

택사/저령 추출물이 사람 중간엽 줄기세포의 지방세포 분화에 미치는 영향

유성률¹, 김시현¹, 신선미²

¹세명대학교 임상병리학과, ²세명대학교 한의과대학 내과학교실

The Effect of *Alisma canaliculatum* and *Polyporus umbellatus* Extracts on Adipogenic Differentiation of Human Bone Marrow Derived Mesenchymal Stromal Stem cells

Sung-ryul Yu¹, Si-hyun Kim¹, Seon-mi Shin²

¹Dept. of Clinical Laboratory Science, Se-Myung University

²Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Se-Myung University

ABSTRACT

Objective: This study investigated the effect of purified medical herb extracts such as *Alisma canaliculatum* and *Polyporus umbellatus* on adipogenic differentiation of human bone marrow derived mesenchymal stromal stem cells (hBMSCs).

Methods: Two different medical herb were extracted using hot distilled water. The optimal concentration of extracts were fixed at 100 ng/ml by means of cell viability and cytotoxic assay. To test the adipogenic differentiation ability of extracts, we induced the adipogenesis of hBMSCs for 21 days. At day 5, the cell was harvested to check mRNA and protein expression level of adipogenic related factors. The efficacy of lipid droplet formation was evaluated using the oil-red O staining method at days 21.

Results: Two different medical herb extracts have no toxicity on hBMSCs. And two different medical herb extracts significantly decreased formation of lipid droplet compared with control groups in hBMSCs. The *A. canaliculatum* extract group showed the lowest mRNA and protein expression level of adipogenic related transcription factors. This data suggests that extract of *A. canaliculatum* and *P. umbellata* decrease the adipogenic differentiation of hBMSCs.

Conclusions: Our findings indicate that water-extract of *A. canaliculatum* and *P. umbellata* will be useful therapeutic reagents for prevention of obesity related disease such as diabetes, hyperlipidemia, coronary artery disease, and osteoporosis.

Key words: hBMSCs, Adipogenic differentiation, *Alisma canaliculatum*, *Polyporus umbellata*

1. 서 론

사람 중간엽 줄기세포(Human bone marrow derived mesenchymal stromal stem cells(hBMSCs))는 자

가재생능 뿐 아니라, 지방세포, 골아세포, 그리고 연골세포로 분화할 수 있는 잠재력이 있는 세포로 다양한 연구에 이용되고 있다^{1,2}. 특히, 골아세포와 지방세포의 경우 생성 및 분화 불균형에 의해 골다공증과 같은 노인성 질환이 유발될 수 있다^{3,4}. 골다공증은 뼈의 강도 및 통합성이 감소되는 대표적인 노인성 질환이다. 우리 몸의 뼈는 오래된 뼈의 흡수와 재생의 과정이 반복되어 적당한 골량을 유지하게 되는데, 나이가 들면, 뼈가 흡수된 자리

· 투고일: 2018.11.28, 심사일: 2018.12.31, 게재확정일: 2019.01.02
· 교신저자: 신선미 충청북도 제천시 세명로 65
세명대학교 부속 제천한방병원
TEL: 043-649-1814 FAX: 043-645-1382
E-mail: bunggujy21@hanmail.net

에 새로운 뼈의 재생 대신 지방세포가 채워지게 되므로 결국 뼈의 양과 질이 떨어지게 되는 골다공증이 유발된다^{5,6}. 골다공증으로 인한 고관절 골절은 노년의 삶의 질을 떨어뜨릴 뿐 아니라, 수술 후 1년 후 사망률 또한 증가하는 추세로 노년기 심각한 질환으로 대두되고 있다^{7,8}. 골다공증 외에 연골 및 골결손 관련질환들 역시 비만과 밀접한 관련이 있고, 2000년대부터 세계보건기구는 대포 의료 문제 중 하나로 비만을 지정하기도 하였다⁹⁻¹¹. 따라서, 고령화 시대에 염려되는 질병의 예방을 위해, 사람 중간엽 줄기세포의 지방세포 분화를 조절할 수 있는 물질에 관한 연구는 필수적이다.

한약추출물은 이차대사산물이 풍부하게 함유되어 있기 때문에 피부의 미백, 항산화, 항주름 등의 생리활성효과를 나타내는데¹², 이전 본연구팀의 연구에서 홍화씨 추출물이 마우스 골수유래 줄기세포의 골아세포 분화를 촉진시킴을 확인하였고, 홍화추출물은 마우스 골수유래 줄기세포의 골아세포 분화를 촉진시킴과 동시에 지방세포분화를 억제함을 보고하였다^{13,14}. 현재 골다공증 치료제 시장에서는 비스포스포네이트 계열의 골흡수 억제제가 가장 많이 사용되고 있지만, 다양한 부작용이 유발되고 있어 사용에 한계가 있다^{15,16}. 최근, 근골격계 질환에 주로 쓰이는 한약재인 천수근(*Harpagophytum procumbens*)의 항골다공증·항염증 효과 및 기작이 학회에 보고되기도 하면서, 화합물의 부작용을 대체할 만한 천연물을 이용한 약물 개발 연구가 활발하다¹⁷.

텍사(*Alisma canaliculatum*)는 텍사과(*Alismataceae*)에 속하는 여러 해 살이 식물로 *A. canaliculatum*의 덩이줄기를 건조한 것으로 간을 보호하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다¹⁸. 텍사 열수 추출물이 고지방식이 유도 비만 생쥐에 미치는 영향을 알아본 연구에서, 체중 감량, 혈중 고지혈증 관련 인자 및 지방조직의 감소를 통해 항비만 효능의 기능이 있음을 보고하였다¹⁹. 저령(*Polyporus umbellatus*)은 이노제, 종양치료 및 신장질환치료 약물로 사용

되어 왔으며, 저령의 생리 활성 효능은 다당체에 의한다는 여러 보고가 있으며, β -glucan과 같은 저령 다당체는 사람의 폐암, 위암과 자궁경부암 등을 치료하는 항종양효능을 갖는다고 보고되었다^{20,21}. 한편 저령 다당체가 동물실험에서 유발된 암에 대하여도 항종양효능이 보고되었으며^{22,23}, 대식세포의 기능을 증가시켜 면역효능을 증가시킨다는 보고도 있다²⁴⁻²⁶. 간세포에 대하여는 저령 다당체가 만성 간염치료 효능이 있으며²⁷, 간암 치료시에 사용하는 mitomycin C의 작용을 증강시킨다는 보고가 있다²⁸. 이외에 모발의 성장을 촉진 시킨다는 보고도 있다^{29,30}. 하지만, 텍사와 저령의 사람 중간엽 줄기세포의 지방세포분화에 대한 연구는 미흡한 상태다.

따라서 본 연구는 임상에서 함께 사용되어지는 텍사와 저령 열수추출물이 사람 골수유래 중간엽 줄기세포의 지방세포 분화에 미치는 영향을 알아보고 효능을 검증함으로써, 기존 비만관련 질환치료제를 대체할 만한 새로운 천연물 약물개발의 기초 자료를 제공하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 천연물 열수추출물

세명대학교 부속 제천한방병원에서 구입한 텍사와 저령을 이용하여 연구를 진행하였다. 열수추출물은 95 °C에서 150 분간 물과 함께 끓인 뒤, Whatman 종이로 걸렸다. 걸러진 추출액은 55 °C에서 농축시킨 후, 동결 건조 시켰다.

2. hBMSCs세포의 배양 및 지방분화 유도

실험에 사용된 hBMSCs는 Lonza(Lonza, Walkersville, MD, USA)에서 구입하였다. hBMSCs는 기본 배양액(10% 우태 혈청, 1% antibiotic-antimycotic, 5 mM L-glutamine용액이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM, Gibco, Carlsbad, CA)으로 2일에 한 번씩 갈아주며 5% CO₂, 37 °C 인큐베이터에서 배양 하였다. 1차 배양된 hBMSCs를

1.5×10^5 cells/well로 6 well 배양 용기에 첨가하여 하룻밤 안정화 시킨 후, 5 ug/mL insulin, 1 mM dexamethasone, 0.5 mM 3-isobutyl -1-methylxanthine, 그리고, 200 mM indomethacin(Sigma, St. Louis, MO)이 포함된 지방분화 유도배지를 2일에 한번씩 새로이 교체 해 주며 21일 동안 분화를 유도하였다.

3. 세포 독성 측정

hBMSCs 세포에 대한 열수추출물의 독성은 세포에 추출물을 0~500 ng/ml의 농도로 처리하여 48 시간 동안 키우고, 대조군으로는 멸균수를 처리하였으며, 세포의 생존력을 EZ-CYTOX kit(Daeillab, Seoul, Korea)로 측정하였다. 구체적으로, 세포를 4×10^4 cells/well 수로 48 well plate에 분주 후 12 시간 동안 배양하고, 열수추출물을 각각 다양한 농도(0~500 ng/ml)로 첨가하여 36시간 동안 더 배양하였다. 전체 48시간 배양 후, 배양된 세포에 40 μ l EZ-CYTOX를 넣고 37 °C에서 4시간 동안 반응시켰다. 흡광도는 microplate reader에서 450 nm 흡광도 값을 측정하였고, 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 세포의 생존력을 나타내었다.

4. Real-time PCR을 이용한 유전자 발현 분석

hBMSCs를(1.5×10^5 /well(6well 기준)) DMEM 기본 배지에서 12시간 이상 안정화 시킨 뒤, 각 추출물 100 ng/ml과 함께 5일간 지방분화 배지에서 분화 유도하였다. 이때, 대조군으로는 멸균수를 처리하였다. 추출물과 지방분화 배지는 이틀에 한 번씩 새로이 교체해 주었다. RNA는 지방분화 유도된 세포로부터 RNeasy Mini Kit(QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 추출하였고, 역전사 중합효소인 ominuscript RT Kit(QIAGEN)를 이용하여 37 °C에서 90분, 95 °C에서 5분 조건으로 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA 100 ng을 주형으로 사용하여 2x qPCR BIO SyGreen Mix Hi-Rox(PCR Biosystems, London, UK)를 이용한 real-time PCR

을 수행하였고, 유전자 발현양은 house keeping 유전자인 GAPDH에 대비한 CT값을 계산하여 산출하였다.

5. Western Blot을 이용한 단백질 발현 분석

hBMSCs를(1.5×10^5 /well(6well 기준)) DMEM 기본 배지에서 12시간 이상 안정화 시킨 뒤, 각 추출물 100 ng/ml과 함께 5일간 지방분화 배지에서 분화 유도하였다. 이때, 대조군으로는 멸균수를 처리하였다. 추출물과 지방분화배지는 이틀에 한 번씩 새로이 교체해 주었다. 단백질은 지방분화 유도된 세포를 1X Lysis 용액을 이용하여 추출하였고, Bio-Rad protein assay kit(Hercules, CA, USA)를 사용하여 정량하였다. 각 25 ug의 단백질은 10% SDS-PAGE gel에서 120V로 2시간 30분간 전기영동 하였으며, 전기영동으로 분리된 단백질은 70V로 90분 동안 저온실에서 membrane으로 옮겼다. Blocking은 5% non-fat skim milk solution으로 실온에서 1시간 실시하였고, 일차항체는 1% non-fat skim milk solution에 1:1000으로 저온실에서 18시간 이상 반응시켰다. 일차 항체와 결합된 membrane을 Tris-Buffered Saline and 0.05% Tween 20(TBS-T) 용액으로 10분씩 3회 세척하고, 이차항체를 1% non-fat skim milk solution에 1:5000 비율로 희석하여 실온에서 1시간 반응시켰다. TBS-T 용액으로 10분씩 3회 세척함으로써 비특이적으로 결합된 항체를 세척하였고, ECL detection kit를 이용하여 단백질 밴드를 확인하였다. 단백질 발현은 house keeping 단백질인 GAPDH에 대비하여 비교 평가하였다.

6. Oil-red O 염색과 탈색

hBMSCs를(1.5×10^5 /well(6well 기준)) DMEM 기본 배지에서 12시간 이상 안정화 시킨 뒤, 각 추출물 100 ng/ml과 함께 21일간 지방세포분화 배지에서 지방분화 유도하였다. 역시, 대조군으로는 멸균수를 처리하였다. 21일간 분화 유도된 세포를

phosphate buffered saline(PBS)로 두 차례 세척하고, 10% 포르말린 용액으로 30분간 실온에서 고정하였다. 고정된 세포를 증류수로 2회 세척, 60% isopropanol 용액으로 5분간 반응시킨 뒤, 0.3% Oil-red O 용액으로 60분간 염색하였다. 다시 증류수로 1회 세척하여 비특이적으로 염색된 부분을 제거하여 건조시킨 후, 위상차 현미경을 이용하여 관찰하였다. 탈색은 100%(w/v) isopropanol 용액으로 실온에서 30분간 염색된 지방구를 용해하였고, 상층액을 96 well microplate에 옮긴 후, 흡광도 500 nm에서 값을 측정하였다.

7. 통계 분석

모든 데이터는 3번 반복한 실험값을 이용하였으며, 평균치±표준 편차로 표시했다. 각 군 간의 유의성 평가는 ANOVA & post-hot 분석을 이용하였고, $p < .05$ 를 유의한 값으로 평가하였다.

III. 결 과

택사와 저령의 열수 추출물은 각각 택사와 저령 분말 10 g으로부터 96.0 mg/ml, 96.8 mg/ml을 얻었으며, 세포 독성은 추출물의 처리 농도를 0~500 ng/ml 범위로 시행하였다. 그 결과 택사와 저령 열수추출물의 모두 모든 농도에서 85% 이상의 세포 생존율을 나타내어 hBMSCs에 대한 세포독성이 없음을 확인하였고, 택사 500 ng/ml의 경우 오히려 세포의 성장을 촉진 시키는 효과도 있었다. 저농도에서 고농도까지 세포독성 테스트를 하였을 때, 두

물질 모두 100 ng/ml에서 100%에 가장 가까운 결과가 나왔고, 이런 결과를 토대로 이후 모든 실험에 이용된 택사와 저령 열수추출물의 농도는 정확한 분화능을 테스트하기 위해 100 ng/ml로 정하였다(Fig. 1).

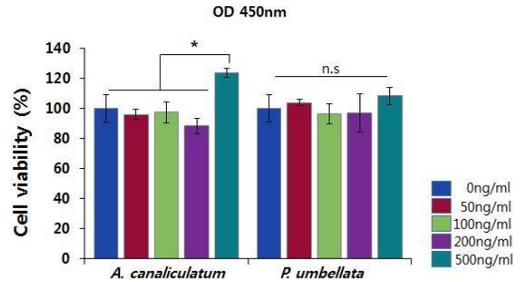


Fig. 1. Cytotoxic effect of purified medical herb water extracts on hBMSC cells.

Each experiment was performed in triplicate (n=3). All error bars indicate ±SEM. $P < 0.05$ was considered statistically significant. *, $P < 0.05$. OD 450 nm, optical density at 450 nm. n.s, no significance.

택사와 저령 열수추출물 각각이 지방세포 분화에 미치는 영향을 알아보기 위해 그룹을 대조군, 택사 열수추출물, 저령 열수추출물의 세 그룹으로 분류하고, 각각의 추출물을 대조군과 함께 분화 첫 날부터 21 일간 지방분화유도 배지에 첨가하여 21 일 뒤, 각 그룹에서 형성된 lipid droplet을 oil-red O 염색을 통해 측정하였다. 그 결과, 택사와 저령 열수추출물을 처리한 군의 lipid droplet 형성능이 대조군에 비해 25% 미만으로 현저히 감소함을 확인하였다(Fig. 2).

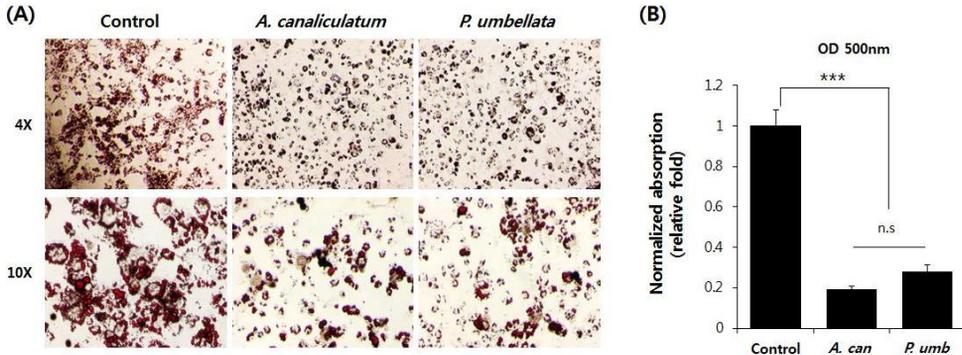


Fig. 2. Reduced adipogenic differentiation in medical herb water extracts treated group.

(A) Oil Red O staining was performed at day 21 of adipogenesis in hBMSCs. All extracts were treated 100 ng/ml concentrations. (B) Quantification of Oil Red O staining. Quantification was performed in triplicate (n=3). All data represent mean±s.e.m. $P<0.05$ was considered statistically significant. ***, $P<0.001$. OD 500 nm, optical density at 500 nm. n.s, no significance. *A. can*, *Alisma canaliculatum*. *P. umb*, *Polyporus umbellatus*.

택사와 저령 열수추출물에 의해 감소된 지방세포 분화능을 토대로, 각각 추출물이 지방세포 분화 관련 유전자들의 mRNA 발현에 미치는 영향을 real time PCR을 통해 확인하였다. 그 결과, 택사 열수추출물을 처리한 군에서 지방세포분화 전사인자인 PPAR- γ , C/EBP- α 및 lipid droplet 형성 관련 유전자인 Adiponectin과 Leptin의 mRNA 발현이 가장 낮음을 확인하였고, 저령 열수추출물을 처리한 그룹의 지방세포 분화 관련 유전자들의 mRNA 발현 역시 대조군에 비해 C/EBP- α 를 제외하고는 현저히 감소됨을 확인하였다. 이러한 결과는 앞선 oil-red O 염색의 결과와도 일치하였다(Fig. 3).

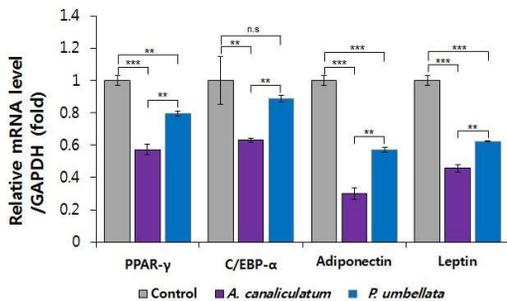


Fig. 3. Reduced mRNA expression level of adipogenic related genes in medical herb water extracts

treated group.

Relative mRNA levels of adipogenesis-related genes such as PPAR- γ , C/EBP- α , ADIPONECTIN, and LEPTIN in hBMSCs by RT-PCR were analyzed at day 5 after adipogenesis. All extracts were treated 100 ng/ml concentrations. All mRNA levels were normalized with GAPDH. Each experiment was performed in triplicate (n=3). All data represent mean±s.e.m. $P<0.05$ was considered statistically significant. *, $P<0.05$, **, $P<0.01$ ***, $P<0.001$. n.s, no significance.

택사와 저령 열수추출물이 hBMSCs의 지방세포 lipid droplet 형성을 감소시킨 결과가 분화기간동안 전사인자인 PPAR- γ 와 C/EBP- α 의 단백질 발현에 영향을 미친것인지 확인하기 위해, western blot analysis를 이용하여 PPAR- γ 와 C/EBP- α 의 단백질 발현 레벨을 확인하였다. 그 결과, 택사와 저령 열수추출물이 hBMSCs의 PPAR- γ 와 C/EBP- α 의 mRNA 발현을 감소시킨 결과와 마찬가지로, 지방분화 대표 전사인자들의 단백질 발현 레벨 또한 대조군에 비해 현저히 감소함을 확인하였다(Fig. 4). 이러한 결과는 택사와 저령 열수추출물이 hBMSCs의 지방세포 분화를 억제하는 효과가 있음을 검증하는 결과이다.

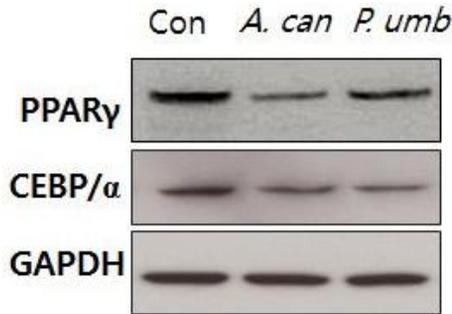


Fig. 4. Reduced protein expression of adipogenic related proteins in medical herb water extracts treated group.

All extracts were treated 100 ng/ml concentrations. Western blot analysis was performed at day 5 of adipogenesis in control and medical herb water extracts treated hBMSCs. GAPDH was used as control and all experiment was performed in triplicate (n=3). Con, control. *A. can*, *Alisma canaliculatum*. *P. umb*, *Polyporus umbellatus*.

IV. 고찰

비만은 21세기 신중전염병으로 까지 불리며 만병의 근원으로 고령화 사회에서 대두되고 있는 질환이다¹¹. 비만은 당뇨병, 고혈압, 지방간, 관상동맥 질환(협심증, 심근경색증), 골다공증, 골관절염, 월경이상 및 암 등 다양한 합병증을 유발하고 특히, 인종과 성별, 나이에 상관없이 지속적으로 증가하고 있어 인류의 건강을 위협하는 반드시 치료되어야 할 질병으로 간주된다³¹. 비만의 원인이 크게 원발성과 이차성 비만으로 나뉜다. 쉽게 말하자면, 에너지의 섭취와 소모의 불균형으로 인한 원발성 비만과, 질환이나 약물 또는 유전적 질환으로 인한 이차성 비만을 의미한다³². 하지만, 두 종류 모두 그 발생 원인과 기전이 확실히 규명되지 않아 적절한 치료제가 없는 실정이며, 국내외 제약업체들의 비만치료제 개발이 고조되고 있다. 비록, 현재 까지 밝혀진 비만의 원인인 지방의 소화 및 흡수를 억제하는 Orlistat 제제와 식욕을 억제해 음식물 섭취를 줄이고 에너지 소비를 증가시키는 Sibutramine

제제가 시장을 점령하고 있으나, 일시적인 효과 및 구토, 피부발진과 같은 부작용 또한 문제시 되고 있다^{33,34}. 따라서, 합성 의약품에 비해 부작용 및 독성이 적은 천연물로부터 항비만 효과를 나타내는 요소 및 이들의 작용기전에 대한 연구들이 활발히 진행 중이다. 특히, 우리나라의 경우, 한의약 관련 시장이 활발한 상태이므로 외국에 비해 천연물 유래 항비만 치료제의 개발에 유리하다고 할 수 있다.

특허청에 따른 천연물 유래 항비만 치료제는 식물추출물, 광물 및 동물, 미생물 추출물의 순으로 식물 추출물이 우위에 있으며, 작용기전별로는 지방 흡수 억제제, 지방세포분화 억제제, 호르몬 조절제, 열대사 촉진제 그리고 식욕억제제의 순으로 나열 할 수 있다. 따라서, 본 연구에서 검증한 택사와 저령과 같은 식물 추출물에 의한 지방세포분화 억제효과는 항비만 치료제 개발 분야에서 핵심 부분임을 알 수 있다. 또한, 비만으로 인해 유발되는 심각한 질병중의 하나로 골다공증을 들 수 있다. 골다공증은 노령인구에서 고관절 골절이라는 생명의 위협을 주는 심각한 질병을 야기하는 질환이다³⁵. 비만과 골감소에 대해 지금까지는 서로 베타적이었지만, 최근 들어 근육, 뼈, 지방 사이의 복잡한 관계를 규명하는 다양한 연구들에 의해, 각조직을 형성하는 세포의 분화단계에서 나오는 사이토카인 및 다양한 분화 전사인자들의 메카니즘이 밝혀지고 있다. 또한 이들 인자들이 중간엽 줄기세포의 분화단계에서 다른 조직의 여러 세포와 이화/동화 과정에 어떠한 경로로 영향을 주는지에 대한 추가적인 연구들도 활발하고, 특히, 지방세포와 골아세포의 균형을 담당하는 전사인자의 분자적 메카니즘이 속속 규명되고 있다. 임상에서는 이미 복부비만에 의해 낮아진 골밀도에 대한 보고는 다수이며, 지방세포로부터 분비되는 나쁜 염증 물질 또한 골밀도를 저하시키는 주된 원인임이 보고된다³⁶.

현존하는 골다공증 치료제는 파골세포의 기능을 저해하는 작용기전에 기반을 둔 약제들이며, 조골세포의 기능을 향상시키는 비스포스포네이트 계열

의 약제에 의한 부작용으로, 뚜렷한 약제는 없는 실정이다.^{37,38} 따라서, 또 하나의 주요세포인 지방세포의 분화를 조절할 수 있는 새로운 물질의 발굴 및 비만치료제로의 개발에 대한 연구는 반드시 필요한 실정이다. 지방세포의 분화는 전구세포에서 성숙한 지방세포로 되는 과정을 거치며, 이때 지방분화 조절 전사인자인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현이 핵심 역할을 한다. PPAR γ 는 지방분화전기간에 발현하며, 분화상태를 유지하는 필수요소이며, C/EBP α 의 경우에는 지방세포분화의 PPAR γ 의 발현을 촉진시켜 초기 및 말기과정에 전반적으로 작용한다고 알려져 있다.¹³

텍사와 저령은 한국과 중국에서 흔히 사용되는 한약재이며, 시중에서 구하기 용이하다. 텍사는 성질이 차고 맛이 달며 방광의 열을 없애고 소변의 방출을 용이하게 한다고 보고된다.³⁹ 또한, 동물실험에서 체중, 총지방량, 중성지방, LDL, 및 총콜레스테롤량 등을 줄인다고 보고되며, 고지방식으로 인해 유발된 비만에 대한 항비만 효과를 보였다.¹⁹ 저령은 심신치료 및 간장의 기운을 돋우는 성질로 인해 인삼이나 감초보다 더 많이 사용되어지는 약재이다.⁴⁰ 기존 연구에서 텍사 열수 추출물이 고지방식이 유도 비만 생쥐에 미치는 영향을 알아본 연구에서, 체중 감량, 혈중 고지혈증 관련 인자 및 지방조직의 감소를 통해 항비만 효능의 기능이 있음을 보고되었으며¹⁸, 이에 임상에서 利水, 利尿 등으로 함께 자주 사용되어지는 텍사와 저령 열수추출물이 사람 골수유래 중간엽 줄기세포의 지방세포 분화에 미치는 영향을 알아보고 효능을 검증함으로써, 기존 비만관련 질환치료제를 대체할만한 새로운 천연물 약물개발의 기초 자료를 될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서 텍사와 저령 열수추출물이 hBMSCs 세포의 지방분화에 미치는 영향을 알아본 결과, 열수추출물에 의해 지방세포의 lipid droplet 형성이

현저히 억제됨을 확인하였으며, 지방세포 분화과정에서 핵심 전사인자인 PPAR γ , C/EBP α 의 mRNA 및 단백질 발현 역시 억제됨을 확인하였다. 텍사와 저령 열수추출물은 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현을 현저히 억제함으로써 lipid droplet 형성 관련 유전자인 Adiponectin 뿐 아니라 Leptin의 mRNA 발현을 감소시켰다.

종합해 보면, 텍사와 저령이 사람 중간엽 줄기세포의 지방세포 분화를 현저히 억제하는 결과를 토대로 세포의 지방분화를 억제할 수 있는 천연물의 개발은 한의학계 및 식품영양학계에서 비만관련 질환을 타겟으로 신약과 식품보조제의 개발을 위한 기초 연구 및 임상적용을 위한 자료로 제공될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Martin DR, Cox NR, Hathcock TL, Niemeyer GP, Baker HJ. Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline bone marrow. *Exp Hematol* 2001;30(8):879-86.
2. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284(5411):143-7.
3. Jung HS, Lee YJ, Kim YH, Paik SI, Kim JW, Lee JW. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma/signal transducers and activators of transcription 5a pathway plays a key factor in adipogenesis of human bone marrow-derived stromal cells and 3T3-L1 preadipocytes. *Stem*

- Cells Dev* 2012;21(3):465-75.
- Duque G. Bone and fat connection in aging bone. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20(4):429-34.
 - Moerman EJ, Teng K, Lipschitz DA, Lecka-Czernik B. Aging activates adipogenic and suppresses osteogenic programs in mesenchymal marrow stroma/stem cells: the role of PPAR-gamma2 transcription factor and TGF-beta/BMP signaling pathways. *Aging Cell* 2004;3(6):379-89.
 - Yeung DK, Griffith JF, Antonio GE, Lee FK, Woo J, Leung PC. Osteoporosis is associated with increased marrow fat content and decreased marrow fat unsaturation: a proton MR spectroscopy study. *J Magn Reson Imaging* 2005;22(2):279-85.
 - Ferrari S, Reginster JY, Brandi ML, Kanis JA, Devogelaer JP, Kaufman JM, et al. Unmet needs and current and future approaches for osteoporotic patients at high risk of hip fracture. *Arch Osteoporos* 2016;11(1):37-48.
 - Magaziner J, Simonsick EM, Kashner TM, Hebel JR, Kenzora JE. Predictors of functional recovery one year following hospital discharge for hip fracture: a prospective study. *J Gerontol* 1990; 45:M101-M7.
 - Kawai M, Devlin MJ, Rosen CJ. Fat targets for skeletal health. *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5(7):365-72.
 - Pei L, Tontonoz P. Fat's loss is bone's gain. *J Clin Invest* 2004;113(6):805-6.
 - World Health Organization (WHO). Obesity and overweight in Media centre. 2011.
 - Pourali P, Yahyaei B. (2018). Wound healing property of a gel prepared by the combination of *Pseudomonas aeruginosa* alginate and *Alhagi maurorum* aqueous extract in rats. *Dermatol Ther* 2018:e12779.
 - Yu SR, Shin SM. Effects of *Carthamus Tinctorius* Extract on Adipogenic Differentiation of Mouse Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Stem Cells. *Korean J Orient Int Med* 2017; 38(1):1-9.
 - Yu SR. The Effect of Medical Herb Extract on Osteogenic Differentiation in MC3T3-E1 Cells. *한국보건의과학회지* 2015;9(1):17-22.
 - Diel I, Bergner R, Grötz K. Adverse effects of bisphosphonates: current issues. *J Support Oncol* 2007;5(10):475-82.
 - McClung M, Harris S, Miller P, Bauer D, Davison K, Dian L, et al. Bisphosphonate therapy for osteoporosis: benefits, risks, and drug holiday. *Am J Med* 2013;126(1):13-20.
 - Chung HJ, Kim WK, Oh J, Kim MR, Shin JS, Lee J, et al. Anti-Osteoporotic Activity of Harpagoside by Upregulation of the BMP2 and Wnt Signaling Pathways in Osteoblasts and Suppression of Differentiation in Osteoclasts. *J Nat Prod* 2017;24(80):434-42.
 - Seo BI, Jeong GY. The easily understanding herbology. Kyungsan: publishing department of Daegu Haany university; 2012, p. 185-6.
 - Jeong HS. Efficacy of *Alismatis Orientale Rhizoma* on Obesity induced by High Fat Diet. *Kor J Herbology* 2013;28(3):95-106.
 - Lu W, Adachi I, Kano K, Yasuta A, Toriizuka K, Ueno M, et al. Platelet aggregation potentiators from cho-rei. *Chem Pharm Bull* 1985;33(11): 5083-7.
 - Sato K, Osawa M, Suzuki Y, Oikawa S. Difference in fruiting capability of stocks in *Grifola Frondosa* and its allied species. *Trans Mycol Soc Japan* 1984;25:205-9.
 - Miyazaki T, Oikawa N, Yadomae T, Yamada H, Yamada Y. Relationship between the chemical structure and antitumor activity of glucans

- prepared from *Grifolla umbellata*. *Carbohydrate Research* 1979;69(1):165-70.
23. Ueno Y, Okamoto Y, Yamauchi R, Kato K. An antitumor activity of the alkali-soluble polysaccharide (and its derivatives) obtained from the sclerotia of *Grifora umbellata*. *Carbohydrate Research* 1982;101(1):160-7.
 24. Zhang Y, Liu Y, Yan SC. Effect of *Polyporus umbellatus* polysaccharide on function of macrophages in the peritoneal cavities of mice with lesions. *Cheih Ho Tsa Chih* 1991;11(4):225-6.
 25. May L, Yun SC. Therapeutic investigation of *Polyporus umbellatus* polysaccharide on the children with pure immunity. *J Traditional Chinese Medicine (China)* 1990;3:168-9.
 26. Chang YF, Liu YY, Yun SC. Effect of *Polyporus umbellatus* polysaccharides on macrophages of liver damaged mice. *Integrated J Chinese and Western Medicine (China)* 1991;11:225-6.
 27. Xiong LL. Therapeutic effect of combined therapy of *Salvia miltiorrhizae* and *Polyporus umbellatus* polysaccharide in the treatment of chronic hepatitis B. *Cheih Ho Tsa Chih* 1993;13(9):516-7.
 28. You JS, Hau DM, Chen KT, Huang HF. Combined effects of chullung (*Polyporus umbellatus*) extract and mitomycin C on experimental liver cancer. *Am J Chin Med* 1994;22(1):19-28.
 29. Ishida H, Inaoka Y, Shibatani J, Fukushima M, Tsuji K. Studies of the active substances in herbs used for hair treatment II Isolation of hair regrowth substances acerosyringone and polyporusterone A and B from *Polyporus umbellatus* fries. *Biol Pharm Bull* 1999;22(1):1189-92.
 30. Ishida H. Studies of active substances in herbs used for hair treatment IV. The structure of the hair growth substance, polypurusterone A from *Polyporus umbellatus* fries. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1999;47(11):1626-8.
 31. Park JB, Lee HS, Hwang SY, Hong SB, Kim HD, Yun CY. Effect of combined plant extracts on anti-obesity in rats fed a high-fat diet. *Kor J Aesthet Cosmetol* 2011;9(1):25-34.
 32. Kwon HJ, Park YG. Statistical trends in family medicine journals. *Korean J Fam Med* 2012;33(1):9-16.
 33. Padwal RS, Majumdar SR. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet* 2007;369(9555):71-7.
 34. Al-Tahami BA, Al-Safi Ismail AA, Sanip Z, Yusoff Z, Shihabudin TMT, Singh TSP, et al. Metabolic and Inflammatory Changes with Orlistat and Sibutramine Treatment in Obese Malaysian Subjects. *J Nippon Med Sch* 2017;84(3):125-32.
 35. LaFleur J, McAdam-Marx C, Kirkness C, Brixner DI. Clinical risk factors for fracture in postmenopausal osteoporotic women: A review of the recent literature. *Ann Pharmacother* 2008;42(3):375-86.
 36. Cao JJ. Effects of obesity on bone metabolism. *J Orthop Surg Res* 2011;6:30.
 37. Chen JS, Sambrook PN. Antiresorptive therapies for osteoporosis: a clinical overview. *Nat Rev Endocrinol* 2011;8(2):81-91.
 38. Stepan JJ, Alenfeld F, Boivin G, Feyen JH, Lakatos P. Mechanisms of action of antiresorptive therapies of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Regul* 2003;37(4):225-38.
 39. Wu JN. An illustrated Chinese materia medica. New York: Oxford University Press: 2005, p. 59, 111, 225, 235, 403, 565.

40. Kaminage T, Yasukawa K, Kanno H, Tai T, Nunoura Y, Takido M. Inhibitory effects of lanostane-type triterpene acids, the components of *Poria cocos*, on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Oncology* 1996; 53(5):382-5.