

Original Article

난소 절제 및 고지방식이 투여로 유도된 갱년기 비만 쥐에서의 음양곽(淫羊藿)추출물의 효능 평가

김미혜^{#,*}

우석대학교 한의과대학

Improvement of menopausal obesity by *Schizandra chinensis* extract obesity

Mi Hye Kim^{#,*}

College of Korean Medicine, Woosuk University, Wanju 55338, Republic of Korea

Objectives: The purpose of this study was to investigate the ameliorative effects of the *Epimedium koreanum* Nakai (EK) on menopausal obesity in mice.

Methods: To induce the menopausal obesity, female C57BL/6J mice were ovariectomized and fed with high fat diet for 12 weeks. 17 β -estradiol was injected as a positive control and the extract of EK was orally administered 5 times per week for 6 weeks. Body weight, uterine weight and visceral fat weight were measured. The size of the adipocyte in visceral fat tissues was estimated by Hematoxylin and eosin staining. Fasting glucose level was estimated in serum.

Results: Body weight and visceral fat weight were significantly decreased by EK treatment, while the uterine weight/body weight was increased in high fat diet-fed ovariectomized mice. The diameter of adipocyte in the visceral fat tissues was markedly reduced in EK-treated menopausal obese mice. In addition, the fasting blood glucose level was inhibited by oral EK administration.

Conclusion: In conclusion, these results showed that EK has ameliorative effects on overweight after menopause. EK could be one of the alternative therapy for treating menopausal obesity.

Key words : Menopausal obesity, *Epimedium koreanum* Nakai, fat weight, fasting blood glucose

^{#,*}Corresponding and First author: Mi Hye Kim

College of Korean Medicine, Woosuk University, Wanju 55338, Republic of Korea

Tel : +82-63-290-1555; FAX: +82-63-291-9312, E-mail: kimmh526@woosuk.ac.kr

서론

55-65세의 갱년기 여성에게 체중 증가는 중대한 관심사 중 하나이다. 폐경 후 여성의 비만 유병률은 세계적으로 증가하고 있으며, 특히 선진국에서 증가하고 있다.¹⁾ 폐경 후 여성의 중심이 되는 원인은 난소의 기능 장애로 인한 에스트로겐 결핍이다.²⁾ 에스트로겐은 성기능 발달 뿐만 아니라 지질대사, 골격 항상성, 심혈관 및 중추신경계 조절에 여러 생물학적 역할을 수행한다.³⁾ 특히 에스트로겐은 복부 지방 축적을 저해하는 기능이 있기 때문에 폐경 후에는 에스트로겐이 저하되어 지방세포의 대사 기능이 변화되고 콜레스테롤 상승, 주요 장기의 지방 축적, 지방생성 증가 및 지방 분해 감소가 일어나게 된다.⁴⁾ 에스트로겐 대체 요법을 통하여 갱년기 증상을 완화시킬 수 있으나, 자궁암, 유방암 발병 증가 등의 부작용으로 인하여 갱년기 비만의 치료법으로서 되기는 어려운 것으로 간주되었다.⁵⁾ 또한 임상적으로 에스트로겐 대체 요법이 전임상 연구와는 다르게 효과가 미미하다는 연구 결과도 있어, 갱년기 비만 증상을 효과적으로 개선시킬 수 있는 치료제의 개발이 필요하다.¹⁾

음양곽(淫羊藿, *Epimedium Herba*)은 매자나무과(Berberidaceae)에 속하는 삼지구엽초(*Epimedium koreanum* Nakai)의 지상부를 건조한 것으로, icariin, epimedinoside A, quercetin, anhydroicaritin-3-O- α -rhamnoside, n-alkanes 등이 주성분으로 알려져 있다.⁶⁾ 음양곽은 한의학에서 보양약(補陽藥)으로서 거풍제습(祛風除濕), 보신장양(補腎壯陽) 효능을 가지고 있다고 알려져 있다. 최근에는 음양곽을 강장, 음위, 거풍강정, 이노 및 신경성 강장제로 사용하고 있다.⁷⁾ 갱년기 증후군이라는 단어가 한의학 고문헌에 기재되어 있지는 않으나 한의학적으로 고찰해보자면, 신기(腎氣)와 천계(天癸), 충임맥(衝任脈)의 생리적인 쇠퇴로 인하여 음양(陰陽)의 기(氣)가 쇠하였기 때문에 장부(臟腑)의 기능이 상실되었다고 할 수 있다.⁸⁾ 음양곽의 보신장양(補腎壯陽) 효능을 통하여 갱년기 증후군을 개선시킬 수 있을 것으로 예상되었으나 현재까지 관련된 연구는 보고되지 않았다. 다만 음양곽의 대표 성분 중 하나인 icariin이 대사증후군이 유발된 랫드에서 body mass index와 체중 및 지방세포 크기를 감소시켰다는 연구결과가 보고되어,⁹⁾ 이를 기반으로 본 연구에서는 음양곽 추출물이 갱년기 비만이 유발된 쥐에서 지질 생성 및 공복 혈당 조절에 효과를 나타내는 지 확인하였다.

실험재료 및 방법

2.1. 약물의 조제

본 연구에서 사용한 음양곽(EK)은 삼지구엽초(*E. koreanum* Nakai)의 지상부를 건조한 것을 사용하였으며, 동양허브(Dong-Yang Herb Inc., Seoul, Korea)에서 구입하였다. 음양곽 50 g을 2000 mL의 증류수에 Room temperature에서 24시간 동안 환류추출하였다. 추출액은 10 μ m 여과지를 사용하여 여과하였고, 회전진공농축기로 감압농축한 후, 동결건조기로 건조하여 9.45 g의 동결 건조품을 얻었다(수율: 18.9%).

2.2. 실험동물

7주령 암컷 C57BL/6J 마우스는 라온바이오(RaonBio Inc., Yongin, Korea)에서 구입하였다. 일반적인 사육 조건인 온도 22.2°C, 습도 55~66%, 명암주기 12 시간으로 자동 조절되는 실험 환경에서 진행하였으며, normal diet와 물을 충분히 공급하였다. 일주일간의 적응기 후 정상 그룹을 제외한 모든 실험 동물을 전신 마취 후 난소절제술 Ovariectomy(OVX)를 수행하였다. 정상군은 가짜수술(sham-operated)을 수행하였다. 수술 과정 중 사망한 개체는 없었다. 정상 그룹은 normal diet를 섭취하였으며, 나머지 실험 동물은 12주 동안 고지방식이인 high fat diet(HFD; 지방 60%, 탄수화물 28%, 단백질 14%)을 섭취하도록 하였다. 12주 후 정상군을 제외한 모든 실험 동물을 3개 그룹으로 나누었다(n = 8). 총 실험군은 4군으로, 1) SHAM+NFD, 2) OVX+HFD, 3) 17-beta estradiol(E2), 4) EK이었다. 음양곽 추출물은 100 mg/kg 농도로 경구투여하였고, 양성대조군인 E2는 50 μ g/kg 농도로 복강주사하였다. 음양곽 추출물의 농도는 음양곽 성분인 flavonol glycoside, icariin 등의 함량을 역계산하여 평균값으로 정하였다.¹⁰⁾ 정상군, 대조군은 vehicle을 경구투여하였다. 총 6주 동안의 샘플 처리 기간 동안 정상군은 normal diet를, 나머지 실험군들은 모두 고지방식을 투여하였다. 이후 동물 희생 전, 16시간 동안 공복하게 하였고 이후 꼬리부분을 채혈하여 공복 혈당을 측정하였다. 동물 희생 후 체중, 난소 무게, 복부 내장 지방 무게를 측정하였다. 채취한 조직은 사용 전까지 10% 포르말린에 고정시켰다.

2.3. 조직학적 분석(Histology).

마우스로부터 분리된 복부 내장 지방을 증류수로 씻어낸 후 ethanol, xylene 등을 통하여 탈수하였다. 파라핀에 고정된 지방 조직은 7 μ m 두께로 절제하여 슬라이드를 제작하였다. 이후 Hematoxylin and Eosin 용액(H&E)으로 염색한 후 광학 현미경 Leica Application Suite microscope software (Leica Microsystems, Buffalo Grove, IL, USA)을 통하여 400배의 배율로 지방 세포를 확인하였다. 지방세포의 직경(diameter)은 Image J software (NIH, Bethesda, MD, USA)로 측정하였다.

2.4. 통계처리

실험결과와 모든 분석은 각 그룹의 측정값을 평균±표준 오차(standard error of the mean; S.E.M.) 값으로 표시하였다. 통계적 분석은 GraphPad Prism (GraphPad Software ver 5.01, Boston, MA, USA) 소프트웨어를 사용하여 Analysis of Variance (ANOVA)의 Tukey's test를 사용하였다. p 값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의성을 인정하였다.

결과

3.1. 음양곽 추출물의 갱년기 비만 쥐에서의 체중 감소 효능

갱년기 비만이 유도된 OVX+HFD군에서는 정상군에 비하여 체중이 유의성 있게 증가하였다. 반면에 양성 대조군인 E2군에서는 유의성 있는 체중 감소가 확인되었다. 이와 마찬가지로 음양곽 추출물 투여군인 EK군에서도 유의하게 체중이 감소하였다(Fig. 1).

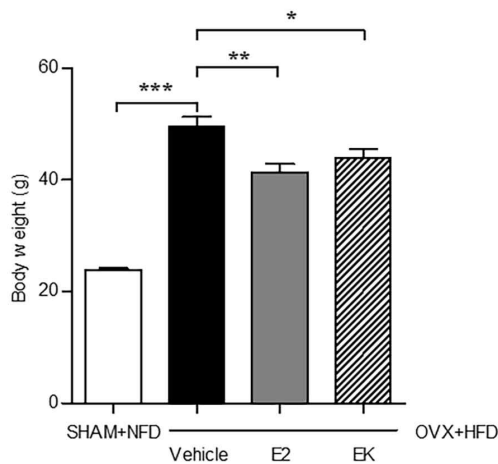


Fig. 1. Effects of EK on body weight. Data are presented as mean ± S.E.M (n = 8). *p < 0.05, **p < 0.01 and ***p < 0.001.

3.2. 음양곽 추출물의 갱년기 비만 쥐에서의 자궁 무게 회복 효능

음성대조군(OVX + HFD)군의 자궁 조직 무게는 정상군에 비하여 현저히 감소되었다. 양성대조군으로 사용된 E2 및 음양곽 추출물(EK) 투여로 인하여 갱년기 비만이 유도된 쥐에서 음성대조군에 비하여 자궁 무게가 유의하게 회복된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

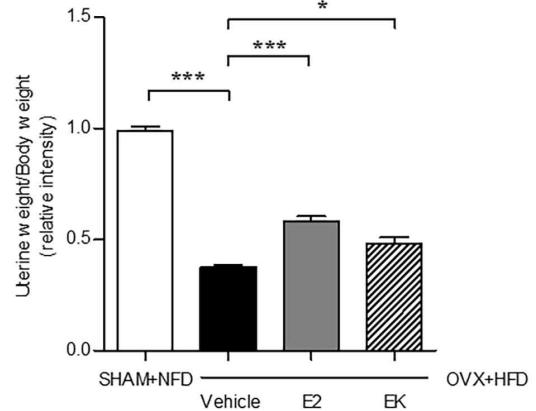


Fig. 2. Effects of EK on relative intensity of uterine weight/body weight. Data are presented as mean ± S.E.M (n = 8). *p < 0.05 and ***p < 0.001.

3.3. 음양곽 추출물의 갱년기 비만 쥐에서의 복부 내장 지방 조직 감소 효능

난소절제술 이후 고지방식이 투여로 인하여 갱년기 비만이 유도된 음성대조군(OVX + HFD)군은 복부 내장 지방 조직의 무게가 현저히 증가되었다. 또한, 조직학적 분석을 통하여 확인한 결과 복부 내장 지방 조직의 지방 세포 직경도 정상군에 비하여 유의하게 증가하였다. 음성대조군 E2군에서는 음성대조군에 비하여 지방 조직 무게 및 지방 세포 직경이 현저하게 감소한 것을 확인할 수 있었다. 음양곽 추출물(EK) 투여는 복부 내장 지방 무게의 증가를 억제하였다(Fig. 3A). 뿐만 아니라 음양곽 추출물은 갱년기 비만 쥐에서 증가된 지방 세포 직경을 유의하게 감소하였다(Fig. 3B, Fig. 3C).

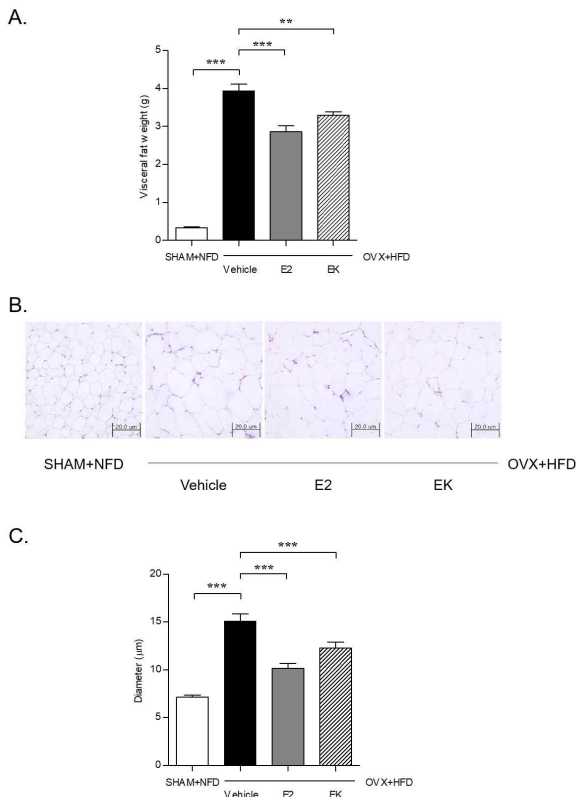


Fig. 3. Effects of EK on visceral fat weight (A), histological changes (B) and size diameter (C) of white adipose tissue. Data are presented as mean ± S.E.M (n = 8). **p < 0.01 and ***p < 0.001.

3.4. 음양곽 추출물의 갱년기 비만 쥐에서의 공복 혈당 조절 효능

동물 희생 전날 먹이를 제거하여 18시간 동안 공복을 유지하였으며, 혈청에서 공복 혈당을 측정하였다. 정상군에 비하여 갱년기 비만이 유도된 군(OVX + HFD)에서는 공복 혈당 수준이 유의하게 증가하였다. E2와 음양곽 추출물(EK) 투여는 갱년기 비만으로 인하여 증가된 공복 혈당 수준을 현저히 감소시켰다(Fig. 4).

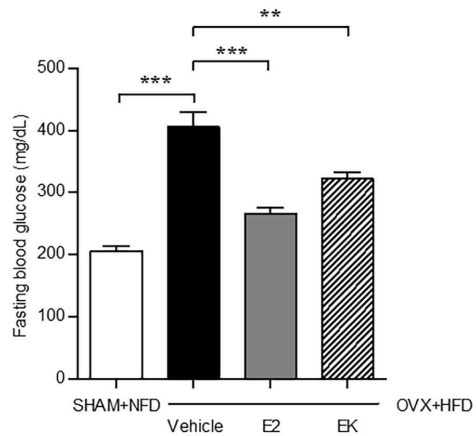


Fig. 4. Effects of EK on fasting blood glucose level. Data are presented as mean ± S.E.M (n = 8). **p < 0.01 and ***p < 0.001.

고찰

본 연구는 갱년기 여성의 지방 축적 및 공복 혈당 증가를 음양곽 추출물이 효과적으로 완화시킬 수 있는 지 확인하기 위한 실험으로서 난소절제술을 받은 쥐에게 고지방식이를 투여하여 갱년기 비만을 유도한 후, 음양곽 추출물을 투여하였다.

갱년기 여성의 경우 여성호르몬의 저하로 인하여 내장 복부 지방이 두드러지게 증가하고 혈당 조절 기능이 상실되는 것이 주요한 특징이다.¹¹⁾ 난소절제술을 수행하고, 고지방식이를 투여함으로써 갱년기 비만과 같은 병리 상태가 유발된 쥐에서는 체중이 눈에 띄게 증가하게 된다.¹²⁾ 음양곽 추출물을 6주 동안 투여한 결과, 증가된 체중이 유의성 있게 감소하는 것을 확인하였다. 또한 난소절제술로 인하여 감소된 자궁의 무게도 음양곽 추출물 투여로 인하여 유의성 있게 증가하였다. 이를 통하여 음양곽 추출물이 여성호르몬 감소로 인한 체중 증가를 완화시킬 수 있음을 확인하였다.

복부 지방이 증가한 갱년기 비만 여성에게서는 포도당 항상성 및 지질 대사 이상 등의 증상을 흔하게 볼 수 있다.¹³⁾ 특히 복부 지방 증가로 인하여 2차적인 만성 질환인 압, 심뇌혈관질환, 당뇨 등이 발생할 수 있는 위험이 높아진다.¹⁴⁾ 그리고 갱년기 여성은 에스트로겐 분비 저하로 간과 지방 조직, 근육 간의 균형이 깨어져 항상성이 유지되지 않아 공복 혈당이 유의미하게 증가되어 있다.¹⁵⁾ 이 때문에 갱년기 비만 환자는 복부 지방 축적을 감소시키고 높아진 공복 혈당을 조절하여 주는 것이 매우 중요하다고 알려져 있다. 난소절제술과 고지방식이 투여로 인하여 갱년기 비만이 유도된 쥐는 정상 쥐에 비하여 복부 내장 지방의 무게와 백색 지방 조직의 지방 세포 직

경이 현저하게 증가하였다. 음양곽 추출물을 6주 동안 투여한 결과, 복부 내장 지방의 무게를 유의미하게 감소시켰으며 증가된 백색 지방 조직의 지방 세포 직경을 감소시켜 지방의 축적을 저해시켰음을 알 수 있었다. 더 나아가 갱년기 비만 발생으로 인하여 증가된 공복 혈당을 음양곽 추출물이 유의미하게 감소시킨 것을 확인하였다. 결과적으로 음양곽 추출물은 갱년기 비만 쥐에서 복부 지방을 감소시키고 공복 혈당을 유의미하게 저해하여 체중 증가를 완화시키는 효과를 나타내었다.

결론

본 연구에서는 음양곽 추출물의 갱년기 비만 완화 효과에 대하여 확인하였다. 난소 적출 및 고지방식이 투여로 인하여 갱년기 비만이 유도된 쥐에서 음양곽 추출물을 경구투여하였고, 체중 및 복부 지방 무게, 조직 분석 및 공복 혈당 수준을 확인하여 그 효과를 파악하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 음양곽 추출물의 갱년기 비만 쥐의 체중 감소
2. 음양곽 추출물의 난소적출로 인한 감소된 자궁 무게의 증가
3. 음양곽 추출물의 복부 내장 지방 무게 및 지방 세포 직경 감소
4. 음양곽 추출물의 공복 혈당 감소

결론적으로 음양곽 추출물은 난소 절제 및 고지방식이 투여로 인하여 유발된 쥐에서 갱년기 비만이 완화된 것을 확인할 수 있었다. 이를 통하여 음양곽 추출이 갱년기 비만 치료에 유의미한 효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대 된다.

참고문헌

- 1) Davis SR, Castelo-Branco C, Chedraui P, Lumsden MA, Nappi RE, Shah D, Villaseca P. Understanding weight gain at menopause. *Climacteric*. 2012;15:419-429.
- 2) Toth MJ, Poehlman ET, Matthews DA, Tchernof A, MacCoss MJ. Effects of estradiol and progesterone on body composition, protein synthesis, and lipoprotein lipase in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001;280:E496-E501.
- 3) Vrtačnik P, Ostanek B, Mencej-Bedrač S, Marc J. The many faces of estrogen signaling. *Biochem. Med. (Zagreb)*. 2014;24:329-342.
- 4) Jelenik T, Roden M. How estrogens prevent from lipid-induced insulin resistance. *Endocrinology*.

2013;154:989-992.

- 5) Milewicz A, Tworowska U, Demissie M. Menopausal obesity — myth or fact?. *Climacteric*. 2001;4:273-283.
- 6) Shin K, Lim S, Ahn S, Kim S, Park K. Difference in Components of *Epimedium koreanum* in Compliance with Seasons and Places of Collection. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 1996;4(4):321-328.
- 7) Chun HJ, Mun YJ, Kim JH, Kim IK, Jeon BH, Woo WH. Effect of the aqueous extract of *Epimedium Koreanum Nakai* on melanin formation in B16 mouse melanoma cell line. 2000;44(5):455-462.
- 8) Shin H, Yoo D. 加味歸脾湯으로 호전된 更年期 症候群 환자 치험 1례. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2011;20(1):105-110.
- 9) Aljehani AA, Albadr NA, Eid BG, Abdel-Naim AB. Icarin enhances AMP-activated protein kinase and prevents high fructose and high salt-induced metabolic syndrome in rats. 2020;28(11):1309-1316.
- 10) Qian H, Wu D, Li C, Liu X, Han X, Peng Y, Zhang H, Zhao B, Zhao Y. *J. Ethnopharmacol.* 2024;318:116957.
- 11) Carr MC. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003;88:2404-2411.
- 12) Lee JE, Kim E, Kim MH, Hong J, Yang WM. *Polygonatum stenophyllum* improves menopausal obesity via regulation of lipolysis-related enzymes. *J Nat Med.* 2016;70(4):789-796.
- 13) Netjasov AS, Vujović S, Ivočić M, Tancić-Gajić M, Marina L, Barać M. Relationships between obesity, lipids and fasting glucose in the menopause. *Srp Arh Celok Lek.* 2013;141(1-2):41-47.
- 14) Van Hook J, Altman CE, Balistreri KS. Global patterns in overweight among children and mothers in less developed countries. *Public Health Nutr.* 2013;16:573-581.
- 15) Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocr Rev.* 2013;34:309-338.