

원저

지방식으로 유도된 비만동물모델에서의 약침의 효과

김지현* · 박창신** · 함대현* · 이해정* · 심인섭*

* 경희대학교 동서의학대학원 한의과학과 침구경락학교실

** 인하대학교 의과대학 약리학교실

Effect of Herbal Acupuncture with Sang-hwang(*Phellinus linteus*) on High Fat Diet-induced Obesity in Rats

Ji Hyun Kim* · Chang-Shin Park** · Dae-Hyun Hahm* · Hye-Jung Lee* · Insop Shim*

* Lab. of Acupuncture & Meridian, Dept. of Oriental Medical Science, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee Univ., Yongin-si, Kyungki-do 449-701

** Dept. of Pharmacology, College of Medicine, Inha Univ., Inchon 402-751

Abstract

Acupuncture has fairly good weight-reducing effect in treating simple obesity due to the neuroendocrine regulation. In this study, the anti-obesity effects of herbal acupuncture(HA) with Sang-hwang(*Phellinus linteus*) at Fuai(SP16) were investigated in the rat fed on high-fat(HF) diet. Sang-hwang mushroom has been proven to have anti-carcinogenic effects and Sang-hwang extracts are highly effective in treatment and preventive treatment of AIDS, diabetes and high blood-pressure. To determine whether the Sang-hwang herbal acupuncture may have the anti-obesity effect, male Sprague-Dawley(4-wk-old) rats were fed a HF diet for 5 wk, which produced significant weight gain compared to rats were fed a normal diet, and then herbal acupuncture were treated for 3 wk in HF diet group. The body weight, food consumption, food efficiency ratio(FER), body fat mass, plasma nitric oxide(NO) were investigated in rats fed on normal diet, HF diet, and HF diet with HA(HF-diet-HA) groups. NO has been proposed to be involved in the regulation of food intake. In addition, the expression of appetite peptides such as orexigenic peptide neuropeptide Y(NPY) and the anorectic peptide cholecystokinin(CCK) were observed in the hypothalamus. HF-HA group reduced body weight gain, FER, body fat contents and NO concentration compared to HF diet group. The expression of NPY was reduced in arcuate nucleus(ARC), and CCK was increased in the paraventricular nucleus(PVN) after treatment of HA. In conclusion, Sang-hwang HA reduced adiposity, plasma NO and hypothalamic NPY, but increased CCK expression in the HF diet-induced obesity rat, therefore HA may have anti-obesity action through regulating body weight and appetite peptide of the central nervous system.

Key words : Antiobesity, Sang-hwang mushroom, body fat mass, plasma nitric oxide, neuropeptide Y, cholecystokinin, hypothalamus

1. 緒 論

비만은 지방의 과다 축적으로 특징 지워지는 다양한 원인을 가진 심각한 만성 증후군이다. 비만의 원인은

아직 명확히 밝혀지지 않았으나 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 인한 체지방 축적이 주된 요인으로 알려져 있으며, 지방의 과다 섭취 등 현대화된 식이 요인 등의 환경적 요인과 유전적 요인 또한 복합적으로 작용하여

비만이 되는 것으로 보고 되고 있다²⁾. 복부 비만을 보이는 환자는 흔히 X-증후군(인슐린 저항성, 제2형 당뇨병, 고혈압 및 지질대사 이상)과 같은 병적인 상태와 관련되어 있으며, 조기 동맥경화, 허혈성 심질환 및 뇌혈관 질환의 강력한 위험인자로 작용한다. 따라서 현재 비만의 치료는 체중감량 뿐만 아니라, 조기에 심혈관 질환을 유발하는 소인이 될 수 있는 대사 이상의 개선에도 그 목표가 있다³⁾. 한편, 한의학에서는 비만증에 대해 黃帝內經 素問 通評虛實論에서 肥貴人 則膏粱之疾也라고 원인에 의한 간단한 정의를 최초로 언급하였다. 治法으로는 氣虛에는 補氣健脾, 濕痰에는 利濕 痰의 약물요법이나 침 치료를 주로 하는데 최근에는 이침⁴⁾, 전침⁵⁾, 수기요법⁶⁾ 등도 비만 치료에 응용되고 있다. 한편, 약침요법은 순수 한약재를 정제, 추출하여 경혈에 극소량의 약물을 주입함으로써 침의 작용과 한약의 작용을 병행하여 치료효과를 보다 극대화시키기 위한 침 요법을 말하는 것으로, 비만치료를 약침의 효능을 동물실험에서 살펴본 연구는 전무한 실정이다.

최근 매우 확산력이 높은 가스로서 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase(NOS)에 의하여 합성되어지는 nitric oxide(NO)는 중추신경계에서 독특한 생물학적 전달자로 관심의 대상이 되고 있다⁷⁾. 특히, nitric oxide synthase(NOS)를 억제함으로써 식이섭취가 감소된다고 보고 되고 있어 NO가 식이섭취를 조절에 중요한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다⁸⁾. 비만의 병인론에 있어서 운동신경, 자율신경 및 말초신경계가 모두 관여하는데 특히 중추신경계 시상하부가 중요한 역할을 한다.

시상하부의 복내측핵(ventromedial hypothalamus : VMH) 또는 실방핵(paraventricular nucleus : PVN)은 섭식을 억제하는 포만 중추(satiety center)이고, 외측시상하부(lateral hypothalamus ; LH)에는 섭식을 촉진하는 공복 중추(hunger center)가 있다. 동물실험에서 포만 중추가 손상되거나 섭식을 일으키는 대표물질인 neuropeptide Y(NPY)를 주입할 경우 과식과 비만이 생기고, 공복 중추가 손상되거나 cholecystokinin(CCK)를 주입할 경우 식욕저하와 체중 미달이 나타난다고 보고된 바 있다⁹⁻¹²⁾.

지난 수십 년 동안 비만증을 이해하기 위한 신경학적 연구가 진행되어 섭식에 대한 구체적인 모델이 제시되어 왔으나 개별적인 신경인자와 신경전달물질에 대한 부분적인 이해와 대뇌의 구조적인 설명은 명백하지 않다.

그러나, 비만에 대한 신경과학의 기술적인 진보로 인하

여 최근 NPY, agouti related protein(AGRP), orexin, galanin, NO, pro-opiomelanocortin(POMC), glucagon-like peptide-1, α -MSH, leptin, CCK 등 시상하부에 작용하는 여러 가지 호르몬 또는 신경전달물질이 식욕의 조절에 관여하는 것이 밝혀지면서 비만에서 뇌의 역할은 더욱 중요한 것으로 밝혀지고 있다¹³⁾.

상황버섯은 분류학상 담자균아문(Basidiomycotina), 소나무버섯과(Hymenochaetae)의 목질진후버섯(Phellinus linteus)으로 뽕나무 줄기에 자생하며, 갓 표면을 제외하고는 모두 황색이므로 상황(桑黃)이라고 알려져 있다. 상황버섯은 민간에서 늑막염, 폐렴, 감기 등의 열성병에 해열제로 응용되어 왔던 천연물로, 면역 활성화와 항암활성이 보고 된 바 있다. 약리학적 효능으로 소화기 계통의 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암을 비롯한 간암의 절제수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 항진시키며, 위장 기능을 활성화 시키고 해독 작용을 하는 것으로 보고 되어 있다¹⁴⁻¹⁵⁾. 그러나 상황에 대한 연구는 항암 및 면역증강 효과가 대부분이고 이외의 다른 약리효과에 대한 보고가 거의 없으며, 특히 항비만 효과에 대한 연구보고는 미비한 실정이다.

본 연구에서는 한의학적 비만 치료의 일환으로 지방 식이로 유도된 비만 쥐에서 상황버섯 약침의 효능을 알아보고자 체중증가, 식이섭취, 체지방량, 혈청 NO 농도에 미치는 영향을 살펴보고, 나아가 약침 처치에 대한 뇌의 변화를 면역조직화학기법(immunohistochemistry)을 이용하여 시상하부에서의 대표적인 섭식을 자극물질인 NPY와 섭식을 감소시키는 물질인 CCK의 활성을 살펴보고자 한다.

II. 實驗方法

1. 실험동물

본 실험에 사용한 흰쥐는 Sprague-Dawley(SD) 종 생후 3주령(체중 $80 \pm 10g$)의 수컷(오리엔트, 한국)을 구입하여 동물실험실 내 고휘사료(삼양사료, 한국)와 물은 무제한 공급하면서 사육실에서 7일간의 적응기간을 갖도록 하였다. 적응기간 후 SD 종 수컷 흰쥐 4주령부터 준비된 지방 식이 및 물을 자유로이 섭취하도록 하여 5

주간 사육하면서 체중변화를 측정하여 비만을 유도함을 확인한 후, 3주 동안 약침을 처치하였다(HF-diet-HA 군). 정상 대조군(normal diet군)은 4주령부터 8주의 실험 기간동안 AIN-76A diet # 100000 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA)를 공급하였고, 고지방 식이군(HF diet군)은 지방 급원으로 beef tallow를 사용하여 AIN-76A high fat diet # 100496(Dyets Inc.)으로 총 열량의 40%를 지방으로 공급하여 사육하였다<Table 1>. 각 실험군은 5마리로 하였으며, 동물사육실의 조건은 항온항습($23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, $50 \pm 10\%$ RH) 환경에서 08 : 00부터 20 : 00까지 12시간 간격으로 명암이 자동 조절된다.

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Normal diet ¹⁾	High fat diet ²⁾
Casein	200	200
DL-Methionine	3	3
Corn starch	150	150
Sucrose	500	345
Cellulose	50	50
Corn Oil	50	-
Beef Tallow	-	205
Salt mixture	35	35
Vitamin Mixture	10	10
Choline Bitartrate	2	2
Fat % (Calories)	11.7	40.0

¹⁾ Normal diet : AIN-76A diet #100000 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA)

²⁾ High fat diet : AIN-76 diet #100496 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA)

2. 약침액 및 약침액의 주입

대한약침학회에서 조제한 상황버섯 약침액을 이용하여 1/2cc, U-100 insuline 30 gauge needle(Becton Dicken and Company, USA)로 양측 복에혈에 0.05cc를 주입하였다. 정상 식이 및 지방 식이 대조군은 동량의 생리식염수를 동일한 방법으로 주사하였다.

3. 체중, 식이 및 부위별 체지방 무게의 측정

실험기간동안 식이 섭취량과 체중은 일주일에 2회 측정하였다. 실험동물의 체중은 5주간의 정상 식이 혹

은 고지방 식이 공급 후, 즉 9주령의 체중을 시작 체중으로 하였고, 3주간 약침 처치를 한 후인 12주령의 체중을 최종 체중으로 하였다. 식이 효율(Food Efficiency Ratio ; FER)은 약침을 처치하는 3주간의 체중 증가량을 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다. 모든 실험이 끝난 후 12시간 절식 후 혈액과 장기를 채취하였다. 실험동물을 sodium pentobarbital(80 mg/kg, i.p.)로 마취 후 갈색 지방(brown adipose tissue; BAT), 부고환 지방(epididymal fat), 장관막 지방(visceral fat), 복막 지방(peritoneal fat)를 분리하여 무게를 측정하였고, 혈액은 heart puncture 방법으로 채취한 후 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 취하여 -70°C 에서 보관하였다.

4. 혈청 nitric oxide 분석

혈청에 존재하는 총 NO 대사물(nitrate+nitrite, NOx)은 NADPH-dependent nitrate reductase(14 mmol/L sodium phosphate buffer, pH 7.4) 이용하여 분해된 nitrite의 총농도를 흡광광도계를 이용하여 540nm에서 측정한다.

5. 면역조직화학분석법

실험동물을 sodium pentobarbital(80mg/kg, i.p.)로 마취시키고 saline 100ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 고정액 900ml로 심장을 통해 관류하였다.

처음 고정액 200ml은 5분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지 700ml은 25분간 천천히 관류하였다.

그 다음 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2-3시간동안 고정시키고 20% sucrose가 함유된 인산완충액에 넣어 4°C 에서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 microtome(Leica, CM1850, Germany)을 이용하여 뇌 조직을 배측과 복측의 시상하부 부위에서 $30\mu\text{m}$ 의 두께로 자른 다음 취한다.

NPY 면역조직화학법은 조직절편을 인산완충액에 3회 세척하여 0.3% Triton X, 0.1% sodium azide, 1 : 2000 희석된 primary rabbit NPY antibody(ImmunoStar, WI, USA)를 이용하였으며, CCK 면역조직화학법은 1 : 500 희석된 primary rabbit CCK antibody(ImmunoStar, WI, USA)를 이용하였으며, 뇌 조직은 1차 항혈청에 4°C 에서 72시간동안 지속적으로 흔들며 주면서 배양하였다.

그 후 3번 이상 조직을 PBST로 씻은 다음 2시간동안 실온에서 2% normal goat를 함유하는 PBST에서 200배

희석한 biotinylated anti-rabbit serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 반응시켰다. PBST로 3번 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 2시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector)에 담구었다.

PBS로 몇 번 행군 다음 조직을 nickel chloride로 강화시키고 착색제로서 diaminobenzidine(DAB)을 사용하여 발현시켰다. 모든 처리를 거친 뇌 조직을 gelatine-coated slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 현미경으로 관찰하였다.

200×200µm 크기의 microscope 4각 격자(rectangle grid)를 사용하여 200배로 확대하여 Paxinos와 Watson의 부도를 참고하여¹⁶⁾ 시상하부의 각 부위들에서 발현된 NPY-, CCK-immunoreactive 신경세포의 수를 측정하였다.

6. 통계처리방법

본 연구의 모든 측정값은 평균값±표준오차(mean±SEM)로 표시하였고 통계학적 분석은 Window용 SPSS를 이용하였다. 각 실험군간의 차이는 one-way ANOVA에 의하여 검정하고, 사후검정은 LSD test를 적용하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 p<0.05에서 의미를 부여하였다.

III. 結 果

1. 체중의 변화, 식이 섭취 및 식이효율

실험동물의 체중 변화, 식이 섭취 및 식이효율의 결과는 <Table 2>와 같다. 정상 식이군과 지방 식이군의 시

작 체중과 [F(2,14)=8.190, p<0.01], 최종 체중은 [F(2,14)=5.711, p<0.05] 유의적인 차이가 나타났으나 사후검정 결과 약침처치군의 체중의 유의적인 차이는 없었으며, 식이섭취량 또한 그룹간 차이가 나타나지 않았다 [F(2,14)=2.721, p>0.1]. 그러나 약침 처치 후 1일 체중 증가량은 고지방 식이군에 비해 유의성 있게 감소하였으며 [F(2,14)=9.006, p<0.01], 식이 효율도 같은 양상을 보였다 [F(2,14)=11.250, p<0.01].

2. 부위별 체지방 무게의 비교

고지방 식이와 약침 처치에 의한 갈색 지방, 부교환 지방, 장간막 지방, 복막 지방 무게의 변화를 비교하여 보면 <Fig. 1>과 같다. 갈색 지방은 그룹간 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 [F(2,14)=0.686, p>0.5], 부교환 지방 [F(2,14)=13.230, p<0.001], 장간막 지방 [F(2,14)=28.803, p<0.001], 복막 지방 [F(2,14)=8.086, p<0.01] 모두 그룹간 차이가 나타났다. 이에 LSD 사후검정 결과, 지방식이 대조군에 대한 약침처치의 유의적인 차이는 장간막 지방에서만 관찰되었다(p<0.05).

3. 혈청 nitric oxide 농도

각 그룹의 혈청 NO 농도의 평균치는 <Fig. 2>와 같다. 정상 식이군의 혈청내 NO 농도는 27.0±6.3µM, 고지방 식이군은 62.1±8.7µM, 약침 처치군은 27.6±7.1µM로서, 정상 식이군과 비교하여 고지방 식이군의 평균 NO 농도는 유의성 있게 높았으며 [F(2,14)=7.127, p<0.05], 고지방 식이군의 약침 처치 후 혈청 NO 농도는 거의 정상 식이군 수준까지 감소되었다(p<0.01).

Table 2. Body weight, daily food intake and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 3 weeks

Groups	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER ²⁾
Normal diet	317.8 ± 8.9 ^{**1)}	389.8 ± 8.0 ^{**}	1.88 ± 0.16 ^{**}	20.57 ± 0.59	0.091 ± 0.007 ^{**}
HF-diet	360.4 ± 2.8	447.4 ± 10.0	3.50 ± 0.34	19.02 ± 0.40	0.184 ± 0.015
HF-diet-HA	352.2 ± 10.0	416.2 ± 16.6	2.15 ± 0.73 ^{**}	17.97 ± 0.73	0.120 ± 0.018 ^{**}

Separate measures of one-way ANOVA among the groups followed by LSD test. ^{**}p < 0.01 as compared with the corresponding data of HF-diet group.

¹⁾ Values are Mean ± SE

²⁾ FER : Food efficiency ratio = body weight gain (g/day)/food intake (g/day)

HF : high fat, HF-diet-HA : high fat diet with herbal acupuncture at SP16

Fig. 1.

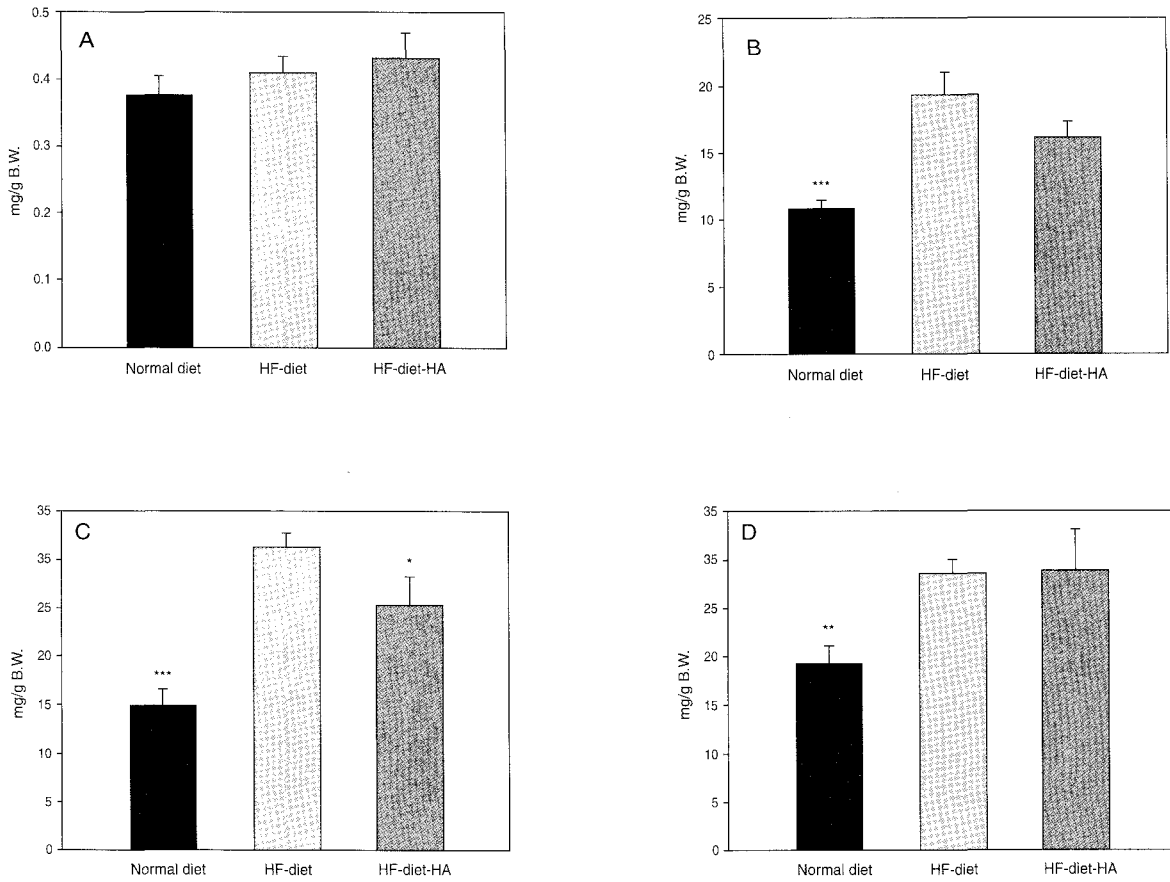


Fig. 1. Effect of herbal acupuncture on adipose tissue mass. (A) brown adipose tissue, (B) epididymal fat, (C) visceral fat, (D) peritoneal fat. Levels of tissue mass were calculated as a weight per body weight. Separate measures of one-way ANOVA among the groups followed by LSD test. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ as compared with the corresponding data of HF-diet group. HF : high fat, HF-diet-HA : high fat diet with herbal acupuncture at SP16.

Fig. 2.

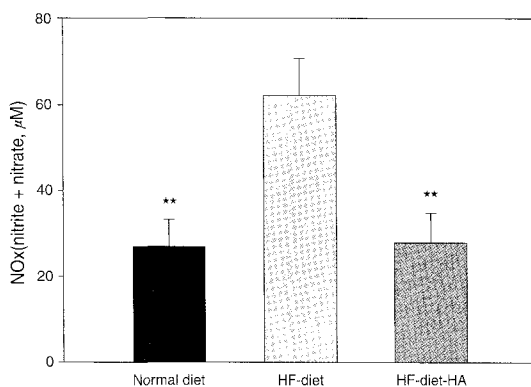


Fig. 2. Effect of herbal acupuncture on the plasma concentration of NO metabolites in rats fed normal diet or high fat diet. Separate measures of one-way ANOVA among the groups followed by LSD test. ** $p < 0.01$ as compared with the corresponding data of HF-diet group. HF : high fat, HF-diet-HA : high fat diet with herbal acupuncture at SP16.

4. 면역조직화학분석결과

뇌의 시상하부 각 핵에서 NPY 발현은 <Fig. 3>과 같다. 정상 식이군에서 NPY 발현을 살펴보면 arcuate nucleus (ARC)에서 31.0 ± 2.2 , lateral hypothalamus(LH)에서 22.6 ± 1.5 , paraventricular nucleus(PVN)에서 27.4 ± 4.8 , ventromedial hypothalamus(VMH)에서 29.0 ± 2.1 , 고지방 식이군은 ARC에서 48.5 ± 4.4 , LH에서 25.8 ± 1.1 , PVN에서 36.5 ± 2.8 , VMH에서 35.3 ± 1.5 , 약침 처치군은 ARC에서 35.7 ± 3.3 , LH에서 24.0 ± 3.0 , PVN에서 30.0 ± 4.0 , VMH에서 33.0 ± 2.5 로 각각 나타났다.

약침 처치는 ARC 부위에서 NPY 발현의 유의적인 감소를 나타냈으나 $[F(2,14)=8.224, p<0.01]$, 나머지 시상하부 핵에서는 차이가 관찰되지 않았다.

뇌의 시상하부 각 핵에서 CCK 발현은 <Fig. 4>와 같다. 정상 식이군에서 CCK 발현을 살펴보면 ARC에서 26.4 ± 3.5 , LH에서 13.0 ± 2.1 , PVN에서 42.3 ± 1.0 , VMH에서 22.6 ± 2.7 , 고지방 식이군은 ARC에서 24.2 ± 3.9 ,

LH에서 10.2 ± 2.4 , PVN에서 28.0 ± 1.9 , VMH에서 18.7 ± 1.2 , 약침 처치군은 ARC에서 25.6 ± 4.4 , LH에서 12.0 ± 3.4 , PVN에서 39.0 ± 2.5 , VMH에서 21.0 ± 3.0 으로 각각 나타났다. 약침 처치는 PVN 부위에서 CCK 발현의 유의적인 증가를 나타냈으나 $[F(2,14)=9.018, p<0.01]$, 나머지 시상하부의 핵에서는 고지방 식이군과 비슷한 수준을 보였다.

Fig. 3.

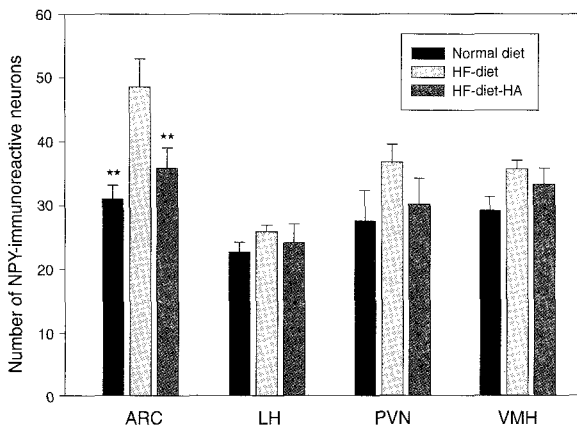


Fig. 3. Expression of neuropeptide Y(NPY) neurons in the hypothalamus after feeding experimental diets in normal diet or high fat diet pretreated rats. Separate measures of one-way ANOVA among the groups followed by LSD test. $^{***}p<0.01$ as compared with the corresponding data of HF-diet group. HF : high fat, HF-diet-HA : high fat diet with herbal acupuncture at SP16. ARC, arcuate nucleus ; LH, lateral hypothalamus ; VMH, ventromedial hypothalamus ; PVN, paraventricular nucleus

Fig. 4

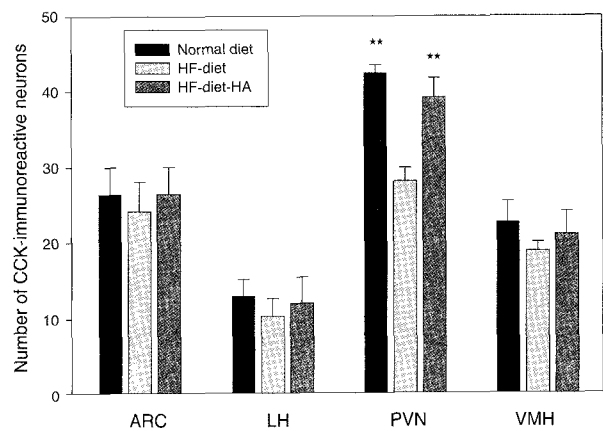


Fig. 4. Expression of cholecystikinin(CCK) neurons in the hypothalamus after feeding experimental diets in normal diet or high fat diet pretreated rats. Separate measures of one-way ANOVA among the groups followed by LSD test. $^{**}p<0.01$ as compared with the corresponding data of HF-diet group. HF : high fat, HF-diet-HA : high fat diet with herbal acupuncture at SP16. ARC, arcuate nucleus ; LH, lateral hypothalamus ; VMH, ventromedial hypothalamus ; PVN, paraventricular nucleus

IV. 考 察

비만은 에너지 섭취가 소비보다 많아 과잉된 열량이 지방조직에 축적되어 대사성 불균형이 장기간 지속되는 것으로 고지혈증, 고혈압, 당뇨병, 심근경색증, 유방암, 지방간, 통풍, 협심증, 호흡기계 질환 등과 같은 성인병 발생의 위험인자로 작용한다⁷⁾. 또한 비만은 과도한 체중으로 인해 외형상의 수치심 및 정신적인 스트레스를 유발하기도 한다. 그러므로 비만치료의 목표는 과량의

지방을 감소시켜 체중을 감소시키고 대사성 불균형을 개선시키는 것이다^{2,3,18}).

한의학에서 비만의 원인은 脾, 肝, 腎의 부조화로 인하여 유발되는 氣虛, 脾虛, 腎虛, 脾胃實熱, 肝氣鬱滯, 氣滯血瘀, 食積痰飲, 脾濕痰濁, 多痰 등으로 분류된다고 볼 수 있다. 비만의 발병기전은 氣虛하여 運化輸布機能이 失調하면 清濁이 相混하여 痰濁內蘊하여 成肥滿하고, 活動減少하면 氣虛, 氣鬱하여 運化無力하게 되고 成痰濁하여 肥滿이 되며, 內傷七情하면 肝虛鬱結하여 疏泄機能이 失調하게 되니 脾胃의 昇降運動이 失調하여 痰濁內聚하므로 成肥滿한다. 또한, 淡濕이 原因으로 淡濁阻滯하면 脾胃運化가 失調하여 肥滿이 되며 多食高粱厚味하면 脾胃運化機能이 失調하여 生痰濕하니 水液運化가 不能하여 成肥滿 하게 된다^{5,19,20}.

비만의 치료는 虛症의 경우는 補氣健脾, 溫陽, 補血陰陽을 위주로, 實症의 경우는 祛濕, 清熱, 消導, 火痰, 造血化痰를 위주로 치료하며, 그 외에 疏肝利膽시키는 治法 등을 사용한다. 또한 藥物療法 외에 耳針, 體針, 電氣刺戟法, 節食療法, 氣功療法, 附缸療法, 手技療法 등도 응용되고 있다. 東醫學에서는 일반적으로 증상에 따른 類型을 基準으로 脾虛耳水濕停滯型은 防己黃芪湯, 五苓散을, 痰飲型은 二陳湯, 六君子湯을, 陽虛兼水濕型은 八味丸, 食積型은 防風通聖散을 肝鬱型은 加味逍遙散을, 瘀血型일 경우 挑核承氣湯을 기본적으로 處方한다⁵. 이에 본 실험에는 비만 치료에 있어 약침요법의 응용 가능성을 제시하고자 고지방 식이로 유발된 동물모델에서 복에 혈에 상황 약침액의 효능을 검토하고자 한다. 실험에 선택한 혈자리인 腹哀는 足太陰脾經과 陰維脈의 交會血로서 이 혈위에서 둘로 갈라져 일월, 기문을 거쳐 비장으로 들어가고, 앞으로 진행하여 食竇에 도달한다. 별명도 腸哀, 腸屈이라 했던 것 같이 복통의 중요혈로 大橫上 3寸, 上直兩乳, 중완의 옆에 위치하며 오른쪽 혈위는 해부학적으로 결장위에, 왼쪽 혈위는 비장위에 있어 결장과 비장이 연관되어, 혈액과 관련된 장질환에 효과가 있을 것으로 기대된다. 예로부터 胃痙攣, 臍周圍痛, 消化不良, 腹寒痛, 便秘, 痢疾, 便膿血 등을 主治하며, 십이지장궤양같은 위장병 외에도 간질환, 담석증에 효과를 보여왔다²⁰.

상황버섯의 열수 추출물이 소화기계통의 암에 지지

효과가 있다고 보고된²⁰ 이래 많은 연구가 진행되어 왔으나, 상황버섯은 희귀하고 매우 고가이며, 산지와 종균에 따라 약리 효과가 차이가 있는 것으로 알려져 있다. 현재 균사체 배양물로서 분리한 단백다당체의 면역활성^{23,24} 및 항암활성^{25,26}, 재배상황 추출물의 급성독성²⁷ 등 항암 및 면역 증강 효과에 관한 연구 등이 있을 뿐이다.

식욕은 말초적 그리고 중추적 기전간의 연속적인 상호작용에 의해서 일어나는 복잡한 현상이다. 중추적 조절기전에는 일반적으로 음식섭취를 조절하는 부위로서 시상하부가 관여하는 것으로 알려져 있다²⁸. 이러한 시상하부에는 궁상핵(ARC), 복내측핵(VMH), 실방핵(PVN), 외측 시상하부(LH) 등 여러 핵들로 존재하고 섭식중추와 포만중추가 있으며 섭식중추에서는 음식물을 섭취하게 하고, 포만중추에서는 음식물 섭취를 중단하게 된다²⁹. 또한 시상하부에서는 식욕을 결정하게 하는 많은 신경전달물질이 있어 식사의 개시와 종료를 담당한다^{30,31}. 이들 신경전달물질중에 음식섭취를 증가하는 물질과 감소시키는 물질이 있으며, 음식섭취를 증가시키는 대표적인 물질로 NPY가 있다. 이 물질은 36개의 아미노산으로 이루어진 polypeptide로 시상하부부분에 많이 분포하고 있는 물질이다. NPY는 시상하부의 ARC에서 많이 분비되어 배고픔을 느끼거나(hunger signal) 절식(fasting)과 저혈당증(hypoglycemia)시에 증가되어 음식섭취를 증가시키는 신경전달물질이다^{32,34}. 또한 이와는 반대로 포만감(satiety signal)을 주는 CCK 등이 식욕조절에 관여하고 있다^{35,37}. 이에 본 실험에서는 고지방 식이로 유도된 비만 쥐를 사용하여 상황 약침액을 복에혈에 처치하였을 때 항비만 효과를 살펴보고자 식이효율, 지방조직의 무게, 혈청 NO 농도, 시상하부의 NPY와 CCK의 발현 등을 분석하였다. 체중의 변화를 살펴본 결과 고지방 식이군이 정상 식이군에 비하여 식이 섭취량에는 차이가 없었으나, 고지방 식이군의 체중증가량과 식이효율이 유의성 있게($p < 0.05$) 증가하여 비만이 유도된 것은 성장기동안 높은 지방 섭취는 체중 증가를 가져오며 기간이 경과함에 따라 그 영향이 커질 수 있음을 나타낸다³⁸. 그리고 고지방 식이와 함께 상황버섯 약침을 처치한 실험군은 지방식이 대조군에 비하여 일일 몸무게 증가량과 식이효율이 유의성 있게 감소되었다($p < 0.01$). 12주령 고지방 식이군은 갈색 지방의 중량을 제외하고 부고환 지방, 장간막 지방, 복막 지방 모두 정상 식이군에 비하여 증가한 것으로 보아($p < 0.01$), 체내의 지방량

은 식이와 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다³⁹⁾. 약침을 함께 처치한 실험군은 부고환 지방은 감소시키는 경향을 보였으며, 장간막 지방은 유의성 있게($p<0.05$) 감소를 나타내었다. 그러나 복막 지방량은 유의성이 없는 것으로 나타났다. 그러므로 상황 약침 처치는 부고환, 내장 지방량을 감소시키는 데 영향을 주었다고 볼 수 있다.

지방의 감소를 통한 비만의 치료를 혈액학적인 NO 분석을 통해 살펴본 결과, 정상 식이군에 비해 고지방 식이군이 증가하여 비만일 경우 NO가 증가한다는 보고와 일치하였다⁴⁰⁾. 또한 약침 처치가 고지방 식이 대조군 보다 유의성 있게 감소하였으므로 상황 약침이 NO 대사에 영향을 줄 수 있는 것으로 나타났다. 또한 고지방 식이로 유발된 비만에 대한 약침의 효능의 신경학적 기전을 살펴보기 위하여 면역조직화학법을 이용하여 NPY와 CCK의 발현을 측정하였다. 고지방 식이군은 정상군에 비하여 ARC에서의 NPY 발현이 유의성 있게 증가하였으며, 약침액 처치군은 고지방 식이군의 증가된 NPY 발현을 유의성 있게 감소하였다($p<0.01$).

하지만, 그 외 LH, VMH, PVN에서의 NPY 발현은 그룹간 차이가 나타나지 않았다. 시상하부에서 CCK 발현을 살펴본 결과, 실험에서 가장 높은 발현이 나타났으며 이는 시상하부에서의 CCK 분포와 동일하게 나타났다⁴⁰⁾. 정상 식이군에서는 PVN에서의 CCK 발현은 고지방 식이군에 비하여 감소하였으며 약침 처치군 또한 고지방 식이군에 비하여 감소하였으나, ARC, LH, VMH에서는 그룹간 차이가 없었다.

이상의 실험결과 상황버섯 약침은 고지방 식이로 유발된 비만 동물모델에서 식이 섭취량 및 체내 지방량을 감소시키고, 섭식과 관련된 NO, NPY, CCK의 변화를 일으키므로 비만 치료에 있어 효과적임을 알 수 있었다.

V. 結 論

비만 치료에 대한 상황버섯 약침의 효과를 알아보기 위하여 고지방 식이로 유발된 비만 동물모델을 이용하여, 식이 섭취량, 식이효율, 체내 지방량, 혈청 내 NO 농도 및 시상하부에서의 NPY와 CCK의 발현 정도를 살펴본 결과는 다음과 같다.

1. 고지방 식이로 유도된 비만 모델에서 약침액 처치

가 몸무게 증가, 식이섭취량 증가, 그리고 부위별 지방무게의 증가에 대한 억제효과를 나타내었다.

2. 고지방 식이로 유도된 비만 모델에서 약침액의 처치 결과 혈청에서의 NO의 양이 고지방 식이 대조군에 비하여 유의미하게 감소하였다.

3. 고지방 식이로 유도된 비만 모델에서 약침액의 처치가 뇌의 시상하부에 존재하는 섭식자극 펩타이드인 NPY의 발현정도가 대조군에 비하여 감소되었으며, 섭식저해 펩타이드인 CCK의 발현정도는 증가되었다.

따라서 복애혈의 상황버섯 약침액 처치가 식이 섭취량 억제, 체지방 감소, 혈청 NO 감소, 시상하부에서 NPY 감소 및 CCK 증가를 일으키므로, 비만 치료 및 예방에 유효할 것임을 시사한다.

VI. 參考文獻

1. Grundy, SM. Multi-factorial causation of obesity : implications for prevention. Am J Clin Nutr 1998 ; 67 (Suppl) : 563s-572s
2. Albu J, Allison D, Boozer CN, Heymsfield D, Kissileff H, Kretser A et al. Obesity Solution: Report of a Meeting. Nur Rev 1997 ; 55(5) : 150-156
3. Leonhardt M, Hrupka B, Langhans W. New approaches in the pharmacological treatment of obesity. Eur J Nurt 1999 ; 38 : 1-13
4. 전국한의과대학 침구경혈학 교실. 침구학. 서울 : 集文堂. 1988 : 1370
5. 전국한의과대학 재활의학과학교실. 동의재활의학과학. 서울 : 集文堂. 1995 : 570-575, 578-581
6. 김기욱. 의료기공 II. 서울: 도서출판 단비. 1994 : 68
7. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain. Ann Neurol 1992 ; 32 : 297-311
8. Morley JE, Flood JF. Evidence that nitric oxide modulates food intake in mice. Life Sci 1991 ; 49 : 707-711
9. Stricker-Krograd A, Beck B, Burlet C. Nitric oxide

- mediates hyperphagia of obese Zucker rats: relation to specific changes in the microstructure of feeding behavior. *Life Sci* 1996 ; 58 : PL9-PL15
10. Stanley BG, Leibowitz SF. Neuropeptide Y: Stimulation of feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus. *Life Sci* 1984 ; 36 : 2635-2642
 11. Crawley JN, Corwin RL. Biological actions of cholecystokinin. *Peptides* 1994 ; 15 : 731-755
 12. Brobeck JR. Mechanism of the development of obesity in animals with hypothalamic lesions. *Physiol Rev* 1946 ; 26 : 541-559
 13. Wilding JPH. Neuropeptides and appetite control. *Diabetes UK. Diabetic Medicine* 2002 ; 19 : 619-627
 14. 김병각, 김양선, 석순자, 정재모, 신재용, 안영남 등. 버섯건강용법. 상황버섯의 효능. 가림출판사 1995
 15. 김영공, 신배구, 김재성, 배원식. 동의보감. 남산당. p. 1149
 16. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain: in stereotaxic coordinates*. Fourth edition. San Diego : Academic press. 1988
 17. 대한비만학회, 임상비만학, 서울 : 고려의학. 1995 : p. 11-16, 93-111, 121-148, 184-189, 205-206, p. 341, 395, pp. 417-422
 18. 성낙웅. 비만과 식생활. 대한의학협회지. 1989 ; 32(15) : 502-506
 19. 中醫研究院主編 中醫症狀鑑別診斷學. 北京 : 人民衛生出版社. 1989 ; 415
 20. 陣貴廷. 實用中西醫結合診斷治療學. 北京 : 木支出版社. 1991 ; 683
 21. 鍼灸學(上) 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室 編著, 集文堂. 2001 ; 414-415
 22. Ikegawa T, Nakanishi M, Uehara N, Chihara G, Fukuoka F. Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*, *Gann* 1968 ; 59(2) : 155
 23. Oh GT, Hans SR, Kim HM, Han MW, Yoo ID. Immunostimulation activity of *Phellinus linteus* extracts to B-lymphocyte. *Arch Pharm Res* 1992 ; 15(4) : 372
 24. Lee JH, Cho SM, Song KS, Han SB, Kim HM, Hong ND et al. Immunostimulating activity and characterization of polysaccharide from mycelium of *Phellinus linteus*. *J Microbiol Biotechnol* 1996 ; 6(3) : 213
 25. Chung KS, Kim SS, Kim HS, Kim KY, Han MW, Kim KH. Effect of Kp, an antitumor protein-polysaccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus* on the humoral immune response of tumor-bearing ICR mice to sheep red blood cell. *Arch. Pharm. Res.* 1993 ; 16(4) : 336
 26. 정경수, 김신숙, 김희수, 한만우, 김병각. *Phellinus linteus* 균사 배양물로부터 분리한 단백질다당체 Kp의 항암활성. *약학회지*. 1994 ; 38(2) : 158
 27. 한용석, 박순영, 최병기, 정세영. 재배 상황버섯 추출물의 경구 투여 급성독성 연구. *응용약물학회지*. 2001 ; 9 : 46
 28. Anand BK, Brobeck JR. Hypothalamic control of food intake in rats and cats, *Yale J Biol Med* 1951 ; 24 : 123-146
 29. Oomura Y, Ooyama H, Yamamoto T, Naka F. Reciprocal relationship of the lateral and ventromedial hypothalamus in the regulation of food intake. *Physiol Behav* 1967 ; 2 : 97-115
 30. Scalfani A, Kirchgessner A. The role of the medial hypothalamus in the control of food intake: an updates. In: Ritter RC, Ritter S, Barness CD(eds) *Feeding Behavior*. Academic Press, New York, 1986 : pp. 27-66
 31. Scalfani A. Neural pathways involved in the ventromedial hypothalamic lesion syndrome in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 1971 ; 77 : 70-96
 32. Chronwall BM. Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides* 1985 ; 6 (suppl 2) : -11
 33. Kalra PS, Dube MG, Xu B, Kalra SP. Increased receptor sensitivity to neuropeptide Y in the hypothalamus may underlie transient hyperphagia and body weight gain. *Regul Pept* 1997 ; 72 : 121-130
 34. Gehlert DR. Role of hypothalamic neuropeptide Y in feeding and obesity. *Neuropeptides* 1999 ; 33(5) : 329-338
 35. Gibbs J, Young RC, Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1973 ; 84 : 488-495
 36. Antin J, Gibbs J, Holt J, Young RC, Smith GP. Cholecystokinin elicits the complete behavioral sequence of satiety in rats. *J Comp Physiol Psychol*

- 1975 ; 89(7) : 784-790
37. Vanderhaeghen JJ, Lotstra F, DeMey J, Gilles C. Immunohistochemical localization of cholecystokinin- and gastrin- like peptides in the brain and hypophysis of the rat. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980 ; 77(2) : 1190-1194
38. Lim K, Shimomura Y, Suzuky M Effects of high-fat diet feeding over generations on body fat accumulation. In: Obesity : Dietary Factors and Control(Romsos, D.R., Himms-Hagen, J and Suzuky, M, eds.), Karger, Basel, Switzerland 1991 : pp. 181-190
39. Portillo MP, Simon E, Garcia-Calonge MA, Del Barrio AS. Effects of high-fat diet on lypolysis in isolated adipocytes from visceral and subcutaneous WAT. Eur J Nutr 1999 ; 38 : 177-182
40. Kiss JS, Williams TH, Palkovits M. Distribution and projections of cholecystokinin-immunoreactive neurons in the hypohtalamic paraventricular nucleus of rat. J Comp Neurol 1984 ; 272(2) : 173-181