 이 과정에서 아디포넥틴의 분비가 감소하게 되는데, 이 아디포넥틴은 인슐린 저항성을 낮추어 당뇨병의 발생을 예방하며, 항염증효과 및 항동맥경화 효과가 있는 것으로 알려져 있다¹⁶. 또한 식욕을 억제시키고 포만감을 느끼게 하는 호르몬인 Leptin이 지방세포에서 분비되어 대식세포를 침윤시키고 염증유발 물질인 TNF- α 의 생성을 촉진시키게 된다¹⁷. 이러한 과정은 내당능장애 및 2형 당뇨병뿐만 아니라 여러 대사성 장애를 초래하여 혈압의 상승 및 중성지방의 증가 등의 문제를 불러온다.

사상의학은 인간의 性精의 차이가 장부의 편차를 만들고 네 체질의 차이를 만들며, 체질 각각의 保命之主의 보존과 素症의 개선을 바탕으로 하여 병을 치료하는 의학이다^{10,30}. 사상의학에서 설명하는 臟腑의 경우 기존의 臟象學說과는 달리 事心身物을 바탕으로 한 인간 중심적 관점을 바탕으로 臟腑를 설명하였으며, 그에 따라 心을 중심, 肺脾肝腎을 축으로 하여 인체의 생리작용과 수곡대사를 上下升降과 ‘四黨’으로 연관구조를 설정하여 설명하였다²⁹. 그중 肝黨과 肺黨의 경우 인체의 氣液의 대사를 조절하는 장부로서 吸取와 呼散의 균형을 맞춰 인체 表裏의 허실을 조절하며, 각각 小腸

과 胃脘을 통해 水穀之氣의 작용 또한 관여한다³⁰. 이제마 초기의 저작인 『東醫壽世保元草本券』에서는 肺肝을 氣液의 散充을 수행하는 기관으로 ‘氣道’라는 순환-호흡기계의 대표 기관으로 설명하였다³¹. 태양인과 태음인 모두 肝黨과 肺黨의 대소로 체질이 나누어지는데, 태음인은 肝大肺小의 장부편차를 가져 肝黨의 吸聚之氣는 강하면서 肺黨의 呼散之氣는 약하여 氣液의 소비는 적으면서 축적이 큰 체질로, 섭취한 음식물로부터 과생된 에너지를 사용하는 것보다 몸 안에 간직하는 경향이 많다고 하여 태음인이 다른 체질보다 더 비만이 잘 된다고 알려져 있다^{4,5,18}. 비만뿐만 아니라 이상지질혈증과 혈청 내 Leptin의 증가, 대사증후군의 유병률 등에서도 태음인이라는 체질변수 자체가 발병의 위험도를 높인다는 연구 결과 또한 이미 알려져 있는 상황이다^{6,19}. 소양인과 소음인의 경우 태음인과는 달리 수곡대사의 문제로 비만이 되는 경우가 많으며, 태음인에 비해 비만인 사람의 수가 현저히 적었다⁴.

다른 세 체질과는 달리 태양인의 경우 『東醫壽世保元』에 기록된 것처럼 다른 체질에 비해 희소성이 심하여 지금까지 진행된 임상연구에서도 태양인은 제외된 경우가 대부분이며, 소수의 증례^{20,21} 혹은 증례연구를 통한 체형, 안면, 음성, 성격 특성 연구²²에 한정되어 있고, in vivo나 in vitro로 진행된 연구는 없었다.

본 실험에서는 건강한 실험쥐를 급성 간괴사가 일어나지 않는 범위에서 간손상을 시켜 간기능이 떨어진 상태를 肝弱 상태로 가정하여 태양인 모델로 설정하고, 고지방 식이 이후의 체중, 식이변화 및 혈청의 비만 및 지질대사변수들을 측정하였다. 실험에서 사용된 Acetaminophen(AAP)은 진통제 및 해열제로 많이 사용되는 의약품으로, 과용량 복용시 사람이나 실험동물에서 간독성을 유발하며 대부분이 간에서 cytochrome P450에 의해 대사되어 N-acetyl-pbenzoquinoneimine(NAPQI)이 증가하여 간독성을 나타낸다²³. 보통 동물 모델에서의 간손상에서는 사염화탄소(CCl₄)가 사용되나, CCl₄ 자

체가 독성이 강하며 실제 임상에서의 만성 간손상을 일으키는 주 원인으로 볼 수 없기에 AAP를 선정하였다¹⁵.

실험 시작 6주 후 비만대조군과 고지방+AAP(HFD+AAP)군의 체중과 식이효율을 비교하였을 때, 최종 14주령에서 비만대조군에 비하여 고지방+AAP군의 평균 체중 증가율이 약 7.8% 유의하게 감소한 경향을 보였다($p<0.001$). 또한 식이효율에서도 비만대조군에 비해 고지방+AAP군에서 더 낮은 경향을 보였는데, 이는 똑같은 사료를 섭취하였음에도 불구하고 肝弱인 군에서 체중이 덜 증가하였음을 뜻한다.

혈청 검사 결과 중 간기능 및 신기능 검사의 경우, AST 및 ALP수치가 HFD-CTL군에 비해 통계적으로 유의하게 상승하여(AST $p<0.001$, ALP $p<0.01$) 간기능 저하 상태를 보여주었다. 앞선 두 변수와는 달리 ALT의 경우 통계적 유의성이 없었으며, LDH 또한 통계적 유의성이 없었다. LDH는 체내에서의 L-lactate와 pyruvate 간의 가역성 산화환원 대사반응에 관여하는 효소로, 급성간염 등 급성적인 간괴사가 나타날 때 AST, ALT 등과 같이 상승하게 된다²⁴. 이것은 급성 간괴사 및 염증반응이 일어나지 않을 정도의 상태로 간기능 저하가 일어났다는 것을 뜻한다. Creatinine 수치의 경우에도 통계적으로 유의하게 상승하는 경향이 보이지 않으며, 이는 고지방식이 및 AAP의 투여가 신장기능에는 영향을 미치지 못하였다는 것이다.

혈청 검사 결과 중 지질대사와 관련있는 Total Cholesterol, 중성지방(TG), LDL-cholesterol, 그리고 HDL-cholesterol의 수치를 비교하였다. 고지방+AAP의 경우 Total Cholesterol 및 LDL에서 비만대조군에 비해 유의하게 수치가 작았으며($p<0.001$), HDL의 경우 고지방+AAP에 비해 유의성 있게 높은 수치를 보였다($p<0.001$). 보통 비만이 진행되어 체질량지수가 오름에 따라 LDL은 증가하고 HDL은 감소하게 되고 그에 따라 이상지질혈증을 불러오게 된다²⁵. 따라서 똑같은 식이에서 고지방+AAP군에서는 비만대조군에 비해 LDL 및 HDL의 변화

가 유의하게 적다고 할 수 있다.

혈청 내 Glucose의 경우 고지방+AAP군은 비만 대조군의 혈청내 혈당수준에 비하여 유의성 있게 증가를 나타내었고($p<0.01$), 자유지방산(NEFA)의 경우 비만대조군이 정상대조군보다 높은 수치의 경향성을, 고지방+AAP의 경우 비만대조군보다 낮고 정상대조군과 비슷한 수치를 보였으나 유의성은 없었다. 비만으로 인한 지방조직의 증가는 지방조직에서의 지단백 분해 효소를 활성화시키고 따라서 혈청 내에서의 자유지방산이 증가하게 된다. 따라서 지방조직의 증가가 직접적인 혈중의 증가를 불러오지는 않으나, 말초의 인슐린 수용체에 작용하여 수용체에서의 신호전달을 저해하게 되어 인슐린 저항성이 상승하게 된다²⁶. 따라서 고지방+AAP군은 비만대조군의 혈청내 혈당수준에 비하여 유의한 증가를 나타내었으나, 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Leptin은 체내 지방세포에서 분비되는 식욕 호르몬으로 시상하부, 부신피질 및 체장의 β -세포 등에 수용체가 존재한다¹⁷. 시상하부에 작용하여 강력하게 식욕을 촉진시키고 발열을 감소시키는 Neuropeptide-Y(NPY)의 합성을 억제하여 식욕을 저하시키며, 말초에서는 지방분해를 활성화시키고 중성지방량을 조절하게 된다. mouse 실험에서 Leptin은 지방조직에 비례해서 증가하는 것으로 나타났다¹며, 사람에서도 체지방량에 비례하여 증가하는 것으로 알려져 있다¹. 상기 실험에서는 비만대조군은 정상대조군의 혈청내 Leptin수준에 비하여 유의하게 증가를 나타내었으나 ($p<0.001$), 고지방+AAP군은 비만대조군에 비해 감소의 경향만 보일 뿐 통계적으로 유의성은 없었다.

인슐린양-성장인자 1(IGF-1)은 간에서 생산되며 성장호르몬 및 인슐린 매개의 신호전달에 중요한 역할을 한다. 시상하부에서의 IGF-1 신호 전달의 저하는 말초에서의 인슐린 신호 전달을 저하시켜 인슐린 저항성을 오르도록 한다²⁷. IGF-1의 경우 비만대조군에 비하여 고지방+AAP군이 유의성 있게 감소하는 값을 나타내었다 ($p<0.05$).

백색지방(White adipose fat)은 체내에서 에너지 저장에 관여하는 지방조직으로 식후 지방조직으로 지방의 유입이 활발하게 일어나면서 발생하며, 피하 지방조직과 복막 내 내장 지방조직이라는 두 가지 형태로 인체 곳곳에 존재한다. 인슐린에 의해 체내의 합성이 촉진되며 중성지방 형태로 말초 세포에 에너지를 저장한다²⁸. 실험 결과 비만대조군은 고지방식으로 체내의 백색지방량의 유의한 증가를 보였고($p<0.001$), 고지방+AAP군의 경우 비만대조군에 비해 크게 유의성 있는 변화를 보이지 않았는데, 이는 백색지방 자체가 중성지방의 형태로 저장이 되기에 혈중 내 중성지방의 차이가 유의성이 없었던 것과 관련이 있는 것으로 사료된다.

실험 결과 肝弱의 태양인 가정 동물 모델은 AST,ALP등 간기능 수치를 유의하게 증가되었으나, LDH의 증가는 보이지 않아 급성 간괴사 및 염증유발이 일어나지 않았으며 Creatine 수치도 변동이 없어 신독성도 나타내지 않았다. 또한 비만 유발시 일반 비만 모델에 비해 체중의 증가가 적은 것을 확인할 수 있으며, 일반 비만 모델에 비해 Total Cholesterol 및 LDL의 증가율 감소 등으로 일반 비만 모델에 비해 태양인 모델이 비만에 따른 지질대사이상의 진행이 더디게 나타나는 것을 확인하였다. 체중 증가의 경우는 《東醫壽世保元》에서의 태양인이 살이 찌지 않는 것이 건강한 것이라 설명과 일치하는 부분이 있다. 혈당 혈중농도는 일반 비만 모델에 비해 증가하였으며, 인슐린 저항성 및 식욕과 관련된 Leptin의 경우 수치 변화에 통계적 유의성이 없었고, IGF-1의 경우는 오히려 실험군에서 통계적으로 비만대조군에 비해 저하되었다. 인슐린 저항성 및 당뇨에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 실험에서는 약물로써 기질적 간손상을 일으켜 肝小의 환경을 조성하였다고 가정하였으나 한 의학적인 肝小의 관점과 동일하게 보기는 힘든 한계를 가지고 있다. 장기(viscera)자체의 기능부전이 사상의학적 장부편차와 동일하게 가정한다면 상기 실험 결과 자체는 흡취지기가 강한 간의 기

능부전으로 나타났다는 설명이 가능하게 되나, 일반적인 臟象學의 이론에서 간은 將軍之官으로서 인체내에서 疎泄의 작용을 하며 藏血하고 主筋하는 장부로서 기질적인 간(liver)보다는 순환기작·혈액학적 개념을 포괄하는 기능적인 臟腑 氣機로 설명할 수 있고³², 四象醫學의으로는 성정의 편급과 그것으로 인한 선천적인 장부대소로 인해 체질의 形氣色澤 및 素症의 차이가 발생하는 것이기에 일반 장기(viscera)와 동일하게 볼 수 없다. 사상의학에서 설명하는 臟腑의 경우 기존의 臟象學說과는 달리 事心身物을 바탕으로 한 인간 중심적 관점을 바탕으로 臟腑를 설명하였으며, 그에 따라心を 중심, 肺脾肝腎을 축으로 하여 인체의 생리작용과 수곡대사를 上下升降과 ‘四黨’으로 연관구조를 설정하여 설명하였다²⁹. 그 중 태양인과 태음인을 나누는 肝黨과 肺黨의 경우 인체의 氣液의 대사를 조절하는 장부로서 吸取와 呼散의 균형을 맞춰 인체 表裏의 허실을 조절하며, 각각 小腸과 胃脘을 통해 水穀之氣의 작용 또한 관여한다³⁰. 따라서 사상의학적으로 肺肝은 인체의 수곡대사와 기액대사에 관여하는 기능적 축(axis)으로 이해하여야 한다. 물론 이제마 초기의 저작인 『東醫壽世保元草本券』에서는 肺肝을 氣液의 散充을 수행하는 기관으로 ‘氣道’라는 순환-호흡기계의 대표 기관으로 설명하였으며, 이는 실제 간(liver)과 폐(lung)의 기능을 어느 정도 포괄하고 있다^{30,31}. 이에 체질의 장부편차가 단순히 실제 장기(viscera)의 기능저하를 장부편차와 동일시할 수는 없어도, 실험적인 가정을 통해 사상의학적 肺肝의 氣液代謝의 편차가 실제 기질적 肝小를 포함하는 개념으로 보고 새로운 관점에서 접근하고자 하였다.

동물모델의 관점에서 평가하면, 지금까지 사상의학적으로 접근한 동물실험의 경우 대부분이 정상 쥐를 대상으로 하거나 특정 질병을 유도한 실험쥐를 대상으로 체질 처방을 사용하였으며, 체질 동물모델 자체의 설계 시도가 전무하여 체질 처방의 의의에 맞는 완벽한 실험으로 보기는 힘들었다. 이 실험의 경우 인위적으로 장부의 편차를 조절하

여 장부편차에 따른 기전 연구를 시도하였으며, 향후 체질적 동물 모델에 있어서 새로운 관점을 제시하였다고 할 수 있다.

또한 장부대소에서 약물 등으로 장기의 기능을 저하시켜 偏小之臟은 만들 수 있으나 偏大之臟은 만들 수 없어, 체질편차를 가진 건강한 상태에서의 병리적 모델이라기보다는 偏小之臟의 기능이 약화된 肝虛 모델에 가깝다고 볼 수 있다. 따라서 상기 실험모델은 태양인 모델로 가정할 경우 肺實의 비만 및 지질대사에 대해 설명해주시 못하는 한계를 지니고 있다. 또한 결과 및 가정의 경우 태양인 모델로 가정하였으나 단순 실험쥐 모델로서, 결과를 인체에 동일하게 적용할 수 있는가의 여부도 논란이 될 수 있으며, 태양인 수가 적기에 체질진단에 대해 진단의 정밀도 여부도 문제가 될 수 있다. 따라서 인체에 동일하게 적용하기 위해서는 먼저 수가 적은 태양인의 감별에 대한 적절한 진단법의 연구가 선행되어야 할 것이며, 동물실험이 아닌 임상실험의 실시 혹은 코호트 연구의 실시를 통해 동물실험 결과와 비교해 보는 등의 후속 연구가 필요할 것으로 보인다.

추후 이 관점에 대한 지속적인 접근을 위해서는 Liver가 아닌 lung의 기능을 약화시킨 肺小 모델 등 다른 비슷한 동물모델실험 수행을 통한 서로간의 비교와 추가적인 연구가 필요하며, 또한 체질에 상관없이 상기 실험 정도와 비슷한 간손상이 있는 피험자 혹은 태양인을 대상으로 한 임상실험과 코호트 연구 등 후속 연구와의 비교와 고찰을 통해 臟腑와 기질적 장기의 연관성을 찾아봐야 할 것이다.

결론

AAP로 간손상을 시킨 상태로 간약(肝弱)의 태양인 동물 모델을 개발하고, 상기 모델에서의 비만 및 지질대사에 대한 영향을 평가하였다.

- 1) 대조군에 비해 AAP를 주입한 실험군의 경우 6주 뒤 간기능 수치(AST, ALP)는 상승하였으나, LDH의 상승은 발생하지 않는 상태로 유지되었

으며, Creatinine 수치는 상승하지 않아 신독성은 보이지 않았다.

- 2) HFD와 AAP 투여 6주 후 측정하였을 때, 비만대조군(HFD-CTL)에 비하여 HFD-AAP군이 통계학적으로 최종 14주에서 약 7.8% 체중이 유의하게 적은 추이를 보였다($p<0.001$).
- 3) 비만대조군에 비해 HFD-AAP군에서 식이효율이 감소 경향을 보였다.
- 4) 비만대조군에 비해 HFD-AAP군에서 혈청내 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 유의하게 적은 수치를 보였으며, HDL-콜레스테롤 또한 유의하게 높았다($p<0.001$). 중성지방의 경우 비만대조군과 HFD-AAP군간 유의한 차이가 없었다.
- 5) 비만대조군에 비해 HFD-AAP군에서 혈청내 glucose가 유의하게 증가하였다($p<0.01$).
- 6) HFD-AAP군은 비만대조군에 비해 IGF-1 수준이 유의하게 감소하였다($p<0.05$).

감사의 글

상기 연구는 미래창조과학부 ‘체질 특성에 따른 대사성 질환의 치료 약물 및 기기 임상 연구’ (과제번호 : 2015M3A9B6028311)의 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

1. The Korean Society for the Study of Obesity, Clinical Bariatrics. 2nd rev. Seoul:Koryouihak. 2001:19-22,34-52,93-96,97-106,113-122,124-131, 146-147,157-162.
2. Korea Minister of Health & welfare, National Health & Nutrition Examination survey. 2013
3. Keum S, Jin SH, Keum TH. A Study on etiological factors, symptoms of a disease, and treatments of obesity based on dong-Yi Bo Gam. J of Korean Medicine. 1998;19(2): 125- 136.
4. Kim DL, Baek TH. A Clinical study on the correlation of Sasang Constitution and Obesity. J of Sasang Constitutional medicine. 1996;8(1): 319-335.
5. Bae JH, Shin HD. A Clinical Study on the ratio of Sasang Constitution in Obesity patients. J of Korean Rehabilitation Medicine. 1997;7(2): 141-151.
6. Choi AR, Lee SW, Koo DM. A Study on the Serum Lipid, Digestive Enzymes and Thyroid Hormone in Sasang Constitutional Medicine. J of Sasang Constitutional medicine. 2010;22(2):60-69.
7. Lee KS, Seok JH, Kim SH, Kim YH, Lee SK, Lee EJ, et al. A Case-Control study on risk factors of obese patients of Each Sasang Constitution. J of Sasang Constitutional medicine. 2007;19(4):94-112.
8. Kim EY, Kim JW. A Clinical study on the Sasang Constitution and Obesity. J of Sasang Constitutional medicine. 2004;16(1):100-111.
9. Shin SW, Lee JH. A Study on the Characteristics of Ordinary Symptoms in Overweight and Obesity Patients according to Sasang Constitution. J of Korean medicine for obesity research. 2013;13(1):33-45.
10. Dept. of Sasang Constitutional Medicine. All colleges of Korean med. in Korea(compilation). The revised and enlarged Sasang Constitutional Medicine. Seoul:Jipmoondang. 2012:272-273, 300-305, 721-723.
11. Lee MJ. A study on the anti-obese effect of Choweseuncheung-tang and Mahwangbalpyo-tang on High-fat diet obese mice. Doc. of Kyunghee Univ. 2011.
12. Kim KY. A study on the effect of Taeumin, Soeumin and Soyangin medicine on obese mice by Gold thioglucose. J of Sasang

- Constitutional medicine. 1996;8(1):295-318.
13. Cho SW, Park SS. Effects of Taeyumjowee-tang on Loss in Body Weight, Plasma Lipids and UCPI Revelation of Fated White Rats. *J of Korean medicine*. 2004;24(2):87-97.
 14. Kim KS, Lee DU, Kim YL, Hwang MJ, Kim GW, Koo BS. Anti-obesity and Anti-hyperlipidemic Effects of Taeyumjowee-tang and its modified prescription. *J of Oriental Neuropsychiatry*. 2007;18(2):57-74.
 15. Chen PJ, Pang V.F, Jeng YM, Chen TJ, Hu FC, Chi WT, et al. Establishment of a Standardized Animal Model of Chronic Hepatotoxicity Using Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in the Evaluation of Hepatoprotective Effects of Health Food. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2012;20(1):41-47.
 16. Park KS. Relation between Adiponectin and Metabolic Risk Factors. *Endocrinology and metabolism*. 2005;20(5):441-443.
 17. Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia*. 2003;46(12):1594-1603.
 18. Kim JY, Pham DD. Sasang Constitutional Medicine as a Holistic Tailored Medicine. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2009;6(S1):11-19.
 19. Kim NY. Relationship between Leptin to Adiponectin Ratio and Metabolic Syndrome according to Sasang Constitution. *Doc. of Sangji univ*. 2011.
 20. Kwak CK, Lee EJ, Song IB, Kim KS. A case report of the ordinary symptoms on a Taeyangin constitution. *J of Sasang Constitutional medicine*. 2002;14(3):146-152.
 21. Kim KS, Lee SY, Jung SM, Cha JD. A case report of the interior disease of Taeyangin. *J of Sasang Constitutional medicine*. 2002;14(3):181-187.
 22. Jang ES, Do JH, Jang JS, Ku BC, Yoo JH, Choi HS, et al. The Characteristics of Taeyangin on Body Shape, Face, Voice and Temperament. *J of Sasang Constitutional medicine*. 2013;25(3):145-157.
 23. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Mol.Pharmacol*. 1980;18:536-542.
 24. Lee EK, Kim YJ, Kim J, Lee SJ, Kim MS, Kim JG. Studies on the serum Lactic Dehydrogenase and LDH Isoenzymes in the Hepato-biliary Disease. *The Korean Journal of Gastroenterology*. 1982;14(2):67-74.
 25. Nam SM, Ha EH, Seo YJ, Park HS, Jang MH, Seo JH, et al. Effect of Obesity and Blood Lipid Profiles on Hyperlipidemia in Adults Aged Over 40 Years. *The Korean Journal of Obesity*. 2008;17(1):20-28.
 26. Holland WL, Brozinick JT, Wang LP, Hawkins ED, Sargent KM, et al. Inhibition of ceramide synthesis ameliorates glucocorticoid, saturated fat and obesity-induced insulin resistance. *Cell Metabolism*. 2007;5(3):167-179.
 27. White MF. Insulin signaling in health and disease. *Science*. 2003;302:1710-1711.
 28. Tran TT, Kahn CR. Transplantation of adipose tissue and stem cells: role in metabolism and disease. *Nature Reviews Endocrinology*. 2010;6(4):195-213.
 29. Kim JH, Song JM. A Study on the Theory of JangBu(臟腑) in Sasang Constitutional Medicine. *J of Sasang Constitutional Medicine*. 2004;16(1):20-36.
 30. Hwang MW. The lecture of Sasang constitution. 2nd Edition. Seoul;Koonja. 2013:33-45.

31. Park SS. Donguisoosebowon sasangchobon-kwon. Pathology of Gan(hepatic system). Journal of Seoul;Jipmoondang. 2002:138-144. Korean Medicine. 1984;5(1):141-144.
32. Jeong WY. Oriental Medical study on the