

고지방식이 유도 비만 생쥐에 대한 승양제습탕의 항비만 효과

김정민 · 최수민 · 우창훈 · 안희덕
대구한의대학교 한의과대학 한방재활의학과교실

The Anti-obesity Effect of *Seungyangjeseup-tang* for High Fat Diet Induced Obese Mice

Jung-Min Kim, K.M.D., Soo-Min Choi, K.M.D., Chang-Hoon Woo, K.M.D., Hee-Duk Ahn, K.M.D.
Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Daegu Hanny University

RECEIVED June 8, 2018
REVISED June 29, 2018
ACCEPTED July 5, 2018

CORRESPONDING TO
Hee-Duk Ahn, Department of
Rehabilitation Medicine of Korean
Medicine, College of Korean
Medicine, Daegu Hanny University
136 Sincheondong-ro, Suseong-gu,
Daegu 42158, Korea,

TEL (053) 770-2116
FAX (053) 770-0566
E-mail okee@dhu.ac.kr

Copyright © 2018 The Society of
Korean Medicine Rehabilitation

Objectives This study was designed to evaluate the efficacy of *Seungyangjeseup-tang* on obesity by using 3T3-L1 cells and high fat diet mice.

Methods *In vitro*, *Seungyangjeseup-tang* extract (SYJST) (10, 50, 100, 200, 400, 800 μ g/mL) were added in 3T3-L1 cells. SYJST cytotoxicity was measured by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Adipocyte differentiation was measured by Oil Red-O staining. *In vivo*, the experimental animals were divided into five groups: normal diet-fed normal group (N), high-fat diet (HFD)-fed control group (Con), HFD+SYJST 100 mg/kg group (SY100), HFD+SYJST 200 mg/kg group (SY200), and HFD+olistat 60 mg/kg as a positive drug control group (Orli). Markers of obesity, such as body weight, liver weight, food intake, serum total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), liver tissue TC, TG and fecal TC, TG were measured.

Results *In vitro*, cytotoxicity was not significant compared with the control group. 3T3-L1 cell's differentiation was significantly decreased in Oil Red-O staining. *In vivo*, compared with controls, mice treated with SYJST demonstrate lower body and liver weight, and reduced food intake. In addition, SYJST increased TC, TG in the serum but not significance. And SYJST showed decreasing tendency TC, TG in the liver tissue. Furthermore, SYJST increased TC, TG in the fecal but not significance.

Conclusions Based on the results above, *Seungyangjeseup-tang* may reduce adipocyte differentiation, body fat, food intake, liver weight in obesity. This suggests that *Seungyangjeseup-tang* may be clinically useful in obesity treatment. (**J Korean Med Rehabil 2018;28(3):1-11**)

Key words *Seungyangjeseup-tang*, Obesity, 3T3-L1 cell

서론»»»»

비만은 에너지의 섭취량이 소모량보다 더 클 때 여분의 에너지가 지방으로 축적되는 상태를 말한다. 비만한 사람의 경우 제2형 당뇨병, 대사증후군, 관상동맥질환, 고혈압 등과 같은 대사 이상으로 인한 질환 및 과도한 체중

에 의한 골관절염, 허리통증 등의 질환을 동반할 위험이 높아진다. 이로 인하여 비만은 장애발생률 및 사망률을 유의하게 높이며 삶의 질 또한 저하되게 만든다¹⁾.

비만 치료로는 식이 조절, 생활습관 교정, 운동을 통한 신체활동 증가, 약물 복용, 수술 등이 있다²⁾. 그런데 여기서 사용되는 약물 중 일부 비만 치료제는 체중감소의 효

과가 있음에도 불구하고 동반되는 부작용으로 인해 복용이 제한되고 있다³⁾. 따라서 보다 안전하면서 체중감소에 효과적인 한약을 통한 비만 치료 약물의 개발에 관한 연구가 활발해지고 있다⁴⁾.

한의학에서는 비만에 대해 肥, 肥人, 肥貴人 등으로 표현하였으며⁵⁾, 원인은 穀氣承元氣, 脾胃俱虛, 脾胃俱旺, 痰飲, 氣虛, 脾困邪承, 數食甘味 및 膏粱厚味 등이 있다고 하였다. 치법으로는 주로 韓藥, 體鍼, 藥鍼, 耳鍼, 附缸, 氣功療法, 節食療法, 埋線, 溫熱療法 등이 이용되고 있다^{6,7)}.

升陽除濕湯은 『東醫寶鑑』〈內景篇:大便-虛泄〉 부분에 수록된 처방으로 氣虛泄瀉, 不思飲食, 困弱無力을 치료한다고 되어 있다⁸⁾. 이는 비만의 원인 중 脾胃俱虛 및 痰飲, 氣虛로 인한 비만에 적용했을 때 임상적 유효성을 나타낼 것이라 사료되나, 현재까지 升陽除濕湯의 항비만 효과에 대한 연구는 이루어지지 않았다.

이에 저자는 升陽除濕湯이 지방세포의 분화 및 증식, 항비만에 미치는 영향을 연구하기 위해 3T3-L1 전지방세포를 통한 세포실험과 고지방식으로 비만을 유도한 생쥐로 동물실험을 진행하였다. 세포실험에서는 3T3-L1 세포에서의 adipogenesis 억제, 지방구의 수 및 크기를 평가 지표로 확인하였고, 동물실험에서는 체중, 식이섭취량, 간조직 무게, 혈청, 간조직, 분변 내 지질 함량을 평가지표로 확인하였다. 더불어 orlistat과 효과를 비교하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법»»»»

1. 재료

1) 3T3-L1 세포

이 실험에서 사용된 세포는 마우스 유래 3T3-L1 세포로 American Type Culture Collection (ATCC; Rockville, MD, USA)에서 분양받아서 사용하였다. 100 unit/mL의 penicillin-streptomycin, 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 배지를 이용하여 3T3-L1 전지방세포를 37°C, 5% CO₂ 환경에서 배양하였다.

2) 동물

대한바이오링크(DBL, Eumseong, Korea)에서 공급하는 4주령의 수컷 ICR mouse (20-25 g)를 공급받았고, 이후 실험 당일까지 1주간 고형 사료(Samyang corp., Seongnam, Korea) 및 물을 충분히 공급하였으며, 12시간 light-dark cycle 환경을 유지하면서 온도(22±2°C)와 습도(55±5%)가 조절된 사육공간에서 적응시킨 후 실험을 시작하였다. 그리고 동물실험에 있어 윤리적, 과학적 타당성 검토와 효율적인 관리를 위하여 대구한의대학교 동물실험 윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee: IACUC)의 승인(승인번호: DHU2016-041)을 받았다.

3) 시료

본 실험에 사용한 처방의 약재들은 『東醫寶鑑』⁸⁾에 의거하여 옹기한약(Ongkihanyak, Daegu, Korea)에서 구입하여 사용하였으며 1첩 분량은 다음과 같다(Table I). 升陽除濕湯 약재 33 g 분량에 10배수의 증류수를 가하여 열탕 추출기에서 2시간 추출한 후 얻은 추출액을 감압 증류장치를 이용하여 농축한 후에 동결 건조기를 이용하여 완전히 건조한 升陽除濕湯 추출물 분말(*Seungyangjeseup-tang extract*, SYJST) 5.80 g을 얻었고 수율은 17.58%였다. SYJST는 실험에 사용하기 전까지 -80°C에 보관하여 사용하였다.

4) 시약

본 실험에 사용된 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-di-

Table I. Composition of *Seungyangjeseup-tang*

Herb name	Pharmacognostic name	Amount (g)
蒼朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	6
升麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	3
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	3
羌活	<i>Osterici Radix</i>	3
防風	<i>Saposhnikoviae Radix</i>	3
神麴	<i>Massa Medicata Fermentata</i>	3
澤瀉	<i>Alismatis Rhizoma</i>	3
豬苓	<i>Polyporus</i>	3
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	2
麥芽	<i>Hordei Fructus Germinatus</i>	2
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2
Total amount		33

phenyltetrazolium bromide (MTT), 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), dexamethasone (DEX), insulin 그리고 Oil Red-O 는 Sigma Aldrich Co., Ltd. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)는 Wako Pure Chemical Industries Ltd. (Osaka, Japan)에서 구입하였고, Dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Junsei Chemical Co. (Tokyo, Japan)에서 구입하였다. Formaldehyde는 Bio Basic Inc. (Markham, ON, Canada)에서 구입하였고, DMEM, penicillin-streptomycin, phosphate-buffered saline (PBS), bovine calf serum (BCS)은 Welgene Inc. (Daegu, Korea)에서 구입하였다. FBS는 Gibco BRL (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

5) 실험기기

이 실험에 사용된 기기는 열탕추출기(Daewoongbio, Goesan, Korea), 감압 증류기(Buchi B-480, Flawil, Switzerland), 동결건조기(Ilshinbiobase, Dongducheon, Korea), deep-freezer (Sanyo Co., Osaka, Japan), 냉장고 속원심분리기(Hanil Science medical, Yuseong, Daejeon, Korea), vortex mixer, 전자체중계(Cas, Yangju, Korea), Sensi -Q2000 Chemidoc (Lugensci, Bucheon, Korea) 등이다.

2. 방법

1) *In vitro*

(1) 세포독성 평가

3T3-L1 전지방세포에서 升陽除濕湯의 세포독성은 MTT 분석법으로 평가하였다. confluent 상태의 3T3-L1 전지방세포에 SYJST를 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 배양액의 5%가 넘지 않게 양을 설정하여 24시간 동안 처리하였다. 이후 PBS로 용해시킨 2 mg/mL의 MTT 시약을 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 하여 100 unit/mL의 penicillin-streptomycin, 10% BCS가 함유된 DMEM 배지에 희석한 후 37°C incubator에서 1시간 동안 배양하였다. 반응이 끝나고 난 후 완전히 배지를 제거하고 DMSO 300 μL 를 첨가해 보라색의 formazan을 용해시켰다. 96-well plated formazan 용액을 100 μL 씩 넣은 후 microplate reader를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 어떠한 처리도 하지 않은 3T3-L1 전지방세포의 흡광도를 설정하

여 세포독성(% of control)을 평가하였다.

(2) 3T3-L1 지방세포분화 관찰

3T3-L1 전지방세포가 confluent 상태로 되었을 때를 Day -2라 표기하였고, 3T3-L1 전지방세포가 confluent 상태로 되고나서 2일 후 분화유도 배지(differentiation medium, DM)로 교체하고 Day 0이라 하였다. 분화유도 배지는 100 unit/mL의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 DMEM 배지에 500 μM 의 IBMX, 167 nM의 insulin, 5.2 μM 의 DEX를 포함해 Day 0에서부터 Day 2까지 48시간 동안 사용하였다. Day 2에서 Day 4까지 분화유도 후에 배지(post-differentiation medium, Post-DM)는 100 unit/mL의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 DMEM에 167 nM의 insulin만 포함한 후 사용하였다. 이후 100 unit/mL의 penicillin-streptomycin, 10% FBS가 함유된 DMEM은 Day 4에서 Day 6까지 사용하였고, 3T3-L1 지방세포의 분화는 Day 6에 종료되었다. SYJST는 분화 전기간(Day -2~6), 분화이전(Day -2~0), 분화초기(Day 0~2), 분화중기(Day 2~4), 분화후기(Day 4~6)로 나누어 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 배양액의 5%가 넘지 않게 양을 설정하여 처리하였다(Fig. 1).

(3) 3T3-L1 세포에서의 adipogenesis 억제활성 분석

3T3-L1 세포에서 升陽除濕湯이 비만에 있어 중요한 adipogenesis를 효과적으로 억제하는지 확인하기 위하여, SYJST를 분화 전제기(Day -2~6), 분화이전(Day -2~0), 분화초기(Day 0~2), 분화중기(Day 2~4), 분화후기(Day

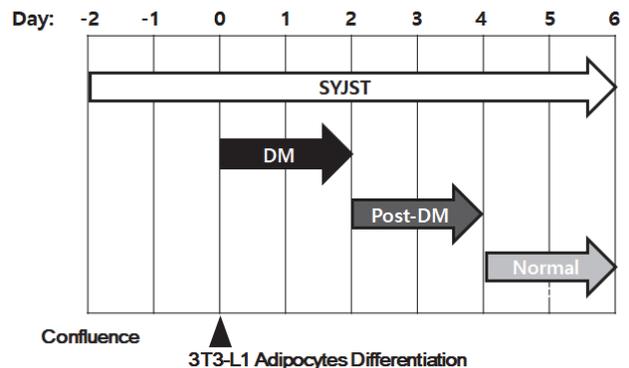


Fig. 1. Scheme of *Seungyangjeseup-tang* extract (SYJST) treatment and 3T3-L1 differentiation. DM: differentiation medium consist of 10% Fetal bovine serum - Dulbecco's modified Eagle's medium (FBS-DMEM), IBMX (500 μM), dexamethasone (5.2 μM), and insulin (167 nM), Post-DM: post-differentiation medium consist of FBS-DMEM and insulin (167 nM).

4~6)로 나누어 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 배양액의 5%가 넘지 않게 양을 설정하여 처리한 후 세포내 지방축적량을 Oil Red-O 염색법을 통해 분석하였다. Oil Red-O 염색은 Day 6에 실시하였고, PBS 0.5 mL를 넣어 분화가 완료된 3T3-L1 지방세포를 세척한 후에 3.7% (v/v)의 formaldehyde로 실온에서 30분 동안 고정시켰다. 세포를 고정시킨 후 증류수를 이용하여 formaldehyde를 제거했으며, 실온에서 15분 동안 Oil Red-O를 가하여 염색하였다. 증류수를 이용하여 Oil Red-O 염색된 세포를 세척하고 이후 물기를 완전히 제거한 후에 300 μL 의 DMSO를 가하여 세포내 Oil Red-O를 녹이고 96-well plate에 100 $\mu\text{L/well}$ 씩 옮겨서 microplate reader를 이용해 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. SYJST를 처리하지 않은 분화된 지방세포를 대조군으로 지방축적량(% of control)을 계산하였다.

(4) 지방구의 수 및 크기 관찰

SYJST 처리가 3T3-L1 세포내 지방구에 있어서 수와 크기에 미치는 영향을 현미경(KI-400; Korealabtech, Seongnam, Korea)을 통해 관찰하였다. 3T3-L1 전지방세포의 지방세포 분화와 SYJST의 처리는 위에 언급한 방법과 같이 유도 및 처리되었다. 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/mL}$ 의 SYJST를 분화 전체기간(Day -2~6), 분화이전(Day -2~0), 분화초기(Day 0~2), 분화중기(Day 2~4), 분화후기(Day 4~6)로 나누어 배양액의 5%가 넘지 않게 양을 설정하여 처리한 뒤 3.7%(v/v)의 formaldehyde를 사용해 30분 동안 실온에서 고정시키고 Oil Red-O 염색을 실시하였다. 염색된 3T3-L1 세포는 PBS를 채워 건조방지를 하고 지방구의 수와 크기를 관찰하였다.

2) *In vivo*

(1) 군 분류와 약물투여

실험군은 총 5개의 군으로 정상식이(D12450B, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA)를 제공한 정상군(normal diet; N), 고지방식이(D12492, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA)를 제공한 대조군(60% high fat diet; Con), 양성대조군으로 고지방식이와 함께 Orlistat 60 mg/kg을 투여한 Orli군 (Orli), 고지방식이와 함께 SYJST 100, 200 mg/kg을 투여한 SY100, SY200군(SY100, 200)으로 각각 8마리씩 군 분류하였고 각 군의 내용은 다음과 같다: 정상식이와 고지방식이의 조성은 Table II와 같다. 약물은

4주간 매일 오전 10시에 100 mg/10 mL/kg, 200 mg/10 mL/kg의 양으로 경구 투여하였다.

- 정상군(N): 정상식이(normal diet, D12450B, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA)를 제공한 군
- 대조군(Con): 고지방식이(60% high fat diet, D12492, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA)를 제공한 군
- Orli군(Orli): 양성대조군으로 고지방식이와 함께 Orlistat 60 mg/kg을 투여한 군
- SY100군(SY100): 고지방식이와 함께 SYJST 100 mg/kg을 투여한 군
- SY200군(SY200): 고지방식이와 함께 SYJST 200 mg/kg을 투여한 군

(2) 체중과 식이섭취량 측정

실험동물의 체중은 전자체중계로 1일, 1회로 동일 시간

Table II. Composition of the Experimental Diets

Formulation	D12450B		D12492	
	gm%	kcal%	gm%	kcal%
Protein	19.2	20.0	26	20
Carbohydrate	67.3	70.0	26	20
Fat	4.3	10.0	35	60
Total		100.0		100
kcal/gm	3.85		5.24	
Ingredient	gm	kcal	gm	kcal
Casein, 30 Mesh	0	0	200	800
Casein, 80 Mesh	200	800	0	0
L-Cystine	3	12	3	12
Corn starch	315	1,260	0	0
Maltodextrin 10	35	140	125	500
Sucrose	350	1,400	68.8	275
Cellulose, BW200	50	0	50	0
Soybean Oil	25	225	25	225
Lard	20	180	245	2,205
Mineral Mix S10026	10	0	10	0
Dicalcium phosphate	13	0	13	0
Calcium carbonate	5.5	0	5.5	0
Potassium citrate, 1 H ₂ O	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	0	0
FE&C blue dye #1	0	0	0.05	0
Total	1,055.05	4,057	773.85	4,057

및 조건에서 측정하였고, 체중증가량(body weight gain)의 산출은 아래의 공식에 대입하여 계산하였다.

$$\begin{aligned} & \text{체중증가량(body weight gain [g])} \\ & = \text{실험 종료일 체중(final body weight [g])} \\ & \quad - \text{실험 시작 전 체중(initial body weight [g])} \end{aligned}$$

식이섭취량은 1일 동안 제공된 사료에서 1일간 섭취하고 남은 사료 양을 측정 후 아래의 공식에 대입하여 각 실험군의 하루 사료섭취량을 계산하였다.

$$\begin{aligned} & \text{식이섭취량(food intake [g/day])} \\ & = \text{총 섭취량(total food intake [g])/28 days} \end{aligned}$$

(3) 혈청, 간조직과 분변의 지질 함량 관찰

심장에서 혈액을 채혈하여 4,000 rpm 10분간 원심 분리하여 혈청을 얻었고 간 조직은 1 mM EDTA-50 mM sodium phosphate buffer (pH 8.0)를 사용해 분쇄하였다. 간조직과 분변의 일정량을 취하여 chloroform:methanol 혼합액(2:1, v/v)을 사용하여 지질을 추출하였다⁹⁾. 혈청 및 간조직과 분변의 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), 중성지방(triglyceride, TG), 고밀도지단백콜레스테롤(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C) 함량은 효소 kit (Asanpharm, Seoul, Korea)로 분석하였다.

3) 통계분석

모든 실험은 평균과 표준편차로 표시하였다. SPSS (Version 22.0, IBM, Armonk, NY, USA)을 사용하여 one-way analysis of variance (ANOVA) test를 실시한 후

in vitro 실험은 Student's *t*-test 방법에 의하여 각각의 구간의 유의성 차이를 검증하였으며, *in vivo* 실험은 Tukey Multiple Comparison test로 사후검증을 실시해 각 군 간 유의성을 측정하였다. 유의수준 p-value < 0.05에서 검증하였다.

결과»»»»

1. *In vitro*

1) 세포독성

10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 SYJT를 처리한 3T3-L1 세포는 아무것도 처리하지 않은 대조군의 세포생존율(100%)과 비교하였을 때 생존율은 각각 97.40%, 111.45%, 102.94%, 103.75%, 102.88%, 그리고 117.68%로 모든 농도에서 유의적인 세포독성을 나타내지 않았다 (Fig. 2).

2) 3T3-L1 세포에서의 adipogenesis 억제활성 효과

Oil Red-O 염색을 실시한 결과, 지방세포 분화를 유도한 대조군에서는 다량의 지방구가 축적된 것을 관찰할 수 있었으며, SYJT를 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과 400 $\mu\text{g/mL}$ 에서 대조군에 비해 유의성 있는 3T3-L1 지방세포분화 억제를 확인할 수 있었고 ($p < 0.05$), 800 $\mu\text{g/mL}$ 에서도 유의성 있는 3T3-L1 지방세포분화 억제를 확인할 수 있었다($p < 0.001$) (Fig. 3).

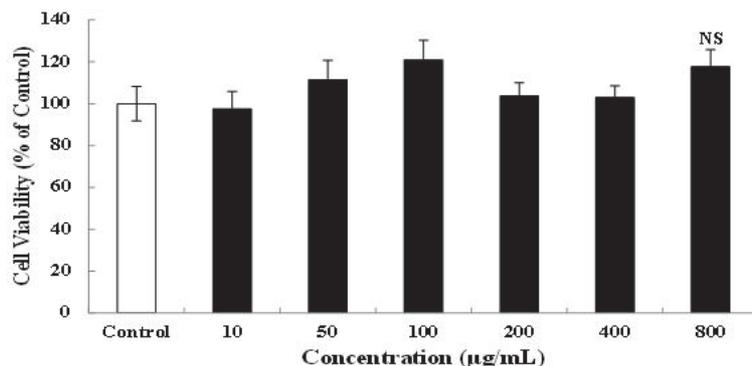


Fig. 2. Cytotoxicity of *Seungyangjeseup-tang* extract in the viability of 3T3-L1 cells. NS: non significant.

3) 지방구의 수 및 크기에 미치는 영향

분화시키지 않은 전지방세포에서는 지방구가 거의 형성되지 않았으며, 분화를 유도한 지방세포 대조군에서는 다량의 지방구가 형성된 것을 관찰할 수 있었다. SYJST를 10, 50, 100, 200, 400 그리고 800 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과, 농도 의존적으로 지방구의 수 및 크기가 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

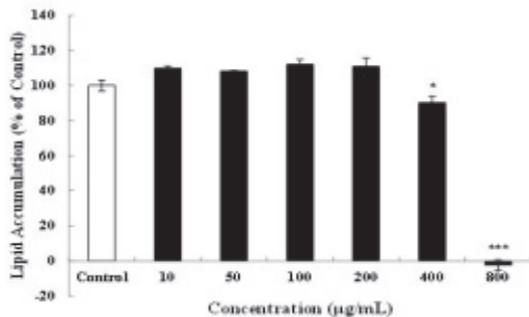
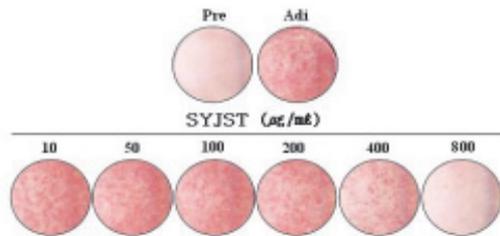


Fig. 3. Inhibitory effect of *Seungyangjeseup-tang* extract (SYJST) on the 3T3-L1 adipogenesis compared to control group. Corresponding letters indicate significant differences by t-test (* $p<0.05$, *** $p<0.001$). Pre: preadipocytes, Adi: adipocytes.

2. In vivo

1) 체중, 식이섭취량 및 간 조직 무게

실험 기간 동안 모든 군에서 체중이 증가하였으며 대조군의 체중 증가폭 7.10 ± 2.39 g과 비교하였을 때 Orli군 4.85 ± 1.74 g, SY100군 6.07 ± 1.52 g, SY200군 6.18 ± 1.44 g으로 감소하는 경향을 보였으나 모두 유의성은 없었다. 식이섭취는 정상군 4.73 ± 0.7 g/day, 대조군 3.39 ± 0.25 g/day, Orli군 4.35 ± 0.47 g/day, SY100군 3.15 ± 0.32 g/day, SY200군 3.03 ± 0.28 g/day로 나타나 Orli군에서는 유의하게 증가된 섭취량, SY200군은 유의하게 감소된 섭취량을 보였다. 간 조직 무게는 정상군 1.88 ± 0.2 g, 대조군 1.88 ± 0.2 g, Orli군 1.52 ± 0.25 g, SY100군 1.39 ± 0.29 g, SY200군 1.50 ± 0.33 g의 결과를 나타냈으며 대조군에 비해 Orli군, SY100군, SY200군 모두에서 유의성 있는 감소를 나타냈다(Table III).

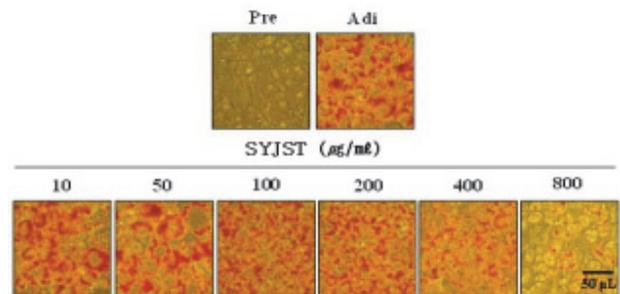


Fig. 4. Suppression of size and number of lipid droplets by *Seungyangjeseup-tang* extract treatment through microscope observation. Pre: preadipocytes, Adi: adipocytes.

Table III. Body Weight and Food Intake

Group	Body weight			Food intake (g/day)	Liver weight (g)
	Initial (g)	Final (g)	Gain (g)		
N	$30.20\pm 0.35^{\circ}$	$36.19\pm 0.43^{\circ}$	$5.99\pm 1.56^{\circ}$	$4.73\pm 0.7^{\circ}$	$1.88\pm 0.2^{\dagger}$
Con	$29.74\pm 0.5^{\circ}$	$36.83\pm 0.93^{\circ}$	$7.10\pm 2.39^{\circ}$	$3.39\pm 0.25^{\dagger}$	$1.88\pm 0.32^{\circ}$
Orli	$30.36\pm 0.49^{\circ}$	$34.72\pm 0.63^{\circ}$	$4.85\pm 1.74^{\circ}$	$4.35\pm 0.47^{\dagger}$	$1.52\pm 0.25^{\dagger\dagger}$
SY100	$30.34\pm 0.31^{\circ}$	$36.41\pm 0.6^{\circ}$	$6.07\pm 1.52^{\circ}$	$3.15\pm 0.32^{\dagger\ddagger}$	$1.39\pm 0.29^{\dagger}$
SY200	$30.60\pm 0.33^{\circ}$	$36.78\pm 0.66^{\circ}$	$6.18\pm 1.44^{\circ}$	$3.03\pm 0.28^{\ddagger}$	$1.50\pm 0.33^{\dagger\dagger}$

All values are mean \pm SD (n=8). Different symbols ($^{\circ}, ^{\dagger}, ^{\dagger\dagger}, ^{\ddagger}$) show a significantly difference at $p<0.05$ as determined by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey Multiple Comparison test.

N: normal mice, Con: high-fat diet (HFD) control mice, Orli: HFD control mice treated with orlistat 60 mg/kg body weight, SY100: HFD control mice treated with *Seungyangjeseup-tang* extract (SYJST) 100 mg/kg body weight, SY200: HFD control mice treated with SYJST 200 mg/kg body weight.

2) 혈청의 지질 함량

일반식이와 고지방 식이를 생쥐에 4주간 제공한 후 혈청 내 TC, TG, HDL-C 함량을 측정하였다. TC와 TG 결과, Orli군에서 TC 121.90 ± 5.83 mg/dL, TG 151.64 ± 52.55 mg/dL로 유의성 있게 증가하였고, SY100군에서 TC 112.30 ± 14.93 mg/dL, TG 48.34 ± 9.34 mg/dL, SY200군에서 TC 107.78 ± 13.62 mg/dL, TG 58.09 ± 10.65 mg/dL로 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. HDL-C의 함량을 측정한 결과 모든 군에서 비슷한 수치를 나타내었다(Table IV).

3) 간 조직에서 지질 함량

일반식이와 고지방 식이를 생쥐에 4주간 제공한 후 간 조직 내 TC와 TG를 측정하였다. TC 측정 결과, 대조군과 비교하였을 때 Orli군 23.68 ± 4.21 mg/dL, SY100군 27.02 ± 4.20 mg/dL, SY200군 24.24 ± 6.08 mg/dL로 Orli군과 SY200군에서 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. TG 측정 결과, 대조군과 비교하였을 때 Orli군 767.78 ± 92.44 mg/dL, SY100군 782.59 ± 58.39 mg/dL, SY200군 680.40 ± 59.57 mg/dL로 모두 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Table V).

Table IV. Effect of SYJST on Serum TC, TG and HDL-C Induced by HFD

Group	TC (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL-C (mg/g dry wt)
N	$100.58 \pm 11.34^{\dagger}$	$42.03 \pm 28.01^{\dagger}$	$276.13 \pm 29.62^{\circ}$
Con	$103.34 \pm 10.01^{\dagger}$	$29.13 \pm 9.12^{\dagger}$	$270.53 \pm 19.79^{\circ}$
Orli	$121.90 \pm 5.83^{\circ}$	$151.64 \pm 52.55^{\circ}$	$277.50 \pm 31.71^{\circ}$
SY100	$112.30 \pm 14.93^{\dagger}$	$48.34 \pm 9.34^{\dagger}$	$284.11 \pm 28.52^{\circ}$
SY200	$107.78 \pm 13.62^{\dagger}$	$58.09 \pm 10.65^{\dagger}$	$268.28 \pm 35.89^{\circ}$

All values are mean \pm SD (n=8). Different symbols ($^{\circ}$, †) show a significantly difference at $p < 0.05$ as determined by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey Multiple Comparison test.

SYJST: *Seungyangjeseup-tang* extract, TC: total cholesterol, TG: triglyceride, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, HFD: high fat diet, N: normal mice, Con: high-fat diet (HFD) control mice, Orli: HFD control mice treated with orlistat 60 mg/kg body weight, SY100: HFD control mice treated with SYJST 100 mg/kg body weight, SY200: HFD control mice treated with SYJST 200 mg/kg body weight.

4) 분변에서 지질 함량

일반식이와 고지방 식이를 생쥐에 4주간 제공한 후 분변에서 TC와 TG 측정하였다. TC와 TG 함량 측정 결과, Orli군에서 TC $2,705.58 \pm 953.74$ mg/g dry wt, TG $7,023.29 \pm 730.11$ mg/g dry wt로 유의성 있게 증가하였으며 SY100군에서 TC 984.66 ± 66.06 mg/g dry wt, TG $1,100.70 \pm 108.72$ mg/g dry wt, SY200군에서 TC $1,067.33 \pm 240.12$ mg/g dry wt, TG $1,143.32 \pm 166.14$ mg/g dry wt로 증가하는 경향을 보였다(Table VI).

Table V. Effect of SYJST on Liver Tissue TC and TG Induced by HFD

Group	TC (mg/dL)	TG (mg/dL)
N	$30.19 \pm 5.31^{\circ}$	$714.85 \pm 78.72^{\circ}$
Con	$26.68 \pm 3.70^{\dagger}$	$815.07 \pm 179.84^{\dagger}$
Orli	$23.68 \pm 4.21^{\dagger}$	$767.78 \pm 92.44^{\circ}$
SY100	$27.02 \pm 4.20^{\dagger}$	$782.59 \pm 58.39^{\circ}$
SY200	$24.24 \pm 6.08^{\dagger}$	$680.40 \pm 59.57^{\circ}$

All values are mean \pm SD (n=8). Different symbols ($^{\circ}$, †) show a significantly difference at $p < 0.05$ as determined by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey Multiple Comparison test.

SYJST: *Seungyangjeseup-tang* extract, TC: total cholesterol, TG: triglyceride, HFD: high-fat diet, N: normal mice, Con: HFD control mice, Orli: HFD control mice treated with orlistat 60 mg/kg body weight, SY100: HFD control mice treated with SYJST 100 mg/kg body weight, SY200: HFD control mice treated with SYJST 200 mg/kg body weight.

Table VI. Effect of SYJST on Fecal TC and TG Induced by HFD

Group	TC (mg/g dry wt)	TG (mg/g dry wt)
N	$958.09 \pm 94.72^{\dagger}$	$1,655.90 \pm 232.31^{\dagger}$
Con	$961.79 \pm 208.82^{\dagger}$	$1,057.29 \pm 201.49^{\dagger}$
Orli	$2,705.58 \pm 953.74^{\circ}$	$7,023.29 \pm 730.11^{\circ}$
SY100	$984.66 \pm 66.06^{\dagger}$	$1,100.70 \pm 108.72^{\dagger}$
SY200	$1,067.33 \pm 240.12^{\dagger}$	$1,143.32 \pm 166.14^{\dagger}$

All values are mean \pm SD (n=8). Different symbols ($^{\circ}$, †) show a significantly difference at $p < 0.05$ as determined by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey Multiple Comparison test.

SYJST: *Seungyangjeseup-tang* extract, TC: total cholesterol, TG: triglyceride, HFD: high-fat diet, N: normal mice, Con: HFD control mice, Orli: HFD control mice treated with orlistat 60 mg/kg body weight, SY100: HFD control mice treated with SYJST 100 mg/kg body weight, SY200: HFD control mice treated with SYJST 200 mg/kg body weight.

고찰»»»

오늘날 세계 각국에서는 급속한 경제성장으로 서구화된 생활방식에 따라 과잉 에너지 섭취 및 사용의 불균형을 초래하여 비만이 급증하고 있다. 비만은 섭취 에너지 양이 소비 에너지양보다 많아서 남은 에너지가 체지방으로 조직에 침착되어 외형상의 문제뿐만 아니라 각종 혈관질환과 지질이상증 등과 같은 심각한 대사 장애 질환 등을 동반하고 있어 문제시되고 있다¹⁰⁾.

비만이 발생하는 원인에 대하여 아직까지 정확히 밝혀진 바는 없으나 대체적으로 신체활동 부족, 식이섭취 과잉, 시상하부의 손상으로 식욕증추 및 대사활동, 자율신경 조절 장애, 유전요인, 사회 경제적 요인, 약물복용, 연령, 출산 등으로 인하여 발생하게 된다¹¹⁾. 비만 관련 위험도를 결정하는 데는 지방의 양뿐만 아니라 지방의 분포도 영향을 미친다. 특히 복부의 내장 비만은 대사 증후군의 심혈관 질환 위험 요소와 연관되어 있고 자기공명영상(magnetic resonance imaging), 컴퓨터 단층 촬영(computed tomography), 이중에너지 방사선 흡수법(dual-energy X-ray absorptiometry, DXA)으로 측정할 수 있다¹²⁾.

비만의 기본적인 치료방법은 식사, 운동 및 행동수정 요법이다. 약물 요법은 보조적인 치료법이나 실제로는 생활 습관 교정만으로 체중 감량이 효과적이지 않은 경우가 많기 때문에 상당수의 환자는 약물치료를 병행하게 된다¹³⁾. 그러나 약물치료의 경우 복용 부작용으로 문제가 되고 있다. 이로 인해 최근 천연물 등을 소재로 하여 항비만 효과에 대한 실험 연구가 활발해지고 있다^{14,15)}.

한의학에서는 濕, 痰, 氣虛 등으로 인하여 비만이 초래되고, 臟腑 중에서 주로 脾, 肺, 腎의 작용과 관련이 깊다¹⁶⁾. 즉 氣虛 및 그로 인한 활동감소, 스트레스, 영양섭취의 과잉 등의 요인과 肺의 宣發肅降, 脾의 運化障礙가 연관되어 濕과 痰과 같은 수액대사의 이상이 비생리적으로 체액을 저류시켜 비만이 유발된다. 그리하여 각각 그 유형에 따라서 脾虛水濕停滯型, 痰飲型, 食積型, 瘀血型 등으로 분류한다¹⁷⁾.

升陽除濕湯은 『東醫寶鑑』에 처음 수록된 처방으로 氣虛泄瀉, 不思飲食, 困弱無力에 적용할 수 있으며⁸⁾, 처방은 蒼朮, 升麻, 柴胡, 羌活, 防風, 神麴, 澤瀉, 豬苓, 陳皮, 麥芽, 甘草로 구성된다. 처방 중 蒼朮은 燥濕健脾, 祛風散寒하고, 升麻는 發表透疹, 清熱解毒하고, 柴胡는 和解表裏,

疏肝, 升陽하고, 羌活은 散寒, 祛風, 除濕하고, 防風은 解表祛風, 勝濕하고, 神麴은 健胃和胃, 消食調中하고, 澤瀉는 利小便, 清濕熱하고, 豬苓은 利水滲濕하고, 陳皮는 理氣健脾, 燥濕化痰하고, 麥芽는 行氣消食, 健脾開胃하고, 甘草는 和中緩急, 調和諸藥한다¹⁸⁾. 그래서 비만을 초래하는 원인 중 脾虛 및 痰飲, 氣虛로 인한 비만에 升陽除濕湯을 응용할 수 있을 것이라 사료되나 현재까지 升陽除濕湯의 항비만 효과에 대한 연구는 없었고, 각각의 약재 중 蒼朮 약침¹⁹⁻²¹⁾, 神麴²²⁾, 澤瀉²³⁾, 陳皮^{24,25)}, 麥芽 약침²⁶⁾의 비만에 대한 연구만 있었다. 따라서 본 연구에서는 升陽除濕湯을 적용하여 지방세포의 분화 및 흰쥐의 비만에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

3T3-L1 전지방세포는 마우스의 섬유아세포로부터 유래된 세포주²⁷⁾, *in vitro*에서 지방세포로 분화되는 특징을 가져 지방세포의 연구에 흔히 사용된다²⁸⁾. 이러한 3T3-L1 세포의 분화는 *in vivo*에서의 과정과 유사한 형태이다²⁷⁾.

본 연구에서는 먼저 升陽除濕湯의 세포독성 평가를 위해 MTT 분석법을 이용하여 3T3-L1 전지방세포의 세포 생존율을 측정하였다. 그 결과 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 SYJT를 처리한 3T3-L1 세포와 대조군을 비교하였을 때 모든 농도에서 유의적인 세포독성을 나타내지 않았고, 따라서 이후 실험에서는 독성을 나타내지 않은 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도 이하로 실험을 진행하였다(Fig. 2). 升陽除濕湯이 3T3-L1 세포에서 비만에 있어 중요한 adipogenesis를 효과적으로 억제하는지 확인하고, 3T3-L1 지방세포 내의 지방구 수와 크기에 升陽除濕湯이 미치는 영향을 알아보기 위하여 Oil Red-O 염색을 시행하였다. 먼저 지방세포 분화를 유도한 대조군에서는 다량의 지방구가 축적된 것을 관찰할 수 있었으며, SYJT 400 $\mu\text{g/mL}$ 에서 유의성 있는 3T3-L1 지방세포분화 억제를 확인할 수 있었고($p < 0.05$), 800 $\mu\text{g/mL}$ 에서도 유의성 있는 3T3-L1 지방세포분화 억제를 확인할 수 있었다($p < 0.001$) (Fig. 3). 또한 분화시키지 않은 전지방세포에서는 지방구가 거의 형성되지 않았으며, 분화를 유도한 지방세포 대조군에서는 다량의 지방구가 형성된 것을 관찰할 수 있었다. SYJT를 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과 농도의존적으로 지방구의 수 및 크기가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 위의 지방세포분화 억제 결과와 유사한 결과이다(Fig. 4). 이를 통해서 升陽除濕湯의 지방세포 형성 억제 및 세포 내 지방 축적 감

소의 효과를 확인하였다.

*In vivo*에서 실험군은 총 5개의 군으로 정상식이를 제공한 정상군(N), 고지방식이를 제공한 대조군(Con), 양성 대조군으로 고지방식이와 함께 Orlistat 60 mg/kg을 투여한 Orli군(Orli), 고지방식이와 함께 SYJST 100, 200 mg/kg을 투여한 SY100, 200군(SY100, 200)으로 설정하였고, 4주령의 수컷 ICR mouse에 약물을 4주간 매일 경구 투여하였다. 이후 체중과 식이섭취, 간조직의 무게를 측정하였다. 체중의 증가는 비만 시에 조직 내의 지방무게 증가 및 축적과 관련이 있다²⁹⁾. 실험 기간 동안 모든 군에서 체중이 증가하였으며 대조군과 비교하였을 때 Orli군, SY100군, SY200군에서 체중 증가폭이 감소하는 경향을 보였다. 식이섭취는 Orli군에서 대조군에 비해 유의하게 증가된 섭취량을, SY200군에서 대조군에 비해 유의하게 감소된 섭취량을 보였다($p < 0.05$). 간조직의 무게는 고지방식으로 인하여 체중 변화와 같이 무게가 늘어나는 경향성을 보인다¹⁵⁾. 간조직의 무게는 대조군에 비해 Orli군, SY100군, SY200군에서 모두 유의성 있는 감소를 나타냈다($p < 0.05$) (Table III). 이를 통해 升陽除濕湯이 식욕을 억제하고 지방 축적 억제에 효과가 있음을 확인할 수 있었고, 체중의 부분에 있어 추후 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

콜레스테롤은 세포막을 구성하는 주성분으로³⁰⁾, 담즙산의 원료물질이자 각종 성호르몬을 합성하는 데 있어서 중요하다³¹⁾. 하지만 콜레스테롤 함량이 높은 음식섭취는 혈장내의 콜레스테롤 농도를 증가시키고, 이는 비만에서도 관찰되는 현상이다³²⁾. 또한 TG는 대사활동에 있어 에너지의 공급원으로서, 식이섭취를 통해 지방산이 산화하여 발생하는 여분의 지방산이 지방조직에 TG로 저장되게 된다. 이렇게 저장된 TG는 공복 시 또는 운동 시에 에너지원이 부족해지면 분해되어 사용된다^{33,34)}. 그러나 비만지수가 높아지면 TG의 과잉저장으로 혈청 중 TG의 함량은 증가한다³²⁾. HDL-C는 주요 지단백으로서 세포내 축적된 콜레스테롤의 제거에 관여하는데³²⁾ 비만은 HDL-C의 감소요인이 된다^{32,33)}.

이에 비만과 관련된 지표인 혈청 내 TC, TG, HDL-C 함량을 측정하였다. TC와 TG의 측정 결과, 대조군에 비해 Orli군에서 유의성 있게 증가하였고, SY100군, SY200군에서도 증가하는 경향을 보였지만 유의성은 없었다. HDL-C의 함량을 측정한 결과 모든 군에서 비슷한 수치를

나타내었다(Table IV).

장기적으로 고지방식이를 섭취하게 되면 체내에 다량의 지방이 축적되면서 비만을 야기하고, 이는 곧 간조직의 지질 축적을 유발하며 지방간과 관련된다³⁵⁾. 이에 升陽除濕湯이 간 조직에 미치는 영향을 조사하였다. 간조직 내 TC와 TG를 측정한 결과, 대조군과 비교하였을 때 TC는 Orli군과 SY200군에서, TG는 Orli군, SY100군, SY200군에서 감소하는 경향을 보였으나 모두 유의성은 없었다(Table V).

Orlistat은 위와 췌장의 lipase 억제를 통해 중성지방의 흡수를 감소시키는 약물로 미국 식약청에서 인증을 받았다. 그러나 부작용으로 유상반점변, 복부팽만, 지방/유상분변, 배변증가 등의 위장관 증상이 흔히 관찰된다³⁶⁻³⁸⁾. 이에 양성대조군과의 비교를 위해 升陽除濕湯이 분변에 미치는 영향을 조사하였다. 분변에서 TC와 TG를 측정한 결과, 대조군과 비교하였을 때 Orli군에서 유의성 있게 증가하였으며 SY100군, SY200군에서도 증가하는 경향성을 보였으나 유의성은 없었다(Table VI). 이를 통해 升陽除濕湯은 항비만의 효과를 가지면서도 지방변 등의 부작용을 줄일 수 있을 것으로 본다.

이상의 연구를 보면, 升陽除濕湯은 독성을 나타내지 않으면서 세포실험에서 지방세포의 형성 억제 및 세포내 지방 축적 감소, 동물실험에서 식이섭취량 조절에 효과가 있음을 알 수 있다. 다만 동물실험에 있어서 세포실험과 마찬가지로 농도를 좀 더 높여서 시행하였다면 더 좋은 결과를 도출해 낼 수 있었을 것이라 사료된다. 또한 본 연구에 있어 실험 기간이 4주로 다소 짧아서 升陽除濕湯의 효과를 지속적으로 관찰하지 못한 것이 제한점이라 하겠다. 향후 본 실험을 토대로 升陽除濕湯이 비만에 미치는 영향 및 적절한 약물 투여 농도 및 기간, 지방 축적에 대해 간 조직뿐 아니라 다른 조직에 대한 분석 등에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론»»»»

升陽除濕湯의 항비만 효과를 알아보기 위해 3T3-L1 세포와 고지방식으로 비만이 유발된 생쥐를 이용한 실험에서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *In vitro*

- 1) SYJST 800 $\mu\text{g/mL}$ 농도까지는 대조군에 비해 유의적인 세포독성을 나타내지 않았다.
- 2) SYJST는 유의하게 3T3-L1 지방세포분화를 억제하였다.
- 3) SYJST는 농도 의존적으로 지방구의 수 및 크기를 감소시켰다.

2. *In vivo*

- 1) Orli군, SY100군, SY200군 모두 대조군에 비해 체중 증가폭이 감소하는 경향을 보였고, Orli군은 식이섭취량이 유의하게 증가하였으며, SY200군은 식이섭취량이 유의하게 감소하였다. 또한 Orli군, SY100군, SY200군 모두 간조직의 무게가 유의하게 감소하였다.
- 2) 혈청 내 TC, TG는 대조군에 비해 양성대조군인 Orli군에서 유의성 있게 증가하였고, SY100군, SY200군에서도 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다.
- 3) Orli군과 SY200군에서 간 조직 내 TC가 감소하는 경향성을 보였고, Orli군, SY100군, SY200군에서 간 조직 내 TG가 감소하는 경향성을 보였으나 모두 유의성은 없었다. 분변 내 TC와 TG의 경우 대조군과 비교하였을 때 Orli군에서 유의성 있게 증가하였으며 SY100군, SY200군에서도 증가하는 경향성을 보였으나 유의성은 없었다. 결론적으로 升陽除濕湯이 지방세포분화를 억제 및 식이섭취량과 간 무게를 감소시키는 데 긍정적인 효능이 있음을 확인하였고, 이를 통해 升陽除濕湯이 비만에 있어 임상적으로 유용하게 적용될 수 있다고 사료된다.

References»»»»

1. Korean Society for the Study of Obesity. Obesity treatment guidelines. Seoul:Korean Society for the Study of Obesity. 2012:14.
2. Powell AG, Apovian CM, Aronne LJ. New drug targets for the treatment of obesity. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90(1):40-51.
3. Padwal RS, Majumdar SR. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet.* 2007;369(9555):71-7.
4. Yin J, Zhang H, Ye J. Traditional chinese medicine in treatment of metabolic syndrome. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2008;8(2):99-111.
5. Kim DH, Lee JH. Hwangjenaegyeong somun. 1st ed. Seoul:Euisseongdang. 2002:652, 974.
6. The Society of Korean Medicine Rehabilitation. Korean Rehabilitation Medicine. 4th ed. Paju:Koonja Publishing. 2015:298-317.
7. Jeong JW. Trend research of the human body-oriented obesity studies on oriental medicine. [dissertation]. Busan (KR): Dong-Eui University; 2016.
8. Heo J. Donguibogam. 4th ed. Gyeongnam: Donguibogam Publisher. 2010:387.
9. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957;226(1):497-509.
10. Korea Centers for Disease Control and Prevention. 2009 Korea national health and nutrition and examination survey. Cheongju:Ministry of Health and Welfare. 2010: 1-14.
11. Suh YS. Condiderable causes of obesity. *Journal of the Korean Society of Biological Therapies in Psychiatry.* 2002;8(2):218-24.
12. Song DK, Sung YA. Obesity: introduction. *Korean J Med.* 2013;84(5):619-23.
13. Kim KS, Park SW. Drug therapy for obesity. *Korean J Obes.* 2012;21(4):197-202.
14. Woo HC, Shin BK, Cho IJ, Koo HN, Kim MH, Han JH. Anti-obesity effect of carbon dioxide supercritical fluid extracts of panax ginseng C. A. Meyer. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 2011;54(5):738-43.
15. Shin IS, Choi HM, Ku SK, Kim MR. The effect of natural mixture supplementation on histopathological and histomorphometrical aspects in high fat diet-induced obese mice. *Kor J Herbaology.* 2012;27(4):53-8.
16. Lee JS, Lee SH. The reductive effects of oriental medicine on the body fat and abdominal obesity. *J Korean Med Obes Res.* 2001;1(1):35-49.
17. Park BJ. Herbal diet of obese with osteoarthritis. *J Korean Med Obes Res.* 2004;4(1):201-11.
18. A herbal medicine compilation committee of a college of Korean medicine. Herbal medicine. 1st ed. Seoul: Yeonglimsa. 2007:159, 163, 186, 188, 331, 347-8, 389, 412-3, 583.
19. Youh EJ, Seo BK, Nam SS, Kang SK. Anti-obesity effect of rhizoma atractylodis herbal acupuncture in high fat diet-induced obese ICR Mouse. *The Journal of Korean Acupuncture and Moxibustion Society.* 2010;27(6):31-42.
20. Youn DH, Kang JD, Joo JS, Chae WS, Na CS. Effects of herbal acupuncture(Atratyloides japonica, Coix lachryma-

- jobi, Ephedra sinica, Atratyloides japonica mixed with Coix lachrymajobi and Ephedra sinica mixed with Green tea) at Pungnyung(ST40) and Umnungchon(SP9) in obese rats induced by high fat diet. Journal of Korean Institute of Herbal-Acupuncture. 2004;7(1): 87-100.
21. Joo JS, Youn DH, Na CS, Cho MR, Chae WS. Effects of herbal acupuncture (Atratyloides japonica Koizumi and Coix lachrymajobi var. mayeun Stapf) at Pungnyung(ST 40) and Umnungchon(SP9) in obese rats induced by high fat diet. The Journal of Korean Acupuncture and Moxibustion Society. 2004;21(2):131-54.
 22. Paik SH, Han SR, Kwon OJ, Ahn YM, Ahn SY, Lee BC. The effects in metabolism and adipose tissue inflammation induced by the Massa Medicata Fermentata on obese type 2 diabetes mouse model. J Korean Oriental Med. 2012;33(3):33-45.
 23. Jeong HS. Efficacy of Alismatis Orientale Rhizoma on obesity induced by high fat diet. Kor J Herbology. 2013;28(3):95-106.
 24. Jo HK, Han MH, Hong SH, Choi YH, Park C. Ethanol extracts of citrus peel inhibits adipogenesis through AMPK signaling pathway in 3T3-L1 preadipocytes. J Life Sci. 2015;25(3):285-92.
 25. Park CH, Jung HK, Jeong YS, Hong JH, Lee GD, Park CD. Effects of citrus peel ethanol extract on the serum lipid and body fat of high-fat-diet-fed rats. Korean J Food Preserv. 2011;18(4):567-74.
 26. Lee JE, Cho MR, Ryu CR. Original Article: The effects of herbal acupuncture (Fructus Hordei Germinatus) at acupointing Jung-wan(CV12) on the obese rats induced by high fat diet. The Journal of Korean Acupuncture and Moxibustion Society. 2008;25(2):211-26.
 27. Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM. Transcriptional regulation of adipogenesis. Genes Dev. 2000;14(11):1293-307.
 28. Gregorie FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. Physiol Rev. 1998;78(3):783-809.
 29. DiGirolamo M, Fine JB, Tagra K, Rossmanith R. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum. Am J Physiol. 1998;274(5 Pt 2):R1460-7.
 30. Gerhard M, William HS. Principles of medical biochemistry. 2nd ed. Seoul:Jeongmungag. 2005:407-67.
 31. Arther CC, John EH. Textbook of medical physiology. 1st ed. Seoul:Jeongdam. 2002:915-6.
 32. Min HG. Endocrinology. 1st ed. Seoul:Korea Medical Book Publishing Company. 1999:553-4, 1149, 1203, 1206-8, 1212.
 33. Lee SY, Jeong YS, Gwon OH, Song GS. Clinical pathology test method. 7th ed. Seoul:Yonsei University Publishing. 2000:212-23, 224-8, 242-5, 262-6, 303-6, 307-8, 313-5, 371-2.
 34. The Korean Society of Pathologists. Clinical Pathology. 3rd ed. Seoul:Korea Medical Book Publishing Company. 2001:63-4.
 35. Han LK, Xu BJ, Kimura Y, Zheng Yn, Okuda H. Platycodi radix affects lipid metabolism in mice with high fat diet-induced obesity. J Nutr. 2000;130(11):2760-4.
 36. Lim DY. Lippincott's illustrated review: pharmacology. 4th ed. Seoul:Shinilbooks. 2009:345-6.
 37. Crenier L, Stermon J. Orlistat(Xenical). Rev Med Brux. 1999;20(3):159-63.
 38. Wong NN, Cheng-Lai A. Orlistat. Heart Dis. 2000;2(2):174-81.