

杏仁을 비롯한 韓藥複合方이 생쥐 前脂肪細胞 3T3-L1의 增殖과 分化에 미치는 影響

채기원, 이진용

慶熙大學校 韓醫科大學 小兒科教室

Comparision of Decoction and Distillation drug prescribed the Apricot Seed and Other Herbs on the Proliferation and Differentiation of Preadipocyte from the C57BL/6 Mouse

Ki-won Chae · Jin-Yong, Lee

Dept. of Oriental Pediatrics, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University,
Seoul, Korea

Objective: This study was proceeded to determine to what extent the decoction recipes and distillation recipes extracted from the infusion of the apricot seed and other herbs respectively would produce an effect on the proliferation and the differentiation of Preadipocyte 3T3-L1 Model separated from C57BL/6 mouse.

Method: Preadipocyte 3T3-L1 Model was formed from the fat tissue of the epididymis organ, which was removed from 4-week-old C57BL/6 mouse and then was treated with collagenase.

Results:

1. Concerning the restraint effect of proliferation on Preadipocyte 3T3-L1 Model, the decoction recipes, in the state of low consistency, were proved to be more effective than the distillation recipes.
2. Concerning the restraint effect of differentiation on Preadipocyte 3T3-L1 Model, the decoction recipes were shown to be more effective.

Keyword : distillation, apricot seed, Preadipocyte 3T3-L1 Model

I. 緒論

韓藥의 주된 劑型에는 湯劑, 丸劑, 散劑, 膏劑 등이 있다.¹⁾ 그 중 湯劑는 緩急의 病情에 高루 應用되고 藥物의 用量도 比較

적 많으며 현재 대다수의 韓方病醫院의 주요 劑型으로 선택되어 가장 많이 사용되고 있지만, 湯劑의 특성상 韓藥 고유의 짠과 맛이 그대로 노출되어 小兒患者들이 복용하기에는 애로점이 있다.

이러한 湯劑의 短點을 보완하기 위해서 劑型의 개발이 있어야 하며 劑型의 개발은 한의학의 지변을 넓히는 데 유익할 것으로 생각한다. 露劑는 藥草를 煎湯하면서 蒸溜시킨 液體를 모아 處方함을 말함인데²⁾ 芳香性を 띠기 쉬우며 <本草綱目拾遺>에는 金銀花露, 薔薇露, 米露 등에 관한 언급이 있지만³⁾ 전통적인 韓藥의 劑型 중에 그리 많이 사용되지는 않았다. 다만 露劑法의 효용성을 檢證하는 것은 충분한 연구가치가 있다고 생각한다.

前脂肪細胞(pre adipocyte)인 3T3-L1 細胞는 3T3 細胞로부터 유래된 세포주로서 그 생물학적 특성이 잘 밝혀져 있고, 인슐린이나 그와 유사한 誘導物質의 존재 하에서 脂肪細胞(adipocyte cell)로 分化하는 性質을 갖고 있어 脂肪細胞의 代謝過程은 물론 脂肪蓄積과 脂肪細胞의 分化過程을 연구하는데 널리 사용되고 있다.⁴⁾ 3T3-L1 脂肪細胞(adipocytes)는 *in vivo*에 존재하는 代謝性 피이드백 루프에 연루되지 않은 脂肪細胞이어서 肥滿 및 糖尿를 연구하는 모델로 많이 이용하고 있다.⁵⁾

본 실험에서 사용된 杏仁을 비롯한 韓藥 複合方은 杏仁, 決明子, 苦蔘, 杜沖, 綠豆, 黃柏, 糯米 등으로 구성되어 있다.

따라서 본 연구에서는 杏仁을 비롯한 韓藥 複合方이 露劑와 湯劑로 劑型이 변화되었을 때 각각 藥效 차이 및 유효성을 확인하기 위하여 C57BL/6 mouse에서 분리한 3T3-L1 前脂肪細胞 모델을 이용하여

增殖과 分化에 미치는 영향을 조사하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 動物

4주령의 수컷 C57BL/6 mouse를 대한바이오링크에서 구입하였고 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일 동안 동물실에서 순화시켜 사육한 후 5주령에 실험에 사용하였다.

2. 檢液의 調製

실험에 사용된 杏仁, 決明子, 苦蔘, 杜沖, 綠豆, 黃柏, 糯米는 한약규격주해⁶⁾에 준하는 규격품을 구입하여 精選한 후 사용하였다.

杏仁을 비롯한 數種의 藥材는 杏仁 300g 決明子, 苦蔘, 杜沖 각 200g 綠豆, 黃柏, 糯米 각 100g으로 구성되어 있다. 실험을 위한 湯劑(decoction recipes)는 위 처방에 증류수 5ℓ를 넣고 가열, 농축시켜 얻은 2ℓ의 전탕액으로 하였다. 실험을 위한 露劑(distillation recipes)는 湯劑를 만드는 과정까지는 동일하게 진행한 후, 전탕액 2ℓ에 증류수 2ℓ를 다시 넣고 가열, 기화하여 얻은 2ℓ의 증류액으로 하였다.

湯劑와 露劑를 냉장보관하여 檢液으로 사용하였고 湯劑와 露劑의 삼투압은 NaCl로

조정하였다.

3. 3T3-L1세포의 분리

前脂肪細胞는 Rodbell⁷⁾의 방법을 응용하여 C57BL/6 mouse의 부고환 지방조직을 collagenase으로 처리하여 분리하였다. 5주령의 C57BL/6 mouse에서 부고환 지방조직을 적출하여 PBS 속에서 잘게 썰어 1-2mm의 크기의 조각을 얻은 후, 0.01% collagenase(180u/mg), 0.05% trypsin, 136.0mM NaCl, 2.6mM KCL, 0.36mM NaH₂PO₄, 5mM EDTA를 함유한 용액에 넣고 37°C 수조에서 20분간 용해시키는 과정을 4회 반복하고 1, 2회에서 나오는 상층액을 버리고 3-4회에서 나오는 상층액을 취하여 200mesh로 여과한 후 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 5cc로 세척하고 원심분리하여 상층액을 배양하였다.

4. 세포배양 및 배지

3T3-L1 세포는 1% fetal bovine serum(FBS), gentamycin(100 units/ml), streptomycin(100µg/ml) 등을 첨가한 DMEM에서 배양하였다. 3T3-L1 전지방세포는 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 PBS용액으로 씻어준 후 50ml flask당 1ml의 0.25% trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37°C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착하여 계대배양하였다. 탈착된 세포는 1% FBS가 첨가된 DMEM배양액 10ml에 부유시킨 다음 새로운 배양용기(50ml

culture flask)에 옮겨 1:20의 split ratio로 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다.

5. SRB법에 의한 細胞增殖率 측정

SRB법에 의한 세포증식능 측정은 Alley 등⁸⁾과 Skehan 등⁹⁾의 방법을 응용하여 사용하였다. 10% FBS가 첨가된 DMEM배지에서 3일간 배양하고 배양배지를 제거한 후, PBS로 세포표면을 세척하고 0.25% trypsin-EDTA 1ml를 첨가하여 1분간 반응 후, 0.25% trypsin-EDTA를 제거, 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 5ml를 첨가하여 피펫팅하고 세포부유와 1% trypan blue를 1:1로 혼합하여 haemocytometer로 세포수를 계산하여 5×10⁴ cells/ml로 부유시켰다. 세포부유액 100µl씩을 96 well plate의 각 well에 분주하여 well당 5×10³ cells/ml의 세포가 접종되게 한 다음 CO₂ incubator(5% CO₂, 37°C)에서 24시간 배양하여 세포를 부착시킨 후 다시 각 well에 露劑와 湯劑는 각각 250, 100, 10 그리고 1 µl로 희석하여 첨가하였다. CO₂ incubator에서 2일간 배양하여 배양이 끝난 세포에 TCA(Trichloroacetic acid, Aldrich)를 최종 농도가 10%로 되게 첨가하고 4°C에서 1시간 배양하여 세포를 고정시켰다. 증류수로 5회 반복하여 세포를 세척하였다. 건조된 plate의 각 well에 1% acetic acid로 용해시킨 0.1% SRB(sulforhodamin B, Sigma)용액 100µl씩 가하여 상온에서 30분동안 충분히 염색시킨 후 1% acetic acid로 5회 세척하여 공기중에서 건조시켰다. 완전히 건조되면 10mM unbuffered Tris (pH 10.5) 용액을 각 well에 첨가하여

세포단백질에 부착된 SRB 염료를 10분간 잘 용출시키고 균일하게 만든 후 ELISA reader(Spectra340, Molecular Devices) 564 nm에서 흡광도(OD)를 측정하여 세포의 증식 정도를 측정하였다.

6. 3T3-L1 細胞의 分化率 測定

혈구계산기(haemocytometer)로 계산된 5×10^3 cells/ml의 세포를 24 well plate의 각 well에 넣고 PBS로 세척한 후 10% FBS를 함유하고 있는 DMEM 배지에서 2일 동안 배양한 후, 새로운 DMEM배지로 갈아주고 湯劑와 露劑를 각각 $100\mu\text{l}$, $10\mu\text{l}$, $1\mu\text{l}$ 로 첨가하여 5일간 배양하였다. 그리고, 인슐린과의 관계를 알아보기 위해, 분화유도물질인 dexamethasone $0.25\mu\text{M}$ (DEX, Aldrich), 1-methyl-3-isobutyl-xanthine 0.5mM (MIX, Aldrich), insulin ($10\mu\text{g}/\text{ml}$, Sigma)이 함유된 DMEM 배지에 증류수로 녹인 시료를 각각 $100\mu\text{l}$, $10\mu\text{l}$, $1\mu\text{l}$ 로 첨가하여 5일간 배양하였다. 대조군은 분화유도물질만이 함유된 DMEM 배지를 사용하였다. 분화정도의 측정은 Oil-Red-O로 염색하여 측정하였는데, PBS로 2회 세척 후, 10% formalin을 $50\mu\text{l}$ 씩 첨가 (최종농도 3% formalin)으로 30분간 세포를 고정시키고, 증류수로 3회 반복하여 세척하고, 공기 중에서 건조한 다음 Oil-Red-O로 2시간 동안 염색하였다. 염색후 증류수로 3회 세척하고, 공기 중에서 건조시키고 isopropyl alcohol $100\mu\text{l}$ 씩 분주하여 1시간 동안 용출시켜 ELISA reader로 510nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 統計處理

SRB assay는 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하였고 모든 지표는 $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ 로 나타내었으며 유의성 검정은 각각의 용액에 마다 ANOVA를 실시하여 $p < 0.05$ 이하인 경우 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

III. 成績

1. 前脂肪細胞 3T3-L1의 增殖率에 대한 效果

계대배양에서 3T3-L1은 DMEM/FBS 배지로 통상적인 조건인 37°C 의 5% CO_2 항온기에서 배양되면 doubling time이 20~30시간 걸린다고 알려지고 있으며, 본 실험에 사용한 3T3-L1 섬유아세포의 표준증식을 조사한 결과 doubling time은 16.7시간이었으며 포화밀도(saturation density)는 5×10^4 cells/cm²로 측정되어, 3T3-L1 섬유아세포의 일반적인 증식특성을 보유하고 있는 것으로 확인되었다.

3T3-L1細胞가 지방세포로 분화되기 전단계인 前脂肪細胞의 增殖率에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table. 1 과 Fig. 1에 정리하였다. ANOVA로 처리한 결과 $10\mu\text{l}$ 에서부터 湯劑가 露劑보다 강하게 增殖을 억제하였고 $50\mu\text{l}$ 에서는 현저하게 억제하였으며 $100\mu\text{l}$ 이후에서는 優劣을 나뉘어지지 않았다.

Table. 1 The inhibition effect of decoction recipes and distillation recipes on the proliferation of 3T3-L1 cells by SRB assay

| Group. | Concentration | 1 μ l | 10 μ l | 50 μ l | 100 μ l | 200 μ l | 250 μ l |
|--------------------|---------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| Control | | 100 \pm 8.00 | 100 \pm 18.80 | 100 \pm 20.69 | 100 \pm 1.52 | 100 \pm 21.73 | 100 \pm 17.67 |
| DisR ¹⁾ | | 99.93 \pm 0.39 | 99.70 \pm 0.60 | 90.95 \pm 6.21 | 41.49 \pm 16.04 | 7.90 \pm 1.42 | 7.70 \pm 2.96 |
| DecR ²⁾ | | 96.68 \pm 0.54 | 74.60 \pm 9.81* | 10.12 \pm 1.11* | 20.60 \pm 4.41 | 12.35 \pm 1.56 | 7.91 \pm 1.54 |

a) Each value represents mean \pm standard error of 6 determinations, respectively.

Significantly different from control group(*:p<0.05 by ANOVA, Bonferoni)

1) Distillation Recipes

2) Decoction Recipes

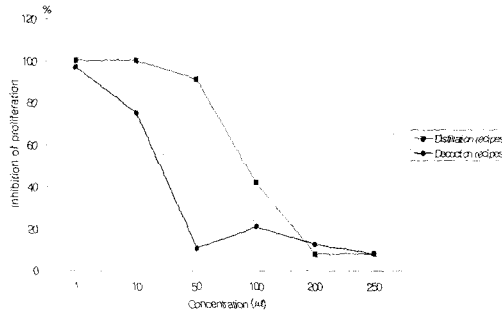


Fig. 1 The inhibition effect of decoction recipes and distillation recipes on the proliferation of 3T3-L1 cells

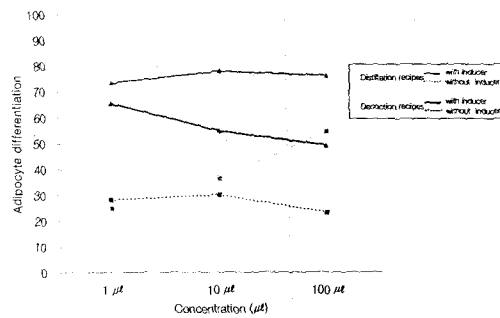


Fig 2. Comparison graph of differentiation of 3T3-L1, without inducer and with inducer.

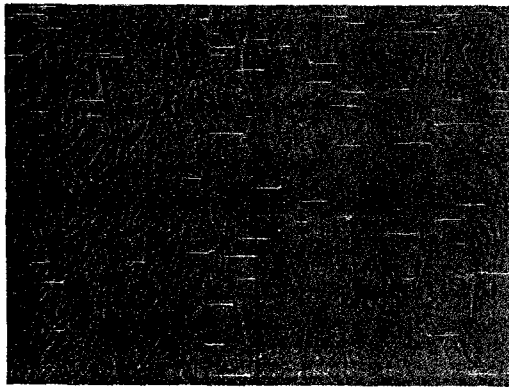
2. 前脂肪細胞 3T3-L1의 分化率에 대한 效果

露劑와 湯劑는 각각 100, 10 그리고 1 μ l 로 처리하였다. 대조군은 분화유도물질 (DEX 0.25 μ M, MIX 0.5 mM, 인슐린 10 μ g/ml)만을 첨가한 것을 100%로 하였다. 추출 시료들은 분화유도물질들을 첨가 하거나, 하지 않고 분화정도를 백분율로 환산하여 측정하여, 대조군에 비해 유의성 있게 분화를 촉진시키는 지를 확인하였다.(Fig 2)

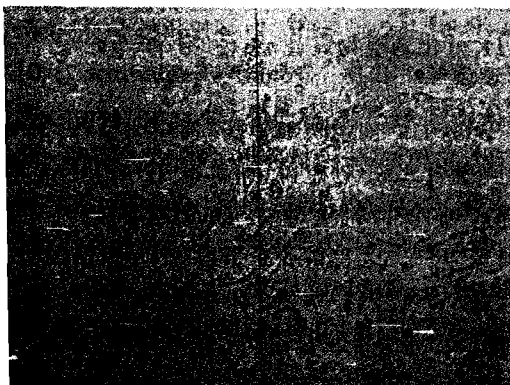
1) 分化誘導物質을 넣은 경우

3T3-L1 前脂肪細胞를 계대배양과 동일한 방법으로 완전히 채워질 (confluent 상태) 때까지 배양하여 DMEM/FBS배지로 새로 바꾸고 분화유도물질을 처리하고 시료를 넣어 2일 동안 전기배양한 후, 다시 시료와 분화유도물질이 함유되어 있는 새로운 DMEM/FBS배지로 교체하여 후기배양한 결과, 露劑는 1과 100 μ l에서 유의성있게 分化를 억제하였고, 湯劑는 1, 10, 100 μ l에서 유의성있게 分化를 억제하였다. (Table 1)

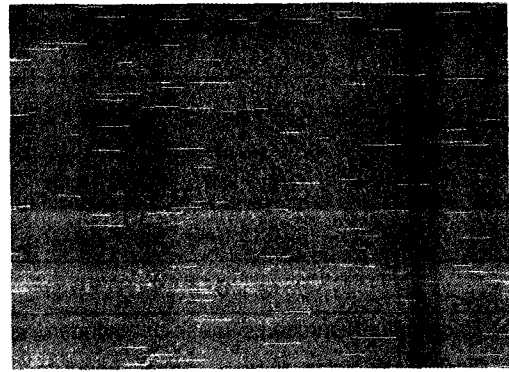
도립현미경에 의해 湯劑와 露劑의 농도가 $1\mu\text{l}$ 일 때의 分化를 抑制하는 것을 관찰하였는데, 정상 3T3-L1세포(A)는 조밀하게 세포가 분포되어 있는 것에 비해 湯劑에 의해 억제되어진 3T3-L1세포(B)와 露劑에 의해 억제되어진 3T3-L1세포(C)는 세포의 활성이 떨어져 움직임이 둔화되었고 분포도 듚성듬성 떨어져 있음을 관찰할 수 있었다.(Fig. 3)



A



B



C

Fig. 3 Effect of decoction recipes and distillation recipes on the adipocyte differentiation of 3T3-L1 with inducer.

A : Normal 3T3-L1 cells, B : Inhibited 3T3-L1 cells by $1\mu\text{l}$ of decoction recipes, C : Inhibited 3T3-L1 cells by $1\mu\text{l}$ of distillation recipes

2) 分化誘導物質을 넣지 않은 경우

3T3-L1 전지방세포를 동일한 방법으로 배양하여 분화유도물질들을 넣지 않고 시료만 첨가하여 전기배양 후, 다시 한약재 추출시료가 함유되어 있는 새로운 DMEM/FBS배지로 교체하여 후기배양한 결과, 露劑와 湯劑는 1, 10, $100\mu\text{l}$ 에서 각각 유의성있게 分化를 抑制하였다(Table 2).

도립현미경에 의해 湯劑 $100\mu\text{l}$ 와 露劑 $100\mu\text{l}$ 에서 분화를 抑制하는 것을 관찰하였는데, 정상 3T3-L1 세포(A)는 조밀하게 세포가 분포되어 있는 것에 비해 湯劑 $100\mu\text{l}$ 에 의해 억제되어진 3T3-L1세포(B)와 露劑 $100\mu\text{l}$ 에 의해 억제되어진 3T3-L1세포(C)는 세포의 활성이 떨어져 움직임이 둔화되었고 분포도 듚성듬성 떨어져 있음을 관찰할 수 있었는데 그 정도는 湯劑에 의해 억제되어진 세포에서 더 확연히 관찰되었다.(Fig. 4)

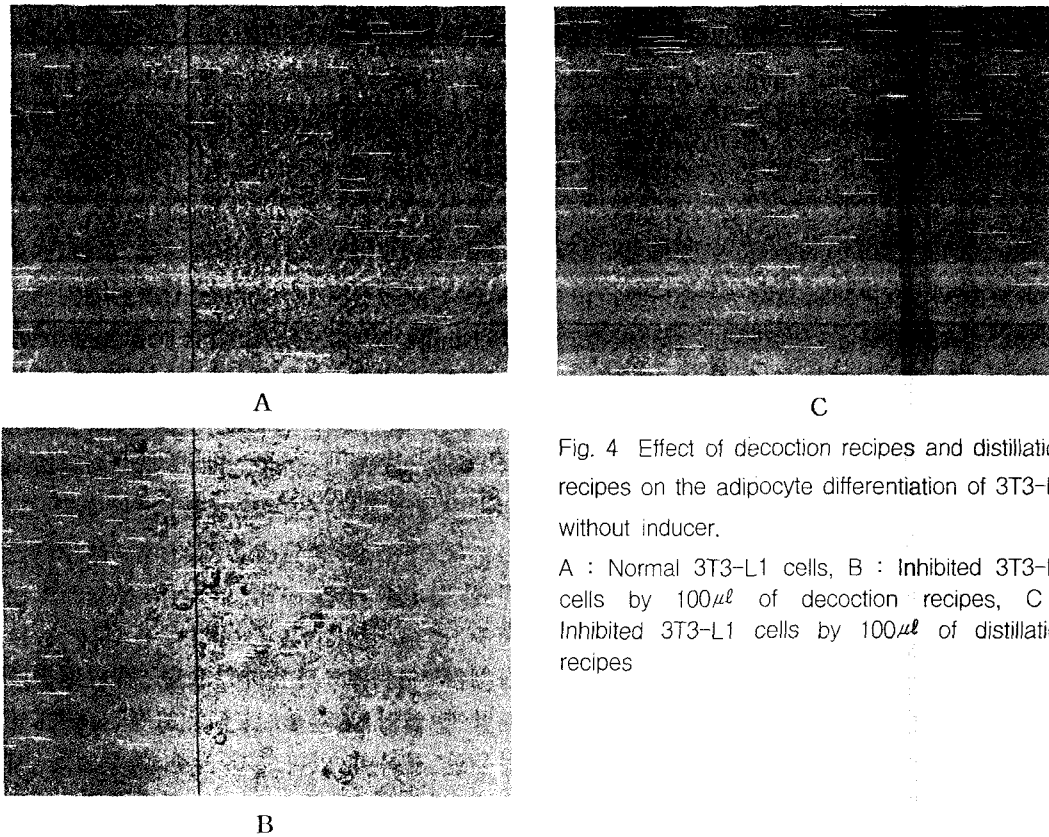


Fig. 4 Effect of decoction recipes and distillation recipes on the adipocyte differentiation of 3T3-L1 without inducer.

A : Normal 3T3-L1 cells, B : Inhibited 3T3-L1 cells by 100 μ l of decoction recipes, C : Inhibited 3T3-L1 cells by 100 μ l of distillation recipes

Table 2. Effect of distilled herb medicine on the adipocyte differentiation of 3T3-L1.

| Group | Concentration | | |
|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | 1 μ l | 10 μ l | 100 μ l |
| Control | 100 \pm 8.00 | 100 \pm 18.86 | 100 \pm 10.10 |
| DisR ¹⁾ | 73.31 \pm 15.45* | 77.82 \pm 14.35* | 76.15 \pm 8.47* |
| DecR ²⁾ | 65.24 \pm 8.46* | 54.71 \pm 13.71* | 49.15 \pm 6.15* |

At the confluent stage of 3T3-L1, the medium was changed by DMEM/FBS medium contained inducers (dexamethasone and 1-methyl-3-isobutylxanthine and insulin) and samples and then culture plate was incubated for 48 hours. After 48 hours, the medium was changed by DMEM/FBS contained inducers and extracts, and then culture plate was incubated for further 5 days.

a) Each value represents mean \pm standard error of 6 determinations, respectively.

Significantly different from control group(*: $p < 0.05$ by ANOVA, Bonferoni)

- 1) Distillation Recipes
- 2) Decoction Recipes

Table 3. Effect of distilled herb medicine on the adipocyte differentiation of 3T3-L1

| Group | Concentration | 1 μ l | 10 μ l | 100 μ l |
|--------------------|---------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Control | | 100 \pm 8.00 | 100 \pm 18.86 | 100 \pm 10.10 |
| DisR ¹⁾ | | 24.77 \pm 4.26* | 36.38 \pm 5.48 | 54.63 \pm 15.95* |
| DecR ²⁾ | | 28.00 \pm 4.26* | 29.99 \pm 6.41* | 23.11 \pm 2.90* |

At the confluent stage of 3T3-L1, the medium was changed by DMEM/FBS medium contained samples and then culture plate was incubated for 48 hours. After 48 hours, the medium was changed by DMEM/FBS contained extracts, and then culture plate was incubated for further 5 days. a) Each value represents mean \pm standard error of 6 determinations, respectively.

Significantly different from control group(*: $p < 0.05$ by ANOVA, Bonferoni)

1) Distillation Recipes

2) Decoction Recipes

IV. 考 察

韓藥의 다양한 劑型 중에서 湯劑는 韓醫學의 역사와 그 根源을 같이한다고 할 수 있을 정도로 대표적인 劑型이다. 湯劑는 기본적으로 한 가지 또는 몇 가지의 韓藥에 물을 넣고 일정한 시간 동안 끓인 다음 걸러서 얻은 湯液을 藥으로 쓰는 것으로 흡수가 비교적 빨라 쉽게 藥의 작용이 나타난다.¹⁰⁾ 그러나 韓藥材 고유의 香과 味가 그대로 담겨있어서 小兒나 成人患者들이 韓藥을 기피하게된 원인이 되었다. 이런 현상을 자주 접해온 著者는 그 代案으로 露劑法을 검토할 필요가 있다고 생각하였다.

露劑는 韓藥材를 煎湯, 蒸溜하여 만드는 方法¹¹⁾으로 문헌적으로는 <本草綱目拾遺> 이후에 간혹 보여지는데 주로 金銀花나 薔薇, 薄荷, 丁香 같은 芳香性 韓藥材를

露劑의 材料로 사용하였으나 脾胃虛損을 補함에 있어 米露를, 大補元氣에는 鷄露를 이용한 기록이 있다.³⁾ 辛苦한 韓藥材를 처방한 경우나 湯劑 固有의 香을 싫어하는 患者들에게 있어 露劑는 服用함에 있어 뚜렷한 장점이 있으나 그 效能은 실험적으로 입증된 바가 없다. 본 실험에서는 上記한 杏仁을 비롯한 數種 藥材의 露劑와 湯劑를 檢液으로 하여 생쥐의 前脂肪細胞 3T3-L1의 增殖과 分化에 각각 어떤 영향을 미치는지 알아보기로 하였다.

檢液의 原方 중 杏仁은 性이 微溫, 有小毒하고 味는 苦微辛하며 降氣作用이 있고 止咳平喘하고 潤腸通便한다. 決明子의 性은 微寒, 無毒하고 味는 甘苦鹹하며 清肝明目하고 潤腸通便한다. 苦參의 性은 寒, 無毒하고 味는 苦하며 清熱燥濕하고 祛風殺蟲하며 利尿作用이 있다. 杜仲의 性은 溫, 無毒하고 味는 甘微辛하며 肝腎을 補하고 強筋骨하며 安胎作用이 있다. 綠豆의

性은 寒, 無毒하고 味는 甘하며 清熱解毒作用과 消暑利水케 한다. 黃柏의 性은 寒, 無毒하고 味는 苦하며 清熱燥濕하고 瀉火解毒하며 退虛熱한다.¹²⁾ 糯米의 性은 溫, 無毒하고 味는 平하며 營衛中의 血積을 行하게 하며 脾胃를 暖하게 하고 消渴을 멎게 하고 益氣止泄한다.¹³⁾

前脂肪細胞(preadipocyte)인 3T3-L1 細胞는 生物學的 特性이 잘 밝혀져 있고, 적절한 條件下에서 培養하면 脂肪細胞로 分化하는 性質을 갖고 있어 脂肪細胞의 代謝過程에 있어 脂肪分解의 抑制 혹은 合成 研究에 사용하고 있다. 前脂肪細胞는 인슐린과 같은 誘導物質의 存在 下에서는 酵素活性을 급격히 增加시켜 分化를 促進하는 特性을 가지고 있어 動·植物 中의 인슐린성 물질의 존재 여부를 탐색하는데 容易하다.¹⁴⁾ 3T3-L1細胞는 계대배양 횟수에 따라 변화가 있을 수 있는 것으로 알려져 있는데, 계대배양이 10회 이상이 되면 다소 활성이 떨어지는 경향이 있다.

脂肪細胞의 형성과정은 前脂肪細胞의 增殖過程, 前脂肪細胞로부터 脂肪細胞로 分化過程, 그리고 成熟過程으로 크게 大別할 수 있고, 각각의 단계는 여러 因子에 의해서 制御되고 있고, 肥滿은 脂肪細胞가 過形成되는 過程을 거쳐 脂肪組織이 肥大化되는데, 前脂肪細胞의 增殖과 分化段階가 肥滿形成의 중요한 制御點이라 할 수 있다.

前脂肪細胞의 增殖 및 脂肪細胞로의 分化에 영향을 미치는 물질을 탐색하고 그 작용과정을 밝히는데 3T3-L1 細胞를 이용하여 실험한 결과 retinol, retinoic acid, vitamin D group, vitamin E, nicotinamide, phorbol ester, dihydro-

teleocidin B, lithium 등은 前脂肪細胞의 脂肪細胞로의 分化를 억제하지만, ascorbate, hemin, cadmium, corticosterone, cAMP 등은 脂肪細胞로의 分化를 촉진시킨다는 사실이 밝혀져 脂肪細胞의 分化過程을 자세하게 이해할 수 있는 수준까지 되었다.

이러한 점은 脂肪細胞의 形成過程에서 前脂肪細胞로 增殖하는 段階와 分化段階를 억제한다면 脂肪組織의 肥大를 예방하고 肥滿, 糖尿病, 高血壓 등의 치료 및 예방에 대한 가능성을 높일 수 있음을 시사한다. 이에 著者는 3T3-L1 細胞를 이용하여 杏仁을 비롯한 數種 藥材의 露劑와 湯劑가 前脂肪細胞의 增殖과 分化에 대한 효과를 검토하였다. 이와 관련하여 前脂肪細胞가 脂肪細胞로 分化되는 과정과 결과를 보면 分化된 脂肪細胞내에 존재하는 지방은 脂肪細胞 자체가 合成한다는 사실과 insulin 및 glucocorticoid 호르몬이 脂肪細胞의 分化와 脂肪生産 및 축적을 유발시킨다는 것은 알려져 있다. 그러나 이 과정에 대한 韓藥의 효능을 檢證한 문헌을 접할 수 없었다. 著者는 3T3-L1細胞를 대상으로 杏仁을 비롯한 數種의 藥材가 이 과정에 미치는 영향을 연구하고자 하였으며 특히 劑型變化의 효과를 확인하고자 하였다.

실험의 결과를 보면, 3T3-L1세포가 脂肪細胞로 分化되기 前段階인 前脂肪細胞의 增殖率에 미치는 影響을 조사한 결과, 湯劑가 露劑보다 低濃度에서 더 신속하게 前脂肪細胞의 增殖을 抑制하였고, 分化抑制에 대해서는 분화유도제인 Insulin이 있을 경우에는 湯劑가 露劑보다 더 우수한 효과를 보였다. 반면 Insulin이 없을 경우

에는 차별성이 보이지 않지만 湯劑가 露劑보다 分化를 抑制하는 경향성을 보여주고 있다. 이것은 湯劑가 露劑보다 더 우수한 효과를 보여주는 것으로 韓藥의 露劑化는 藥效·保護 측면에서 신중해야 함을 시사한다고 하겠으며 또한 상기의 藥材가 肥滿을 치료할 수 있는 기초적 자료는 된다고 여겨지며 작용기전을 더욱 규명하기 위해서 지속적인 연구가 있어야겠다.

V. 結 論

杏仁을 비롯한 韓藥複合方의 露劑와 湯劑가 C57BL/6 mouse에서 추출한 前脂肪細胞 3T3-L1의 增殖과 分化에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 前脂肪細胞 3T3-L1의 增殖抑制效果는 저농도에서 湯劑가 露劑보다 우수하였다.
2. 前脂肪細胞 3T3-L1의 分化抑制效果도 湯劑가 露劑보다 우수하였다.

參 考 文 獻

1. 康舜洙 : 바른 方劑學, 서울, 대성문화사, pp.45-46, 1996.
2. 國家中醫藥管理局科技教育司組織編著 :

中藥藥劑學, 北京, 中國中醫藥出版社, p.172, 1997.

3. 趙學敏 : 本草綱目拾遺, 北京, 中國中醫藥出版社, pp.9-11, 1998.
4. Green H, Kehinde O. (1974) An established preadipose cell line and its differentiation in culture. *Cell*, 3, 127-133
5. Murakami, N., Inoue, G., Okamoto, M., Yoshimasa, Y., Kohno, S., Hayashi, T., Kato, K., Kuzuya, H. and Nakao, K. (1997) Antihyperglycemic mechanism of M16209, an antidiabetic agent, in 3T3-L1 adipocytes. *Life Sci*, 60(20), 1821-312.
6. 지형준 외 : 한약규격주해(대한약전 및 대한약전외), 서울, 한국메디칼인텍스사, p80, p95, p152, p193, p656, p694, 1998.
7. Rodbell, M.(1964) Metabolism of isolated fat cells, *J. Biol. Chem.*, 239, 375-380.
8. Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. I., Abbott, B. J., Mayo, J. G., Shoemaker, R. H. and Boyd, M. R. (1988) Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.* 48, 589.
9. Skehan, P., Strong, R., Scudiero D. A., Monks, A., McMahon, J., Vistica, A. D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenny, S. and Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for Anticancer-Drug Screening. *J.*

Natl. Cancer Inst. 82, 1107.

10. 과학백과사전종합출판사 : 재편집 동의학사전, 서울, 도서출판 까치, p.1059, 1990.
11. 동양의학대사전 편찬위원회 : 동양의학대사전2, 서울, 경희대학교출판국, p.396, 1999.
12. 李尙仁 編著 : 本草學, 서울, 永林社, p.182, p.186, p.229, p.479, p.511, p.536, 1995.
13. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, p.843, 1993.
14. Broadhurst, C. L., Polansky, M. M. and Anderson, R. A. (2000) Insulin-like biological activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 48(3), 849-852.